UNIVERSIDAD DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Etude de Composes Bioactifs de Plantes Aromatiques et Medicinales : *Cladanthus mixtus* L. et *Matricaria chamomilla* L.

Estudio de Compuestos con Bioactividad Molecular de las Plantas Aromaticas y Medicinales : *Cladanthus mixtus* L. y *Matricaria camomilla* L.

Dña. Amina El Mihyaoui

2022

Dédicaces

Je dédie cette thèse

A lame de ma grande mère

A mes très chers parents Khadija et Abdelaziz pour leur soutien et leur patience

A ma copine Saoulajane pour son aide et son support

A tous mes amis et mes collègues pour leur soutien

A tous mes professeurs pour leur enseignement et leur orientation

Résumé

Les extraits de plantes contenant des substances phytochimiques sont de plus en plus commercialisés en tant que produits ayant un impact positif sur le système de santé. L'objectif de notre étude consiste à analyser les différences en composition chimique et à évaluer les activités biologiques antioxydante, antimicrobienne et anticancer entre des extraits issus de différents organes (fleurs, feuilles, tiges et racines) de deux plantes aromatiques et médicinales du Nord-Ouest du Maroc *Cladanthus mixtus* et *Matricaria chamomilla*. La composition chimique de ces extraits a été analysée par HPLC-MS et par GC-MS. Cette étude a également présenté une quantification de la teneur en phytomélatonine, qui a été analysée par HPLC-FLUO. Les échantillons des organes de *M. chamomilla* ont présenté des valeurs plus élevées en phytomélatonine, spécialement les feuilles (61,31 ng/g MS) comparé à *C. mixtus*. Tous les extraits méthanoliques contenaient de grandes quantités de flavonoïdes et d'acides phénoliques. D'autres groupes de composés chimiques ont été révélé, tels que les terpénoïdes, les esters, les acides organiques et gras et d'autre groupes. Utilisant des extraits méthanoliques, d'acétate d'éthyle et aqueux, nous avons étudié les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes. Également, l'activité antioxydante a été réalisée en appliquant les tests ABTS et DPPH. Dans les extraits d'acétate d'éthyle et aqueux, *C. mixtus* avait une teneur phénolique plus élevée que *M. chamomilla*. Cependant, la teneur en flavonoïdes des deux plantes était très proche en comparaison avec l'extrait méthanolique. Les résultats des deux plantes ont montré que l'activité antioxydante hydrophile était la plus dominante dans le test ABTS, alors que l'activité antioxydante lipophile a représenté la majorité de l'activité antioxydante totale pour la plupart des organes testés par DPPH. Pour les extraits méthanoliques, les racines des deux plantes ont montré la plus grande activité utilisant les deux tests. Nous avons trouvé une corrélation positive entre l'activité antioxydante et le dosage des polyphénols et flavonoïdes. La technique de micro-dilution a été choisie pour étudier l'activité antimicrobienne des extraits méthanoliques contre deux souches bactériennes et trois champignons. Entre les deux souches bactériennes testées, *Staphylococcus aureus* était plus sensible aux extraits comparé à *Escherichia coli.* L'extrait des fleurs de *M. chamomilla* a été le plus actif contre *S. aureus* présentant les valeurs CMI et CMB les plus basses (2,50 et 6 mg/mL, respectivement) et l'extrait des feuilles a présenté une activité bactéricide contre *E. coli* (CMI = CMB = 35 mg/mL). Concernant *C. mixtus*, la meilleure activité a été présentée par l'extrait des feuilles contre *S. aureus* (CMI = CMB = 20 mg/mL) et *E. coli* (CMI de 30 mg/mL et CMB de 35 mg/mL). Les espèces fongiques (*Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* et *Aspergillus fumigatus*) ont été testées. Tous les extraits ont montré une activité antifongique contre la souche *T. rubrum* avec la meilleure efficacité rapportée par les extraits de fleurs et de feuilles de deux plantes (CMI=1,25 mg/mL, CMF = 2,5 mg/mL). Les extraits de *C. mixtus* et *M. chamomilla* semblent être moins efficaces contre *C. albicans* et *A. fumigatus.* En utilisant le test MTT et l'évaluation microscopique, les résultats de l'activité antitumorale des extraits de plantes contre trois lignées cellulaires cancéreuses : fibroblastes pulmonaires humains normaux (MRC-5), carcinome mammaire humain (MCF-7) et carcinome de la prostate humain (PC-3) ont été très encourageants. Les deux plantes avaient une bonne activité contre les trois lignes cellulaire étudiées à une concentration de 500 µg/ mL, avec les meilleurs résultats obtenus pour *C. mixtus* avec les feuilles et pour *M. chamomilla* avec les fleurs.

Mots clés : *Matricaria chamomilla*, *Cladanthus mixtus*, composition chimique, phytomélatonine, DPPH, ABTS, activité antimicrobienne, activité antioxydante, activité anticancer.

Abstract

Plant extracts containing phytochemicals are increasingly marketed as products with a positive impact on the health system. The objective of our study is to analyze the differences in chemical composition and to evaluate the antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of extracts from different organs (flowers, leaves, stems, and roots) of two aromatic and medicinal plants from North-West Morocco *Cladanthus mixtus* and *Matricaria chamomilla*. The chemical composition of these extracts was analyzed by HPLC-MS and GC-MS. This study also presented a quantification of phytomelatonin content which was analyzed by HPLC-FLUO. *M. chamomilla* organ samples showed higher phytomelatonin values, especially the leaves (61.31 ng/g DM) compared to *C. mixtus*. All methanolic extracts contained high amounts of flavonoids and phenolic acids. Other groups of chemical compounds were revealed, such as terpenoids, esters, organic and fatty acids, and other groups. Using methanolic, ethyl acetate, and aqueous extracts, we studied the contents of phenolic compounds and flavonoids. Also, the antioxidant activity was carried out by applying the ABTS and DPPH tests. In ethyl acetate and aqueous extracts, *C. mixtus* had higher phenolic content than *M. chamomilla*. However, the flavonoid content of both plants was very close compared to the methanolic extract. The results for both plants showed that hydrophilic antioxidant activity was the most dominant in the ABTS assay, while lipophilic antioxidant activity accounted for the majority of the total antioxidant activity for most organs tested by DPPH. For methanolic extracts, the roots of both plants showed the highest activity using both assays. We found a positive correlation between antioxidant activity and polyphenols and flavonoids amounts. The micro-dilution technique was chosen to study the antimicrobial activity of methanolic extracts against two bacterial strains and three fungi. Between the two bacterial strains tested, *Staphylococcus aureus* was more sensitive to the extracts compared to *Escherichia coli*. The extract from the flowers of *M. chamomilla* was the most active against *S. aureus* showing the lowest MIC and MBC values (2.50 and 6 mg/mL, respectively) and the extract from the leaves showed bactericidal activity against *E. coli* (MIC = MBC = 35 mg/mL). Concerning *C. mixtus*, the best activity was presented by the leaf extract against *S. aureus* (MIC = MBC = 20 mg/mL) and *E. coli* (MIC of 30 mg/mL and MBC of 35 mg/mL). Fungal species (*Candida albicans*, *Trichophyton rubrum,* and *Aspergillus fumigatus*) were tested. All extracts showed antifungal activity against *T. rubrum* strain, with the best efficacy reported by the flower and leaf extracts of both plants (MIC = 1.25 mg/mL, MFC = 2.5 mg/mL). Extracts of *C. mixtus* and *M. chamomilla* appear less effective against *C. albicans* and *A. fumigatus*. Using the MTT assay and microscopic evaluation, the results of the antitumor activity of the plant extracts against three cancer cell lines: normal human lung fibroblasts (MRC-5), human breast carcinoma (MCF-7) and human prostate carcinoma (PC-3) were very encouraging. Both plants had good activity against the three cell lines studied at a concentration of 500 µg/ mL, with the best results obtained for *C. mixtus* with leaves and for *M. chamomilla* with flowers.

Key words: *Matricaria chamomilla*, *Cladanthus mixtus*, chemical composition, phytomelatonin, DPPH, ABTS, antimicrobial activity, antioxidant activity, anticancer activity.

Resumen

Los extractos de plantas que contienen fitoquímicos se comercializan cada vez más como productos con un impacto positivo en el sistema de salud. El objetivo de nuestro estudio es analizar las diferencias en la composición química y evaluar las actividades antioxidantes, antimicrobianas y anticancerígenas entre los extractos de diferentes órganos (flores, hojas, tallos y raíces) de dos plantas aromáticas y medicinales del noroeste de Marruecos *Cladanthus mixtus* y *Matricaria chamomilla*. La composición química de estos extractos se analizó mediante HPLC-MS y GC-MS. Este estudio también presentó una cuantificación del contenido de fitomelatonina que se analizó mediante HPLC-FLUO. Las muestras de órganos de *M. chamomilla* mostraron valores más altos de fitomelatonina, especialmente las hojas (61,31 ng/g MS) en comparación con *C. mixtus*. Todos los extractos metanólicos contenían altas cantidades de flavonoides y ácidos fenólicos. Se revelaron otros grupos de compuestos químicos, como terpenoides, ésteres, ácidos orgánicos y grasos, y otros grupos. Utilizando extractos metanólicos, de acetato de etilo y acuosos, se estudió el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides. También se realizó la actividad antioxidante aplicando los ensayos ABTS y DPPH. En los extractos acetato de etilo y acuoso, *C. mixtus* tuvo mayor contenido fenólico que *M. chamomilla*. Sin embargo, el contenido de flavonoides de ambas plantas fue muy cercano en en comparación con el extracto metanólico. Los resultados para ambas plantas mostraron que la actividad antioxidante hidrofílica fue la más dominante en el ensayo ABTS, mientras que la actividad antioxidante lipofílica representó la mayor parte de la actividad antioxidante total para la mayoría de los órganos probados por DPPH. En el caso de los extractos metanólicos, las raíces de ambas plantas mostraron la mayor actividad en ambos ensayos. Se encontró una correlación positiva entre la actividad antioxidante y las cantidades de polifenoles y flavonoides. Se eligió la técnica de microdilución para estudiar la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos contra dos cepas bacterianas y tres hongos. Entre las dos cepas bacterianas analizadas, *Staphylococcus aureus* fue más sensible a los extractos en comparación con *Escherichia coli*. El extracto de las flores de *M. chamomilla* fue el más activo contra *S. aureus*, mostrando los valores más bajos de CIM y CBM (2,50 y 6 mg/mL, respectivamente) y el extracto de las hojas mostró actividad bactericida contra *E. coli* (CIM = CBM = 35 mg/mL). En cuanto a *C. mixtus*, la mejor actividad la presentó el extracto de las hojas contra *S. aureus* (CIM = CBM = 20 mg/mL) y *E. coli* (CIM de 30 mg/mL y CBM de 35 mg/mL). Se probaron especies fúngicas (*Candida albicans, Trichophyton rubrum* y *Aspergillus fumigatus*). Todos los extractos mostraron actividad antifúngica contra la cepa de *T. rubrum*, siendo la mejor eficacia la reportada por los extractos de flores y hojas de dos plantas (CIM = 1,25 mg/mL, CFM = 2,5 mg/mL). Los extractos de *C. mixtus* y *M. chamomilla* parecen menos eficaces contra *C. albicans* y *A. fumigatus*. Mediante el ensayo MTT y la evaluación microscópica, los resultados de la actividad antitumoral de los extractos de las plantas contra tres líneas celulares de cáncer : fibroblastos de pulmón humano normal (MRC-5), carcinoma de mama humano (MCF-7) y carcinoma de próstata humano (PC-3) fueron muy alentadores. Ambas plantas presentaron una buena actividad contra las tres líneas celulares estudiadas a una concentración de 500 µg/ mL, obteniéndose los mejores resultados para *C. mixtus* con las hojas y para *M. chamomilla* con las flores.

Palabras clave: *Matricaria chamomilla*, *Cladanthus mixtus*, composición química, fitomelatonina, DPPH, ABTS, actividad antimicrobiana, actividad antioxidante, actividad anticancerígena.

الملخص

يتم تسويق المستخلصات النباتية التي تحتوي على المواد الكيميائية النباتية بشكل متزايد كمنتجات لها تأثير إيجابي على النظام الصحي. الهدف من دراستنا هو تحليل الاختلافات في التركيب الكيميائي وتقييم الأنشطة البيولوجية المضادة للأكسدة ومضادات الميكروبات ومضادات السرطان بين المستخلصات من أعضاء مختلفة (أزهار وأوراق وسيقان وجذور) لنبتتين عطريتين وطبيتين من شمال غرب المغرب *Cladanthus mixtus* و *Matricaria chamomilla*. تم تحليل التركيب الكيميائي لهذه المستخلصات بواسطة HPLC-MS و GC-MS. قدمت هذه الدراسة أيضًا تقديرًا كميًا لمحتوى الفيتوميلاتونين الذي تم تحليله بواسطة HPLC-FLUO. أظهرت عينات الأعضاء من *M. chamomilla* قيم أعلى من الفيتوميلاتونين ، خاصة الأوراق (61,31 ng/g MS) مقارنة مع *C. mixtus*. تحتوي جميع المستخلصات الميثانولية على كميات كبيرة من الفلافونويد والأحماض الفينولية. تم الكشف عن مجموعات أخرى من المركبات الكيميائية ، مثل التربينويدات والإسترات والأحماض العضوية والدهنية ومجموعات أخرى. باستخدام المستخلصات الميثانولية و إيثيل الأسيتات والمستخلصات المائية ، درسنا محتوى المركبات الفينولية والفلافونويد. أيضًا ، تم إجراء النشاط المضاد للأكسدة من خلال تطبيق اختبارات ABTS و DPPH. في المستخلصات المائية و إيثيل الأسيتات ، أظهرت نبتة *C. mixtus* محتوى فينولي أعلى من *M. chamomilla*. ومع ذلك ، كان محتوى الفلافونويد للنبتين قريبًا جدًا مقارنة بالمستخلص الميثانولي. أظهرت نتائج كلا النبتتين أن نشاط مضادات الأكسدة المحبة للماء كان الأعلى في اختبار ABTS ، في حين أن نشاط مضادات الأكسدة المحبة للدهون يمثل غالبية نشاط مضادات الأكسدة الكلية لمعظم الأعضاء التي تم اختبارها بواسطة DPPH. بالنسبة للمستخلصات الميثانولية ، أظهرت جذور كلا النبتتين أكبر نشاط باستخدام كلا الاختبارين. وجدنا علاقة إيجابية بين نشاط مضادات الأكسدة و محتوى البوليفينول والفلافونويد. تم اختيار تقنية التخفيف الدقيق لدراسة النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات الميثانولية ضد سلالتين من البكتيريا وثلاث فطريات. بين السلالتين البكتيريتين المختبرتين ، كانت *Staphylococcus aureus* أكثر حساسية للمستخلصات مقارنة ب *Escherichia coli* و كان مستخلص زهرة *M. chamomilla* أكثر نشاطًا ضد *S. aureus* حيث أظهر أقل قيم التركيز CMI و CMB (6 mg/mL; 2,50 ، على التوالي) وأظهر مستخلص الأوراق نشاط مبيد للجراثيم ضد *E. coli* (CMI = CMB = 35 mg/mL) . بخصوص *C. mixtus* ، أظهر مستخلص الأوراق أفضل فعالية ضد *S. aureus* (CMI = CMB = 20 mg/mL) و *E. coli* (CMI = 30 mg/mL و CMB = 35 mg/mL). تم اختبار الأنواع الفطرية (*Candida albicans* و *Trichophyton rubrum* و *Aspergillus fumigatus*). أظهرت جميع المستخلصات فعالية مضادة للفطريات ضد سلالة *T.* مع الحصول على أفضل النتائج بمستخلصات الأزهار والأوراق (CMI=1,25 mg/mL, CMF = 2,5 mg/mL). يبدو أن مستخلصات *C. mixtus* و *M. chamomilla* أقل فعالية ضد *C. albicans* و *A. fumigatus*. باستخدام اختبار MTT والتقييم المجهري ، وجدنا أن النشاط المضاد للسرطان للمستخلصات النباتية كانت مشجعة للغاية ضد ثلاثة سلالات من الخلايا السرطانية: الخلايا الليفية الرئوية البشرية (MRC-5) ، وسرطان الثدي البشري (MCF-7) وسرطان البروستاتا البشري (PC- 3). كلا النباتين كان لهما نشاط جيد ضد سلالات الخلايا الثلاثة التي تمت دراستها بتركيز 500 µg/ mL ، مع الحصول على أفضل النتائج بمستخلص الأوراق لنبتة *C. mixtus* و مستخلص الأزهارلنبتة *M. chamomilla*.

الكلمات الأساسية: *Cladanthus mixtus* ، *Matricaria chamomilla* ، نشاط مضاد للميكروبات ، نشاط مضاد للأكسدة ، DPPH،ABTS ، نشاط مضاد للسرطان.

Publications

1- El Mihyaoui, A., Esteves da Silva, J. C., Charfi, S., Candela Castillo, M. E., Lamarti, A., & Arnao, M. B. (2022). Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): A Review of Ethnomedicinal Use, Phytochemistry and Pharmacological Uses. *Life*, *12*(4), 479. (Global Impact Factor: **3.251**)

2- El Mihyaoui A., Castillo M E C., Cano A., Hernandez-ruiz J., Lamarti. & Arnao M B. (2021). Comparative study of wild chamomile plants from the north-west of Morocco: Bioactive components and total antioxidant activity. Journal of Medicinal Plants Research, 5(10), 431-441. (Global Impact Factor: **0.879**).

3- Nejjar El Ansari Z., El Mihyaoui A., Boussaoud I., Benkaddour R., Hamdoun O., Tahiri, H., Badoc A., El Oualkadi A. & Lamarti A. (2019). Effect of macronutrients, cytokinins and auxins, on in vitro organogenesis of *Thymus vulgaris* L. American Journal of Plant Sciences, 10(09), 1482. (Global Impact Factor **1.10**).

Communications scientifiques

EVENEMENTS NATIONAUX (05)

Communication affichée

1- Boussaoudi I., Candela Castillo, M. E., Cano A., El mihyaoui A., & Lamarti A. (2019). Evaluation in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols de différents extraits de *Laurus nobilis* L. 3éme Edition des Journées pratiques Francophones des Sciences analytiques «JPFSA 2019», le 25-26 Avril à Marrakech.

2- Boussaoudi I., Castillo M E C., Cano A., Maouni A., El mihyaoui A., & Ahmed Lamarti, 2019. Détermination des polyphénols contenus dans *Laurus nobilis* L. 20éme journée de la recherche scientifique, le 1-2 Février organisée par la Présidence de l'université Abdelmalek Essaadi Tétouan.

3- El mihyaoui A., Castillo M E C., Candela M E R., Boussaoudi I., & Lamarti A. (2018). Contenu polyphénolique de deux plantes aromatiques et médicinales du nord du Maroc. 19eme journée de la recherche Scientifique de l'Université Abdelmalek Essaadi (19JR-UAE). 09-10 Mars à la faculté Oussoul Eddine, Tétouan.

4- Ben Ali N., Rahmouni S., El mihyaoui A., El Kbiach L'bachir M., El bouzdoudi B., Belkadi B., El antry Tazi S., Filali-Maltouf A., Makhloufi M., & Lamarti A. (2015). Etude de l'embryogenèse somatique secondaire du chêne-liège (*Quercus suber* L.). 17eme journée de la recherche Scientifique de l'Université Abdelmalek Essaadi (17JR-UAE). 18-19 décembre à la faculté polydisciplinaire, Martil, Tétouan.

Communication orale

5- El mihyaoui A., Castillo M E C., Requena M E., & Lamarti A. (2018) Evaluation of antioxidant potential of two aromatic and medicinal plants *Cladanthus mixtus* and *Matricaria chamomilla*. 2ème Edition des Journées Doctorales ESTE, le 30 et 1 Novembre : EST d'Essaouira.

EVENEMENTS INTERNATIONAUX (18)

Communication affichée

1- Ruiz-Cano D., Sánchez-Carrasco G., El-Mihyaoui A., Cano A., Hernández-Ruiz J., & Arnao MB. (2021). Diseño de una Gama de Suplementos Alimenticios para Mascotas con Aceites Esenciales. 11º Congreso de Fitoterapia de la Asociación Española de Fitoterapia (SEFIT) le 13-16 Octobre, Sant Joan d'Alacant, Alicante, Espagne.

2- Nejjar El Ansari., El Mihyaoui A., Boussaoudi I., Benkaddour A., Hamdoun O., & Lamarti A. (2019). Efficient and Rapid in vitro Propagation System of *Thymus vulgaris* L., a Wild and Extinct Medicinal and Aromatic Plant in Morocco. Premier Colloque International sur la Valorisation des Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc. Premier Colloque International sur la Valorisation des Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc le 02-04 Novembre, Ecole Normal supérieur de Tétouan.

3- Boussaoudi I, Saidi R., El mihyaoui A., & Lamarti A. (2018). Mineral analysis of the different components of the clove of mature carob tree (*ceratonia siliqua* L., Fabaceae, Caesalpiniaceae) and contribution to the study of its micropropagation. 2éme Edition du Colloque International sous le thème : « Sciences et Technologies au Service de l'Environnement, le 23-24 Juin à la Faculté des sciences, Tétouan.

4- El mihyaoui A., Amimar Z., & Lamarti A. (2018). Study of the fruit essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) commercialized in Morocco. 2éme Edition du Colloque International sous le thème : « Sciences et Technologies au Service de l'Environnement, le 23-24 Juin à la Faculté des sciences, Tétouan.

5- El mihyaoui A., Candela Castillo, M. E., Requena Candela, M. E., & Lamarti A. (2018). Optimization of the extraction technique for the determination of bioactive compounds in two aromatic and medicinal wild plants: *Matricaria chamomilla* L. (wild chamomile) and *Cladanthus mixtus* L. Oberpr. and Vogt. (Moroccan chamomile). The American Moroccan Agricultural Sciences Conference IV Organisée par The amass association le 9-14 Mai, Meknès, Page 509.

6- Zilali M., Harras N., El mihyaoui A., Saidi S., & Lamarti A. (2018). The preservation by in vitro culture of two sylvan camomiles, *Cladanthus mixtus* (L.) Oberpr. and *Vogt Vogtia annua* (L.) Oberpr.and Sonboli. 2éme Edition du Colloque International sous le thème : « Sciences et Technologies au Service de l'Environnement, le 23-24 Juin à la Faculté des sciences, Tétouan.

7- Boussaoudi I, Sammoudi R., Nejjar El ansari Z., El mihyaoui A., Benkaddour R., Bouras M., EL Bouzdoudi B., & Lamarti A. (2016). Comparative study of *Origanum grosii* essentiel oil. 2éme congrès internationale Substances naturelles et Développement Durable le 19-21 mai à la Faculté des sciences de Rabat, page 168.

8- Boussaoudi I., Nejjar El Ansari Z., El mihyaoui A., Benkaddour R., Hamdoun O., Candela Castillo M. E., Maouni A., & Lamarti A. (2019). Determination of bioactive

compounds of sweet bay (*Laurus nobilis* L.) from Northern Morocco. Premier Colloque International sur la Valorisation des Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc le 02-04 Novembre, Ecole Normal supérieur de Tétouan.

9- Hamdoun O., Nejjar El Ansari Z., El Mihyaoui A., Benkaddour R., Boussaoudi I., & Lamarti A. (2019). Domestication and cloning of the aromatic and medicinal plants. Premier Colloque International sur la Valorisation des Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc. Premier Colloque International sur la Valorisation des Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc le 02-04 Novembre, Ecole Normal supérieur de Tétouan.

Communication Orale

10- Arnao MB, Castejón A, Giraldo M, El Mihyaoui A, Cano A., & Hernández-Ruiz J. (2021). Fitomelatonina como Alternativa a la Melatonina Sintética: Contenido en algunas Plantas Aromáticas de Interés. 11º Congreso de Fitoterapia de la Asociación Española de Fitoterapia (SEFIT) le 13-16 Octobre, Sant Joan d'Alacant, Alicante, Espagne.

11- El mihyaoui A, Candela Castillo M. E., Requena Candela M. E., Boussaoud I., & Lamarti A. (2019). Antioxidant activity of two aromatic and medicinal plants from northern morocco. 7éme Symposium International des Plantes Aromatiques et Médicinales «SIPAM 2019», le 18-20 Avril à la Faculté des sciences, El Jadida.

12- Benkaddour R, Nejjar El Ansari Z., Boussaoudi I., Hamdoun O., El Mihyaoui A., & Lamarti A. (2019). Micropropagation of Origanum compactum Benth, an endemic, medicinal and aromatic herb of Morocco. Premier Colloque International sur la Valorisation des Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc. Premier Colloque International sur la Valorisation des Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc le 02-04 Novembre, Ecole Normal supérieur de Tétouan.

13- Boussaoudi I., Candela Castillo M. E., Cano A., Maouni A., El mihyaoui A., & Lamarti A. (2019). Dosage des composes bioactifs de *Laurus nobilis* l. 7éme Symposium International des Plantes Aromatiques et Médicinales « SIPAM 2019 », le 18-20 Avril à la Faculté des sciences, El Jadida.

14- El mihyaoui A., Lamarti A., Candela Castillo, M. E., & Requena Candela M. E. (2018). Analytical extraction with different solvents for evaluation of antioxidant potential of two aromatic and medicinal plants *Cladanthus mixtus* and *Matricaria chamomilla*. 1éme Edition de la conférence Internationale Technologie, Innovation et d'Information, le 17-18 Mars à l'ENSA, Tétouan.

15- El mihyaoui A., Lamarti A., Candela Castillo M. E., & Requena Candela. (2018). Bioactive compounds in two aromatic and medicinal wild plants: *Matricaria*

chamomilla L. (wild chamomile) and *Cladanthus mixtus* L. Oberpr. and Vogt. (Moroccan chamomile). 2éme Edition du Colloque International sous le thème : « Sciences et Technologies au Service de l'Environnement, le 23-24 Juin à la Faculté des sciences, Tétouan.

16- Nejjar El Ansari Z., El bouzdoudi B., El mihyaoui A., Bouras M., & Lamarti A (2017). Conservation des ressources en plantes aromatiques et médicinales : cas de *thymus* SPP. Colloque International des Jeunes Chercheurs CIJC2017, le 18-19 Décembre à la faculté des sciences –l'Université Abdelmalek Essaadi de Tétouan.

17- El mihyaoui A., Candela Castillo M. E., Requena Candela M. E., El Bouzdoudi B., Nejjar El Ansari Z., & Lamarti A. (2017). Polyphénols Contenus dans deux plantes aromatiques et médicinales sauvages : *Matricaria chamomilla* L. (La camomille sauvage) et *Cladanthus mixtus* L. Oberpr.et Vogt. (Camomille marocain). Colloque International des Jeunes Chercheurs CIJC2017, le 18-19 Décembre à la faculté des sciences –l'Université Abdelmalek Essaadi de Tétouan.

18- El bouzdoudi B, Rahmouni S., Nejjar El Ansari Z., El mihyaoui A., Bouras M., & Lamarti A. (2017). Caracterisation chimique des pericarpes des gousses de caroubiers (*Ceratonia siliqua* l., fabaceae) sylvestres et cultives. Colloque International des Jeunes Chercheurs CIJC2017, le 18-19 Décembre à la faculté des sciences –l'Université Abdelmalek Essaadi de Tétouan.

Liste des figures

Figure 1:*Cladanthus mixtus* L. 9
Figure 2:*Matricaria chamomilla* L. 11
Figure 3:Structure d'unité de base des phénols 17
Figure 4:Les différentes voies principales de synthèse des polyphénols dans les plantes 18
Figure 5:Structure de base des flavonoïdes 18
Figure 6:Structure de quelques flavonoïdes 20
Figure 7:Structure de quelques acides phénoliques 21
Figure 8:Structure de base de xanthone 22
Figure 9:Structure de quelques coumarins 23
Figure 10:Structure du resvératrol 23
Figure 11:Structure de base de lignanes 24
Figure 12:Structure de quelques terpénoïdes 25
Figure 13:Les voies biosynthétiques des terpénoïdes chez les plantes avec la compartimentation sub-cellulaire 26
Figure 14:Etapes de la préparation de la poudre des différents organes des plantes étudiées 41
Figure 15:Filtration sous vide des extraits de méthanol. 42
Figure 16:Evaporation des extraits méthanoliques à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide 43
Figure 17:Etape de préparation des extraits méthanoliques pour l'analyse HPLC-MS. 43
Figure 18:Analyse des extraits végétaux par HPLC-MS. 44
Figure 19:Analyse des extraits végétaux par GC-MS. 45
Figure 20:Echantillons prêts pour l'analyse par GC-MS. 45
Figure 21:Evaporation des échantillons pour l'analyse de la phytomélatonine dans un SpeedVac couplé à un piège à vapeur RVT400 réfrigéré 46
Figure 22:Analyse de la phytomélatonine par HPLC-FLUO. 47
Figure 23:Chromatogrammes de HPLC-MS des extraits de *Cladanthus mixtus*. 49
Figure 24:Chromatogrammes de HPLC-MS des extraits de *Matricaria chamomilla*. 53
Figure 25:Chromatogrammes de GC-MS des extraits méthanoliques de *Cladanthus mixtus*. 56
Figure 26:Chromatogrammes de GC-MS des extraits méthanoliques de *Matricaria chamomilla*. 68
Figure 27:Chromatogramme représentatif de standard la mélatonine mesurée par HPLC-FLUO. 82

Figure 28:Courbe de régression linéaire du standard de la mélatonine. 83
Figure 29:Chromatogramme représentatif d'un échantillon de feuille de *Cladanthus mixtus* mesuré par HPLC-FLUO. 83
Figure 30:Chromatogramme représentatif d'un échantillon de feuille de *Matricaria chamomilla* mesuré par HPLC-FLUO. 84
Figure 31:Préparation des extraits d'acétate d'éthyle et aqueux. 95
Figure 32:Mesure d'absorbance par spectrophotomètre. 96
Figure 33:Les échantillons testés par le DPPH. 98
Figure 34:Gamme d'étalonnage de l'acide gallique. 99
Figure 35:Gamme d'étalonnage de la quercétine. 99
Figure 36:Activité antioxydante des extraits de *Cladanthus mixtus* par le test ABTS. 103
Figure 37:Activité antioxydante des extraits de *Cladanthus mixtus* par le test DPPH. 104
Figure 38:Activité antioxydante des extraits de *Matricaria chamomilla* par le test ABTS.. 105
Figure 39:Activité antioxydante des extraits de *Matricaria chamomilla* par le test DPPH.. 106
Figure 40:Production d'ABTS •+ et de DPPH•+ 107
Figure 41:Pourcentage d'activité antioxydante dans différents organes de *Matricaria chamomilla* par tests ABTS et DPPH. 109
Figure 42:Pourcentage d'activité antioxydante dans différents organes de *Cladanthus mixtus* par tests ABTS et DPPH. 109
Figure 43:Pourcentage en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de *Cladanthus mixtus*. 110
Figure 44:Pourcentage en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de *Matricaria chamomilla*. 111
Figure 45:Pourcentage en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits aqueux et organiques de *Cladanthus mixtus*. 111
Figure 46:Pourcentage en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits aqueux et organiques de *Matricaria chamomilla*. 112
Figure 47:Préparation des inoculums microbiens dans des conditions stériles. 122
Figure 48:Préparation des plaques de la technique de micro-dilution. 122
Figure 49:Technique de détermination de CMB et CMF. 123
Figure 50:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Cladanthus mixtus* sur les cellules MRC-5. 140
Figure 51:Évaluation morphologique des cellules MRC-5 traitées avec les extraits de *Cladanthus mixtus*. 141

Figure 52:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Cladanthus mixtus* sur des cellules MCF-7. 142
Figure 53:Évaluation morphologique des cellules MCF-7 traitées avec les extraits de *Cladanthus mixtus*. 143
Figure 54:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Cladanthus mixtus* sur des cellules PC3. 144
Figure 55:Évaluation morphologique des cellules PC-3 traitées avec les extraits de *Cladanthus mixtus*. 145
Figure 56:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Matricaria chamomilla* sur les cellules MRC-5. 146
Figure 57:Évaluation morphologique des cellules MRC-5 traitées avec les extraits de *Matricaria chamomilla*. 147
Figure 58:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Matricaria chamomilla* sur des cellules MCF-7. 148
Figure 59:Évaluation morphologique des cellules MCF-7 traitées avec les extraits de *Matricaria chamomilla*. 149
Figure 60:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Matricaria chamomilla* dans des cellules PC-3. 150
Figure 61:Évaluation morphologique des cellules PC-3 traitées avec les extraits de *Matricaria chamomilla*. 151
Figure 62:Résultats comparés de l'évaluation de l'effect des extraits de *Cladanthus mixtus* sur les cellules cancéreuses MRC-5, MCF-7 et PC-3. 155
Figure 63:Résultats comparés de l'évaluation de l'effect des extraits de *Matricaria chamomilla* sur les cellules cancéreuses MRC-5, MCF-7 et PC-3. 157

Liste des tableaux

Tableau 1: Nombre d'espèces des principales familles de la flore vasculaire du Maroc..... 7
Tableau 2: Ethnopharmacologie de *Matricaria chamomilla* 13
Tableau 3:Localisation géographique et coordonnées GPS des espèces végétales étudiées .. 40
Tableau 4:Rendement d'extraction des différents organes de *Matricaria chamomilla* et *Cladanthus mixtus*. 48
Tableau 5:Composés phénoliques des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenus par HPLC-MS. 51
Tableau 6:Composés phénoliques des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenus par HPLC-MS. 54
Tableau 7:Groupes de biomolécules des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenus par GC-MS. 57
Tableau 8:Composition chimique en terpénoïdes des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS. 58
Tableau 9:Composition chimique en esters des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS. 59
Tableau 10:Composition chimique en alcools des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS. 60
Tableau 11:Composition chimique en alcanes des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS. 61
Tableau 12:Composition chimique en acides gras des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS. 62
Tableau 13:Composition chimique en acides organiques des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS. 62
Tableau 14:Composition chimique en benzène et ses dérivés des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS. 63
Tableau 15:Composition chimique en phénols des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS. 63
Tableau 16:Composition chimique en cétones, carbonyles et amines des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS. 64
Tableau 17:Composition chimique en pyrrolidines, pyrimidines et stéroïdes des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS..... 65

Tableau 18:Reste de composition chimique des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS. 66
Tableau 19:Groupes de biomolécules des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 68
Tableau 20:Composition chimique en acides gras des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 70
Tableau 21:Composition chimique en terpénoïdes des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 71
Tableau 22:Composition chimique en esters des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 73
Tableau 23:Composition chimique en phénols des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 74
Tableau 24:Composition chimique en alcools des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 75
Tableau 25:Composition chimique en aldéhydes des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 76
Tableau 26:Composition chimique en terpènes lactones des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 76
Tableau 27:Composition chimique en alcanes des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 77
Tableau 28:Composition chimique en amines des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 78
Tableau 29:Composition chimique en acides organiques des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 79
Tableau 30:Composition chimique en vitamines et benzène et ses dérivés des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 79
Tableau 31:Reste de composition chimique des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS. 80
Tableau 32:Teneur en phytomélatonine dans les quatre organes étudiés de *Cladanthus mixtus* et *Matricaria chamomilla*..... 85
Tableau 33:Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques de *Cladanthus mixtus*. 100
Tableau 34:Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits aqueux et organiques de *Cladanthus mixtus*. 101

Tableau 35:Teneur en polyphénols et flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de *Matricaria chamomilla*. 101
Tableau 36:Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits aqueux et organiques de *Matricaria chamomilla* 102
Tableau 37:Corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs totales en phénols et en flavonoïdes des extraits de *Matricaria chamomilla*. 114
Tableau 38:Corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs totales en phénols et en flavonoïdes des extraits de *Cladanthus mixtus*. 115
Tableau 39:Souches pathogènes humains utilisées et leurs origines. 121
Tableau 40:Résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de *Cladanthus mixtus* et d'un agent antibiotique de référence. 124
Tableau 41:Résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de *Matricaria chamomilla* et d'un agent antibiotique de référence. 125
Tableau 42:Résultats de l'activité antifongique des extraits méthanoliques de *Cladanthus mixtus* et d'un antifongique de référence. 126
Tableau 43:Résultats de l'activité antifongique des extraits méthanoliques de *Matricaria chamomilla* et d'un antifongique de référence. 126

Liste des abréviations

AAH	Activité antioxydante hydrophile
AAL	Activité antioxydante lipophile
AAT	Activité antioxydante totale
ABTS	Acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)
ANOVA	Analyse de la variance
ATCC	Collection Américaine de Culture Type
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMF	Concentration Minimale
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
DMSO	Dimethyl sulfoxide
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EAG	Equivalent d'acide gallique
EQU	Equivalent de quercétine
ET	Equivalant Trolox
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HE	Huile essentielle
HPLC-FLUO	Chromatographie en phase liquide à haute performance avec détection de fluorescence
HPLC-MS	Chromatographie en phase liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse
MHA	Muller Hinton Agar
MRSA	Staphylococcus aureus résistant à la méticilline
MS	Matière sèche
OMS	Organisation mondiale de la santé
PDA	Gélose pomme de terre dextrose
SDA	Gélose Sabouraud dextrose
UFC	Unité Formant Colonie

Plantes

C. mixtus	*Cladanthus mixtus*
M. chamomilla	*Matricaria chamomilla*

Souches microbiennes

A. fumigatus	*Aspergillus fumigatus*
C. albicans	*Candida albicans*

E. coli	*Escherichia coli*
P. aeruginosa	*Pseudomonas aeruginosa*
P. asperum	*Pelargonium asperum*
P. mirabilis	*Proteus mirabilis*
S. aureus	*Staphylococcus aureus*
S. faecalis	*Enterococcus faecalis*
S. typhimurium	*Salmonella Typhimurium*
T. rubrum	*Trichophyton rubrum*

Sommaire

Résumé .....
Abstract .....
Resumen .....
Publications i
Communications scientifiques ii
Liste des figures vi
Liste des tableaux ix
Liste des abréviations xii
Sommaire xiv
INTRODUCTION GENERALE 1
OBJECTIFS ET PLAN DE TRAVAIL 2
1. Objectifs généraux 2
2. Objectifs spécifiques 3
3. Plan de travail 3
PREMIERE PARTIE : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE 4
I. Les plantes aromatiques et médicinales 5
1. Introduction 5
1.1. Les avantages des plantes médicinales 6
1.2. Les inconvénients des plantes médicinales 6
2. Présentation de la famille des Asteraceae 6
2.1. Généralité sur la famille 6
2.2. Astéracées au Maroc 7
II. Etude ethnobotanique des plantes étudiées 8
1. *Cladanthus mixtus* 8
1.1. Taxonomie et synonyme 8
1.2. Description botanique et écologique 8
1.3. Distribution géographique 9
1.4. Usage traditionnel 9
2. *Matricaria chamomilla* 10
2.1. Taxonomie et synonyme 10
2.2. Description botanique et écologique 10
2.3. Distribution géographique 11
2.4. Usage traditionnel 11
III. La phytochimie 16

1. Introduction 16
2. Métabolites secondaires 16
2.1. Les phénylpropanoïdes 16
2.1.1. Biosynthèse des Polyphénols dans les plantes 17
2.1.2. Les flavonoïdes 18
2.1.3. Les acides phénoliques 20
2.1.4. Les tannins 21
2.1.5. Les xanthones 22
2.1.6. Les coumarines 22
2.1.7. Les stilbènes hydroxylés 23
2.1.8. Les lignanes 23
2.2. Les terpénoïdes 24
2.2.1. Biosynthèse des terpénoïdes dans les plantes 25
2.2.2. Sesquiterpénoïdes 26
2.2.3. Diterpénoïdes 26
2.2.4. Triterpénoïdes 27
2.3. Les alcaloïdes 27
3. Hormones 27
4. Méthodes d'extraction des polyphénols 28
4.1. Méthodes conventionnelles 28
4.2. Méthodes avancées 28
4.2.1 Extraction assistée par ultrasons (EAU) 28
4.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (EMA) 29
4.2.3. Extraction accélérée par solvant (EAS) 29
4.2.4. Extraction par fluide supercritique (EFS) 30
4.2.5. Extraction assistée par enzyme 30
4.2.6. Extraction avec des liquides ioniques (Ils) 31
IV- Activités biologiques 31
1. Activité antioxydante 31
2. Activité antimicrobienne 32
3. Activité antiproliférative 34
4. Autres activités 35
DEUXIEME PARTIE : 37
TRAVAUX EXPERIMENTAUX 37

Chapitre I : Composition chimique et phytomélatonine des extraits des plantes sélectionnées du Nord du Maroc 38
I. Introduction 38
II. Matériel et méthodes 39
1. Appareillage et outils 39
2. Réactifs 39
3. Matériel végétal 40
4. Préparation des extraits méthanoliques bruts 42
5. Analyse chimique des composés phénoliques par HPLC-MS 43
5.1. Extraction et purification des composés phénoliques 43
5.2. Analyse chromatographique par HPLC-MS 44
6. Analyse chimique des extraits méthanoliques par GC-MS 45
7. Analyse de la phytomélatonine 46
7.1. Préparation des échantillons 46
7.2. Analyse par HPLC-FLUO 46
8. Analyses statistiques 47
III. Résultats 47
1. Rendement d'extraction des composés phénoliques 47
2. Quantification des composés phénoliques par HPLC-MS 48
2.1. Acides phénoliques et flavonoïdes caractérisés dans *Cladanthus mixtus* 48
2.2. Acides phénoliques et flavonoïdes caractérisés dans *Matricaria chamomilla* 51
3. Bio-constituants volatils dans les plantes étudiées détectés par analyse GC-MS 54
3.1. Constituants biochimiques des différents organes de *Cladanthus mixtus* 54
3.1.1. Terpénoïdes 57
3.1.2. Esters 58
3.1.3. Alcools 59
3.1.4. Alcanes 60
3.1.5. Acides gras et acides organiques 61
3.1.6. Benzène et ses dérivés et phénols 62
3.1.7. Cétones, carbonyles et amines 64
3.1.8. Pyrrolidines, pyrimidines et stéroïdes 65
3.1.9. Autres groupes 65
3.2. Constituants biochimiques des différents organes de *Matricaria chamomilla* 66
3.2.1. Acides gras 69
3.2.2. Terpénoïdes 71

3.2.3. Esters 72
3.2.4. Phénols 74
3.2.5. Alcools et aldéhydes 75
3.2.6. Terpènes lactones et alcanes 76
3.2.7. Amines et acides organiques 78
3.2.8. Vitamines, benzène et ses dérivés 79
3.2.9. Autres groupes 80
4. Quantification de phytomélatonine par HPLC-FLUO 82
IV. Discussion 85
V. Conclusion 91
Chapitre II : Activité antioxydante des extraits de plantes sélectionnées du Nord du Maroc .. 93
I. Introduction 93
II. Matériel et méthodes 93
1. Appareillage et outils 93
2. Réactifs 94
3. Les extraits de *Cladanthus mixtus* et *Matricaria chamomilla* utilisés 94
3.1. Les extraits méthanoliques 94
3.2. Préparation des extraits aqueux (tampon phosphate) et organiques (acétate d'éthyle) 94
4. Dosage des composés phénoliques 95
4.1. Détermination de la teneur en polyphénols 95
4.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes 96
5. Détermination de l'activités antioxydantes par le test de piégeage ABTS 97
5.1. Préparation de mélange réactionnel lipophile pour les extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle 97
5.2. Préparation de mélange réactionnel hydrophile pour les extraits aqueux 97
6. Détermination de l'activités antioxydantes par le test de piégeage DPPH 98
7. Analyses statistiques 98
III. Résultats 99
1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes 99
1.1. Courbes d'étalonnage 99
1.2. Dosage des extraits de *Cladanthus mixtus* 99
1.2.1. Extraits méthanoliques 99
1.2.2. Extraits aqueux et organiques 100
1.3. Dosage des extraits de *Matricaria chamomilla* 101
1.3.1. Extraits méthanoliques 101

1.3.2. Extraits aqueux et organiques 101
2. Activité antioxydante des extraits de *Cladanthus mixtus* 102
2.1. Test de piégeage ABTS 102
2.2. Test de piégeage DPPH 103
3. Activité antioxydante des extraits de *Matricaria chamomilla* 104
3.1. Test de piégeage ATBS 104
3.2. Test de piégeage DPPH 106
IV. Discussion 107
V. Conclusion 118
Chapitre III : Activité antimicrobienne des extraits des plantes sélectionnées du Nord du Maroc 119
I. Introduction 119
II. Matériel et méthodes 120
1. Appareillage et outils 120
2. Réactifs 120
3. Les extraits végétaux utilisés 120
4. Souches testées 120
5. Evaluation de l'activité antimicrobienne 121
5.1. Technique de micro-dilution et préparation de l'inoculum 121
5.1. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF) 123
III. Résultats 123
1. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques 123
1.1. Les extraits de *Cladanthus mixtus* 123
1.2. Les extraits de *Matricaria chamomilla* 124
2. Activité antifongique des extraits méthanoliques 125
2.1. Les extraits de *Cladanthus mixtus* 125
2.2. Les extraits de *Matricaria chamomilla* 126
IV. Discussion 127
V. Conclusion 134
Chapitre IV : Activité anticancéreuse des extraits des plantes sélectionnées du Nord du Maroc 136
I. Introduction 136
II. Matériel et méthodes 137
1. Appareillage et outils 137
2. Réactifs 137

3. Les extraits végétaux utilisés 137
4. Études *in vitro* 137
4.1. Cultures cellulaires 137
4.2. Traitement cellulaire 138
4.3. Analyse morphologique 138
4.4. Microculture tetrazolium assay (test MTT) 138
5. Analyses statistiques 138
III. Résultats 139
1. Effet cytotoxique *in vitro* de *Cladanthus mixtus* 139
1.1. Fibroblaste pulmonaire humain normal MRC-5 139
1.2. Cellule carcinome mammaire humain MCF-7 141
1.3. Cellule de carcinome humain de la prostate PC-3 143
2. Effet cytotoxique *in vitro* de *Matricaria chamomilla* 145
2.1. Fibroblaste pulmonaire humain normal MRC-5 146
2.2. Cellule carcinome mammaire humain MCF-7 148
2.3. Cellule de carcinome humain de la prostate PC-3 150
IV. Discussion 153
V. Conclusion 162
Conclusion générale 163
Perspectives 166
Références bibliographiques 167
Annexes 200

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes médicinales sont fréquemment utilisées comme remèdes dans les pays en développement. Par exemple, en Afrique, plus de 80 % des habitants dépendent des médecines traditionnelles pour se soigner (Emmanuel et Didier, 2012 ; Komoreng et al., 2017). Aussi, le continent africain se caractérise par une grande variété d'espèces végétales, utilisées principalement pour la médecine. Ainsi, parmi les 300 000 espèces végétales identifiées dans le monde, plus de 200 000 espèces existent en Afrique tropicale et sont utilisées pour leurs propriétés saines. Le Maroc se caractérise par une bonne position géographique (un pays avec des côtes méditerranéennes et atlantiques) qui lui a permis d'avoir une diversité végétale intéressante (Scherrer et al., 2005 ; Ghanmi et al., 2011). En effet, parmi plus de 7 800 espèces recensées en Afrique du Nord, le Maroc présente la plus grande biodiversité (Dobignard et Chatelain, 2013). Les plantes médicinales sont la principale source de composés bioactifs au Maroc, et la majorité d'entre elles sont utilisées en phytothérapie (Bouyahya et al., 2016). En effet, la phytothérapie est une tradition culturelle importante au Maroc (Chaachouay et al., 2022) et joue un rôle central dans la vie quotidienne de nombreux marocains ruraux et urbains (Eddouks et al., 2017).

Les recherches menées ces dernières années ont montré que les plantes contiennent des composés biologiquement actifs, principalement des polyphénols. Ils sont liés à la prévention des processus inflammatoires, des maladies neurodégénératives, des cancers et des troubles cardiovasculaires ainsi qu'aux propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et antiparasitaires (Pinto et al., 2021).

De nombreuses études scientifiques ont montré que les radicaux libres jouent un rôle majeur dans le développement de différentes maladies et dysfonctionnements, tels que le cancer, les maladies cardiaques, le vieillissement, les cataractes et la détérioration du système immunitaire (García-Conesa et Larrosa, 2020). Les radicaux libres peuvent être éliminés par les antioxydants, qui inhibent le taux d'oxydation des lipides et des protéines et protègent les cellules des dommages oxydatifs (Asimi et al., 2013).

D'autre part, les infections microbiennes ont été considérées comme un véritable problème de santé publique, notamment chez les patients dont le système immunitaire est affaibli (virus de l'immunodéficience humaine, lymphomes, greffons, diabète…) (Zuzarte et al., 2012). L'émergence de souches résistantes aux antimicrobiens actuels associée à la modification du spectre clinique de pathogènes et la surutilisation des médicaments

conventionnels ont encouragé la recherche de produits naturels alternatifs tels que les extraits et les HE de plantes médicinales (Sabo et Knezevic, 2019).

D'autres composés associés à des activités cytotoxiques présents dans certaines plantes sont les phénols, les flavonoïdes et les terpénoïdes en tant que principaux métabolites secondaires (Süntar et al., 2011 ; Topçu, 2006).

Matricaria chamomilla L., communément appelée camomille, est une plante médicinale bien connue de la famille des Astéracées. C'est une plante herbacée annuelle qui peut pousser sur tous les types de sol, et qui résiste au froid. *M. chamomilla* est originaire du sud et de l'est de l'Europe et du nord et de l'ouest de l'Asie (Lim, 2014). De nos jours, elle est largement répandue dans le monde entier (Singh et al., 2011). Elle a été utilisée traditionnellement dans plusieurs pays pour soigner un certain nombre de maladies, notamment les troubles gastro-intestinaux (Menale et al., 2021), le rhume (Güzel et al., 2015), les troubles hépatiques (Živković et al., 2020), neuropsychiatriques et respiratoires (Neves et al., 2009). Aussi, cette plante est largement utilisée contre la douleur, les infections (Mikou et al., 2016), et pour soigner les maladies de la peau, des yeux et de la bouche (Petrakou et al., 2020). En outre, *Cladanthus mixtus* L., aussi appelée la camomille marocaine, est une plante aromatique et médicinale de la même famille, que l'on trouve généralement dans les bois, les champs, les pâturages, les plaines sablonneuses et pierreuses et les basses montagnes (Jahandiez et Maire, 1934). Au Nord du Maroc, elle pousse dans les sols sablonneux le long de la côte atlantique (Quezel et Santana, 1963). Elle est utilisée comme anxiolytique et pour rééquilibrer le système nerveux central, dans les dépressions nerveuses, les troubles du foie, les estomacs légers et les colites colibacillaires (Buckle, 2003). L'infusion de feuilles et de fleurs de camomille marocaine est utilisée dans la médecine traditionnelle marocaine pour le traitement de différentes affections (Bellakhdar, 1997 ; Merghoub et al., 2009).

OBJECTIFS ET PLAN DE TRAVAIL

1. Objectifs généraux

Dans le cadre d'une contribution à la valorisation du patrimoine naturel marocain, nous pensons à travers nos recherches contribuer à une meilleure connaissance sur les molécules qui constituent la base des principes actifs que l'on peut retrouver dans les différent organes (fleurs, feuilles, tiges et racines) des plantes *Cladanthus mixtus* et *Matricaria chamomilla* sylvestres marocaines et l'étude de leur activités antioxydante, antimicrobienne et anticancéreuse. En outre, on a veillé à la diffusion des résultats et le transfert technologique à travers la publication des articles scientifiques et la participation à diverses manifestations scientifiques.

2. Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques de cette étude consistent en :

- La caractérisation de deux plantes médicinales sylvestres de la famille des astéracées reparties dans la région de Beni Moussa Tétouan- Nord du Maroc.
- Mise au point de protocoles d'extraction des métabolites secondaires.
- Analyse qualitative et quantitative de la composition phytochimique et en mélatonine des deux plantes par chromatographie (GC-MS, HPLC-MS, HPLC-FLUO) et spectrophotométrie.
- Dosage des polyphénols et des flavonoïdes des organes des deux plantes.
- Analyse de la teneur en mélatonine dans différents organes des deux plantes
- Etude et comparaison de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes.
- Etude et comparaison de l'activité antimicrobienne des extraits des deux plantes.
- Etude et comparaison de l'activité anticancéreuse des extraits des deux plantes.

3. Plan de travail

Par une "Introduction générale et objectifs" nous avons commencé ce manuscrit. Après, on a entamé la première partie du manuscrit par une "Revue bibliographique", dans laquelle nous présentons l'état de connaissance sur les plantes aromatiques et médicinales, une étude ethnobotanique des plantes étudiées (*Cladanthus mixtus* L. et *Matricaria chamomilla* L.), incluant la taxonomie, la distribution géographique, et l'usage traditionnelle, la phytochimie et les activités biologiques.

La partie "travaux expérimentaux" aborde la présentation classique du matériel végétal choisi ainsi que des méthodes utilisées pour l'étudier. Cette partie est subdivisée en quatre chapitres.

Le premier chapitre aborde la composition chimique et phytomélatonine des extraits des plantes sélectionnées.

Dans le deuxième, le troisième et le quatrième chapitre nous avons étudié les activités antioxydante, antimicrobienne et anticancéreuse respectivement.

Les quatre chapitres auront une partie résultat qui présente les apports scientifiques et une partie discussion. La comparaison des résultats de deux plantes a aussi été faite.

Notre manuscrit se termine par une conclusion générale et quelques perspectives.

PREMIERE PARTIE :

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les plantes aromatiques et médicinales

1. Introduction

Les plantes aromatiques et médicinales sont traditionnellement utilisées depuis l'antiquité pour lutter contre les maladies (Bouyahya et al., 2016).

L'hétérogénéité écologique du Maroc et ses conditions atmosphériques diversifiées sont les facteurs principaux qui permettent la croissance de 4200 espèces, dont 800 sont médicinales et/ou aromatiques. Les experts ont évalué 280 espèces, 100 sont exportées séchées et 20 espèces sont destinées pour l'extraction des extraits et des huiles essentielles pour la parfumerie et l'industrie cosmétique (Zrira, 2017).

Au niveau de la région orientale, plus de 148 espèces faisant partie de 60 familles sont mises à profit. Ces espèces appartiennent généralement à la famille des Lamiacées et des Astéracées. En outre, les plantes sous forme de poudre (usuellement les feuilles) sont utilisées par voie orale contre les maladies cardiovasculaires et respiratoires, les allergies, les problèmes dermatologiques, les désordres de l'appareil digestive et le diabète (Fakchich et Elachouri, 2014).

Au Moyen Atlas (région d'Ain Leuh), 123 herbes appartenant à 53 familles ont été caractérisés, avec une dominance de la famille des Lamiacées (11,4%), suivie des Rosacées (8,94%) et des Astéracées (8,13%) (Akdime et al., 2015). Au niveau de la zone de Gharb, les habitants utilisent constamment les plantes aromatiques et médicinales contre les maladies, avec 20 herbes utilisées pour traiter les infections microbiennes, les maladies digestives et les maux de têtes (Bouhlal et al., 2017).

Il existe plusieurs recherches sur les PAM des différentes régions du Maroc : Rif (Bachar et al., 2016), centre (El Amri et al., 2015), Haut Atlas occidental (Sbai-Jouilil et al., 2017), Anti-Atlas occidental (Barkaoui et al., 2017), nord-ouest (Bouyahya et al., 2017a) et d'autres.

Traditionnellement, les PAM sont aussi destinées pour les nécessités des aromates alimentaires et de l'herboristerie de la Pharmacopée. Elles jouent un rôle socioéconomique très important (Benjilali et Zrira, 2005).

Des extraits et des huiles essentielles de plantes médicinales marocaines ont montré plusieurs propriétés potentielles, notamment des activités antibactériennes (Al-Jadidi et Hossain, 2016; Bouyahya et al., 2017b), antioxydantes (Marmouzi et al., 2018), antitumorales (Belayachi et al., 2013; Chaouki et al., 2015) et antivirales (Amzazi et al., 2003; El Moussaoui et al., 2013).

1.1.Les avantages des plantes médicinales

Les plantes médicinales ont généralement moins d'effets secondaires. C'est l'un de leurs principaux avantages. Un autre avantage de la phytothérapie est le coût. Les herbes coûtent beaucoup moins cher que les médicaments de l'ordonnance. Les études, les tests et le marketing augmentent considérablement le coût des médicaments. Les plantes médicinales ont un autre avantage qui est leur disponibilité sans ordonnance et certaines plantes simples, comme la permenthe et la camomille, peuvent être cultivées à la maison. Dans certaines régions reculées du monde, les herbes peuvent être le seul traitement disponible pour la majorité des gens (Singh et Sedha, 2018).

1.2.Les inconvénients des plantes médicinales

Un herboriste ne serait pas en mesure de traiter un traumatisme grave, comme une jambe cassée, ni de guérir une appendicite ou une crise cardiaque aussi efficacement qu'un médecin conventionnel utilisant des méthodes modernes, des tests de diagnostic, chirurgie et médicaments. La médecine moderne traite les maladies soudaines et les accidents beaucoup plus efficacement que les traitements à base de plantes ou les traitements alternatifs. Un autre inconvénient de la phytothérapie est le risque très réel de surdosage des herbes, dans ce cas les plantes deviennent toxiques. Bien que l'on puisse affirmer que la même chose peut se produire avec des médicaments, tels qu'accidentellement une surdose de remèdes contre le rhume. Nombreuses herbes ne sont pas accompagnées d'instructions ou de notices d'accompagnement. Pourtant les produits à base de plantes ne sont pas strictement réglementés, les consommateurs courent également le risque d'acheter des herbes de qualité inférieure. La qualité des produits à base de plantes peut varier selon les lots, les marques ou les fabricants. Cela peut rendre beaucoup plus difficile de prescrire la bonne dose de l'herbe (Singh et Sedha, 2018).

2. Présentation de la famille des Asteraceae

Pour bien placer les deux plantes choisies (*Cladanthus mixtus* L. Oberpr. & Vogt. et *Matricaria chamomilla* L.) dans la systématique, nous ferons tout d'abord une description concise de la famille des Astéracées à laquelle appartiennent ces deux herbes.

2.1. Généralité sur la famille

La famille des Asteraceae, également connue sous le nom de famille des Compositae, est l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs. Cette famille de plantes comprend 8 à 10 % d'espèces d'angiospermes (Funk et al., 2009). Elle se composent de trois sous-familles : Asteroideae, Barnadesioideae et Cichorioideae (Medeiros-Neves et al., 2018). La famille

compte également environ 1 600 à 1 700 genres, et entre 25 000 à 35 000 espèces au monde (Nikolić et al., 2015 ; Tušek et al., 2016).

Ces plantes se caractérisent par leur grande adaptabilité à différents habitats ou conditions environnementales. On les trouve sur tous les continents, sauf l'Antarctique (Nikolić et al., 2015). La famille des Asteraceae est également connue comme une famille cosmopolite, car elle a une grande concentration d'espèces dans différentes régions telles que tempérées, tempérées froides et subtropicales (Angiosperm Phylogeny Website APG, 2017).

Certaines plantes de cette famille ont déjà été utilisées dans l'industrie alimentaire pour développer des aliments fonctionnels (Caleja et al., 2015 ; Ruiz-Ruiz et al., 2015).

En ce qui concerne sa composition chimique, les Astéracées sont la famille où un groupe de polyacétylènes est le plus répandu, qui est un polymère organique présent dans les racines des plantes (Medeiros-Neves et al., 2018). Elle est également riche en sesquiterpènes, un groupe de terpènes à 15 carbones très diversifiés, qui sont les éléments majeurs des huiles essentielles (HE) et exercent différentes activités biologiques (Toyang et Verpoorte, 2013).

2.2. Astéracées au Maroc

Les Astéracées au Maroc occupent la première place des familles de plantes vasculaires en nombre d'espèces **(Tableau 1)**. Cette famille est encore en pleine évolution et présente des espèces très envahissantes (Bellakhdar, 1997).

Tableau 1: Nombre d'espèces des principales familles de la flore vasculaire du Maroc (Bellakhdar, 1997)

Famille	Nombre d'espèces	Pourcentage
Asteraceae	601	14,3
Fabaceae	471	11,2
Poaceae	351	8,4
Brassicaceae	242	5,8
Caryophyllaceae	236	5,6
Lamiaceae	226	5,4
Apiaceae	174	4,1
Scrophulariaceae (inclus Plantaginaceae)	147	3,5
Autres familles	2448	38,3

II. Etude ethnobotanique des plantes étudiées

1. *Cladanthus mixtus*

1.1. Taxonomie et synonyme

Ormenis est l'un des genres les plus importants de la famille des Astéracées. Récemment, le nom nouvellement adopté au genre Ormenis est Cladanthus, anciennement appelé Chamaemelum (Oberprieler, 2002 ; Greuter et al., 2003 ; Greuter, 2012).

La camomille marocaine est botaniquement connue sous le nom de *Cladanthus mixtus* (L.) Chevall,, avec les synonymes *Anthemis mixta* L., *Chamaemelum mixtum* (L.) Tous., *Chamaemelum mixtum* (L.) Tous. var. *mixtum*, *Chamaemelum mixtum* var. aureum (Durieu) Benedî, *Chamaemelum mixtum* var. *glabrescens* (Maire) Benedî, *Ormenis aurea* Durieu, *Ormenis mixta* (L.) Dumort., *Ormenis mixta* (L.) Dumort. subsp. *mixta*, *Ormenis mixta* subsp. *aurea* (Durieu) Batt., *Ormenis mixta* subsp. *multicaulis* (Braun-Blanq. & Maire) Maire, Ormenis mixta var. aurea (Durieu) Batt., *Ormenis mixta* var. *glabrescens* Maire et *Ormenis multicaulis* BraunBlanq. & Maire (Greuter, 2012 ; African Plant Database,2012).

1.2. Description botanique et écologique

Cladanthus mixtus est une Astéracée chaméphyte bisannuelle à nombreuses tiges dressées (Aafi, 2005) **(Figure 1)**. C'est une plante odorante, annuelle et spontanée (10–40 cm de haut avec des fleurs blanches/jaunes parfumées) qui pousse largement dans le nord du Maroc et le long de la côte atlantique sur des sols sableux (Quézel et al., 1963 ; Zeroual et al., 2021).

Elle appartient aux Astéroïdées, dont les capitules sont composés de fleurs ligulées à la périphérie et de fleurs tubuleuses au centre (Watson et al., 2000).

Les fleurons centraux sont tubuleux et leur corole descendant sur une moitié de l'akène jusqu'à la base de celui-ci. Les akènes sont tous similaires, dénués de pappus, à 3 côtes à peine visibles sur la face interne, lisses extérieurement, un peu tronqués obliquement au sommet, enchâssés dans l'écaille (Nègre, 1962 ; Pottier-Alapetite, 1981).

Les feuilles caulinaires sont pareilles, mais de plus en plus courtement pétiolées jusqu'à être embrassantes. Les capitules groupés en corymbe très lâche sont disposés sur des pédoncules plus au moins longuement nus. Ils sont radiés et atteignent 2cm de diamètre. Les bractées de l'involucre sont oblongues-obtuses, largement scarieuses. Le réceptacle est couvert d'écailles subtriangulaires, scarieuse, ciliées, persistantes axillant toutes une fleur. La racine pivotante uni ou multicaule, à tige atteignant 1m de hauteur, ramifiée dès la base, à rameaux étalés, cylindrique, côtelée, souvent rougeâtre, simple ou ramifiée au moins dans l'inflorescence (Nègre, 1962 ; Pottier-Alapetite, 1981).

Figure 1:*Cladanthus mixtus* L.

1.3. Distribution géographique

C. mixtus est une plante aromatique endémique répartie principalement entre l'ouest septentrional du Maroc (sables de Maâmora à Rabat) et la partie septentrionale du centre du Maroc, y compris les régions de Meknès et d'Agouraï (Jahandiez et Maire, 1934). On la trouve généralement dans les champs et les pâturages sablonneux et pierreux, les forêts et des basses montagnes (Bammi et Douira, 2004).

La Camomille marocaine est une sialophyte qui abonde dans les vides des bioclimats semi-aride et subhumide sur les sols sableux de l'étage thermo- méditerranéen. Au Maroc, elle se rencontre dans deux zones disjointes, la première entre Tanger, Ouezzane, Souk Larbaa, Moulay Bousselham et Azilah, et la seconde entre Kénitra, Sidi Slimane, Khémisset et Rabat (Aafi *et al.*, 2005).

Le Maroc est le principal fournisseur de l'huile essentielle sur le marché international, recherchée en cosmétique, médecine et surtout en parfumerie (Franchomme et al., 2001 ; Buckle, 2003 ; Haddad et al., 2003 ; Benjilali et Zrira, 2005).

1.4. Usage traditionnel

Les fleurs de Camomille marocaine ont été utilisées en médecine traditionnelle marocaine comme infusion pour traiter différentes affections (Bellakhdar, 1997 ; Merghoub et al., 2009).

C. mixtus est utilisé par les naturopathes et les herboristes comme antalgique, antiallergique, anti-inflammatoire, antispasmodique, carminatif, digestif, fébrifuge, fongicide, sudorifique, vermifuge et stimulant de la production de leucocytes (Lahsissene et al., 2009).

C. mixtus est utilisé comme anxiolytique (pour combattre l'anxiété et le stress), contre la dépression nerveuse, les insuffisances hépatiques et gastriques (Haddad et al., 2003).

La décoction des capitules est employée comme stomachique, vermifuge et emménagogue. Aussi, elle est utilisée contre la fièvre et les douleurs abdominales. Les capitules sont frottés sur les boutons pour les assécher et sur les petites blessures pour les cicatriser (Bellakhdar, 1997).

La plante est bien connue et cultivée pour l'extraction de l'huile essentielle de ses parties aériennes, qui est vendue et utilisée en aromathérapie comme aphrodisiaque et antibactérien (Zrira et al., 2007)**.**

Généralement, il n y'a pas assez de travaux sur l'usage traditionnel de cette plante à travers le monde.

2. *Matricaria chamomilla*

2.1. Taxonomie et synonyme

Matricaria chamomilla L. (*Matricaria recutita* L.) est une plante médicinale bien connue de la famille des Asteraceae, qui a été appelée la "star des espèces médicinales" (Ali et al., 2020).

Il s'agit également d'un médicament ancien bien connu, ayant de nombreux noms, tels que Babuna camornile, Babuna, Babunj, Baboonig, camomille, camomille hongroise, camomille romaine, camomille anglaise, camomille allemande, camomilla, camomille fausse douce, camomille simple, camomille flos, la camomille à tête d'épingle, camomille de mai et camomille parfumée (Leung et Foster, 1996 ; Frank et Schilcher, 2005).

La vraie camomille est souvent confondue avec des plantes appartenant au genre Anthemis. Une attention particulière doit être prise pour éviter tout malentendu avec *Anthemis cotula* L., une plante toxique avec une odeur terrible (Franz et al., 2007).

2.2. Description botanique et écologique

M. chamomilla **(Figure 2)** est une plante herbacée annuelle, avec de fines racines fusiformes. La tige dressée ramifiée pousse à une hauteur de 10 à 80 cm. Les feuilles étroites et longues sont bi- à tripennées. Les capitules de *M. chamomilla* sont placés séparément, ont un diamètre de 10 à 30 mm, et sont pédonculés et hétérogames. Les fleurons tubulaires jaune doré à 5 dents mesurent de 1,5 à 2,5 mm de long, se terminant toujours par un tube glanduleux. Les 11 à 27 fleurs blanches de la plante mesurent 6 à 11 mm de long, 3,5 mm de large et sont disposées de manière concentrique. Le réceptacle mesure 6 à 8 mm de large, plat au départ et conique. Le fruit est une cypsèle brun jaunâtre avec 3 à 5 côtes pâles (Lim, 2014 ; Singh et al., 2011).

M. chamomilla peut être cultivé sur n'importe quel type de sol, mais la culture sur des sols riches, lourds et humides doit être évitée. Elle est capable de résister au froid avec des températures allant de 7 °C à 26 °C et des précipitations annuelles de 400 à 1 400 mm par saison, mais elle pousse mieux en plein soleil et nécessite de longues journées d'été et des unités de chaleur élevée pour un rendement optimal en huile essentielle (Alberts, 2009). La plante est une cellule diploïde (2n=18), de nature allogame, présentant une large ségrégation en tant que culture commerciale, et une période de fleuraison commençant à partir de la deuxième semaine de mars (Misra et al., 1999 ; Singh et al., 2011).

Figure 2:*Matricaria chamomilla* L.

2.3. Distribution géographique

M. chamomilla est originaire d'Europe méridionale et orientale et d'Asie septentrionale et occidentale. Elle a été introduite ailleurs et s'est naturalisée en Australie, en Grande-Bretagne et en Amérique du Nord (Lim, 2014 ; Mckay & Blumberg, 2006).

Elle est également cultivée en Allemagne, en Hongrie, en France, en Russie, en Yougoslavie et au Brésil. De nos jours, elle est largement répandue et cultivée. Les plantes peuvent également être trouvées en Afrique du Nord et en Nouvelle-Zélande (Singh et al., 2011). Au Maroc, elle se situe dans deux zones distinctes, la première entre Tanger, Ouezzane, Souk Larbaa, Moulay Bousselham et Azilah, et la seconde entre Kénitra, Sidi Slimane, Khémisset et Rabat (Fennane, 1987).

2.4. Usage traditionnel

M. chamomilla est l'une des plantes médicinales reconnues par leurs usages traditionnels. L'application thérapeutique de ce plant dépend des parties de la plante (fleur,

feuilles, tige et /ou plante entière) et des méthodes de préparation (infusion, décoction, inhalation des vapeurs, bain et compresse) **(Tableau 2).**

En médecine traditionnelle marocaine, plusieurs études de différentes régions ont rapporté que les fleurs représentent la partie la plus utilisée, suivie des feuilles utilisées en infusion et en décoction pour le traitement du diabète, des troubles nerveux antispasmodique, des coliques, de la diarrhée, de la dépression, de l'angine, de l'aphte, des règles douloureuses, de la fièvre, de l'abcès et des infections (Eddouks et al., 2017 ; Idm'hand et al., 2020 ; Mikou et al., 2016 ; Mrabti et al., 2019, 2021) . En Espagne, ils ont utilisé l'infusion de *M. chamomilla* pour la gastralgie, les troubles digestifs, la conjonctivite, la dysménorrhée, le rhume, la toux, les gaz, les infections génitales féminines, les calculs rénaux, les maux de tête, l'insomnie (Benítez et al., 2010) et comme antiseptique oculaire, anti-inflammatoire intestinal et gastrique, antinauséeux, antiémétique et antiseptique (Parada et al., 2009). Une autre étude du Portugal a démontré que la sommité fleurie de *M. chamomilla* est utilisée contre la douleur sciatique (Neves et al., 2009). Ainsi, en Turquie, l'infusion de capitule est efficace contre certaines maladies comme les spasmes coliques, le rhume et comme sédatifs (Güzel et al., 2015). Les principales utilisations médicinales de *M. chamomilla* dans les structures médicinales traditionnelles italiennes comprennent le traitement des fractures, de l'irritabilité et des douleurs musculaires (Menale et al., 2021 ; Tuttolomondo et al., 2014). En Serbie, des études ethnobotaniques ont illustré que *M. chamomilla* sous forme d'infusion est utilisée pour le renforcement du système immunitaire et contre les maladies de l'estomac, les troubles vaginaux, les problèmesde peau et de mucus, l'anxiété et l'insomnie (Janaćković et al., 2019 ; Marković et al., 2021 ; Šavikin et al., 2013 ; Živković et al., 2020, 2021 ; Zlatković et al., 2014). Aussi, sous forme de compresse en inhalation, la plante est utilisée pour traiter l'ulcère, l'insomnie, la migraine, les coliques, l'allergie, les frictions nées, les inflammations, les maladies respiratoires et les aphtes (Petrakou et al., 2020).

Tableau 2: Ethnopharmacologie de *Matricaria chamomilla*

Région d'étude / pays	Nom local	Partie utilisée	Mode de préparation	Usage traditionnel	Références
Région de Taza (Maroc)	Babonj	Fleur	Infusion Décoction	Diabète	(Mrabti et al., 2021)
Beni Mellal (Maroc)	Babounj	Fleur	Infusion	Diabètes sucré (mellitus)	(Mrabti et al., 2019)
Région de Daraa-Tafilalet, province Errachidia (Maroc)	Non précis	Plante entière	Infusion	Troubles nerveux	(Eddouks et al., 2017)
Province Tarfaya (Moroc)	Babounj	Feuilles	Décoction	Antispasmodique	(Idm'hand et al., 2020)
Fès (Moroc)	Babounj	Fleur	Infusion Décoction	Coliques, diarrhée, nervosité, dépression, aphte, règles douloureuses, fièvre, abcès, infections	(Mikou et al., 2016)
Province de Hatay (Turquie)	Babuneç Papatya	Fleur	Infusion	Rhume, spasme colique, sédatif	(Güzel et al., 2015)
Province de Granada (Sud de l'espagne)	Non précis	Plante fleurie	Infusion	Gastralgie, troubles digestifs, conjonctivite, dysménorrhée, rhume, toux, gaz, infection génitale féminine, calculs rénaux, infection oculaire, maux de tête, insomnie	(Benítez et al., 2010)
Région d'Alt Empordà (Catalonia, Espagne)	Camamilla, Camamilla de jardí	Non précisé	Décoction Infusion	Antiseptique, antiseptique oculaire, conjonctivite, anti-inflammatoire digestif, gastrique et intestinal, maux de ventre, nausées, antiémétique	(Parada et al., 2009)
Trás-os-Montes (Nord du Portugal)	Camomila	Sommité fleurie	Infusion Décoction	Dépression, nervosité, stress, insomnie, névralgie, douleurs sciatiques, digestives, maux d'estomac, gaz, coliques intestinales, infection de la bouche, de la gorge et des oreilles, cellulite, asthme	(Neves et al., 2009)

Île de Procida (Campanie, sud de l'Italie)	Cammumilla	Plante entière Tige Inflorescence	Infusion Décoction Dans le bain	Rhume, toux, entorse, fractures, irritabilité, yeux fatigués, conjonctivite, coliques abdominales, douleurs gastro-intestinales, douleurs musculaires, douleurs menstruelles	(Menale et al., 2021)
Parc National du Cilento et Vallo di Diano (Italie du Sud)	Hammamilla	Parties aériennes	Infusion	Sédatif, teinture jaune, décoloration des cheveux	(Di Novella et al., 2013)
Parc régional du Monte Sicani Sicile centrale occidentale (Italie du Sud)	Kamilica	Fleur	Infusion	Sédatif, digestif	(Tuttolomondo et al., 2014)
Bulgarie	Non précis	Fleur	Décoction Inhalation Compresse	Mal de gorge, froid, yeux gonflés, nettoyage du visage, des organes génitaux	(Kozuharova et al., 2013)
Albanie du Sud-Est	Kamilica Koromil	Sommités fleuries	Thé	Gêne intestinale, diarrhée, toux	(Pieroni, 2017)
Comté de Pirot (Serbie orientale)	Bela rada, kamilica, podrumce	Fleur	Infusion	Trouble de l'estomac	(Marković et al., 2021)
Mont Rtanj (Serbie orientale)	Kamilica	Fleur	Infusion	Renforcement du système immunitaire, rhume, sédatif, conjonctivite, anti-inflammatoire	(Zlatković et al., 2014)
Negotin Krajina (Serbie orientale)	kamilica	Fleur Feuilles	Infusion	Trouble digestif, trouble vaginal, soins oculaires, soins de la peau, arôme pour shampooings	(Janaćković et al., 2019)
District de Jablanica (Sud-Est de la Serbie)	kamilica	Herbe	Infusion	Inflammation de la peau et des muqueuses, troubles digestifs, toux, anxiété, collyre, dentifrice	(Živković et al., 2021)
Zlatibor district (South-Western Serbia)	Non précis	Herbe	Infusion	Rhume et troubles gastriques	(Šavikin et al., 2013)

District de Zlatibor (sud-ouest de la Serbie)	kamilica	Herbe	Infusion	Inflammation cutanée, brûlures, troubles digestifs, troubles hépatiques, toux, anxiété, insomnie, collyre, dentifrice	(Živković et al., 2020)
Péloponnèse (Grèce)	Hamomili	Inflorescences	Infusion Compresse Inhalation de vapeur	Trouble gastrique, constipation, ulcère, colique, allergie, insomnie, migraine, stress, problèmes de peau (inflammation, dermatite, acné, brûlure, eczéma, démangeaisons, antiseptique des plaies), catarrhe, mal de gorge, infection oculaire, aphtes, gingivite, collyre, dentifrice	(Petrakou et al., 2020)

III. La phytochimie

1. Introduction

Le règne végétal produit des centaines de milliers de composés organiques de faible poids moléculaire. Sur la base de l'hypothèse fonctions de ces composés, la communauté des chercheurs les a classés en trois groupes principaux : les métabolites primaires, qui sont directement nécessaires à la croissance des plantes, métabolites secondaires (ou spécialisés), qui interviennent dans la plante-environnement interactions et les hormones, qui régulent les processus et le métabolisme de l'organisme (Erb et Kliebenstein, 2020).

Les molécules organiques dites indispensables qui se trouvent dans les organes d'une plante au niveau des cellules pour y assurer sa survie sont les métabolites primaires. Ce sont des composées de macronutriments tels que le carbone «C», l'oxygène «O», l'hydrogène «H» et l'azote «N». Ils sont groupés en quatre divisions majeures : les acides nucléiques, les lipides, les protides, les glucides (Zaynab et al., 2019).

Les plantes produisent une multitude de métabolites secondaires également connus sous le nom de produits naturels, qui sont des composés de faible poids moléculaire avec une énorme diversité structurelle et présentent diverses activités biologiques. Les scientifiques estiment qu'il existe environ 200 000 métabolites secondaires dans le règne végétal (Harvey et al., 2015), qui sur la base de leurs origines biosynthétiques, peuvent être classées en trois grandes catégories : les phénylpropanoïdes, les terpénoïdes et les alcaloïdes, ainsi que quelques autres groupes moins abondants (Yang et al., 2016).

2. Métabolites secondaires

2.1. Les phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes, que l'on trouve couramment dans les plantes, sont dérivés du groupe phényle aromatique à six carbones et de la queue propène à trois carbones (Winkel, 2004), et forment un grand groupe de métabolites spécialisés comprenant des monolignols, des lignanes, les polyphénols tel que des flavonoïdes, des acides phénoliques et des stilbènes (Dixon et al., 2002).

Ils servent de composants de base d'un certain nombre de polymères structuraux, ainsi que de pigments floraux, de composés odorants ou de molécules de signalisation pour médier les bio-interactions, les phytoalexines contre les herbivores et les agents pathogènes, et les composants protecteurs contre le rayonnement ultraviolet et d'autres stress abiotiques (Vogt, 2010). Ils sont avérés agir comme antioxydants, piégeurs de radicaux libres, anti-inflammatoires et composés anticancéreux (Hartmann, 2007).

Les polyphénols sont des composés qui ont plus d'un groupe hydroxyle phénolique attaché à un ou plusieurs cycles benzéniques. Le terme est quelque peu trompeur, car il tend à suggérer des polymères de molécules de phénol individuelles (Vermerris et Nicholson, 2008). Les composés phénoliques se trouvent souvent sous forme d'esters ou de glycosides plutôt que sous forme de composés libres. Ces caractéristiques doivent être considérées afin d'extraire adéquatement les phénols des tissus végétaux (Vermerris et Nicholson, 2008). Le phénol **(Figure 3)** est la structure sur laquelle repose l'ensemble du groupe de polyphénols.

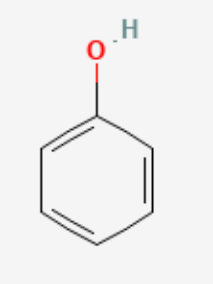


Figure 3:Structure d'unité de base des phénols *(*PubChem*)*

2.1.1. Biosynthèse des Polyphénols dans les plantes

La majorité des phénylpropanoïdes sont dérivés de la phénylalanine. Les trois premières étapes sont catalysées par la phénylalanine ammoniac lyase (PAL), la cinnamate 4-hydroxylase (C4H) et la p-coumaroyl coenzyme A ligase (4CL), communément appelées «voie générale des phénylpropanoïdes» (Weisshaar et Jenkins, 1998 ; Naoumkina et al., 2010) Le précurseur direct des phénols est l'acide cinnamique **(Figure 4)** qui est obtenu par désamination de la phénylalanine. Les principaux flavonoïdes, les acides phénoliques, les tanins, les stilblènes, les lignines, les anthocyanes sont alors synthétisés par diverses voies (Yang et al., 2016).

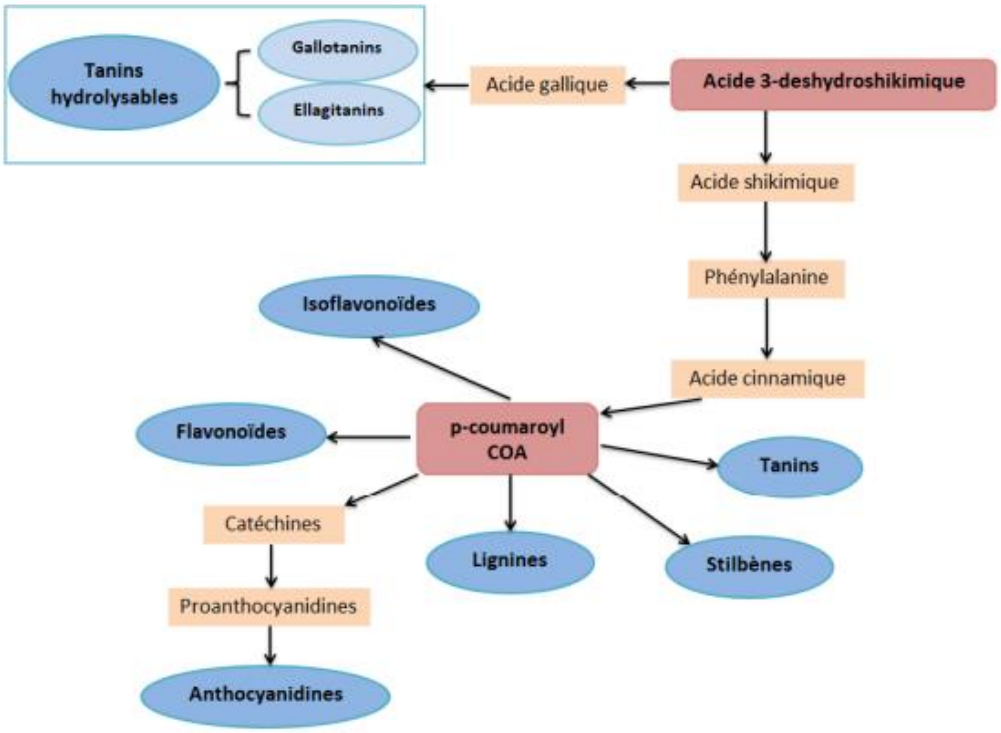


Figure 4:Les différentes voies principales de synthèse des polyphénols dans les plantes (Yang et al., 2016)

2.1.2. Les flavonoïdes

L'expression flavonoïde est fréquemment utilisé pour décrire une large collection de produits naturels comprenant un cadre de carbone en C6-C3-C6. Ce groupe peut être segmenté en trois classes : les flavonoïdes (2-phénylbenzopyrans), les isoflavonoïdes (3- benzopyrans) et les néoflavonoïdes (4-benzopyrans). Ces groupes partagent généralement un précurseur commun biologiquement et structurellement liés (Grotewold, 2007).

Les flavonoïdes (**Figure 5**) composent la plus vaste classe de polyphénols. Plus de 4 000 composés ont été caractérisés, soit environ 50% des composés phénoliques. Ces derniers ont une structure de base formé de 2 noyaux benzéniques A et B joints par un noyau C qui est un hétérocycle pyranique (Lobestein, 2010)

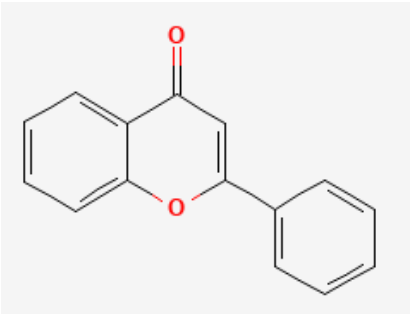
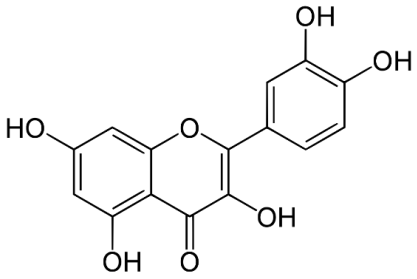
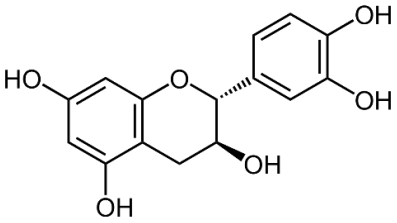


Figure 5:Structure de base des flavonoïdes (PubChem)

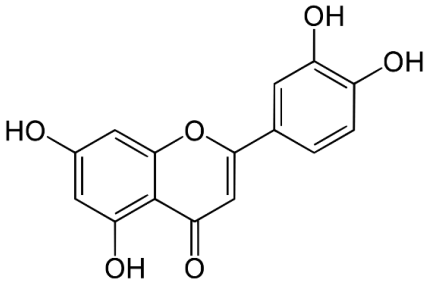
Les composés de flavonoïdes **(Figure 6)**, présents dans la plupart des végétaux, sont des pigments polyphénoliques qui concourent, entre autres, à colorer les fruits et les fleurs en blanc ou en jaune. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydantes. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation sanguine. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (Wojdylo, 2007).



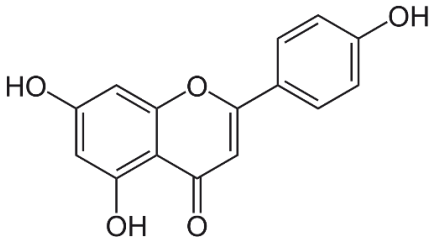
Quercétine



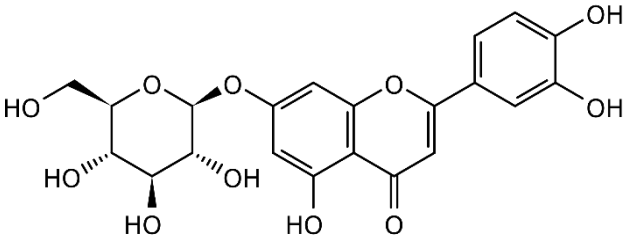
Catéchine



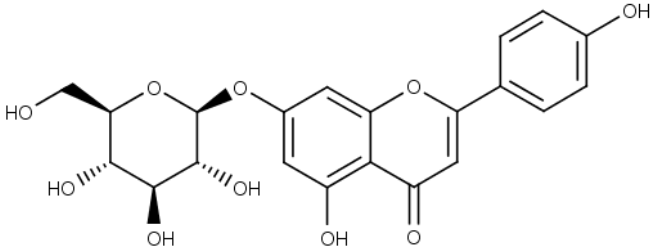
Lutéoline



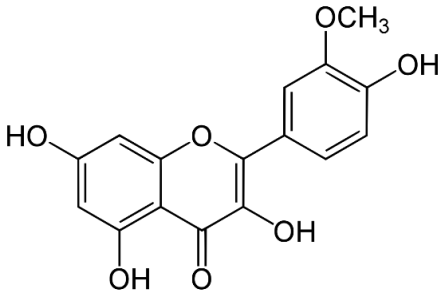
Apigénine



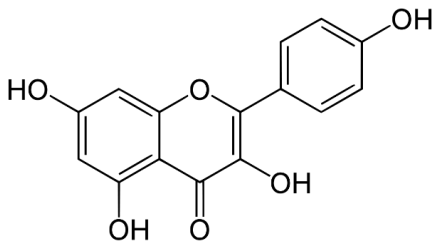
Lutéoline-7-O-glucoside



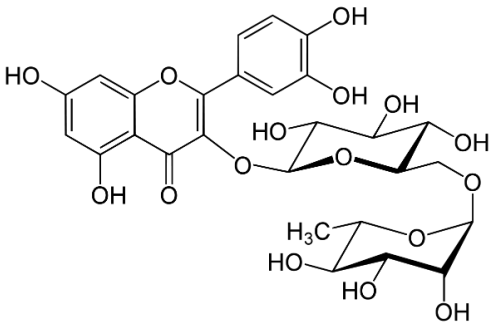
Apigénine-7-O -glucoside



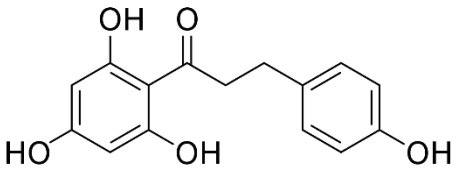
Isorhamnetin



Kaempférol



Rutine



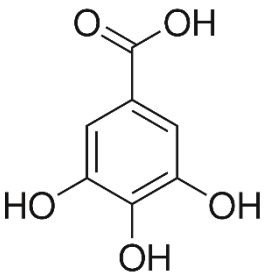
Phlorétine

Figure 6:Structure de quelques flavonoïdes

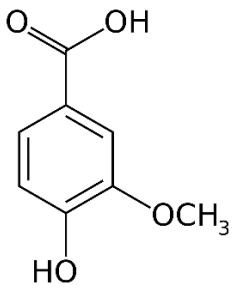
2.1.3. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques **(Figure 7)** sont exceptionnels dans la nature. Ils sont formés de deux catégories :

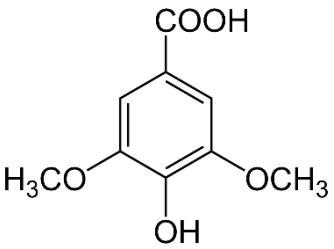
- La première catégorie contient les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque qui par monohydroxylation et/ou polyhydroxylation forme des acides phénoliques et des acides polyphénoliques respectivement l'acide gallique et l'acide protocatéchique (Haslam, 1994).
- La deuxième catégorie regroupe les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique. De même avec l'acide cinnamique, l'hydroxylation conduit à l'acide *p*-coumarique et à l'acide caféique (Haslam, 1994).



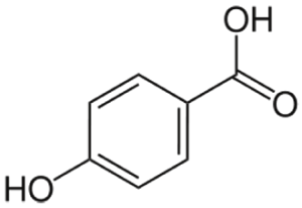
Acide gallique



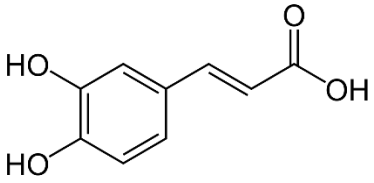
Acide vanillique



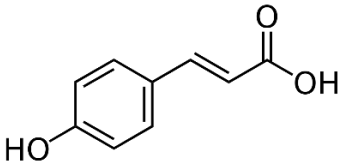
Acide syringique



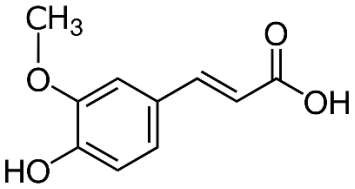
Acide *p*-hydroxybenzoïque



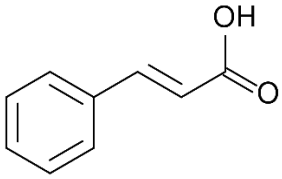
Acide caféique



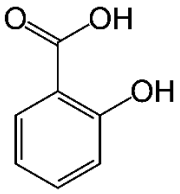
Acide *p*-coumarique



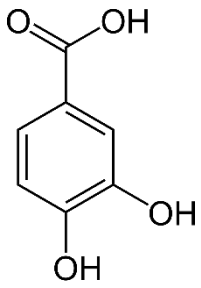
Acide férulique



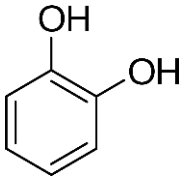
Acide cinnamique



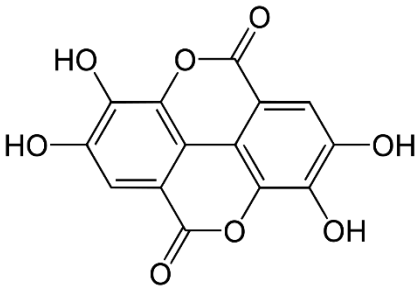
Acide salicylique



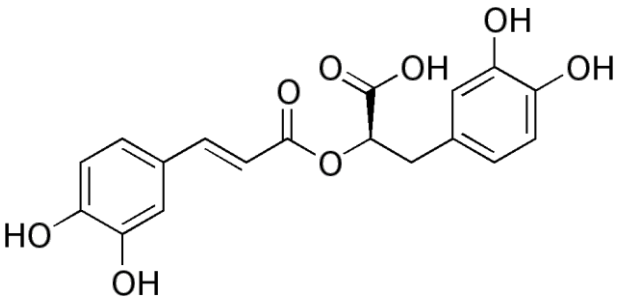
Acide protocatéchique



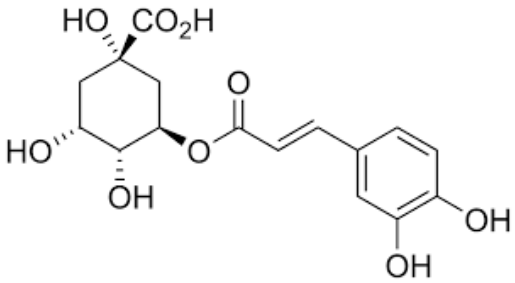
Catéchol



Acide ellagique



Acide rosmarinique



Acide chlorogénique

Figure 7:Structure de quelques acides phénoliques

2.1.4. Les tannins

Les tannins (ou tanins) sont utilisés pour tanner les peaux. Ils ont certaines activités biologiques, notamment comme des antioxydants, grâce à leur capacité à piéger les radicaux libres et à inactiver les ions prooxydants (Bruneton, 1999). Ils ont aussi une activité antiseptique importante et des activités antibactérienne, antifongique et antivirale assez spectaculaires (Chung et al., 1998).

Selon leurs structures biochimiques, on distingue deux classes de tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés. Elles sont très fréquentées dans le règne végétal, ils peuvent être dans divers organes, mais les auteurs montrent une accumulation plus notamment dans les tissus d'origines pathologiques ou âgés. Ils sont installés dans les vacuoles, parfois combinés aux alcaloïdes et aux protéines (Catier et Roux, 2007).

2.1.5. Les xanthones

Les xanthones sont des composés organiques à base tricycliquecontenant deux cycles aromatiques benzéniques qui assiègent un hétérocycle oxygéné. Les xanthones des végétaux supérieurs sont constitués par cyclisation des benzophénones produisant de l'ajout d'unités bicarbonées sur l'acide benzoïque issu de l'acide cinnamique (Hay, 2003 ; Bennett et Lee, 1989) **(Figure 8)**.

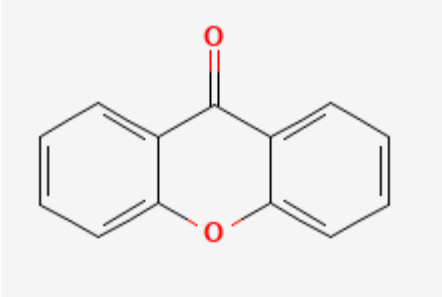
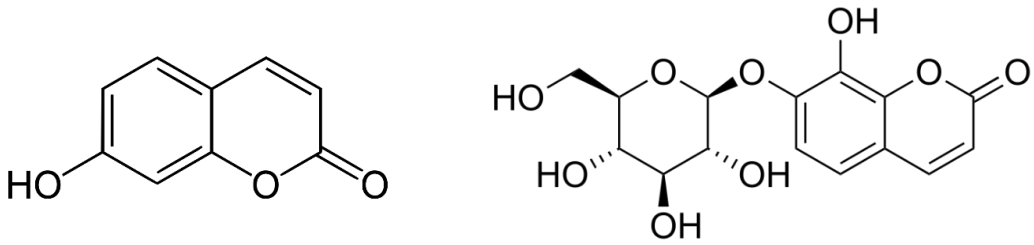


Figure 8:Structure de base de xanthone

2.1.6. Les coumarines

Les coumarines sont des composés produits par lactonisation de l'acide orthocoumarique. Une fois l'hydroxylation au niveau du noyau aromatique de ces composés est effectué, on obtient des composés phénoliques à structures variables. Ils sont fréquemment substitués par un hydroxyle (Lobstein, 2010). Le benzo-2-pyrone est la structure de base de ces composés (Sakagami et al., 2005). Actuellement, plus de 1 000 coumarines sont isolés, dont plus de 800 sont originaires des plantes et des micro-organismes (Sakagami et al., 2005). Parmi ces coumarines, il existe l'ombelliférone et la daphnine (**Figure 9**).

Les coumarines sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, peroxyles et superoxydes (Anderson et al., 1996).



Ombelliférone **Daphnine**

Figure 9:Structure de quelques coumarins

2.1.7. Les stilbènes hydroxylés

Ces dérivées hydroxylées sont des composés constitués de deux noyaux aromatiques attachées par un groupe éthylénique (C6-C2-C6) (Lobstein, 2010). Le resvératrol un des stilbènes les plus identifiés qui se trouve dans le raisin et le vin (Cornwell et al., 2004) (**Figure 10).**

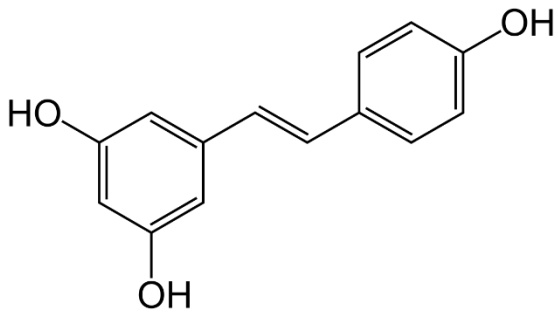


Figure 10:Structure du resvératrol

2.1.8. Les lignanes

Les lignanes forment une classe intéressante de substances naturelles des végétaux. On parle ici des dimères ramifiés de phénylpropènes. Elles sont formées par dimérisation de trois types d'alcools : alcool *p*-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique (Axelson et al., 1982).

Le sécoisolaricirésinol et le matairésinol forment les primordiales lignanes d'origine végétale (Axelson et al., 1982) (**Figure 11**). La polymérisation de ces trois alcools conduit à la formation de la lignine. Il est à noter que la composition de la lignine diffère d'une espèce à une autre. Une structure précise pour la lignine n'est pas encore connue, mais sûrement elle est très complexe (Buchanan et al., 2000).

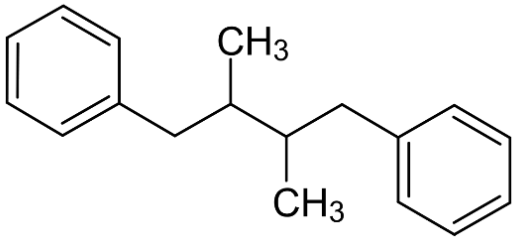
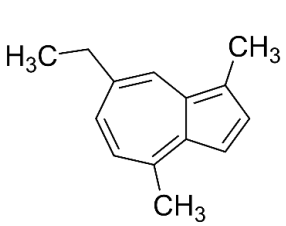


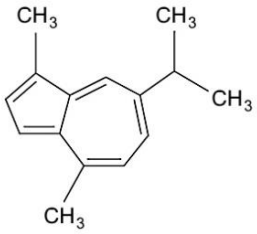
Figure 11:Structure de base de lignanes

2.2. Les terpénoïdes

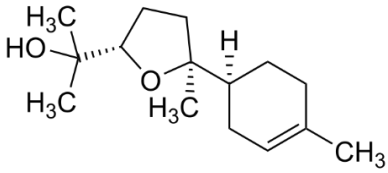
Les terpènoides ou isoprénoïdes **(Figure 12)** sont des structures moléculaires contenant des squelettes carbonés de 2-méthylbuta-1,3-diène (unités isoprène) qui peuvent être réarrangés en structures cycliques (Hyldgaard et al., 2012 ; Masyita et al., 2022). Le nombre d'unités d'isoprène est principalement responsable de la diversité structurelle des terpènes. Ainsi, les hémiterpènes sont formés par une unité isoprène (C5), les monoterpènes par deux (C10), les sesquiterpènes par trois (C15), les diterpènes par quatre (C20), les triterpènes par six (C30) et les tétraterpènes par huit (C40) (Bhavaniramya et al., 2019).



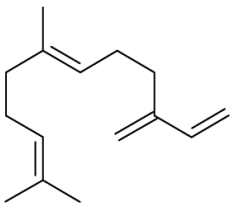
Chamazulène



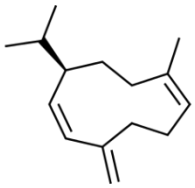
Guaiazulène



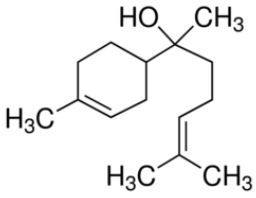
α-Bisabolol oxide B



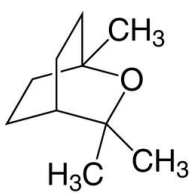
β-Farnésène



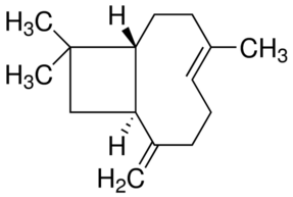
Germancrene D



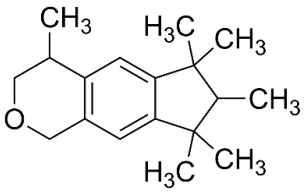
α -Bisabolol



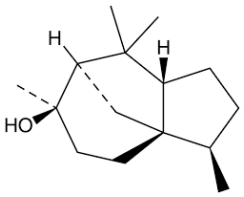
Eucalyptol



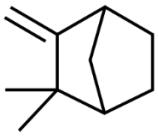
Trans-caryophyllene



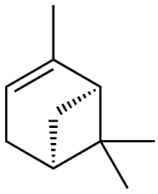
Galaxolide



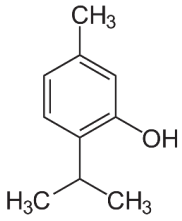
α-Cédrol



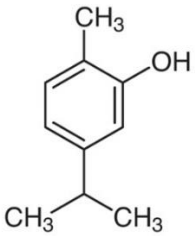
Camphène



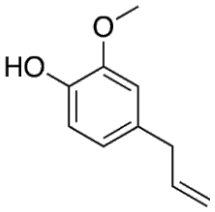
α-Pinène



Thymol



Carvacrol



Eugénol

Figure 12:Structure de quelques terpénoïdes

2.2.1. Biosynthèse des terpénoïdes dans les plantes

Dans les cellules végétales, les précurseurs communs de la synthèse des terpénoïdes est l'isopentényl diphosphate (IPP) et le diméthylallyl diphosphate (DMAPP) **(Figure 13)**, ils sont synthétisés par deux voies indépendantes :

La voie de l'acide mévalonique (MVA) au niveau du cytoplasme l'acide mévalonique (6C) est produit à partir de l'acétyl-CoA. Puis Il est transformé par des séries de réactions enzymatiques en Isopentényl-pyrophosphate (Moghaddam et Mehdizadeh, 2016).

La voie du méthylérythritol phosphate (MEP) qui utilise le pyruvate et les glycéraldéhydes 3-phosphate comme substrats**.** L'IPP et le DMAPP sont condensés en diphosphate de géranyle (GPP, C10), diphosphate de farnésyle (FPP, C15) et diphosphate de géranylgéranyle (GGPP, C20) par les prényltransférases, puis convertis en terpènes par les

terpènes synthases (TPS), qui catalysent les étapes qui détermine les structures des squelettes terpéniques (Yang et al., 2016).

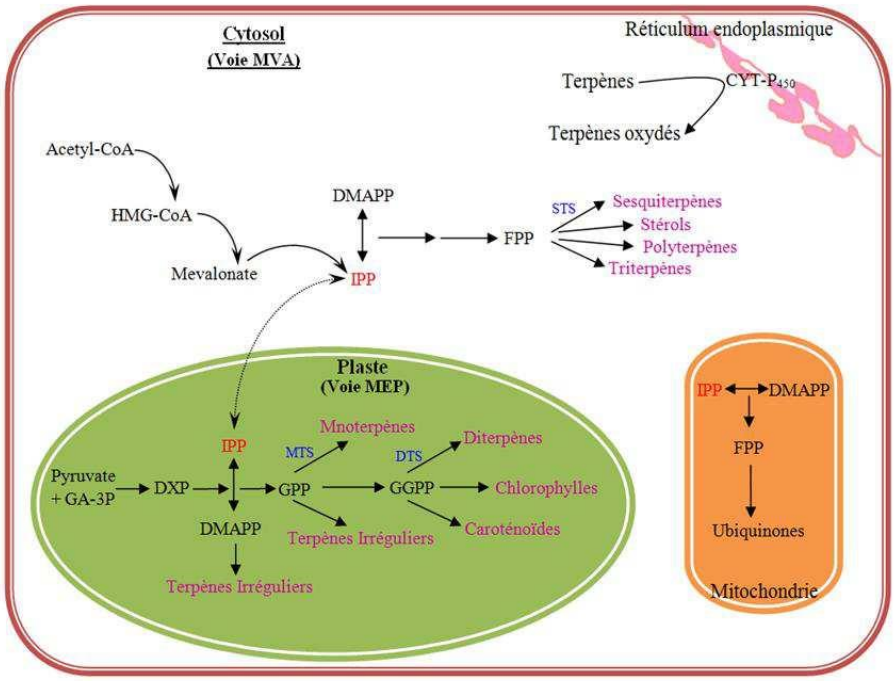


Figure 13:Les voies biosynthétiques des terpénoïdes chez les plantes avec la compartimentation sub-cellulaire

(Modifiée d'après Cheng et al., 2007 ; Yang et al.,2016)

2.2.2. Sesquiterpénoïdes

Les monoterpénoïdes (C10) et les sesquiterpénoïdes (C15) sont largement distribués dans les plantes, et ils sont les constituants communs des composés volatils dans les fleurs, les fruits, les tiges et les feuilles, jouant un rôle important dans les interactions plante-environnement, beaucoup d'entre eux possèdent également une grande valeur commerciale et certains sont utilisés dans les produits pharmaceutiques (Yang et al., 2016).

2.2.3. Diterpénoïdes

Certains groupes de diterpénoïdes (C20), comme les gibbérellines, sont des régulateurs (phytohormones) de la croissance et du développement des plantes. De nombreux autres diterpénoïdes spécialisés, comme la tanshinone de Salvia miltiorrhiza et le taxol de Taxus sont très précieux en médecine. Quelques autres exemples incluent le stévioside extrait de Stevia rebaudiana de la famille des Astéracées, est un agent naturel le plus sucré (Court, 2000 ; Sathiyamoorthy et al., 2010 ; Zhu et al., 2011), l'adénanthine issue des feuilles de Rabdosia adenantha, responsable de la différenciation des cellules de la leucémie aiguë promyélocytaire (LAP) (Liu et al., 2012), l'oridonine issue des plantes de la famille de Lamiacées Isodon

rubescens et Isodon amethystoides, est un composé potentiel pour la thérapie moléculaire ciblée de la leucémie (Zhen et al., 2012) et le triptolide est un diterpène hautement oxygéné isolé de Tripterygium wilfordii, s'est avéré avoir une activité anti-leucémique (Shamon et al., 1997).

2.2.4. Triterpénoïdes

Les triterpénoïdes sont des produits de cyclisation du squalène qui est condensé par deux molécules de diphosphate de farnésyle (FPP). En général, les triterpénoïdes sont formés à partir de la voie MVA dans le cytoplasme, sous forme de sesquiterpénoïdes tel que : les ginsénoside, les cucurbitacines, la glycyrrhizine. Ce dernier, est utilisé dans le monde entier comme édulcorant naturel et additif aromatisant en raison de son goût sucré, présente également un large éventail d'activités pharmacologiques, notamment anti-inflammatoire, immunomodulateur, anti ulcéreux, anti -allergie et activité antivirale (Yang etal., 2016).

2.3. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés contenant de l'azote avec des propriétés basiques, dont la plupart sont des dérivés des acides aminés (Huang et al., 2015 ; Wu et Whang, 2012). La biosynthèse des alcaloïdes commence généralement par la modification des acides aminés, principalement la décarboxylation ou la désamination, et subit d'autres étapes comme la méthylation, l'hydroxylation et l'oxydation, et/ou couplé avec d'autres composés. Il existe plus de 12 000 alcaloïdes qui ont été identifiés à partir de plantes. Bien que largement distribués dans les plantes, ils sont particulièrement enrichis dans certaines familles, comme les Solanaceae, les Manispermaceae, les Papaveraceae, les Berberidaceae et les Fabaceae (Yang et al., 2016).

3. Hormones

Les hormones végétales jouent un rôle crucial dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes, tandis que le métabolisme fournit l'énergie et les éléments constitutifs de la vie végétale, ce sont les hormones qui régulent la vitesse de croissance des différentes parties et intègrent ces parties pour produire la forme que nous reconnaissons comme une plante. De plus, ils jouent un rôle de contrôle dans les processus de reproduction (Davies, 2013).

La mélatonine est une hormone pléiotrope avec de nombreuses actions diverses dans les plantes. Il est considéré principalement comme un antioxydant avec des actions importantes dans le contrôle des espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (ROS et RNS), entre autres radicaux libres et molécules oxydantes nocives présentes dans les cellules végétales. De plus,

la mélatonine végétale est impliquée dans de multiples actions physiologiques, telles que la croissance, l'enracinement, la germination des graines, la photosynthèse et la protection contre les facteurs de stress abiotiques et/ou biotiques. L'identification récente du premier récepteur végétal de la mélatonine a ouvert la porte à ce que cette molécule régulatrice soit considérée comme une nouvelle hormone végétale (Arnao et Hernández-Ruiz, 2019), bien que la présence de mélatonine dans le règne végétal soit connue depuis 1995 (Hattori et al., 1995).

4. Méthodes d'extraction des polyphénols

L'extraction de composés bioactifs à partir de matériel végétal est une étape clé dans le développement de diverses méthodes analytiques. Les méthodes d'extraction doivent être simples, sûres, reproductibles, moins coûteuses, et également adaptées à des applications industrielles en phytochimie (Chiriac et al., 2021).

4.1. Méthodes conventionnelles

Les méthodes conventionnelles prévues par la Pharmacopée Européenne (2021) telles que l'infusion, la décoction, la percolation ou la macération, ainsi que l'extraction sous reflux et l'extraction Soxhlet, sont encore actuellement utilisées. Le méthanol, l'éthanol, l'acétonitrile, l'acétone ou leurs mélanges avec l'eau sont les solvants les plus utilisés (Chiriac et al., 2021).

4.2. Méthodes avancées

La tendance actuelle est de développer et d'appliquer de nouvelles techniques rapides, efficaces et sélectives, capables de répondre aux exigences particulières d'extraction des composés bioactifs et respectueuses de l'environnement (Chiriac et al., 2021).

4.2.1 Extraction assistée par ultrasons (EAU)

Parmi les nouvelles méthodes d'extraction, l'extraction assistée par ultrasons est une technique moderne qui offre un rendement élevé en composés actifs avec une manipulation simple, une efficacité énergétique et une reproductibilité élevée (Vural et al., 2018). Couramment utilisés pour les systèmes solides/liquides, ce type d'extraction entraîne une perturbation des parois cellulaires du matériel végétal, améliorent le transfert de masse à travers les membranes cellulaires et augmentant ainsi l'accès du solvant aux analytes (Vural et al., 2018 ; Oreopoulou et al., 2019).

Plusieurs facteurs, tels que la composition du solvant, le rapport solvant/échantillon, l'amplitude et le cycle des ultrasons, le pH du solvant et la température, peuvent avoir un impact sur l'efficacité de l'extraction. La sélection des solvants et la température sont révélées être les facteurs les plus importants influençant l'efficacité d'extraction assistée par ultrasons

(Oreopoulou et al., 2019). Il a été observé que, dans le cas de composés phénoliques très polaires, l'extraction avec des solvants organiques purs à une faible efficacité (López-Fernández et al., 2020 ; Oreopoulou et al., 2019). Le mélange éthanol/méthanol avec l'eau dans diverses proportions (par exemple, 80:20, 60:40, 70:30) sont largement utilisés comme solvants d'extraction (Oreopoulou et al., 2019), parfois avec l'ajout d'acides pour l'ajustement du pH (Vallverdú-Queralt et al., 2015; Zhong et al., 2019).

4.2.2. Extraction assistée par micro-ondes (EMA)

Ces dernières années, en raison de la tendance à réduire la quantité de solvants organiques utilisés dans les extractions, l'extraction assistée par micro-ondes a été développée et optimisée et avec les principaux avantages de la réduction du temps d'extraction, du faible coût et de la durabilité, cette technique s'est avérée adaptée à l'extraction des acides phénoliques, des flavones, des flavonols et des isoflavones (Chiriac et al., 2021).

Les micro-ondes sont constituées un champ électrique et magnétique qui oscillent perpendiculairement l'un à l'autre dans une gamme de haute fréquence de 0,3 à 300 GHz. Cette condition produit un échauffement localisé et provoque la destruction de la matrice végétale conduisant la diffusion plus facile des composés d'intérêt dans le solvant (Chaves et al., 2020). Une puissance micro-onde comprise entre 300 et 900 W et des températures d'extraction allant de 50 à 100 °C sont généralement utilisées (Oreopoulou et al., 2019).

Le principal défi de cette technique d'extraction est d'obtenir le rendement d'extraction maximal via la destruction du tissu cellulaire sans affecter la structure chimique des composés naturels (Calinescu et al., 2017).

4.2.3. Extraction accélérée par solvant (EAS)

Comme alternative de l'extraction et de fractionnement des composés nutraceutiques de différents produits naturels, l'extraction accélérée par solvant, également connue sous le nom d'extraction liquide sous pression (ELP), permet une extraction plus rapide, en ajustant les paramètres du procédé et améliore la sélectivité d'extraction pour des groupes de composés Les solvants restent à l'état liquide même à des températures élevées, permettant une extraction à haute pression. Ces conditions améliorent la solubilité des composés cibles dans le solvant et la cinétique de désorption des matrices végétales. De plus, comme elle est réalisée en système fermé, la survenue de réactions d'oxydation au cours de l'EAS est limitée (Oreopoulou et al., 2019).

En ce qui concerne les conditions d'extraction, des études ont montré que l 'ESAest plus efficace lorsque des mélanges de solvants sont utilisés, tels que le méthanol ou l'éthanol dans l'eau au lieu de solvants purs (Oreopoulou et al., 2019), pour des raisons de compatibilité de de polarité. Des pressions de travail allant de 4 à 20 MPa affectent la diffusion du solvant dans les pores de la matrice de la matière première et en même temps améliorant le contact des composés cibles avec le solvant (Chaves et al., 2020 ; Garcia-Mendoza et al., 2017). Aussi, la température est également un paramètre important dans cette extraction. Différents travaux ont montré que de 40 à 120 °C, il y a une augmentation de l'efficacité d'extraction des composés phénoliques (Chaves et al., 2020).

4.2.4. Extraction par fluide supercritique (EFS)

Outre l'extraction accélérée par solvant, l'extraction par fluides supercritiques est une technologie d'extraction verte basée sur les propriétés des fluides à l'état supercritique (leurs paramètres thermodynamiques, la pression et la température étant des valeurs critiques) pour extraire les composants bioactifs des matières végétales (Chaves et al., 2020 ; Da Silva et al., 2016). Le dioxyde de carbone supercritique (CO2- SC) est actuellement considéré comme un solvant idéal pour extraire sélectivement les composés solubles des matières végétales (Da Silva et al., 2016 ; King, 2014). Tant pour l'industrie alimentaire que pour l'industrie pharmaceutique, les principaux avantages des extraits obtenus de l'EFS sont l'absence de solvant organique résiduel et la sélectivité contrôlée de la composition de l'extrait, l'EFS étant reconnu sûr par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments et l'Administration américaine des denrées des Aliments et des Médicaments (Bubalo et al., 2018 ; Chaves et al., 2020).

4.2.5. Extraction assistée par enzyme

L'hydrolyse enzymatique est une procédure d'extraction efficace et non toxique, largement utilisée dans divers procédés alimentaires. L'activité enzymatique des cellulases, des pectinases et des hémicellulases entraîne une rupture de la paroi cellulaire et améliore l'extraction de composés précieux des plantes (Zhu et al., 2018). Les flavonoïdes, ainsi que les polyphénols non flavonoïdes, ont été significativement modifiés structurellement par le traitement enzymatique, ce qui a entraîné une bioactivité accrue des métabolites en tant qu'inhibiteurs de l'activité de la lipase pancréatique (Franco et al., 2020).

Les paramètres d'extraction tels que la température et le pH influencent l'activité catalytique et les propriétés rhéologiques de la matière première, ainsi que la solubilisation des composés bioactifs. Bien que l'augmentation de la température améliore les taux de transfert de masse et la solubilité des composés extraits, elle peut conduire à une dénaturation enzymatique,

par conséquent, des températures inférieures à 60 °C sont généralement utilisées (Swer et al., 2018). Des valeurs de pH de l'environnement comprises entre 4,0 et 6,5 sont utilisées pour l'activité optimale du système enzymatique (Zhu et al., 2018 ; Gligo et al., 2019). Après 30 à 90 min d'incubation, la masse végétale est soumise à une extraction et centrifugée (Zhu et al., 2018).

4.2.6. Extraction avec des liquides ioniques (Ils)

Des études récentes sont concentrées sur l'extraction de composants bioactifs à partir de plantes médicinales ou d'autres sources végétales en utilisant des liquides ioniques et des solvants eutectiques profonds comme solvants alternatifs, qui montrant leur potentiel de substitution aux solvants organiques (Xiao et al., 2018). Les liquides ioniques sont un groupe de sels organiques qui se présentent sous forme liquide en dessous de 100 °C et se composent d'un cation organique (par exemple, imidazolium, pyrrolidinium, pyridinium tétraalkylammonium, tétraalkylphosphonium) et d'un anion inorganique ou organique (par exemple, tétrafluoroborate, hexafluorophosphate et bromure) (Chiriac et al., 2021).

La grande variété de combinaisons possibles de cations et d'anions implique une grande variété de propriétés physico-chimiques qui dépendent à la fois de la nature et de la taille du cation, mais surtout de l'anion. Selon leur nature, les liquides ioniques résultants peuvent avoir un caractère hydrophobe ou hydrophile, une viscosité plus ou moins élevée et une miscibilité avec l'eau ou d'autres phases organiques différentes, ainsi que des propriétés électrochimiques spécifiques. La polarité, l'hydrophobicité, la viscosité et la miscibilité du solvant peuvent être sélectionner en choisissant le constituant cationique ou anionique (Zhang et al., 2018). En raison de ces propriétés, l'utilisation de liquides ioniques a été considérée comme un succès dans la stabilisation, la pré-concentration ou l'extraction d'analytes bioactifs (Magiera et Sobik, 2017).

IV- Activités biologiques

1. Activité antioxydante

L'énergie nécessaire au fonctionnement d'une cellule est fournie lors de la respiration cellulaire où l'ATP (adénosine triphosphate), molécule à fort potentiel énergétique, est produite. Au cours de cette respiration cellulaire, et plus précisément dans la chaîne respiratoire de la mitochondrie, des réactions d'oxydo-réduction ont lieu ; des électrons sont transportés jusqu'à un accepteur final, l'oxygène, qui est réduit en molécule d'eau. Une partie de cet oxygène (1 à 3 %) n'est cependant pas réduite en molécule d'eau mais convertie en Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) ou radicaux libres (R•) (Kovacic et al., 2005). Dans des conditions normales, ces radicaux libres sont physiologiquement en équilibre avec des composés antioxydants

(Droge, 2002). Dans certaines conditions, au cours d'une inflammation ou en réponse à certains facteurs environnementaux comme les irradiations (UV ou rayons X), les carences nutritionnelles (en vitamines et oligo-éléments), le tabac, la pollution ou les intoxications aux métaux lourds (mercure, plomb, cadmium), la production de ces radicaux libres augmente générant un déséquilibre en faveur des entités oxydantes appelé « stress oxydatif ». Ainsi, les radicaux libres, les espèces réactives d'oxygène (ERO), le stress oxydant et les antioxydants deviennent des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé.

Ces méthodes reposent soit sur le transfert d'atome d'hydrogène (HAT), soit sur le transfert d'électrons (ET), ou les deux. La première mesure la capacité d'un antioxydant à piéger les radicaux libres par don d'hydrogène comme les tests ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical Trapping Antioxidant Parameter). La deuxième repose sur la capacité réductrice de transfert d'électron d'un antioxydant par rapport à une espèce radicale comme les tests FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) et CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity). D'autres tests peuvent fusionner les deux techniques tel que le test DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging method) et TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity). La réponse est évaluée par rapport à un standard de référence : Trolox, acide gallique, acide ascorbique, acide caféique et autres (Apak et al., 2018).

L'action antioxydante physiologique ne vise pas seulement à piéger les radicaux libres, elle comprend également une régulation à la hausse des enzymes de détoxification et de la défense antioxydante, la modulation de l'expression des gènes et la signalisation des cellules redox au niveau cellulaire (Lopez et Denicola 2013).

Il existe plusieurs modes d'action antioxydante : prévention de l'initiation de la chaîne, piégeage de radicaux libres, terminaison des peroxydes, prévention de l'abstraction continue de l'hydrogène et inhibition de la formation d'oxygène singulet (Tongnuanchan et Benjakul, 2014).

Les composés phénoliques sont de puissants antioxydants. Ils sont impliqués dans cette activité grâce à leur diversité structurale via plusieurs mécanismes en agissant au niveau de chélation des ions de métaux de transition, piégeage des radicaux libres, inhibition des enzymes génératrices d'ERO, prévention de la peroxydation lipidique et induction d'enzymes antioxydantes endogènes (Szymanowska et Baraniak, 2019 ; Sánchez-Rodríguez et al., 2020).La position ainsi que le degré d'hydroxylation influencent fortement l'activité antioxydante des polyphénols (Heim et al., 2002 ; González et al., 2020).

2. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne peut s'exercer selon diverses modalités. Nombreuses molécules agissent par l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique dans les bactéries à travers

la dénaturation de leurs protéines (Shiota et al., 2004), d'autres provoquent l'endommagement des membranes cellulaires des bactéries à travers l'inactivation des composés ou des fonctions essentielles de la cellule ou bien l'altération des structures membranaires (Ali et Doumandji, 2017 ; Eldeen et al., 2005 ; Song et al., 2007 ; Tsuchiya et Linuma, 2000).

L'effet médicinal bénéfique des matières végétales résulte essentiellement des produits secondaires présents dans la plante et n'est généralement pas attribué à un seul composé mais une combinaison des métabolites (Parekh et al., 2006). Les composés phytochimiques peuvent également se trouver spécifiquement dans certains taxons de plantes et varier en présence parmi différentes parties des tissus végétaux (Das et al., 2010 ; Gottlieb, 1990).

Parmi les exemples de molécules ayant une activité antimicrobienne les acides hydroxycinnamiques, ils sont beaucoup moins polaires que les acides hydroxybenzoïques, grâce à leur chaine latérale propanoïque. Cette capacité pourrait faciliter le transport des molécules via la membrane bactérienne (Puupponen-Pimiä et al., 2005 ; Vaquero et al., 2007a,b). Le rôle protecteur des plantes contre l'attaque d'insecte et l'invasion microbienne est une des activités incontestées des composés phénoliques (Bouhafsoun et al., 2018).Certaines recherches ont montré la propriété antimicrobienne des extraits de plantes riches en tanins (Luthar, 1992; Al-Momani et al., 2007; Kim et al., 2010).Les plantes riches en tanins sont utilisées dans le traitement des désordres intestinaux, dont la diarrhée, ce qui leur donnent un effet antimicrobien (Sharma et al., 2009).

Plusieurs facteurs affectent le résultat de l'efficacité antimicrobienne des produits végétaux par les tests de sensibilité *in vitro*. Pour cette raison une normalisation est nécessaire pour les essais intra et interlaboratoires afin de minimiser l'influence significative des différentes méthodes employées (EUCAST, 2003). Les critères standard pour l'évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne des plantes diffèrent selon les auteurs. Les résultats obtenus à partir de l'efficacité antimicrobienne de l'extrait de plante sont souvent difficiles à comparer avec les résultats publiés en raison de l'influence de plusieurs facteurs, c'est-à-dire les conditions environnementales et climatiques au cours de l'installation, le choix des extraits de plantes, le choix des méthodes d'extraction, les tests antimicrobiens employés et les micro-organismes testés (Das et al., 2010 ; Hammer et al., 1999 ; Nostro et al., 2000).

Certaines techniques sont utilisées pour la détermination de l'activité antimicrobienne, La plupart de ces méthodes ont été d'abord utilisées pour l'étude des antibiotiques puis adaptées aux extraits et aux HEs tel que la méthode de diffusion par disque (Ncube et al., 2008) et par puit (Mbata et al., 2006), micro ou macro-dilution et dilution sur agar (Balouiri et al., 2016).

3. Activité antiproliférative

Le cancer est une affection résultant de mutations génétiques, qui favorisent la division incontrôlable des cellules soit localement, soit de manière métastatique (Hanahan et al., 2011 ; Kamran et al., 2022). Cette mutation apparaît à la suite de dommages exogènes ou endogènes touchant l'ADN.

À l'échelle mondiale, le cancer est une cause majeure de décès. Le fardeau du cancer est décrit en termes d'incidence et de mortalité. Une mise à jour sur le fardeau mondial du cancer selon GLOBOCAN 2020 fournit une estimation de l'incidence du cancer et de la mortalité produite par le centre international de recherche sur le cancer (CIRC). À l'échelle mondiale, 19,3 millions de cas récents de cancer et près de 10 millions de décès liés au cancer ont été signalés en 2020 (Sung et al., 2021).

Le cancer du sein féminin comme cancer le plus courant a été estimé à 2,3 millions (11,7 %) de nouveaux cas, suivi du cancer du poumon (11,4 %), du cancer colorectal (10,0 %), cancer de la prostate (7,3 %) et cancer de l'estomac (5,6 %). En termes de mortalité, le cancer du poumon a été estimé comme étant la principale cause de mortalité avec 1,8 million de décès (18 %), suivi du cancer colorectal (9,4 %), du foie (8,3 %), de l'estomac (7,7 %) et du cancer du sein chez la femme (6,9 %). L'incidence mondiale du cancer devrait être de 28,4 millions de cas en 2040, ce qui indique une croissance de 47 % par rapport à 2020 (Sung et al., 2021).

Dans des conditions normales, les cellules qui réagissent à ces dommages stimuleraient un système de réparation qui implique l'arrêt du cycle cellulaire pour supprimer les dommages ultérieurs. P53 est un gène suppresseur de tumeur réactif principal qui fonctionne pour contrôler l'arrêt du cycle cellulaire et induit l'apoptose si nécessaire (Roos et Kaina, 2013). Ce processus empêche la transmission des mutations aux prochaines générations de cellules (Kondrashov et Kondrashov, 2010). Cependant, lorsque ce mécanisme est perturbé, la mutation des cellules cancéreuses se produit rapidement, entraînant le développement de tumeurs (Torgovnick et Schumacher, 2015).

Les polyphénols isolés des extraits des végétaux peuvent être utilisés dans la chimiothérapie (Menaa et al., 2014). D'autres études ont montré qu'une alimentation riche en polyphénols et en particulier en flavonoïdes diminue le risque de cancer (Block et al., 1992).

Plusieurs études ont suggéré que certains terpénoïdes auraient un potentiel apoptotique contre les cellules cancéreuses (Kuete et al., 2019 ; Li et al., 2015 ; Nevzorova et al., 2017).

Les HE sont considérés comme sûres sur le plan pharmaceutique et pourraient représenter une bonne source naturelle alternative d'agents anticancéreux, méritant ainsi des investigations supplémentaires pour déterminer leur mécanisme d'action et valider leurs

utilisations cliniques possibles en tant qu'agents antitumoraux alternatifs/complémentaires. Au cours des 20 dernières années, des études précliniques ont démontré l'activité anticancéreuse de certaines HE ou de leurs principaux composants (Ishfaq et al., 2018 ; Lesgards et al., 2014) et ont conduit à des études cas-témoins (Hakim et al., 2000) et à des essais cliniques (Chen et al., 2015 ; Da Fonseca et al., 2008 ; Faria et al., 2020).

L'activité antiproliférative des extraits des plantes est déterminée par l'emploi du MTT (bromure de 3-(4,5-diMethylThiazol-2-yl)-2,5-diphenyl Tetrazolium). Le test montre un signe du fonctionnement mitochondrial. Il sert à mesurer l'effet de la succinate déshydrogénase mitochondriale des cellules vivantes. Cette enzyme, à travers une coupure du cycle tétrazolium, transforme le MTT de couleur jaune en cristaux de formazan bleus. Après dissolution dans le DMSO (Diméthylsulfoxyde), une lecture spectrophotométrique est réalisée à 550 nm (Mosmann, 1983 ; Ginting, 2021). Les absorbances obtenues sont directement proportionnelles au nombre de cellules vivantes.

4. Autres activités

En plus des activités antioxydantes, antimicrobiennes et antiprolifératives, les extraits végétaux peuvent aussi présenter une large gamme de potentiel, tel que les effets protecteurs vasculaires des flavonoïdes, au niveau des vaisseaux sanguins, ils agissent sous forme d'activité vitaminique (Berg et Daniel, 1988). Cette activité participe dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale (Shih et al., 2004 ; Youdim et al., 2002).

Les composés phénoliques, spécialement les flavonoïdes comme la quercétine, la myrictine, la gossypetine, l'epicatechin-3-gallate et les xanthones, jouent le rôle des inhibiteurs de l'acétylcholenestérase, enzyme importante dans le traitement de la maladie d'Alzheimer (Brühlmann et al., 2004). Ces composants agissent en empêchant l'activité de l'acétylcholenestérase, ce qui va corriger le déficit de l'acétylcholine et progresse son niveau dans le cerveau. En effet, le premier précurseur du traitement de la maladie d'Alzheimer est l'augmentation du niveau de l'acétylcholine (Heinrich et Theoh, 2004).

Les flavonoïdes, en particulier la quercétine, la naringine et l'hypolaetine-8-glucose (flavonoïde isolé des espèces du genre Sideritis), montrent une activité antiulcéreuse intéressante, ils ont la capacité de défendre la muqueuse gastrique contre différents agents ulcérogènes (Villar et al., 1987).

L'utilisation possible de *Matricaria chamomilla* comme agent anesthésique en aquaculture a été montré (Al-Niaeem et al., 2019 ; Can et al., 2017). De plus, la plante a été utilisée par les agriculteurs comme aliments complémentaires pour les animaux. Chez le lapin,

Alsaadi et al. (2020) ont rapporté que l'extrait aqueux de fleurs favorisait la croissance des animaux et avait un effet positif sur les paramètres biochimiques et hématologiques.

Dans une autre étude, l'utilisation de *M. chamomilla* comme complément alimentaire a influencé positivement la consommation de *Juniperus phoenicea* par les chèvres (Rogosic et al., 2015). Des extraits de *M. chamomilla* ont également été étudiés comme conservateurs alimentaires dans le fromage cottage (Caleja et al., 2015, 2016b), les yaourts (Caleja et al., 2016a) et les biscuits (Caleja et al., 2017). D'autre part, le potentiel antifongique de *M. chamomilla* permet son utilisation comme outil agricole. En serre, ils ont signalé l'utilisation possible de l'extrait aqueux de *M. chamomilla* pour lutter contre le champignon *Pythium ultimum* dans les cultures de haricots (Ghoniem et al., 2021).

De plus, l'utilisation possible de *M. chamomilla* comme tensioactif naturel a été étudiée. Shadizadeh et Kharrat, (2015) ont découvert que l'extrait hydroglycolique peut être utilisé comme tensioactif pour le processus de récupération chimique améliorée du pétrole, car il diminue la tension interfaciale huile-eau. Dans une autre étude, *M. chamomilla* a été utilisé comme inhibiteur respectueux de l'environnement pour la gestion de la corrosion par l'eau de l'acier doux fédéré (Ugi et al., 2019).

DEUXIEME PARTIE :

TRAVAUX EXPERIMENTAUX

Chapitre I : Composition chimique et phytomélatonine des extraits des plantes sélectionnées du Nord du Maroc

I. Introduction

Plusieurs extraits de plantes contenant des substances phytochimiques sont de plus en plus commercialisés en tant que produits favorisant la santé (Catani et al., 2021). Environ 20 % des plantes connues ont été utilisées dans des études pharmaceutiques, ayant un impact positif sur le système de santé, comme le traitement du cancer et des maladies nocives (Naczk et Shahidi, 2006).

Diverses études ont montré que de nombreuses plantes sont riches en antioxydants. Par exemple, les vitamines A, C et E et les composés phénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins et les lignines, présents dans les plantes, agissent tous comme des antioxydants (Altemimi et al., 2017). Les plantes sont capables de produire un grand nombre de composés bioactifs divers. Pour extraire ces composés, plusieurs facteurs peuvent entrer en joue tels que les techniques et les solvants d'extraction, également l'isolement et la purification des molécules bioactives (Altemimi et al., 2017).

Les composés phénoliques sont omniprésents dans les plantes qui synthétisent collectivement plusieurs milliers de structures chimiques différentes caractérisées par un ou plusieurs cycles aromatiques hydroxylés. Ces composés jouent plusieurs fonctions importantes dans les plantes. Ils représentent un exemple frappant de plasticité métabolique permettant aux plantes de s'adapter à l'évolution des environnements biotiques et abiotiques et fournir aux produits végétaux une couleur, un goût, des propriétés technologiques et des avantages potentiels pour la santé (Boudet, 2007).

D'un autre côté, les plantes peuvent contenir les phytohormones, comme la mélatonine (N-acetyl-5-methoxytryptamine). C'est une hormone, qui apparaît comme une molécule multi-régulatrice, similaire à celle observée chez l'animal, avec de nombreuses fonctions spécifiques dans la physiologie végétale. La mélatonine joue un rôle important dans la régulation du sommeil, de la température corporelle, de l'état de vigilance et du degré de concentration ou de performance, et des rythmes du cortisol chez l'être humain. Elle agit comme un initiateur du sommeil en ouvrant la porte du sommeil circadien, agissant ainsi comme un régulateur du sommeil. La mélatonine ajuste le rythme ou renforce les oscillateurs de l'horloge biologique centrale (Arnao et Hernànde-Ruiz, 2020).

Nous avons observé que les plantes médicinales et aromatiques sont devenues une source de composés naturels reconnus pour leurs activités biologiques. Pour cette raison, l'objectif de

notre étude consiste à analyser la composition chimique et hormonale (mélatonine) des extraits de différents organes (racines, tiges, feuilles et fleurs) de deux plantes aromatiques et médicinales étudiées, *C. mixtus* et *M. chamomilla*, de la région de Beni Hassane Tétouan du Nord-ouest du Maroc. Ces analyses ont été effectuées par plusieurs techniques analytiques, y compris la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS), la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) et la HPLC avec détection de fluorescence (HPLC-FLUO).

II. Matériel et méthodes

1. Appareillage et outils

- Broyeur à couteaux MICROTRON MB 550 (KINEMATICA AG, Allemagne).
- Tamis en inox (Fisher Scientific LABOSI).
- Évaporateur rotatif sous vide (R-210, BÜCHI, Flawil, la Suisse).
- Centrifugeuse (Hettich MIKRO 220/220R, Allemagne).
- Analyseur pour HPLC Finnigan Surveyor Plus couplée à un détecteur de masse Finningan LCQ Deca XP MAX (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA).
- Analyseur pour GC (Trace 1300, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) couplée à la SM quadripolaire simple ISQ (Thermo Fisher Scientific).
- SpeedVac (ThermoSavant SPD111V) couplé à un piège à vapeur RVT400 (USA).
- HPLC-FLUO, Jasco Serie-2000 (Tokyo, Japon).
- Filtres pour HPLC de 0,22 µm (pour les échantillons) (Filter Lab, Espagne).

2. Réactifs

- Méthanol ultra gradient HPLC grade (J.T Baker HLPC analyzed, Pologne).
- Acétate d'éthyle et l'éther diéthylique (CLHP, Qualité de réactif, ACS, ISO, UV-VIS spectroscopie, karl, Fischer titrations, Hollande).
- Acide acétique 100 % (Sigma Aldrich, Allemagne).
- Acétonitrile pour CLHP (Riedel de Haen, Allemagne).
- Acide gallique (Union chimique belge, S.A., Bruxelles, Belgique).
- Sodium phosphate monobasic dehydrate NaH_2PO_4 (Sigma Aldrich, Allemagne).
- Les standards de HPLC: Acide salicylique, acide syringique, acide férulique, acide gallique, acide *p*-hydroxybenzoïque, acide *p*-coumarique, acide protocatéchuique, acide vanillique, acide rosmarinique, acide caféique, acide ellagique, acide chlogénique, catéchine, lutéoline-7-glucoside, lutéoline, apigénine-7-O-glucoside, apigénine, quercétine, rutine,

kaempférol, isorhamnétine, naringine, paraben de méthyl, vanilline (Sigma Aldrich et Merck, Allemagne).

- Standard de mélatonine et les solvants : acétonitrile et acétate d'éthyle (Sigma-Aldrich Co., Madrid, Espagne).
- Eau ultra-pure du système Milli-Q (Milli-Q Corp, Merck, Darmstadt, Allemagne).

3. Matériel végétal

Les plantes de *C. mixtus* et de *M. chamomilla* ont été récoltées à pleine maturité à Beni Hassane (région de Tanger-Tétouan-Al Hoceïma, nord-ouest du Maroc) **(Tableau 3)** en mai 2018 et transportées au laboratoire. L'identification des plantes a été réalisée par le Prof. Ahmed Lamarti à Tétouan (Maroc).

Tableau 3:Localisation géographique et coordonnées GPS des espèces végétales étudiées.

Espèces végétales	Coordonnées GPS	Localisation
Matricaria chamomilla	N 35° 21’ 18.865” W 5° 22’ 11.677”	Beni Hassane Région de Tanger-Tétouan-Al Hoceïma
Cladanthus mixtus	N 35° 21’ 20.865” W 5° 22’ 12.677”	

Après avoir séparé les organes (racines, tiges, feuilles et fleurs) des plantes fraîches, le matériel a été séché à l'étuve jusqu'à stabilisation du poids sec à 50 °C afin de préserver au maximum l'intégrité de sa composition naturelle **(Figure 14 (1))**. Ensuite, il a été broyé dans un Microtron à 8 000 tr/min **(Figure 14 (2, 3, 4))**. Puis, le broyat est tamisé sur un tamis en inox afin d’obtenir des particules de diamètre inférieur à 0,2 mm **(Figure 14 (5))**. La poudre obtenue a été conservée dans l'obscurité à température ambiante et utilisée ultérieurement pour nos extractions et analyses.

Figure 14:Etapes de la préparation de la poudre des différents organes des plantes étudiées

(1) Séchage à 50°C dans une étuve de séchage à ventilation, **(2)** Broyage dans un broyeur à couteaux MICROTRON MB 550, **(3)** : Les six pales du rotor en acier inoxydable poli. **(4)** Montage de broyeur à couteaux MICROTRON MB 500. Le bol interne de 1000 mL (emplacement de l'échantillon) est recouvert d'un bol externe de protection, en plexiglas, obligatoire pour son fonctionnement. (5) Tamis en inox utilisé pour tamiser le broyat.

4. Préparation des extraits méthanoliques bruts

L'extraction et les analyses réalisés dans ce chaitre ont été fait dans l'unité de recherche de chimie (CIQUP), institut des sciences moléculaires (IMS), faculté des sciences, université de Porto, Portugal.

L'extraction par macération avec méthanol a été réalisée selon une procédure utilisée par Barros et al. (2007) et modifiée par Erbiai et al. (2021). Deux grammes de poudre de chaque organe ont été extraites par agitation avec 100 mL de méthanol à 25 °C à 150 tr/min pendant 24 h et filtrées sous vide à travers un papier Whatman N°4 **(Figure 15)**. Le résidu de la filtration a été re-extrait à nouveau deux fois en utilisant la même procédure. Les extraits méthanoliques de chaque organe ont été combinés puis évaporés à 45 °C à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide (**Figure 16**). Ensuite, les extraits séchés ont été pesés et conservés à -80 °C jusqu'à utilisation. Le rendement d'extraction a été calculé pour chaque organe étudié par la formule suivante :

$$Rendement(\%) = \frac{Poids\ de\ l'extrait\ après\ évaporation\ du\ solvant}{Poids\ sec\ de\ la\ fructification} \times 100$$

Figure 15:Filtration sous vide des extraits de méthanol.

Figure 16:Evaporation des extraits méthanoliques à l'aide d'un évaporateur rotatif sous vide.

5. Analyse chimique des composés phénoliques par HPLC-MS

5.1. Extraction et purification des composés phénoliques

Une quantité de 1 g de poudre de chaque organe a été extraite avec 20 mL du méthanol : eau (80:20, v/v) à -20 °C pendant 2 h. Après sonification pendant 15 min **(Figure 17 A)** et centrifugation à 4000×g pendant 10 min **(Figure 17 B)**, l'extrait a été filtré par papier Whatman N° 4. Le résidu était puis re-extrait dans les mêmes conditions une fois de plus avant de l'évaporer. Ensuite, les extraits sont combinés et évaporés à 40 °C sous pression réduite par le rotavapeur pour éliminer le méthanol. La phase aqueuse a été soumise à une autre extraction liquide-liquide avec du diéthyle éther (2x20 mL) et acétate d'éthyle (2x20 mL). L'anhydre du sulfate de sodium a été ajouté à la phase organique au moment de la décantation (**Figure 17C**) et les extraits ont été filtrés par papier Whatman N°4 avant d'être évaporé par rotavapeur à 40°C à sec. Finalement, les extraits secs ont été conservés à -80 jusqu'à utilisation.

Figure 17:Etape de préparation des extraits méthanoliques pour l'analyse HPLC-MS.

(**A)** Sonification, (**B)** Centrifugation **(C)** Décantation.

5.2. Analyse chromatographique par HPLC-MS

Les analyses des extraits des plantes ont été effectuées à l'aide d'un HPLC Finnigan Surveyor Plus, équipé d'un détecteur PDA Plus et d'un passeur d'échantillons (**Figure 18**). La séparation chromatographique a été réalisée à l'aide d'un Acclaim™ 120, colonne C18 en phase inverse (3 µm 150 × 4,6 mm) thermostatique à 35 °C, et les pics ont été détectés à 280 nm.

La phase mobile consistait en (A) 1% d'acide acétique dans l'eau et (B) 100% d'acétonitrile, qui a été dégazée et filtrée préalablement. Le gradient d'élution était de 10 à 15 % B durant 5 min, de 15 à 25% B durant 5 min, de 25 à 35 % B en 10 min, de 35 à 50 % B en 10 min, isocratique 50 % B pendant 10 min, et enfin rééquilibration de la colonne, en utilisant un débit de 0,5 mL/min. L'analyse de HPLC-MS a été réalisée à l'aide d'une pompe LC quaternaire Plus couplée à un détecteur de masse Finningan LCQ Deca XP MAX avec une source d'ionisation électrospray (ESI) et un piège à ions quadripôle.

Figure 18:Analyse des extraits végétaux par HPLC-MS.

Les composés phénoliques de l'échantillon ont été caractérisés sur la base de leurs spectres UV-Vis et identifiés en comparant leurs spectres de masse et leurs temps de rétention avec ceux d'étalons commerciaux. Concernant l'analyse quantitative des composés phénoliques, une courbe d'étalonnage a été obtenue par injection de concentrations connues (5 à 160 µg/mL) de divers standards (Acide salicylique, acide syringique, acide férulique, acide gallique, acide *p*-hydroxybenzoïque, acide *p*-coumarique, acide protocatéchuique, acide vanillique, acide rosmarinique, acide caféique, acide ellagique, acide chlogénique, catéchine, lutéoline-7-glucoside, lutéoline, apigénine-7-O-glucoside, apigénine, quercétine, rutine,

kaempférol, isorhamnétine, naringine, paraben de méthyl, vanilline). La quantification a été réalisée en calculant les aires de pics enregistrés à 280 nm et en les comparant avec la courbe d'étalonnage obtenue à partir des standards. Les résultats ont été exprimés en µg par gramme de matière sèche.

6. Analyse chimique des extraits méthanoliques par GC-MS

Les extraits méthanoliques ont été chimiquement analysés par GC-MS (**Figure 19**). La GC était équipée d'une colonne capillaire DB-5 (30 um, 0,25 mm de d.i., épaisseur de film 0,25 um) avec une phase stationnaire non polaire (5 % phényl 95 % diméthylpolysiloxane). La température de la colonne a été programmée pour augmenter de 50 °C à 350 °C à une vitesse de 5 °C/min, et l'hélium a été utilisé comme gaz vecteur à un débit de 0,75 mL/min. Enfin, 50 µL des solutions ont été utilisés pour l'analyse GC-MS **(Figure 20)**.

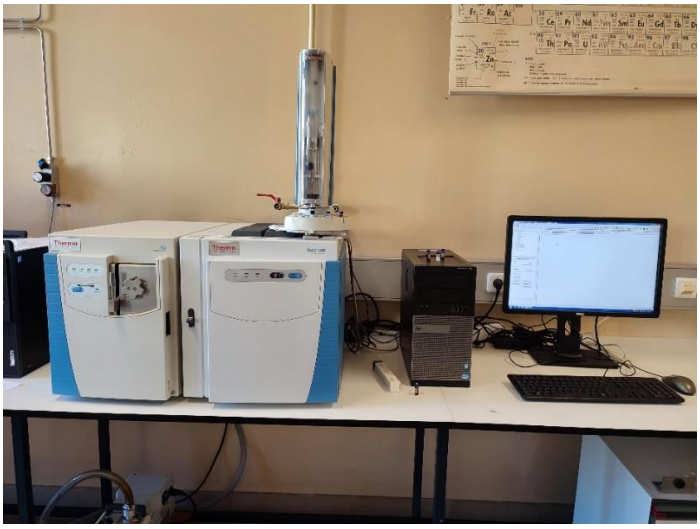


Figure 19:Analyse des extraits végétaux par GC-MS.

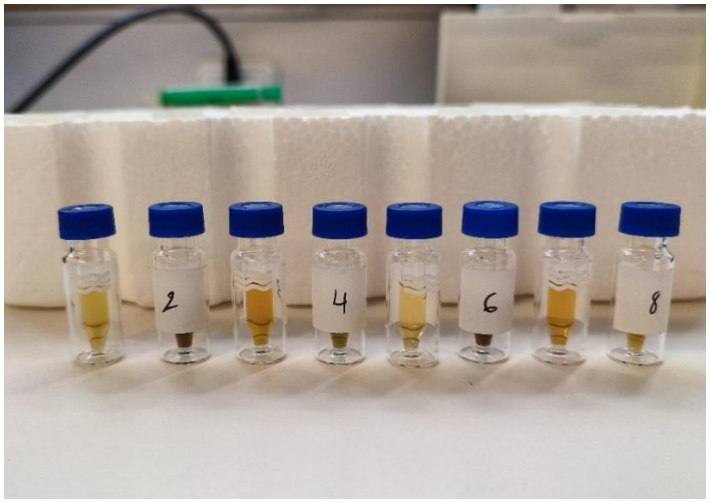


Figure 20:Echantillons prêts pour l'analyse par GC-MS.

7. Analyse de la phytomélatonine

7.1. Préparation des échantillons

Nous avons réalisé toutes les analyses de la teneur en phytomélatonine au sein de département de biologie végétale, unité de physiologie végétale, groupe de recherche sur les phytohormones et le développement des plantes à l'Université de Murcie, Espagne.

Les échantillons pour l'analyse de la phytomélatonine ont été préparés selon Arnao et Hernànde-Ruiz (2009). 0,1g de la matière sèche de différents organes des deux plantes a été placé dans des flacons contenant 0,3 g d'acétate d'éthyle. Après avoir laissé les échantillons une nuit (15 h) à température ambiante et à l'obscurité sous agitation, le résidu a été jeté après filtration et lavage avec le solvant (0,5 mL). Ensuite, les extraits des échantillons ont été évaporés à sec sous vide à l'aide d'un SpeedVac couplé à un piège à vapeur RVT400 réfrigéré **(Figure 21)**. Le résidu a été redissous dans l'acétonitrile (0,5 mL), filtré (0,2 µm) et analysé par HPLC-FLUO.

Figure 21:Evaporation des échantillons pour l'analyse de la phytomélatonine dans un SpeedVac couplé à un piège à vapeur RVT400 réfrigéré

7.2. Analyse par HPLC-FLUO

La teneur en phytomélatonine dans les différents organes de deux plantes étudiées a été déterminée par HPLC-FLUO, selon les études précédentes de Arnao et Hernández-Ruiz (2009). La HPLC utilisée était équipée d'un dégazeur en ligne, d'une pompe binaire, d'un multi-échantillonneur automatique, d'une colonne thermostatée et d'un détecteur de fluorescence Jasco FP-2020-Plus (**figure 22**).

Une longueur d'onde d'excitation de 280 nm et une longueur d'onde d'émission de 350 nm ont été choisies. Une colonne Waters XBridge-C18 (5 µm de taille de particule), 100 x 2,1 mm LC (Sigma-Aldrich, Barcelone, Espagne) et thermorégulée à 40°C a été utilisée. Les solvants A (eau MilliQ avec 0,1 % d'acide formique) et B (acétonitrile avec 0,1 % d'acide

formique) en mode isocratique, à un débit de 0,2 mL/min, ont été utilisés pour la séparation des composés. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel de système de données Jasco ChromNAV v.1.09.03 (Tokyo, Japon). Pour une identification correcte, une analyse spectrale de fluorescence en ligne à l'aide du logiciel Jasco Spectra Manager (Tokyo, Japon) a comparé les spectres d'excitation et d'émission de la mélatonine standard avec le pic correspondant de phytomélatonine dans les échantillons.

Figure 22:Analyse de la phytomélatonine par HPLC-FLUO.

8. Analyses statistiques

Pour l'analyse statistique des résultats, le programme SPSS (Chicago, États-Unis) a été utilisé en appliquant l'ANOVA à un facteur pour évaluer les différences statistiques entre les groupes, suivie d'un test de comparaison multiple de Tukey post-hoc pour établir des différences significatives entre les paramètres évalués. Trois échantillons ont été utilisés.

III. Résultats

1. Rendement d'extraction des composés phénoliques

Lors de l'extraction des différents organes des plantes étudiées, le rendement de l'extraction a été calculé selon la règle générale :

$$\textbf{Rendement}\ (\%) = \frac{\textbf{Poids de résidu d'extrait après évaporation du méthanol}}{\textbf{Poids de la matière végétale sèche}}$$

Le rendement, déterminé par rapport à 2g de matériel végétal sec, est exprimé en pourcentage. Les résultats obtenus sont illustrés dans le **tableau 4**. Les résultats ont montré que les fleurs ont donné le plus grand rendement pour *M. chamomilla* (28,25%) et *C. mixtus* (25,86%). Pour *M. chamomilla*, les feuilles ont aussi donné un bon rendement (22,84%), suivies

des tiges (18,56%) et des racines (10,67%). En revanche, pour *C. mixtus,* les racines ont donné un bon rendement (20,65%), suivies des feuilles (19,40%) et des tiges (18,75%).

Tableau 4:Rendement d'extraction des différents organes de *Matricaria chamomilla* et *Cladanthus mixtus*.

		Matricaria chamomilla	*Cladanthus mixtus*
Rendement (%)	**Racine**	10,67 ± 2,10	20,65 ± 2,86
	Tige	18,56 ± 1,55	18,75 ± 3,41
	Feuille	22,84 ±1,19	19,40 ± 4,11
	Fleur	28,25 ± 0,65	25,86 ± 0,73

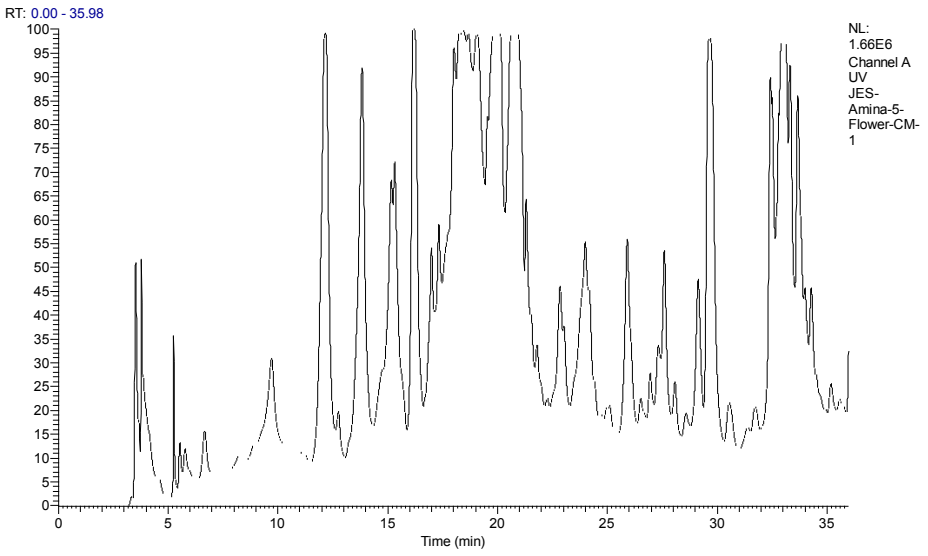
2. Quantification des composés phénoliques par HPLC-MS

Les composés présents dans les extraits des deux plantes étudiées ont été identifiés sur la base de leurs temps de rétention en HPLC, de leurs caractéristiques UV-visibles et de leurs spectres de masse après ionisation négative à différentes tensions de fragmentation par comparaison avec des quantités connues d'étalons (**voir annexe**).

2.1. Acides phénoliques et flavonoïdes caractérisés dans *Cladanthus mixtus*

Les chromatogrammes HPLC-MS des extraits de *C. mixtus* **(Figure 23)** ont été caractérisés par la présence de 23 composés phénoliques identifiés dans l'extrait des fleurs et 24 dans les extraits des feuilles, des tiges et des racines. Bien que présentant des différences dans leur composition phénolique, tous les extraits étaient caractérisés par une teneur élevée en acides phénoliques et en flavonoïdes (**Tableau 5**).

A



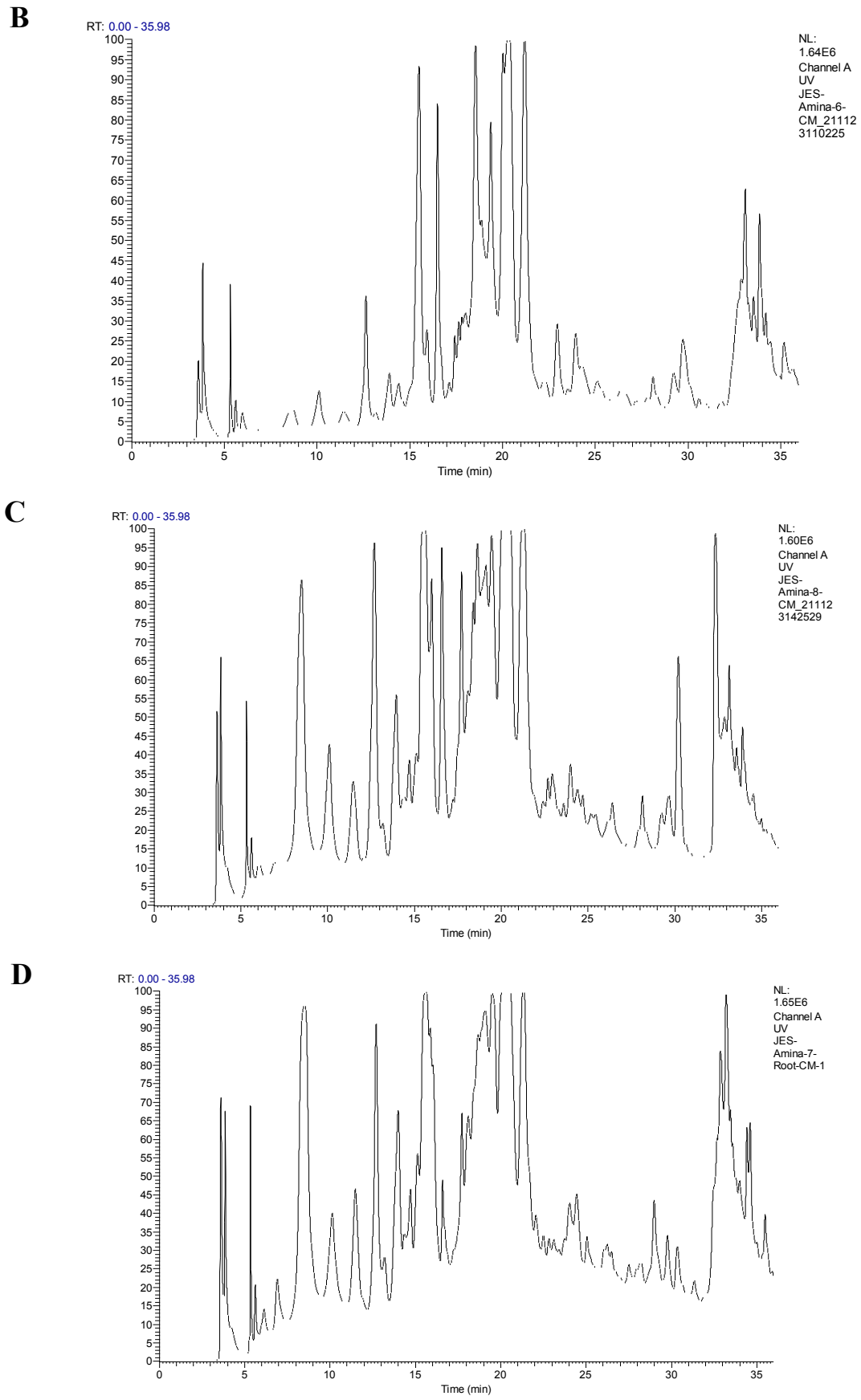


Figure 23:Chromatogrammes de HPLC-MS des extraits de *Cladanthus mixtus*.

(A) fleurs, **(B**) feuilles, **(C)** tiges, **(D)** racines.

Comme détaillé dans le **tableau 5**, des différences statistiquement significatives ont été trouvées entre la teneur des molécules identifiées dans le même organe ($p < 0,05$). En général, les 12 acides phénoliques ont été détectés dans les extraits des organes de *C. mixtus,* à l'exception de l'acide vanillique absent dans les fleurs. L'acide chlorogénique a été le principal acide phénolique détecté à haute concentration dans les extraits des fleurs (1987 µg/g MS), des tiges (894,5 µg/g MS) et des racines (561,8 µg/g MS), tandis que l'acide ellagique était l'acide phénolique le plus abondant dans les feuilles (1095 µg/g MS). D'un autre côté, l'acide gallique a montré la plus faible concentration dans tous les organes (entre 7,14 et 13,2 µg/g MS). En général, la fleur a montré la plus haute teneur pour tous les acides phénoliques comparés aux autres organes.

Concernant les flavonoïdes, les 12 molécules ont été détectées dans les quatre organes, avec une dominance des glycosides et des aglycones (**Tableau 5**). L'apigénine-7-O-glucoside avait la teneur la plus élevée dans les extraits de feuilles, des tiges et des racines avec des valeurs allant de 603 à 95,68 µg/g MS, tandis qu'il a été classé comme un deuxième composé majoritaire après la quercétine (1292 µg/g MS) dans l'extrait des fleurs. Par contre, le paraben de méthyl était le flavonoïde le moins abondant dans les feuilles, les tiges et les racines (16,6 – 34,71 µg/g MS), alors qu'il avait une plus haute teneur dans les fleurs (265,6 µg/g MS). D'un autre côté, l'apigénine était le flavonoïde le moins abondant dans les fleurs (119,1 µg/g MS). Comme pour les acides phénoliques, les fleurs ont montré la plus haute teneur pour tous les flavonoïdes comparés aux autres organes.

Tableau 5:Composés phénoliques des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenus par HPLC-MS.

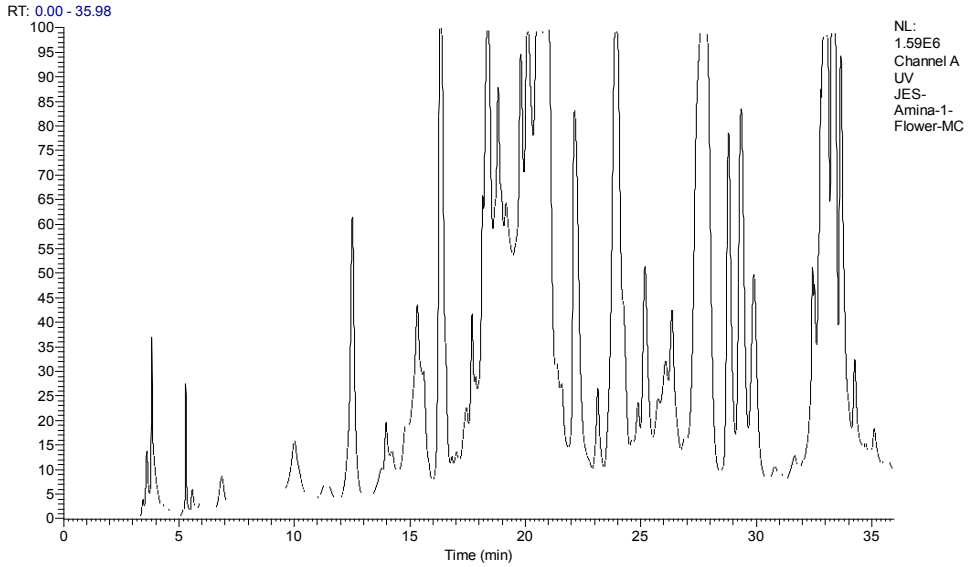
		Teneur (µg/g MS)			
	Composés	**Fleurs**	**Feuilles**	**Tiges**	**Racines**
Acides phénoliques	Acide gallique	13,2 ± 0,12 q	11,17 ± 0,26 o	7,141 ± 0,07 q	9,498 ± 0,19 q
	Acide protocatéchuique	216,1 ± 0,32 n	41,06 ± 0,43m	124,3 ± 0,96 k	96,68 ± 0,93kl
	Acide chlorogénique	1987 ± 0,69 a	348,4 ± 0,60 e	894,5 ± 0,02 q	561,8 ± 0,94 b
	Acide salicylique	318 ± 0,41 j	133,3 ± 0,11 j	122 ± 0,84 k	110,2 ± 0,66 ij
	Acide *p*-hydroxybenzoïque	701,1 ± 0,04 f	65,89 ± 0,35 l	175,5 ± 0,02 i	184,4 ± 0,07 g
	Acide caféique	206,7 ± 0,50 n	126,8 ± 0,98 j	123 ± 0,21 k	86,3 ± 0,13 lm
	Acide vanillique	--	77,51 ± 0,52 l	192,9 ± 0,12 h	130,1 ± 0,46 h
	Acide syringique	345,2 ± 0,60 i	146,8 ± 0,2 i	135,3 ± 0,39 j	58,94 ± 0,90 o
	Acide rosmarinique	102,1 ± 0,72 p	38,04 ± 0,23m	14,82 ± 0,23pq	11,06 ± 0,15 q
	Acide ellagique	1666 ± 0,51b	1095 ± 0,43 a	470,4 ± 0,56 d	415,2 ± 0,53 c
	Acide *p*-coumarique	407,1 ± 0,77 h	191,4 ± 0,70 g	92,7 ± 0,26 m	83,05 ±0,27 m
	Acide férulique	161,3 ± 0,16 o	105,4 ± 0,46 k	102,2 ± 0,76 l	82,04 ± 0,75m
Flavonoïdes	Lutéoline-7-O-glucoside	836,3 ±0,38 e	424 ± 0,08 c	332,4 ± 0,59 e	305,1 ± 0,88 d
	Apigénine-7-O -glucoside	1074 ± 0,21 d	958,6 ±0,41b	819,6 ± 0,30 b	603 ± 0,80 a
	Lutéoline	257,5 ± 0,7lm	169,5 ± 0,33 h	84,25 ± 0,49 m	67,38 ±0,88no
	Apigénine	119,1 ± 0,42 p	37,1 ± 0,53 m	29,83 ± 0,12 o	54,01 ± 0,51 o
	Quercétine	1292 ± 0,85 c	23,38 ± 0,80 n	307,3 ± 0,86 f	73,6 ± 0,63mn
	Rutine	673,1 ±0,99g	377 ± 0,55 d	565,2 ± 0,58 c	241,1 ± 0,53f
	Naringine	298,3 ± 0,02jk	220,6 ± 0,37 f	141,6 ± 0,70 j	105,6 ± 0,18jk
	Paraben de méthyle	265,6 ± 0,35 l	16,6 ± 0,15 no	18,73 ± 0,91 p	34,71 ± 0,81 p
	Catéchine	347,7 ± 0,22 i	114,4 ± 0,74 k	240,4 ± 0,12 g	268,4 ± 0,28 e
	Vanilline	141,9 ± 0,87 o	138 ± 0,60 ij	140,1 ± 0,79 j	122,7 ± 0,71hi
	kaempférol	290,6 ± 0,03 k	69,57 ± 0,02 l	72,98 ± 0,19 n	39,9± 0,53 p
	Isorhamnétine	237,5 ± 0,64m	110,9 ± 0,78 k	108,7 ± 0,92 l	129,6 ± 0,80 h

Les valeurs sont des moyennes ± écart-type de trois répétitions. (--) : Non détecté. Les lettres a, b, c, … q représentent une différence significative entre les composés dans le même organe au niveau de $p < 0,05$.

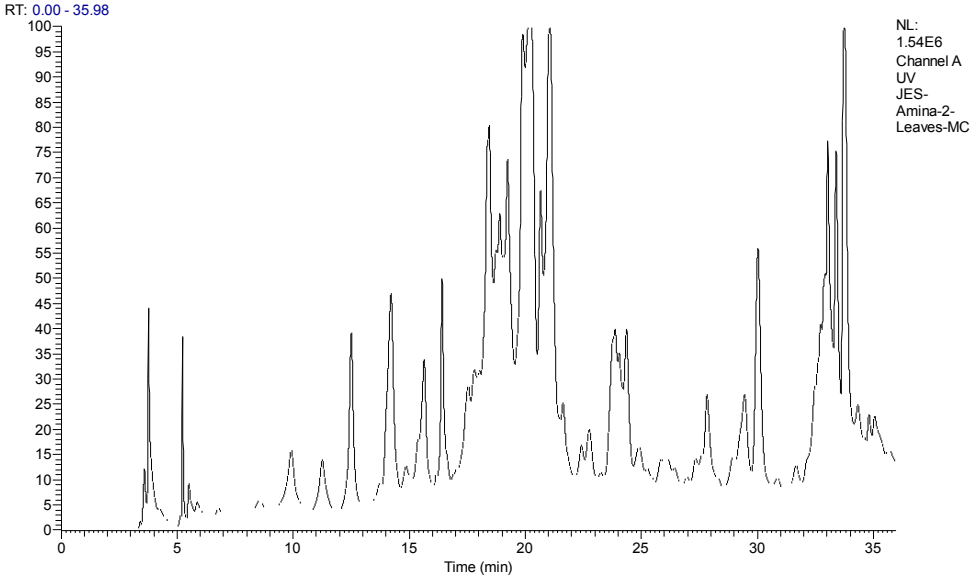
2.2. Acides phénoliques et flavonoïdes caractérisés dans *Matricaria chamomilla*

La caractérisation des acides phénoliques et les flavonoïdes a été réalisée par HPLC-MS **(Figure 24)** et les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau 6**. L'analyse a montré une différence quantitative significative entre la teneur des molécules identifiées dans le même organe ($p < 0,05$).

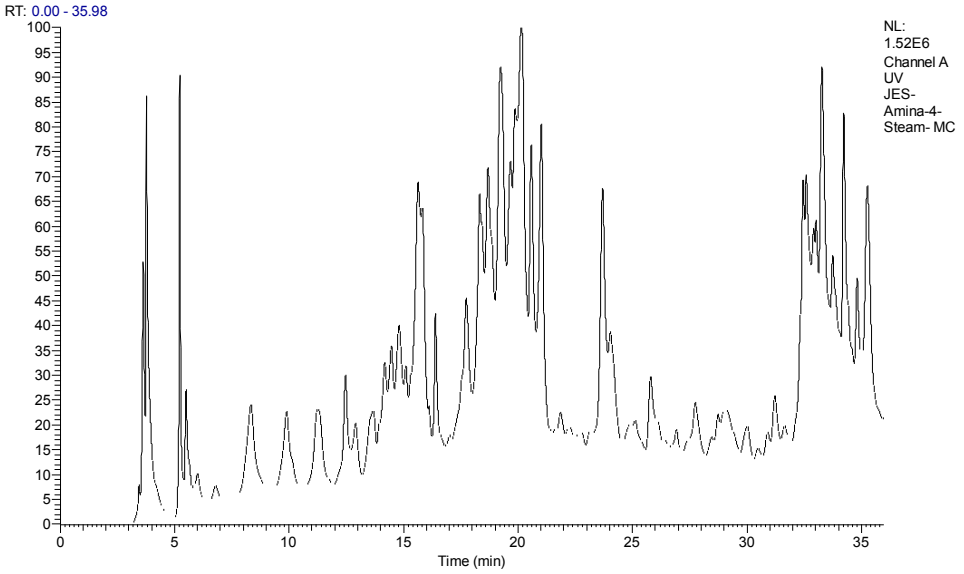
A


RT: 0.00 - 35.98
NL:
1.59E6
Channel A
UV
JES-
Amina-1-
Flower-MC
Time (min)

B


RT: 0.00 - 35.98
NL:
1.54E6
Channel A
UV
JES-
Amina-2-
Leaves-MC
Time (min)

C


RT: 0.00 - 35.98
NL:
1.52E6
Channel A
UV
JES-
Amina-4-
Steam- MC
Time (min)

D

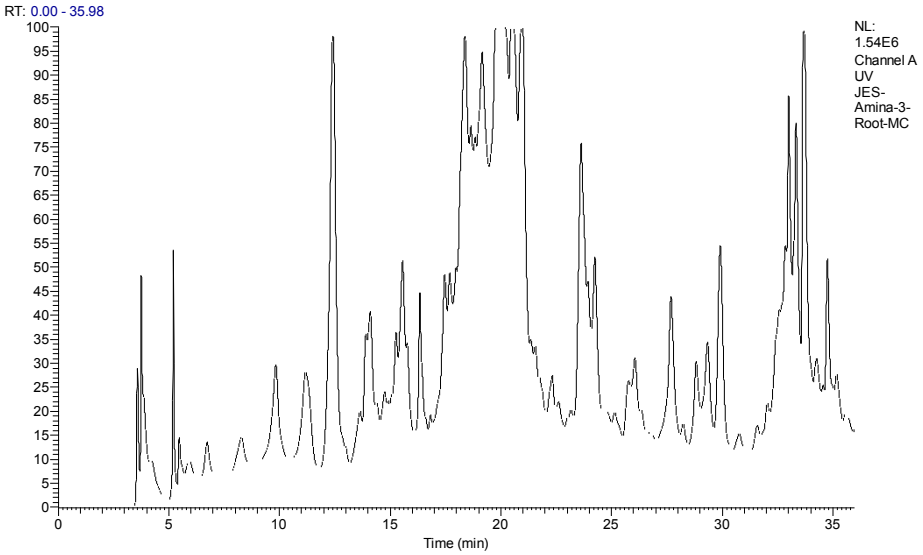


Figure 24:Chromatogrammes de HPLC-MS des extraits de *Matricaria chamomilla*.

(A) fleurs, **(B**) feuilles, **(C)** tiges, **(D)** racines.

Les extraits ont été caractérisés par la présence de 22 composés phénoliques identifiés dans les fleurs et les racines, et 23 dans les feuilles et les tiges. Également, tous les extraits ont été caractérisés par une teneur élevée en acides phénoliques et en flavonoïdes.

Les 12 acides phénoliques ont été détectés uniquement dans l'extrait des feuilles, alors que l'acide vanillique a été absent des extraits des fleurs et des racines, et l'acide *p*-coumarique des extraits des tiges.-L'acide ellagique a été le prédominant acide phénolique détecté dans les extraits de fleurs, feuilles et tiges (397,8 - 1207 µg/g MS), alors que l'acide chlorogénique était dominant dans les racines (1130 µg/g MS). D'autre part, l'acide gallique a montré la plus faible teneur dans les quatre organes (4,389 – 9,72 µg/g MS).

Différents flavonoïdes identifiés ont été également détectés et confirmés par leurs masses (**voir annexe**). Les résultats (**Tableau 6**) ont montré que les 12 flavonoïdes ont été détectés dans tous les organes, sauf la catéchine présente seulement dans les tiges (262,7 µg/g MS). La rutine était le composé dominant des extraits des fleurs (2707 µg/g MS) et des tiges (517 µg/g MS), alors que l'apigénine-7-O-glucoside était majoritaire dans les feuilles (824,8 µg/g MS) et les racines (628,5 µg/g MS). D'un autre côté, l'apigénine était le composé le moins abondant dans les feuilles (69,86 µg/g MS) et les racines (77,21 µg/g MS). Le paraben de méthyle était le moins abondant dans les tiges (20,45 µg/g MS) alors que l'isorhamnétine était le moins abondant dans les fleurs (172,6 µg/g MS). En général, les extraits des fleurs ont montré la plus haute teneur pour la plupart des flavonoïdes comparés aux autres organes.

Tableau 6:Composés phénoliques des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenus par HPLC-MS.

		Teneur (µg/g MS)			
	Composés	**Fleurs**	**Feuilles**	**Tiges**	**Racines**
Acides phénoliques	Acide gallique	4,389 ± 0,15 r	7,535 ± 0,11m	9,29 ± 0,09 p	9,72 ± 0,10 q
	Acide protocatéchuique	81,17 ± 0,47q	71,36 ± 0,22 j	56,37 ± 0,24 l	112,2 ±0,56lm
	Acide chlorogénique	781,4 ± 0,19 f	363,7 ± 0,92 d	174,45 ± 0,48e	1130 ± 0,03 a
	Acide salicylique	1136 ± 0,66 c	229,7 ± 0,75 f	204,82 ± 0,97f	365,1 ± 0,29 d
	Acide *p*-hydroxybenzoïque	67,85 ± 084 q	231,8 ± 0,13 f	80,86 ± 0,24 jk	201,8 ± 0,48 i
	Acide caféique	107,1 ± 0,65p	44,17 ± 0,75 k	79,64 ± 0,23 jk	69,78 ±0,70op
	Acide vanillique	--	13,54 ±0,49lm	20,69 ± 0,14 o	--
	Acide syringique	315,3 ± 0,56 j	78,04 ± 0,12 j	42,63 ±0,12mn	60,37 ± 0,22 p
	Acide rosmarinique	138,6 ± 0,88p	22,04 ± 0,25 l	9,531 ± 0,12 p	18,35 ± 0,52 q
	Acide ellagique	1207 ± 0,45 b	829,3 ± 0,5 a	397,8 ± 0,30 b	956,7 ± 0,26 b
	Acide *p*-coumarique	213,9 ± 0,54 l	170,9 ± 0,91 g	--	82,61 ± 0,51 n
	Acide férulique	216,1 ± 0,66 l	229,7 ± 0,86 f	51,78 ± 0,90lm	176,9 ± 0,55 j
Flavonoïdes	Lutéoline-7-O-glucoside	970,1 ± 0,44e	628,4 ± 0,33 b	362,1 ± 0,28 c	262,4 ± 0,24 g
	Apigénine-7-O-glucoside	727,7 ± 0,35g	824,8 ± 0,59 a	297,9 ± 0,27 b	628,5 ± 0,68 c
	Lutéoline	491,5 ± 0,03h	140,8 ± 0,51 h	72,62 ± 0,93 k	122 ± 0,83 kl
	Apigénine	193,1 ±0,14m	69,86 ± 0,08 j	83,96 ± 0,91 j	77,21 ±0,51no
	Quercétine	433,2 ± 0,05 i	380,6 ± 0,64 c	40,11 ± 0,13 n	283,2 ± 0,60 f
	Rutine	2707 ±0,39a	344,2 ± 0,52 e	517 ± 0,88 a	332,6 ± 0,53 e
	Naringine	254 ± 0,65 k	101,2 ± 0,40 i	159,5 ± 0,32 h	237,1 ± 0,57 h
	Paraben de méthyle	1092 ± 0,20 d	91,37 ± 0,69 i	20,45 ± 0,24 o	130,2 ± 0,90 k
	Catéchine	--	--	262,7 ± 0,66 e	--
	Vanilline	192,6 ±0,68m	158,4 ± 0,48 g	118,1 ± 0,69 i	181 ± 0,76 j
	kaempférol	262,2 ± 0,59k	236,8 ± 0,81 f	83,14 ± 0,09 j	196 ± 0,54 i
	Isorhamnétine	172,6 ± 0,12n	136,8 ± 0,27 h	265,2 ± 0,75 e	101,1 ± 0,57m

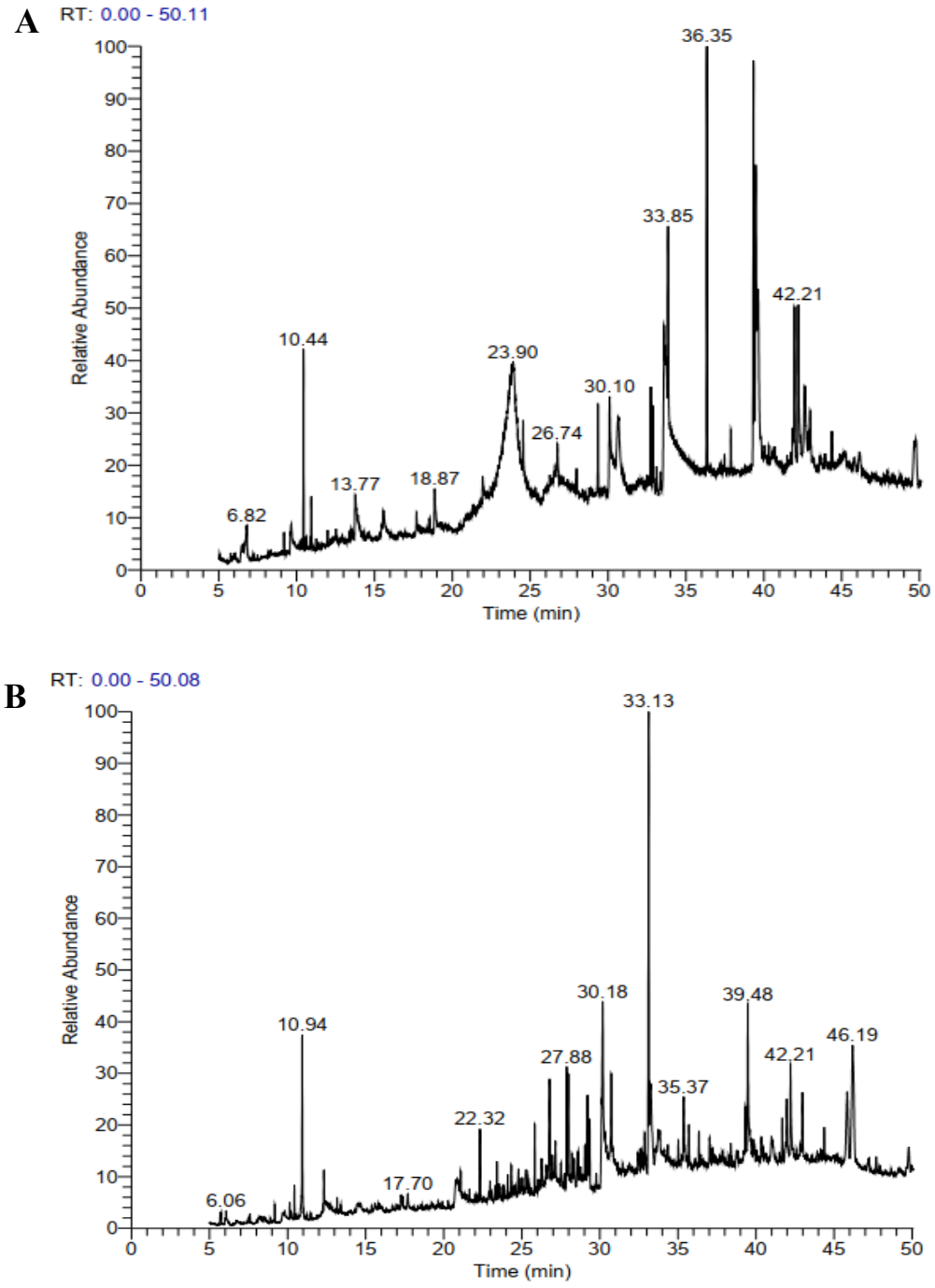
Les valeurs sont des moyennes ± écart-type de trois répétitions. (--) : Non détecté. Les lettres a, b, c, … r représentent une différence significative entre les composés dans le même organe au niveau de $p < 0,05$.

3. Bio-constituants volatils dans les plantes étudiées détectés par analyse GC-MS

3.1. Constituants biochimiques des différents organes de *Cladanthus mixtus*

Le chromatogramme GC-MS des extraits des fleurs, des feuilles, des tiges et des racines de *C. mixtus* à différents temps de rétention (**Figure 25**) ont révélé la présence de 38, 42, 30 et 36 composés phytochimiques, respectivement. Ces composés font partie des terpénoïdes, des

esters, des alcools, des alcanes, des acides gras, des acides organiques, des benzènes et ses dérivés, des phénols, des cétones, des carbonyles, des amines, des stérols, et d'autres groupes. En général, l'extrait des fleurs était dominé par les acides gras (27,86%), les feuilles par les terpénoïdes (46,2%), les tiges par les esters (30,11%) et les racines par les alcools (24,49%) et les esters (21,91%) (**Tableau 7**).



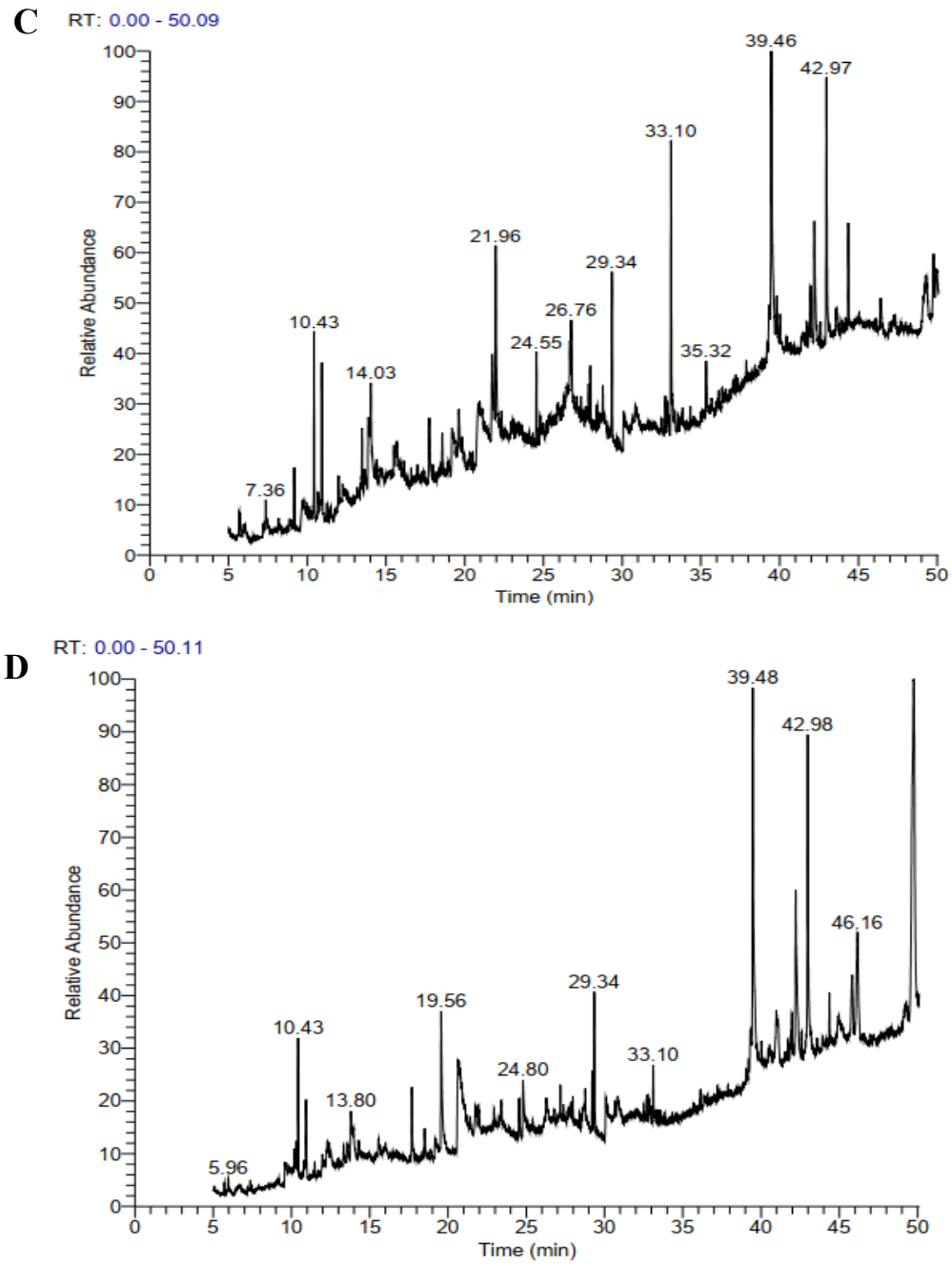


Figure 25:Chromatogrammes de GC-MS des extraits méthanoliques de *Cladanthus mixtus*.

(A) fleurs, **(B**) feuilles, **(C)** tiges, **(D)** racines.

Tableau 7:Groupes de biomolécules des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenus par GC-MS.

	Surface (%)			
Groupes des composés	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Terpénoïdes	10,41	46,2	11,32	10,88
Esters	13,88	13,21	30,11	21,91
Alcools	--	6,74	5,05	24,49
Alcanes	15,14	2,63	18,13	3,14
Acides gras	27,86	11,88	6,18	8,23
Acides organiques	3,07	1,85	2,74	4,7
Benzène et ses dérivés	2,85	7,62	5,73	8,15
Phénols	0,41	0,52	1,61	6
Cétones	--	1,25	4,47	1,67
Carbonyles	19,27	1,34	--	--
Amines	1,62	2,32	6,9	0,7
Pyrrolidines/pyrimidines	0,97	0,22	3,04	3,36
Stéroïdes	--	2,32	--	--
Autres	4,52	1,88	4,72	6,77
Totale	**100**	**99,98**	**100**	**100**

(--) : Absent.

3.1.1. Terpénoïdes

L'analyse des extraits méthanoliques de *C. mixtus* a montré que les terpénoïdes constituent 46,2% de la composition des feuilles, 11,32% de la composition des tiges, 10,88% de la composition des racines et 10,41% de la composition des fleurs (**Tableau 8**). L'extrait des feuilles a révélé la présence de 10 composés, dont les majoritaires étaient le lupéol (14,66%), phytol (11,39%), tétrahydro-2H-2-pyranyloxy (6,88%) et l'eucalyptol (3,95%). Dans l'extrait des tiges, nous avons décelé la présence de 4 composés : phytol (6,41 %), eucalyptol (2,83%), 6,10,14-triméthyl-2-pentadécanone (0,85%) et (3α)-D:A-friedooleanan-3-ol (1,23%), détecté seulement dans cet organe. L'extrait des fleurs a aussi révélé la présence de 4 composés, dont le β-sitostérol (6,25%) et le taraxastérol (0,87%), présents seulement dans cet organe, et le campestérol (2,81%) et l'eucalyptol (0,48%). Finalement, 3 composés ont été détectés dans l'extrait des racines : lupéol (8,69%), eucalyptol (1,22%) et phytol (0,97%).

Tableau 8:Composition chimique en terpénoïdes des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
β-sitostérol	$C_{29}H_{50}O$	414,7	6,25	--	--	--
Lupéol	$C_{30}H_{50}O$	426,7	--	14,66	--	8,69
Phytol	$C_{20}H_{40}O$	296,5	--	11,39	6,41	0,97
Eucalyptol	$C_{10}H_{18}O$	154,2	0,48	3,95	2,83	1,22
Campestérol	$C_{28}H_{48}O$	400,7	2,81	1,28	--	--
Taraxastérol	$C_{30}H_{50}O$	426,7	0,87	--	--	--
Tétrahydro-2H-2-pyranyloxy (2,6-Octadienal, 2,6-dimethyl-8-)	$C_{15}H_{24}O_3$	252,3	--	6,88	--	--
Néophytadiène	$C_{20}H_{38}$	278,5	--	2,16	--	--
2,6,10-Triméthyl-tétradécane	$C_{17}H_{36}$	240,5	--	2,38	--	--
6,10,14-Triméthyl-2-pentadécanone	$C_{18}H_{36}O$	268,5	--	1,93	0,85	--
Isoshyobunone	$C_{15}H_{24}O$	220,3	--	1	--	--
Oxyde de caryophyllène	$C_{15}H_{24}O$	220,3	--	0,57	--	--
(3α)-D:A-Friedooleanan-3-ol	$C_{30}H_{52}O$	428,7	--	--	1,23	--
Total			**10,41**	**46,2**	**11,32**	**10,88**

(--) : Absent.

3.1.2. Esters

Les résultats des extraits méthanoliques de *C. mixtus* ont présenté des valeurs de la composition chimique en esters allant de 13,21 à 30,11 % dont l'ordre était tiges > racines > fleurs > feuilles avec les valeurs 30,11 > 21,91 > 13,88 > 13,21%, respectivement (**Tableau 9**). L'extrait méthanolique des fleurs, des feuilles et des racines ont montré la présence de 5 composés, alors que l'extrait des tiges a montré la présence de 6 composés. L'acide palmitique β-monoglycéride a été détecté comme le constituant majoritaire dans tous les extraits (15,66 ; 13,08 ; 7,88 et 6,32% dans les tiges, racines, fleurs et feuilles, respectivement), suivi par l'acide stéarique β-monoglycéride (5,57 ; 4 ; 3,29 et 3,21% dans les racines, tiges, fleurs et feuilles, respectivement).

Tableau 9:Composition chimique en esters des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Acide palmitique β-monoglycéride	$C_{19}H_{38}O_4$	330,5	7,88	6,32	15,66	13,08
Acide stéarique β-monoglycéride	$C_{21}H_{42}O_4$	358,6	3,29	3,21	4	5,57
Ester méthylique de l'acide palmitique	$C_{17}H_{34}O_2$	270,5	1,02	--	2,33	1,63
Linoléate de méthyle	$C_{19}H_{34}O_2$	294,5	0,92	--	--	--
(9Z)-9-Octadécénoate de méthyle	$C_{19}H_{36}O_2$	296,4	0,77	--	--	--
Ester d'hexadécyle N-éthoxycarbonyl-l-norvaline	$C_{24}H_{47}NO_4$	413,6	--	--	3,49	--
l-Proline, N-allyloxycarbonyl-, undec-10-enyl ester	$C_{20}H_{33}NO_4$	351,5	--	--	2,98	--
Phtalate de bis(6-méthylheptyle)	$C_{24}H_{38}O_4$	390,6	--	--	1,65	--
Acétate d'artémisyle	$C_{12}H_{20}O_2$	196,29	--	2,47	--	--
Décanoate de phytyle	$C_{30}H_{58}O_2$	450,8	--	0,82	--	--
Carbonate d'éthylène	$C_3H_4O_3$	88,0	--	0,39	--	--
Acide 2-mercapto-2-méthyl-propionique	$C_4H_8O_2S$	120,1	--	--	--	1,09
4-Butoxy-3-méthoxybenzoate d'octahydro-2H-quinolizin-1-ylméthyle	$C_{22}H_{33}NO_4$	375,5	--	--	--	0,54
Total			**13,88**	**13,21**	**30,11**	**21,91**

(--) : Absent.

3.1.3. Alcools

Les résultats illustrés dans le **tableau 10** ont montré que la composition en alcool a largement différé entre les quatre organes. Chaque organe a montré une composition différente de l'autre. Ainsi, on a trouvé dans l'extrait des racines 3 alcools (24,49%), dont l'iso-allocholate d'éthyle était le majoritaire (23,28%). Aussi, l'extrait des feuilles était formé de 3 alcools (6,74%) : diallyl méthylcarbinol (5,39%), (3Z,13Z)-2-méthyl-3,13-octadécadién-1-ol (1,09%) et 1-méthylcycloheptanol (0,26%). L'extrait des racines a montré 2 composés (5,05%) : 1-[(2Z)-5-

Hydroxy-4-méthyl-2-hexén-1-yl]cyclohexanol (3,98%) et 5-azécanol (1,07%), alors que l'extrait des fleurs ne contenait pas d'alcool.

Tableau 10:Composition chimique en alcools des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Iso-allocholate d'éthyle	$C_{26}H_{44}O_5$	436,6	--	--	--	23,28
4-Méthyl-1,6-heptadién-4-ol (Diallyl méthylcarbinol)	$C_8H_{14}O$	126,2	--	5,39	--	--
1-[(2Z)-5-Hydroxy-4-méthyl-2-hexén-1-yl]cyclohexanol	$C_{13}H_{24}O_2$	212,3	--	--	3,98	--
(3Z,13Z)-2-Méthyl-3,13-octadécadién-1-ol	$C_{19}H_{36}O$	280,5	--	1,09	--	--
5-Azécanol	$C_9H_{19}NO$	157,2	--	--	1,07	--
2,3-Diméthyl-3-pentanol	$C_7H_{16}O$	116,2	--	--	--	0,87
1-Hexadécanol	$C_{16}H_{34}O$	242,4	--	--	--	0,34
1-Méthylcycloheptanol	$C_8H_{16}O$	128,2	--	0,26	--	--
Totale			--	**6,74**	**5,05**	**24,49**

(--) : Absent.

3.1.4. Alcanes

Un totale de 18,13 ; 15,14 ; 3,14 et 2,63 % de composition en alcanes a été déterminé dans les extraits des tiges, des fleurs, des racines et des feuilles, respectivement (**Tableau 11)**. Dans les fleurs et les tiges, on a rapporté 5 alcanes, alors que dans les feuilles et les racines, on a trouvé seulement 2. L'éicosane était le composé majoritaire dans les fleurs (13,46%) et les feuilles (2,14%), alors que le 1,3,5-triméthyl-2-octadécylcyclohexane était majoritaire dans les tiges (6,17%) et les racines (2,26%).

Tableau 11:Composition chimique en alcanes des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Éicosane	$C_{20}H_{42}$	282,5	13,46	2,14	1,97	--
5,14-Dibutyloctadécane	$C_{26}H_{54}$	366,7	0,23	--	--	--
(2-Méthyl-2-butanyl)	$C_{11}H_{22}$	154,2	--	0,49	--	--
Tétracosane	$C_{24}H_{50}$	338,7	0,47	--	--	--
3-Méthylpentacosane	$C_{26}H_{54}$	366,7	0,3	--	--	--
9-Octylhexacosane	$C_{34}H_{70}$	478,9	0,68	--	--	--
1,3,5-Triméthyl-2-octadécylcyclohexane	$C_{27}H_{54}$	378,7	--	--	6,17	2,26
6,6-diméthyl-10-méthylène-1-oxa-spiro[4.5]décane	$C_{12}H_{20}O$	180,2	--	--	5,57	--
10-Méthylicosane	$C_{21}H_{44}$	296,6	--	--	2,24	--
11-Décyltétracosane	$C_{34}H_{70}$	478,9	--	--	2,18	--
Tritétracontane	$C_{43}H_{88}$	605,2	--	--	--	0,88
Total			**15,14**	**2,63**	**18,13**	**3,14**

(--) : Absent.

3.1.5. Acides gras et acides organiques

La composition en acides gras et en acides organiques des extraits de *C. mixtus* a été présenté dans les **tableaux 12** et **13**. Pour la composition en acides gras (**Tableau 12**), l'extrait des fleurs a montré la présence de 5 composés, avec (Z)-18-octadec-9-énolide (12,69%) comme un composé majoritaire suivi par l'acide palmitique (9,1%). Ce dernier a également été détecté dans l'extrait des feuilles (11,39%) avec l'acide (2E)-3-méthoxy-4-nitro-2-buténoïque (0,49%). Dans l'extrait des racines et des tiges, le (Z)-13-docosénamide était le seul acide gras rapporté, avec 8,23 et 6,18%, respectivement. Pour la composition en acides organiques (**Tableau 13**), nous avons trouvé 3 acides dans les extraits des feuilles, 2 acides dans les racines et les fleurs, et 1 seul dans les tiges. L'hydrazide d'acide oxalique était le seul composé commun entre les quatre organes, et dominant dans les racines (3,47%) et les fleurs (1,88%).

Tableau 12:Composition chimique en acides gras des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
(Z)-18-octadec-9-énolide	$C_{18}H_{32}O_2$	280,4	12,69	--	--	--
Acide palmitique	$C_{16}H_{32}O_2$	256,4	9,1	11,39	--	--
(γ -Stéarolactone)	$C_{18}H_{34}O_2$	282,5	3,8	--	--	--
(Z)-13- Docosénamide	$C_{22}H_{43}NO$	337,6	1,17	--	6,18	8,23
Acide caprique	$C_{10}H_{20}O_2$	172,2	1,1	--	--	--
Acide (2E)-3-méthoxy-4-nitro-2-buténoïque	$C_5H_7NO_5$	161,1	--	0,49	--	--
Total			**27,86**	**11,88**	**6,18**	**8,23**

(--) : Absent.

Tableau 13:Composition chimique en acides organiques des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Hydrazide d'acide oxalique	$C_2H_6N_4O_2$	118,1	1,88	0,51	2,74	3,47
3-[(2E)-2-Décén-1-yl]dihydro-2,5-furanedione	$C_{14}H_{22}O_3$	238,3	0,64	--	--	--
Acide 3-méthylbutanoïque	$C_5H_{10}O_2$	102,1	--	--	--	1,23
Éthylphosphonofluoridate de 4-décanyle	$C_{12}H_{26}FO_2P$	252,3	--	1,16	--	--
Acétate de 3-méthylcyclopentyle	$C_8H_{14}O_2$	142,2	--	0,18	--	--
Total			**3,07**	**1,85**	**2,74**	**4,7**

(--) : Absent.

3.1.6. Benzène et ses dérivés et phénols

L'analyse par GC-MS des extraits de *C. mixtus* a révélé la présence des benzènes et de ses dérivés, avec des valeurs allant de 2,85 à 8,15% (**Tableau 14**). Dans l'extrait des racines, le 1-nitro-3-(propoxyméthyl) benzène était le seul composé présent à 8,15%. Les extraits des fleurs et des tiges étaient formés de 2 composés, avec le loliolide (benzofurans) comme

composé dominant. Ce dernier était aussi dominant dans les extraits des feuilles, formés au total de 3 molécules.

Les extraits de *C. mixtus* étaient aussi formés de phénols, allant de 0,41 à 6% (**Tableau 15**). Les extraits des racines étaient formés de 3 molécules, avec la vanilline comme composé dominant (4,21%) suivi par 2-méthoxy-4-vinylphénol (1,28%). Ce dernier était le seul phénol détecté dans les feuilles (0,52%). Les extraits des tiges et des fleurs étaient aussi formés d'un seul phénol, 6-O-acétyl-1-[[4-bromophényl] sulfonyl]-β-d-glucoside (1,61%) et 4-hydroxy-2-méthylacétophénone (0,41%), respectivement.

Tableau 14:Composition chimique en benzène et ses dérivés des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
1-Nitro-3-(propoxyméthyl) benzène	$C_{10}H_{13}NO_3$	195,2	--	--	--	8,15
3,4-Dihydro-1H-isochromène-1-carboxylate d'éthyle	$C_{12}H_{14}O_3$	206,2	1,21	--	--	--
4-Méthylbenzaldéhyde	C_8H_8O	120,1	--	--	2,45	--
5,5,8a-Triméthyl-3,5,6,7,8,8a-hexahydro-2H-chromène	$C_{12}H_{20}O$	180,2	--	1,24	--	--
Loliolide	$C_{11}H_{16}O_3$	196,2	1,64	3,53	3,28	--
1-[(3-Méthylbutoxy)méthyl]-3-nitrobenzène	$C_{12}H_{17}NO_3$	223,2	--	2,85	--	--
Totale			**2,85**	**7,62**	**5,73**	**8,15**

(--) : Absent.

Tableau 15:Composition chimique en phénols des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleurs**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Vanilline	$C_8H_8O_3$	152,1	--	--	--	4,21
2-Méthoxy-4-vinylphénol	$C_9H_{10}O_2$	150,1	--	0,52	--	1,28
4-Hydroxy-2-méthylacétophénone	$C_9H_{10}O_2$	150,1	0,41	--	--	--
6-O-Acétyl-1-[[4-bromophényl] sulfonyl]-β-d-glucoside	$C_{14}H_{17}BrO_8S$	425,2	--	--	1,61	--
2,6-Diméthoxyphénol	$C_8H_{10}O_3$	154,1	--	--	--	0,51
Totale			**0,41**	**0,52**	**1,61**	**6**

(--) : Absent.

3.1.7. Cétones, carbonyles et amines

L'analyse des extraits de *C. mixtus* ont montré la présence des cétones, carbonyles et amines (**Tableau 16**). Les cétones étaient absentes dans les fleurs, alors qu'ils avaient une composition très différente dans les autres organes : tiges (4,47%, 2 composés), racines (1,67%, 2 composés) et feuilles (1,25%, 1 composé). Le groupe des carbonyles était représenté dans les fleurs par le 5-éthyl-4-méthyl-3-hept (19,27%) et dans les feuilles par le 4-éthyl-2,6-diméthyl-4-heptanol (1,34%). Pour les amines, les quatre organes ont montré une composition différente et unique. L'extrait des tiges était formé par le N-butylcyclohexylamine (6,9%) comme une seule biomolécule principale et majoritaire. Les extraits des fleurs et des racines étaient aussi formés d'une molécule, alors que l'extrait des feuilles était formé de 2 molécules (2,32%).

Tableau 16:Composition chimique en cétones, carbonyles et amines des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Cétones						
1-Phénoxyacétone	$C_9H_{10}O_2$	150,1	--	--	1,58	--
Cyclobutanone	C_4H_6O	70,0	--	--	2,89	--
Apocynine	$C_9H_{10}O_3$	166,1	--	--	--	1,03
2',5'-Diméthoxyacétophénone	$C_{10}H_{12}O_3$	180,2	--	--	--	0,64
(7aR)-4,4,7a-Triméthyl-5,6,7,7a-tétrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one	$C_{11}H_{16}O_2$	180,2	--	1,25	--	--
Totale			--	**1,25**	**4,47**	**1,67**
Carbonyles						
5-Éthyl-4-méthyl-3-heptanone	$C_{10}H_{20}O$	156,2	**19,27**	--	--	--
4-Éthyl-2,6-diméthyl-4-heptanol	$C_{11}H_{24}O$	172,3	--	**1,34**	--	--
Amines						
N-[2-(1,3-Dioxolan-2-yl)éthyl]-N-méthyl-4-(1-pyrrolidinyl)-2-butyn-1-amine	$C_{14}H_{24}N_2O_2$	252,3	--	--	--	0,7
(1E)-N-Isobutyl-2-méthyl-1-propanimine	$C_8H_{17}N$	127,2	--	0,65	--	--
(9Z)-9-Octadécénamide	$C_{18}H_{35}NO$	281,5	--	1,67	--	--
N-Butylcyclohexanamine	$C_{10}H_{21}N$	155,2	--	--	6,9	--
3,5-Dihydroxy-6-méthyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-one	$C_6H_8O_4$	144,1	1,62	--	--	--
Totale			**1,62**	**2,32**	**6,9**	**0,7**

(--) : Absent.

3.1.8. Pyrrolidines, pyrimidines et stéroïdes

Les pyrrolidines, pyrimidines et stéroïdes sont présentes dans nos extraits de *C. mixtus* (**Tableau 17**). Les extraits des tiges et des fleurs ont montré 3 composés de pyrrolidines avec une totalité de 3,04 et 0,97% respectivement. D'un autre côté, les extraits des racines étaient formés de 2 pyrrolidines (1,29%) et celui des feuilles d'un seul (0,22%). Concernant les pyrimidines, un seul composé a été présent dans seulement l'extrait des racines : 1,3-diméthyltétrahydro-2(1H)-pyrimidinethione (2,07%). Pour les stéroïdes, le seul composé était présent dans l'extrait des feuilles : 2-méthylènecholestan-3-ol (2,32%).

Tableau 17:Composition chimique en pyrrolidines, pyrimidines et stéroïdes des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Pyrrolidines						
1-Pyrrolidinylacétonitrile	$C_6H_{10}N_2$	110,1	0,18	--	0,74	0,33
N,N,2-Triméthyl-2-[(2,2,3-triméthyl-1-pyrrolidinyl)oxy]-1-propanamine	$C_{13}H_{28}N_2O$	228,3	0,23	--	--	--
2-Hydroxy-1-(1'-pyrrolidiyl)-1-butén-3-one	$C_8H_{13}NO_2$	155,1	0,56	--	--	0,96
1-(3-Méthyl-3-butén-1-yl)pyrrolidine	$C_9H_{17}N$	139,2	--	0,22	--	--
1-(3-Méthyl-3-butén-1-yl)pyrrolidine	$C_9H_{17}N$	139,2	--	--	1,39	--
1-(1'-pyrrolidinyl)-2-propanone	$C_7H_{13}NO$	127,1	--	--	0,91	--
Totale			**0,97**	**0,22**	**3,04**	**1,29**
Pyrimidines						
1,3-Diméthyltétrahydro-2(1H)-pyrimidinethione	$C_6H_{12}N_2S$	144,2	--	--	--	**2,07**
Stéroïdes						
2-Méthylènecholestan-3-ol	$C_{28}H_{48}O$	400,7	--	**2,32**	--	--

(--) : Absent.

3.1.9. Autres groupes

Concernant le reste des composés détectés par GC-MS (**Tableau 18**), il y avait une différence dans les constituants dans tous les organes. Une variété de groupes a été observée, y

compris les aldéhydes, les coumarines, les éthers, les siloxanes, les organosoufrés et les organophosphorés, etc. Dans les racines, on a rapporté 6 molécules (6,77%). Dans les tiges, 2 molécules ont formé 4,72% de l'extrait. Dans les fleurs et les feuilles, 3 molécules ont été rapportées.

Tableau 18:Reste de composition chimique des extraits de *Cladanthus mixtus* obtenue par GC-MS.

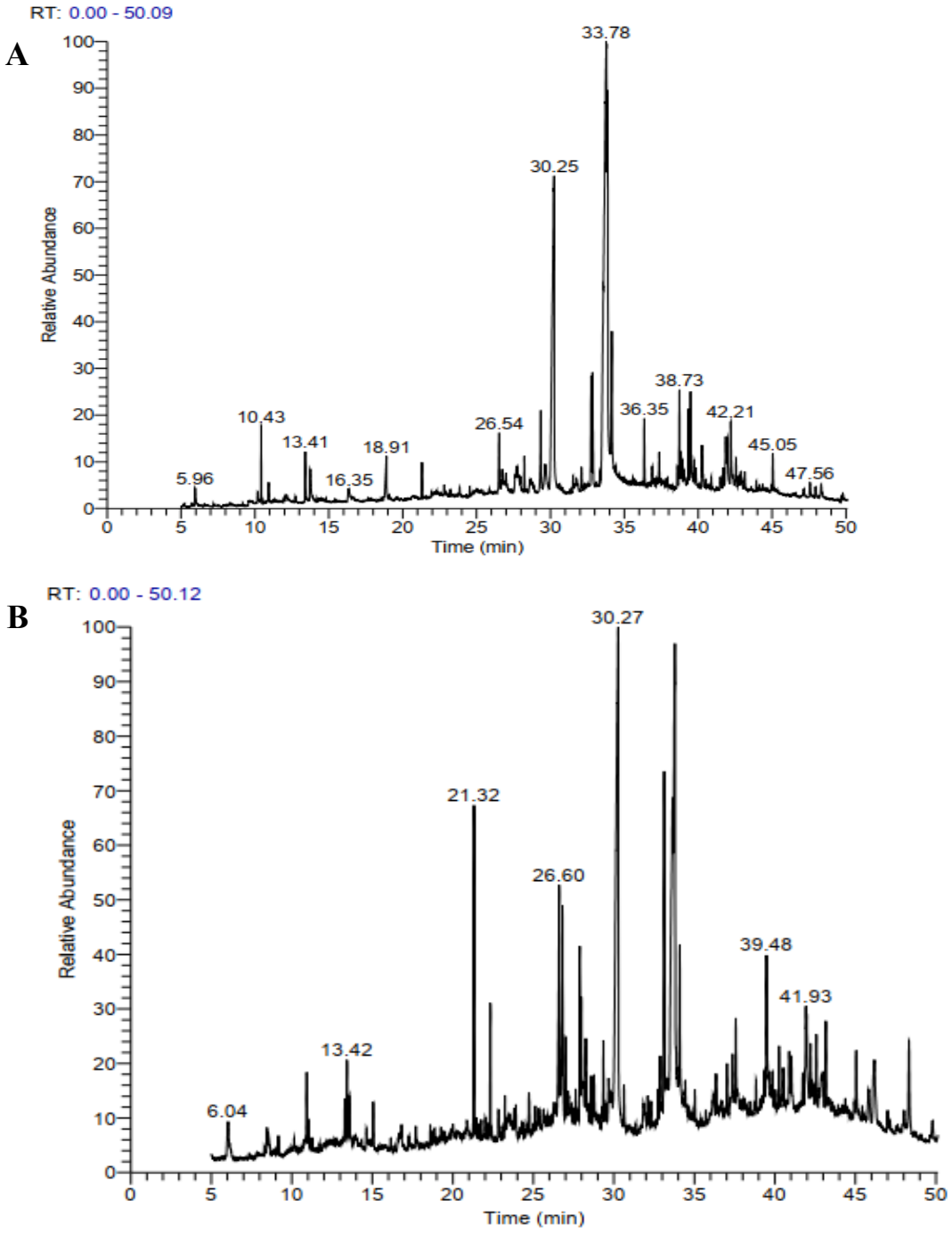
			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
5-(1-Pipéridinyl)-2-furaldéhyde	$C_{10}H_{13}NO_2$	179,2	1,69	--	--	--
5-(4nitrophénoxyméthyl)furan-2-carbaldéhyde)	$C_{12}H_9NO_5$	247,2	--	--	--	0,64
2,3-Dihydro-1-benzofurane	C_8H_8O	120,1	1,46	--	--	--
2-Méthyl-2-pentadécanethiol	$C_{16}H_{34}S$	258,5	--	0,86	--	--
Oxyde de triphénylphosphine	$C_{18}H_{15}OP$	278,3	--	--	3,43	--
Docosyl octyl éther	$C_{30}H_{62}O$	438,8	--	0,62	--	--
Butyl(diméthyl)propoxysilane (Triisopropylsilanol)	$C_9H_{22}OSi$	174,3	--	--	1,29	--
Guanine-cytosine	$C_9H_{10}N_8O_2$	262,2	--	--	--	1,28
1-[(2R)-1-Méthyl-2-pyrrolidinyl] acétone	$C_8H_{15}NO$	141,2	--	--	--	0,38
Cis-1,2-dichlorocycloheptane (1R,2S)-1,2-Dichlorocycloheptane	$C_7H_{12}C_{l2}$	167,0	--	--	--	1,07
9-Hexylheptadécane	$C_{23}H_{48}$	324,6	--	--	--	2,79
nor-Méphédrone 2-Amino-1-(4-méthylphényl)-1-propanone	$C_{10}H_{13}NO$	163,2	--	--	--	0,61
Décanoate de vinyle	$C_{12}H_{22}O_2$	198,3	--	0,4	--	--
(1E,5Z)-1,5-Bis(triméthylsilyl-3-méthylène-1,5-heptadiène	C_7H_{12}	96,17	1,37	--	--	--
Totale			**4,52**	**1,88**	**4,72**	**6,77**

(--) : Absent.

3.2. Constituants biochimiques des différents organes de *Matricaria chamomilla*

Le chromatogramme GC-MS des extraits de fleurs, feuilles, tiges et racines de *M. chamomilla* à différents temps de rétention (**Figure 26**) ont révélé la présence de 55, 52, 48 et

44 pics, respectivement. Les biomolécules identifiées peuvent être principalement divisées en acides gras, terpénoïdes, esters, phénols, alcools et aldéhydes, terpènes lactones et alcanes, acides aminés, acides organiques, vitamines, benzènes et ses dérivés.



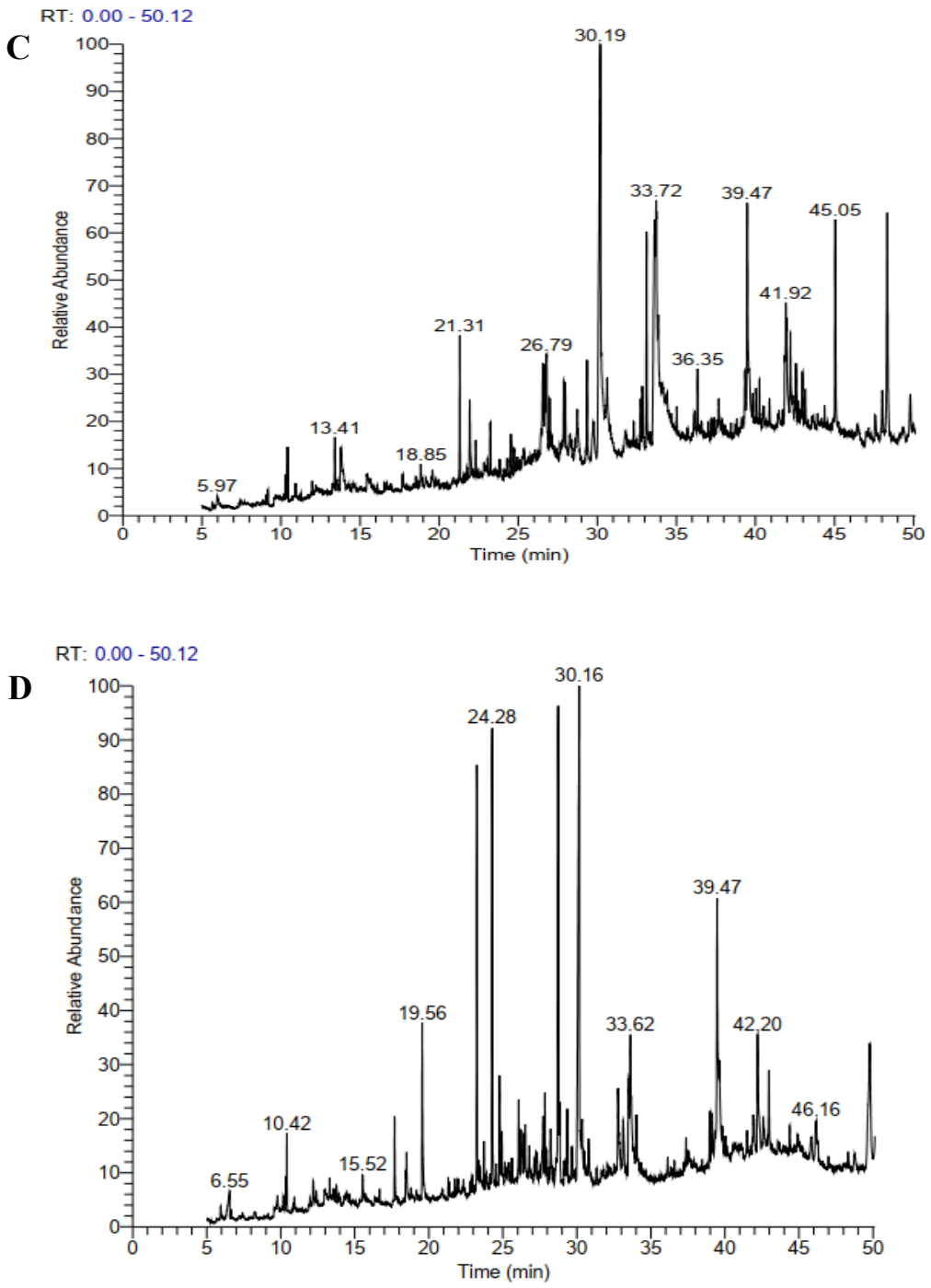


Figure 26:Chromatogrammes de GC-MS des extraits méthanoliques de *Matricaria chamomilla*.

(A) fleurs, **(B**) feuilles, **(C)** tiges, **(D)** racines.

Les acides gras se sont avérés être le principal groupe chimique dans les extraits des fleurs (56%), des feuilles (55,08%) et des tiges (48,27%), alors qu'ils étaient abondants (11,48%) après les vitamines (18,01%) dans l'extrait des racines (**Tableau 19**).

Tableau 19:Groupes de biomolécules des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

	Surface (%)			
Groupes des composés	**Fleurs**	**Feuilles**	**Tiges**	**Racines**
Acides gras	56	55,08	48,27	11,48
Terpénoïdes	2,63	22,5	18,39	16
Esters	26,47	8,13	12,32	17
Phénols	--	--	--	12
Alcools	4,69	2,97	7,8	0,3
Aldéhydes	0,43	--	--	7,91
Terpènes lactones	2,56	5,15	0,41	0,2
Alcanes	4,46	--	2	--
Amines	--	4	1,01	1,8
Acides organiques	1,83	--	0,69	2,1
Vitamines	--	--	--	18,01
Benzène et ses dérivés	0,13	--	--	8,82
Autres	0,8	2,17	9,1	4,38
Totale	**100**	**100**	**99,99**	**100**

(--) : Absent.

3.2.1. Acides gras

L'analyse GC-MS de l'extrait méthanolique des fleurs, feuilles, tiges et racines de *M. chamomilla* a montré la présence de 56 ; 55,08 ; 48,27 et 11% des acides gras, respectivement. Les composés détectés avec leur poids moléculaire, formule et leur surface sont présentés dans le **tableau 20.** L'analyse de l'extrait des fleurs a révélé la présence de 14 composés, dont le majoritaire était l'acide linoélaïdique (45,91%). Dans l'extrait des feuilles, 10 composés ont été détectés avec l'anhydride palmitique (18,9%), l'acide linolénique (12,5%) et l'acide linoléique (11%) comme composés majoritaires. L'extrait des tiges a montré 9 composés, avec l'acide palmitique (17,38%) et (Z)-18-octadec-9-énolide (10,36%) comme biomolécules majoritaires. Finalement, dans l'extrait des racines, 7 composés ont été rapportés, avec l'acide (E)-13-octadécénoïque (4,3%) et (Z)-18-octadec-9-énolide (2,12%) comme des composés majoritaires.

Tableau 20:Composition chimique en acides gras des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Acide myristique	$C_{14}H_{28}O_2$	228,3	1,14	3,51	2,26	0,72
Tritétracontane	$C_{43}H_{88}$	605,2	1,64	--	--	--
3-Méthylheptacosane	$C_{28}H_{58}$	394,8	0,51	--	--	--
Diéthanolamide oléique	$C_{22}H_{43}NO_3$	369,5	0,45	--	--	--
Anhydride palmitique	$C_{32}H_{62}O_3$	494,8	--	18,9	--	--
(Z)-18-octadec-9-énolide	$C_{18}H_{32}O$	280,4	--	--	10,36	2,12
(17E)-17-Pentatriacontène	$C_{35}H_{70}$	490,9	--	--	5,41	--
11- Décyltétracosane	$C_{34}H_{70}$	478,9	--	0,4	1,18	--
(Z)-13- Docosénamide	$C_{22}H_{43}NO$	337,6	--	--	0,86	1,63
Acide 4-butoxybutanoïque	$C_8H_{16}O_3$	160,2	--	--	--	0,85
Acide caprylique	$C_8H_{16}O_2$	144,2	0,08	--	--	--
Acide pélargonique	$C_9H_{18}O_2$	158,2	0,19	--	--	--
Acide caprique	$C_{10}H_{20}O_2$	172,2	1,38	--	0,52	--
Acide laurique	$C_{12}H_{24}O_2$	200,3	0,43	--	--	--
Acide pentadécanoïque	$C_{15}H_{30}O_2$	242,4	2,08	1,23	--	1,16
Acide linoélaïdique	$C_{18}H_{32}O_2$	280,4	45,91	--	--	--
Acide arachidique	$C_{20}H_{40}O_2$	312,5	0,51	1,21	--	--
Acide érucique	$C_{22}H_{42}O_2$	338,6	0,77	--	7,06	--
Acide palmitique	$C_{16}H_{32}O_2$	256,4	--	0,73	17,38	--
Acide paullinique	$C_{20}H_{38}O_2$	310,5	--	--	3,24	--
Acide linoléique	$C_{18}H_{32}O$	280,4	--	11	--	--
Acide linolénique	$C_{18}H_{30}O$	278,4	--	12,5	--	--
Acide (E)-13-octadécénoïque	$C_{18}H_{34}O_2$	282,5	--	--	--	4,43
Acide stéarique	$C_{18}H_{36}O_2$	284,5	--	3,8	--	1,58
Acide 2-méthyl-2-buténoïque	$C_5H_8O_2$	100,1	0,37	--	--	--
Acide 22-tricosénoïque	$C_{23}H_{44}O_2$	352,6	0,54	1,8	--	--
Totale			**56**	**55,08**	**48,27**	**11,48**

(--) : Absent.

3.2.2. Terpénoïdes

Le **tableau 21** a présenté la composition chimique en terpénoïdes des extraits de *M. chamomilla* analysée par GC-MS. Les extraits méthanoliques ont montré des valeurs de composition en terpénoïdes de 22,5% (feuilles), 18,39% (tiges), 16% (racines) et 2,63% (fleurs). Dans les extraits des feuilles, 16 molécules ont été rapportées, avec le phytol (4,34%) le lupéol (3,01%), l'α-curcumène (2,72%) et le néophytadiène (2,67%) comme composés majoritaires. L'extrait des tiges était formé de 13 composés, dont l'hydrate de trans-sesquisabinène (4,5%), le phytol (2,67%) et le santamarine (2,53%). L'extrait des racines était formé de 6 terpénoïdes, dominés par le 3β-acétate de lup-20(29)-en-3-ol (7,34%), alors que les fleurs étaient formées de 5 composés en faible pourcentage.

Tableau 21:Composition chimique en terpénoïdes des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Phytol	$C_{20}H_{40}O$	296,5	--	4,34	2,67	--
α-Curcumène	$C_{15}H_{22}$	202,3	0,39	2,72	1,55	--
Santamarine	$C_{15}H_{20}O_3$	248,3	0,96	1,23	2,53	--
9,10-Époxyaristolane	$C_{15}H_{24}O$	220,3	0,64	--	--	--
3β-Acétate de lup-20(29)-en-3-ol	$C_{32}H_{52}O$	468,7	--	--	--	7,34
β-Sitostérol	$C_{29}H_{50}O$	414,7	--	--	--	2,93
Eucalyptol	$C_{10}H_{18}O$	154,2	0,35	1,23	--	--
Lupéol	$C_{30}H_{50}O$	426,7	--	3,01	--	2,8
Acétate de phytyle	$C_{22}H_{42}O_2$	338,6	--	0,53	0,7	--
Néophytadiène	$C_{20}H_{38}$	278,5	--	2,67	1,01	--
Campestérol	$C_{28}H_{48}O$	400,7	0,29	0,6	0,97	--
2-Méthyl-6-(p-tolyle) hept-2-èn-4-ol	$C_{15}H_{22}O$	218,3	--	0,31	--	--
9,10-Époxycédrane	$C_{15}H_{24}O$	220,3	--	0,8	--	--
Déhydrovomifoliol	$C_{13}H_{18}O_3$	222,2	--	0,77	--	--
6,10,14-Triméthyl-2-pentadécanone	$C_{18}H_{36}O$	268,5	--	1,72	0,88	--

Tableau 21: Composition chimique en terpénoïdes des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS (suite).

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Hydrate de trans-sesquisabinène	$C_{15}H_{26}O$	222,3	--	--	4,5	--
2-Ethylidène-6-méthyl-3,5-heptadiénal	$C_{10}H_{14}O$	150,2	--	0,28	--	--
Réynosine	$C_{15}H_{20}O_3$	248,3	--	--	0,54	--
Nitrosine	$C_{17}H_{24}O_5$	308,4	--	--	0,63	--
Ambrosine	$C_{15}H_{18}O_3$	246,3	--	--	0,55	--
3,5a,9-Triméthyl-3a,5,5a,9b-tétrahydro-3H,4H-naphtho[1,2-b] furan-2,8-dione	$C_{15}H_{18}O_3$	246,3	--	--	0,47	--
9-Hydroxynérol	$C_{10}H_{18}O_2$	170,2	--	--	--	1,17
Géranyl β-D-mannofuranoside	$C_{16}H_{28}O_6$	316,3	--	--	--	0,98
Eriofertine	$C_{20}H_{26}O_6$	362.4	--	1,03	--	--
Coronopiline	$C_{15}H_{20}O_4$	264,3	--	0,34	--	--
Acétate de 8-hydroxy-3,8a-diméthyl-5-méthylène-2 oxododécahydronaphto [2,3-b] furan-4-yle	$C_{17}H_{24}O_5$	308,4	--	0,92	--	--
Angélate de géranyle	$C_{15}H_{24}O_2$	236,3	--	--	--	0,68
Murolan-3,9(11)-diène-10-peroxy	$C_{15}H_{24}O_2$	236,3	--	--	1,39	--
Totale			**2,63**	**22,5**	**18,39**	**16**

(--) : Absent.

3.2.3. Esters

L'analyse GC-MS de l'extrait méthanolique des fleurs, racines, tiges et feuilles de *M. chamomilla* a montré la présence de 26,47 ; 17 ; 12,32 et 8,13% des esters, respectivement (**Tableau 22**). Parmi les 10 biomolécules détectées dans l'extrait des fleurs, sébacate de bis(2-éthylhexyle) (16,5%) était majoritaire. Les extraits des tiges et racines étaient formés de 7

composés, avec l'acide palmitique β-monoglycéride comme ester majoritaire. Ce dernier était aussi majoritaire dans l'extrait des feuilles, composé de 8 biomolécules.

Tableau 22:Composition chimique en esters des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Sébacate de bis(2-éthylhexyle)	$C_{26}H_{50}O_4$	426,6	16,5	--	--	--
Acide palmitique β-monoglycéride	$C_{19}H_{38}O_4$	330,5	2,04	2,91	6,13	6,75
3-Méthylbutanoate de (2E) - 3,7-diméthyl-2,6-octadién-1-yle	$C_{15}H_{26}O_2$	238,3	--	--	--	4,54
Acide stéarique β-monoglycéride	$C_{21}H_{42}O_4$	358,5	--	1,07	2,11	2,62
Ester méthylique de N-cyclohexylcarbonyle- L-alanine	$C_{20}H_{37}NO_3$	339,5	--	--	1,31	--
Acide 2-propénoïque, ester de 2-méthyl-, (tétrahydro-2-furanyl) méthyle	$C_9H_{14}O_3$	170,2	0,57	0,78	--	--
Stéarate de 2,3-dihydroxypropyle	$C_{21}H_{40}O_4$	356,5	1,79	--	--	--
Monolinoléate de glycéryle	$C_{21}H_{38}O_4$	354,5	1,37	--	--	--
Llinoléate de méthyle	$C_{19}H_{34}O_2$	294,5	1,64	--	0,42	--
Phénylacétate de méthyle	$C_9H_{10}O_2$	150,1	0,07	--	--	--
Ester méthylique de l'acide 5,8,11-éicosatriénoïque	$C_{19}H_{32}O_2$	292,5	0,52	--	--	--
Dasycarpidan-1 methanol, acetate (ester)	$C_{20}H_{26}N_2O_2$	326,4	0,37	--	--	--
Trifluoroacétate d'isobutyle	$C_7H_9F_3O_3$	198,1	--	--	0,64	
Ester de 2-éthylhexyle octyle de l'acide isophtalique	$C_{24}H_{38}O_4$	390,6	--	--	--	1,25

Tableau 22:Composition chimique en esters des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS (suite).

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Ester méthylique de l'acide linolénique	$C_{19}H_{32}O_2$	292,5	--	0,82	--	--
Acide 4-hydroxyhexadécanoïque	$C_{16}H_{30}O_2$	254,4	--	0,92	--	--
Phtalate de bis(2-propylpentyle)	$C_{24}H_{38}O_4$	390,5	--	--	0,59	--
Acétate de (8Z)-7-méthyl-8-tétradécén-1-yle	$C_{17}H_{32}O_2$	268,4	--	--	--	0,57
Adipate de bis(6-méthylheptyle)	$C_{22}H_{42}O_4$	370,6	--	--	--	0,36
16-Méthylheptadécanoate de méthyle	$C_{19}H_{38}O_2$	298,5	--	0,8	--	--
Ester méthylique de l'acide palmitique	$C_{17}H_{34}O_2$	270,5	1,6	0,74	1,12	0,84
Malonate de diméthyle	$C_5H_8O_4$	132,1	--	0,09	--	--
Total			**26,47**	**8,13**	**12,32**	**17**

(--) : Absent.

3.2.4. Phénols

Les phénols ont été détectés uniquement dans l'extrait des racines, avec un totale de 12% et 6 composés chimiques dominés par la vanilline (3,14%) et l'acétosyringone (2,65%) (**Tableau 23**).

Tableau 23:Composition chimique en phénols des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
2-Méthoxy-4-vinylphénol	$C_9H_{10}O_2$	150,1	--	--	--	1,14
2,6-Diméthoxyphénol	$C_8H_{10}O_3$	154,1	--	--	--	1,37
Vanilline	$C_8H_8O_3$	152,1	--	--	--	3,14
Syringaldéhyde	$C_9H_{10}O_4$	182,1	--	--	--	1,92
Coniférol	$C_{10}H_{12}O_3$	180,2	--	--	--	1,47
Acétosyringone	$C_{10}H_{12}O_4$	196,1	--	--	--	2,65
Total			--	--	--	**12**

(--) : Absent.

3.2.5. Alcools et aldéhydes

Le **tableau 24** rapporte la composition chimique en alcools des extraits de *M. chamomilla,* avec un totale allant de 0,3 à 7,8%. L'extrait des tiges était formé de 2 composés, dont le 1-tétracosanol était le plus abondant (5,2%). Ce dernier était le seul alcool rapporté dans les feuilles (2,97%). Les racines étaient aussi formées d'un seul alcool ((E)-2-méthyl-4-hexén-3-ol, 0,3%), alors que les fleurs ont montré la plus grande diversité d'alcool, avec 8 molécules formant un total de 4,69%. Les résultats ont aussi montré la présence des aldéhydes dans les extraits des racines (7,91%) et des fleurs (0,43%), représenté par un composé dans chaque organe (**Tableau 25**).

Tableau 24:Composition chimique en alcools des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
1-Tétracosanol	$C_{24}H_{50}O$	354,7	--	2,97	5,2	--
1-Heptatriacotanol	$C_{37}H_{76}O$	537,0	--	--	2,6	--
(3E,12Z)-1,3,12-Nonadécatriène-5,14-diol	$C_{19}H_{34}O_2$	294,5	1,47	--	--	--
2-Propyltétrahydro-2H-pyran-3-ol	$C_8H_{16}O_2$	144,2	1,07	--	--	--
1-(1-Heptadécyn-1-yl)cyclopentanol	$C_{22}H_{40}O$	320,6	0,76	--	--	--
Acide (Z,Z,Z)-8,11,14-eicosatriénoïque	$C_{21}H_{36}O_2$	320,5	0,58	--	--	--
Alcool tétrahydrofurfurylique	$C_5H_{10}O_2$	102,1	0,39	--	--	--
1-(2-Furanyl)-3-méthyl-3-butène-1,2-diol	$C_9H_{12}O_3$	168,1	0,06	--	--	--
(3E)-2,6-Diméthyl-3,7-octadiène-2,6-diol	$C_{10}H_{18}O_2$	170,2	0,06	--	--	--
(3Z,13Z)-2-Méthyl-3,13-octadécadién-1-ol	$C_{19}H_{36}O$	280,5	0,3	--	--	--
(E)-2-méthyl-4-hexén-3-ol	$C_7H_{14}O$	114,9	--	--	--	0,3
Total			**4,69**	**2,97**	**7,8**	**0,3**

(--) : Absent.

Tableau 25:Composition chimique en aldéhydes des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
2-[(1E,3E,5E)-4-Méthyl-6-(2,6,6-triméthyl-1-cyclohexén-1-yl)-1,3,5-hexatrién-1-yl]-1-cyclohexène-1-carbaldéhyde	$C_{23}H_{32}O$	324,5	**0,43**	--	--	--
2-(1,4-Dioxo-1,4-dihydro-2-naphtalényl)-2-méthylpropanal	$C_{14}H_{12}O_3$	228,2	--	--	--	**7,91**

(--) : Absent.

3.2.6. Terpènes lactones et alcanes

Les résultats présentés dans les **tableaux 26 et 27** montrent la composition chimique en terpènes lactone et en alcanes des extraits de *M. chamomilla* avec un totale allant de 0,15 à 5,15% et de 2 à 4,46%, respectivement. L'extrait des feuilles a présenté une biomolécule majoritaire appartenant au groupe des terpènes lactones : (6S)-6-hydroxy-4,4,7a-triméthyl-5,6,7,7a-tétrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one (2,97%), suivi par dihydroactinidiolide (1,11%) (**Tableau 26**). Les autres extraits ont montré des petites surfaces. Les alcanes ont été rapporté uniquement dans les extraits des fleurs et des tiges (**Tableau 27**). Dans les fleurs, 3 composés ont été rapportés, avec l'éicosane (2,25%) et le 7-méthylhexadécane (2,16%) comme composés majoritaires. Les extraits des tiges étaient aussi formés de 3 alcanes à faible pourcentage.

Tableau 26:Composition chimique en terpènes lactones des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
(6S)-6-Hydroxy-4,4,7a-triméthyl-5,6,7,7a-tétrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one	$C_{11}H_{16}O_3$	196,2	0,88	2,97	--	--
Dihydroactinidiolide	$C_{11}H_{16}O_3$	196,2	--	1,11	0,41	--

Tableau 26:Composition chimique en terpènes lactones des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS (suite).

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
5-Méthyl-5-(4,8,12-triméthyltridécyl)dihydro-2(3H)-furanone	$C_{21}H_{40}O_2$	324,5	--	--	--	0,15
[3aS 3a.alpha., 6.beta., 6a.alpha.,7.alpha.,9.alpha.,9a.beta.,9b.alpha.)]- décahydro-7,9-dihydroxy-6,9a-diméthyl-3-méthylène-azuleno[4,5-b]furan-2(3H)-one	$C_{15}H_{22}O_4$	266,33	0,79	0,39	--	--
[3aR (3a.alpha, 4a.beta, 7a.alpha, 8beta, 9a.alpha)]-décahydro-4a,8-diméthyl-3-méthylène-azuleno[6,5-b]furan-2,5-dione	$C_{15}H_{20}O_3$	248,3	0,89	--	--	--
Acétate de 8-hydroxy-3,8a-diméthyl-5-méthylène-2 oxododécahydronaphto [2,3-b] furan-4-yle	$C_{17}H_{24}O_5$	308,4	--	0,68	--	--
Total			**2,56**	**5,15**	**0,41**	**0,15**

(--) : Absent.

Tableau 27:Composition chimique en alcanes des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Éicosane	$C_{20}H_{42}$	282,5	2,25	--	0,86	--
7-Méthylhexadécane	$C_{17}H_{36}$	240,5	2,16	--	--	--
8-Méthyl-5,11-dioxa-8-aza-4-silaspiro [3.7] undécane	$C_{11}H_{22}O$	187,3	0,05	--	--	--
Tétracosane	$C_{24}H_{50}$	338,7	--	--	0,89	--
3-Éthyl-5-(2-éthylbutyl)octadécane	$C_{26}H_{54}$	366,7	--	--	0,25	--
Totale			**4,46**	**--**	**2**	**--**

(--) : Absent.

3.2.7. Amines et acides organiques

L'analyse GC-MS des extraits de *M. chamomilla* a montré la présence des amines (**Tableau 28**) et des acides organiques (**Tableau 29**). En ce qui concerne la composition en amines, les valeurs de surfaces étaient entre 1,01 et 4%, avec détection de 7 composés dans les feuilles, 2 dans les tiges et 1 composé dans les racines. Dans l'extrait des fleurs, aucun composé de ce groupe a été rapporté. D'un autre côté, la composition en acides organiques a montré des valeurs allant de 0,69 à 2,1% dans les extraits des fleurs, de tiges et des racines (**Tableau 29**). Les extraits des feuilles n'ont montré aucun acide organique, alors que les fleurs étaient formées de 3, les racines de 2 et les tiges d'un acide. L'hydrazide d'acide oxalique était le seul acide organique commun entre les trois organes.

Tableau 28:Composition chimique en amines des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
N-formyl-3,4,5-triméthoxyméthamphétamine	$C_{14}H_{21}NO_4$	267,3	--	--	--	1,77
Diisobutylamine	$C_8H_{17}N$	127,2	--	1,2	--	--
N-(2 Méthylbutylidène) isobutylami	$C_9H_{19}N$	141,2	--	0,27	--	--
2-Méthylpipéridine	$C_6H_{13}N$	99,1	--	0,43	--	--
1-Pipéridinecarbaldéhyde	$C_6H_{11}NO$	113,1	--	0,74	--	--
N,N,N',N'-Tétrapropyl-1,2,4,5-tétrazine-3,6-diamine	$C_{14}H_{28}N_6$	280,4	--	0,18	--	--
1-(1-Pipéridinyl)éthanone	$C_7H_{13}NO$	127,1	--	0,38	--	--
1,2,3-Triméthyl-4-pipéridinone	$C_8H_{15}NO$	141,2	--	0,8	--	--
9,9-Dioxyde de N-méthyl-9-thiabicyclo[3.3.1]non-6-én-2-amine	$C_9H_{15}NS$	169,2	--	--	0,63	--
4-Oxo-5-(1-pipéridinyl)pentanoate de méthyle	$C_{11}H_{19}NO_3$	213	--	--	0,38	--
Totale			**--**	**4**	**1,01**	**1,8**

(--) : Absent.

Tableau 29:Composition chimique en acides organiques des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Acide phénylmalonique	$C_9H_8O_4$	180,1	0,64	--	--	--
Hydrazide d'acide oxalique	$C_2H_6N_4O_2$	118,1	1,12	--	0,69	1,5
Acide (2E) -2-(nitrosométhylène) -1,2-dihydro-4-quinoléine carboxylique	$C_{11}H_8N_2O_3$	216,1	--	--	--	0,59
Acide 3-(4-fluorophényl) propanoïque	$C_9H_9FO_2$	168,1	0,07	--	--	--
Totale			**1,83**		**0,69**	**2,1**

(--) : Absent.

3.2.8. Vitamines, benzène et ses dérivés

Comme le montre le **tableau 30**, les vitamines étaient présentes uniquement dans l'extrait des racines, sous forme d'un seul composé, l'acide L-(+)-ascorbique 2,6-dihexadécanoate (18,01%). Concernant le groupe du benzène et ses dérivés, il était présenté par un composé dans les fleurs (0,13%) et par 3 composés dans les racines (8,82%).

Tableau 30:Composition chimique en vitamines et benzène et ses dérivés des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
Vitamines						
Acide L-(+) -ascorbique 2,6-dihexadécanoate	$C_{38}H_{68}O_8$	652,9	--	--	--	**18,01**
Benzène et ses dérivés						
1-Benzothiophène-2-carboxamide	C_9H_7NOS	177,2	--	--	--	5,65
3-Méthyl-1H-[1,4] oxazino[4,3-a]benzimidazole	$C_{11}H_{10}N_2O$	186,2	--	--	--	2,6
2,3-Dihydro-1-benzofurane (Coumaran)	C_8H_8O	120,1	--	--	--	0,57
2-{[2-(4-Morpholinyl) éthyl] sulfanyl} -1,3-benzoxazole	$C_{13}H_{16}N_2O_2S$	264,3	0,13	--	--	--
Totale			**0,13**	--	--	**8,82**

(--) : Absent.

3.2.9. Autres groupes

Le **tableau 31** présente les autres composés présents dans les extraits de *M. chamomilla* en faible pourcentage. Les fleurs étaient formées de 3 composés (0,8%), les feuilles de 4 composés (2,17%) et les racines de 5 molécules (4,38%). La plus grande variété de composé a été rapportée dans les tiges, avec 8 composés (9,1%) dominés par l'oxime : le N-[(diéthylboryl)oxy] cyclohexanimine (2,59%).

Tableau 31:Reste de composition chimique des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS.

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
4-(1-Pyrrolidinyl)-1,3-benzènediol	$C_{10}H_{13}NO_2$	179,2	0,25	--	--	--
DL-α-Tocophérol	$C_{29}H_{50}O_2$	430,7	0,33	--	--	--
4-(1,2-Diazaspiro [2.5]oct-1-yl)-2-butanone	$C_{10}H_{18}N_2O$	182,2	0,22	--	--	--
1-Pyrrolidinylacétonitrile	$C_6H_{10}N_2$	110,1	--	0,11	--	--
1-[(2R) -1-Méthyl-2-pyrrolidinyl] acétone	$C_8H_{15}NO$	141,2	--	0,51	--	--
3-(Méthoxyméthoxy)-1,5,5-triméthylcyclohexène	$C_{11}H_{20}O_2$	184,1	--	0,62	--	--
β-Lactose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342,2	--	0,93	--	--
1,2-Dihydro-1-méthyl-2,3,1-benzodiazaborine	$C_8H_9BN_2$	143,9	--	--	1,68	--
2,4-Diméthyltétrahydrofurane	$C_6H_{12}O$	100,1	--	--	0,39	--
1-(2-Hydroxy-5-méthylphényl) éthanone	$C_9H_{10}O_2$	150,1	--	--	0,23	--
Furosta-5,20(22)-dién-3,26-diol	$C_{27}H_{42}O_3$	428,6	--	--	0,83	--
1-(1-Pyrrolidinyl)-2,3-butanedione	$C_8H_{13}NO_2$	155,1	--	--	1,42	--
16-Méthyloxacyclohexadécan-2-one	$C_{16}H_{30}O_2$	254,4	--	--	1,12	--
N-[(Diéthylboryl)oxy] cyclohexanimine	$C_{10}H_2ONO$	181,0	--	--	2,59	--
1,1'-Bi(cyclohexyl)-2-one	$C_{12}H_{20}O$	180,2	--	--	0,84	--

Tableau 31:Reste de composition chimique des extraits de *Matricaria chamomilla* obtenue par GC-MS (suite).

			Surface (%)			
Molécules	**Formule chimique**	**Masse moléculaire**	**Fleur**	**Feuille**	**Tige**	**Racine**
3-(Allyloxy)-2-méthyl-1-propène	$C_7H_{12}O$	112,1	--	--	--	1,38
Farnésyl-β-D-mannofuranoside	$C_{21}H_{36}O_6$	384,5	--	--	--	1,06
2-Isobutyl-1,3-thiazole	$C_7H_{11}NS$	141,2	--	--	--	0,69
6-Méthoxy-4-méthyl-2(1H)-quinoléinethione	$C_{11}H_{11}NOS$	205,2	--	--	--	0,85
(5S)-5-Docosyldihydro-2(3H)-furanone	$C_{26}H_{50}O_2$	394,7	--	--	--	0,4
Totale			**0,8**	**2,17**	**9,1**	**4,38**

(--) : Absent.

4. Quantification de phytomélatonine par HPLC-FLUO

Les résultats de la HPCL-FLUO ont montré un pic correspondant à la phytomélatonine détecté à 12,3 min (**Figure 27)**, où un chromatogramme du standard du mélatonine apparaît. En outre, une courbe d'étalonnage de la mélatonine a également été présentée (**Figure 28**).

Dans les mêmes conditions, la présence de la phytomélatonine dans les échantillons de *C. mixtus* et *M. chamomilla* a été montré par son temps de rétention maximal (**Figures 29, 30**) et à partir des spectres d'excitation et d'émission respectifs (Arnao et Hernández-Ruiz, 2009). La présence de phytomélatonine dans les échantillons a été confirmée dans tous les extraits et en observant l'augmentation du pic putatif de la mélatonine.

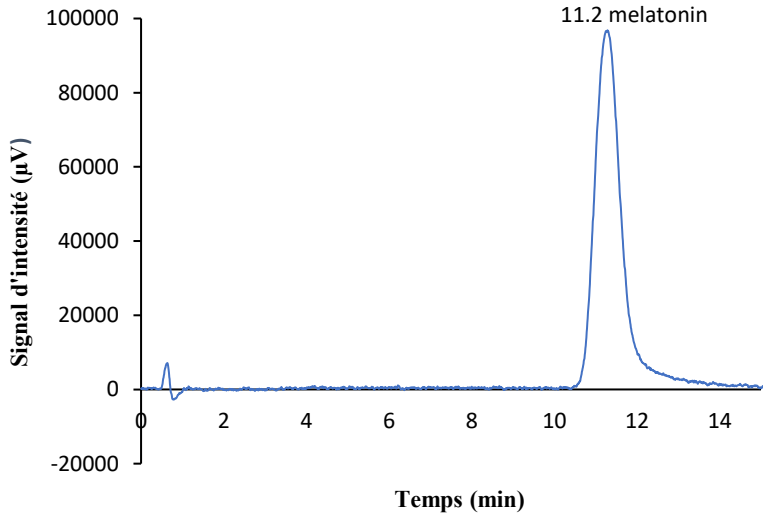


Figure 27:Chromatogramme représentatif de standard la mélatonine mesurée par HPLC - FLUO.

(λexc=280 nm et λemi=350 nm)

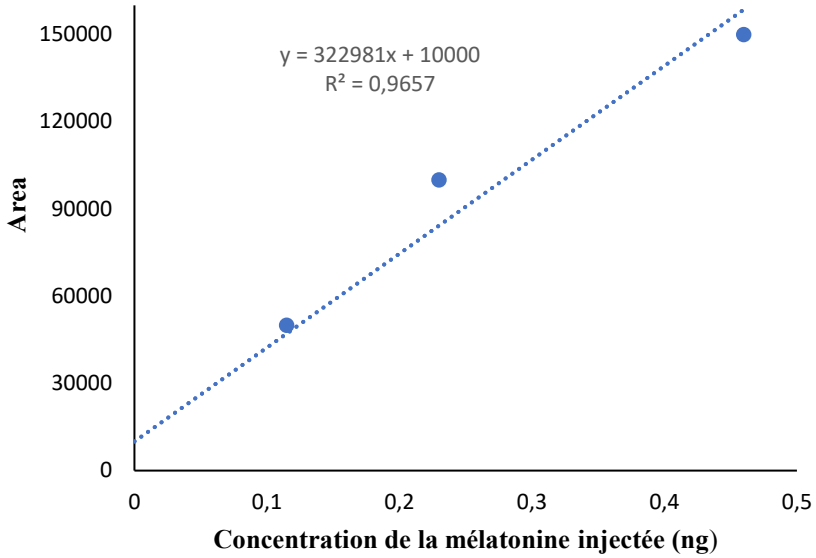


Figure 28:Courbe de régression linéaire du standard de la mélatonine.

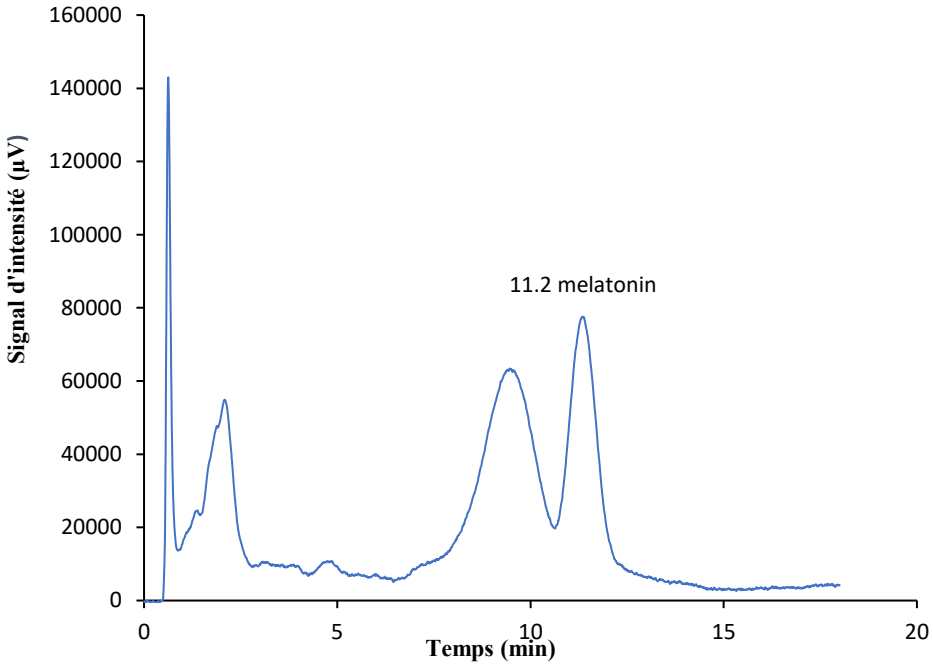


Figure 29:Chromatogramme représentatif d'un échantillon de feuille de *Cladanthus mixtus* mesuré par HPLC-FLUO.

(λexc=280 nm et λemi = 350 nm). Le pic de mélatonine au temps de rétention de 12,3 min est marqué

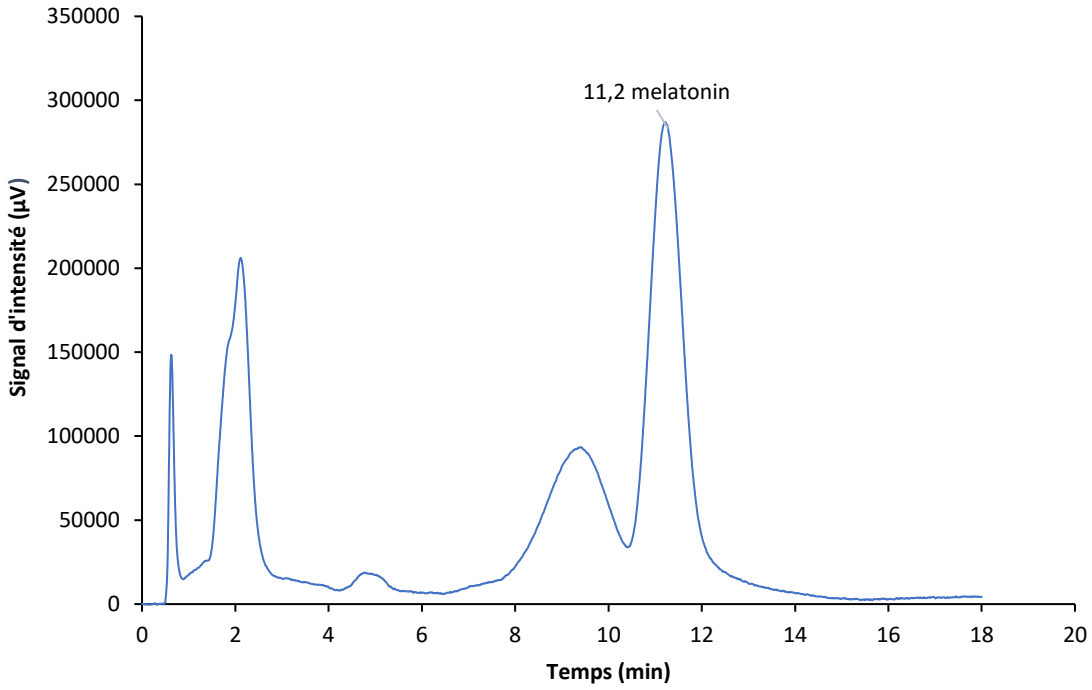


Figure 30:Chromatogramme représentatif d'un échantillon de feuille de *Matricaria chamomilla* mesuré par HPLC-FLUO.

(λexc=280 nm et λemi = 350 nm). Le pic de mélatonine au temps de rétention de 11,2 min est marqué

La quantification de la phytomélatonine dans chaque échantillon de *C. mixtus* et de *M. chamomilla* a été étudiée et montrée dans le **tableau 32**. Dans les extraits de *C. mixtus,* la plus haute teneur en mélatonine a été rapportée dans les feuilles (11,40 ng/g MS), suivis des fleurs (9,70 ng/g MS), des racines et des tiges (5 ng/g MS). Une différence non significative a été rapportée entre ces organes ($p > 0,05$). Les échantillons des organes de *M. chamomilla* ont présenté des valeurs plus élevées comparé à *C. mixtus*. Les feuilles ont aussi montré les plus grandes teneurs (61,31 ng/g MS) avec une différence significative avec les autres organes ($p < 0,05$). Les fleurs ont suivi avec des teneurs de 16,4 ng/g MS, puis les tiges (14,15 ng/g MS) et les racines (14,10 ng/g MS). En conséquence, la teneur en mélatonine était élevée dans les feuilles des deux plantes, suivis par les fleurs.

Tableau 32:Teneur en phytomélatonine dans les quatre organes étudiés de *Cladanthus mixtus* et *Matricaria chamomilla*.

		Cladanthus mixtus	***Matricaria chamomilla***
Echantillon	**Temps de rétention (min)**	**Teneur (ng/g MS)**	**Teneur (ng/g MS)**
Racine	11,2	5,00 ± 0,00 a	14,10 ± 0,24 b
Tige	11,2	5,00 ± 0,00 a	14,15 ± 0,33 b
Feuille	11,2	11,40 ± 0,81 a	61,31 ± 1,61 a
Fleur	11,2	9,70 ± 0,22 a	16,40 ± 0,22 b

Les valeurs sont des moyennes ± écart-type de deux répétitions. Les lettres a et b représentent une différence significative entre les organes de la même plante au niveau de $p < 0,05$.

IV. Discussion

Les composés bioactifs sont responsables des caractéristiques médicinales des plantes (Kalimuthu et al., 2013) et présentent des activités biologiques. Leur contenu dans les extraits est déterminé par de nombreux facteurs, tels que la cinétique d'extraction, les propriétés du solvant appliqué, le transfert de masse, etc. Les paramètres définis doivent assurer la pénétration du solvant dans les pores du matériel végétal, la désorption des analytes et l'amélioration de la cinétique d'extraction, tout en empêchant la décomposition des composés clés qui peut être causée par une forte réactivité de l'eau dans les conditions expérimentales appliquées (Cvetanović et al., 2015).

La variété structurelle des composés phénoliques a offert un défi important pour développer une méthodologie générale adaptée à l'extraction de tous les composés phénoliques. Le problème de la mise au point d'une procédure d'extraction satisfaisante est encore compliqué car les composés phénoliques ne sont pas également répartis dans les plantes aux niveaux tissulaire, cellulaire et subcellulaire. De plus, ces composés peuvent être trouvés sous des formes libres, conjuguées et polymères, ou peuvent coexister sous forme de complexes avec des glucides, des protéines ou d'autres composants végétaux. Tous les facteurs ci-dessus ont un impact direct sur la solubilité des composés phénoliques dans différents solvants (Osman et al., 2016). Dans cette étude, l'extraction des composés phénoliques a été réalisée en phase hydroalcoolique (méthanol 80%) dans un but d'extraire les composés phénoliques libres et conjugués à caractères hydrophiles et lipophiles.

La présence de nombreux métabolites secondaires montre le potentiel de ces deux plantes (*C. mixtus* et *M. chamomilla*) pour diverses applications thérapeutiques et pharmaceutiques.

Il a été rapporté que les flavonoïdes ont des propriétés utiles, notamment une activité anti-inflammatoire (Maleki et al., 2019), antioxydante (Agati et al., 2020), antimicrobienne (Farhadi et al., 2019) et une activité anticancer (Kopustinskiene et al., 2020).

Afin de réaliser une détermination qualitative et quantitative des composés phénoliques, nous avons effectué une analyse HPLC-MS des extraits méthanol-eau des organes des *C. mixtus* et *M. chamomilla*. En particulier, nous nous sommes concentrés sur les composés déjà décrits dans la littérature et connus pour être particulièrement abondants dans les extraits organiques des deux plantes (Elouaddari et al., 2019 ; Qureshi et al., 2019 ; Viapiana et al., 2016 ; Žlabur et al., 2020), tels que les acides hydroxycinnamiques (acides chlorogénique, caféique, *p*-coumarique et férulique), les flavones (lutéoline, apigénine, lutéoline-7-O-glucoside et apigénine-7-O-glucoside) et les flavonols (quercétine et rutine (quercétine-3-O-rutinoside)). Nous avons également tenté d'évaluer la présence d'autres flavonoïdes communs.

En accord avec la littérature, les analyses par HPLC-MS ont montré que nos extraits contenaient majoritairement des flavonoïdes en coprésence avec des dérivés de l'acide cinnamique. On a identifié vingt-quatre composés phénoliques (acide gallique, acide protocatéchuique, acide chlorogénique, acide salicylique, acide *p*-hydroxybenzoïque, acide caféique, acide vanillique, acide syringique, acide rosmarinique, acide ellagique, acide férulique, acide *p*-coumarique, apigénine, lutéoline, apigénine-7-O-glucoside, lutéoline-7-O-glucoside, quercétine, rutine, naringine, paraben de méthyle, catéchine, vanilline, kaempférol et isorhamnétine) différentiellement concentrés dans les extraits des deux plantes. On a aussi noté l'absence de l'acide vanillique dans l'extrait des fleurs et des racines de *M. chamomilla* et l'extrait des fleurs de *C. mixtus*, de la catéchine dans les extraits des fleurs, des feuilles et des racines de la *M. chamomilla*, et de l'acide *p*-coumarique dans les tiges de *M. chamomilla*.

Dans ce contexte, il convient de souligner que tous les extraits analysés de *C. mixtus* contenaient une quantité intéressante d'apigénine-7-O-glucoside allant de 603 à 1074 µg/g MS et dans la *M. chamomilla* allant de 297,9 à 824,8 µg/g MS. La valeur la plus haute a été représentée par les fleurs de *C. mixtus* et par les feuilles de *M. chamomilla*.

Haghi et al. (2014) ont appliqué une UPLC couplée à un réseau de photodiodes (PDA) sur la séparation des flavonoïdes de *M. chamomilla*. La teneur en apigénine 7-O-glucoside dans les extraits bruts était beaucoup plus élevée que l'apigénine libre, ce qui est conforme à nos résultats.

Le flavanol quercétine et sa forme glycosylée (rutine) étaient également présents dans les échantillons de *C. mixtus*, les valeurs les plus élevées étant trouvées dans l'extrait des fleurs

pour la première (673,1 µg/g MS), suivi par l'extrait des tiges (565,2 µg/g MS) et dans les extraits des feuilles et des racines pour la deuxième (377 et 241,1 µg/g MS, respectivement).

Des études antérieures ont démontré que l'apigénine est l'un des flavonoïdes qui possèdent une activité biologique et pharmacologique élevée (Srivastava et Gupta, 2009), telles qu'une activité anti-mutagène et anti-proliférative dans plusieurs lignées cellulaires cancéreuses (Hussain et al., 2010).

Les travaux de Elsemelawy (2017) ont indiqué que l'extrait des fleurs et des racines de *M. chamomilla* d'Egypte était riche en acides phénoliques (acide ellagique, catéchol et acide chlorogénique avec respectivement 1582,81, 1104,49 et 937,48 ppm) et en flavonoïdes (lutéoline O-acylhexoside et quercétine avec respectivement 2801,99 et 1765,01 ppm). Une autre étude portant uniquement sur la fleur du même pays a montré que les principaux composés étaient également l'acide phénolique (acide benzoïque, acide rosmarinique, catéchol, acide coumarique, acide chlorogénique avec 414,88 ; 370,59 ; 11,28 ; 23,59 ; 38,02 ppm, respectivement) et des flavonoïdes (myricétine et quercétine avec 1587,82 et 927,72 ppm, respectivement) dans l'extrait d'eau déminéralisée (Ghoniem et al., 2021).

D'autre part, les résultats des extraits méthanoliques de *M. chamomilla* d'Iran ont montré les quantités les plus élevées de lutéoline (2,2 mg/g) et d'apigénine (1,19 mg/g) (Piri et al., 2019).

Conformément à notre étude, Elouaddari et al. (2019) ont démontré qualitativement la présence de l'acide gallique, la catéchine, l'acide vanillique, l'acide caféique et l'acide syringique dans les parties aériennes de *C. mixtus*.

Les propriétés bénéfiques de la camomille sont attribuées à la présence de plusieurs composés bioactifs, qui peuvent généralement être subdivisés en deux grandes classes sur la base de leurs propriétés de solubilité (European Medicines Agency, 2015 ; Gupta et al., 2010). Le groupe hydrophobe comprend les terpénoïdes et les azulènes, présents dans l'huile essentielle extraite des fleurs et des capitules, et connus pour leurs propriétés pharmacologiques (Sharifi-Rad et al., 2017) telles que l'activité anti-antiparasitaire (Hajaji et al., 2017) et antispasmodiques (Mehmood et al., 2015). Le groupe hydrophile comprend de nombreux polyphénols (principalement sous forme de glycosides flavonoïdes et des aglycones libres). Parmi eux, les flavones apigénine, apigénine-7-O-glucoside, lutéoline et lutéoline-7-O-glucoside sont particulièrement abondantes (European Medicines Agency, 2015), bien que les flavonols quercétine et quercétine-3-O-rutinoside (aussi appelé rutine) et la flavanone naringénine ont également été trouvés (Gupta et al., 2010). La camomille contient aussi d'autres composés hydrophiles bioactifs, tels que les coumarines et certains acides phénoliques (y

compris les acides *p*-coumarique, caféique, férulique et chlorogénique) (Marchiosi et al., 2020 ; Petrul'ová-Poracká et al., 2013 ; Šamec et al., 2021). Il semble intéressant de noter que les concentrations de composés bioactifs varient dans différentes parties de la fleur (Barene et al., 2003 ; Mulinacci et al., 2000). L'apigénine, par exemple, est fortement concentrée dans les fleurs ligulées blanches, tandis que la lutéoline et la quercétine sont plus faibles dans les fleurs ligulées mais sont présentes en plus grande quantité dans les fleurs tubulaires et dans le réceptacle (Mulinacci et al., 2000). Il convient également de souligner que les polyphénols sont des métabolites secondaires spécialisés dans les plantes, jouant différents rôles dans la croissance et le développement des plantes, ainsi qu'en réponse aux stress biotiques et abiotiques, tels que l'accumulation de métaux lourds, le stress oxydatif, le déficit en azote, les rayons UV, la température, l'infestation de micro-organismes ou l'attaque des herbivores (Kováˇcik et al., 2007 ; Kennedy et Wightman, 2011 ; Tuladhar et al., 2021). Par conséquent, outre des variations selon la partie anatomique de la camomille considérée, des différences importantes de niveaux phytochimiques sont dues à des facteurs extrinsèques.

Vue les résultats d'analyse par GC-MS, la présente étude révèle que les extraits méthanoliques de *C. mixtus* et *M. chamomilla* contiennent des terpénoïdes, des acides gras, des esters, des alcools, des alcanes, des acides organiques, des phénols et autres composés, avec les composés terpéniques en abondance dans *C. mixtus* et les acides gras dans *M. chamomilla.*

De même, les terpénoïdes sont des molécules d'isoprène qui sont importantes non seulement pour la croissance et l'écologie des plantes, mais qui fournissent également un bouclier contre les insectes. Les terpénoïdes extraits des plantes sont utilisés dans les industries alimentaires, chimiques et pharmaceutiques et également dans le développement de produits de biocarburant (Tholl, 2015). Plusieurs études ont rapporté l'activité antimicrobienne (Barrero et al., 2005 ; Duraipandiyan et al., 2012), antioxydante, anti-inflammatoire, antiparasitaire, anticancérigène (Bartikova et al., 2014) et antipaludique (Angerhofer et al., 1992) des terpénoïdes.

Par exemple on, on a trouvé Le diterpène phytol dominant dans les extraits des feuilles et des tiges des deux plantes, a montré des propriétés anticancéreuses, antioxydantes, anti-inflammatoires, diurétiques, antitumorales, chimio-préventives, et antimicrobiennes, et a été également utilisé dans la formation des vaccins (Krishnamoorthy et Subramaniam, 2014).

La présence du diterpène néophytadiène dans l'extrait des feuilles de *C. mixtus* et *M. chamomilla* pourrait rendre nos extraits très utiles dans la lutte contre les insectes, parce que les diterpènes permettent une bonne régulation de la croissance des insectes, et ils ont des propriétés antiappétantes et insecticides (Lanzotti, 2013). D'un autre côté, la présence du

néophytadiène et du phytol dans nos extraits pourraient contribuer à leurs activités antioxydantes (Olasehinde et al., 2021).

Le lupéol a aussi été révélé dans les deux extraits des feuilles et des racines des deux plantes. C'est un triterpénoïde pentacyclique largement distribué dans les plantes et trouvé dans divers fruits et légumes. Ce triterpène d'origine naturelle se révèle efficace en cas de réactions inflammatoires et possède des propriétés immunomodulatrices. Il peut aussi être consommé comme complément nutritif pour prévenir le cancer, l'inflammation, les maladies coronariennes et hépatiques (Sharma et al., 2020). D'un autre côté, l'eucalyptol, présent dans tous les organes de *C. mixtus* et dans les fleurs et les feuilles de *M. chamomilla* est un éther terpénoïde cyclique qui a des propriétés antimicrobiennes (Mączka et al., 2021).

Les phytostérols sont des composés bioactifs naturellement présents dans les membranes des cellules végétales avec une structure chimique similaire au cholestérol dérivé des cellules de mammifères (Babu et Jayaraman, 2020). Ce sont des précurseurs biogénétiques de nombreuses hormones et des stimulants de la ponte de certains insectes (Harborne, 1984). Parmi divers phytostérols rapportés dans nos extraits, le β-sitostérol a été détecté dans l'extrait des fleurs de *C. mixus* et l'extrait des racines de *M. chamomilla*. Il a été mis en évidence dans de nombreuses études in vitro et in vivo que le β-sitostérol possède diverses actions biologiques telles que des effets anxiolytiques et sédatifs, analgésiques, immunomodulateurs, antimicrobiens, anticancéreux, anti-inflammatoires, hypolipémiants, cicatrisants, antioxydants, antidiabétiques, hépatoprotecteurs, et protecteur contre les maladies respiratoires (Babu et Jayaraman, 2020).

De nombreuses études ont rapporté les avantages des composés phénoliques, comme la vanilline, présentant des activités antioxydantes, antidépressives, neuroprotecteurs, antimutagènes et anticancérigènes (Anand et al., 2019).

Les acides gras sont des métabolites actifs et responsables de diverses propriétés médicinales. Par exemple, l'activité antimicrobienne a été rapportée par l'acide palmitique (Chandrasekaran et al., 2011) et l'acide stéarique (Rahuman et al., 2000). L'acide myristique ou l'acide tétradécanoïque est connu pour ses activités insecticides (Sivakumar et al., 2011), le (Z)-18-octadec-9-enolide pour son effet antimicrobien (Lalthanpuii et al., 2019), et l'acide palmitique pour ses effets anticancéreux (Fattore et Fanelli, 2013) et antidiabétiques (Palomer et al., 2018).

De plus, il a été rapporté que l'alcool 1-tétracosanol présente à la fois une activité antimicrobienne et antioxydante (Faridha et al., 2016). Par conséquent, on pourrait en déduire

que la présence de ces métabolites dans les extraits des feuilles et des tiges de *M. chamomilla* pourrait lui procurer des activités antibactériennes et antioxydantes.

Dans cette étude, l'éicosane était le plus abondant parmi les alcanes examinés dans les extraits des fleurs de *M. chamomilla* et des fleurs et feuilles de *C. mixtus*. Ce composé a déjà été identifié comme un métabolite végétal et signalé pour son activité pharmacologique, notamment antifongique (Ahsan et al., 2017), cicatrisante (Chuah et al., 2018), antivirale (Chathuranga et al., 2021), et antibiofilm contre *Candida albicans* (Shafreen et al., 2022).

La présence de l'acide L-(+) -ascorbique 2, 6 dihexadécanoate seulement dans l'extrait des racines de *M. chamomilla* peut contribuer à l'activité antioxydante accrue de cette plante. Ce dernier contient deux hexadécanoates estérifiés avec de l'acide ascorbique, l'acide n-hexadécanoïque est utilisé dans la fabrication d'arômes artificiels et retarderait la détérioration aérobie des ensilages, alors que l'acide ascorbique est un antioxydant hydrophile naturel (Kumar et al., 2014. Il a été démontré que les analogues de l'acide ascorbique formés par estérification et transestérification avec des acides gras améliorent les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antitumorales de l'acide ascorbique (El-Din et El-Ahwany, 2016). Ainsi, l'acide L-(+) -ascorbique 2, 6 dihexadécanoate possède des propriétés antibactériennes (Botzki et al., 2004), antioxydantes, antitumorales et cicatrisantes (Akinmoladun et al., 2007 ; Begum et al., 2017).

Les principaux composants des mono- et sesquiterpènes des huiles essentielles, dont les glucides, les phénols, les alcools, les éthers, les aldéhydes et les cétones, sont responsables de l'activité biologique des plantes aromatiques et médicinales ainsi que de leur parfum. En raison de ces propriétés, des épices et des herbes ont été ajoutées aux aliments depuis l'antiquité, non seulement comme agents aromatisants mais aussi comme conservateurs (Kalemba and Kunicka, 2003).

Cependant, pour certains des principaux composés identifiés, il existe peu de littérature sur leur potentiel bioactif. Par conséquent, des études supplémentaires sont nécessaires pour comprendre le rôle de ces composés majeurs constituant l'extrait.

La plante de *M. chamomilla* est riche en esters comme sébacate de bis(2-éthylhexyle) dans les fleurs, l'acide palmitique β-monoglycéride et l'acide stéarique β-monoglycéride dans les feuilles, les tiges et les racines. L'acétate d'artémisyle a été détecté dans l'extrait des feuilles. Ce dernier est un composé antimicrobien inhibiteur des champignons (Menon et Thakker, 2020).

Dans notre étude, on a détecté et quantifié la mélatonine dans les quatre organes de *C. mixtus* et *M. chamomilla*. La mélatonine végétale (N-acétyl-5-methoxytryptamine) est une de

nombreuses fonctions spécifiques dans la physiologie végétale (Arnao et Hernàndez-Ruiz, 2020). Elle joue un rôle important dans la régulation du sommeil, de la température corporelle, de l'état de vigilance, du degré de concentration ou de performance, et des rythmes du cortisol. Elle agit comme un initiateur du sommeil en ouvrant la porte du sommeil circadien, permettant sa régulation. Aussi, elle ajuste le rythme du sommeil ou renforce les oscillateurs de l'horloge biologique centrale. L'administration de la mélatonine exogène modifie le rythme corporel, y compris le sommeil. Des retards de phase sont observés avec l'administration matinale de la mélatonine, tandis que des avancées de phase sont constatées après l'administration du soir (Arnao et Hernànde-Ruiz, 2020). Pour prévenir ou traiter les états anxieux ou dépressifs, les suppléments de la mélatonine ont été recommandés (Xie et al., 2017). Actuellement, une fois que la présence de mélatonine a été confirmée dans de nombreuses plantes médicinales, nous sommes dans une recherche intense de ces plantes, à haut niveau endogène de mélatonine, à utiliser en phytothérapie et dans les compléments alimentaires. Traditionnellement, la camomille, spécialement ses feuilles, a été utilisée pour son effet sédatif (Belhamel et al., 2021). Aussi, des études cliniques récentes ont prouvé le potentiel sédative de *M. chamomilla* pour traiter l'anxiété et la dépression (Amsterdam et al., 2020; Ebrahimi et al., 2021), y compris chez les patients subissant une chimiothérapie (Ghamchini et al., 2019). Ceci confirme nos résultats qui montrent la plus haute teneur dans les feuilles des deux plantes, avec une plus forte teneur dans *M. chamomilla.*

V. Conclusion

Les résultats des analyses de la composition chimique par HPLC-MS ont révélé la présence de nombreuses biomolécules. Les différents extraits méthanoliques des deux plantes *C. mixtus* et *M. chamomilla* sont très riches en flavonoïdes aglycones et glycosides (lutéoline, apigénine, lutéoline-7-O-glucoside, apigénine-7-glucoside, quercétine, rutine, naringine, paraben de méthyle, catéchine, vanilline, kaempférol et isorhamnétine) et en acides phénoliques (acides gallique, protocatéchuique, chlorogénique, salicylique, *p*-hydroxybenzoïque, caféique, vanillique, syringique, rosmarinique, *p*-coumarique et férulique). La présence de composés phénoliques et des flavonoïdes peut contribuer à l'activité de l'extrait.

Également, les analyses de la composition par GC-MS a montré la présence de différents groupes biochimiques (les terpénoïdes, esters, alcools, acides gras et organiques, alcanes, cétones, benzoïdes et ses dérivés) dans les différents extraits méthanoliques des deux plantes.

L'analyse de la phytomélatonine par HPLC-FLUO a montré la présence de ce composé dans tous les organes de *C. mixtus* et *M. chamomilla*, avec la plus haute teneur dans les feuilles suivis des fleurs.

On peut conclure et dire que les deux plantes aromatiques et médicinales *C. mixtus* et *M. chamomilla* sont très riches en composés biochimiques qui ont divers potentiels biologiques, parmi lesquelles, les activités antioxydante, antimicrobienne et anticancer.

Chapitre II : Activité antioxydante des extraits de plantes sélectionnées du Nord du Maroc

I. Introduction

Nombreuses études scientifiques ont montré que les radicaux libres jouent un rôle majeur dans le développement de différentes maladies et dysfonctionnements, tels que le cancer, les maladies cardiaques, le vieillissement, les cataractes et la détérioration du système immunitaire (García-Conesa et Larrosa, 2020). Les radicaux libres peuvent être éliminés par les antioxydants, qui inhibent le taux d'oxydation des lipides et des protéines et protègent les cellules des dommages oxydatifs (Mohammed et al., 2020). L'activité antioxydante dans les extraits de plantes est un paramètre largement utilisé pour caractériser les éventuelles propriétés bénéfiques des plantes (Shahidi et Ambigaipalan, 2015).

Dans cette étude, nous avons appliqué la méthode du point final développée par Arnao et al. (2001a). Cette technique utilise l'acide 2,2′-azino-bis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique (ABTS) comme chromogène pour estimer l'activité antioxydante totale (AAT). Elle permet de calculer la contribution des activités antioxydantes lipophiles (en milieu organique) et hydrophiles (en milieu tamponné) à l'AAT. Il s'agit d'une méthode robuste, largement utilisée et appliquée à divers échantillons biologiques (Cano et Arnao, 2018). Même si cette méthode a été développée à l'origine pour l'étude des denrées alimentaires végétales, elle peut aussi être utilisée pour caractériser les extraits de plantes (El Omari et al., 2003). Le chromogène ABTS*+ utilisé dans notre méthode a été comparé à un autre chromogène radicalaire largement utilisé, qui est le DPPH*.

Les teneurs en composés phénoliques et en flavonoïdes des racines, des tiges, des feuilles et des fleurs des deux espèces ont été déterminées en utilisant respectivement les méthodes de Folin Ciocalteu et de chlorure d'aluminium.

Également, nous présentons une étude comparative des activités antioxydantes lipophiles et hydrophiles dans les différents organes de la plante (racine, tige, feuille et fleur). De plus, une corrélation de la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes avec les activités antioxydantes par le test ABTS et DPPH a été déterminée.

II. Matériel et méthodes

1. Appareillage et outils

- Euroturrax T20 (IKA, Allemagne).
- Spectrophotomètre Perkin-Elmer Lambda-2S UV-VIS (Loughborough, Royaume-Uni).

- Filtres pour HPLC de 0,22 µm (pour les échantillons) (Filter Lab, Espagne).

2. Réactifs

- 2,2′-Azino-bis-(acide 3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique) (ABTS) sous forme de sel de diammonium cristallisé, acide 6-hydroxy-2,5,7,8 tétraméthylchroman-2-carboxylique (Trolox), la peroxydase de raifort (HRP) de type VI, Sigma Chem.Co (Madrid, Espagne).
- H_2O_2 (30 %, v/v), Aldrich Chem. Co, Madrid, Espagne.
- DPPH 95%, Sigma aldrich, Allemagne.
- Méthanol ultra gradient CLHP grade, J, T Baker, Poland.
- Acétate d'éthyle CLHP, Qualité de réactif, ACS, ISO, UV-VIS spectroscopie, karl, Fischer titrations, Hollande.
- Acide phosphorique, J.T.Baker. Pologne.
- Acétonitrile pour CLHP (Riedel de Haen, Allemagne).
- Acide gallique (Union chimique belge, S.A., Bruxelles, Belgique).
- Quercétine ≥95% (CLHP) (Sigma Aldrich. Inde).
- Réactif Folin Ciocalteu (Merck KGa A. Damstadt, Allemagne).
- Trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$.$6H_2O$) (Sigma Aldrich, Allemagne).
- Carbonate de sodium anhydre (Na_2 CO_3) (Sigma aldrich. Allemagne).
- Sodium phosphate monobasic dehydrate NaH_2PO_4 (Sigma Aldrich, Allemagne).

3. Les extraits de *Cladanthus mixtus* et *Matricaria chamomilla* utilisés

3.1. Les extraits méthanoliques

Dans ce chapitre, on a utilisé les extraits méthanoliques obtenus de la technique de macération comme expliqué précédemment dans le premier chapitre.

3.2. Préparation des extraits aqueux (tampon phosphate) et organiques (acétate d'éthyle)

Dans cette étude on a utilisé une deuxième technique d'extraction avec Eutotorax utilisant un mélange de deux solvants de différente polarité (acétate d'éthyle et tampon phosphate de pH 7,4) afin d'obtenir deux phases, organique (lipophile) et aqueuse (hydrophile).

Un mélange de 0,1 g de poudre homogène, 5 ml de tampon phosphate Na 50 mM (pH 7,4) et 8 ml d'acétate d'éthyle a été broyé dans un Euroturrax T20 pendant 2 min **(Figure 31A)** puis transféré dans une ampoule à décantation **(Figure 31B)**. Le résidu solide (totalement incolore) a été jeté. La phase aqueuse a été recueillie et analysée dès que possible pour l'analyse des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes aqueux. La phase organique (acétate d'éthyle) a

été collectée et stockée à -20 °C jusqu'à l'analyse pour les teneurs en phénols et en flavonoïdes organiques. Dans tous les cas, trois répétitions ont été réalisées.

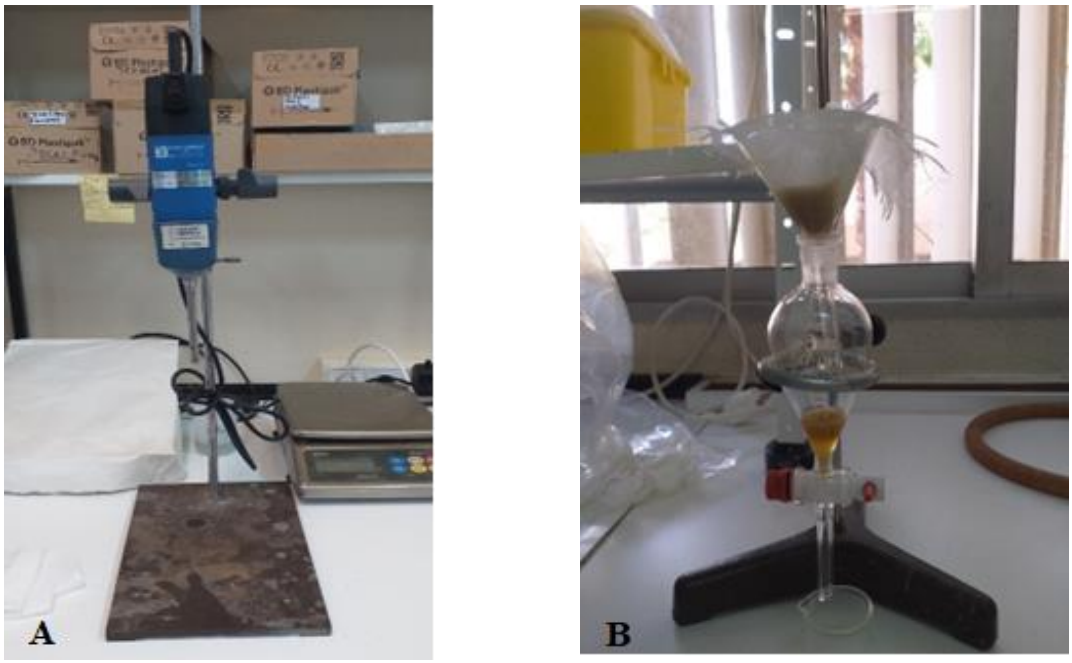


Figure 31:Préparation des extraits d'acétate d'éthyle et aqueux.

(A) Broyage dans un Euroturrax T20, **(B)** Décantation dans l'ampoule à décantation.

4. Dosage des composés phénoliques

4.1. Détermination de la teneur en polyphénols

Le contenu phénolique total a été estimé par la méthode de Folin Ciocalteu comme décrit par Singleton et al. (1965), avec certaines modifications pour s'adapter à nos extraits.

Principe

Cette méthode colorimétrique est basée sur la réduction, en milieu alcalin, d'un mélange d'acide phosphomolybdique et d'acide phosphotungstique (réactif de Folin-Ciocalteu). L'oxydation des polyphénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en polyphénols, elle présente une adsorption maximale à 715 nm.

Préparation de la gamme d'étalonnage

La gamme d'étalonnage est préparée à partir d'une solution de 2 mM d'acide gallique : 0,02 g d'acide gallique sont dissouts dans 50 mL d'eau distillé. La droite d'étalonnage est obtenue en utilisant 0, 25, 50, 100 et 150 µL de la solution mère dans 1000, 975, 950, 900 et 850 µL de l'eau distillée, respectivement. Puis 50 µl de carbonate de sodium (1 M) et 50 µL de réactif de Folin Ciocalteu ont été ajoutés dans chaque tube à essai en verre. Après incubation de 15min à 30 °C dans un bain-marie, l'absorbance a été mesurée à 715 nm **(Figure 32)**.

Figure 32:Mesure d'absorbance par spectrophotomètre.

Préparation des échantillons et mesure de la densité optique

50 µl d'échantillon (phase hydrophile ou lipophile) ont été placés dans un tube à essai en verre, puis 950 µl d'eau distillée, 50 µl de carbonate de sodium 1 M et 50 µl de réactif de Folin Ciocalteu ont été ajoutés. On a laissé le mélange reposer dans un bain-marie pendant 15 min à 30 ° C. L'absorbance a été mesurée à 715 nm. La moyenne de trois lectures a été calculée et le contenu phénolique total était exprimé en mg équivalent acide gallique par g de la matière sèche (mg EAG/g MS).

4.2. Détermination de la teneur en flavonoïdes

La méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium, modifiée par Woisky et Salatino (1998), a été appliquée.

Principe

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes. Ce complexe absorbe dans le visible à 415 nm.

Préparation de la gamme d'étalonnage

La gamme d'étalonnage est préparée à partir d'une solution de quercétine : 10 mg a été dissout dans 1 ml de l'éthanol 80% (solution mère). On a ajouté 100 µl de la solution mère dans 900 µl de l'éthanol 96% et puis nous avons dilué à 25, 50, 100 et 125 µg /ml. Les solutions diluées (0,5 ml) de chaque étalon ont été mélangées séparément avec 1,5 ml d'éthanol 96%, 0,1 ml de 10% chlorure d'aluminium, 0,1 ml 1M d'acétate de potassium et 2,8 ml d'eau distillée. Après incubation à température ambiante pendant 30 min, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 415 nm.

Préparation des échantillons et mesure de la densité optique

Une procédure similaire a été appliquée aux extraits des plantes, pour l'analyse de la teneur en flavonoïdes. La lecture des résultats est effectuée à une longueur d'onde de 415 nm. Les

résultats ont été exprimés en mg d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

5. Détermination de l'activités antioxydantes par le test de piégeage ABTS

Le radical ABTS (ABTS*+) est considéré comme un excellent chromogène pour une utilisation dans la mesure des propriétés antioxydantes de produits purs et d'échantillons biologiques (Arnao et al., 1999, 2001b).

5.1. Préparation de mélange réactionnel lipophile pour les extraits méthanoliques et d'acétate d'éthyle

Pour la détermination de l'activité antioxydante lipophile (AAL), le mélange réactionnel contenait 1 mM d'ABTS, 75 µM de H_2O_2 et 6 µM de HRP dans de l'éthanol acidifié (éthanol pur avec acide phosphorique, 0,7 % p/v) dans un volume total de 1 ml à 25 ºC. Dans ce cas, 40 µl de la phase organique a été ajouté au milieu réactionnel et la diminution de l'absorbance à 730 nm a été mesurée après 6 min. Le temps total nécessaire pour effectuer chaque essai était d'environ 6 min compris la génération de radicaux ABTS par la peroxydase, l'ajout d'antioxydant et l'acquisition de la valeur d'absorbance finale.

La diminution de l'absorbance a été mesurée à partir de la différence entre les valeurs à 730 nm avant et 6 min après l'ajout de l'échantillon. L'activité antioxydante a été calculée en moles d'$ABTS^+$ trempées par 1 mole de Trolox. L'AAL a été exprimée en mg équivalents de Trolox par g de matière sèche (mg ET/g MS). Les expériences ont été réalisées en triplicata.

L'activité maximale des extraits est obtenue en faisant la moyenne des valeurs d'activités antioxydantes obtenues à partir de concentrations des extraits pour lesquelles l'activité reste constante.

5.2. Préparation de mélange réactionnel hydrophile pour les extraits aqueux

Pour l'activité antioxydante hydrophile (AAH), le mélange réactionnel contenait 2 mM d'ABTS, 60 µM de H_2O_2 et 0,2 µM de HRP dans un tampon Na-phosphate 50 mM (pH 7,5) dans un volume total de 1 ml. La réaction a été suivie à 730 nm jusqu'à l'obtention d'une absorbance stable. La température de dosage était de 25°C. Ensuite, 10 µl de l'échantillon aqueux ont été ajoutés au milieu réactionnel et la diminution de l'absorbance, qui est proportionnelle à l'ABTS·+ désactivé, a été déterminée après 6 min, en mg équivalents de Trolox par g de matière sèche (mg ET/g MS). Les expériences ont été réalisées en triplicata.

Les concentrations d'ABTS, H_2O_2 et Trolox ont été déterminées en mesurant leur absorbance en utilisant $\varepsilon 340 = 36\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ pour ABTS, $\varepsilon 240 = 43{,}6\ M^{-1}\ cm^{-1}$ pour H_2O_2 et $\varepsilon 403 = 100\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ pour HRP.

6. Détermination de l'activités antioxydantes par le test de piégeage DPPH

Le test de DPPH* est la plus ancienne méthode indirecte de détermination de l'activité antioxydante et a d'abord été utilisé pour déterminer le potentiel antioxydant des composés phénoliques (Roginsky et Lissi, 2005). Le DPPH* est un chromogène radicalaire très stable qui s'acquiert directement sans préparation (prêt à dissoudre) (Gulcin, 2000). Il a une couleur bleu foncé et c'est un espèce radicalaire azotée à longue durée de vie, en raison de son incapacité à subir une dimérisation (Gulcin, 2020).

Une solution de DPPH 0,1 mM a été préparée dans du méthanol. 900 µl de solution mère de DPPH ont été mélangés avec 100 µl de solution d'extrait de plante. Le Trolox a été utilisé comme un standard de référence. La réaction a été réalisée en triple et laissée reposer à température ambiante pendant 30 min **(Figure 33)**.

La diminution de l'absorbance à 517 nm, qui est proportionnelle au (DPPH *) trempé, a été déterminée en mg équivalents de Trolox par g de matière sèche (mg ET/g MS)

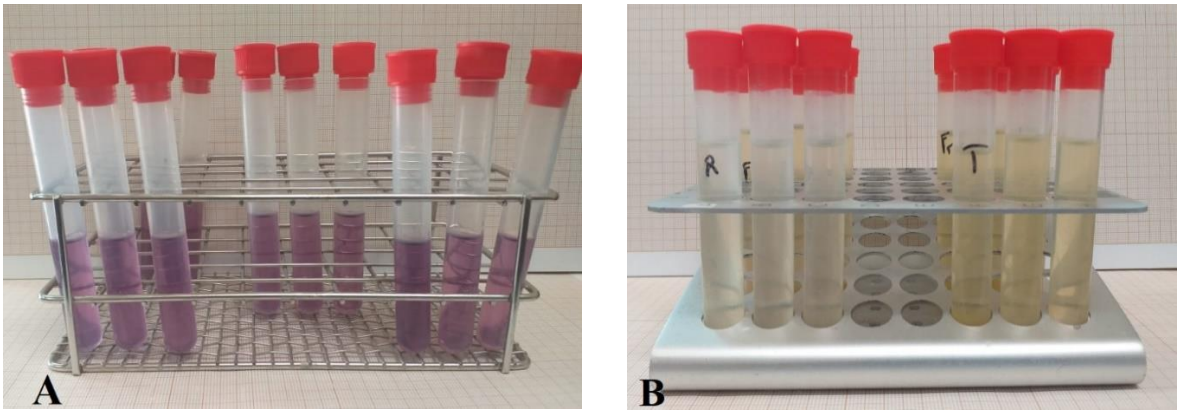


Figure 33:Les échantillons testés par le DPPH.

(**A**) Avant et (**B**) après incubation

7. Analyses statistiques

Trois échantillons ont été utilisés et tous les dosages les valeurs d'activité antioxydante ont été effectués en triple exemplaire. Pour l'analyse statistique des résultats, le programme SPSS (Chicago, États-Unis) a été utilisé en appliquant l'ANOVA à un facteur pour évaluer les différences statistiques entre les groupes, suivie d'un test de comparaison multiple de Tukey post-hoc pour établir des différences significatives entre les paramètres évalués. Trois échantillons ont été utilisés.

III. Résultats

1. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes

1.1. Courbes d'étalonnage

Pour calculer la teneur en polyphénols dans différents extraits des organes des deux plantes, on a utilisé la courbe d'étalonnage qui a montré une linéarité pour l'acide gallique avec un coefficient de corrélation R^2 de 0,9988 (**Figure 34**). Pour la teneur en flavonoïdes, la quercétine a été utilisée comme standard, montrant une courbe d'étalonnage avec une bonne linéarité et un coefficient de corrélation R^2 de 0,9994 (**Figure 35**).

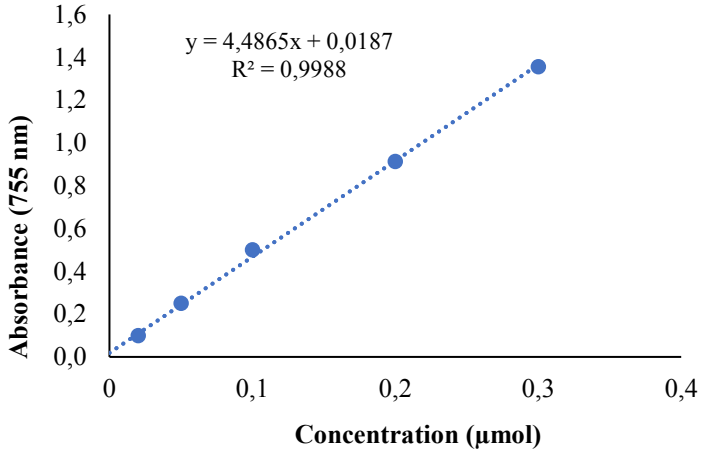


Figure 34:Gamme d'étalonnage de l'acide gallique.

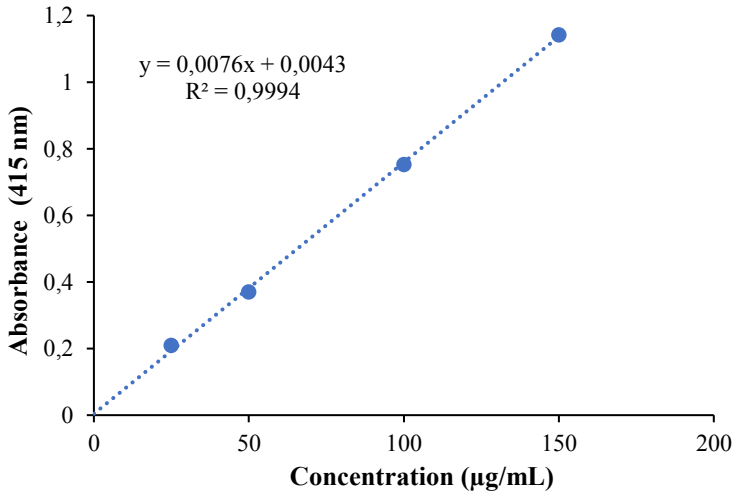


Figure 35:Gamme d'étalonnage de la quercétine.

1.2. Dosage des extraits de *Cladanthus mixtus*

1.2.1. Extraits méthanoliques

Les résultats du **tableau 33** illustrent la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques des différents organes de *C. mixtus*. Les teneurs en polyphénols étaient

comprises entre 16,43 et 30,55 EAG/g MS. La plus grande teneur a été observée chez les fleurs, avec une différence significative avec les autres organes ($p < 0,05$). Les racines et les tiges ont montré presque la même teneur (18,83 et 18,77 EAG/g MS respectivement) alors que la plus petite teneur a été observée dans les feuilles. Pour les flavonoïdes, les teneurs étaient comprises entre 8,74 et 26 mg EQ/g MS, en suivant l'ordre : fleurs > tiges > feuilles > racines. En conséquence, la fleur a montré la plus grande teneur en polyphénols et en flavonoïdes.

Tableau 33:Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques de *Cladanthus mixtus*.

Organe	Polyphénols (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg EQ/ g MS)
Racine	18,83 ± 1,04b	8,74 ± 0,33c
Tige	18,77 ± 0,39b	14,37 ± 0,55b
Feuille	16,43 ± 0,32b	13,24 ± 0,05b
Fleur	30,55 ± 0,85a	26,00 ± 1,34a

Les valeurs sont des moyennes ± écart-type de trois répétitions. Les lettres a, b et c représentent une différence significative entre les organes au niveau de $p < 0,05$.

1.2.2. Extraits aqueux et organiques

Le **tableau 34** montre la teneur en polyphénols et en flavonoïdes de différents extraits (aqueux et organiques) des organes de *C. mixtus.*

La teneur en polyphénols aqueux a varié entre 11,3 et 25,1 mg de EAG/g MS. Les extraits de feuille et fleur ont montré une différence non significative ($p > 0,05$) entre leur teneur (25,1 et 22,6 mg de EAG/g MS respectivement). Par contre, une différence significative a été rapportée entre ces organes et les tiges et les racines ($p < 0,05$). D'un autre côté, la teneur en polyphénols organiques a varié entre 6,4 et 16,4 mg de EAG/g MS, en suivant l'ordre : fleurs > feuilles > tiges > racines.

Concernant la teneur en flavonoïdes, la phase aqueuse a montré des valeurs entre 3,7 et 10,2 mg EQ/g MS, et la phase organique entre 0,9 et 3,7 mg EQ/g MS. Les fleurs ont montré la plus grande teneur dans les deux phases, suivies par les feuilles, les tiges et les racines. Une différence non significative a été rapportée entre ces deux derniers organes dans les deux phases ($p > 0,05$).

En général, la teneur en polyphénols et en flavonoïdes dans la phase aqueuse était plus élevée dans tous les organes par rapport à la teneur dans la phase organique.

Tableau 34:Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits aqueux et organiques de *Cladanthus mixtus*.

	Polyphénols (mg EAG/g MS)		Flavonoïdes (mg EQ/ g MS)	
Organe	Phase aqueuse	Phase organique	Phase aqueuse	Phase organique
Racine	11,3 ± 0,3c	6,4 ± 0,2c	3,7 ± 0,1c	0,9 ± 0,02c
Tige	18,09 ± 1,8b	6,8 ± 0,2bc	4,3 ± 0,3c	1,3 ± 0,08c
Feuille	25,1 ± 0,1a	8,3 ± 0,6b	5,3 ± 0,09b	2,7 ± 0,1b
Fleur	22,6 ± 0,4a	16,4 ± 0,04a	10,2 ± 0,07a	3,7 ± 0,1a

Les valeurs sont des moyennes ± écart-type de trois répétitions. Les lettres a, b et c représentent une différence significative entre les organes au niveau de $p < 0,05$.

1.3. Dosage des extraits de *Matricaria chamomilla*

1.3.1. Extraits méthanoliques

Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes des extraits méthanoliques de différents organes de *M. chamomilla* sont rapportées dans le **tableau 35**. Les teneurs en polyphénols ont varié entre 8,76 et 16,66 mg EAG/g MS en respectant l'ordre tiges > fleurs > feuilles > racines. D'un autre côté, les teneurs en flavonoïdes ont varié entre 6,81 et 28,57 mg EQ/g MS en respectant l'ordre fleurs > tiges > feuilles > racines. En général, les racines ont montré les plus faibles teneurs en phénols et en flavonoïdes.

Tableau 35:Teneur en polyphénols et flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de *Matricaria chamomilla*.

Organe étudié	Polyphénols (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg EQ/g MS)
Racine	8,76 ± 0,30c	6,81 ± 0,16c
Tige	16,66 ± 0,56ab	23,45 ± 0,71b
Feuille	11,13 ± 0,57bc	24,67 ± 0,64ab
Fleur	16,40 ± 0,40ab	28,57 ± 1,44 a

Les valeurs sont des moyennes ± écart-type de trois répétitions. Les lettres a, b et c représentent une différence significative entre les organes au niveau de $p < 0,05$.

1.3.2. Extraits aqueux et organiques

Le **tableau 36** montre la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des différents extraits (aqueux et organiques) des organes de *M. chamomilla.*

Les valeurs de teneur en phénol aqueux étaient comprises entre 4,4 et 21,7 mg EAG/g MS. L'extrait des fleurs a présenté la teneur la plus élevée, suivi par l'extrait des tiges, des

feuilles et des racines. Une différence significative a été rapportée entre tous les organes ($p < 0,05$). D'un autre côté, la teneur en phénol organique était comprise entre 4,1 et 11,2 mg EAG/g MS, dans l'ordre fleurs > feuilles > tiges > racines. Une différence significative a été rapportée entre la teneur en phénol organique des racines comparée aux autres organes ($p < 0,05$). Concernant la teneur des flavonoïdes, la phase aqueuse a montré des valeurs entre 2,1 et 7,9 mg EQ/g MS, alors que la phase organique a montré des valeurs entre 0,5 et 5,6 mg EQ/g MS. Dans les deux phases, les fleurs ont montré la plus haute teneur de flavonoïdes, suivies des feuilles, des tiges et des racines.

En général, la teneur en polyphénols et flavonoïdes était plus élevée dans la phase aqueuse pour tous les organes par rapport à celle de la phase organique.

Tableau 36:Teneur en polyphénols et en flavonoïdes des extraits aqueux et organiques de *Matricaria chamomilla.*

	Polyphénols (mg EAG/g MS)		**Flavonoïdes (mg EQ/ g MS)**	
Organe	Phase aqueuse	Phase organique	Phase aqueuse	Phase organique
Racine	4,4 ± 0,1d	4,1 ± 0,4b	2,1 ± 0,2c	0,5 ± 0,04b
Tige	13,4 ± 0,5 b	8,1 ± 0,4a	3,9 ± 0,2b	1,1 ± 0,4b
Feuille	10,5 ± 0,6c	9,2 ± 1,0a	6,7 ± 0,2a	5,4 ± 0,1a
Fleur	21,7 ± 0,4a	11,2 ± 0,8a	7,9 ± 0,3a	5,6 ± 0,05a

Les valeurs sont des moyennes ± écart-type de trois répétitions. Les lettres a, b, c et d représentent une différence significative entre les organes au niveau de 0,05.

2. Activité antioxydante des extraits de *Cladanthus mixtus*

2.1. Test de piégeage ABTS

La **figure 36** présente l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de *C. mixtus* par le test ABTS. Les résultats varient entre 12,58 et 39,49 mg ET/g MS, avec une différence significative ($p < 0.05$) rapportée entre tous les organes. La meilleure activité était rapportée par les racines (39,49 mg ET/g MS), suivie des fleurs (33,6 mg ET/g MS), tiges (20,99 mg ET/g MS) et feuilles (12,58 mg ET/g MS).

Les résultats de l'activité antioxydante par le test ABTS des extraits d'Eurotorax, phases lipidique et hydrophile, sont également présentés dans la **figure 36**. Comme pour *M. chamomilla*, les extraits ont montré une AAH (entre 12,89 et 23,40 mg ET/g MS) plus importante comparée à l'AAL (entre 1,34 et 3,99 mg ET/g MS). Une différence significative a été rapportée entre l'AAH des organes étudiés ($p < 0,05$), avec la meilleure valeur obtenue par les tiges (23,40 mg ET/g MS), suivies des fleurs (20,32 mg ET/g MS), des racines (14,11 mg

ET/g MS) et des feuilles (12,89 mg ET/g MS). Pour l'AAL, la fleur a montré la plus grande activité (3,99 mg ET/g MS), présentant une différence significative ($p < 0.05$) avec les autres organes : racines (1,85 mg ET/g MS), feuilles (1,51 mg ET/g MS) et tiges (1,34 mg ET/g MS).

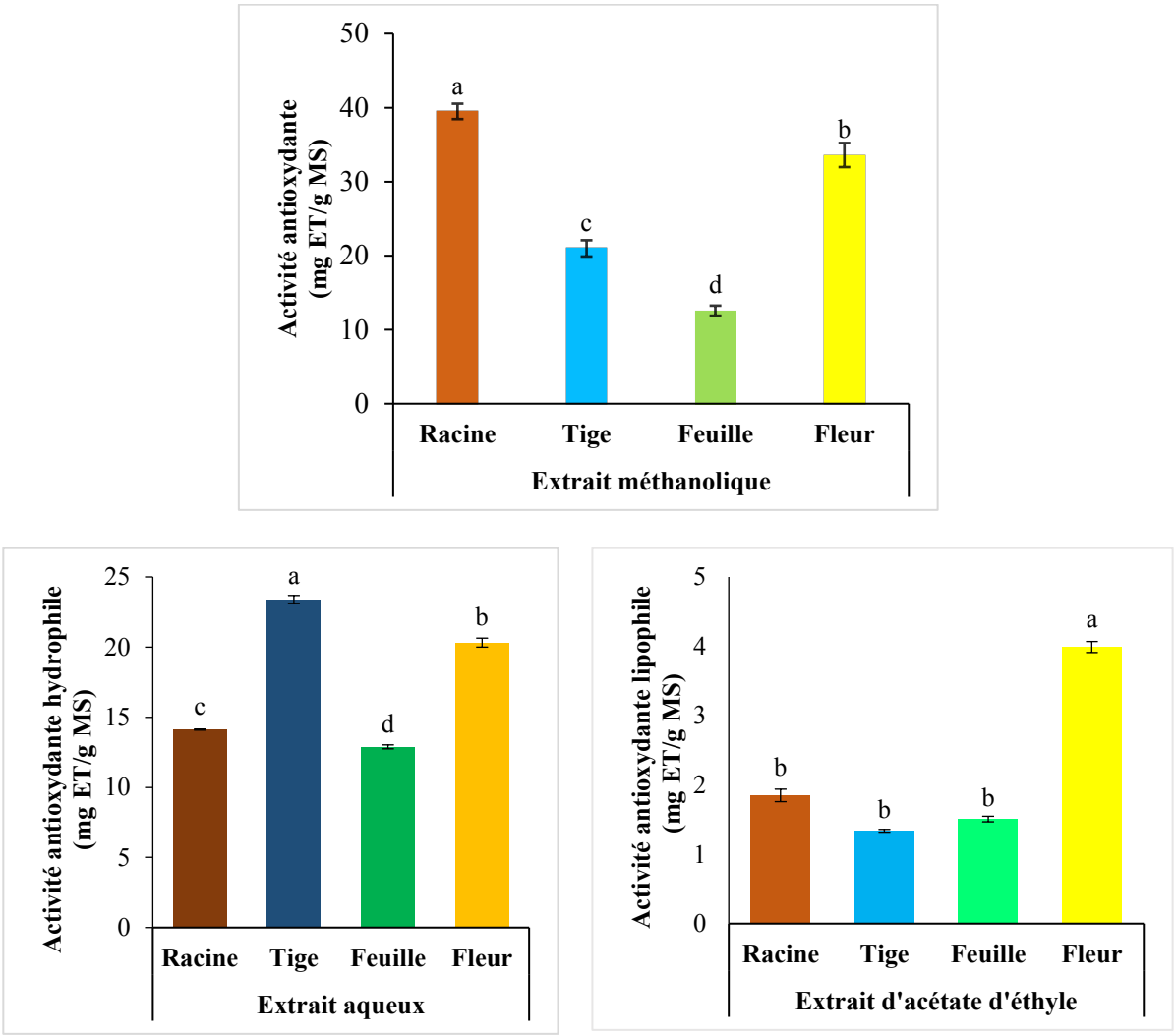


Figure 36:Activité antioxydante des extraits de *Cladanthus mixtus* par le test ABTS.

2.2. Test de piégeage DPPH

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques de *C. mixtus* déterminée par le test DPPH est présentée dans la **figure 37**. Les résultats ont varié entre 16,96 à 36,23 mg ET/g MS, avec une différence significative entre tous les organes ($p < 0,05$). Les fleurs ont montré la plus grande activité (36,23 mg ET/g MS), suivies des racines (30,24 mg ET/g MS), des tiges (24,72 mg ET/g MS) et des feuilles (16,96 mg ET/g MS).

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits d'Eurotorax déterminés par le test DPPH sont aussi présentés dans la **figure 37**. En général, l'AAL été comprise entre 1,18 à 3,60 mg ET/g MS, et l'AAH entre 0,70 à 1,16 mg ET/g MS. La fleur a montré la plus forte AAL

(3,60 mg ET/g MS), suivie des tiges (1,97 mg ET/g MS), des racines (1,57 mg ET/g MS) et des feuilles (1,18 mg ET/g MS). Une différence significative a été rapportée entre les AAL des différents organes ($p < 0,05$). Concernant l'AAH, une différence significative a été notée entre les fleurs (1,16 mg ET/g MS) et les autres organes ($p < 0,05$) : la tige (0,8 mg ET/g MS), la feuille (0,74 mg ET/g MS) et la racine (0,7 mg ET/g MS).

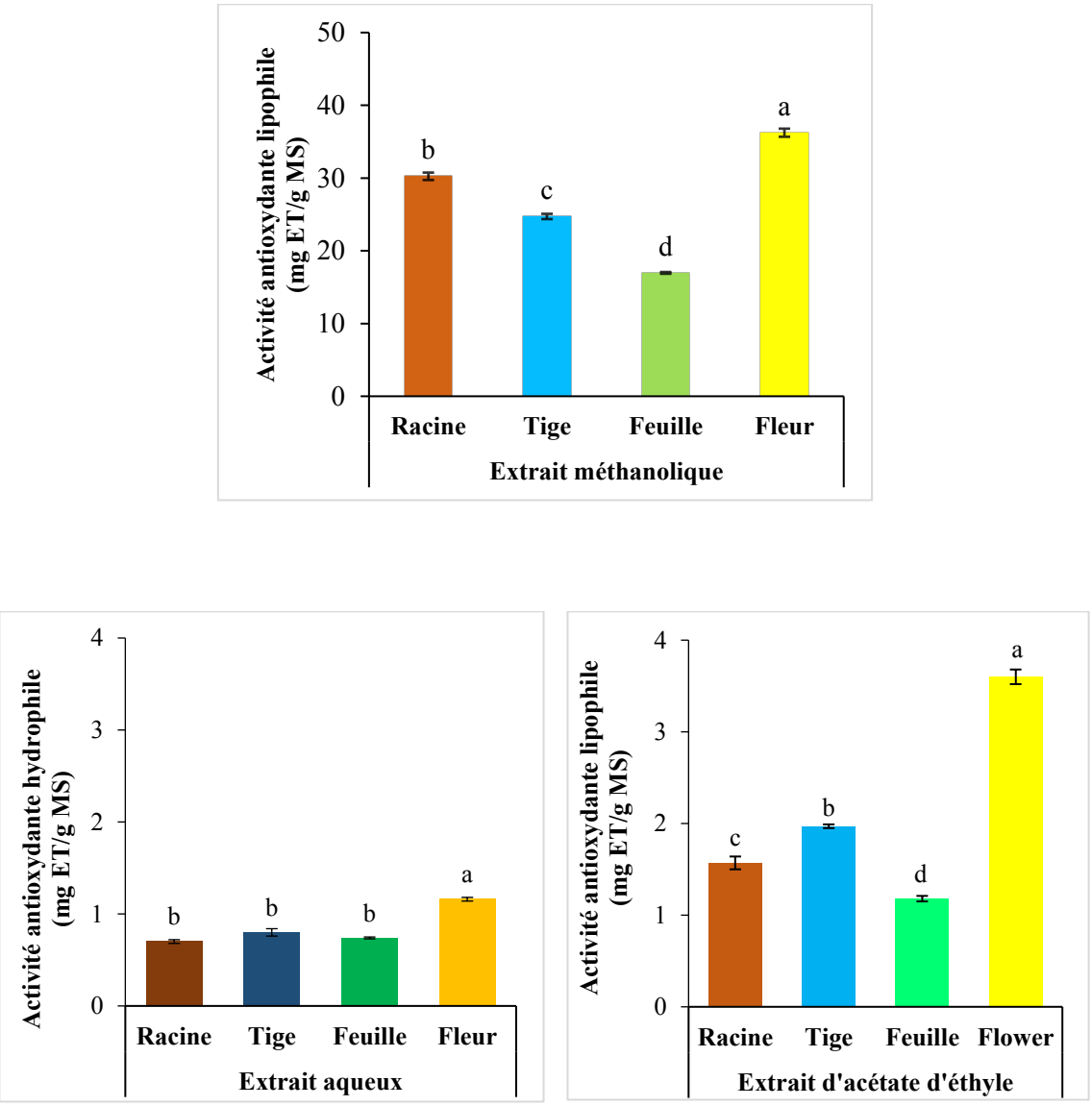


Figure 37:Activité antioxydante des extraits de *Cladanthus mixtus* par le test DPPH.

3. Activité antioxydante des extraits de *Matricaria chamomilla*

3.1. Test de piégeage ATBS

Les résultats de l'activité antioxydante des **extraits méthanoliques** de *M. chamomilla* déterminée par le test ABTS sont présentés dans la **figure 38**. Les valeurs ont varié entre 11,32 et 30,03 mg ET/g MS, avec une différence significative ($p < 0.05$) entre l'activité antioxydante

des racines (30,03 mg ET/g MS) et celle des autres organes : tiges (19,48 mg ET/g MS), fleurs (18,67 mg ET/g MS) et feuilles (11,32 mg ET/g MS).

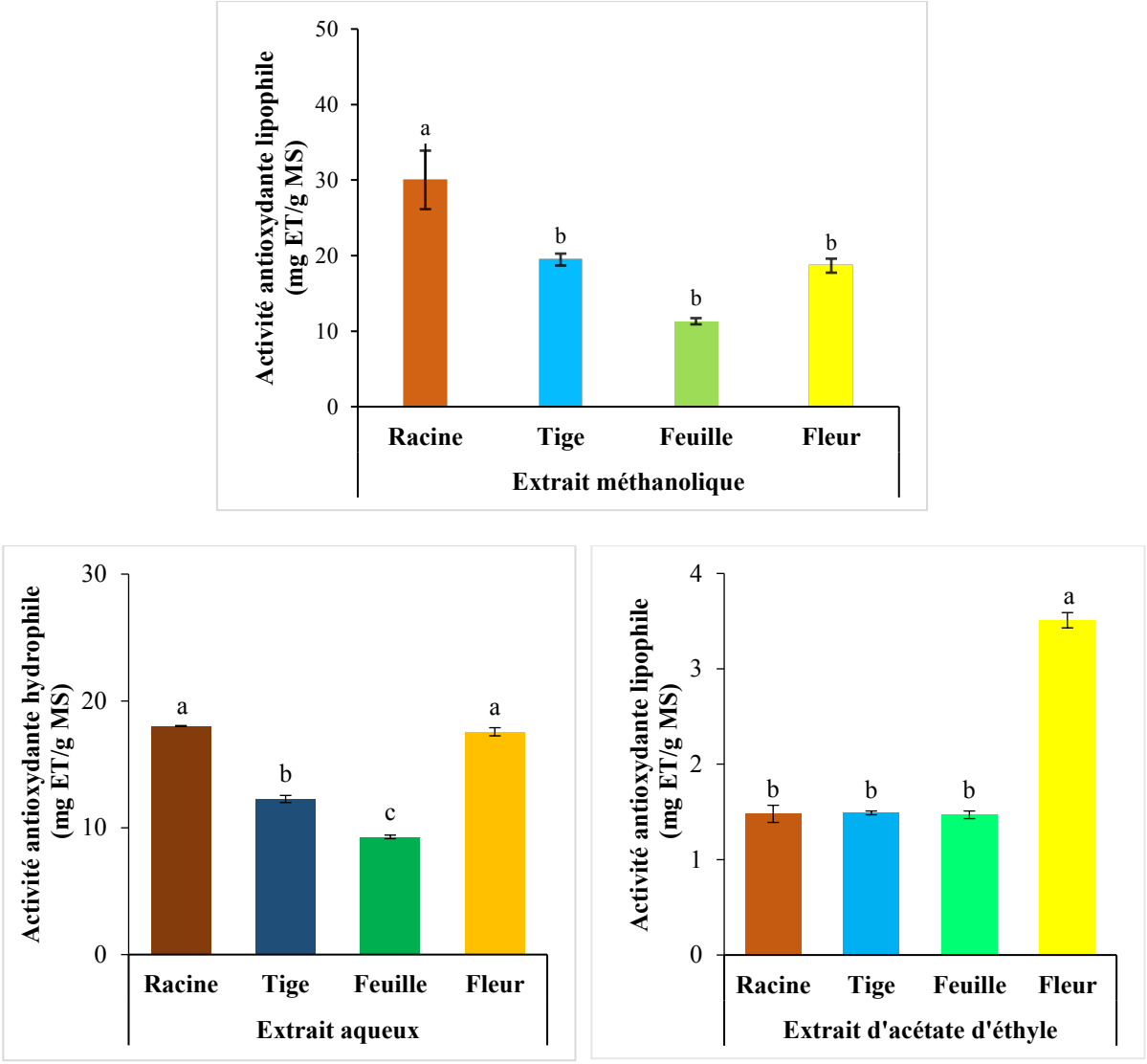


Figure 38:Activité antioxydante des extraits de *Matricaria chamomilla* par le test ABTS.

La **figure 38** également montre l'activité antioxydante des deux phases, lipidique et hydrophile, d'extrait d'Eurotorax par le test ABTS. En général, les extraits avaient une AAH (entre 9,28 et 18,02 mg ET/g MS) plus importante comparée à l'AAL (entre 1,47 et 3,51 mg ET/g MS). Les racines (18,02 mg ET/g MS) et les fleurs (17,57 mg ET/g MS) avaient la plus forte AAH, avec une différence non significative ($p< 0.05$) entre ces deux organes. La tige avait une AAH de 12,27 mg ET/g MS, suivie des feuilles (9,28 mg ET/g MS). Pour l'AAL, la fleur a montré la plus grande valeur (3,51 mg ET/g MS), présentant une différence significative ($p <$

0.05) avec les autres organes : tiges (1,49 mg ET/g MS), racines (1,48 mg ET/g MS) et feuilles (1,47 mg ET/g MS).

3.2. Test de piégeage DPPH

La **figure 39** présente l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de différents organes de *M. chamomilla* par le test DPPH. Les résultats ont varié entre 13,77 à 25,41 mg ET/g MS, avec une différence significative entre tous les organes ($p < 0,05$). La racine a montré la plus grande activité (25,21 mg ET/g MS), suivie des tiges (23,38 mg ET/g MS), des fleurs (19,51 mg ET/g MS) et des feuilles (13,77 mg ET/g MS).

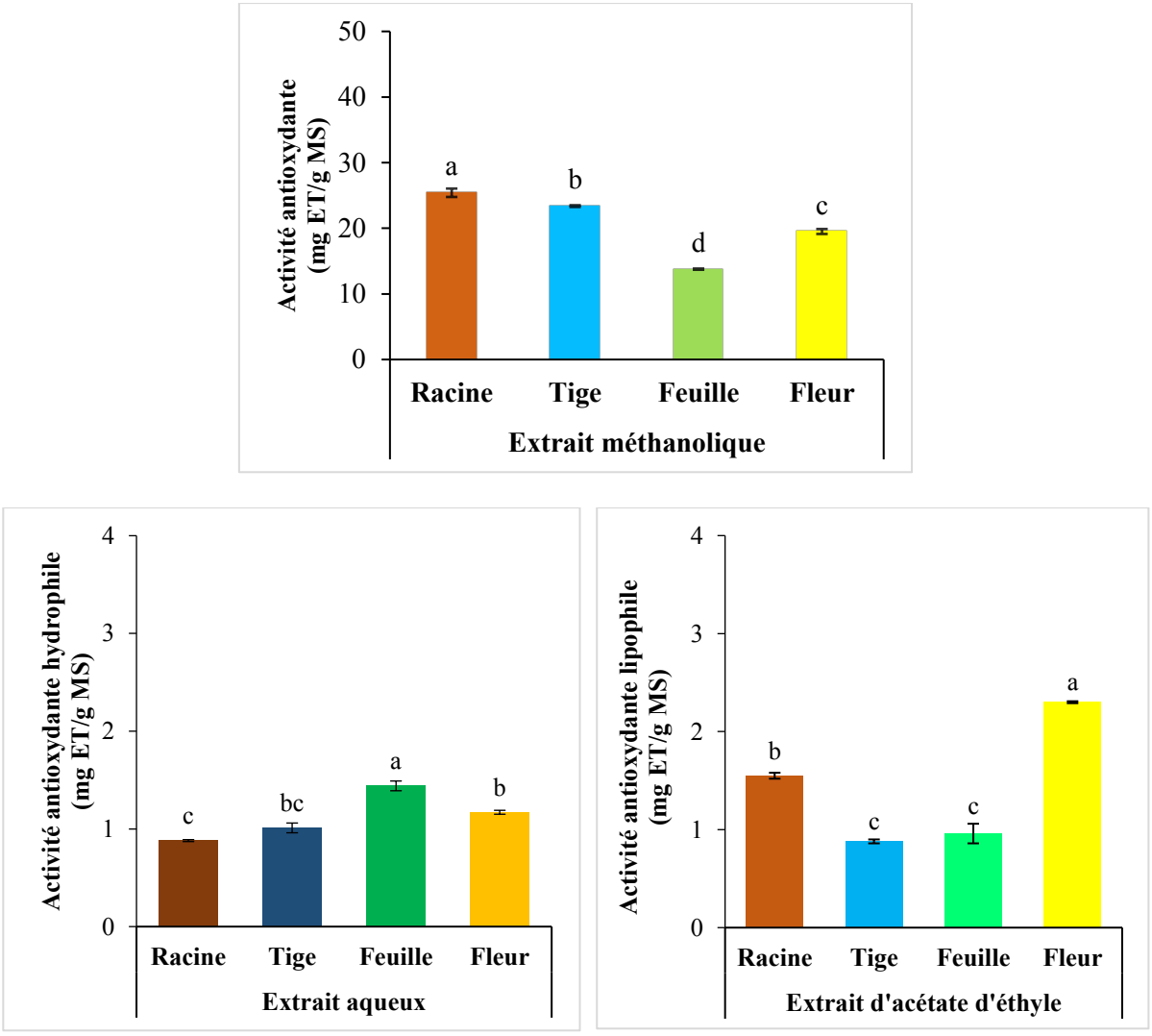


Figure 39:Activité antioxydante des extraits de *Matricaria chamomilla* par le test DPPH.

Les résultats de l'activité antioxydante par le test DPPH des d'extrait d'Eurotorax sont présentés dans la **figure 39**. En général, l'AAL été comprise entre 0,88 et 2,30 mg ET/g MS, et l'AAH entre 0,70 et 1,44 mg ET/g MS. La fleur a montré la plus forte AAL (2,30 mg ET/g MS), suivie des racines (1,55 mg ET/g MS), des feuilles (0,96 mg ET/g MS) et des tiges (0,88

mg ET/g MS). Une différence non significative a été rapportée entre les AAL des feuilles et les tiges ($p > 0,05$). D'un autre côté, la feuille a montré la plus forte AAH (1,44 mg ET/g MS), suivie des fleurs (1,17 mg ET/g MS), des racines (0,88 mg ET/g MS) et des tiges (0,70 mg ET/g MS).

IV. Discussion

L'activité antioxydante peut être mesurée par plusieurs méthodes. Dans notre étude, on a choisi deux méthodes, ABTS et DPPH, afin de déterminer la capacité des différents extraits végétaux étudiés à piéger les radicaux libres. Les deux tests sont basés sur des mécanismes réactionnels chimiques, qui sont le transfert d'électron pour le DPPH et l'ABTS **(Figure 40)**.

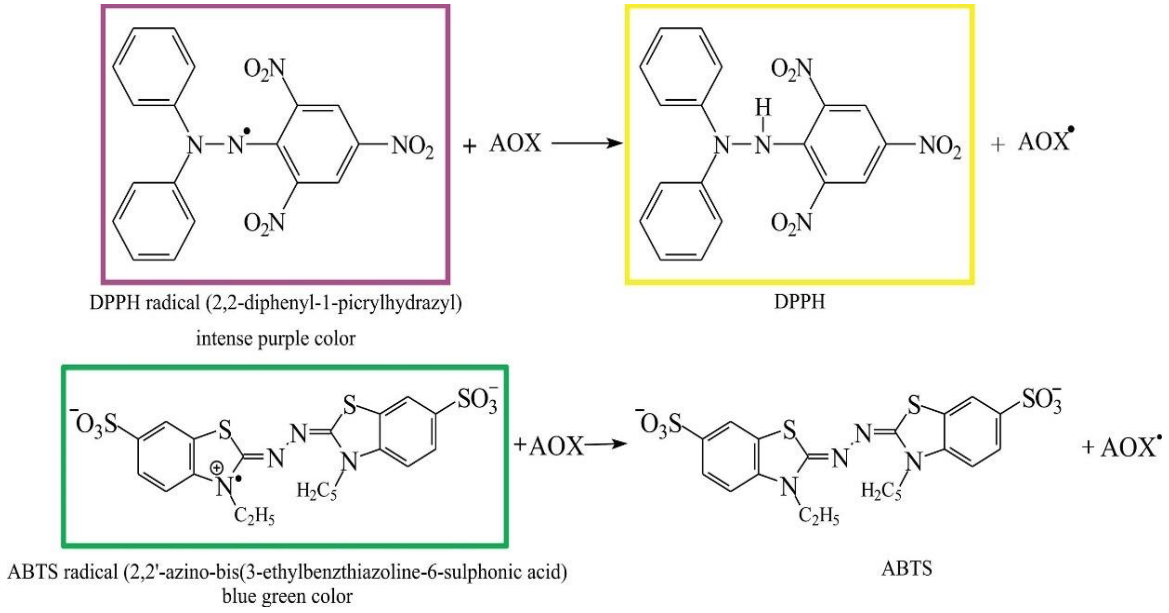


Figure 40:Production d'ABTS •+ et de DPPH•+

La méthode de décoloration ABTS/H_2O_2/HRP (Arnao et al., 1999) est basée sur la capacité d'un échantillon à piéger le cation radical ABTS (ABTS*+) par rapport à un antioxydant standard (Trolox) dans une courbe dose-réponse. La couleur bleue ABTS*+ change au jaune pâle.

L'efficacité de l'élimination des radicaux libres de diverses substances antioxydantes a aussi été largement évaluée à l'aide du test DPPH (Vladimir-Kneevi et al., 2011). Cette méthode est basée sur le même principe du test de ABTS, du fait que les antioxydants ont la capacité à réduire le radical libre 2,2-diphényl-1-pycril-hydrazyl, soit par la libération d'un électron ou d'un atome d'hydrogène du groupe hydroxyle (Masek et al., 2017).

Les résultats ont montré que les extraits méthanoliques avaient généralement plus de capacité à réduire le DPPH, alors que les extraits d'Eurotorax (aqueux et d'acétate d'éthyle) avaient plus d'activité anti-ABTS.

En effet, l'activité anti-radicalaire des conjugués de *M. chamomilla* de Pologne a été évaluée. Les radicaux DPPH• et ABTS• ont des valeurs EC_{50} de 100 g/mL et 8,45 g/mL, respectivement. Cependant, l'activité rapportée était inférieure aux activités radicalaires de Trolox (EC_{50} = 2,24 g/mL), le composant utilisé comme standard (Kolodziejczyk-czepas et al., 2015).

Vu la différence de technique et d'expression des résultats, il est assez difficile de comparer nos résultats à ceux de la littérature. Cependant, il y a des études qui ont montré que les extraits de *M. chamomilla et C. mixtus* avaient une bonne activité antioxydante en utilisant ces deux tests.

En général, les résultats de l'activité antioxydante pour les deux plantes ont varié selon la technique d'extraction. Les extraits méthanoliques obtenus par macération ont tous montré de meilleurs résultats au test DPPH comparé aux extraits d'Eurotorax. Par contre, au test ABTS, les résultats ont varié selon les organes étudiés, avec de meilleurs résultats obtenus par les extraits méthanoliques des racines et des fleurs de *C. mixtus,* et des racines, des tiges et des feuilles de *M. chamomilla*.

D'autres travaux ont montré que la technique d'extraction peut influencer l'activité antioxydante. Roby et al. (2013) ont trouvé que l'extrait méthanolique de fleurs de *M. chamomilla* avait le plus fort pouvoir antiradicalaire (IC_{50} = 0,0022 µMoles) comparé aux extraits éthanoliques, éther diéthyliques et hexaniques. De la même façon, le test DPPH a montré que l'extrait méthanolique des fleurs de *C. mixtus* avait l'activité antiradicalaire la plus élevée (IC_{50} = 55,50 µg/mL), suivi de l'extrait éthanolique (IC_{50} = 121,5 µg/mL), d'acétate d'éthyle (IC_{50} = 240,9 µg/mL) et du n-hexane (IC_{50} = 259 µg/mL) (Zeroual et al., 2021). Contrairement, l'extrait méthanolique de la partie aérienne de *C. mixtus* a montré une activité antioxydante inférieure à l'extrait aqueux par les tests DPPH et ABTS (Elouaddari et al., 2019).

La méthode d'extraction et le solvant utilisé peuvent influencer la composition en polyphénols, flavonoïdes et d'autre composés et donc également affecter l'activité antioxydante (Cvetanović et al., 2015 ; Roby et al., 2013).

D'autre part, la technique d'Eurotorax a été utilisée afin de déterminer la contribution des deux phases, lipide et hydrophile, dans l'AAT (AAT = AAH + AAL). En général, l'AAT des extraits de *M. chamomilla* était formée de 89% AAH et de 11% AAL au test ABTS, alors qu'elle était formée de 42 % AAH et de 58 % AAL au test DPPH (**Figure 41**). Pour *C. mixtus,*

l'AAT était formée de 89% AAH et de 11% AAL au test ABTS, alors qu'elle était formée de 29 % d'AAH et de 71 % AAL au test DPPH (**Figure 42**). Ainsi, les deux plantes ont montré le même pourcentage au test ABTS.

Les résultats des deux plantes ont montré que l'AAH était la plus dominante dans le test ABTS, alors que l'AAL a représenté la majorité de l'AAT pour la plupart des organes testés par DPPH.

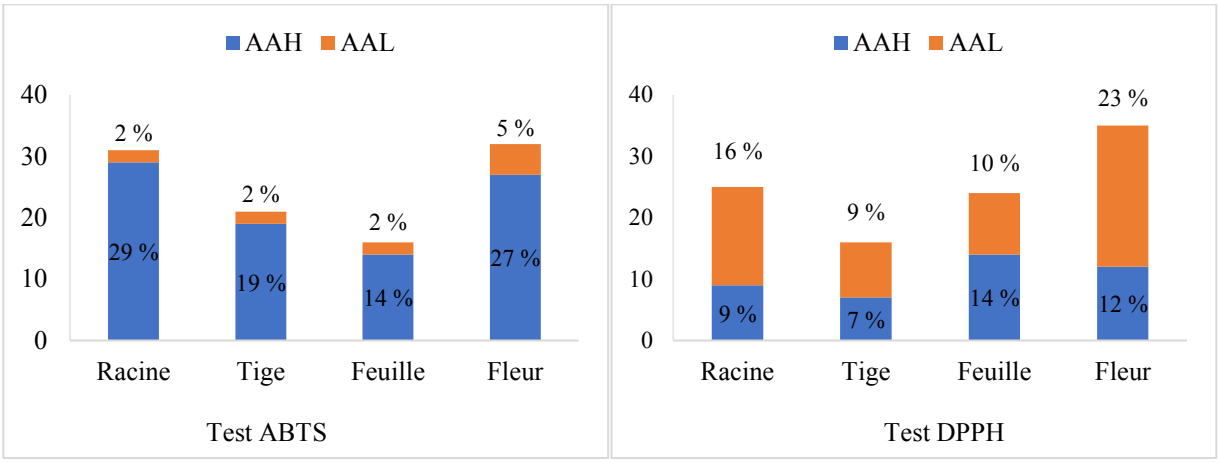


Figure 41:Pourcentage d'activité antioxydante dans différents organes de *Matricaria chamomilla* par tests ABTS et DPPH.

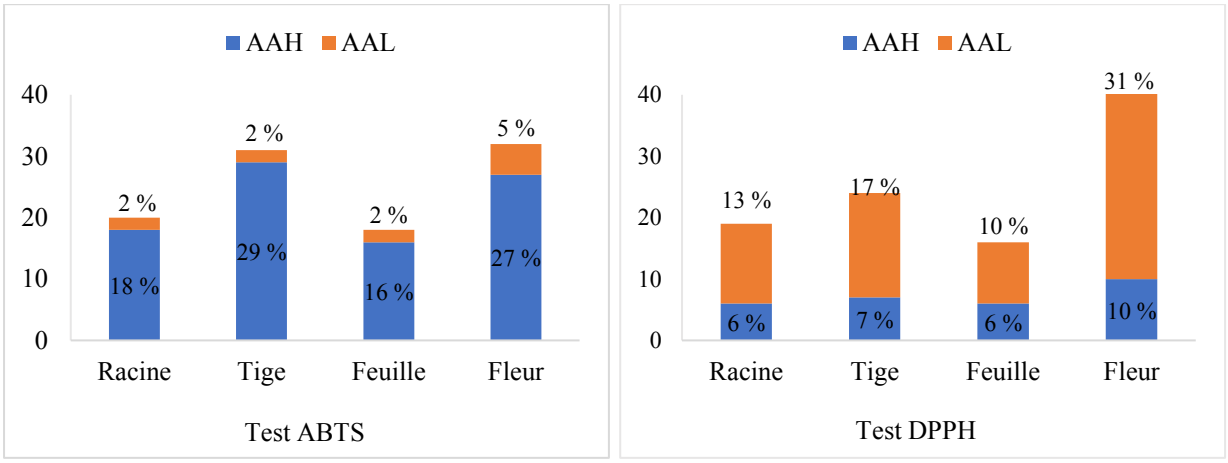


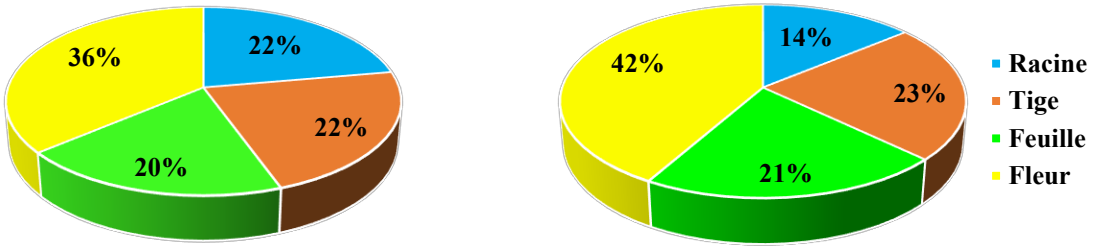
Figure 42:Pourcentage d'activité antioxydante dans différents organes de *Cladanthus mixtus* par tests ABTS et DPPH.

D'un autre côté, le choix de l'organe d'extraction joue un rôle important dans l'activité antioxydante. Dans notre étude, on a choisi de séparer les organes de la plante (fleur, feuille, tige et racine) afin de comparer leur activité antioxydante. Les résultats ont montré que l'extraction des racines par macération utilisant le méthanol a permis d'obtenir la meilleure activité avec le ABTS pour les deux plantes. L'extrait de la racine de *M. chamomilla* a aussi donné la meilleure activité par le DPPH, tandis que la fleur a montré un meilleur résultat pour *C. mixtus*. D'un autre côté, les feuilles des deux plantes ont montré la plus faible activité dans

les deux tests. Concernant l'extraction par Eurotorax, les fleurs des deux plantes ont donné la meilleure activité AAL dans les deux tests, alors qu'elles étaient classées parmi les meilleurs organes pour l'AAH. Par conséquent, la fleur est l'organe procurant une forte activité antioxydante, expliquant sa forte utilisation dans la plupart des études et en pratique traditionnelle.

Les résultats de dosage colorimétriques des trois extraits (les extraits méthanoliques, les extraits d'acétate d'éthyle et les extraits aqueux) ont montré des teneurs importantes en polyphénols et en flavonoïdes.

L'extrait méthanolique des fleurs de *C. mixtus* ont montré la plus grande teneur en polyphénols (36%) et en flavonoïdes (42%) (**Figure 43**). Les teneurs en polyphénols étaient similaires dans les racines et les tiges (22%), suivis des feuilles (20%). Pour les flavonoïdes, les tiges ont montré une teneur proche de celle des feuilles (23 et 21 respectivement), suivie des racines (14%).

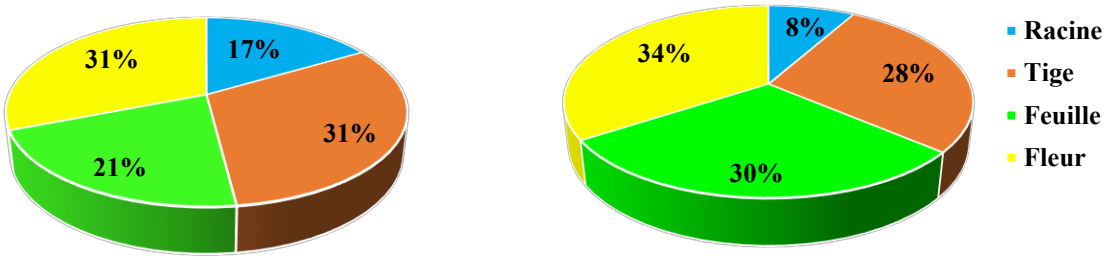


Teneur en polyphénols

Teneur en flavonoïdes

Figure 43:Pourcentage en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de *Cladanthus mixtus*.

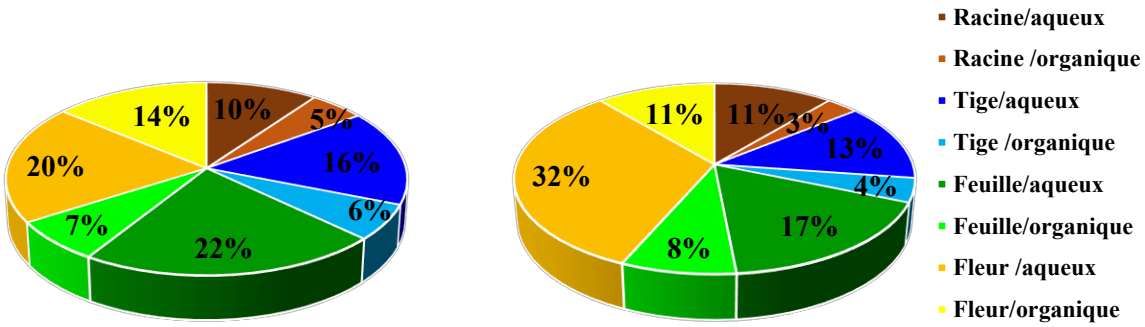
Dans le cas de *M. chamomilla,* la teneur la plus élevée en phénols a été observée dans l'extrait méthanolique des fleurs et des tiges avec une proportion de (31%), suivies par les feuilles (21%) et les racines (17%) **(figure 44)**. Pour les flavonoïdes, l'extrait des fleurs a aussi montré le plus haut pourcentage (34%), suivi des feuilles (30%), des tiges (28%) et des racines (8%).



Teneur en polyphénols Teneur en flavonoïdes

Figure 44:Pourcentage en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits méthanoliques de *Matricaria chamomilla*.

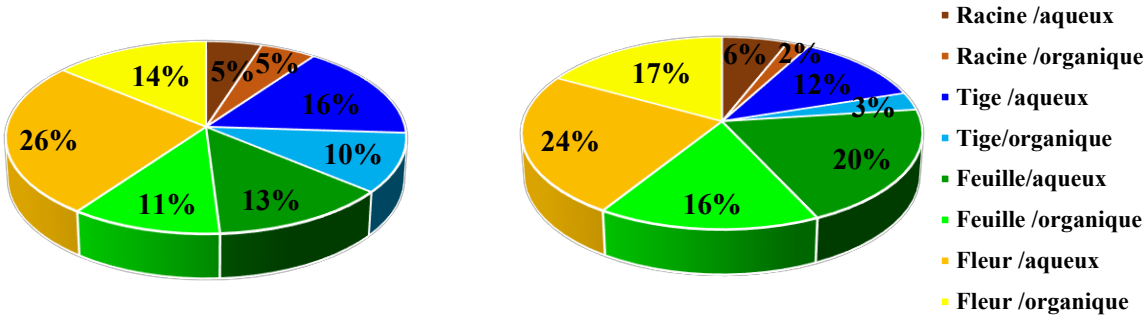
Pour les extraits aqueux (tampon phosphate) et organiques (acétate d'éthyle), la teneur la plus élevée en polyphénols (la somme des contenus phénoliques aqueux et organiques) et en flavonoïdes (la somme des contenus en flavonoïdes aqueux et organiques) dans *C. mixtus* a été observée dans les fleurs (34 et 43% respectivement), suivies par les feuilles (29 et 25% respectivement), les tiges (22 et 17% respectivement) et les racines (15 et 14% respectivement) (**Figure 45**).



Teneur en polyphénols Teneur en flavonoïdes

Figure 45:Pourcentage en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits aqueux et organiques de *Cladanthus mixtus*.

La teneur totale en phénol dans la plante *M. chamomilla* était plus élevée dans les fleurs (40%), suivies par la tige (26%), la feuille (24%) et la racine (10%) (**Figure 46**). En outre, la teneur totale en flavonoïdes était plus élevée dans les fleurs (41%), suivies par la feuille (36%), la tige (15%) et la racine (8%).



Teneur en polyphénols Teneur en flavonoïdes

Figure 46:Pourcentage en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits aqueux et organiques de *Matricaria chamomilla*.

D'après les résultats, on peut conclure que la plante *C. mixtus* a une teneur en polyphénols la plus élevée par rapport à *M. chamomilla*. D'autre part, les deux plantes ont donné la plus haute teneur en flavonoïdes dans les fleurs, suivies par les feuilles, les tiges et les racines.

Le contenu phénolique total de l'extrait de fleur de *M. chamomilla* trouvé dans ce travail par la technique des deux phases avec Eurotorax (33,07 mg EAG/g MS) est légèrement supérieur à celui dans l'extrait de méthanol (16,40 mg EAG/g MS), et trouvé dans l'extrait de fleur d'une étude similaire avec la camomille italienne (2 689,2 mg EAG/ 100g MS) (Formisano et al., 2015), et beaucoup plus élevé que dans une étude avec la camomille égyptienne (3,7 mg EAG/g MS) (Roby et al., 2013), et que dans un produit commercial à base de camomille des Émirats arabes unis (21,4 mg EAG/g MS) (Al-Dabbagh et al., 2019). Ainsi, la fleur de camomille de cette étude a toujours la valeur la plus élevée de contenu phénolique total, ceci montre que la méthode d'extraction biphasique appliquée est plus exhaustive.

Dans un précédent rapport, des extraits de parties aériennes de *C. mixtus* (collectés à Bouznika, Maroc) ont montré un contenu phénolique de 38,2 mg EAG/g MS dans les extraits aqueux, et de 19,5 mg EAG/g MS dans les extraits méthanoliques (Elouaddari et al., 2019), montrant une teneur inférieure à celle trouvée dans cette étude (65,84 et 31,62 mg EAG/g MS, respectivement).

Une analyse de corrélation a été réalisée afin d'étudier la relation entre les teneurs en phénols et en flavonoïdes des extraits et leurs activités antioxydantes (**Tableaux 37, 38**).

Le coefficient de corrélation est une mesure statistique de l'association linéaire entre deux variables. Les valeurs du coefficient de corrélation sont toujours comprises entre -1 et 1.

Un nombre calculé supérieur à 1 ou inférieur à -1 signifie qu'il y a eu une erreur dans la mesure de corrélation. Une corrélation de 1 indique que deux variables sont parfaitement liées dans un sens linéaire positif, un coefficient de corrélation de -1 indique que deux variables sont parfaitement liées dans un sens linéaire négatif et un coefficient de corrélation de 0 indique qu'il n'y a pas de relation linéaire entre les deux variables (Asuero et al., 2006).

Pour l'extrait méthanolique de *M. chamomilla* (**Tableau 37**), les extraits de tige, feuille et fleur ont montré une corrélation positive très significative entre le contenu en phénol et l'activité antioxydante déterminée par les deux tests ABTS (r^2=0,99, $p < 0,05$) et DPPH (r^2 = 0,90, $p < 0,05$). Une forte corrélation a aussi été rapportée entre la teneur totale en flavonoïdes et l'activité antioxydante par test ABTS (r^2=0,97, $p < 0,05$) et DPPH (r^2 = 0,79, $p < 0,05$) pour la racine, la tige et la fleur. D'un autre côté, les extraits d'Eurotorax ont aussi montré une corrélation positive entre leurs composés en phénols et flavonoïdes et leur activité antioxydante (**Tableau 37**). Le test ABTS a montré que la corrélation la plus significative était entre le contenu en phénols aqueux et l'AAH pour la tige, la feuille et la fleur, et entre le contenu en flavonoïdes organiques et l'AAL pour la racine, la tige et la fleur (r^2= 0,98, $p < 0,05$). Cela montre que les phénols ont plus attribué à l'activité hydrophile alors que les flavonoïdes ont joué un rôle dans l'activité lipophile. D'un autre côté, le test DPPH a montré que la corrélation la plus significative était entre les phénols totaux et l'AAT (r^2 = 0,82, $p < 0,05$) et les flavonoïdes totaux et l'AAT (r^2 = 0,81, $p < 0,05$) pour la tige, la feuille et la fleur.

Tableau 37:Corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs totales en phénols et en flavonoïdes des extraits de *Matricaria chamomilla*.

		ABTS			DPPH		
	Relation entre deux paramètres	**Organe**	**Equation**	**r^2***	**Organe**	**Equation**	**r^2***
	Extrait méthanolique (macération)						
	Phénols VS AA	Tige Feuille Fleur	y = 1,4838x - 5,1877	0,99	Tige Feuille Fleur	y = 1,5203x - 3,3244	0,90
	Flavonoïdes VS AA	Racine Tige Fleur	y = -0,5497x + 33,506	0,97	Racine Tige Fleur	y = -0,2343x + 27,362	0,79
	Extraits d'Eurotorax						
Teneurs en phénols	**Phénols aqueux VS AAH**	Tige Feuille Fleur	y = 0,7165x + 2,1017	0,98	Racine Tige Fleur	y = 0,0315x + 0,5901	0,50
	Phénols organiques VS AAL	Racine Tige Fleur	y = 0,0543x + 1,1914	0,70	Racine Tige Feuille	y = -0,0874x + 1,8158	0,71
	Phénols totaux VS AAT	Tige Feuille Fleur	y = 0,6345x – 1,4994	0,87	Tige Feuille Fleur	y = 0,132x - 0,8784	0,82
Teneurs en flavonoïdes	**Flavonoïdes aqueux VS AAH**	Racine Tige Feuille	y = -1,8111x +20,972	0,91	Racine Tige Feuille	y = 0,1313x + 0,4427	0,63
	Flavonoïdes organiques VS AAL	Racine Tige Fleur	y = 0,4135x + 1,1562	0,98	Racine Tige Fleur	y = 0,2082x + 1,0712	0,67
	Flavonoïdes Totaux VS AAT	Racine Tige Feuille	Y = -0,8049x +20,021	0,81	Tige Feuille Fleur	y = 0,1877x + 0,5476	0,81

* indique une corrélation significative à $p < 0,05$.

Concernant *C. mixtus* (**Tableau 38**)*,* les extraits méthanoliques de la tige, la feuille et la fleur ont montré une corrélation positive très significative entre le contenu en phénol et l'activité antioxydante par les tests ABTS (r =0,93, $p < 0,05$) et DPPH ($r^2 = 0,94$, $p < 0,05$). Ces organes ont aussi montré une forte corrélation entre leur teneur totale en flavonoïdes et l'activité antioxydante par test ABTS (r =0,89, $p < 0,05$) et DPPH ($r^2 = 0,90$, $p < 0,05$). Pour les extraits d'Eurotorax (**Tableau 38**), le test ABTS a montré que la corrélation la plus significative était entre le contenu en phénols organiques et l'AAL ($r^2= 0,92$, $p < 0,05$) pour tous les organes, et entre le contenu en flavonoïdes aqueux et l'AAH ($r^2= 0,91$, $p < 0,05$) pour la tige, la fleur et la racine. Cela montre que, contrairement à *M. chamomilla,* les phénols ont plus attribué à l'activité lipophile alors que les flavonoïdes ont joué un rôle dans l'activité hydrophile. D'un

autre côté, le test DPPH a montré que la corrélation la plus significative était entre les phénols totaux et l'AAT ($r^2 = 0,97$, $p < 0,05$) et les flavonoïdes totaux et l'AAT ($r^2 = 0,99$, $p < 0,05$) pour la racine, la tige et la fleur. Les contenus en phénols et flavonoïdes ont significativement contribué à l'activité lipophile des extraits des racines, des tiges et des fleurs.

Tableau 38:Corrélation entre les activités antioxydantes et les teneurs totales en phénols et en flavonoïdes des extraits de *Cladanthus mixtus*.

		ABTS			DPPH		
	Relation entre deux paramètres	**Organe**	**Equation**	**r^2***	**Organe**	**Equation**	**r^2***
	Extrait méthanolique (macération)						
	Phénols VS AA	Tige Feuille Fleur	y = 1,3533x - 7,2704	0,93	Tige Feuille Fleur	y = 1,2486x - 1,5089	0,94
	Flavonoïdes VS AA	Tige Feuille Fleur	y = 1,4176x - 2,9432	0,89	Tige Feuille Fleur	y = 1,3098x + 2,4508	0,90
	Extraits d'Eurotorax						
Teneurs en phénols	**Phénols aqueux VS AAH**	Tige Feuille Fleur	y = -1,3937x +49,462	0,85	Racine Tige Fleur	y = 0,0387x + 0,2162	0,82
	Phénols organiques VS AAL	Racine Tige Feuille Fleur	y = 0,2528x – 0,2369	0,92	Racine Tige Fleur	y = 0,1387x - 0,2224	0,97
	Phénols totaux VS AAT	Racine Tige Fleur	y = 0,3338x + 12,572	0,53	Racine Tige Fleur	y = 0,1171x - 1,5748	0,97
Teneurs en flavonoïdes	**Flavonoïdes aqueux VS AAH**	Racine Tige Fleur	y = 0,9002x + 0,5625	0,91	Racine Tige Fleur	y = 0,0671x + 0,4785	0,98
	Flavonoïdes organiques VS AAL	Racine Feuille Fleur	y = 1,0854x + 8,8089	0,84	Racine Tige Fleur	y = 0,7184x + 0,9189	0,99
	Flavonoïdes Totaux VS AAT	Racine Feuille Fleur	y = 0,9875x + 9,4099	0,75	Racine Tige Fleur	y = 0,2584x + 1,168	0,99

* indique une corrélation significative à $p < 0,05$.

La capacité des flavonoïdes à agir comme antioxydants in vitro a fait l'objet de plusieurs études au cours des dernières années, et d'importantes relations structure-activité de l'activité antioxydante ont été établis (Ren et al., 2003 ; Srivastava et Bezwada, 2015).

Presque tous les groupes de flavonoïdes ont la capacité d'agir comme antioxydants. Il a été rapporté que les flavones et les catéchines semblent être les flavonoïdes les plus puissants pour protéger l'organisme contre les espèces réactives de l'oxygène (Panche et al., 2016).

Les mécanismes et la séquence d'événements par lesquels les radicaux libres interfèrent avec les fonctions cellulaires ne sont pas entièrement compris, mais l'un des événements les plus importants semble être la peroxydation lipidique, qui entraîne des dommages à la membrane cellulaire. Ces dommages cellulaires provoquent une modification de la charge nette de la cellule, modifiant la pression osmotique, entraînant un gonflement et éventuellement la mort cellulaire. Les radicaux libres peuvent attirer divers médiateurs inflammatoires, contribuant à une réponse inflammatoire générale et à des lésions tissulaires. Pour se protéger les ROS, les organismes vivants ont développé plusieurs mécanismes efficaces (Halliwell, 1995). Les flavonoïdes stabilisent les espèces réactives de l'oxygène en réagissant avec le composé réactif du radical. En raison de la forte réactivité du groupe hydroxyle des flavonoïdes, les radicaux sont rendus inactifs, comme expliqué dans l'équation suivante donnée par Korkina et Afanasev, 1996 :

Flavonoïde (OH) + r(O) + RH,

où R est un radical libre et O est un radical libre d'oxygène.

L'activité antioxydante des polyphénols dépend de leur structure, notamment du nombre et de la position des groupements hydroxyles et de la nature des substitutions sur les cycles aromatiques (Balasundram et al., 2006). La quercétine est parmi les flavonoïdes les plus étudiés connus pour leur activités antioxydante la plus élevée. Parmi les différents flavonols, il est possible d'établir l'ordre décroissant suivant d'activité antioxydante, la quercétine, la myricétine et le kaempférol, qui diffèrent par leur schéma de substitution hydroxyle sur le cycle B. La présence du troisième groupe hydroxyle sur le cycle aromatique B, en position C-5 ', n'a pas entraîné un effet antioxydant de la myricétine supérieure à celui de la quercétine. La catéchine, qui présentait le même nombre de groupes hydroxyles dans la molécule que la quercétine, présentait une activité antioxydante significativement plus faible. Cela est dû au fait que la structure de la catéchine n'a pas de liaisons insaturées en position C2-C3 en conjonction avec l'oxo (-C = O) sur le cycle C, ce qui donne comparativement à la quercétine une activité antioxydante plus élevée. Avec l'ajout d'un groupe hydroxyle sur le cycle B de la molécule de catéchine, ce composé est appelé épigallocatéchine et avec cette nouvelle structure, il y a une augmentation de l'activité antioxydante, mais pas équivalente à la quercétine (Rice-Evans et al., 1996). En général, les aglycones sont des antioxydants plus puissants que leurs glycosides correspondants (Hidalgo et al., 2010). En ce qui concerne les acides phénoliques, il est possible

d'observer que les acides hydroxycinnamiques sont des antioxydants plus efficaces que les acides hydroxybenzoïques. Cela est dû à la conjugaison par les doubles liaisons du cycle au -CH=CH-COOH de la structure de l'acide cinnamique, qui améliore la capacité à stabiliser les radicaux libres. Cependant, il faut souligner que l'acide gallique a plus d'activité antioxydante que la catéchine, qui a cinq groupes hydroxyles dans sa structure (Rice-Evans et al., 1996). Ainsi que, de nombreuses études ont rapporté les avantages des composés phénoliques, comme la vanilline, ayant des activités antioxydantes et plus antidépressives, des effets neuroprotecteurs, antimutagènes et anticancérigènes ont été démontré (Anand et al., 2019).

Nos résultats d'analyse de HPLC-MS ont démontré que les différents extraits méthanoliques des deux plantes *C. mixtus* et *M. chamomilla* sont très riches en flavonoïdes aglycones et glycosides (lutéoline, apigénine, lutéoline-7-O-glucoside, apigénine-7-glucoside, quercétine, rutine, naringine, paraben de méthyle, catéchine, vanilline, kaempférol, isorhamnétine) et en acides phénoliques (acides gallique, protocatéchuique, chlorogénique, salicylique, *p*-hydroxybenzoïque, caféique, vanillique, syringique, rosmarinique, *p*-coumarique et férulique). La présence de composés phénoliques et des flavonoïdes peut contribuer à l'activité de l'extrait (Benammar et al., 2010).

Ils ont découvert que les flavonoïdes, tels que l'épicatéchine et la rutine, sont de puissants piégeurs de radicaux et que la capacité de piégeage de la rutine peut être due à son activité inhibitrice sur l'enzyme XO (Panche et al., 2016). Nous avons révélé la présence de la rutine dans tous les extraits des deux plantes avec des valeurs intéressantes et la valeur la plus élevé a été détectée chez les fleurs de *C. mixtus* (2707 µg/ g MS).

Les résultats de GC-MS ont également révélé la présence des biomolécules qui ont cette propriété antioxydante. Par exemple, Le β-sitostérol de la classe des terpénoïde a été détecté dans l'extrait des fleurs de *C. mixus* et l'extrait des racines de *M. chamomilla.* Il possède diverses actions biologiques telles que des effets antioxydants (Babu et Jayaraman, 2020). Le néophytadiène et le phytol dans les extraits pourraient contribuer à leurs activités antioxydantes (Olasehinde at al., 2021). D'autre part, l'alcool 1-tétracosanol présente une activité antioxydante (Faridha et al., 2016). Par conséquent, on pourrait en déduire que l'activité antioxydante des feuilles et tiges de *M. chamomilla* pourrait être attribuée à la présence de ce métabolite dans les extraits. La présence de l'acide L-(+) -ascorbique 2, 6 dihexadécanoate (18,01%) seulement dans l'extrait des racines de *M. chamomilla* peut contribuer à l'activité antioxydante accrue de cette plante. L'acide ascorbique est un antioxydant hydrophile naturel. Il a été démontré que les analogues de l'acide ascorbique formés par estérification et transestérification avec des acides gras améliorent les propriétés antioxydantes (El-Din et El-

Ahwany, 2016). Par conséquent, l'acide L-(+) -ascorbique 2,6 dihexadécanoate possède des propriétés antioxydantes (Akinmoladun et al., 2007).

Entre les extraits de *M. chamomilla* et *C. mixtus,* on a en général rapporté une meilleure activité antioxydante avec les extraits de *C. mixtus.* Ce travail a pu démontrer que l'activité antioxydante varie selon la méthode d'extraction, les solvants utilisés et la partie de la plante choisie. Également, on observe que, quel que soit le test antioxydant utilisé (ABTS ou DPPH), les extraits élaborés présentent une activité antioxydante importante.

V. Conclusion

Ce travail a examiné l'activité antioxydante totale mesurée dans des extraits d'acétate d'éthyle (phase lipophile), aqueux (phase hydrophile) et méthanol avec deux techniques d'extraction (Eurotorax et macération) de différents organes de *C. mixtus* et *M. chamomilla*.

Les résultats ont montré que l'extraction des racines par macération utilisant le méthanol a permis d'obtenir la meilleure activité en utilisant le test de piégeage des radicaux ABTS pour les deux plantes. Par contre, pour les extraits de deux phases (lipophile et hydrophile) obtenus de l'extraction par l'Eurotorax, les résultats des deux plantes ont montré que l'AAH était la plus dominante dans le test ABTS, alors que l'AAL a représenté la majorité de l'AAT pour la plupart des organes testés par DPPH.

Entre les extraits de *M. chamomilla* et *C. mixtus,* on a en général rapporté une meilleure activité antioxydante avec les extraits de *C. mixtus*.

De plus, les teneurs totales en composés phénoliques et en flavonoïdes des deux plantes sont également très pertinentes. Par conséquent, on peut conclure que *C. mixtus* et *M. chamomilla* sont riches en contenus phénoliques et flavonoïdes et ont une forte activité antioxydante, principalement dans les fleurs. Les résultats de l'analyse de corrélation montrent que les teneurs en phénols et en flavonoïdes des deux plantes sont les principaux facteurs influençant l'activité antioxydante.

Cette étude suggère que les deux plantes présentent des bioactivités intéressantes liées à la santé, mais des recherches plus spécifiques devraient être réalisés pour déterminer les applications thérapeutiques et alimentaires d'intérêt.

Chapitre III : Activité antimicrobienne des extraits des plantes sélectionnées du Nord du Maroc

I. Introduction

Au cours des dernières décennies, il y a eu une augmentation du nombre des infections humaines graves chez les patients immunodéprimés causées par des champignons (Pfaller et al., 2006). Le degré de gravité de ces infections est une conséquence de la réaction de l'hôte aux produits métaboliques produits par les champignons, de la virulence de la souche infectante, du site de l'infection et également des facteurs environnementaux (Romani, 2007). De nos jours, l'impact croissant de ces infections, les limites rencontrées dans leur traitement (par exemple, résistance, effets secondaires et toxicité élevée) et la sur-prescription croissante et la surutilisation des antifongiques conventionnels (Pérez-Parra et al., 2009) poussent tous à la recherche d'alternative naturelle.

Également, l'émergence de bactéries résistantes aux médicaments et le déclin de la découverte de nouveaux antibiotiques ont créé une crise sanitaire mondiale en raison des options de traitement limitées. Ainsi, il existe un besoin crucial de trouver de nouveaux agents antibactériens efficaces comme alternatives aux antibiotiques (Kasra-Kermanshahi et al., 2015). Par conséquent, la nécessité de développer de nouveaux traitements alternatifs contre les infections fongiques et bactériennes est mise en évidence (Tang et al., 2018).

Les herbes et les produits dérivés de plantes ont une longue histoire d'utilisation sûre en tant que produits naturels dans le traitement de diverses maladies (Rizwana et al., 2016).

Les activités antimicrobiennes des produits naturels ont attiré beaucoup d'attention en raison de l'incidence croissante des agents pathogènes devenus résistants aux médicaments (Seyedjavadi et al., 2019).

Dans ce travail, une étude a été faite pour tester les propriétés antimicrobiennes (fongique et bactérienne) des extraits de *C. mixtus* et *M. chamomilla* contre cinq micro-organismes pathogènes humains, dont deux souches bactériennes Gram-négatives et Gram-positives (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, respectivement) et trois souches fongiques (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Trichophyton rubrum*).

II. Matériel et méthodes

1. Appareillage et outils

- Euroturrax T20 (IKA, Allemagne).
- Poste de sécurité biologique de classe II SCANLAF MARS (LABOGENE, Scandinave).
- Spectrophotomètre Densimat de Bio-Mérieux (Marcy l'Etoile, France).
- Microscope binoculaire ().

2. Réactifs

- Euroturrax T20 (IKA, Allemagne).
- DMSO (Sigma, Darmstadt, Allemagne).
- Glycérol (Thermo Fisher Scientific, Walthem, MA, USA).
- Gélose Sabouraud dextrose (SDA) de Bio-Mérieux (Marcy L'Etoile, France).
- Bouillon RPMI-1640 de Biochrom AG (Berlin, Allemagne).
- Bouillon de Mueller-Hinton (Berlin, Allemagne)

3. Les extraits végétaux utilisés

Dans ce chapitre, nous avons utilisé les extraits méthanoliques de différentes parties des plantes de *C. mixtus* et *M. chamomilla* qu'on a déjà préparé pour déterminer la composition (voir chapitre I).

4. Souches testées

L'activité antimicrobienne des extraits méthanolique de *M. chamomilla* et *C. mixtus* a été testée contre cinq micro-organismes pathogènes humains. On a choisi deux souches bactériennes (*E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 25923) et trois souches fongiques (*C. albicans* ATCC 10231, *A. fumigatus* ATCC 46645 et *T. rubrum* FF5) (**Tableau 39**).

Les microorganismes fongiques ont été conservés dans un bouillon dextrose Sabouraud (SDB) avec 20% de glycérol à - 80 °C et recultivées dans la gélose Sabouraud dextrose (SDA) ou la gélose pomme de terre dextrose (PDA) avant chaque test. Les deux souches bactériennes ont été conservées dans le bouillon Mueller-Hinton (MHB) avec 15% de glycérol à -80 °C et repiquées dans la gélose Mueller-Hinton (MHA) avant chaque test.

Tous les micro-organismes utilisés dans cette étude appartenaient au Laboratoire de Mycologie, Faculté de Pharmacie, Université de Porto (Portugal), où tous les tests de sensibilité ont été effectués. L'étude antimicrobienne a été faite aussi au sein du même laboratoire.

Tableau 39:Souches pathogènes humaines utilisées et leurs origines.

Micro-organismes	Famille	Origine
	Souches bactériennes	
Gram négative		
Escherichia coli ATCC 25922	Enterobacteriaceae	Urines
Gram positive		
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Staphylococcaceae	Urines
	Souches fongiques	
Levure		
Candida albicans ATCC 10231	Saccharomycetaceae	Muqueuses, peau et intestin
Moisissure		
Aspergillus fumigatus ATCC 46645	Trichocomaceae	Nature (sol, matière organique en décomposition, air, etc.)
Dermatophyte		
Trichophyton rubrum FF5	Arthrodermataceae	Ongles et peau

5. Evaluation de l'activité antimicrobienne

5.1. Technique de micro-dilution et préparation de l'inoculum

L'activité antimicrobienne des extraits de *M. chamomilla, C. mixtus* et témoins a été déterminée à l'aide de la méthode de micro-dilution en bouillon recommandée par l'institut des normes cliniques et du laboratoire (Clinical and Laboratory Standard Institute, CLSI M07-A8, bactéries ; M27-A3, levures ; M38-A2, champignons filamenteux) avec quelques modifications. Brièvement, Les extraits de plantes dissous dans une solution de 25 % de diméthylsulfoxyde (DMSO) en formant une solution mère. Puis, dans des tubes Eppendorf, une série de dilutions au double a été préparée dans le bouillon de Mueller-Hinton pour les bactéries et dans le milieu de bouillon RPMI-1640 pour les champignons pour obtenir différentes concentrations (**Figure 47**). L'inoculum de champignons et de bactéries ont été préparé dans de l'eau physiologique et standardisé par méthode spectrophotométrique.

Un volume de 100 µL de chaque concentration ont été transférés dans une microplaque à 96 puits, suivis de 100 µL de l'inoculum microbien final (1 à 2×10^5 UFC/mL pour les bactéries, 1 à 5×10^3 UFC/mL pour les levures, 0,4 à 5×10^4 UFC/mL pour Aspergillus et 1 à 3×10^3 UFC/ml pour le dermatophyte), qui avaient été préparés par dilution dans du MHB frais

pour les bactéries et du RPMI-1640 pour les champignons (**Figure 48**). Les microplaques ont ensuite été incubées en aérobie à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et 48 h pour *Candida* et *Aspergillus*, et pendant 7 jours à 25 °C pour l'isolat de dermatophyte.

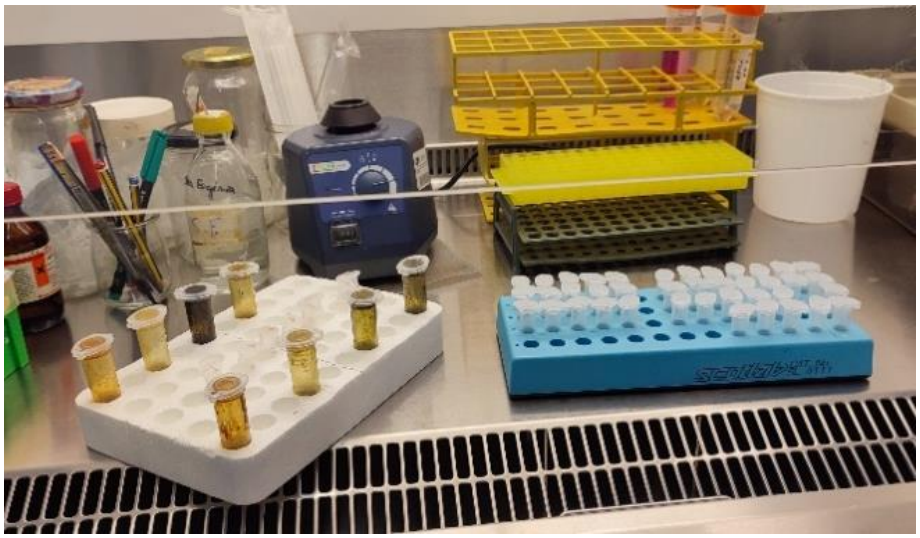


Figure 47:Préparation des inoculums microbiens dans des conditions stériles.

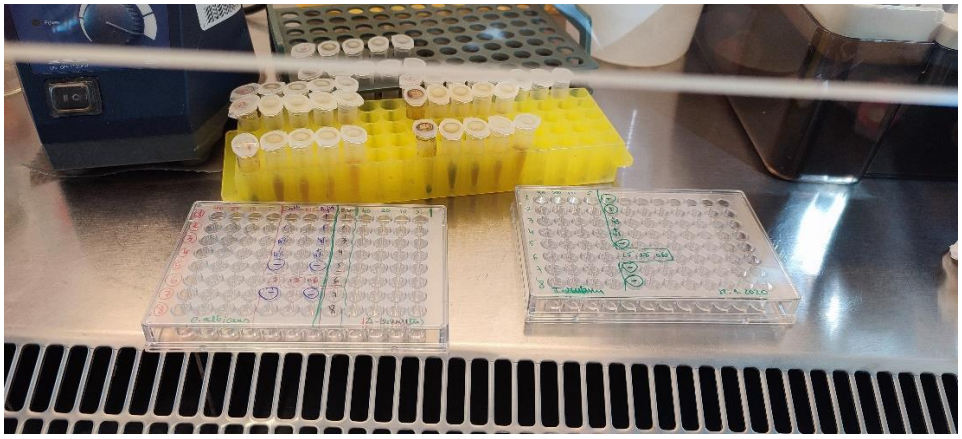


Figure 48:Préparation des plaques de la technique de micro-dilution.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été évaluée par rapport aux microorganismes testés selon la méthode de référence recommandée par le CLSI (CLSI, 2008, 2009). La concentration la plus faible visible (confirmée au microscope binoculaire) a été définie comme la CMI. Nous avons utilisé la gentamicine et le voriconazole comme des contrôles positifs.

- *Gentamicine* : c'est un antibiotique de la famille des aminoglycosides utilisé pour traiter divers types d'infections bactériennes.
- *Voriconazole* : c'est un médicament antifongique utilisé pour traiter un certain nombre d'infections fongiques y compris l'aspergillose, la candidose et autres.

5.1. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) et la concentration minimale fongicide (CMF)

Un volume de 10 µL des puits sans turbidité et n'ayant pas montré de croissance microbienne a été prélevé et étalé sur une boite de Pétri contenant le milieu de MHA pour les bactéries et de SDA pour les champignons (**Figure 49**). Ensuite, les boites étalées ont été incubées à 37°C pendant 24h. La CMB et la CMF correspond à la plus petite concentration n'ayant montré aucune croissance des microorganismes testés sur les milieux MHA et SDA.

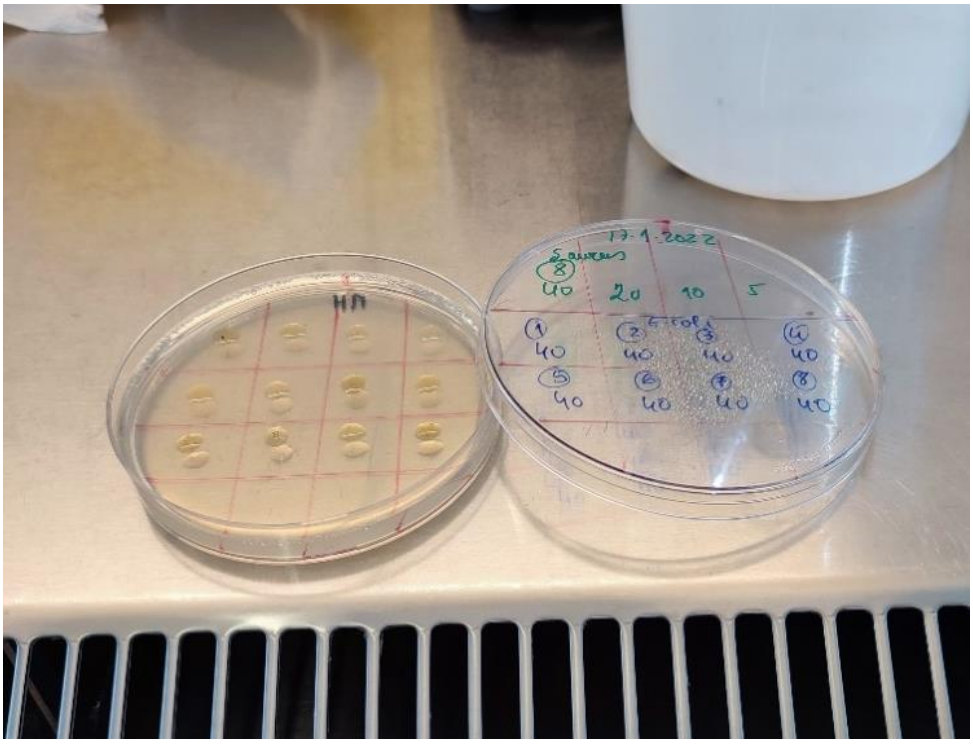


Figure 49:Technique de détermination de CMB et CMF.

III. Résultats

1. Activité antibactérienne des extraits méthanoliques

1.1. Les extraits de *Cladanthus mixtus*

L'activité antibactérienne des extraits de *C mixtus* a été étudiée *in vitro*. Les quatre extraits ont été testés contre deux souches bactériennes Gram-positives et Gram-négatives et les valeurs CMI et CMB ont été déterminées (**tableau 40**).

Les extraits ont montré une activité antibactérienne contre *S. aureus* et *E. coli*. Les résultats ont montré que *S. aureus* était la plus sensible à l'extrait des feuilles (CMI = CMB = 20 mg/mL) et à l'extrait des fleurs (CMI = CMB = 32 mg/mL). Les extraits de tiges et de racines étaient également actifs contre *S. aureus* présentant des valeurs de CMI et de CMB de 40 mg/mL. Pour *E. coli*, l'extrait des feuilles a présenté la meilleure activité, avec une valeur de

CMI de 30 mg/mL et CMB de 35 mg/mL. Les autres extraits des racines, tiges et fleurs ont montré une activité contre *E. coli* avec une valeur de CMI et CMB de 40 mg/mL. Entre les deux souches testées, *S. aureus* était plus sensible aux extraits comparés à *E. coli*.

En comparant l'activité antimicrobienne de l'extrait avec celle d'un antibiotique de référence (gentamicine), la différence de puissance s'est avérée très significative : la gentamicine est beaucoup plus efficace et a des valeurs de CMI et CMB inférieures allant de 0,33 à 2 µg/mL et de 32 à 64 µg/mL, respectivement.

Tableau 40:Résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de *Cladanthus mixtus* et d'un agent antibiotique de référence.

	Gram-positive		**Gram-négative**	
	Staphylococcus aureus		***Escherichia coli***	
	CMI	**CMB**	**CMI**	**CMB**
Racines	40,00±0,00	40,00±0,00	40,00±0,00	40,00±0,00
Tiges	40,00±0,00	40,00±0,00	40,00±0,00	>40,00
Feuilles	20,00±0,00	20,00±0,00	30,00±10,00	35,00±8,66
Fleurs	32,00±9,80	32,00±9,80	40,00±0,00	40,00±0,00
Gentamicine	0,33±0,11	32,00±1,63	2,00± 0,00	64,00±3,26

Les valeurs sont la moyenne ± écart-type, exprimées en mg/mL pour les extraits et en µg/mL pour la gentamicine.

1.2. Les extraits de *Matricaria chamomilla*

L'extraction méthanolique de *M. chamomilla* a montré une activité antimicrobienne importante contre les deux souches bactériennes Gram-positive (*S. aureus)* et Gram-négative (*E. coli)*. Les résultats de la CMI et CMB sont rapportés dans le **tableau 41**.

D'une manière générale, l'extrait des fleurs a été le plus actif contre *S. aureus*, présentant les CMI et CMB les plus basses (2,50 et 6 mg/mL, respectivement). *S. aureus* était sensible aussi aux extraits des feuilles, tiges et racines avec des valeurs de CMI de 6,88 ; 6,67 et 40, respectivement et des valeurs de CMB de 15 ; 21,25 et 40 mg/mL, respectivement. Nous avons observé que tous les extraits de *M. chamomilla* ont présenté une importante activité bactéricide, étant capables de tuer *S. aureus* à des concentrations allant de 6 à 40 mg/mL.

Les extraits ont aussi présenté une activité bactéricide contre le germe Gram-négative. Dans ce cas, l'extrait le plus active contre *E. coli* était l'extrait de feuilles (CMI = CMB = 35 mg/mL). Les autres extraits ont aussi marqué un effet bactéricide avec une même valeur de CMI et CMB (40 mg/mL). En comparant l'activité antimicrobienne de l'extrait avec celle d'un

antibiotique de référence (gentamicine), la différence de puissance s'est avérée très significative : la gentamicine est beaucoup plus efficace et a des valeurs CMI et CMB inférieures allant de 0,33 à 64 µg/mL, respectivement.

Tableau 41:Résultats de l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques de *Matricaria chamomilla* et d'un agent antibiotique de référence.

	Gram positive		**Gram négative**	
	Staphylococcus aureus		***Escherichia coli***	
	CMI	**CMB**	**CMI**	**CMB**
Racines	40,00±0,00	40,00±0,00	40,00±0,00	40,00±0,00
Tiges	6,67±2,36	21,25±12,44	40,00±0,00	40,00±0,00
Feuilles	6,88±2,42	15,00±5,00	35,00±8,66	35,00±8,66
Fleurs	2,50±1,16	6,00±3,39	40,00±0,00	40,00±0,00
Gentamicine	0,33±0,11	32,00±1,63	2,00±0,00	64,00±3,26

Les valeurs sont la moyenne ± écart-type, exprimées en mg/mL pour les extraits et en µg/mL pour la gentamicine.

2. Activité antifongique des extraits méthanoliques

2.1. Les extraits de *Cladanthus mixtus*

La CMI et la CMF pour les extraits méthanoliques de *C. mixtus* contre trois souches pathogènes fongiques sont présentées dans le **tableau 42.** Les trois espèces pathogènes fongiques ont été testées à des concentrations allant de 1,25 à 40 mg/mL.

Les résultats montrent que les extraits de *C. mixtus* semblent moins efficaces contre *C. albicans* et *A. fumigatus* que contre *T. rubrum*. La moisissure *A. fumigatus* était la plus résistante à tous les extraits testés, avec CMI et CMF > 40 mg/mL. Contre *C. albicans,* le meilleur résultat a été rapporté par l'extrait des tiges, avec CMI = 40 mg/mL et CMF > 40 mg/mL, alors que les autres extraits ont montré une CMI et CMF > 40 mg/mL. Contre la souche *T. rubrum,* tous les extraits ont montré une activité antifongique, avec la meilleure efficacité rapportée par les extraits de fleurs et de feuilles (CMI=1,25 mg/mL, CMF = 2,5 mg/mL). Les extraits de racines et de tiges ont aussi montré une activité antifongique avec des valeurs de CMI=2,5 mg/mL et CMF = 5 mg/mL pour les racines et CMI = 3,57 mg/mL et CMF = 6,67 mg/mL pour les tiges. Comparée à celle de l'antifongique de référence, le voriconazole, la différence d'activité s'est avérée très significative : ce dernier était beaucoup plus puissant que l'extrait, avec des valeurs de CMI et CMF entre 0,12 et 0,25 µg/mL et 0,66 et 4 µg/mL, respectivement.

Tableau 42:Résultats de l'activité antifongique des extraits méthanoliques de *Cladanthus mixtus* et d'un antifongique de référence.

	Candida albicans		***Trichophyton rubrum***		***Aspergillus fumigatus***	
	CMI	**CMF**	**CMI**	**CMF**	**CMI**	**CMF**
Racines	>40	>40	2,5±0,00	5,00±0,00	>40	>40
Tiges	40,00±0,00	>40	3,57±1,24	6,67±2,36	>40	>40
Feuilles	>40	>40	1,25±0,00	2,5±0,00	>40	>40
Fleurs	>40	>40	1,25±0,00	2,5±0,00	>40	>40
Voriconazole	0,25±0,00	4,00±0,00	0,12±0,00	1,66±0,47	0,25±0,00	0,66±0,23

Les valeurs sont la moyenne ± écart-type, exprimées en mg/mL pour les extraits et en µg/mL pour le voriconazole.

2.2. Les extraits de *Matricaria chamomilla*

Les résultats du dépistage antifongique des extraits de plante de *M. chamomilla* sont présentés dans le **tableau 43.** Tous les extraits ont montré un effet fongicide important sur *T. rubrum*. Les valeurs de CMI et la CMF de l'extrait de fleurs, de feuilles et de tiges ont été déterminées à des concentrations de 1,25 et 2,5 mg/mL, respectivement. L'extrait de racines a démontré une CMI de 2,5 mg/mL et une CMF de 5 mg/mL.

Contre *C. albicans,* l'extrait de fleurs a montré la meilleure activité, avec des valeurs CMI et CMF de 5,94 et > 40 mg/ mL, respectivement. L'extrait de racine a montré une CMI = 40 mg/ mL et CMF > 40 mg/ mL, alors que les autres extraits semblent être moins actifs contre *C. albicans* (CMI et CMF > 40 mg/mL). Les résultats ont aussi montré que la souche *A. fumigatus* était plus résistante à tous les extraits (CMI et CMF > 40 mg/mL).

Comparée à celle d'un antifongique de référence (le voriconazole), la différence d'activité s'est avérée très significative : le voriconazole était beaucoup plus puissant que l'extrait, ses CMI et CMF variaient de 0,12 à 4 µg/mL.

Tableau 43:Résultats de l'activité antifongique des extraits méthanoliques de *Matricaria chamomilla* et d'un antifongique de référence.

	Candida albicans		***Trichophyton rubrum***		***Aspergillus fumigatus***	
	CMI	**CMF**	**CMI**	**CMF**	**CMI**	**CMF**
Racines	40,00±0,00	>40	2,5±0,00	5,00±0,00	>40	>40
Tiges	>40	>40	1,25±0,00	2,5±0,00	>40	>40
Feuilles	>40	>40	1,25±0,00	2,5±0,00	>40	>40
Fleurs	5,94±2,48	>40	1,25±0,00	2,5±0,00	>40	>40
Voriconazole	0,25±0,00	4,00±0,00	0,12±0,00	1,66±0,47	0,25±0,00	0,66±0,23

Les valeurs sont la moyenne ± écart-type, exprimées en mg/mL pour les extraits et en µg/mL pour le voriconazole.

IV. Discussion

Ces dernières années, une augmentation de la résistance aux antibiotiques et l'émergence de bactéries résistantes aux médicaments ont nécessité des efforts pour trouver de nouveaux agents antimicrobiens. Des études récentes se sont concentrées sur les herbes et les produits dérivés de plantes en tant que source de substances antimicrobiennes naturelles et ont principalement rapporté leur efficacité contre diverses bactéries pathogènes responsables de différentes maladies infectieuses (Hintz et al., 2015).

Dans cette étude, l'activité antibactérienne des extraits méthanoliques des fleurs, des feuilles, des tiges et des racines de *M. chamomilla* et *C. mixtus* a été testée contre les souches *S. aureus* et *E. coli*s isolés à partir des échantillons cliniques. Les résultats ont démontré que les extraits de *M. chamomilla* et *C. mixtus* ont présenté une importante activité bactéricide, étant capables de tuer *S. aureus* et *E. coli* à des concentrations de CMB allant de 6 à 40 mg/mL.

Dans notre étude, on a trouvé que l'extrait des fleurs de *M. chamomilla* a donné le meilleur résultat contre la souche *S. aureus* (CMI = 2,5 mg/mL et CMB = 6 mg/mL), suivi par l'extrait des feuilles (CMI = 6,88 mg/mL et CMB = 15 mg/mL). L'étude actuelle est en accord avec les recherches menées par Ahani Azari et Danesh (2021), sur l'extrait éthanolique de fleurs et des feuilles de *M. chamomilla.* En effet, ils ont aussi trouvé que l'extrait des fleurs avait la plus forte activité antibactérienne contre la plupart des isolats de *S. aureus* MRSA (CMI et CMB de 6,25 et 12,5 mg/mL, respectivement), suivi de l'extrait des feuilles (CMI et CMB de 12,5 et 25 mg/mL, respectivement).

Aussi, on a trouvé que l'extrait des feuilles de *M. chamomilla* a donné la plus forte activité antibactérienne contre *E. coli* (CMI = CMB = 35 mg/mL), alors que les autres organes ont tous montré la même activité.

Cependant, Carvalho et al. (2014) ont rapporté que l'extrait éthanolique et de cyclohexane de fleurs de *M. chamomilla* n'avait aucun effet contre *E. coli*. Par contre nos extraits méthanoliques ont montré une activité contre *E. coli.* Les feuilles des deux plantes ont donné les bons résultats. Une autre étude a montré que l'extrait méthanolique de feuilles de *M. chamomilla* d'Inde a donné des CMI significatives (0.156 mg/mL) contre *Propionibacterium acnes,* mais aucune inhibition n'a été montrée contre *S. aureus* et *E. coli* (Vora et al., 2018).

Entre les deux souches choisies dans notre étude, *S. aureus* était plus sensible à l'action des extraits de *M. chamomilla* comparé à *E. coli*. Ceci était en accord avec les résultats de Roby et al. (2013) sur l'extrait méthanolique des fleurs de *M. chamomilla* d'Egypte. En effet, ils ont aussi trouvé que *S. aureus* était plus sensible à l'extrait (CMI = 12,5 µg/mL) comparé à *E. coli* (CMI = 15 µg/mL). Une autre étude sur l'extrait éthanolique de *M. chamomilla* de l'Irak a

rapporté des valeurs de CMI et CMB de 16 mg/mL pour *S. aureus* (NCIM 2243) et de 32 mg/mL pour *E. coli* (ATCC 25922) (Alkuraishy et al., 2015).

Généralement, les extraits sont plus efficaces contre les bactéries Gram-positives que les Gram-négatives. Cette différence de sensibilité est due à une mauvaise perméabilité de la membrane cellulaire externe contenant des lipopolysaccharides hydrophiles chez les bactéries Gram-négatives. Cette membrane joue le rôle d'une barrière vis-à-vis des macromolécules ainsi que des unités hydrophobes et limite la diffusion des composés hydrophobes dans le cytoplasme de la bactérie (Lambert, 2002 ; Yap et al., 2014 et 2015).

Cependant, l'extrait méthanolique des feuilles de *M. chamomilla* de Djibouti a montré une plus forte activité antibactérienne contre *E. coli* (CMI et CMB = 25 µg/mL) comparée à *S. aureus* (CMI et CMB = 100 µg/mL) (Abdoul-Latif et al., 2011).

L'activité antibactérienne des extraits d'éthanol, de méthanol et d'éther de pétrole de la partie aérienne de *M. chamomilla* commerciale du Soudan ont montré différents degrés d'activité antibactérienne contre les bactéries étudiées, alors que l'acétate d'éthyle n'a montré aucune activité antibactérienne évidente (Abdalla et Abdelgadir, 2016). Ceci montré l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antibactérienne, puisqu'il influence la nature des constituants phytochimiques extraits de la plante. Dans une autre étude, Ismail et al. (2013) ont rapporté que l'extrait aqueux des fleurs de *M. chamomilla* de l'Irak a montré un puissant effet inhibiteur contre *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus* sp. et *Klebsiella* sp.. Cependant, les extraits aqueux de la partie aérienne de *M. chamomilla* de l'Irak se sont révélés être un antibactérien moins puissant que les autres extraits des plantes testés (*Menthalongi folia* et *Salvia officinalis*) (Omran, 2018). Dans son étude, Apaza (2015) a évalué l'activité antimicrobienne de l'infusion de la fleur de *M. chamomilla* de Puno (2 %, 4 % et 8 %). Il a constaté que l'infusion n'a pas montré d'activité antibactérienne sur *S. mutans* ATCC 25175, ils ont expliqué ces résultats disant que les composés phénoliques responsables de ces propriétés ne sont pas à des concentrations adéquates, et il est suggéré de mener des études dans des infusions de *M. chamomilla* avec des concentrations plus élevées.

Il a été démontré que l'activité inhibitrice des bactéries est plus élevée lorsque des extraits de *M. chamomilla* sont incorporés à des nanoparticules d'argent en raison d'effets synergiques, d'une concentration localisée élevée d'extraits de *M. chamomilla* et d'une augmentation de la surface active (Dogru et al., 2017 ; Kareem, 2018).

Les extraits méthanoliques de *C. mixtus* ont aussi montré une activité antibactérienne contre les deux souches choisies, avec le meilleur résultat obtenu avec l'extrait des feuilles. Les

autres organes ont montré presque la même activité contre *E. coli,* alors que l'extrait de fleur était plus efficace contre *S. aureus* comparé aux autres extraits.

Une étude a montré que l'HE de la partie aérienne de *C. mixtus* du Maroc (région de Bouznika) a présenté une forte activité antimicrobienne contre *E. coli*, *S. aureus* et autres Gram-positif et Gram-négatif (Elouaddari et al., 2019). Ils ont également constaté que l'extrait méthanolique présentait une activité antimicrobienne modérée contre *S. aureus* et n'avait pas d'effet contre *E. coli*. D'un autre côté, l'extrait aqueux désodorisé n'avait pas d'effet inhibiteur contre les souches testées. Plusieurs études ont également rapporté que la partie aqueuse des extraits de différentes plantes de la famille des Astéracées ne présentait aucune activité antibactérienne (Candan et al., 2003 ; Sökmen et al., 2004).

L'HE de parties aériennes fraîches de *C. mixtus* algérien a montré une meilleure activité antibactérienne contre les souches d'*E. coli* (ATCC 25922) et de *S. aureus* (ATCC 43300) avec des valeurs de CMI de 32 et 64 µg/mL, respectivement (Tadrent et al., 2016). Dans une autre étude, l'HE des parties aériennes de *C. mixtus* et *Pelargonium asperum*, collectées dans la région de Taounate (Maroc), ont présenté une activité antimicrobienne (Ouedrhiri et al., 2018). Les résultats ont montré que toutes les souches Gram-positive et Gram-négative étaient sensibles à l'HE de *P. asperum*, tandis que l'HE de *C. mixtus* n'était active que contre les bactéries Gram-positive. Conformément aux résultats de cette étude, Formisano et al. (2012) ont trouvé que l'HE n'était pas active contre les souches Gram-négatives (CMI > 100 mg/mL), alors que l'HE extraite des parties aériennes a montré une activité antibactérienne contre les bactéries Gram-positives testées. En particulier, elle était active contre *S. aureus* et *S. faecalis* (CMI = 25 mg/mL), alors qu'elle était peu active contre *Bacillus cereus* (CMI = 50 mg/mL) et *B. subtilis* (CMI = 100 mg/mL).

Dans leur recherche, Zeroual et al. (2021) ont aussi étudier l'effet de divers solvants (avec différentes polarités) et de différentes techniques d'extraction sur l'activité antimicrobienne de *C. mixtus.* Les CMI des divers extraits (éthanol, acétate d'éthyle, méthanol et n-hexane) ainsi que de l'HE ont montré une large variabilité. Les plus grandes CMI ont été obtenues par les extraits de n-hexane, suivis de l'acétate d'éthyle, de l'éthanol et du méthanol contre tous les micro-organismes étudiés y compris *E. coli* et *S. aureus*. Par rapport aux quatre solvants utilisés, l'HE a montré les plus petites CMI contre toutes les souches bactériennes. Il convient de souligner que parmi les souches microbiennes, *E. coli* a présenté les hautes valeurs de CMI (activité antimicrobienne inférieure) pour l'HE (13,83 µg/mL) ainsi que l'extrait de méthanol (15,83 µg/mL), de l'éthanol (17 µg/mL), de l'acétate d'éthyle (18 µg/mL) et de n-hexane (20,83 µg/mL). En revanche, *S. aureus* avait la CMI la plus basse (activité

antimicrobienne plus élevée) pour l'HE (10,17 µg/mL) et l'extrait de méthanol (11,50 µg/mL). Ainsi, les résultats de cette étude ont montré que les paramètres d'extraction peuvent profondément modifier la composition de l'HE et de l'extrait et ainsi influencer leur activité antibactérienne.

Les résultats d'autre travaux ont démontré que les solvants de polarité plus élevée sont plus efficaces pour extraire les composés bioactifs (Cvetanović et al., 2015 : Metrouh-Amir et al., 2015) et, par conséquent, montrent la capacité d'inhiber la croissance microbienne à des concentrations plus faibles (CMI inférieure). Vue la littérature, nous avons choisi l'utilisation de méthanol comme un solvant d'extraction dans la présente étude, qui a suggéré une grande efficacité contre une variété de souches fongiques et bactériennes.

Les études menées sur les extraits de camomille ont montré une variation de l'activité antibactérienne, qui pourraient être attribuées à certains facteurs comme la saison de récolte, l'emplacement géographique des plantes, la méthode d'extraction, la concentration de l'extrait, et la partie de la plante utilisée (Sharifi-Rad et al., 2018 ; Izadi et al., 2013).

Comme la résistance antifongique augmente avec les fongicides, principalement avec les infections à *Aspergillus* et *Candida* (Arif et al., 2009).

Dans notre étude, on a aussi testé l'activité antifongique des extraits méthanoliques de *C. mixtus* et *M. chamomilla* contre trois souches fongiques *: C. albicans, A. fumigatus* et *T. rubrum.*

Les résultats ont montré que les extraits de *C. mixtus* étaient moins efficaces contre *C. albicans* et *A. fumigatus* (CMI et CMF > 40 mg/mL) que *T. rubrum.* Contre ce dernier, les extraits de fleurs et de feuilles étaient les plus efficaces (CMI=1,25 mg/mL, CMF = 2,5 mg/mL), suivis de l'extrait de racines et de tiges.

Dans leur étude, Zeroual et al. (2021) ont trouvé que les extraits de méthanol avaient la plus forte activité contre *C. albicans* (CMI = 11,17 µg/mL), suivis des extraits d'acétate d'éthyle (CMI =14,83 µg/mL) et de n-hexane (CMI =16 µg/mL). Ceci confirme l'effet de la technique d'extraction sur l'activité antifongique.

Les extraits de *M. chamomilla* ont montré aussi des meilleurs résultats contre *T. rubrum.* Les trois organes, fleurs, feuilles et tiges, ont montré la même activité (CMI= 1,25 mg/mL et CMF = 2,5 mg/mL) suivis des extraits de racines. D'un autre côté, *C. albicans* a montré une sensibilité à l'extrait de fleurs de *M. chamomilla* avec des valeurs CMI et CMF de 5,94 et > 40 mg/ mL, respectivement. Les autres extraits de *M. chamomilla* semblent être moins actifs contre *C. albicans* (CMI et CMF > 40 mg/mL), l'extrait de racine a été le plus actif (CMI =40 40

mg/mL). Comme pour *C. mixtus*, *A. fumigatus* était la plus résistante à tous les extraits de *M. chamomilla* (CMI et CMF > 40 mg/mL).

Abdoul-Latif et al. (2011) ont évalué l'activité antifongique de l'extrait méthanolique et de l'HE de feuilles de *M. chamomilla* de la République de Djibouti contre *C. albicans*, *Aspergillus* sp. et *A. niger*, en tant que des espèces de champignons pathogènes dans le corps humain. Selon les résultats, l'HE et l'extrait de méthanol ont efficacement inhibé la croissance des espèces fongiques. *Aspergillus* sp. et *A. niger* ont été sensibles à l'extrait méthanolique avec une CMI de 200 et 100 µg/mL, respectivement, et CMF = 200 et 100 µg/mL, respectivement. L'extrait était également plus actif contre la souche d'origine clinique et la référence *C. albicans* (ATCC 10231) (CMI=CMF = 100 µg/mL). L'HE était plus efficace que l'extrait contre *Aspergillus* sp. (CMI = 16 µg/mL, CMF > 16 µg/mL), *A. niger* (CMI = CMF = 2 µg/mL) et *C. albicans* d'origine clinique (CMI = CMF = 2 µg/mL) et la référence (CMI = CMF = 1 µg/mL).

Dans un autre rapport, l'activité antifongique de la partie aérienne (feuilles et fleurs) de *M. chamomilla* de la région de Boumerdes (nord-est d'Alger) a été étudiée pour des extraits (aqueux, méthanol et chloroforme) contre *C. albicans* et *Fusarium* sp. Les résultats ont montré que les extraits n'avaient aucun effet sur les souches fongiques testées (Boudıeb et al., 2018).

Roby et al. (2013) ont testé l'activité antifongique des fleurs de *M. chamomilla* dans quatre extraits (méthanol, éthanol, éther diéthylique et hexane) à différentes concentrations contre *A. flavus* (ATCC 16875) et *C. albicans* (ATCC 10231) en utilisant la technique de microdilution. Le résultat a révélé que l'extrait méthanolique avait l'effet le plus élevé en tant qu'activité antimicrobienne que les autres, en inhibant la croissance de *C. albicans* (CMI = 10 µg/mL) et *A. flavus* (CMI = 12,5 µg/mL).

Dans une autre étude, l'HE des fleurs de *M. chamomilla* n'avait aucun effet inhibiteur contre toutes les souches de *Trichophyton* et *Aspergillus* (Mekonnen et al., 2016). Comparant ces résultats avec nos résultats, tous les extraits méthanoliques que ça soit de *M. chamomilla* ou de *C. mixtus* ont donné des très bons résultats contre *Trichophyton rubrum.*

The antimicrobial effect of *M. chamomilla* extract and essential oil against a range of bacteria and fungi has been investigated and confirmed (Das et al., 2019; Jarrahi et al., 2010; Stanojevic et al., 2016).

En conséquence, on peut déduire de nos résultats que les extraits des deux plantes ont montré une activité antibactérienne et antifongique. Cela peut être expliqué par leur composition chimique riche en molécules de plusieurs natures. Les extraits des deux plantes *C. mixtus* et *M. chamomilla* sont très riche en acides phénoliques et flavonoïdes. Ils sont très riches aussi en terpènoides, acides gras, organiques, esters et cétones.

Les phénols et les composés phénoliques présentent une activité antibactérienne contre plusieurs bactéries. La majorité des composés phénoliques sont des stilbènes, des flavonoïdes, des proanthocyanidines, des acides phénoliques et des lignanes qui sont biosynthétisés par la voie des phénylpropanoïdes (Metsämuuronen et Sirén, 2019). À ce jour, les flavonoïdes, en particulier les catéchines, ont été largement étudiés et souvent liés à leurs propriétés antimicrobiennes et liés aux interactions avec la membrane cellulaire chez les bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Górniak et al., 2019). Il a été démontré que les catéchines rompent la membrane bactérienne en se liant à la bicouche lipidique et en inactivant ou en inhibant la synthèse des enzymes intracellulaires et extracellulaires (Reygaert, 2014). Par ailleurs, des études récentes utilisant des modèles cellulaires ont mis en évidence l'activité pro-oxydante de plusieurs polyphénols déjà connus comme antioxydants. Fathima et Rao (2016) ont rapporté que le mode d'action des catéchines sur les bactéries s'est avéré être une explosion oxydative par la génération des ROS qui provoquent une altération de la perméabilité membranaire et des dommages à la membrane.

La quercétine et l'apigénine sont parmi les flavonoïdes les plus étudiés connus pour leurs activités antibactériennes (Wu et al., 2008). L'apigénine est l'un des flavonoïdes monomères les plus courants trouvés dans la camomille, ce qui est conforme à nos résultats. Il a une activité notable contre les infections microbiennes et bactériennes, en induisant des ROS dans la cellule bactérienne et en provoquant des dommages à l'ADN et une perturbation de la paroi cellulaire. De plus, il peut bloquer les protéines intracellulaires et les toxines qui sont libérées par la cellule bactérienne (Abid et al., 2022).

Wang et al. (2018) ont remarqué que la quercétine provoque une activité bactériostatique puissante contre différentes souches de bactéries, telles que *Salmonella enterica sérotype Typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Micrococcus luteus*, *Campylobacter jejuni* et *E. coli.* Cette molécule était plus efficace contre les bactéries Gram-positives comparé aux bactéries Gram-négatives. De plus, la quercétine a révélé les activités antifongiques les plus fortes contre *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus niger* (Osonga et al., 2019). D'autre part, les flavonols quercétine et rutine (quercétine-3-O-rhamnoglucoside) diminuaient l'épaisseur de la bicouche membranaire des bactéries, et la rutine perturbait la structure monocouche lipidique (Sanver et al. 2016).

Tsuchiya et Iinuma (2000) ont rapporté que le flavanone naringénine a une activité antibactérienne contre les MRSA. Ils ont également remarqué que l'effet antibactérien de ce

flavonoïde est causé par la réduction de la fluidité dans les régions hydrophiles et hydrophobes de la membrane cellulaire interne et externe.

Tripleurospermum disciforme (connu sous le nom commun Mayweed), utilisé comme désinfectant et dans le traitement de certaines maladies dans la médecine populaire iranienne, contient une abondance de flavonoïdes, notamment l'apigénine, le kaempférol, la lutéoline, la quercétine et leurs glycosides respectifs (Tofighi et al., 2015).

Les acides phénolique *p*-coumarique, caféique, férulique et chlorogénique isolés de l'extrait de baies ont montré une activité contre *E. coli* et *Salmonella enterica* (Puupponen-Pimiä et al., 2001). En outre, l'acide protocatéchuique a été isolé des parties aériennes de *Centaurea spruneri* pour des tests d'activité antibactérienne (Ćirić et al., 2011). Leurs valeurs de CMI et CMB contre *B. cereus*, *Micrococcus flavus*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* et *S. typhimurium* étaient comprises entre 100 et 400 mg/ L.

Des études ont révélé que d'autres composés phénoliques ont une activité antimicrobienne comme l'acide gallique (Naz et al., 2007 ; Silva et al., 2010) et l'acide *p*-hydroxybenzoïque (Elegir et al., 2008). Aussi, Savic et al. (2018) ont reporté les propriétés antimicrobiennes de l'acide ellagique (tanins).

Les résultats du présent travail ont démontré que divers extraits de *C. mixtus* et *M. chamomilla* présentent de bonnes activités antimicrobiennes. La production de ces composants bioactifs à partir des différents organes des deux plantes et leur utilisation en tant que conservateurs naturels potentiels pourraient avoir une valeur économique importante. Outre ses utilisations traditionnelles, ils pourraient être explorés pour d'éventuelles applications dans les aliments fonctionnels et les nutraceutiques. Par conséquent, les extraits des matières végétales étudiées pourraient être recommandés comme source de matières pharmaceutiques nécessaires à la préparation de nouveaux agents antimicrobiens. La plupart des activités antibactériennes des composés comprenant les acides gras sont dues à la présence de groupements hydroxyles libres (Laekeman et al., 1990) ayant différents mécanismes d'action contre les bactéries. Alors que certains composés antibactériens peuvent agir comme inhibiteurs de la biosynthèse de la paroi cellulaire (Olasupo et al., 2004), des protéines (Yoon et al., 2018) ou des fonctions membranaires (Devi et al., 2013 ; Biasi-Garbin et al., 2015), d'autres inhibent la synthèse des acides nucléiques (Jin, 2008), les voies métaboliques (Devi et al., 2013 ; Galbraith et Miller, 1973) et l'ATP synthase (Cushnie et Lamb, 2005).

L'extrait de *C. mixtus* le plus actif était l'extrait des fleurs, formé par des acides gras comme (Z)-18-octadec-9-enolide. Ce dernier était significativement présent dans la plante *Imperata cylindrica,* qui était active contre les bactéries *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *B.*

subtilis (Lalthanpuii et al., 2019). Les acides gras sont des métabolites actifs et responsables de diverses propriétés médicinales, comme l'acide palmitique présentant une activité antibactérienne et antifongique (Chandrasekaran et al., 2011) et l'acide stéarique présentant une activité antimicrobienne (Rahuman et al., 2000).

Nous avons trouvé d'après l'analyse GC-MS que l'éicosane était le plus présent parmi les alcanes dans les extraits des fleurs *M. chamomilla* et des fleurs et feuilles de *C. mixtus*. Dans des études antérieures, l'éicosane a déjà été identifié comme un métabolite végétal qui a une activité pharmacologique, notamment antifongique (Ahsan et al., 2017), antibiofilm contre *C. albicans* (Shafreen et al., 2022) et antivirale (Chathuranga et al., 2021).

Puis, l'acide L-(+) -ascorbique 2, 6 dihexadécanoate possède des propriétés antibactériennes (Botzki et al., 2004). Egalement, l'acide stéarique (Rahuman et al., 2000) et le 1-tétracosanol (alcool) (Faridha et al., 2016) ont des activités antimicrobiennes. L'acétate d'artémisyle a été détecté dans l'extrait des feuilles de *C. mixtus*. C'est un composé antimicrobien inhibiteur des champignons (Menon et Thakker, 2020).

Des recherches ont rapporté l'activité antimicrobienne des terpénoïdes extraits des plantes (Barrero et al., 2005 ; Duraipandiyan et al., 2012). On a trouvé que nos plantes sont très riches en terpénoïdes, parmi lesquels le diterpènes phytol, ayant une activité antimicrobienne (Krishnamoorthy et Subramaniam, 2014), et l'eucalyptol (Mączka et al., 2021 ; Babu et Jayaraman, 2020). Le β-sitostérol a été détecté dans l'extrait des fleurs de *C. mixus* et l'extrait des racines de *M. chamomilla.* Il a aussi montré des propriétés antimicrobiennes (Babu et Jayaraman, 2020).

V. Conclusion

Les résultats ont révélé une forte activité des extraits de plantes sur la croissance des micro-organismes.

Les extraits de *C. mixtus* ont également montré une activité antibactérienne contre *S. aureus* et *E. coli*. Les résultats ont montré que la souche *S. aureus* était la plus sensible à l'extrait des feuilles et à l'extrait des fleurs.

Les extraits de *C. mixtus* semblent moins efficaces contre *C. albicans* et *A. fumigatus* que contre *T. rubrum*. Tous les extraits ont montré des propriétés antifongiques contre la souche *T. rubrum*. Les extraits de fleurs et de feuilles étaient les plus efficaces.

L'extrait de fleurs de *M. chamomilla* a donné le meilleur résultat contre la souche *S. aureus,* alors que l'extrait des feuilles était le plus actif contre *E. coli*.

Tous les extraits méthanoliques de *M. chamomilla* ont un effet fongicide important sur le *T. rubrum*. Aussi, *C. albicans* était sensible à l'extrait de fleurs.

La moisissure *A. fumigatus* était plus résistante à tous les extraits des deux plantes. Les micro-organismes *S. aureus* et *T. rubrum* étaient les plus sensibles aux extraits des deux plantes.

Les fleurs des deux plantes ont donné les meilleurs résultats contre les souches microbiennes.

Les propriétés antimicrobiennes des deux plantes peuvent être expliquées par leur riche composition en composés phénoliques, acides gras (acide palmitique et (Z) -18-octadec-9-enolide), alcanes (éicosane), alcools (1-tétracosanol) et phytostérols (β-sitostérol).

Chapitre IV : Activité anticancéreuse des extraits des plantes sélectionnées du Nord du Maroc

I. Introduction

Les plantes médicinales représentent une source remarquable dans le traitement de diverses maladies humaines. Elles font actuellement l'objet de nombreuses études modernes en raison de leur grande diversité chimique et biologique et de la présence d'une variété de composés aux activités biologiques prometteuses (Yang et al., 2016).

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), à l'origine de près de 10 millions de décès en 2020, soit presque un décès sur six, le cancer est l'une des principales causes de mortalité dans le monde (Ferlay et al., 2020). Le cancer du sein féminin, comme le cancer le plus courant, a été estimé à 2,26 millions (11,7 %) de nouveaux cas, suivi du cancer du poumon (2,21 millions), du cancer colorectal (1,93 millions), du cancer de la prostate (1,41 millions) et du cancer de l'estomac (1,09 millions) avec des pourcentages de 11,4 ; 10 ; 7,3 et 5,6 %, respectivement. L'incidence mondiale du cancer devrait être de 28,4 millions de cas en 2040, ce qui indique une croissance de 47 % par rapport à 2020 (Sung et al., 2021).

Le tabagisme, la consommation d'alcool, une mauvaise alimentation, un manque d'activité physique et la pollution de l'air sont autant de facteurs de risque de cancer (et d'autres maladies non transmissibles). Le cancer naît de la transformation de cellules normales en cellules tumorales, un processus en plusieurs étapes qui a généralement pour point de départ une lésion précancéreuse, laquelle devient ensuite une tumeur maligne (OMS, 2022).

Les médicaments chimiothérapeutiques pour le traitement du cancer sont des molécules identifiées et isolées à partir de plantes ou de leurs dérivés synthétiques (Solowey et al., 2014).

Le but de ce travail est d'évaluer la propriété anticancéreuse des extraits méthanoliques de quatre organes de deux plantes aromatiques et médicinales étudiées, *M. chamomilla* et *C. mixtus*. L'activité anticancéreuse a été évaluée *in vitro* sur trois lignées cellulaires cancéreuses : fibroblastes pulmonaires humains normaux (MRC-5), carcinome mammaire humain (MCF-7) et carcinome de la prostate humain (PC-3) en utilisant le test MTT. Nous avons discuté les résultats obtenus par la composition chimique des deux plantes étudiées dans le premier chapitre.

II. Matériel et méthodes

1. Appareillage et outils

- Lecteur de microplaques automatisé (Tecan Infinite M200, Tecan Group Ltd., Männedorf, Suisse).
- Microscope Leica DMI 6000B couplé à une caméra Leica DFC350 FX (Leica Microsystems, Wetzlar, Allemagne).

2. Réactifs

- Milieu d'Eagle modifié de Dulbecco (DMEM), le sérum bovin fœtal (FBS) et la solution de pénicilline-streptomycine (pen-strep) ont été obtenus auprès de Millipore Sigma (Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne).
- D'autres réactifs de culture cellulaire ont été achetés auprès de Gibco (Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA).
- Le bromure de bleu de thiazolyle et de tétrazolium (MTT, n° de catalogue M5655) a été obtenu auprès de Sigma-Aldrich (Merck KGaA, Darmstadt, Allemagne).

3. Les extraits végétaux utilisés

Dans ce chapitre, nous avons utilisé les extraits méthanoliques de différentes parties des plantes de *C. mixtus* et *M. chamomilla* qu'on a déjà préparé pour déterminer la composition (voir chapitre I).

4. Études *in vitro*

4.1. Cultures cellulaires

Toutes les analyses réalisées dans ce chapitre ont été fait au sein du laboratoire d'un groupe de recherche OncoPharma, centre de recherche sur les technologies et les services de santé (CINTESIS), Porto, Portugal.

Le fibroblaste pulmonaire normal humain (MRC-5), le carcinome mammaire humain (MCF-7) et les lignées cellulaires de carcinome de la prostate humaine (PC-3) ont été utilisés pour l'évaluation de la biosécurité des extraits méthanoliques étudiés dans ce travail. Ces lignées cellulaires ont été obtenues auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC ; Manassas, VA, États-Unis) et ensemencées dans un milieu de culture cellulaire DMEM additionné de 10% de Sérum de veau fœtal (FBS) et de 1 % de solution pen-strep. Ces cellules ont été ensuite incubées à 37°C et 5% de CO_2.

Pour le repiquage, les cellules confluentes ont été trypsinisées à l'aide d'une solution de trypsine-EDTA à 0,25 % et repiquées dans le même milieu de culture.

4.2. Traitement cellulaire

Les cellules ont été ensemencées dans des plaques à 96 puits à une densité de 8 x 10^3 (MCR-5), 10 x 10^3 (MCF-7) et 5 x 10^3 (PC-3) cellules/puits et laissées se fixer pendant 24h. Ensuite, les différentes lignées cellulaires ont été incubées avec chaque extrait aux concentrations suivantes : 50, 100, 200 et 500 µg/ mL. Les solutions mères ont été préparées dans du DMSO à 100 % et ont été diluées dans du DMSO à 0,1 % le jour de l'expérience dans des milieux de culture cellulaire. Les cellules témoins ont été traitées avec 0,1 % de DMSO (véhicule). L'effet biologique des extraits méthanoliques (racines, tiges, feuilles et fleurs) de *C. mixtus* et *M. chamomilla* a été évalué après 48 h de traitement. Leur effet de cytotoxicité a été évalué par analyse morphologique et test MTT.

4.3. Analyse morphologique

La morphologie cellulaire a été capturée après chaque traitement à l'aide d'un microscope Leica DMI 6000B couplé à une caméra Leica DFC350 FX. Les images ont été traitées avec le logiciel d'imagerie Leica LAS X (v3.7.4) (Leica Microsystems, Wetzlar, Allemagne).

4.4. Microculture tetrazolium assay (test MTT)

L'effet des extraits méthanoliques de quatre organes de deux plantes étudiées sur l'inhibition de la croissance cellulaire a été évalué par le test MTT. Le test MTT est basé sur la réduction métabolique de 3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) en formazan. En bref, après chaque traitement, les milieux cellulaires ont été aspirés et 100 µL de solution de MTT (0,5 mg/mL dans du PBS) ont été ajoutés à chaque puits. Les plaques ont été protégées de la lumière et incubées pendant 3h à 37°C. Ensuite, la solution de MTT a été aspirée de chaque puits et remplacée par 100 µL/puits de DMSO pour solubiliser les cristaux de formazan. Finalement, l'absorbance a été mesurée à 570 nm dans un lecteur de microplaques automatisé. Les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules viables et comparés aux puits du contrôle dont les valeurs médianes étaient fixées à 100 %. Toutes les expériences ont été réalisées en triple.

5. Analyses statistiques

GraphPad Prism 9 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA) a été utilisé pour obtenir les représentations de la viabilité cellulaire. Les résultats de trois expériences indépendantes sont représentés par la moyenne ± l'écart type. L'analyse statistique a été réalisée avec des tests ANOVA unidirectionnels par les comparaisons multiples de Dunnett entre les groupes de contrôle et de traitement.

III. Résultats

1. Effet cytotoxique *in vitro* de *Cladanthus mixtus*

Nous avons analysé l'effet antitumoral des quatre extraits méthanoliques de *C. mixtus* (racines, tiges, feuilles et fleurs) contre le fibroblaste pulmonaire humain normal MRC-5, le carcinome mammaire humain MCF-7 et les lignées cellulaires de carcinome humain de la prostate PC-3, pour confirmer leur efficacité contre ces types de cancer. Les cellules ont été traitées avec du témoin (DMSO) et des concentrations croissantes de chaque extrait (0-500 µg/mL) pour évaluer la viabilité cellulaire après 48 h de traitement. La viabilité cellulaire a été évaluée par le test MTT et les modifications de la morphologie cellulaire ont été analysées par microscopie.

1.1. Fibroblaste pulmonaire humain normal MRC-5

Sur la base des résultats du MTT contre les cellules MRC-5, les extraits de racines et de tiges ont provoqué une légère diminution de la viabilité cellulaire à la concentration de 200 µg/mL et plus pour l'extrait des racines (**Figure 50A**) et de 50 µg/mL pour l'extrait des tiges (**Figure 50B**). En revanche, une diminution plus significative a été rapportée par les extraits de fleurs ($p < 0,05$) (**Figure 50D**) et de feuilles ($p < 0,001$) (**Figure 50C**) à une concentration de 500 µg/mL. De plus, l'analyse microscopique de tous des extraits à 500 µg/mL a indiqué une suppression de la prolifération et le nombre de cellules était inférieur à celui du contrôle (DMSO) (**Figures 51Q, R, S, T**). Les meilleurs résultats sont donnés par les extraits des feuilles (**Figure 51S**) et des fleurs (**Figure 51T**), confirmant les résultats de MTT.

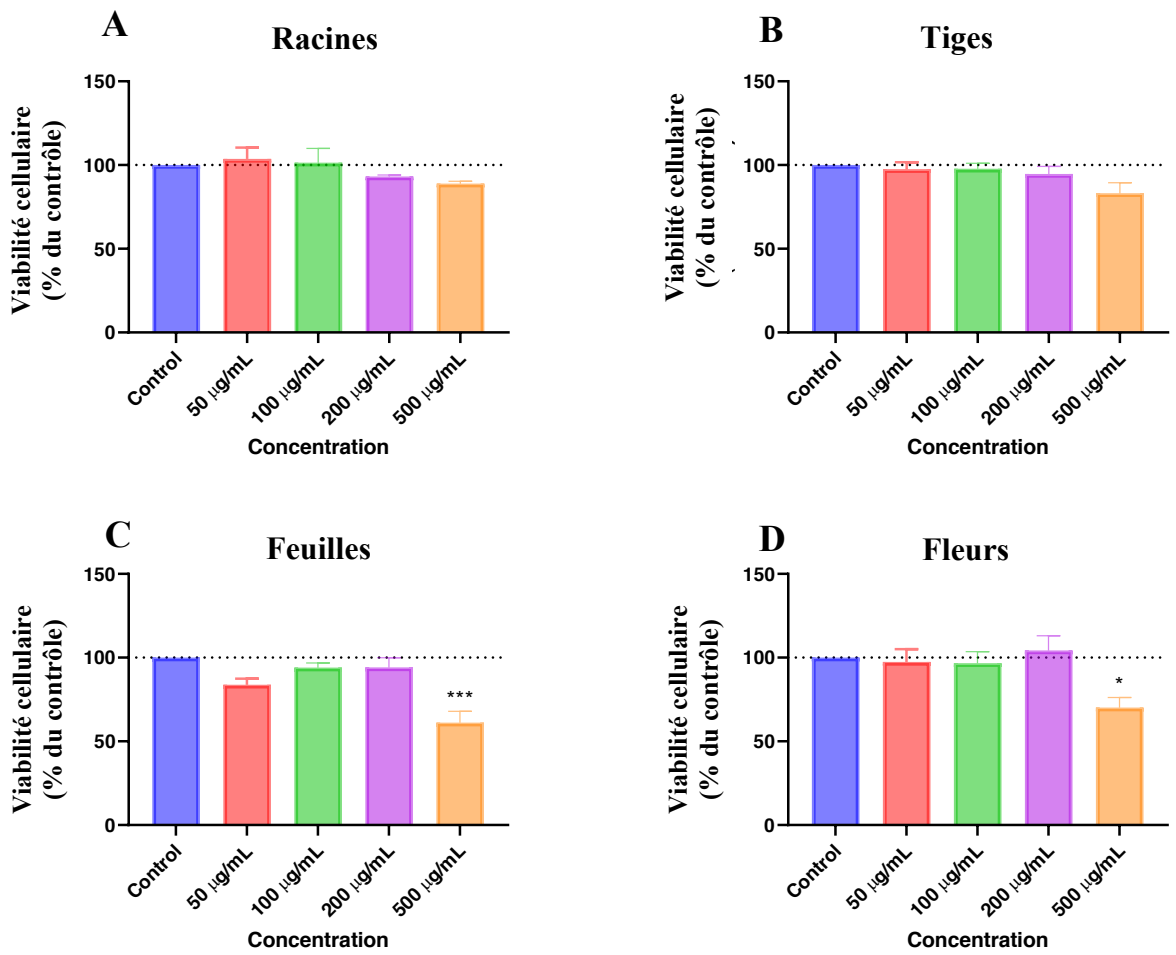


Figure 50:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Cladanthus mixtus* sur les cellules MRC-5.

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± l'écart type (n = 3), * statistiquement significatif par rapport au contrôle (DMSO) à $p < 0,05$; *** statistiquement significatif vs controle (véhicule) à $p < 0,001$.

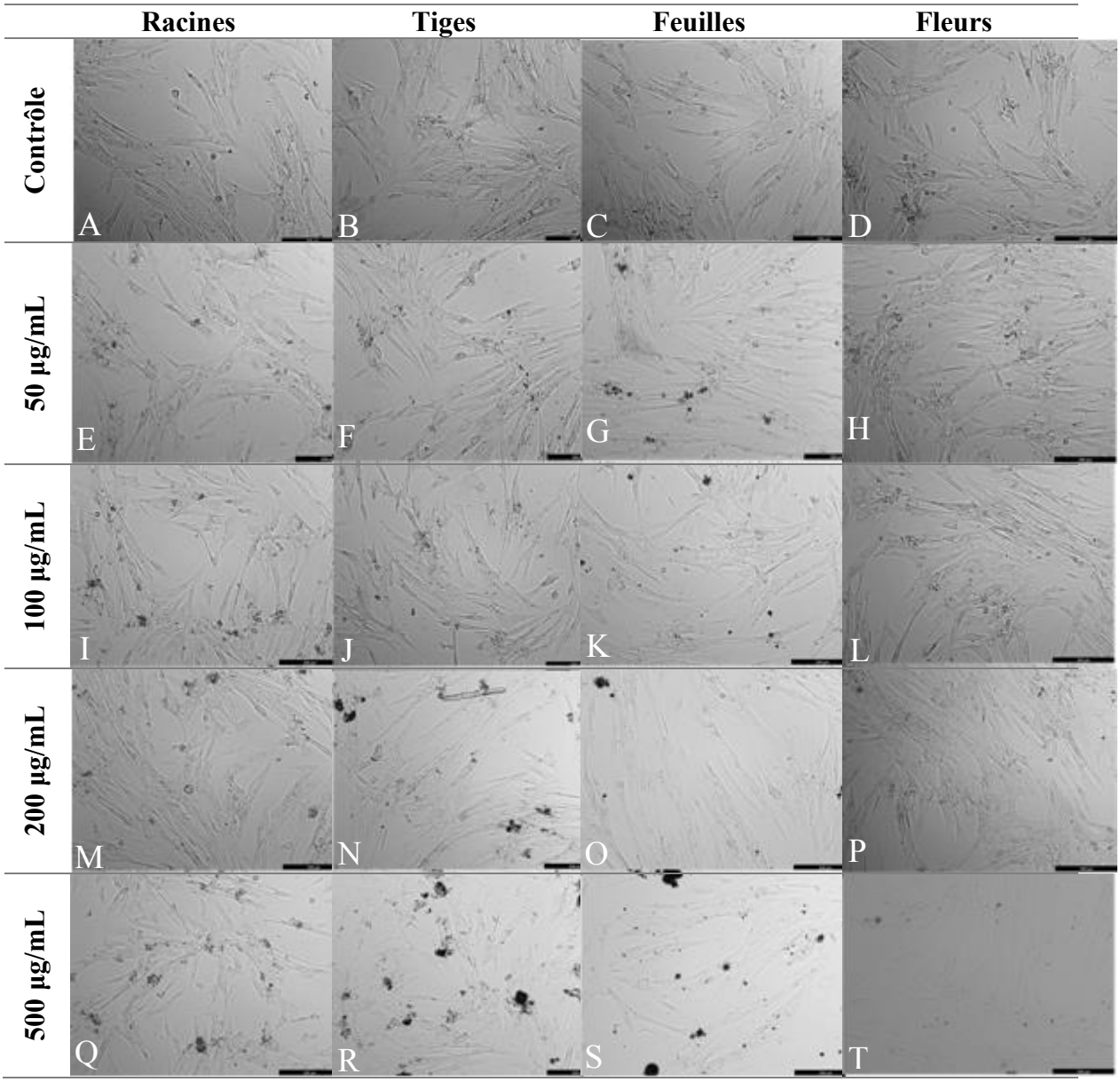


Figure 51:Évaluation morphologique des cellules MRC-5 traitées avec les extraits de *Cladanthus mixtus*.

Les résultats sont représentatifs de trois expériences indépendantes. Barre d'échelle : 200 µm.

1.2. Cellule carcinome mammaire humain MCF-7

Les résultats du test MTT pour les cellules MCF-7 ont montré que l'extrait des tiges et des fleurs avaient une petite activité sur la viabilité cellulaire (**Figure 52B et 52D**), tandis que l'extrait des racines diminuait la viabilité cellulaire à toutes les concentrations testées par rapport au contrôle, avec un meilleur résultat à la valeur la plus élevée (500 µg/mL) (**Figure 52A**). D'autre part, l'extrait des feuilles à 500 µg/mL a montré une activité antitumorale significative ($p < 0,01$), provoquant une réduction de 50 % des cellules MCF-7 (**Figure 52C**).

L'analyse microscopique a indiqué que les cellules étaient plus rondes et petites, en moins nombre, sans formation d'agrégats pour l'extrait des feuilles (**Figure 53S**) et des racines (**Figure 53Q**). Les autres extraits n'ont provoqué aucun changement dans la morphologie des cellules cancéreuses (**Figure 53**).

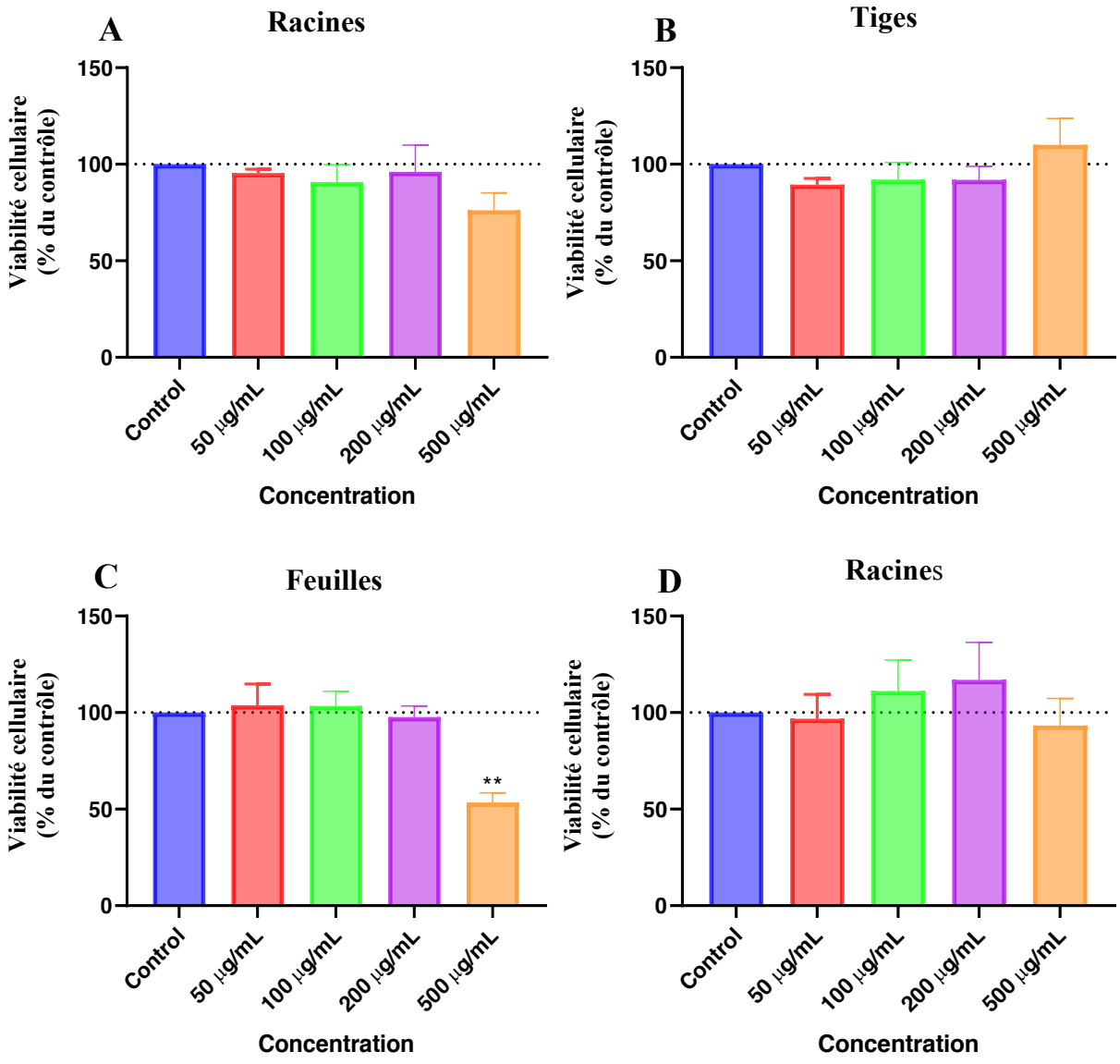


Figure 52:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Cladanthus mixtus* sur des cellules MCF-7.

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± l'écart type (n = 3), ** statistiquement significatif par rapport au contrôle (DMSO) à $p < 0,01$.

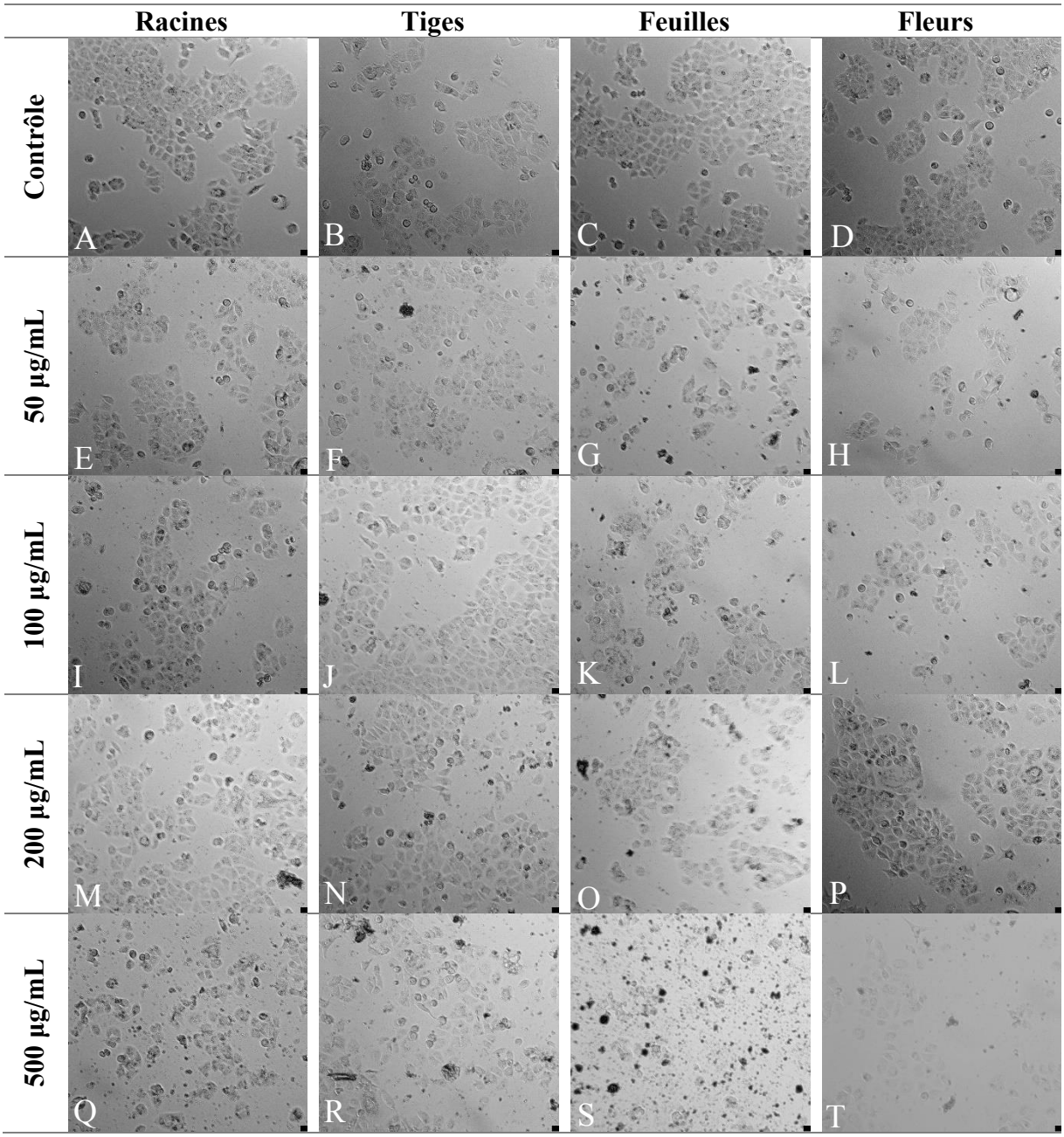


Figure 53:Évaluation morphologique des cellules MCF-7 traitées avec les extraits de *Cladanthus mixtus*.

Les résultats sont représentatifs de trois expériences indépendantes. Barre d'échelle : 200 µm.

1.3. Cellule de carcinome humain de la prostate PC-3

Contre les cellules PC-3, l'extrait des racines de *C. mixtus* a montré une activité antitumorale significative à une concentration de 200 µg/mL ($p < 0,001$) et 500 µg/mL ($p < 0,0001$) (**Figure 54A**). Les extraits des tiges (**Figure 54B**) et des fleurs (**Figure 54D**) ont montré une toxicité significative à 500 µg/mL ($p < 0,01$), tandis que l'extrait des feuilles a révélé une activité plus significative à 500 µg/mL ($p < 0,001$) (**Figure 54C**).

L'évaluation morphologique des cellules PC-3 traitées avec des extraits de *C. mixtus* a montré une diminution du nombre de cellules et des cellules plus petites et plus rondes à 500 µg/mL, par rapport aux cellules témoins (contrôle) (**Figure 55**).

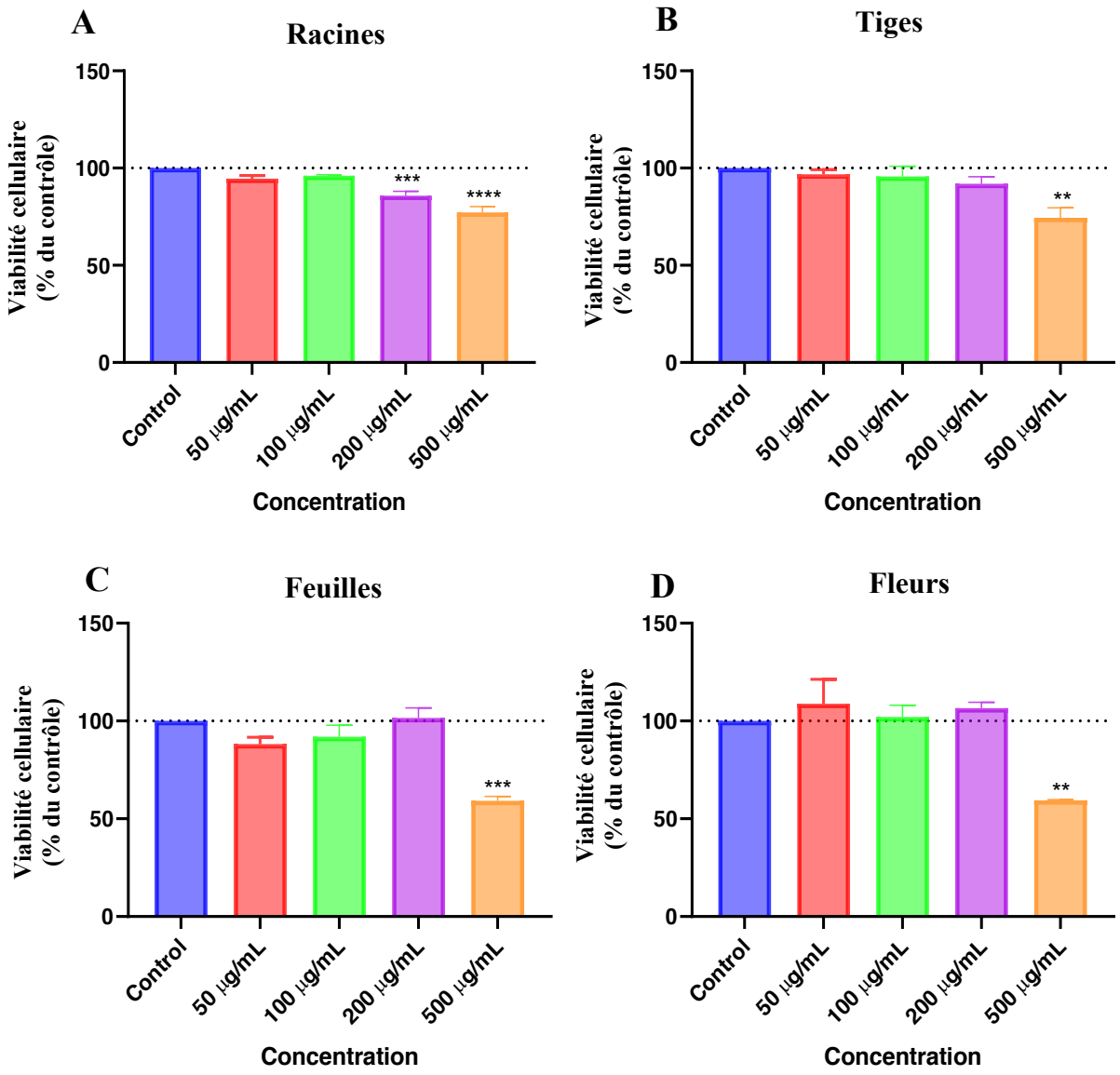


Figure 54:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Cladanthus mixtus* sur des cellules PC3.

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± l'écart type (n = 3), ** statistiquement significatif par rapport au contrôle (véhicule) à $p < 0,01$; *** statistiquement significatif par rapport au contrôle (véhicule) à $p < 0,001$; **** statistiquement significatif par rapport au contrôle (véhicule) à $p < 0,0001$.

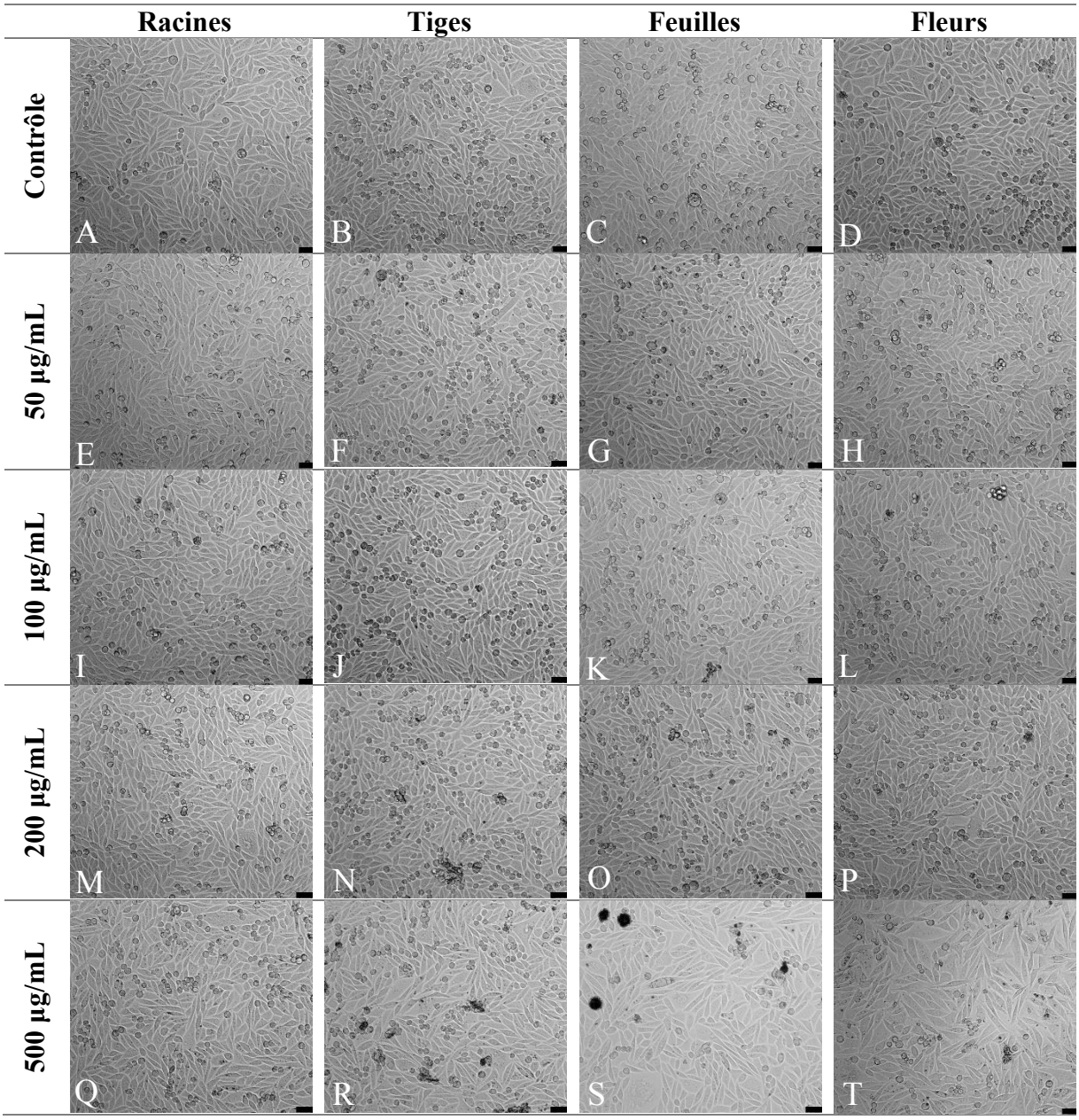


Figure 55:Évaluation morphologique des cellules PC-3 traitées avec les extraits de *Cladanthus mixtus*.

Les résultats sont représentatifs de trois expériences indépendantes. Barre d'échelle : 200 µm.

2. Effet cytotoxique *in vitro* de *Matricaria chamomilla*

Nous avons évalué l'effet antitumorale des quatre extraits méthanoliques de *M. chamomilla* (racines, tiges, feuilles et des fleurs) contre le fibroblaste pulmonaire normal humain MRC-5, le carcinome mammaire humain MCF-7, et les lignées cellulaires de carcinome humain de la prostate PC-3. Comme décrit précédemment, les cellules ont été traitées avec du témoin (DMSO) et des concentrations croissantes de chaque extrait (0-500 µg/mL) pour évaluer la viabilité cellulaire après 48 h.

2.1. Fibroblaste pulmonaire humain normal MRC-5

Tout d'abord, l'activité antitumorale potentielle des quatre extraits de *M. chamomilla* a été évaluée dans la lignée cellulaire MRC-5 avec un test MTT standard (**Figure 56**), ainsi que des modifications de la morphologie cellulaire analysées par microscopie (**Figure 57**). L'extrait des racines a provoqué une légère diminution de la viabilité cellulaire à 500 µg/mL (**Figure 56A**), tandis que les extraits des tiges et des feuilles ont présenté une toxicité significative à 500 µg/mL ($p < 0,05$ et $p < 0,01$, respectivement) (**Figure 56B, C**). De plus, pour la concentration la plus élevée de 500 µg/mL, l'extrait des fleurs a provoqué une diminution de la viabilité des cellules MRC-5 (**Figure 56D**).

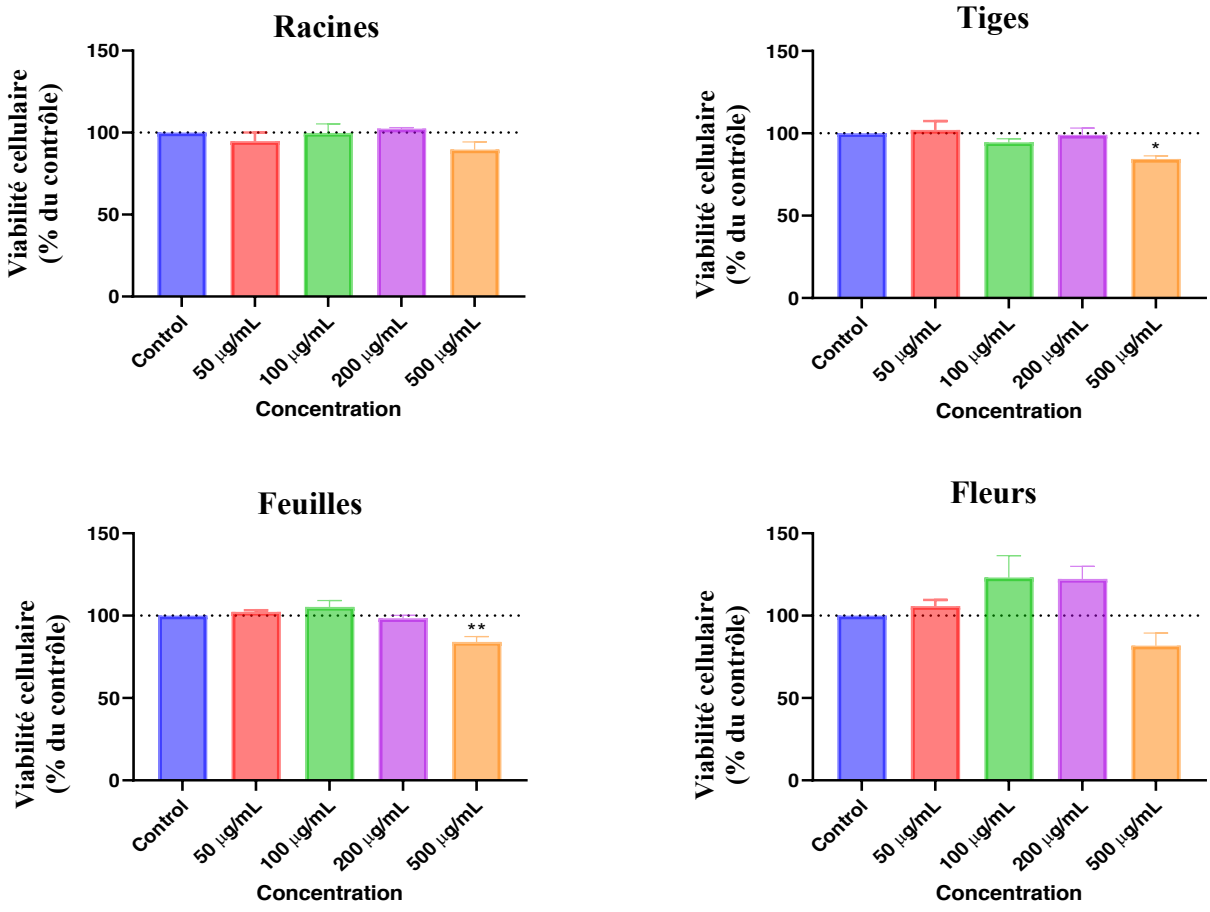


Figure 56:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Matricaria chamomilla* sur les cellules MRC-5.

Les valeurs sont données sous forme de moyenne ± l'écart type (n = 3), * statistiquement significatif par rapport au contrôle (véhicule) à $p < 0,05$; ** statistiquement significatif par rapport au contrôle (véhicule) à $p < 0,01$.

Au microscope, les deux traitements par les extraits des tiges et des feuilles de *M. chamomilla* ont provoqué une diminution du nombre de cellules à 500 µg/mL (**Figure 57S et**

D). L'extrait des racines a provoqué moins de changements dans la morphologie des cellules par rapport au témoin (DMSO) (**Figure 57Q**). De plus, l'extrait des fleurs a montré un excellent résultat en réduisant le nombre de cellules par rapport au contrôle (DMSO) (**Figure 57**).

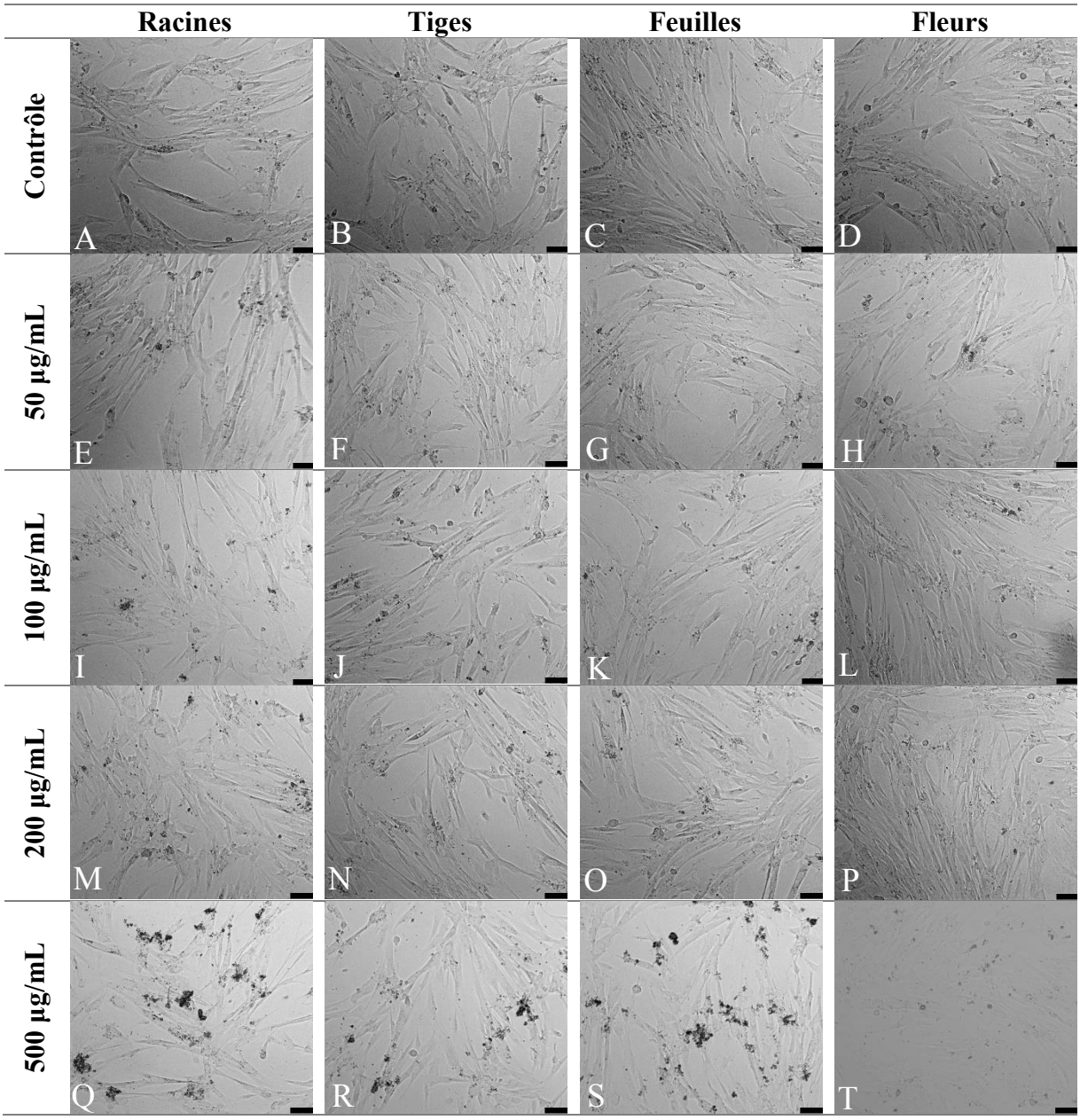


Figure 57:Évaluation morphologique des cellules MRC-5 traitées avec les extraits de *Matricaria chamomilla*.

Les résultats sont représentatifs de trois expériences indépendantes. Barre d'échelle : 200 µm.

2.2. Cellule carcinome mammaire humain MCF-7

Le potentiel du traitement avec des extraits de *M. chamomilla* sur la viabilité cellulaire des lignées cellulaires cancéreuses MCF-7 est montré dans la **figure 58** et l'évaluation morphologique est montrée dans la **figure 59**. Les extraits de racines ont diminué la viabilité cellulaire à la concentration de 100 µg/mL (**Figure 58A**), tandis que les extraits des tiges et des feuilles ont révélé une toxicité significative à 500 µg/mL ($p < 0,05$ et $p < 0,01$, respectivement) (**Figure 58B, C**). De plus, l'extrait des fleurs a diminué la viabilité cellulaire à partir de 50 µg/mL (**Figure 58D**), atteignant une valeur de toxicité significative supérieure à 50 % ($p < 0,001$) à une concentration de 500 µg/mL.

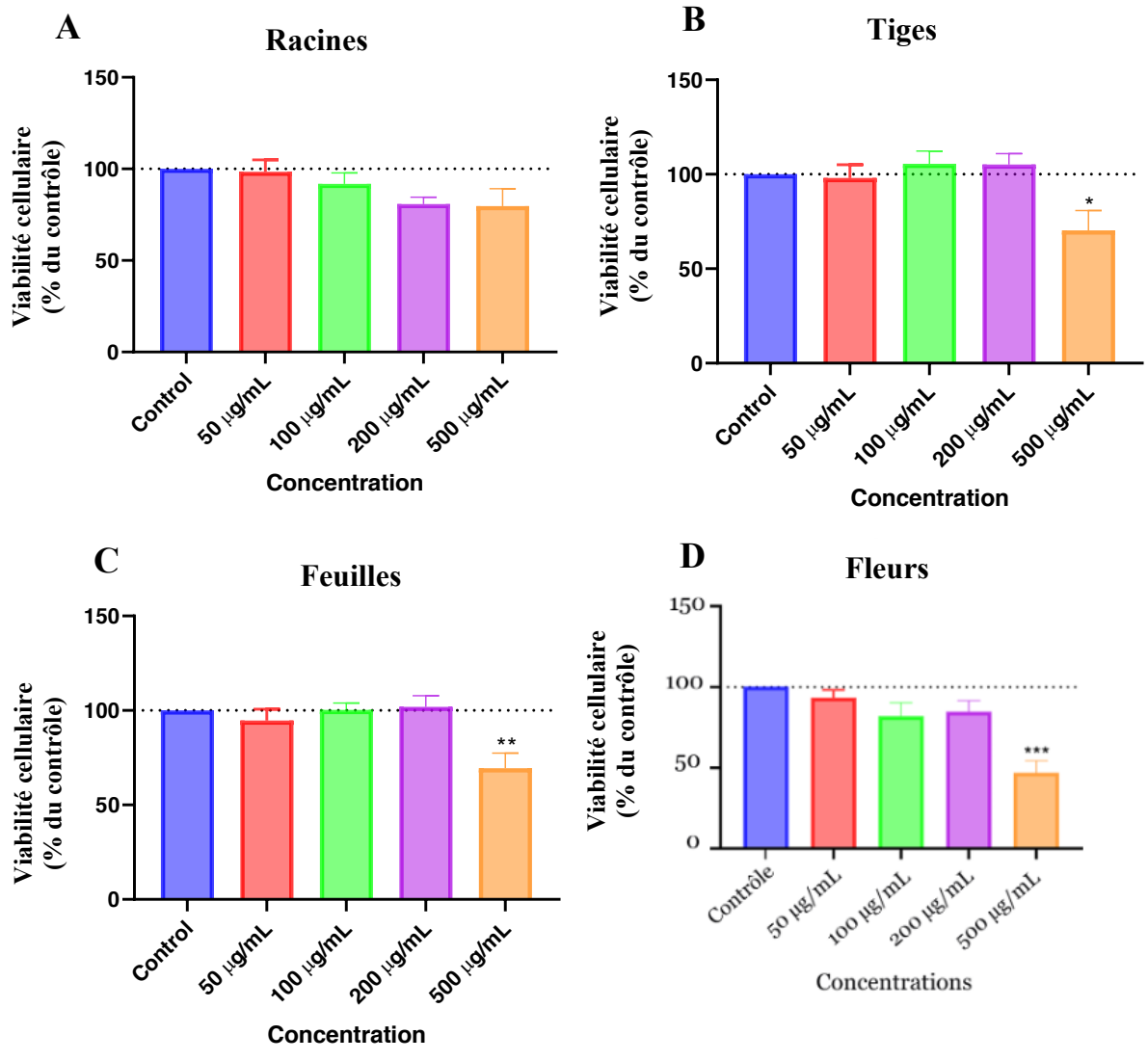


Figure 58:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Matricaria chamomilla* sur des cellules MCF-7.

Les résultats sont donnés sous forme de moyenne ± l'écart type(n = 3), * statistiquement significatif par rapport au contrôle (véhicule) à $p < 0,05$; **statistiquement significatif par rapport au contrôle (véhicule) à $p < 0,01$; *** statistiquement significatif par rapport au contrôle (véhicule) à $p < 0,001$.

L'analyse microscopique des extraits des racines et des fleurs à 100 et 200 µg/mL a indiqué que le nombre de cellules était moindre sans la formation d'agrégats (**Figure 59I et L**). À 500 µg/mL, tous les extraits ont eu des résultats intéressants avec une meilleure légende microscopique de l'extrait des fleurs de *M. chamomilla* sur MCF-7 (**Figure 59Q, R, S et T**). Les cellules MCF-7 étaient de plus en plus rondes et petites, sans formation d'agrégats par rapport au contrôle (**Figure 59T**).

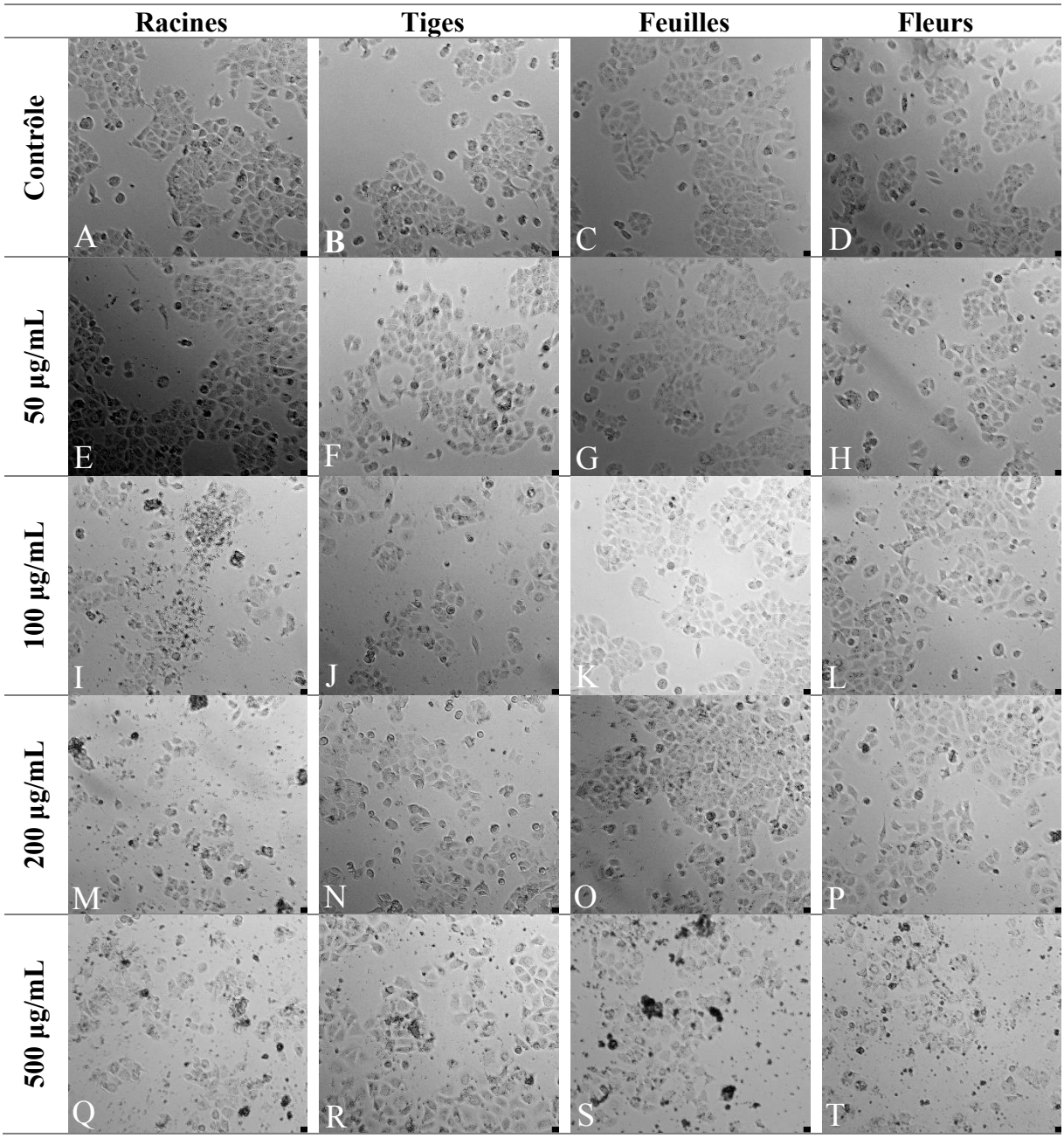


Figure 59:Évaluation morphologique des cellules MCF-7 traitées avec les extraits de *Matricaria chamomilla*.

Les résultats sont représentatifs de trois expériences indépendantes. Barre d'échelle : 200 µm.

2.3. Cellule de carcinome humain de la prostate PC-3

Les résultats du test MTT pour l'extrait méthanolique des racines de *M. chamomilla* dans la prostate PC-3 ont montré une diminution significative de la viabilité cellulaire de 100 à 200 µg/mL ($p < 0,05$), atteignant une toxicité significative ($p < 0,0001$) à une concentration de 500 µg/ mL (**Figure 60A**). L'extrait des tiges a démontré une activité antitumorale significative à une concentration de 500 µg/mL ($p < 0,05$) (**Figure 60B**). De même, les extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs ont montré une toxicité significative à 500 µg/mL ($p < 0,0001$) (**Figure 60C et D**), et plus de 50 % de toxicité a été observée avec les fleurs (**Figure 60D**).

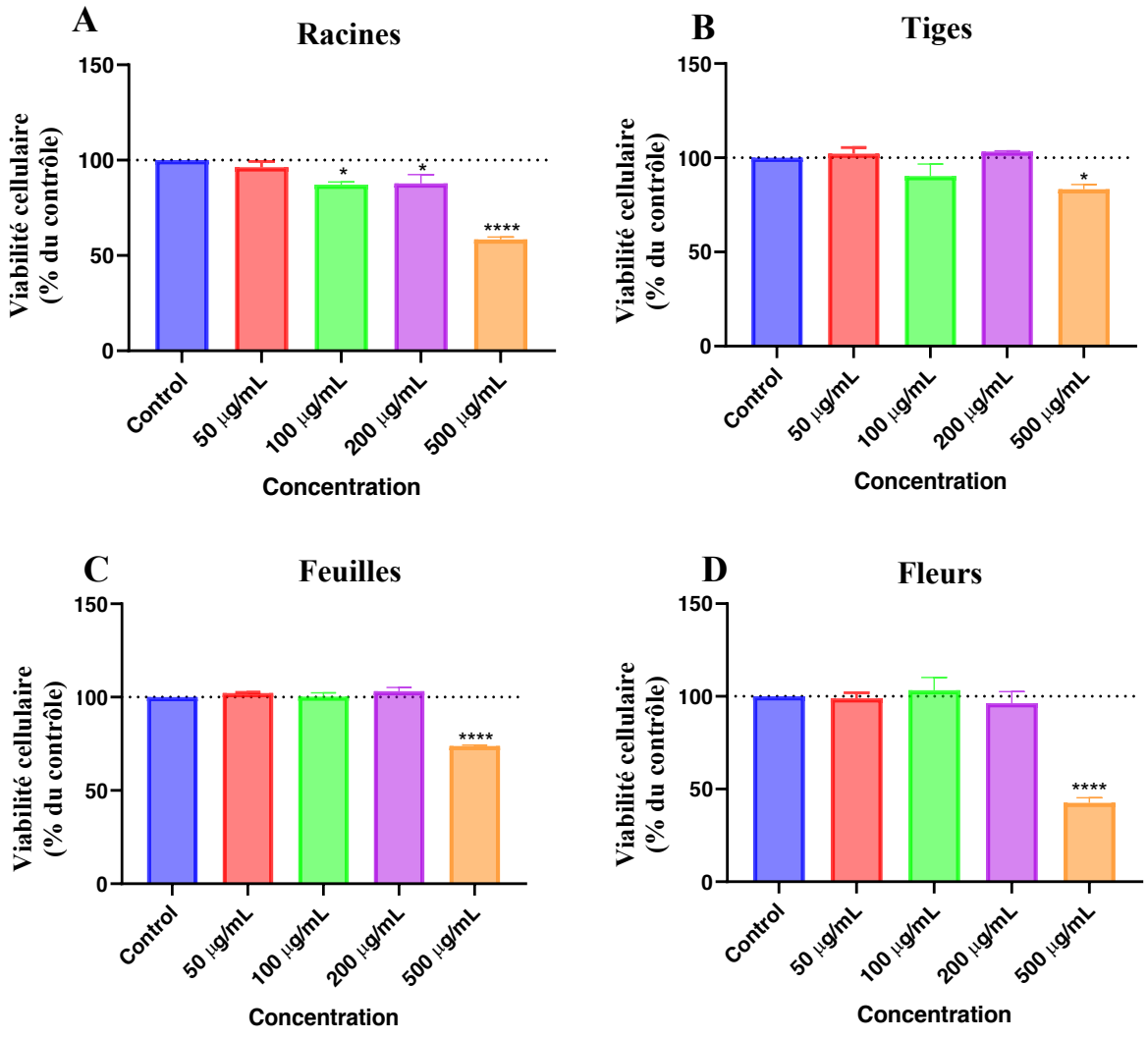


Figure 60:Évaluation de la biosécurité des extraits de *Matricaria chamomilla* dans des cellules PC-3.

Les résultats sont donnés sous forme de moyenne ± l'écart type (n = 3), * statistiquement significatif par rapport au contrôle (DMSO) à $p < 0,05$; **** statistiquement significatif par rapport au contrôle (DMSO) à $p < 0,0001$.

L'évaluation morphologique des cellules PC-3 traitées avec des extraits de *M. chamomilla* est illustrée dans la **figure 61**. À une concentration de 500 µg/mL, tous les extraits ont provoqué une diminution du nombre de cellules et des cellules plus petites et plus rondes, par rapport au contrôle, ce qui indique la mort cellulaire (**Figure 61Q, R, S, T**).

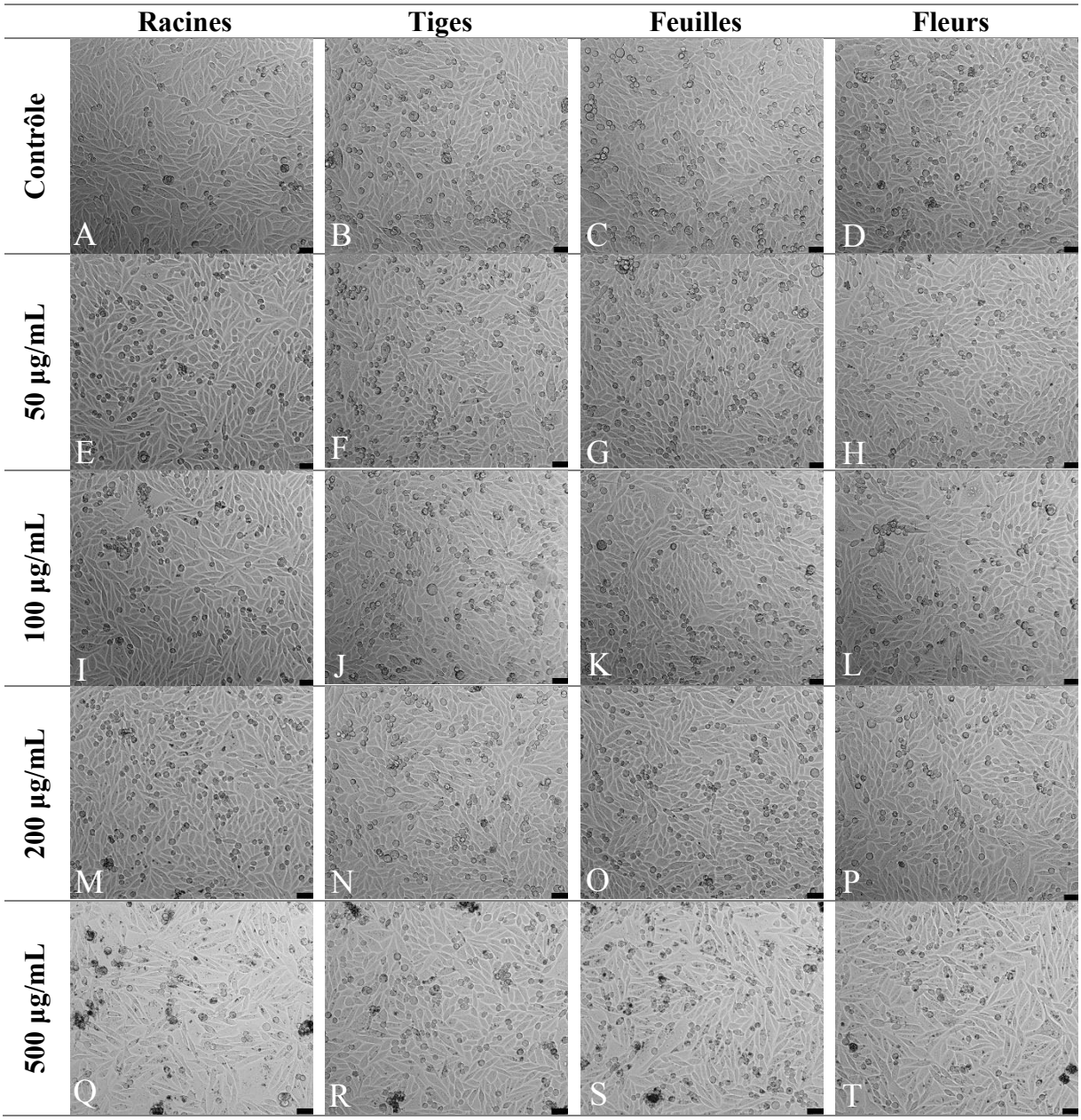


Figure 61:Évaluation morphologique des cellules PC-3 traitées avec les extraits de *Matricaria chamomilla*.

Les résultats sont représentatifs de trois expériences indépendantes. Barre d'échelle : 200 µm.

IV. Discussion

Le cancer est un terme général appliqué aux maladies malignes causées par une division incontrôlée et rapide de cellules anormales dans la partie du corps. Le cancer est très grave si la tumeur commence à se regrouper pour former une croissance ou proliférer dans tout le corps. Nombreux types de cancer sont nommés en fonction de l'emplacement de la prolifération incontrôlée ou de l'endroit où elle a commencé à se développer dans le corps. Les cancers du côlon, des poumons, du sein et de la prostate sont les formes de cancer les plus courants. (Ghouse, 2020). C'est l'une des causes les plus importantes qui nous ont fait étudier les lignes cellulaire cancéreuses MRC-5 (fibroblastes pulmonaires humains normaux), MCF-7 (carcinome mammaire humain) et PC-3 (carcinome de la prostate humain).

Les médicaments anticancéreux détruisent les cellules cancéreuses en arrêtant la croissance ou la multiplication à un moment donné de leur cycle de vie. De nos jours, diverses méthodes sont utilisées pour le traitement du cancer, telles que la chimiothérapie, mais dans cette méthode, en raison de la non sélectivité des médicaments, un pourcentage élevé de cellules saines sera perdu avec les cellules cancéreuses. Le problème le plus important dans le traitement du cancer est de détruire les cellules tumorales en présence de cellules naturelles, sans endommager les cellules naturelles. Afin de préparer des médicaments anticancéreux à partir de ressources naturelles comme les plantes, il est nécessaire de tester des composés cytotoxiques et de cribler des extraits bruts de plantes (Ghouse, 2020).

Par conséquent, la disponibilité de produits naturels avec une efficacité plus élevée et des effets secondaires moindres est souhaitée. Les plantes médicinales sont la source la plus exclusive de médicaments salvateurs pour la majorité de la population mondiale. Les herbes médicinales sont largement utilisées pour le traitement des maladies de manière traditionnelle depuis plusieurs générations. Une interaction entre la médecine traditionnelle et les outils biotechnologiques modernes doit être établie vers le développement de nouveaux médicaments (Aboul-Enein et al., 2012).

Les composés phénoliques naturels ont montré leur capacité à moduler les voies de signalisation cellulaire liées à la mort cellulaire (Pan et al., 2008 ; Lantto et al., 2009). Leur rôle en tant qu'agent chimiopréventif fait l'objet d'un examen approfondi et de nombreux composés prometteurs ont été découverts.

Cette étude avait pour but d'évaluer la propriété anticancéreuse des extraits méthanoliques de quatre organes de deux plantes aromatiques et médicinales *M. chamomilla* et *C. mixtus* a été établi *in vitro* contre trois lignées cellulaires cancéreuses : MRC-5 (fibroblastes

pulmonaires humains normaux), MCF-7 (carcinome mammaire humain) et PC-3 (carcinome de la prostate humain) en utilisant le test MTT. De manière générale, les résultats de l'activité antitumorale ont été très encourageants.

L'activité anticancéreuse *in vitro* de la majorité des extraits méthanoliques de *C. mixtus* a montré une diminution significative de la viabilité cellulaire dans les trois lignées cellulaires cancéreuses humaines étudiées.

En comparant les quatre organes étudiés de *C. mixtus* sur les cellules MRC-5 (**Figure 62A**), nous pouvons signaler que l'extrait des feuilles avait l'activité antiproliférative la plus significative ($p < 0,01$), suivi par l'extrait des fleurs ($p < 0,05$), avec les meilleurs résultats à 500 µg/mL. Aussi, la meilleure activité antiproliférative sur les cellules MCF-7 a été rapportée lors de l'utilisation de la concentration la plus élevée de 500 µg/mL. Les feuilles ont montré l'effet le plus significatif ($p < 0,01$), suivis par les racines et les fleurs (**Figure 62B**). En outre, l'évaluation comparée de la biosécurité des extraits de *C. mixtus* dans la lignée cellulaire PC-3 a révélé que les extraits des feuilles et des fleurs fournissaient l'activité anticancéreuse la plus significative ($p < 0,001$, $p < 0,01$, respectivement), avec une réduction de près de 50 % de la viabilité cellulaire à une concentration de 500 µg/ mL.

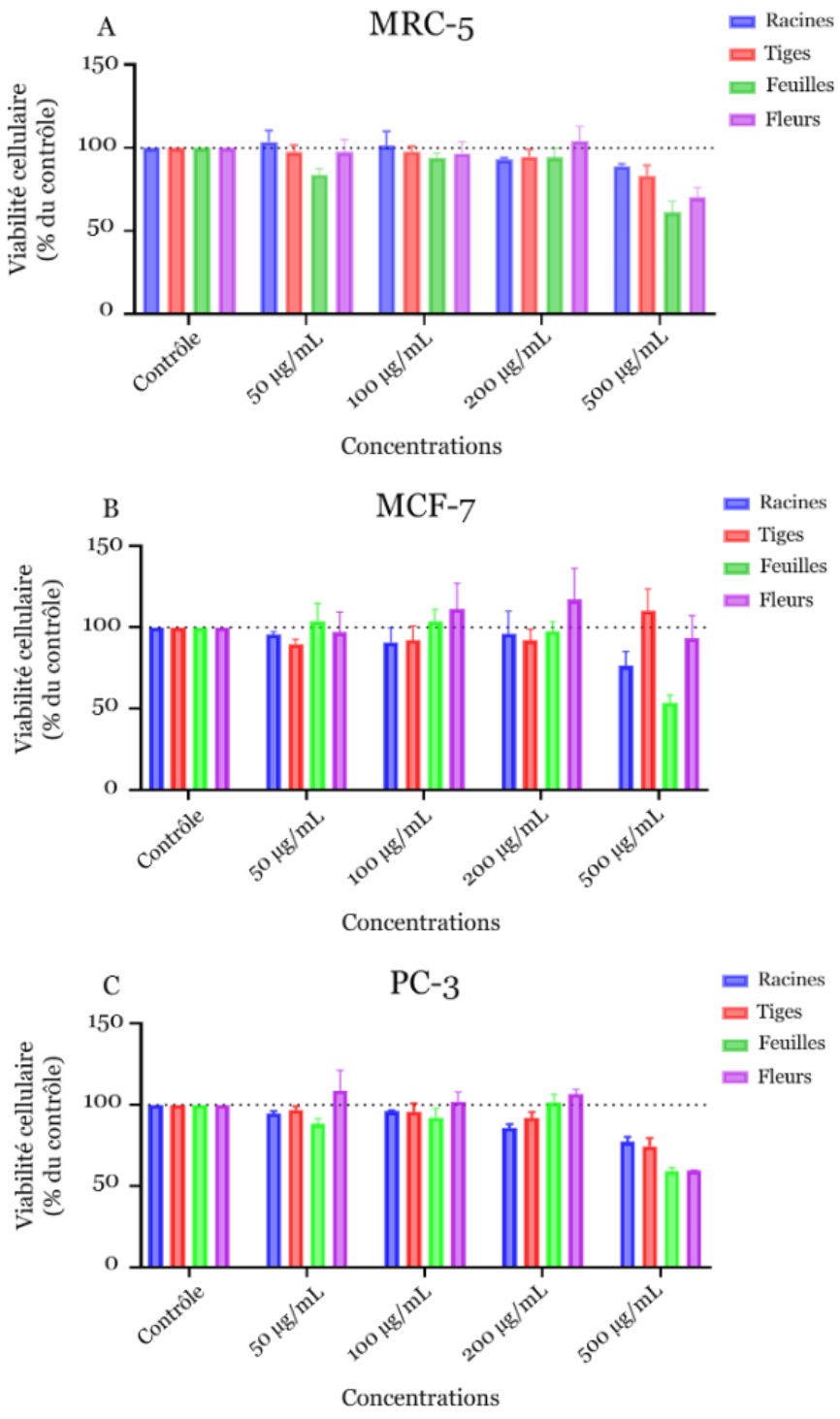


Figure 62:Résultats comparés de l'évaluation de l'effect des extraits de *Cladanthus mixtus* sur les cellules cancéreuses MRC-5, MCF-7 et PC-3.

Une étude a montré que l'extrait méthanolique de parties aériennes et l'HE de *C. mixtus* du Maroc (région de Bouznika) ont montré une bonne activité cytotoxique contre la lignée cellulaire cancéreuse le myélome P3/X63 de souris BALB/c (des cellules tumorales qui se multiplient activement en échappant à l'apoptose ou à la mort cellulaire programmée)

(Elouaddari et al., 2019). L'HE a montré une bonne activité avec IC_{50} = 85,27 µg/mL, supérieure à celle de l'extrait de méthanol (IC_{50} = 125,5 µg/mL). La même étude a démontré que l'apigénine isolé de *C. mixtus* a montré une grande activité cytotoxique vis-à-vis des cellules P3/X63 (IC_{50} = 17,9 µg/mL). Cet effet anticancéreux pourrait s'expliquer par plusieurs mécanismes. Chan et al. (2012) ont rapporté que l'apigénine induit l'apoptose via la voie TNF-α et Bcl-2, alors que Hastak et al. (2003) ont suggéré que l'apigénine pourrait inhiber significativement le NFkB, qui joue un rôle essentiel dans la régulation de la prolifération cellulaire, l'arrêt du cycle cellulaire et l'induction de l'apoptose. La possibilité d'une induction de l'apoptose par la stimulation de l'expression de la protéine pro-apoptotique p53 a été suggérée (Gamet-Payrastre et al., 2000). L'attribution de l'activité cytotoxique aux HEs est due à la synergie entre ses composés actifs (Yang et al., 2010). Une autre étude a montré que la forte toxicité de l'HE a été attribuée à l'existence de composants hautement hydrophobes de faible poids moléculaire (Kianfar et al., 2020). Ces composés pourraient facilement traverser et/ou interagir avec la membrane pour provoquer une perte d'intégrité structurelle. La perméabilité accrue des ions peut provoquer la mort cellulaire.

En outre, *M. chamomilla* est considérée comme une plante anticancéreuse de la faite qu'elle contient divers groupes de flavonoïdes et de phénols végétaux qui préviennent le cancer (Berghe, 2012 ; Watson et al., 2013). Aussi, elle est largement utilisée depuis plusieurs années comme remède traditionnel et ses effets sur différentes maladies humaines ont été constatés. En plus, les composés antioxydants de *M. chamomilla* ont des effets anticancéreux (Di Domenico et al., 2012).

Les résultats comparés de l'évaluation de la biosécurité des extraits de *M. chamomilla* dans les cellules MRC-5 ont décelé que tous les extraits avaient une activité antitumorale à 500 µg/mL, les meilleurs résultats étant présentés par les fleurs (**Figure 63A**). De la même façon, tous les extraits ont donné des résultats intéressants à 500 µg/mL dans les cellules MCF-7, avec de meilleurs résultats avec les fleurs (**Figure 63B**).

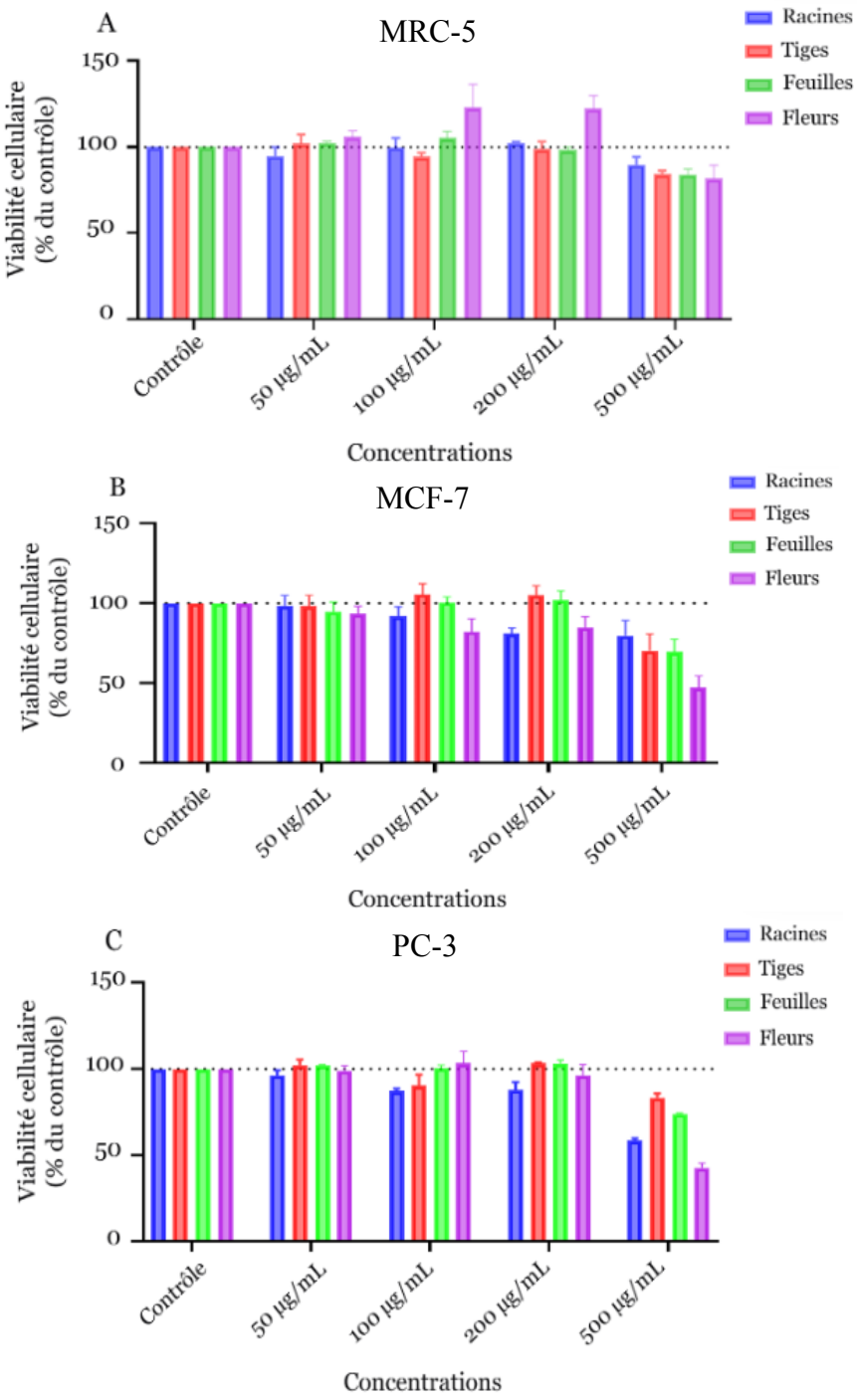


Figure 63:Résultats comparés de l'évaluation de l'effect des extraits de *Matricaria chamomilla* sur les cellules cancéreuses MRC-5, MCF-7 et PC-3.

Dans une autre étude, les cellules MCF-7 exposées à différentes doses d'extrait des racines de *M. chamomilla* de Iran ont démontré une mort cellulaire de 50 % après 24, 48 et 72 h avec les concentrations 1954, 1700 et 1560 µg/mL, respectivement. De plus, une baisse de la formation de colonies cellulaires a été observée. Les résultats ont indiqué que l'extrait de racine

de *M. chamomilla* est cytotoxique pour la lignée cellulaire de cancer du sein MCF-7 (Kamali et al., 2014).

D'autres études ont porté sur l'effet de l'extrait de fleur de *M. chamomilla* d'Egypte sur d'autres lignées cellulaires cancéreuses plus que sur l'effet de l'extrait de racine de *M. chamomilla* (Srivastava et al., 2009).

Nikseresht et al. (2017) ont démontré que l'extrait hydroalcoolique de la partie aérienne de *M. chamomilla* contrôle la prolifération cellulaire et l'induction de l'apoptose, en fonction de la concentration et du temps, et empêche la colonisation et la migration cellulaire dans MCF-7. L'augmentation de la prolifération a été observée après 24 h de traitement avec l'extrait hydroalcoolique à des concentrations de 0 à 800 µg/mL pour la lignée cellulaire MCF-7. Les meilleurs résultats ont été obtenus à une concentration plus élevée (800 µg/mL). D'autre part, même à la faible concentration, l'effet toxique augmentait avec le temps et cela arrêtait la prolifération des cellules cancéreuses. Des études précédentes ont montré que certains composés naturels tels que les HEs, les flavonoïdes et les terpénoïdes pouvaient augmenter de manière significative la prolifération cellulaire à de faibles concentrations (Kaji et al., 1990). Dans une autre étude, il a été montré que *M. chamomilla* a un taux élevé d'aglycone flavonoïde et d'apigénine, ce qui lui confère des propriétés anticancéreuses en empêchant la croissance cellulaire de manière sélective et l'apoptose dans les cellules cancéreuses (Wang et al., 2010). En effet, dans notre étude, on a également rapporté la présence de ces molécules dans les extraits de *M. chamomilla*.

Contre les cellules PC-3, tous les extraits méthanoliques de *M. chamomilla* ont montré une activité anticancéreuse significative à une concentration de 500 µg/mL. Les meilleurs résultats ont été obtenus par les fleurs, suivies des racines, des feuilles et des tiges (**Figure 63C**). Les résultats de cette étude sont en harmonie avec ceux dans lesquels l'exposition des cellules PC-3 à l'extrait méthanolique (100 et 200 µg/mL) de mélange des fleurs de *M. chamomilla* d'origine Libanaise et Egyptienne pour divers intervalles de temps (12, 24 et 48 h) a démontré une réponse biologique plus élevée par rapport à l'extrait aqueux. En effet, l'extrait méthanolique a inhibé la croissance cellulaire et a provoqué l'induction de l'apoptose (Srivastava et Gupta, 2009). Cette étude a démontré aussi que les glucosides d'apigénine ont inhibé la croissance des cellules cancéreuses par déconjugaison des glycosides qui se produisent dans le compartiment cellulaire pour produire de l'aglycone, l'apigénine. Ces résultats ont signifié que l'apigénine est le principal composé bioactif à activité anticancéreuse dans l'extrait des fleurs de *M. chamomilla*. D'un autre côté, comme cela a été rapporté précédemment (Srivastava et Gupta, 2007), l'activité antitumorale *in vivo* des extraits aqueux et méthanoliques

des fleurs de *M. chamomilla* a montré une diminution significative de la viabilité cellulaire dans diverses lignées cellulaires cancéreuses de la prostate humaine dérivées de différents sites métastatiques y compris le PC-3.

L'objectif principale de notre étude était de démontrer que les extraits de plantes de *M. chamomilla* et *C. mixtus* provoquent la suppression de la croissance des cellules cancéreuses et provoquent ainsi l'apoptose. Le nombre de recherches sur l'utilité de la *M. chamomilla* continue d'augmenter en raison de ses activités biologiques signalées, qui semblent être liées à sa teneur en plusieurs classes de composés bioactifs.

Selon Cvetanović et al. (2015), les effets cytotoxiques des extraits éthanoliques et aqueux des fleurs de *M. chamomilla* obtenus par différentes techniques d'extraction ont été examinés sur les cellules humaines de rhabdomyosarcome (RD), la lignée cellulaire dérivée du carcinome du col de l'utérus humain Hep2c (HeLa) et la lignée cellulaire dérivée du fibroblaste murin (L2OB). Sur les trois lignées cellulaires testées, les extraits d'eau sous-critique ont démontré des meilleures propriétés antitumorales par rapport aux extraits obtenus par d'autres techniques, avec des valeurs IC_{50} pour les cellules Hep2c, RD et L2OB de 30,54, 20,54 et 19,65 µg/mL, respectivement.

En outre, des études antérieures ont montré que les extraits de méthanol de réglisse, de camomille, de sauge et de rhubarbe ont une activité antiproliférative significative sur la lignée cellulaire WM1361A, une lignée tumorale de mélanocytes mélaniques humaine représentative. Cela fait de ces plantes des sources potentielles de nouveaux composés principaux pour le développement de nouveaux médicaments contre le cancer du mélanome (Fraihat et al., 2018). De plus, *M. chamomilla* de Corée fermentée par *Lactobacillus plantarum* pendant 72 h a montré un effet cytotoxique d'environ 95 % contre les cellules cancéreuses y compris MCF-7 à 12,7 mg solide/mL de bouillon, mais les cellules MRC-5 étaient significativement moins sensibles aux échantillons de camomille fermentée. Ces résultats suggèrent que la fermentation de la camomille pourrait être appliquée pour développer des produits naturels antioxydants et anticancéreux (Park et al., 2017). L'effet de la quercétine sur la lignée cellulaire MCF-7 a été étudié et il a été suggéré que ce composé affecte le cycle cellulaire et entraîne l'apoptose de la lignée cellulaire (Zhang et al., 2012).

Résultats de l'étude réalisée par la méthode de coloration Hoechst 33342/PI. Il a suggéré que l'extrait induit l'apoptose plus que la nécrose. Une des raisons peut être l'effet de cet extrait sur l'ADN des cellules cancéreuses du sein. La métastase est un événement biologique dynamique et complexe (Nikseresht et al., 2017).

Des études *in vivo* et *in vitro* ont été réalisées sur les effets cytotoxiques du taxol**,** qui a été découvert et prescrit comme médicament efficace pour le traitement de nombreuses maladies malignes. Tous ont approuvé qu'il s'agit d'un médicament toxique pour les cellules cancéreuses. Les scientifiques ont confirmé que le taxol tue les cellules cancéreuses en arrêtant le cycle cellulaire. L'effet du taxol à des concentrations de 2 à 20 nM a été étudié sur la lignée cellulaire MCF-7 (cancer du sein humain), la lignée cellulaire U373 (cancer des astrocytes humains), la lignée cellulaire HeLa (cancer du col de l'utérus humain), HT- 29 (cancer du côlon humain), la lignée cellulaire OVG-1 (cancer de l'ovaire humain), la lignée cellulaire A549 (cancer du poumon humain), et les lignées cellulaires PC-Sh et C-Zd (cancer du pancréas humain) (Liebmann et al., 1993). Les résultats ont montré que l'IC_{50} du taxol varie de 2,5 nM à 7,5 nM, selon le type de cellule, et sa cytotoxicité augmente de 5 à 500 fois dans différentes cellules à mesure que la durée du traitement passe de 24 h à 72 h. Selon les données, le taxol est une substance plus puissante pour traiter différents cancers, y compris le cancer du sein, cependant, les extraits de *M. chamomilla* sont moins toxiques pour les cellules naturelles humaines (Matić et al., 2013), mais ça reste le taxol ainsi que d'autres substances chimiques toxiques pour les cellules naturelles. Il a également été montré qu'une concentration donnée d'extrait de *M. chamomilla* est très toxique pour les cellules cancéreuses alors qu'elle n'a aucun effet toxique sur les cellules normales (Srivastava et al., 2009).

La perte de l'asymétrie phospholipidique de la membrane cellulaire qui conduit à l'extériorisation des liaisons sérine phosphatidylinositol vers la membrane externe est un marqueur précoce de l'apoptose à un stade précoce (Dadashpour et al., 2018).

D'autres composés associés à des activités cytotoxiques présents dans certaines plantes sont les phénols, les flavonoïdes et les terpénoïdes en tant que principaux métabolites secondaires disponibles des espèces de Salvia (Süntar et al., 2011 ; Topçu, 2006).

Dans notre travail, nous avons révélé la présence de nombreuses biomolécules qui ont déjà été reportées dans la littérature pour leur effet anticancéreux. Bartikova et al (2014) ont rapporté que les terpénoïdes à base de plantes ont une activité anticancérigène. Par exemple, le diterpène phytol, rapporté dans les extraits des feuilles et des tiges de nos deux plantes, a montré des propriétés anticancéreuses (Krishnamoorthy et Subramaniam, 2014). Aussi, Babu et Jayaraman (2020) ont démontré que le β-sitostérol a diverses actions biologiques parmi lesquels l'effet anticancéreux. Ce composé a été détecté dans l'extrait des fleurs de *C. mixus* et l'extrait des racines de *M. chamomilla*.

Parmi les divers acides gras détecté dans les extraits des plantes, on a trouvé l'acide palmitique dans les feuilles et fleurs de *C. mixtus* et dans les tiges de *M. chamomilla.* Ce composé a aussi montré un effet anticancéreux (Fattore et Fanelli, 2013).

Les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, ont longtemps été signalés comme agents chimiopréventifs dans le traitement du cancer (Ahmed et al., 2016 ; Block et al., 1992 ; Brusselmans et al., 2003 ; Mishra et al., 2013).

La quercétine, flavonoïde appartenant au sous-groupe des flavonols, a montré une activité anticancéreuse prometteuse contre le cancer du sein. Il a été rapporté que la quercétine présente un effet contre le cancer du sein sur le modèle de xénogreffe MCF-7 en régulant à la hausse miR-146 et en réduisant par la suite le volume tumoral (Tao et al., 2015). De plus, la quercétine a inhibé l'invasion du cancer du sein en augmentant l'expression de la protéine pro-apoptotique Bax et de la caspase-3 ainsi qu'en diminuant l'EGFR oncogène dans les cellules MDA-MB-231 et MCF-7. Des études *in vivo* ont rapporté que la quercétine réduisait considérablement le diamètre des tumeurs dans le modèle de souris transgénique C3(1)/SV40Tag de cancer du sein (Steiner et al., 2014).

Srivastava et al. (2007) ont démontré que l'apigénine-7-O-glucoside extraite de la *M. chamomilla* possède une activité anti-prolifération et anticancéreuse significativement plus élevée par rapport aux autres dérivés de glucoside. Les résultats d'une autre étude indiquent que l'extrait d'apigénine est le principal composé bioactif de l'extrait de *M. chamomilla* qui possède une activité anticancéreuse contre la lignée PC-3 (Srivastava et Gupta, 2009).

La lutéoline en tant que flavone s'est avérée avoir une puissante activité anticancéreuse (Tuorkey, 2016). Ce flavonoïde supprime un large éventail de tumeurs malignes et de croissance des cellules cancéreuses, y compris le cancer du sein, le cancer du côlon, le cancer du pancréas, le cancer de la prostate, le glioblastome, le cancer de la bouche, le cancer du rein, le cancer du foie, le cancer de l'ovaire, le cancer gastrique et le cancer de la peau (Imran et al., 2019). La lutéoline est capable d'induire l'apoptose des cellules cancéreuses en phosphorylant JNK et en inhibant la translocation de NF-κB en tant que facteur de transcription à partir du noyau (Tuorkey, 2016). Également, Anand et al. (2019) ont rapporté que le composé phénolique la vanilline était un anticancérigène.

De plus, les acides phénoliques sont une sous-classe de composés phénoliques végétaux, divisés en acides benzoïques et cinnamiques, qui sont associés à de puissantes activités anticancéreuses dans diverses études *in vitro* et *in vivo* (Abotaleb et al., 2020).

A noter que dans notre étude, on a trouvé la présence de 11 acides phénoliques (acides gallique, protocatéchuique, chlorogénique, salicylique, *p*-hydroxybenzoïque, caféique,

vanillique, syringique, rosmarinique, *p*-coumarique et férulique) dans les différents extraits de plantes sujet de ce travail. Les deux plantes sont également très riches en flavonoïdes aglycones et glycosides (lutéoline, apigénine, lutéoline-7-O-glucoside, apigénine-7-glucoside, quercétine, rutine, naringine, paraben de méthyle, catéchine, vanilline, kaempférol et isorhamnétine), ce qui explique l'activité anticancéreuse de *C. mixtus* et *M. chamomilla*.

V. Conclusion

Les données obtenues dans cette étude suggèrent que la majorité des extraits méthanoliques de *C. mixtus* ont une activité antiproliférative contre les trois lignées cellulaires fibroblastes pulmonaires humains normaux (MRC-5), carcinome mammaire humain (MCF-7) et carcinome de la prostate humain (PC-3) *in vitro* en utilisant le test MTT.

Parmi les quatre organes étudiés de *C. mixtus*, nous pouvons dire que l'extrait des feuilles a montré l'activité antiproliférative la plus significative suivi par l'extrait des fleurs sur les cellules MRC-5. La meilleure activité antiproliférative sur les cellules MCF-7 a été rapportée par les feuilles, suivis par les racines et les fleurs. Dans la lignée cellulaire de carcinome humain de la prostate PC-3, les extraits des feuilles et des fleurs ont fournis l'activité anticancéreuse la plus élevée.

De plus, tous les extraits de *M. chamomilla* avaient une activité antitumorale contre les cellules MRC-5 et MCF-7, les meilleurs résultats étant présentés par les fleurs.

Tous les extraits méthanoliques de *M. chamomilla* ont montré une intéressante activité anticancéreuse contre les cellules PC-3 et les meilleurs résultats ont été obtenus par les fleurs, suivies des racines, des feuilles et des tiges.

Le degré d'inhibition cellulaire a augmenté avec l'augmentation de la concentration des extraits de plantes.

C. mixtus et *M. chamomilla* sont considérées comme des plantes anticancéreuses en raison des faits qu'elles contiennent divers groupes de flavonoïdes, des acides phénoliques végétaux, des terpénoïdes, et des acides gras qui préviennent le cancer.

Conclusion générale

Dans la présente étude, la composition chimique et la teneur en phytomélatonine de différents organes de deux plantes aromatiques et médicinales utilisées en médecine traditionnelle au Maroc, *C. mixtus* et *M. chamomilla,* ont été analysées.

Parmi les activités biologiques, les capacités antioxydantes, antimicrobiennes et anticarcereuses ont été évaluées dans les différents organes : racines, tiges, feuilles et fleurs des deux plantes.

Les différentes techniques analytiques utilisées pour caractériser les composés biochimiques existants, telles que la HPLC-MS, ont permis d'identifier les acides phénoliques et les flavonoïdes dans les extraits méthanoliques des différents organes des deux plantes.

Chez les plantes *C. mixtus et M. chamomila*, 12 acides phénoliques ont été identifiés, tels que : les acides gallique, protocatétique, chlorogénique, salicylique, *p*-hydroxybenzoïque, caféique, vanillique, syringique, rosmarinique, ellagique, férulique et *p*-coumérique. Ceux-ci se trouvent dans les extraits de tous les organes de *C. mixtus,* à l'exception de l'acide vanillique qui était absent dans les fleurs. L'acide chlorogénique était majoritaire dans les fleurs et l'acide ellagique était le plus abondant dans les feuilles.

Chez *M. chamomila*, ces 12 acides phénoliques ont tous été trouvés dans les feuilles, alors que l'acide vanillique était absent dans les fleurs et les racines, et l'acide *p*-coumarique était absent dans les tiges. L'acide ellagique était prédominant dans les fleurs, les feuilles et les tiges tandis que l'acide chlorogénique était prédominant dans les racines.

Dans les deux plantes, l'acide gallique a montré la plus faible teneur dans les extraits des quatre organes analysés.

Concernant les flavonoïdes, les 12 molécules (apigénine, lutéoline, apigénine-7-O-glucoside, lutéoline-7-O-glucoside, quercétine, rutine, naringine, paraben de méthyle, catéchine, vanilline, kaempférol et isorhamnétine) ont été identifiées dans les quatre organes de *C. mixtus* analysés. L'apigénine-7-O-glucoside avait la teneur la plus élevée dans les extraits de feuilles, des tiges et des racines, tandis qu'il a été classé comme un deuxième composé majoritaire après la quercétine dans l'extrait des fleurs.

Dans les extraits des quatre organes de *M. chamomilla*, les 12 flavonoïdes mentionnés ont été trouvés, à l'exception de la catéchine, qui n'a été détéctée que dans les tiges. La rutine était majoritaire dans les extraits de fleurs et de tiges, tandis que l'apigénine-7-O-glucoside était majoritaire dans les feuilles et les racines.

En général, la fleur de *C. mixtus* a montré la plus haute teneur pour tous les acides phénoliques et les flavonoides comparés aux autres organes.

La phytomélatonine était présente dans tous les organes des deux plantes analysées, avec une teneur plus élevée dans les feuilles suivies des fleurs, mais toujours dans une proportion plus élevée chez *M. chamomilla* (4 fois) que chez *C. mixtus.*

En utilisant la technique GC-MS avec les extraits métaboliques des deux plantes, plusieurs composés ont été identifiés, tels que des terpénoïdes, des esters, des acides organiques et gras, des alcools, des cétones, des terpènes lactones, des aldéhydes, des vitamines et des dérivés d'acides benzoïques.

L'activité antioxydante a été mesurée utilisant les tests ABTS et DPPH dans les extraits méthanoliques des deux plantes. Avec la technique ABTS, une meilleure activité antioxydante a été trouvée chez *C. mixtus* que chez *M. chamomilla*, étant plus élevée dans les racines. En utilisant DPPH, encore une fois, l'activité antioxydante était plus élevée chez *C. mixtus* (extrait des fleurs) que chez *M. chamomilla* (extrait des racines).

Par ailleurs, l'activité antioxydante hydrophile des extraits aqueux des deux plantes a montré qu'elle était la plus dominante dans le test ABTS, alors que l'activité antioxydante lipophile des extraits organiques d'acétate d'éthyle a représenté la majorité de l'activité antioxydante totale pour la plupart des organes testés par DPPH.

L'activité antimicrobienne, mesurée contre les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, a montré que les deux plantes ont une activité bactéricide avec une plus grande activité dans les extraits floraux de *M. chamomilla* et ceux des feuilles de *C. mixtus*.

Contre les champignons, l'activité antifongique des extraits méthanoliques des fleurs et des feuilles des deux plantes contre la souche *Trichophyton rubrum* a donné des très bons résultats. Cependant, les extraits des deux plantes, bien qu'ils aient également montré une activité antifongique, étaient moins efficaces contre *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*.

L'activité antitumorale des extraits des deux plantes, analysée par le test MTT suivi par une évaluation microscopique, a été réalisée dans trois lignées cellulaires cancéreuses : les

fibroblastes pulmonaires humains normaux (MRC-5), le carcinome mammaire humain (MCF7) et le carcinome prostatique humain. (PC-3). Les résultats sont très encourageants. Plus précisément, les extraits de feuilles de *C. mixtus* ont donné une activité antiproliférative significative contre les trois lignées cellulaires analysées. Les analyses des plantes de *M. chamomilla* ont montré une activité antitumorale intéressante lorsque l'extrait obtenu à partir des fleurs a été utilisé.

On peut conclure que tous les extraits de *C. mixtus* et de *M. chamomilla* sont très riches en composés chimiques secondaires qui produisent des activités antioxydantes, antimicrobiennes et antitumorales et que, même avec quelques petites différences entre eux et selon les organes analysés, ces composés sont toujours obtenus en plus grande proportion dans les fleurs de *M. chamomilla*.

Perspectives

Nos prochains travaux de recherche pourraient se baser sur les axes suivants :

- L'étude approfondie du mode d'action des extraits végétaux, spécialement ceux ayant montré une forte activité antioxydante, antibactérienne, antifongique et anticancer afin de mieux comprendre leur mécanisme d'action.
- Séparation moléculaire et étude approfondie du mode d'action de chaque biomolécule.
- Identification et caractérisation d'autres composés phénoliques.
- Etudes de l'activité des extraits de deux plantes sur d'autres souches pathogènes et d'autres lignes de cellules cancéreuses.

Références bibliographiques

Aafi A., Achhal A. K., Benabid A. et Rouchdi, M. (2005) Richesse et diversité floristique de l'écosystème de chêne-liège de la forêt de la Mamora. *Acta Bot. Malacitana*, 30: 127-138.

Abdalla, R. M., & Abdelgadir, A. E. (2016). Antibacterial activity and phytochemical constituents of *Cinnamomum verum* and *Matricaria chamomilla* from Sudan. *Bio Bulletin*, *2*(2), 01-0.

Abdoul-Latif, F.M.; Mohamed, N.; Edou, P.; Ali, A.A.; Djama, S.O.; Obame, L.C.; Bassolé, I.H.N.; Dicko, M.H. (2011). Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and methanol extract of *Matricaria chamomilla* L. from Djibouti. *J. Med. Plants Res* , 5, 1512–1517.

Abid, R., Ghazanfar, S., Farid, A., Sulaman, S. M., Idrees, M., Amen, R. A., ... & Alharbi, B. (2022). Pharmacological Properties of 4′, 5, 7-Trihydroxyflavone (Apigenin) and Its Impact on Cell Signaling Pathways. *Molecules*, *27*(13), 4304.

Abotaleb, M., Liskova, A., Kubatka, P., & Büsselberg, D. (2020). Therapeutic potential of plant phenolic acids in the treatment of cancer. *Biomolecules*, *10*(2), 221.

Aboul-Enein, A. M., Faten, A. E. E., Emad, A. S., & Hany, A. E. S. (2012). Traditional medicinal plants research in Egypt: Studies of antioxidant and anticancer activities. *Journal of Medicinal Plants Research*, *6*(5), 689-703.

African Plant Database. (2012). Conservatoire et Jardin Botaniques de la Ville de Genève and South African National Biodiversity Institute, Pretoria. http://www.ville-ge.ch/musinfo/ bd/cjb/africa/

Agati, G., Brunetti, C., Fini, A., Gori, A., Guidi, L., Landi, M., ... & Tattini, M. (2020). Are flavonoids effective antioxidants in plants? Twenty years of our investigation. *Antioxidants*, *9*(11), 1098.

Ahani Azari, A., & Danesh, A. (2021). Antibacterial effect of *Matricaria chamomilla* alcoholic extract against drug-resistant isolates of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Infection Epidemiology and Microbiology*, *7*(1), 29-35.

Ahmed, S. I., Hayat, M. Q., Tahir, M., Mansoor, Q., Ismail, M., Keck, K., & Bates, R. B. (2016). Pharmacologically active flavonoids from the anticancer, antioxidant and antimicrobial extracts of Cassia angustifolia Vahl. *BMC complementary and alternative medicine*, *16*(1), 1-9.

Ahsan, T., Chen, J., Zhao, X., Irfan, M., & Wu, Y. (2017). Extraction and identification of bioactive compounds (eicosane and dibutyl phthalate) produced by Streptomyces strain KX852460 for the biological control of *Rhizoctonia solani* AG-3 strain KX852461 to control target spot disease in tobacco leaf. *AMB Express*, *7*(1), 1-9.

Akdime, H., Boukhira, S., Mansouri, L. E. L., El Youbi, A. H., & Bousta, D. (2015). Ethnobotanical Study and Traditional Knowledge of Medicinal Plants in Ain Leuh Region (Middle-Atlas of Morocco). *American Journal of Advanced Drug Delivery*, 3(3), 248–263.

Akinmoladun, A. C., Ibukun, E. O., Afor, E., Akinrinlola, B. L., Onibon, T. R., Akinboboye, A. O., ... & Farombi, E. O. (2007). Chemical constituents and antioxidant activity of Alstonia boonei. *African journal of biotechnology*, *6*(10).

Alberts W.G. (2009). German chamomile production. Directorate Agricultural Information Services. Department of Agriculture. Private Bag X144, Pretoria, 0001 South Africa, 19 p.

Al-Dabbagh, B., Elhaty, I. A., Elhaw, M., Murali, C., Al Mansoori, A., Awad, B., & Amin, A. (2019). Antioxidant and anticancer activities of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *BMC research notes*, *12*(1), 1-8.

Ali A.E., Ali S.M.ElH., El-Rhman S.A.E.A., Mohamed M.A.ElM (2020). Brine-shrimp lethality bioassay of different extracts of the medicinal plant matricaria (chamomilla) flowers. *Research Square*, 10-15.

Ali, I. H., & Doumandji, A. (2017). Comparative phytochemical analysis and in vitro antimicrobial activities of the cyanobacterium *Spirulina platensis* and the green alga Chlorella pyrenoidosa: potential application of bioactive components as an alternative to infectious diseases. *Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, Section Sciences de la Vie*, *39*, 41-49.

Al-Jadidi, H. S. K., & Hossain, M. A. (2016). Determination of the total phenols, flavonoids and antimicrobial activity of the crude extracts from locally grown neem stems. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(5), 376-379.

Alkuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Albuhadilly, A. K., & Alwindy, S. (2015). *In vitro* assessment of the antibacterial activity of *Matricaria chamomile* alcoholic extract against pathogenic bacterial strains. *Br Microbiol Res J*, *7*(2), 55-61.

Al-Momani, W., Abu-Basha, E., Janakat, S., Nicholas, R.A.J. & Ayling, R.D. (2007). *In vitro* antimycoplasmal activity of six Jordanian medicinal plants against three *Mycoplasma* species. *Tropical Animal Health* and *Production,* 39(7), 515–519.

Al-Niaeem, K. S., Abdulrahman, N. M. A., & Attee, R. S. (2019). Using of Anise (Pimpinella anisum) and Chamomile (Matricaria chamomilla) powders for common carp Cyprinus carpio L . anesthesia Using of Anise (Pimpinella anisum) and Chamomile (Matricaria chamomilla) powders for common carp Cyprinus carpio L . an. *Biological and Applied Environmental Research*, *3*(2), 111–117.

Alsaadi, S. A. R. A., Al-Perkhdri, A. S. A., & Al-Hadeedy, I. Y. H. (2020). Effects of *Matricaria chamomilla* flower aqueous extract on some hematological, biochemical parameters and carcass traits in Iraqi local rabbits. *Plant Archives*, 20(2), 1044–1049.

Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G., & Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, *6*(4), 42.

Amsterdam J.D., Li Q.S., Xie S.X., Mao J.J. (2020). Putative antidepressant effect of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) oral extract in subjects with comorbid generalized anxiety disorder and depression. Journal of Alternative and Complementary Medicine, 26(9), 813-819.

Amzazi, S., Ghoulami, S., Bakri, Y., Idrissi, A. I., Fkih-Tétouani, S., & Benjouad, A. (2003). Human immunodeficiency virus type 1 inhibitory activity of Mentha longifolia. *Therapies*, 58(6), 531-534.

Anand, A., Khurana, R., Wahal, N., Mahajan, S., Mehta, M., Satija, S., ... & Khurana, N. (2019). Vanillin: A comprehensive review of pharmacological activities. *Plant Arch*, *19*(2), 1000-1004.

Anderson, C.M., Halleberg, A., & Hogberg, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxydants. *Advances in Drug Research*, 28, 65-180. Academic Press.

Angerhofer, C. K., Pezzuto, J. M., König, G. M., Wright, A. D., & Sticher, O. (1992). Antimalarial activity of sesquiterpenes from the marine sponge Acanthella klethra. *Journal of natural products*, *55*(12), 1787-1789.

Angiosperm Phylogeny Website (APG). Version 14, July, 2017, n.d. ⟨http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/⟩

Apak, R., Çapanoğlu, E., & Shahidi, F. (2018). Measurement of antioxidant activity and capacity: *Recent Trends and Applications*. Functional Foods Science and Technology Series. John Wiley and Sons Ltd. Published. Oxford, UK, p. 117-139.

Apaza, M. J. T. (2015). Efecto antibacteriano sobre el Streptococcus mutans (ATCC® 25175) y perfil de compuestos fenólicos de la manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) cultivada en Puno. *Revista Investigaciones Altoandinas*, *17*(2), 173-182.

Arif, T., Bhosale, J. D., Kumar, N., Mandal, T. K., Bendre, R. S., Lavekar, G. S., & Dabur, R. (2009). Natural products–antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian natural products research*, *11*(7), 621-638.

Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2009). Assessment of different sample processing procedures applied to the determination of melatonin in plants. *Phytochemical Analysis*, *20*(1), 14-18.

Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2019). Melatonin: a new plant hormone and/or a plant master regulator?. *Trends in Plant Science*, *24*(1), 38-48.

Arnao, M. B., & Hernández-Ruiz, J. (2020). Is phytomelatonin a new plant hormone?. *Agronomy*, *10*(1), 95.

Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (1999). Methods to measure the antioxidant activity in plant material. A comparative discussion. *Free Radical Research*, *31*(1), 89-96.

Arnao, M. B., Cano, A., & Acosta, M. (2001b). The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food chemistry*, *73*(2), 239-244.

Arnao, M. B., Cano, A., Alcolea, J. F., & Acosta, M. (2001a). Estimation of free radical-quenching activity of leaf pigment extracts. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, *12*(2), 138-143.

Asimi, O. A., Sahu, N. P., & Pal, A. K. (2013). Antioxidant activity and antimicrobial property of some Indian spices. *International Journal of Scientific and Research Publications*, *3*(3), 1-8.

Asuero, A. G., Sayago, A., & González, A. G. (2006). The correlation coefficient: An overview. *Critical reviews in analytical chemistry*, *36*(1), 41-59.

Axelson, M., Sjovall, J., Gustafsson, B.E., & Setchell, K.D. (1982). Origin of lignans in mammals and identification of a precursor from plants. *Nature*, 298(5875), 659-660.

Babu, S., & Jayaraman, S. (2020). An update on β-sitosterol: A potential herbal nutraceutical for diabetic management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *131*, 110702.

Bachar, M., Zidane, L., & Rochdi, A. (2016). Plantes Médicinales et Phytothérapie Traditionnelle utilisées au niveau du Parc Naturel Régional de Bouhachem « Rif du Maroc »: Cas de la commune rurale de Tazroute. *Journal of Materials and Environnemental Science*,*7*(11), 4175–4204.

Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, *99*(1), 191-203.

Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, *6*(2), 71–79. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005

Bammi, J., & Douira, A. (2004). Contribution à la connaissance de la flore vasculaire de l'Achach, plateau central (Maroc). *Acta botanica malacitana*, 29: 23-41.

Barene, I., Daberte, I., Zvirgzdina, L., & Iriste, V. (2003). The complex technology on products of German chamomile. *Medicina (Kaunas)*, *39*(Suppl 2), 127-131.

Barkaoui, M., Katiri, A., Boubaker, H., & Msanda, F. (2017). Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes in Chtouka Ait Baha and Tiznit (Western Anti-Atlas), Morocco. *Journal of ethnopharmacology*, *198*, 338-350.

Barrero, A. F., del Moral, J. F. Q., Lara, A., & Herrador, M. M. (2005). Antimicrobial activity of sesquiterpenes from the essential oil of Juniperus thurifera wood. *Planta medica*, *71*(01), 67-71.

Barros, L., Calhelha, R. C., Vaz, J. A., Ferreira, I. C., Baptista, P., & Estevinho, L. M. (2007). Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *European Food Research and Technology*, *225*(2), 151-156.

Bartikova, H., Hanusova, V., Skalova, L., Ambroz, M., & Bousova, I. (2014). Antioxidant, pro-oxidant and other biological activities of sesquiterpenes. *Current topics in medicinal chemistry*, *14*(22), 2478-2494.

Belayachi, L., Aceves-Luquero, C., Merghoub, N., Bakri, Y., de Mattos, S. F., Amzazi, S., & Villalonga, P. (2013). Screening of North African medicinal plant extracts for cytotoxic activity against tumor cell lines. *Eur J Med Plants*, 3, 310-32.

Belhamel, I., Belaachi, B., & Zellagui, A. (2021). Les Huiles essentiels à usage therapeuthique.

Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Edition Ibis press.

Benammar, C., Hichami, A., Yessoufou, A., Simonin, A. M., Belarbi, M., Allali, H., & Khan, N. A. (2010). *Zizyphus lotus* L. (Desf.) modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC complementary and alternative medicine*, *10*(1), 1-9.

Benítez, G., González-Tejero, M. R., & Molero-Mesa, J. (2010). Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): ethnopharmacological synthesis. *Journal of Ethnopharmacology*, *129*(1), 87–105.

Benjilali, B., & Zrira, S. (2005). Plantes aromatiques et médicinales, atouts du secteur et exigences pour une valorisation durable. *Actes éditions*, IAV Hassan II, Rabat N, p346.

Bennett, G.J., & Lee H.H. (1989). Xanthones from Guttiferae. *Phytochemistry*, 28 (4), 967-998.

Berg, P.A., Daniel, P.T. (1988). Plant Flavonoids in Biology and Medicine II. *Progress in Clinical and Biological Research*, Cody V, Middleton E, Harborne JB (Eds) 280, Liss AR Inc., New York, 157-171.

Berghe, W. V. (2012). Epigenetic impact of dietary polyphenols in cancer chemoprevention: lifelong remodeling of our epigenomes. *Pharmacological research*, *65*(6), 565-576.

Bhavaniramya, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., Vijayakumar, R., & Baskaran, D. (2019). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science and Technology, 2*, 49–55.

Biasi-Garbin, P.R., Saori Otaguiri, E., Morey, A. T., Fernandes da Silva, M., Belotto Morguette, A. E., Armando Contreras Lancheros, C., ... & Yamada-Ogatta, S. F. (2015). Effect of eugenol against *Streptococcus agalactiae* and synergistic interaction with biologically produced silver nanoparticles. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

Block, G., Patterson, B., & Subar, A. (1992). Fruit, vegetables, and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutrition and cancer*, *18*(1), 1-29.

Botzki, A., Rigden, D. J., Braun, S., Nukui, M., Salmen, S., Hoechstetter, J., ... & Buschauer, A. (2004). L-Ascorbic acid 6-hexadecanoate, a potent hyaluronidase inhibitor: X-

Ray structure and molecular modeling of enzyme-inhibitor complexes. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(44), 45990-45997.

Boudet, A. M. (2007). Evolution and current status of research in phenolic compounds. *Phytochemistry*, *68*(22-24), 2722-2735.

Boudıeb, K., Kaki, S. A. S. A., Oulebsir-Mohandkaci, H., & Bennacer, A. (2018). Phytochemical characterization and antimicrobial potentialities of two medicinal plants, *Chamaemelum nobile* (L.) All and *Matricaria chamomilla* (L.). *Int. J. Innov. Approaches Sci. Res*, *2*, 126-139.

Bouhafsoun, A., Yilmaz, M. A., Boukeloua, A., Temel, H., & Harche, M. K. (2018). Simultaneous quantification of phenolic acids and flavonoids in Chamaerops humilis L. using LC–ESI-MS/MS. *Food Science and Technology*, *38*, 242-247.

Bouhlal, T., Loukili, K., Zidane, L., & Fadli, M. (2017). Plants used in traditional medicines by the human population of the Gharb plain (Morocco). *Journal of Medicinal Plants Studies*, 5(5), 170–174.

Bouyahya, A., Abrini, J., El-Baabou, A., Bakri, Y., & Dakka, N. (2016). Determination of phenol content and antibacterial activity of five medicinal plants ethanolic extracts from North-West of Morocco. *J Plant Pathol Microbiol*,7(342), 2.

Bouyahya, A., Abrini, J., Et-Touys, A., Bakri, Y., & Dakka, N. (2017a). Indigenous knowledge of the use of medicinal plants in the North-West of Morocco and their biological activities. *European Journal of Integrative Medicine*, *13*, 9-25.

Bouyahya, A., Bakri, Y., Khay, E. O., Edaoudi, F., Talbaoui, A., Et-Touys, A., Abrini, J., & Dakka, N. (2017b). Antibacterial, antioxidant and antitumor properties of Moroccan medicinal plants: a review. *Asian Pac J Trop Dis*, *7*(1), 57-64.

Brühlmann, C., Marston, A., Hostettmann, K., Carrupt, P. A., & Testa, B. (2004). Screening of non-alkaloidal natural compounds as acetylcholinesterase inhibitors. *Chemistry & biodiversity*, *1*(6), 819-829.

Bruneton, J. (1999) Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3ème édition. Tec&Doc. Paris.

Brusselmans, K., De Schrijver, E., Heyns, W., Verhoeven, G., & Swinnen, J. V. (2003). Epigallocatechin-3-gallate is a potent natural inhibitor of fatty acid synthase in intact cells and selectively induces apoptosis in prostate cancer cells. *International Journal of Cancer*, *106*(6), 856-862.

Bubalo, M. C., Vidović, S., Redovniković, I. R., & Jokić, S. (2018). New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. *Food and Bioproducts Processing*, *109*, 52-73.

Buchanan, B., Gruissem, W., & Jones, R. (2000). American Society of Plant Physiologists, chapitre 24, 1250-1318.

Buckle, J. (2003). Basic plant taxonomy, chemistry, extraction, biosynthesis, and analysis, Clinical Aromatherapy. Essential Oils in Practice, 2nd Edition, chapter 3, 38-75.

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Carocho, M., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2016a). Fortification of yogurts with different antioxidant preservatives: A comparative study between natural and synthetic additives. *Food Chemistry*, *210*, 262–268. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.114

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Ciric, A., João, C. M., Sokovic, M., Oliveira, M. B. P. P., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Development of a functional dairy food : exploring bioactive and preservation effects of chamomile (*Matricaria recutita* L.). *Journal of Functional Foods*, 16, 114–124.

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits. *Food Chemistry*, *216*, 342–346. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.075

Caleja, C., Ribeiro, A., Barros, L., Barreira, J. C. M., Antonio, A. L., Oliveira, M. B. P. P., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. F. R. (2016b). Cottage cheeses functionalized with fennel and chamomile extracts: Comparative performance between free and microencapsulated forms. *Food Chemistry*, *199*, 720–726.

Calinescu, I., Lavric, V., Asofiei, I., Gavrila, A. I., Trifan, A., Ighigeanu, D., ... & Matei, C. (2017). Microwave assisted extraction of polyphenols using a coaxial antenna and a cooling system. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, *122*, 373-379.

Can, E., Kizak, V., Özçiçek, E., & Seyhaneyildiz Can, Ş. (2017). The efficacy of chamomile (*Matricaria chamomilla*) oil as a promising anaesthetic agent for two freshwater aquarium fish species. *Israeli Journal of Aquaculture - Bamidgeh*, *69*.

Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., & Akpulat, H. A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. millefolium Afan.(Asteraceae). *Journal of ethnopharmacology*, *87*(2-3), 215-220.

Cano, A., & Arnao, M. B. (2018). ABTS/TEAC (2, 2′-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)/Trolox®-Equivalent Antioxidant Capacity) radical scavenging mixed-mode assay. *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications. Chichester: Wiley*, chapter 7, p 117-139.

Carvalho, A. F., Silva, D. M., Silva, T. R. C., Scarcelli, E., & Manhani, M. R. (2014). Evaluation of the antibacterial activity of ethanolic and cyclohexane extracts of chamomile flowers (*Matricaria chamomilla* L.). *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, *16*, 521-526.

Catani, M. V., Rinaldi, F., Tullio, V., Gasperi, V., & Savini, I. (2021). Comparative Analysis of Phenolic Composition of Six Commercially Available Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Extracts: Potential Biological Implications. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(19), 10601.

Catier, O., & Roux, D. (2007). *Botanique, pharmacognosie, phytothérapie : Cahier du préparateur en pharmacie* (3ème ed: Wolters Kluwer).

Cevallos-Casals, B.A. & Cisneros-Zevallos, L. (2010). Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, 119(4), 1485-1490.

Chaachouay, N., Douira, A., & Zidane, L. (2022). Herbal medicine used in the treatment of human diseases in the Rif, Northern Morocco. *Arabian Journal for Science and Engineering*, *47*(1), 131-153.

Chan, L. P., Chou, T. H., Ding, H. Y., Chen, P. R., Chiang, F. Y., Kuo, P. L., & Liang, C. H. (2012). Apigenin induces apoptosis via tumor necrosis factor receptor-and Bcl-2-mediated pathway and enhances susceptibility of head and neck squamous cell carcinoma to 5-fluorouracil and cisplatin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, *1820*(7), 1081-1091.

Chandrasekaran, M., Senthilkumar, A., & Venkatesalu, V. (2011). Antibacterial and antifungal efficacy of fatty acid methyl esters from the leaves of Sesuvium portulacastrum L. *European review for medical and pharmacological sciences*, *15*(7), 775-780.

Chaouki, W., Meddah, B., & Hmamouchi, M. (2015). Antiproliferative activity of *Origanum compactum* extract on lung cancer and hepatoma cells. *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1(1), 44-56.

Chathuranga, K., Weerawardhana, A., Dodantenna, N., Ranathunga, L., Cho, W. K., Ma, J. Y., & Lee, J. S. (2021). Inhibitory effect of *Sargassum fusiforme* and its components on replication of respiratory syncytial virus in vitro and in vivo. *Viruses*, *13*(4), 548.

Chaves, J. O., De Souza, M. C., Da Silva, L. C., Lachos-Perez, D., Torres-Mayanga, P. C., Machado, A. P. D. F., ... & Rostagno, M. A. (2020). Extraction of flavonoids from natural sources using modern techniques. *Frontiers in Chemistry*, *8*, 507887.

Chen, T. C., Da Fonseca, C. O., & Schönthal, A. H. (2015). Preclinical development and clinical use of perillyl alcohol for chemoprevention and cancer therapy. *American journal of cancer research*, *5*(5), 1580.

Cheng, A. X., Lou, Y. G., Mao, Y. B., Lu, S., Wang, L. J., & Chen, X. Y. (2007). Plant terpenoids: biosynthesis and ecological functions. *Journal of integrative plant biology*, *49*(2), 179-186.

Chiriac, E. R., Chiţescu, C. L., Geană, E. I., Gird, C. E., Socoteanu, R. P., & Boscencu, R. (2021). Advanced analytical approaches for the analysis of polyphenols in plants matrices—A review. *Separations*, *8*(5), 65.

Chuah, X. Q., Okechukwu, P. N., Amini, F., & Teo, S. S. (2018). Eicosane, pentadecane and palmitic acid: The effects in in vitro wound healing studies. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *8*(10), 490.

Chung, K. T., Wei, C. I., & Johnson, M. G. (1998). Are tannins a double-edged sword in biology and health?. *Trends in Food Science & Technology*, 9(4), 168-175.

Ćirić, A., Karioti, A., Glamočlija, J., Soković, M., & Skaltsa, H. (2011). Antimicrobial activity of secondary metabolites isolated from *Centaurea spruneri Boiss*. & Heldr. *Journal of the Serbian Chemical Society*, *76*(1), 27-34.

CLSI. (2008). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; third informational supplement. CLSI Document M27–S3. Wayne, PA. Clin. Lab. Stand. Inst. 28.

CLSI. (2009). Method for dilution antimicrobial susceptibility tests of bacteria that grow aerobically; approved standard-eighth edition. CLSI Document M07–A8. Wayne, PA. Clin. Lab. Stand. Inst. 29.

Cornwell, T., Cohick, W., & Raskin, I. (2004). Dietary phytoestrogens and health. *Phytochemistry*, *65*(8), 995-1016.

Court, W. E. (2000). Ginseng: the history of an insignificant plant. *Pharmaceutical historian, 30*(3), 38-44.

Cushnie, T. T., & Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, *26*(5), 343-356.

Cvetanović, A., Švarc-Gajić, J., Mašković, P., Savić, S., & Nikolić, L. (2015). Antioxidant and biological activity of chamomile extracts obtained by different techniques: perspective of using superheated water for isolation of biologically active compounds. *Industrial Crops and Products*, *65*, 582-591.

Da Fonseca, C. O., & Schwartsmann, G., Fischer, J., Nagel, J., Futuro, D., Quirico-Santos, T., & Gattass, C. R. (2008). Preliminary results from a phase I/II study of perillyl alcohol intranasal administration in adults with recurrent malignant gliomas. *Surgical neurology*, *70*(3), 259-266.

Da Silva, R. P., Rocha-Santos, T. A., & Duarte, A. C. (2016). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *76*, 40-51.

Dadashpour, M., Firouzi-Amandi, A., Pourhassan-Moghaddam, M., Maleki, M. J., Soozangar, N., Jeddi, F., ... & Pilehvar-Soltanahmadi, Y. (2018). Biomimetic synthesis of silver nanoparticles using Matricaria chamomilla extract and their potential anticancer activity against human lung cancer cells. *Materials Science and Engineering: C*, *92*, 902-912.

Das, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, *4*(2), 104-111.

Das, S., Horváth, B., Šafranko, S., Jokić, S., Széchenyi, A., & Kőszegi, T. (2019). Antimicrobial activity of chamomile essential oil: Effect of different formulations. *Molecules*, *24*(23), 4321.

Davies, P. J. (Ed.). (2013). *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology*. Springer Science & Business Media, 1-12.

Devi, K. P., Sakthivel, R., Nisha, S. A., Suganthy, N., & Pandian, S. K. (2013). Eugenol alters the integrity of cell membrane and acts against the nosocomial pathogen Proteus mirabilis. *Archives of pharmacal research*, *36*(3), 282-292.

Di Domenico, F., Foppoli, C., Coccia, R., & Perluigi, M. (2012). Antioxidants in cervical cancer: chemopreventive and chemotherapeutic effects of polyphenols. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1822(5), 737-747.

Di Novella, R., Di Novella, N., De Martino, L., Mancini, E., & De Feo, V. (2013). Traditional plant use in the National Park of Cilento and Vallo di Diano, Campania, Southern, Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, *145*(1), 328–342.

Dixon, R. A., Achnine, L., Kota, P., Liu, C. J., Reddy, M. S., & Wang, L. (2002). The phenylpropanoid pathway and plant defence-a genomics perspective. Molecular plant pathology, 3(5), 371-390.

Dobignard A, Chatelain C (2010-2013). Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord. Conservatoire et Jardin botaniques.

Dogru, E., Demirbas, A., Altinsoy, B., Duman, F., & Ocsoy, I. (2017). Formation of Matricaria chamomilla extract-incorporated Ag nanoparticles and size-dependent enhanced antimicrobial property. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *174*, 78-83.

Droge, W.(2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.

Duraipandiyan, V., Abdullah Al-Harbi, N., Ignacimuthu, S., & Muthukumar, C. (2012). Antimicrobial activity of sesquiterpene lactones isolated from traditional medicinal plant, Costus speciosus (Koen ex. Retz.) Sm. *BMC complementary and alternative medicine*, *12*(1), 1-6.

Ebrahimi, H., Mardani, A., Basirinezhad, M. H., Hamidzadeh, A., & Eskandari, F. (2022). The effects of Lavender and Chamomile essential oil inhalation aromatherapy on depression, anxiety and stress in older community-dwelling people: A randomized controlled trial. *Explore*, *18*(3), 272-278.

Eddouks, M., Ajebli, M., & Hebi, M. (2017). Ethnopharmacological survey of medicinal plants used in Daraa-Tafilalet region (Province of Errachidia), Morocco. *Journal of ethnopharmacology*, (*198)*, 516-530.

El Amri, J., El Badaoui, K., Zair, T., Bouharb, H., Chakir, S., & Alaoui, T. E. M. (2015). Ethnobotanical study of medicinal plants in the region El Hajeb (central Morocco). *Journal of Research in Biology*,*4*(8), 1568-80.

El Moussaoui, N., Sanchez, G., Idaomar, M., Mansour, A. I., Abrini, J., & Aznar, R. (2013). Antibacterial and antiviral activities of essential oils of Northern Moroccan plants. *British Biotechnology Journal*, *3*(3), 318

El Omari, B., Fleck, I., Aranda, X., Abadía, A., Cano, A., & Arnao, M. B. (2003). Total antioxidant activity in Quercus ilex resprouts after fire. *Plant Physiology and Biochemistry*, *41*(1), 41-47.

Eldeen, I.M.S., Elgorashi, E.E. & Van Staden, J. (2005). Antibacterial anti-inflammatory anti-cholinesterase and mutagenic effects of extracts obtained from some trees used in South African traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology, 102*(3), 457-464.

El-Din, S. M. M., & El-Ahwany, A. M. (2016). Bioactivity and phytochemical constituents of marine red seaweeds (Jania rubens, Corallina mediterranea and Pterocladia capillacea). *Journal of Taibah University for Science*, *10*(4), 471-484.

Elegir, G., Kindl, A., Sadocco, P., & Orlandi, M. (2008). Development of antimicrobial cellulose packaging through laccase-mediated grafting of phenolic compounds. *Enzyme and microbial technology*, *43*(2), 84-92.

Elouaddari, A., Elamrani, A., Moutia, M., Oubrim, N., Habti, N., & JamalEddine, J. (2019). Chemical composition and evaluation of antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of Moroccan Cladanthus mixtus essential oil and extracts. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *22*(6), 1450-1466.

Elsemelawy, S.A. (2017). Antidiabetic and antioxidative activity of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) powder on diabetic rats. *J. Stud. Searches Specif. Educ.*, *3*, 97–112.

Emmanuel MM, Didier DS (2012). Traditional knowledge on medicinal plants use by ethnic communities in Douala, Cameroon. *European Journal of Medicinal Plants,* (2), 159-176.

Erb, M., & Kliebenstein, D. J. (2020). Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: the blurred functional trichotomy. *Plant physiology*, *184*(1), 39-52.

Erbiai, E. H., da Silva, L. P., Saidi, R., Lamrani, Z., Esteves da Silva, J. C., & Maouni, A. (2021). Chemical composition, bioactive compounds, and antioxidant activity of two wild edible mushrooms Armillaria mellea and Macrolepiota procera from two countries (Morocco and Portugal). *Biomolecules*, *11*(4), 575.

EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing) (2003). Discussion document, determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. Clin. Microbiol. Infect. 9(8): 1-7.

European Medicines Agency. Assessment report on Matricaria recutita L., flos and Matricaria recutita L., aetheroleum. EMA/HMPC/55837/2011. 2015. https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/mat- ricariae-flos.

European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) 10th Edition|EDQM-European Directorate for the Quality of Medicines. Available online: https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-10th-edition.

Fakchich, J., & Elachouri, M. (2014). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by people in Oriental Morocco to manage various ailments. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(1), 76–87.

Falleh, H., Ben Jemaa, M., Saada, M., & Ksouri, R. (2020). Essential oils: A promising ecofriendly food preservative. *Food Chemistry,* 330, Article 127268.

Farhadi, F., Khameneh, B., Iranshahi, M., & Iranshahy, M. (2019). Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: An update review. *Phytotherapy Research*, *33*(1), 13-40.

Faria, G. M., Soares, I. D., & D'Alincourt Salazar, M., Amorim, M. R., Pessoa, B. L., da Fonseca, C. O., & Quirico-Santos, T. (2020). Intranasal perillyl alcohol therapy improves survival of patients with recurrent glioblastoma harboring mutant variant for MTHFR rs1801133 polymorphism. *BMC cancer*, *20*(1), 1-10.

Faridha Begum, I., Mohankumar, R., Jeevan, M., & Ramani, K. (2016). GC–MS analysis of bio-active molecules derived from Paracoccus pantotrophus FMR19 and the antimicrobial activity against bacterial pathogens and MDROs. *Indian journal of microbiology*, *56*(4), 426-432.

Fathima, A., & Rao, J. R. (2016). Selective toxicity of Catechin—a natural flavonoid towards bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, *100*(14), 6395-6402.

Fattore, E., & Fanelli, R. (2013). Palm oil and palmitic acid: a review on cardiovascular effects and carcinogenicity. *International journal of food sciences and nutrition*, *64*(5), 648-659.

Favier, F.(2003). Le stress oxydant. L'actualité chimique, 108-115.

Fennane M. (1987). Etude phytoécologique des tétraclinaies marocaines. Thèse de Doctorat. Aix-Marseille 3 (= Fennane M. (1988). Phytosociologie des tétraclinaies marocaines. Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, 1988, (12), 99-148. http://www.israbat.ac.ma/wp-content/uploads/2015/06/11-%20Fennane%20(99-148).pdf).

Ferlay, J., Ervik, M., Lam, F., Colombet, M., Mery, L., Piñeros, M., et al. (2020) Observatoire mondial du cancer: « Cancer Today ». Lyon : Centre international de recherche sur le cancer, 2020 (https://gco.iarc.fr/today, consulté en février 2021)

Formisano, C., Delfine, S., Oliviero, F., Tenore, G. C., Rigano, D., & Senatore, F. (2015). Correlation among environmental factors, chemical composition and antioxidative properties of essential oil and extracts of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) collected in Molise (South-central Italy). *Industrial crops and products*, *63*, 256-263.

Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Raimondo, F. M., Maggio, A., & Bruno, M. (2012). Essential oil composition and antibacterial activity of *Anthemis mixta* and A. tomentosa (Asteraceae). *Natural Product Communications*, *7*(10), 1934578X1200701035.

Fraihat, A., Alatrash, L., Abbasi, R., Abu-Irmaileh, B., Hamed, S., Mohammad, M., ... & Bustanji, Y. (2018). Inhibitory effects of methanol extracts of selected plants on the

proliferation of two human melanoma cell lines. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, *17*(6), 1081-1086.

Franchomme, P. (2001). L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Ed. Jollois.490.

Franco, E. P. D. D., Contesini, F. J., Lima da Silva, B., Alves de Piloto Fernandes, A. M., Wielewski Leme, C., Goncalves Cirino, J. P., ... & de Oliveira Carvalho, P. (2020). Enzyme-assisted modification of flavonoids from Matricaria chamomilla: antioxidant activity and inhibitory effect on digestive enzymes. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, *35*(1), 42-49.

Franke, R., Schilcher, H. *Chamomile: Industrial Profiles*; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2005; 304p

Franz, C., Bauer, R., Carle, R., & Tedesco, D. (2007). Study on the assessment of plants/herbs, plant/herb extracts and their naturally or synthetically produced components as 'additives' for use in animal production. *EFSA Supporting Publications*, *4*(4), 070828.

Funk, V. A., Susanna, A., Stuessy, T. F., & Bayer, R. J. (2009). Systematics, evolution, and biogeography of Compositae: International Association for Plant Taxonomy. IAPT, Vienna, p 171-192.

Galbraith, H., & Miller, T. B. (1973). Effect of long chain fatty acids on bacterial respiration and amino acid uptake. *Journal of Applied Bacteriology*, *36*(4), 659-675.

Gamet-Payrastre, L., Li, P., Lumeau, S., Cassar, G., Dupont, M. A., Chevolleau, S., ... & Tercé, F. (2000). Sulforaphane, a naturally occurring isothiocyanate, induces cell cycle arrest and apoptosis in HT29 human colon cancer cells. *Cancer research*, *60*(5), 1426-1433.

García-Conesa, M. T., & Larrosa, M. (2020). Polyphenol-rich foods for human health and disease. *Nutrients*, *12*(2), 400.

Garcia-Mendoza, M.D.P., Espinosa-Pardo, F.A., Baseggio, A.M., Barbero, G.F., Maróstica Junior, M.R., Rostagno, M.A., & Martínez, J. (2017). Extraction of Phenolic Compounds and Anthocyanins from Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) Residues Using Pressurized Liquids and Supercritical Fluids. *The Journal of Supercritical Fluids*, 119, 9-16.

Ghamchini, V. M., Salami, M., Mohammadi, G. R., Moradi, Z., Kavosi, A., Movahedi, A., ... & Aryaeefar, M. R. (2019). The effect of chamomile tea on anxiety and depression in cancer patients treated with chemotherapy. *Journal of Young Pharmacists*, *11*(3), 309.

Ghanmi M, Satrani B, Aberchane M, Ismaili MR, Aafi A et al. (2011). Plantes Aromatiques et Médicinales du Maroc, Les milles et une vertu, Centre de Recherche Forestière, Rabat, Maroc, p130.

Ghoniem, A. A., El-Hai, K. M. A., El-Khateeb, A. Y., Eldadamony, N. M., Mahmoud, S. F., & Elsayed, A. (2021). Enhancing the potentiality of Trichoderma harzianum against pythium pathogen of beans using chamomile (*Matricaria chamomilla*, L.) flower extract. *Molecules*, *26*(4), 1178.

Ghouse, S. M., Nguyen, H. M., Bommareddy, P. K., Guz-Montgomery, K., & Saha, D. (2020). Oncolytic herpes simplex virus encoding IL12 controls triple-negative breast cancer growth and metastasis. *Frontiers in oncology*, *10*, 384.

Ginting, B. (2021). Evaluation of Antioxidant and Anticancer Activity of Myristica fragrans Houtt. Bark. *Pharmacognosy Journal*, *13*(3).

Gligor, O., Mocan, A., Moldovan, C., Locatelli, M., Crișan, G., & Ferreira, I. C. (2019). Enzyme-assisted extractions of polyphenols–A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, *88*, 302-315.

Global cancer statistics: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. A Cancer Journal for Clinicians, 68*, 394–424.

González, I., Morales, M. A. Rojas, A. (2020). Polyphenols and AGEs/RAGE axis. Trends and challenges. *Food Research International*, 129, 108843.

Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, *18*(1), 241-272.

Gottlieb, O. R. (1990). Phytochemicals: differentiation and function. *Phytochemistry*, *29*(6), 1715-1724.

Greuter, W. (2012). Compositae (pro parte majore). In Compositae. Euro+Med Plant base, the information resource for euro-mediterranean plant diversity. W. Greuter, E. von Raab Straube (eds). http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/PTaxonDetail.asp?NameId=119930 [May 2012].

Greuter, W., Oberprieler, Ch, Vogt R. (2003). The Euro+Med treatment of Anthemideae (Compositae)– generic concepts and required new names. Willdenowia, 33, 37-45.

Grotewold, E . (2007). The science of flavonoids . University Columbus , Ohio ,USA . P 1 , 5

Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, *94*(3), 651-715.

Gupta, V., Mittal, P., Bansal, P., Khokra, S. L., & Kaushik, D. (2010). Pharmacological potential of *Matricaria recutita*-A review. *Int J Pharm Sci Drug Res*, *2*(1), 12-6.

Güzel, Y., Güzelşemme, M., & Miski, M. (2015). Ethnobotany of medicinal plants used in Antakya: A multicultural district in Hatay Province of Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, *174*, 118–152. https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.07.042

Haddad, P. S., Depot, M., Settaf, A., Chabli, A., & Cherrah, Y. (2003). Comparative study on the medicinal plants most recommended by traditional practitioners in Morocco and Canada. J. Herbs, Spices Med. *Plants*, 10(3), 25-45.

Haghi, G., Hatami, A., Safaei, A., & Mehran, M. (2014). Analysis of phenolic compounds in Matricaria chamomilla and its extracts by UPLC-UV. *Research in pharmaceutical sciences*, *9*(1), 31.

Hajaji, S., Sifaoui, I., López-Arencibia, A., Reyes-Batlle, M., Valladares, B., Pinero, J. E., ... & Akkari, H. (2017). Amoebicidal activity of α-bisabolol, the main sesquiterpene in chamomile (*Matricaria recutita* L.) essential oil against the trophozoite stage of Acanthamoeba castellani Neff. *Acta Parasitologica*, *62*(2), 290-295.

Hakim, I. A., Harris, R. B., & Ritenbaugh, C. (2000). Citrus peel use is associated with reduced risk of squamous cell carcinoma of the skin. *Nutrition and cancer*, *37*(2), 161-168.

Halliwell, B. (1995, January). How to characterize an antioxidant: an update. In *Biochemical Society Symposium* (Vol. 61, pp. 73-101).

Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, *86*(6), 985-990.

Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, *144*(5), 646-674.

Harborne, J.B. (1984). Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plant analysis. Champman and Hall, London, 1-36.

Hartmann, T. (2007). From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. Phytochemistry, 68(22-24), 2831-2846.

Harvey, A. L., Edrada-Ebel, R., & Quinn, R. J. (2015). The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nature reviews drug discovery*, *14*(2), 111-129.

Haslam, E., & Cai, Y. (1994). Plant polyphenols (vegetable tannins): gallic acid metabolism. *Natural product reports*, *11*, 41-66.

Hastak, K., Gupta, S., Ahmad, N., Agarwal, M. K., Agarwal, M. L., & Mukhtar, H. (2003). Role of p53 and NF-κB in epigallocatechin-3-gallate-induced apoptosis of LNCaP cells. *Oncogene*, *22*(31), 4851-4859.

Hattori, A., Migitaka, H., Iigo, M., Itoh, M., Yamamoto, K., Ohtani-Kaneko, R., ... & Reiter, R. J. (1995). Identification of melatonin in plants and its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates. *Biochemistry and molecular biology international*, *35*(3), 627-634.

Hay, A.E. (2003). Métabolites secondaires isolés de deux plantes néo-calédonienne, Calophyllum caledonicum vieill. et Garcinia vieillardii P : Etude chimique et valorisation biologique. Thèse de l'université d'Angers.

Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. & Bobilya, D.J. (2002). Flavonoids antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relatroships. *Journal of Nutritional Biochemistry,* 13(10), 572-584.

Heinrich, M., & Teoh, H. L. (2004). Galanthamine from snowdrop—the development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. *Journal of ethnopharmacology*, *92*(2-3), 147-162.

Hidalgo, M., Sánchez-Moreno, C., & de Pascual-Teresa, S. (2010). Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food chemistry*, *121*(3), 691-696.

Hintz, T., Matthews, K. K., & Di, R. (2015). The use of plant antimicrobial compounds for food preservation. *BioMed research international*, *2015*.

Huang, W., Zeng, S., Xiao, G., Wei, G., Liao, S., Chen, J., ... & Wang, Y. (2015). Elucidating the biosynthetic and regulatory mechanisms of flavonoid-derived bioactive components in Epimedium sagittatum. *Frontiers in plant science*, *6*, 689.

Hussain, A. R., Khan, A. S., Ahmed, S. O., Ahmed, M., Platanias, L. C., Al-Kuraya, K. S., & Uddin, S. (2010). Apigenin induces apoptosis via downregulation of S-phase kinase-associated protein 2-mediated induction of p27Kip1 in primary effusion lymphoma cells. *Cell proliferation*, *43*(2), 170-183.

Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology, 3*, 12.

Idm'hand, E., Msanda, F., & Cherifi, K. (2020). Ethnobotanical study and biodiversity of medicinal plants used in the Tarfaya Province, Morocco. *Acta Ecologica Sinica*, *40*(2), 134–144.

Imran, M., Rauf, A., Abu-Izneid, T., Nadeem, M., Shariati, M. A., Khan, I. A., ... & Mubarak, M. S. (2019). Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *112*, 108612.

Ishfaq, P. M., Shukla, A., Beraiya, S., Tripathi, S., & Mishra, S. K. (2018). Biochemical and pharmacological applications of essential oils in human health especially in cancer prevention. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, *18*(13), 1815-1827.

Ismail, M. C., Waleed, S., Ibrahim, K., & Fakhri, N. U. (2013). Synergistic interaction between chamomile flower (*Matricaria chamomilla* L.) extracts and tetracycline against wound infection bacteria. *Al-Nahrain Journal of Science*, *16*(3), 191-195.

Izadi, Z. M. S. S., MODARES, S. S., Sorooshzadeh, A., ESNA, A. M., & Davoodi, P. (2013). Antimicrobial activity of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) and feverfew (*Tanacetum parthenium* L.). Armaghane- Danesh *J Yasuj Univ Med Sci*, 18(1): 31-43.

Jahandiez, E., & Maire, R. (1934). Catalogue des plantes du Maroc. Tomes 1, 2 et 3. Le Chevalier, Paris, p. 913.

Janaćković, P., Gavrilović, M., Savić, J., Marin, P. D., & Stevanović, Z. D. (2019). Traditional knowledge on plant use from Negotin Krajina (Eastern Serbia): An ethnobotanical study. *Indian Journal of Traditional Knowledge*, *18*(1), 25–33.

Jarrahi, M., Vafaei, A. A., Taherian, A. A., Miladi, H., & Rashidi Pour, A. (2010). Evaluation of topical *Matricaria chamomilla* extract activity on linear incisional wound healing in albino rats. *Natural product research*, *24*(8), 697-702.

Jin, H. (2008). Endogenous small RNAs and antibacterial immunity in plants. *FEBS letters*, *582*(18), 2679-2684.

Kaji, T., Kaga, K., NSIMBA, M., Hayashi, T., Ejiri, N., & Sakuragawa, N. (1990). Possible mechanism of the stimulatory effect of Artemisia leaf extract on the proliferation of cultured endothelial cells: involvement of basic fibroblast growth factor. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, *38*(9), 2494-2497.

Kalemba, D. A. A. K., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, *10*(10), 813-829.

Kalimuthu, K., & Prabakaran, R. (2013). Preliminary phytochemical screening and GC-MS analysis of methanol extract of Ceropegia pusilla. *International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences*, *1*(3), 49-58.

Kamali, A. M., Nikseresht, M., Delaviz, H., Barmak, M. J., Servatkhah, M., Ardakani, M. T., & Mahmoudi, R. (2014). In vitro cytotoxic activity of *Matricaria chamomilla* root extract in Human breast cancer cell line MCF-7. *Life sciences*, *11*, 403-406.

Kamran, S., Sinniah, A., Abdulghani, M. A., & Alshawsh, M. A. (2022). Therapeutic potential of certain terpenoids as anticancer agents: a scoping review. *Cancers*, *14*(5), 1100.

Kareem, P. A. (2018). Silver nanoparticles synthesized by using *Matricaria chamomilla* extract and effect on bacteria isolated from dairy products. *Diyala J. Pure Sci*, *14*, 176-187.

Kasra-Kermanshahi, R., & Mobarak-Qamsari, E. (2015). Inhibition effect of lactic acid bacteria against food born pathogen, Listeria monocytogenes. *Applied Food Biotechnology*, *2*(4), 11-19.

Kennedy, D. O., & Wightman, E. L. (2011). Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Advances in Nutrition*, *2*(1), 32-50.

Kianfar, E., Hajimirzaee, S., Faghih, S. M., & Akhgar, S. (2020). Polyvinyl chloride+ nanoparticles titanium oxide Membrane for Separation of O2/N2. *Advances in nanotechnology*.

Kim, T.J., Silva, J.L., Kim, M.K. & Jung, Y.S. (2010). Enhanced antioxidant capacity and antimicrobial activity of tannic acid by thermal processing. *Food Chemistry,* 118(3), 740-746.

King, J.W. (2014). Modern Supercritical Fluid Technology for Food Applications. Annu. Rev. Food Sci. Technol, 5, 215–238.

Kolodziejczyk-czepas, J., Bijak, M., Saluk, J., Ponczek, M. B., Zbikowska, H. M., Nowak, P., & Tsirigotis-maniecka, M. (2015). Radical scavenging and antioxidant effects of *Matricaria chamomilla* polyphenolic–polysaccharide conjugates. *International journal of biological macromolecules*, *72*, 1152-1158.

Komoreng L, Thekisoe O, Lehasa S, Tiwani T, Mzizi N et al. (2017). An ethnobotanical survey of traditional medicinal plants used against lymphatic filariasis in South Africa. *South African Journal of Botany*, (111),12-16.

Kondrashov, F. A., & Kondrashov, A. S. (2010). Measurements of spontaneous rates of mutations in the recent past and the near future. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *365*(1544), 1169-1176.

Kopustinskiene, D. M., Jakstas, V., Savickas, A., & Bernatoniene, J. (2020). Flavonoids as anticancer agents. *Nutrients*, *12*(2), 457.

Korkina, L. G., & Afanas' Ev, I. B. (1996). Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Advances in pharmacology*, *38*, 151-163.

Kovacic, P., Pozos, R. S., Somanathan, R., Shangari, N., & O'Brien, P. J. (2005). Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: focus on electron transfer, free radicals, and structure-activity relationships. *Current medicinal chemistry*, 12(22), 2601-2623.

Kováčik, J., Klejdus, B., Bačkor, M., & Repčák, M. (2007). Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes. *Plant Science*, *172*(2), 393-399.

Kozuharova, E., Lebanova, H., Getov, I., Benbassat, N., & Napier, J. (2013). Descriptive study of contemporary status of the traditional knowledge on medicinal plants in Bulgaria. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, *7*(5), 185-198.

Krishnamoorthy, K., & Subramaniam, P. (2014). Phytochemical profiling of leaf, stem, and tuber parts of Solena amplexicaulis (Lam.) Gandhi using GC-MS. *International scholarly research notices*, *2014*.

Kuete, V., Omosa, L. K., Midiwo, J. O., Karaosmanoğlu, O., & Sivas, H. (2019). Cytotoxicity of naturally occurring phenolics and terpenoids from Kenyan flora towards human carcinoma cells. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, *10*(3), 178-184.

Kumar, A., Paul, S., Kumari, P., Somasundaram, S. T., & Kathiresan, K. (2014). Antibacterial and phytochemical assessment on various extracts of Ipomoea Pes-caprae (L.) R. Br through FTIR and GC-MS spectroscopic analysis. *Asian J Pharm Clin Res*, *7*(3), 134-138.

Laekeman, G. M., Van Hoof, L., Haemers, A., Berghe, D. V., Herman, A. G., & Vlietinck, A. J. (1990). Eugenol a valuable compound for in vitro experimental research and worthwhile for further in vivo investigation. *Phytotherapy Research*, *4*(3), 90-96.

Lahsissene, H., Kahouadji, A., & Hseini, S. (2009). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental). *Lejeunia, revue de botanique*, 186.

Lalthanpuii, P. B., & Lalchhandama, K. (2019). Chemical profiling, antibacterial and antiparasitic studies of Imperata cylindrica. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, *9*(12), 117-121.

Lantto, T. A., Colucci, M., Závadová, V., Hiltunen, R., & Raasmaja, A. (2009). Cytotoxicity of curcumin, resveratrol and plant extracts from basil, juniper, laurel and parsley in SH-SY5Y and CV1-P cells. *Food chemistry*, *117*(3), 405-411.

Lanzotti, V. (2013). Diterpenes for Therapeutic use. Spinger-Verlag, Berlin. pp. 3173–3191.

Lesgards, J. F., Baldovini, N., Vidal, N. & Pietri, S. (2014). Anticancer activities of essential oils constituents and synergy with conventional therapies: a review. *Phytotherapy Research*, 28(10), 1423–1446.

Leung A., Foster S.F. (1996). Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. John Wiley & Sons, New York, USA, xxxviii + 649 p.

Li, D., Du, Z., Li, C., Liu, Y., Goodin, S., Huang, H., ... & Zhang, K. (2015). Potent inhibitory effect of terpenoids from Acanthopanax trifoliatus on growth of PC-3 prostate cancer cells in vitro and in vivo is associated with suppression of NF-κB and STAT3 signalling. *Journal of Functional Foods*, *15*, 274-283.

Liebmann, J. E., Cook, J. A., Lipschultz, C., Teague, D., Fisher, J., & Mitchell, J. B. (1993). Cytotoxic studies of paclitaxel (Taxol®) in human tumour cell lines. *British journal of cancer*, *68*(6), 1104-1109.

Lim, T.K. (2014). *Matricaria chamomilla*. *In* Edible medicinal and non-medicinal plants: Volume 7, flowers, pp. 397-431.

Liu, C. X., Yin, Q. Q., Zhou, H. C., Wu, Y. L., Pu, J. X., Xia, L., ... & Chen, G. Q. (2012). Adenanthin targets peroxiredoxin I and II to induce differentiation of leukemic cells. Nature chemical biology, 8(5), 486-493.

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

López-Alarcón, C., & Denicola, A. (2013). Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Analytica chimica acta*, 763, 1-10.

López-Fernández, O., Domínguez, R., Pateiro, M., Munekata, P. E., Rocchetti, G., & Lorenzo, J. M. (2020). Determination of polyphenols using liquid chromatography–tandem mass spectrometry technique (LC–MS/MS): A review. *Antioxidants*, *9*(6), 479.

Luthar, Z. (1992). Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seeds *(Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum (Ljubljana),* 12, 36-42.

Mączka, W., Duda-Madej, A., Górny, A., Grabarczyk, M., & Wińska, K. (2021). Can eucalyptol replace antibiotics?. *Molecules*, *26*(16), 4933.

Magiera, S., & Sobik, A. (2017). Ionic liquid-based ultrasound-assisted extraction coupled with liquid chromatography to determine isoflavones in soy foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, *57*, 94-101.

Maleki, S. J., Crespo, J. F., & Cabanillas, B. (2019). Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food chemistry*, *299*, 125124.

Marchiosi, R., dos Santos, W. D., Constantin, R. P., de Lima, R. B., Soares, A. R., Finger-Teixeira, A., ... & Ferrarese-Filho, O. (2020). Biosynthesis and metabolic actions of simple phenolic acids in plants. *Phytochemistry Reviews*, *19*(4), 865-906.

Marković, M. S., Pljevljakušić, D. S., Nikolić, B. M., Miladinović, D. L., Djokić, M. M., Rakonjac, L. B., & Stankov Jovanović, V. P. (2021). Ethnoveterinary knowledge in Pirot County (Serbia). *South African Journal of Botany*, (*137)*, 278–289.

Marmouzi, I., Ali, K., Harhar, H., Gharby, S., Sayah, K., El Madani, N., ... & Faouzi, M. E. A. (2018). Functional composition, antibacterial and antioxidative properties of oil and phenolics from Moroccan Pennisetum glaucum seeds. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(3), 229-234.

Masek, A., Chrzescijanska, E., Latos, M., & Zaborski, M. (2017). Influence of hydroxyl substitution on flavanone antioxidants properties. *Food chemistry*, *215*, 501-507.

Masyita, A., Sari, R. M., Astuti, A. D., Yasir, B., Rumata, N. R., Emran, T. B., ... & Simal-Gandara, J. (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry: X*, 100217.

Matić, I. Z., Juranić, Z., Šavikin, K., Zdunić, G., Nađvinski, N., & Gođevac, D. (2013). Chamomile and marigold tea: Chemical characterization and evaluation of anticancer activity. *Phytotherapy research*, *27*(6), 852-858.

Mbata, T.I3, Debiao, L., & Saikia, A. (2006). Antibacterial activity of the crude extract of Chinese Green Tea (Camellia sinensis) on *Listeria monocytogenes*. *Internet J. Microbiol*, 2(2).

Mckay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of chamomile Tea (*Matricaria recutita* L.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *20*(7), 519–530.

Medeiros-Neves, B., Teixeira, H. F., & von Poser, G. L. (2018). The genus Pterocaulon (Asteraceae)–A review on traditional medicinal uses, chemical constituents and biological properties. *Journal of ethnopharmacology*, 224, 451-464.

Mehmood, M. H., Munir, S., Khalid, U. A., Asrar, M., & Gilani, A. H. (2015). Antidiarrhoeal, antisecretory and antispasmodic activities of Matricaria chamomilla are mediated predominantly through K+-channels activation. *BMC complementary and alternative medicine*, *15*(1), 1-9.

Mekonnen, A., Yitayew, B., Tesema, A., & Taddese, S. (2016). In vitro antimicrobial activity of essential oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *International journal of microbiology*, *2016*.

Menaa, F., Menna, A., & Tréton, J. (2014). Polyphenols against akin aging in polyphenols in human health and disease. 1, 819-830.

Menale, B., De Castro, O., Di Iorio, E., Ranaldi, M., & Muoio, R. (2021). Discovering the ethnobotanical traditions of the island of Procida (Campania, southern Italy). *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with All Aspects of Plant Biology*, 1–19.

Menon, S., & Thakker, J. (2020). Assessment of Amaranthus viridis L. Leaves on Growth, Antifungal and Antioxidant Activity of Cicer arientinum L. *Int J Pharm Med Biol Sci*, *9*, 70-4.

Merghoub, N., Amzazi, S., & Morjani, H. (2009). Cytotoxic effect of some Moroccan medicinal plant extracts on human cervical cell lines. *Journal of Medicinal Plants Research*, *3*(12), 1045-1050.

Metrouh-Amir, H., Duarte, C. M., & Maiza, F. (2015). Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*. *Industrial crops and products*, *67*, 249-256.

Metsämuuronen, S., & Sirén, H. (2019). Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: A review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce. *Phytochemistry Reviews*, *18*(3), 623-664.

Mikou, K., Rachiq, S., & Jarrar Oulidi, A. (2016). Étude ethnobotanique des plantes médicinales et aromatiques utilisées dans la ville de Fès au Maroc. *Phytotherapie*, *14*(1), 35–43.

Mishra, A., Sharma, A. K., Kumar, S., Saxena, A. K., & Pandey, A. K. (2013). Bauhinia variegata leaf extracts exhibit considerable antibacterial, antioxidant, and anticancer activities. *BioMed Research International*.

Misra, N., Luthra, R., Singh, K. L., Kumar, S., & Kiran, L. (1999). *Recent advances in biosynthesis of alkaloids.*

Moghaddam M., & Mehdizadeh, L. (2016). Essential Oil and Antifungal Therapy. In: Basak A., Chakraborty R., Mandal S., *Recent Trends in Antifungal Agents and Antifungal Therapy*. Springer, New Delhi, India, pp. 29-74.

Mohammed, F. S., Şabik, A. E., DOĞAN, M., SELAMOĞLU, Z., & Sevindik, M. (2020). Antioxidant potential of Hypericum spectabile JAUB. ET SPACH. *Bulletin of Biotechnology*, *1*(2), 43-45.

Mosmann, T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods, 65*(1-2), 55-63.

Mrabti, H. N., Bouyahya, A., Naceiri Mrabti, N., Jaradat, N., Doudach, L., & Faouzi, M. E. A. (2021). Ethnobotanical survey of medicinal plants used by traditional healers to treat diabetes in the Taza region of Morocco. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 5515634.

Mrabti, H. N., Jaradat, N., Kachmar, M. R., Ed-Dra, A., Ouahbi, A., Cherrah, Y., & El Abbes Faouzi, M. (2019). Integrative herbal treatments of diabetes in Beni Mellal region of Morocco. *Journal of Integrative Medicine*, *17*(2), 93-99.

Mulinacci, N., Romani, A., Pinelli, P., Vincieri, F. F., & Prucher, D. (2000). Characterization ofMatricaria recutita L. Flower extracts by HPLC-MS and HPLC-DAD analysis. *Chromatographia*, *51*(5), 301-307.

Naczk, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, *41*(5), 1523-1542.

Naoumkina, M. A., Zhao, Q., Gallego-Giraldo, L. I. N. A., Dai, X., Zhao, P. X., & Dixon, R. A. (2010). Genome-wide analysis of phenylpropanoid defence pathways. *Molecular plant pathology*, *11*(6), 829-846.

Naz, S., Siddiqi, R., Ahmad, S., Rasool, S. A., & Sayeed, S. A. (2007). Antibacterial activity directed isolation of compounds from Punica granatum. *Journal of food science*, *72*(9), M341-M345.

Ncube, N. S., Afolayan, A. J., & Okoh, A. I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African journal of biotechnology*, *7*(12).

Nègre, R. (1962). Petite flores des régions arides du Maroc. *Tome II*, *1*, 281-282.

Neves, J. M., Matos, C., Moutinho, C., Queiroz, G., & Gomes, L. R. (2009). Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Trás-os-Montes (northern of Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, *124*(2), 270–283.

Nevzorova, Y. A., Grossmann, J., & Trautwein, C. (2017). Anti-tumorigenic and anti-angiogenic effects of natural conifer Abies sibirica terpenoids in vivo and in vitro. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *89*, 386-395.

Nikolić, M., & Stevović, S. (2015). Family Asteraceae as a sustainable planning tool in phytoremediation and its relevance in urban areas. *Urban Forestry & Urban Greening*, 14(4), 782-789.

Nikseresht, M., Kamali, A. M., Rahimi, H. R., Delaviz, H., Toori, M. A., Kashani, I. R., & Mahmoudi, R. (2017). The hydroalcoholic extract of Matricaria chamomilla suppresses migration and invasion of human breast cancer MDA-MB-468 and MCF-7 cell lines. *Pharmacognosy Research*, *9*(1), 87.

Nostro, A., Germano, M. P., D'angelo, V., Marino, A., & Cannatelli, M. A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Letters in applied microbiology*, *30*(5), 379-384.

Oberprieler, C. (2002). A phylogenetic analysis of Chamaemelum Mill.(Compositae: Anthemideae) and related genera based upon nrDNA ITS and cpDNA trn L/trn F IGS sequence variation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, *138*(3), 255-273.

Olasehinde, T. A., Olaniran, A. O., & Okoh, A. I. (2021). Cholinesterase inhibitory activity, antioxidant properties, and phytochemical composition of Chlorococcum sp. extracts. *Journal of Food Biochemistry*, *45*(3), e13395.

Olasupo, N. A., Fitzgerald, D. J., Narbad, A., & Gasson, M. J. (2004). Inhibition of *Bacillus subtilis* and *Listeria innocua* by nisin in combination with some naturally occurring organic compounds. *Journal of Food Protection*, *67*(3), 596-600.

Omran, A. M. (2018). Antimicrobial and phytochemical study of *Matricaria chamomilla* L., *Menthalongi folia* L. and *Salvia officinalis* L. *Plant Archives*, *18*(1), 387-397.

Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. *Polyphenols in plants*, 243-259.

Osman, M. Y., Taie, H. A., Helmy, W. A., & Amer, H. (2016). Screening for antioxidant, antifungal, and antitumor activities of aqueous extracts of chamomile (Matricaria chamomilla). *Egyptian Pharmaceutical Journal*, *15*(2), 55.

Osonga, F. J., Akgul, A., Miller, R. M., Eshun, G. B., Yazgan, I., Akgul, A., & Sadik, O. A. (2019). Antimicrobial activity of a new class of phosphorylated and modified flavonoids. *ACS omega*, *4*(7), 12865-12871.

Ouedrhiri, W., Balouiri, M., Bouhdid, S., Harki, E. H., Moja, S., & Greche, H. (2018). Antioxidant and antibacterial activities of *Pelargonium asperum* and *Ormenis mixta* essential oils and their synergistic antibacterial effect. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*(30), 29860-29867.

Palomer, X., Pizarro-Delgado, J., Barroso, E., & Vázquez-Carrera, M. (2018). Palmitic and oleic acid: the yin and yang of fatty acids in type 2 diabetes mellitus. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *29*(3), 178-190.

Pan, M. H., Ghai, G., & Ho, C. T. (2008). Food bioactives, apoptosis, and cancer. *Molecular nutrition & food research*, *52*(1), 43-52.

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of nutritional science*, *5*.

Parada, M., Carrió, E., Bonet, M. À., & Vallès, J. (2009). Ethnobotany of the Alt Empordà region (Catalonia, Iberian Peninsula). Plants used in human traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, *124*(3), 609–618.

Parekh, J., & Karathia, N. (2006). Screening of some traditionally used medicinal plants for potential antibacterial activity. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *68*(6).

Park, E. H., Bae, W. Y., Eom, S. J., Kim, K. T., & Paik, H. D. (2017). Improved antioxidative and cytotoxic activities of chamomile (*Matricaria chamomilla*) florets fermented by Lactobacillus plantarum KCCM 11613P. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, *18*(2), 152-160.

Pérez-Parra, A., Muñoz, P., Guinea, J., Martín-Rabadán, P., Guembe, M., & Bouza, E. (2009). Is Candida colonization of central vascular catheters in non-candidemic, non-neutropenic patients an indication for antifungals?. *Intensive care medicine*, *35*(4), 707-712.

Petrakou, K., Iatrou, G., & Lamari, F. N. (2020). Ethnopharmacological survey of medicinal plants traded in herbal markets in the Peloponnisos, Greece. *Journal of Herbal Medicine*, *19*, 100305.

Petruľová-Poracká, V., Repčák, M., Vilková, M., & Imrich, J. (2013). Coumarins of Matricaria chamomilla L.: Aglycones and glycosides. *Food chemistry*, *141*(1), 54-59.

Pfaller, M. A., Pappas, P. G., & Wingard, J. R. (2006). Invasive fungal pathogens: current epidemiological trends. *Clinical Infectious Diseases*, *43*(Supplement_1), S3-S14.

Pieroni, A. (2017). Traditional uses of wild food plants, medicinal plants, and domestic remedies in Albanian, Aromanian and Macedonian villages in South-Eastern Albania. *Journal of Herbal Medicine*, *9*, 81–90.

Pinto, T., Aires, A., Cosme, F., Bacelar, E., Morais, M. C., Oliveira, I., ... & Gonçalves, B. (2021). Bioactive (Poly) phenols, volatile compounds from vegetables, medicinal and aromatic plants. *Foods*, *10*(1), 106.

Piri, E., Mahmoodi Sourestani, M., Khaleghi, E., Mottaghipisheh, J., Zomborszki, Z. P., Hohmann, J., & Csupor, D. (2019). Chemo-diversity and antiradical potential of twelve *Matricaria chamomilla* L. Populations from Iran: Proof of ecological effects. *Molecules*, *24*(7), 1315.

Pottier-Alapetite G. (1981). Flore de la Tunisie (Angiospermes-Dicotyledones), publié par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et le Ministère de l'Agriculture, Partie 1, p. 991-992.

Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Alakomi, H. L., & Oksman-Caldentey, K. M. (2005). Bioactive berry compounds-novel tools against human pathogens. *Applied microbiology and biotechnology*, *67*(1), 8-18.

Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A., & Oksman-Caldentey, K. M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of applied microbiology*, *90*(4), 494-507.

Quézel, P., Santana, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertique méridionales. Editions Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, II, p.977.

Qureshi, M. N., Stecher, G., & Bonn, G. K. (2019). Determination of total polyphenolic compounds and flavonoids in Matricaria chamomilla flowers. *Pak. J. Pharm. Sci*, *32*(5), 2163-2165.

Rahuman, A. A., Gopalakrishnan, G., Ghouse, B. S., Arumugam, S., & Himalayan, B. (2000). Effect of Feronia limonia on mosquito larvae. *Fitoterapia*, *71*(5), 553-555.

Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., & Zhang, L. (2003). Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal research reviews*, *23*(4), 519-534.

Reygaert, W. C. (2014). The antimicrobial possibilities of green tea. *Frontiers in microbiology*, 434.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free radical biology and medicine*, *20*(7), 933-956.

Rizwana, H., Alwhibi, M. S., Khan, F., & Soliman, D. A. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of Eruca sativa seeds against pathogenic bacteria and fungi. *J. Anim. Plant Sci*, *26*(6), 1859-71.

Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A.-H., & Khalel, K. I. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). Industrial Crops and Products, 44, 437–445.

Roginsky, V., & Lissi, E. A. (2005). Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*, *92*(2), 235-254.

Rogosic, J., Saric, T., & Zupan, I. (2015). Effect of *Achillea Millefolium* L. and *Matricaria chamomilla* L. on consumption of Juniperus Oxycedrus L. and J. Phoenicea L. by goats. *Annals of Animal Science*, *15*(1), 119–127.

Romani, L., & Puccetti, P. (2007). Controlling pathogenic inflammation to fungi. *Expert review of anti-infective therapy*, *5*(6), 1007-1017.

Roos, W. P., & Kaina, B. (2013). DNA damage-induced cell death: from specific DNA lesions to the DNA damage response and apoptosis. *Cancer letters*, *332*(2), 237-248.

Ruiz-Ruiz, J. C., Moguel-Ordoñez, Y. B., Matus-Basto, A. J., & Segura-Campos, M. R. (2015). Antidiabetic and antioxidant activity of Stevia rebaudiana extracts (Var. Morita) and their incorporation into a potential functional bread. *Journal of food science and technology*, *52*(12), 7894-7903.

Sabo, V. A., & Knezevic, P. (2019). Antimicrobial activity of Eucalyptus camaldulensis Dehn. plant extracts and essential oils: A review. *Industrial crops and products*, *132*, 413-429.

Sakagami, H., Hashimoto, K., Suzuki, F., Ogiwara, T., Satoh, K., Ito, H., Hatano, T., Takashi, Y., Fujisawa, S. (2005). Molecular requirements of lignin–carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry*, *66*(17), 2108-2120.

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

Sánchez-Rodríguez, C., Peiró, C., Rodríguez-Mañas, L. & Nevado, J. (2020). polyphenols attenuate highly-glycosylated haemoglobin-induced damage in human peritoneal mesothelial cells. *Antioxidants,* 9, 1-15.

Sanver, D., Murray, B. S., Sadeghpour, A., Rappolt, M., & Nelson, A. L. (2016). Experimental modeling of flavonoid–biomembrane interactions. *Langmuir*, *32*(49), 13234-13243.

Sathiyamoorthy, S., In, J. G., Gayathri, S., Kim, Y. J., & Yang, D. C. (2010). Gene ontology study of methyl jasmonate-treated and non-treated hairy roots of Panax ginseng to identify genes involved in secondary metabolic pathway. *Russian journal of genetics, 46*(7), 828-835.

Šavikin, K., Zdunić, G., Menković, N., Živković, J., Ćujić, N., Tereščenko, M., & Bigović, D. (2013). Ethnobotanical study on traditional use of medicinal plants in South-Western Serbia, Zlatibor district. *Journal of Ethnopharmacology*, *146*(3), 803–810.

Sbai-Jouilil, H., Fadli, A., El Hafian, M., El Ayad, R., Benharbit, O., & Zidane L. (2017). Floristic and Ethnobotanical Study of Medicinal Plants Used in the Treatment of Respiratory Diseases in Seksaoua Region (Western High Moroccan Atlas). *Annual Research & Review in Biology*, *17*(6), 1–10.

Scherrer AM, Motti R, Weckerle CS (2005). Traditional plant use in the areas of Monte Vesole and Ascea, Cilento National Park (Campania, Southern Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, (97), 129-143.

Seyedjavadi, S. S., Khani, S., Zare-Zardini, H., Halabian, R., Goudarzi, M., Khatami, S., ... & Razzaghi-Abyaneh, M. (2019). Isolation, functional characterization, and biological properties of MCh-AMP1, a novel antifungal peptide from Matricaria chamomilla L. *Chemical Biology & Drug Design*, *93*(5), 949-959.

Shadizadeh, S.S., & Kharrat, R. (2015). Experimental investigation of Matricaria chamomilla extract effect on oil-water interfacial tension: usable for chemical enhanced oil recovery. *Petroleum Science and Technology, 33*(8), 901-907.

Shafreen, R. M. B., Seema, S., Lakshmi, S. A., Srivathsan, A., Tamilmuhilan, K., Shrestha, A., ... & Muthupandian, S. (2022). In Vitro and In Vivo Antibiofilm Potential of Eicosane Against Candida albicans. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1-17.

Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects–A review. *Journal of functional foods*, *18*, 820-897.

Shamon, L. A., Pezzuto, J. M., Graves, J. M., Mehta, R. R., Wangcharoentrakul, S., Sangsuwan, R., ... & Reutrakul, V. (1997). Evaluation of the mutagenic, cytotoxic, and antitumor potential of triptolide, a highly oxygenated diterpene isolated from Tripterygium wilfordii. *Cancer letters, 112*(1), 113-117.

Sharifi-Rad, J., Sureda, A., Tenore, G. C., Daglia, M., Sharifi-Rad, M., Valussi, M., ... & Iriti, M. (2017). Biological activities of essential oils: From plant chemoecology to traditional healing systems. *Molecules*, *22*(1), 70.

Sharifi-Rad, M., Nazaruk, J., Polito, L., Morais-Braga, M. F. B., Rocha, J. E., Coutinho, H. D. M., ... & Sharifi-Rad, J. (2018). *Matricaria genus* as a source of antimicrobial agents: From farm to pharmacy and food applications. *Microbiological research*, *215*, 76-88.

Sharma, A., Patel, V.K. & Ramteke, P. (2009). Identification of vibriocidal compounds from medicinal plants using chromatographic fingerprinting. *World journal of microbiology & biotechnology,* 25(1), 19-25.

Sharma, N., Palia, P., Chaudhary, A., Verma, K., & Kumar, I. (2020). A review on pharmacological activities of lupeol and its triterpene derivatives. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, *10*(5), 325-332.

Shih, C. M., Lin, H., Liang, Y. C., Lee, W. S., Bi, W. F., & Juan, S. H. (2004). Concentration-dependent differential effects of quercetin on rat aortic smooth muscle cells. *European journal of pharmacology*, *496*(1-3), 41-48.

Shiota, S., Shimizu, S., Mizushima, T., Ito, H., Hatano, T., Yoshida, T. & Tsuchiya, T. (2004). Mechanisms of action of Corilagin and Tellimagradin I that remarkably potentiate the activity ob ß-lactams against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Immunology,* 48(1), 67-73.

Silva, J. R. A., Rezende, C. M., Pinto, A. C., & Amaral, A. C. F. (2010). Cytotoxicity and antibacterial studies of iridoids and phenolic compounds isolated from the latex of *Himatanthus sucuuba*. *African Journal of Biotechnology*, *9*(43), 7357-7360.

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

Singh, S., & Sedha, S. (2018). Medicinal plants and their pharmacological aspects. *Fpi*, (4), 156-170.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158.

Sivakumar, R., Jebanesan, A., Govindarajan, M., & Rajasekar, P. (2011). Larvicidal and repellent activity of tetradecanoic acid against Aedes aegypti (Linn.) and Culex quinquefasciatus (Say.) (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific journal of tropical medicine*, *4*(9), 706-710.

Sökmen, A., Sökmen, M., Daferera, D., Polissiou, M., Candan, F., Ünlü, M., & Akpulat, H. A. (2004). The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extracts of *Achillea biebersteini* Afan.(Asteraceae). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, *18*(6), 451-456.

Solowey, E., Lichtenstein, M., Sallon, S., Paavilainen, H., Solowey, E., & Lorberboum-Galski, H. (2014). Evaluating medicinal plants for anticancer activity. *The Scientific World Journal*, *2014*.

Song, J. H., Yang, T. C., Chang, K. W., Han, S. K., Yi, H. K., & Jeon, J. G. (2007). In vitro effects of a fraction separated from *Polygonum cuspidatum* root on the viability, in suspension and biofilms, and biofilm formation of mutans streptococci. *Journal of ethnopharmacology*, *112*(3), 419-425.

Srivastava, J. K., & Gupta, S. (2007). Antiproliferative and apoptotic effects of chamomile extract in various human cancer cells. *Journal of agricultural and food chemistry*, *55*(23), 9470-9478.

Srivastava, J. K., & Gupta, S. (2009). Extraction, characterization, stability and biological activity of flavonoids isolated from chamomile flowers. *Molecular and cellular pharmacology*, *1*(3), 138.

Srivastava, J. K., Pandey, M., & Gupta, S. (2009). Chamomile, a novel and selective COX-2 inhibitor with anti-inflammatory activity. *Life sciences*, *85*(19-20), 663-669.

Srivastava, N., & Bezwada, R. (2015). Flavonoids: The Health Boosters. White Paper. *Hillsborough NJ: Indofine Chemical company*.

Stanojevic, L. P., Marjanovic-Balaban, Z. R., Kalaba, V. D., Stanojevic, J. S., & Cvetkovic, D. J. (2016). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of chamomile flowers essential oil (*Matricaria chamomilla* L.). *Journal of essential oil bearing plants*, *19*(8), 2017-2028.

Steiner, J. L., Davis, J. M., McClellan, J. L., Enos, R. T., Carson, J. A., Fayad, R., ... & Murphy, E. A. (2014). Dose-dependent benefits of quercetin on tumorigenesis in the C3 (1)/SV40Tag transgenic mouse model of breast cancer. *Cancer biology & therapy*, *15*(11), 1456-1467.

Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, *71*(3), 209-249.

Süntar, I., Akkol, E. K., Keleş, H., Oktem, A., Başer, K. H. C., & Yeşilada, E. (2011). A novel wound healing ointment: a formulation of Hypericum perforatum oil and sage and oregano essential oils based on traditional Turkish knowledge. *Journal of ethnopharmacology*, *134*(1), 89-96.

Swer, T. L., Mukhim, C., Bashir, K., & Chauhan, K. (2018). Optimization of enzyme aided extraction of anthocyanins from Prunus nepalensis L. *Lwt*, *91*, 382-390.

Szymanowska, U., & Baraniak, B. (2019). Antioxidant and potentially anti-inflammatory activity of anthocyanin fractions from pomace obtained from enzymatically treated raspberries. *Antioxidants*, 8(8), 299.

Tadrent, W. A. F. A., Bachari, K. H. A. L. D. O. U. N., & Kabouche, Z. A. H. I. A. (2016). Comparative Compositions and Antibacterial Activity of the essential oils of *Anthemis nobilis* l. and *Anthemis mixta* l.(asteraceae). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *8*(7), 457-59.

Tang, S. S., Prodhan, Z. H., Biswas, S. K., Le, C. F., & Sekaran, S. D. (2018). Antimicrobial peptides from different plant sources: Isolation, characterisation, and purification. *Phytochemistry*, *154*, 94-105.

Tao, S. F., He, H. F., & Chen, Q. (2015). Quercetin inhibits proliferation and invasion acts by up-regulating miR-146a in human breast cancer cells. *Molecular and cellular biochemistry*, *402*(1), 93-100.

Tholl, D. (2015). Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. *Biotechnology of isoprenoids*, 63-106.

Tofighi, Z., Molazem, M., Doostdar, B., Taban, P., Shahverdi, A. R., Samadi, N., & Yassa, N. (2015). Antimicrobial activities of three medicinal plants and investigation of flavonoids of Tripleurospermum disciforme. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, *14*(1), 225-231.

Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.

Topçu, G. (2006). Bioactive triterpenoids from Salvia species. *Journal of natural products*, *69*(3), 482-487.

Torgovnick, A., Schumacher, B. (2015). DNA repair mechanisms in cancer development and therapy. *Front. Genet*, *6*, 157.

Toyang, N. J., & Verpoorte, R. (2013). A review of the medicinal potentials of plants of the genus Vernonia (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, *146*(3), 681-723.

Tsuchiya, H., & Iinuma, M. (2000). Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from Sophora exigua. *Phytomedicine*, *7*(2), 161-165.

Tuladhar, P., Sasidharan, S., & Saudagar, P. (2021). Role of phenols and polyphenols in plant defense response to biotic and abiotic stresses. In *Biocontrol Agents and Secondary Metabolites* (pp. 419-441). Woodhead Publishing.

Tuorkey, M. J. (2016). Molecular targets of luteolin in cancer. *European Journal of Cancer Prevention*, *25*(1), 65.

Tušek, A. J., Benković, M., Cvitanović, A. B., Valinger, D., Jurina, T., & Kljusurić, J. G. (2016). Kinetics and thermodynamics of the solid-liquid extraction process of total polyphenols, antioxidants and extraction yield from Asteraceae plants. *Industrial Crops and Products*, 91, 205-214.

Tuttolomondo, T., Licata, M., Leto, C., Savo, V., Bonsangue, G., Letizia Gargano, M., Venturella, G., & La Bella, S. (2014). Ethnobotanical investigation on wild medicinal plants in the Monti Sicani Regional Park (Sicily, Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, *153*(3), 568–586.

Ugi, B. U., Abeng, F. E., Obeten, M. E., & Uwah, I. E. (2019). Management of aqueous corrosion of federated mild steel (Local constructional steel) at elevated temperatures employing environmentally friendly inhibitors: *Matricaria chamomilla* plant. *International Journal of Chemical Science*, *3*(1), 6–12.

Vallverdú-Queralt, A., Regueiro, J., Alvarenga, J. F. R., Martinez-Huelamo, M., Leal, L. N., & Lamuela-Raventos, R. M. (2015). Characterization of the phenolic and antioxidant

profiles of selected culinary herbs and spices: caraway, turmeric, dill, marjoram and nutmeg. *Food Science and Technology*, *35*, 189-195.

Vaquero, M. J. R., Alberto, M. R., & de Nadra, M. C. M. (2007b). Influence of phenolic compounds from wines on the growth of Listeria monocytogenes. *Food Control*, *18*(5), 587-593.

Vaquero, M. R., Alberto, M. R., & De Nadra, M. M. (2007a). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food control*, *18*(2), 93-101.

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2008). Families of phenolic compounds and means of classification. *Phenolic Compound Biochemistry*, 1–34. Springer, Dordrecht.

Viapiana, A., Struck-Lewicka, W., Konieczynski, P., Wesolowski, M., & Kaliszan, R. (2016). An approach based on HPLC-fingerprint and chemometrics to quality consistency evaluation of Matricaria chamomilla L. commercial samples. *Frontiers in plant science*, *7*, 1561.

Villar, A., Gasco, M. A., & Alcaraz, M. J. (1987). Some aspects of the inhibitory activity of hypolaetin-8-glucoside in acute inflammation. *Journal of pharmacy and pharmacology*, *39*(7), 502-507.

Vladimir-Kneevi, S., & Blaekovi, B. (2011). tefan, MB; Alegro, A.; Kszegi, T.; Petrik, J. Antioxidant activities and polyphenolic contents of three selected Micromeria species from Croatia. *Molecules*, *16*, 14541470.

Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid biosynthesis. Molecular plant, 3(1), 2-20.

Vora, J., Srivastava, A., & Modi, H. (2018). Antibacterial and antioxidant strategies for acne treatment through plant extracts. *Informatics in Medicine unlocked*, *13*, 128-132.

Vural, N., Algan Cavuldak, Ö., & Anlı, R. E. (2018). Multi response optimisation of polyphenol extraction conditions from grape seeds by using ultrasound assisted extraction (UAE). *Separation Science and Technology*, *53*(10), 1540-1551.

Wang, L., Ling, Y., Chen, Y., Li, C. L., Feng, F., You, Q. D., ... & Guo, Q. L. (2010). Flavonoid baicalein suppresses adhesion, migration and invasion of MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Cancer letters*, *297*(1), 42-48.

Wang, S., Yao, J., Zhou, B., Yang, J., Chaudry, M. T., Wang, M., ... & Yin, W. (2018). Bacteriostatic effect of quercetin as an antibiotic alternative in vivo and its antibacterial mechanism in vitro. *Journal of Food Protection*, *81*(1), 68-78.

Watson, L. E., Evans, T. M., & Boluarte, T. (2000). Molecular phylogeny and biogeography of tribe Anthemideae (Asteraceae), based on chloroplast gene ndhF. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *15*(1), 59-69.

Watson, R.R, Preedy, V.R, Zibadi. S. (2013). Polyphenols in human health and disease. Amsterdam: Elsevier, p. 1289-1307.

Weisshaar, B., & Jenkins, G. I. (1998). Phenylpropanoid biosynthesis and its regulation. *Current opinion in plant biology*, *1*(3), 251-257.

Winkel, B. S. (2004). Metabolic channeling in plants. *Annual review of plant biology*, *55*, 85-107.

Woisky, R. G., & Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of apicultural research*, *37*(2), 99-105.

Wojdyło, A., Oszmiański, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxydant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food chemistry*, 105(3), 940-949.

Wu, D., Kong, Y., Han, C., Chen, J., Hu, L., Jiang, H., & Shen, X. (2008). D-Alanine: D-alanine ligase as a new target for the flavonoids quercetin and apigenin. *International journal of antimicrobial agents*, *32*(5), 421-426.

Wu, W. Y., & Wang, Y. P. (2012). Pharmacological actions and therapeutic applications of *Salvia miltiorrhiza* depside salt and its active components. *Acta Pharmacologica Sinica*, *33*(9), 1119-1130

Xiao, J., Chen, G., & Li, N. (2018). Ionic liquid solutions as a green tool for the extraction and isolation of natural products. *Molecules*, *23*(7), 1765.

Xie, Z., Chen, F., Li, W. A., Geng, X., Li, C., Meng, X., ... & Yu, F. (2017). A review of sleep disorders and melatonin. *Neurological research*, *39*(6), 559-565.

Yang, L., Yang, C., Li, C., Zhao, Q., Liu, L., Fang, X., & Chen, X. Y. (2016). Recent advances in biosynthesis of bioactive compounds in traditional Chinese medicinal plants. *Science bulletin*, *61*(1), 3-17.

Yang, Y., Yue, Y., Runwei, Y., & Guolin, Z. (2010). Cytotoxic, apoptotic and antioxidant activity of the essential oil of Amomum tsao-ko. *Bioresource Technology*, *101*(11), 4205-4211.

Yap, P. S. X., Krishnan, T., Chan, K. G., & Lim, S. H. E. (2015). Antibacterial mode of action of *Cinnamomum verum* bark essential oil, alone and in combination with piperacillin, against a multi-drug-resistant *Escherichia coli* strain. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *25*(8), 1299-1306.

Yap, P. S. X., Krishnan, T., Yiap, B. C., Hu, C. P., Chan, K. G., & Lim, S. H. E. (2014). Membrane disruption and anti-quorum sensing effects of synergistic interaction between L *avandula angustifolia* (lavender oil) in combination with antibiotic against plasmid-conferred multi-drug-resistant *Escherichia coli*. *Journal of applied microbiology*, *116*(5), 1119-1128.

Yoon, B. K., Jackman, J. A., Valle-González, E. R., & Cho, N. J. (2018). Antibacterial free fatty acids and monoglycerides: biological activities, experimental testing, and therapeutic applications. *International journal of molecular sciences*, *19*(4), 1114.

Youdim, K. A., McDonald, J., Kalt, W., & Joseph, J. A. (2002). Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. *The Journal of nutritional biochemistry*, *13*(5), 282-288.

Zaynab, M., Fatima, M., Sharif, Y., Zafar, M. H., Ali, H., & Khan, K. A. (2019). Role of primary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial pathogenesis*, *137*, 103728.

Zeroual, A., Sakar, E. H., Eloutassi, N., Mahjoubi, F., Chaouch, M., & Chaqroune, A. (2021). Wild chamomile [*Cladanthus mixtus* (L.) chevall.] collected from central-northern Morocco: phytochemical profiling, antioxidant, and antimicrobial activities. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *11*(4), 11440-11457.

Zhang, H., Zhang, M., Yu, L., Zhao, Y., He, N., & Yang, X. (2012). Antitumor activities of quercetin and quercetin-5′, 8-disulfonate in human colon and breast cancer cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, *50*(5), 1589-1599.

Zhang, J., Zong, A., Xu, T., Zhan, P., Liu, L., Qiu, B., ... & Tian, H. (2018). A novel method: ionic liquid-based ultrasound-assisted extraction of polyphenols from Chinese purple yam. *Natural product research*, *32*(7), 863-866.

Zhen, T., Wu, C. F., Liu, P., Wu, H. Y., Zhou, G. B., Lu, Y., ... & Chen, Z. (2012). Targeting of AML1-ETO in t (8; 21) leukemia by oridonin generates a tumor suppressor–like protein. *Science translational medicine, 4*(127), 127ra38-127ra38.

Zhong, L., Liu, Y., Xiong, B., Chen, L., Zhang, Y., & Li, C. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from Dendranthema indicum var. aromaticum by response surface methodology. *Journal of analytical methods in chemistry*, *2019*, e1648782.

Zhu, G. Y., Li, Y. W., Hau, D. K. P., Jiang, Z. H., Yu, Z. L., & Fong, W. F. (2011). Protopanaxatriol-type ginsenosides from the root of Panax ginseng. *Journal of agricultural and food chemistry, 59*(1), 200-205.

Zhu, Z., Li, S., He, J., Thirumdas, R., Montesano, D., & Barba, F. J. (2018). Enzyme-assisted extraction of polyphenol from edible lotus (Nelumbo nucifera) rhizome knot: Ultra-filtration performance and HPLC-MS2 profile. *Food Research International*, *111*, 291-298.

Živković, J., Ilić, M., Šavikin, K., Zdunić, G., Ilić, A., & Stojković, D. (2020). Traditional use of medicinal plants in South-Eastern Serbia (Pčinja District): Ethnopharmacological investigation on the current status and comparison with Half a Century Old Data. *Frontiers in Pharmacology*, *11*, 1020, 12p.

Živković, J., Ilić, M., Zdunić, G., Jovanović-Lješković, N., Menković, N., & Šavikin K. (2021). Traditional use of medicinal plants in Jablanica district (South-Eastern Serbia): ethnobotanical survey and comparison with scientific data. *Genetic Resources and Crop Evolution, 68*(4), 1655-1674.

Žlabur, J. Š., Žutić, I., Radman, S., Pleša, M., Brnčić, M., Barba, F. J., ... & Voća, S. (2020). Effect of different green extraction methods and solvents on bioactive components of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) flowers. *Molecules*, *25*(4), 810.

Zlatković, B. K., Bogosavljević, S. S., Radivojević, A. R., & Pavlović, M. A. (2014). Traditional use of the native medicinal plant resource of Mt. Rtanj (Eastern Serbia): ethnobotanical evaluation and comparison. *Journal of Ethnopharmacology*, *151*(1), 704–713.

Zrira, S. (2017). Some important aromatic and medicinal plants of Morocco. In: Neffati, M., Najjaa, H., & Máthé, Á., *Medicinal and Aromatic Plants of the World - Africa Volume 3*, Springer, Dordrecht, p. 91-125.

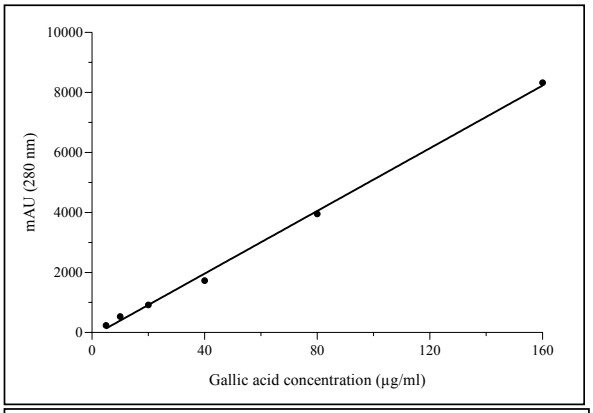
Zrira, S., Menut, C., Bessiere, J. M., & Benjilalii, B. (2007). Chemical composition of the essential oils of Moroccan Ormenis mixta (L.) Dumort. ssp. multicaulis. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *10*(5), 378-385.

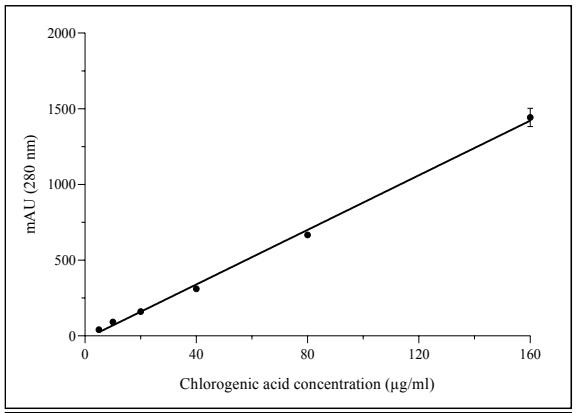
Zuzarte, M., Vale-Silva, L., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Vaz, S., Canhoto, J., ... & Salgueiro, L. (2012). Antifungal activity of phenolic-rich Lavandula multifida L. essential oil. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, *31*(7), 1359-1366.

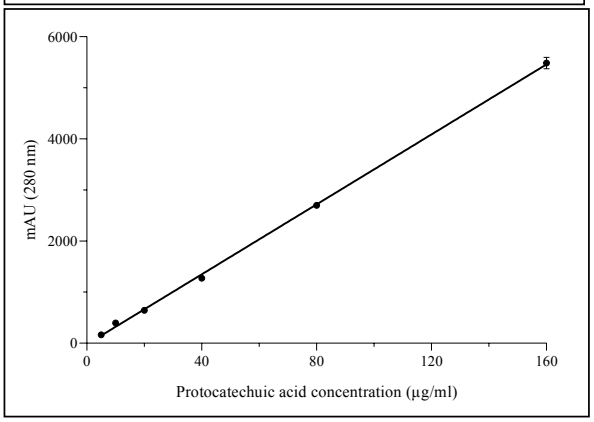
Annexes

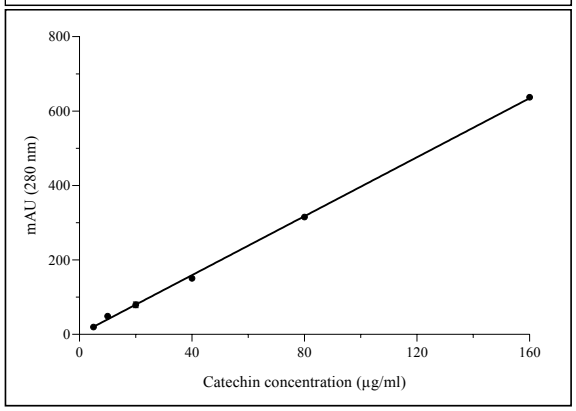
Standards utilisés pour identifier et quantifier les composés phénoliques dans *M. chamomilla* et *C. mixtus* à l'aide de l'équation de la courbe d'étalonnage du graphique de tendance linéaire

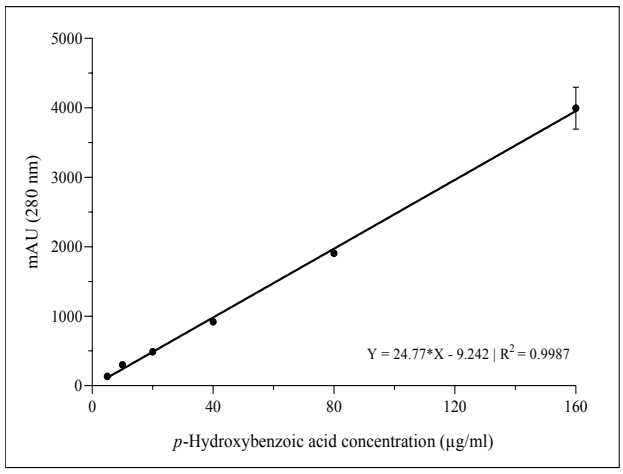
Pick	Étalons phénoliques	Temps de rétention (min)	Masse (m/z)	Courbe d'étalonnage	Coefficient de détermination (R2)
1	Acide gallique	6,02	169,43	Y = 52.23*X - 127.5	0,9978
2	Acide protocatéchuique	10,21	153,46	Y = 34.24*X - 22.30	0,9994
3	Acide chlorogénique	12,76	353,05	Y = 9.013*X - 21.10	0,9977
4	Catéchine	13,13	289,31	Y = 3.962*X + 0.5337	0,9994
5	Acide *p*-hydroxybenzoïque	14,53	137,43	Y = 24.77*X - 9.242	0,9987
6	Acide caféique	15,63	179,41	Y = 97.26*X + 142.7	0,999
7	Acide vanillique	15,97		Y = 29.39*X + 16.70	0,9987
8	Acide syringique	16,12		Y = 44.26*X + 26.40	0,9997
9	Rutine	17,65	609,18	Y = 8.200*X - 1.036	0,999
10	Acide ellagique	18,35	301,22	Y = 12.18*X + 54.35	0,9982
11	Lutéoline-7-glucoside	18,66	447	Y = 14.78*X + 3.791	0,9992
12	Acide *p*-coumarique	19	164	Y = 50.04*X - 48.94	0,9986
13	Vanilline	19,63	151,2	Y = 61.85*X - 25.55	0,9984
14	Acide férulique	20,32	193	Y = 65.81*X - 93.12	0,9982
15	Naringine	20,57	579,31	Y = 47.61*X - 38.64	0,9987
16	Apigénine-7-glucoside	21,18	431,22	Y = 17.00*X - 3.910	0,9983
17	Acide rosmarinique	22,46	359,1	Y = 87.94*X - 5.717	0,9993
18	Acide salicylique	23,93	137,16	Y = 19.27*X + 1.614	0,9992
19	Paraben de méthyle	26,41	151,53	Y = 29.78*X + 0.7684	0,9991
20	Lutéoline	29,79	285,35	Y = 20.42*X - 15.82	0,9983
21	Quercétine	30,29	301	Y = 13.50*X - 5.296	0,999
22	Apigénine	33,56	269.69	Y = 66.91*X + 41.21	0,9993
23	kaempférol	34,1	285,45	Y = 38.06*X - 21.28	0,9988
24	Isorhamnetin	34,55	315,26	Y = 15.74*X + 19.51	0,9993

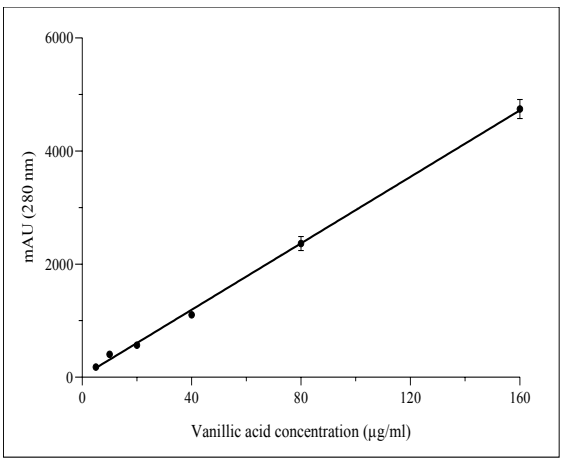

mAU (280 nm)
Gallic acid concentration (µg/ml)

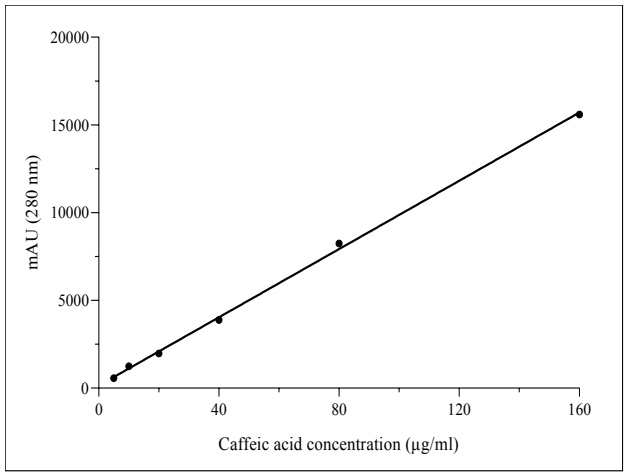

mAU (280 nm)
Chlorogenic acid concentration (µg/ml)

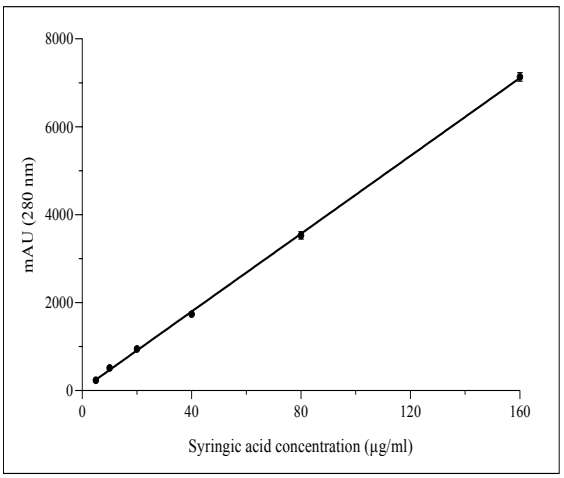

mAU (280 nm)
Protocatechuic acid concentration (µg/ml)

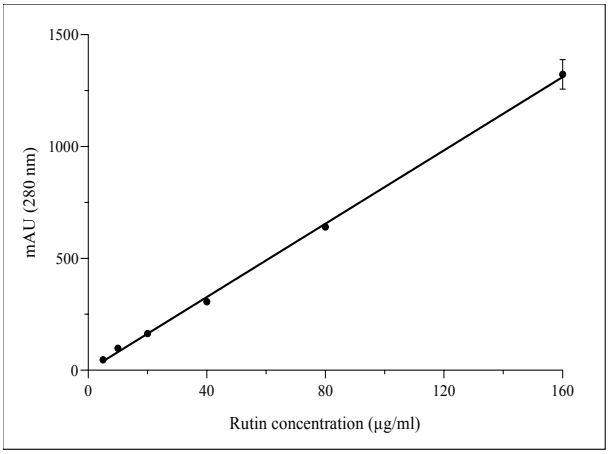

mAU (280 nm)
Catechin concentration (µg/ml)

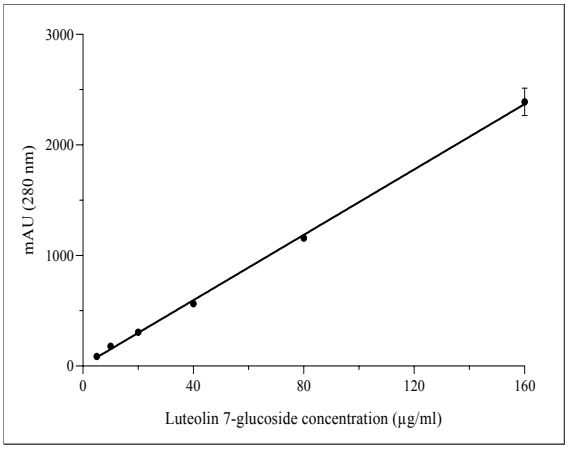

mAU (280 nm)
Y = 24.77*X - 9.242 | R2 = 0.9987
p-Hydroxybenzoic acid concentration (µg/ml)

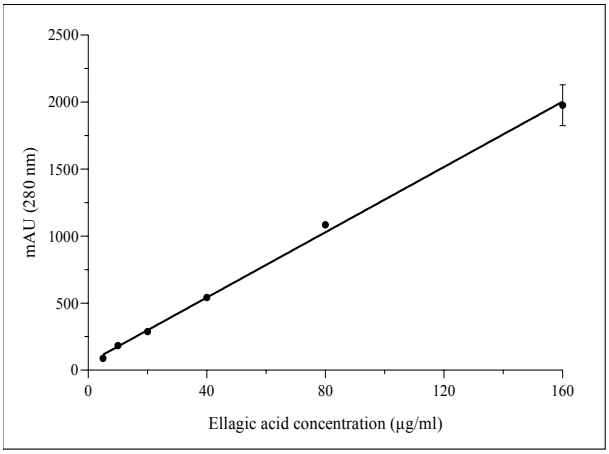

mAU (280 nm)
Vanillic acid concentration (µg/ml)

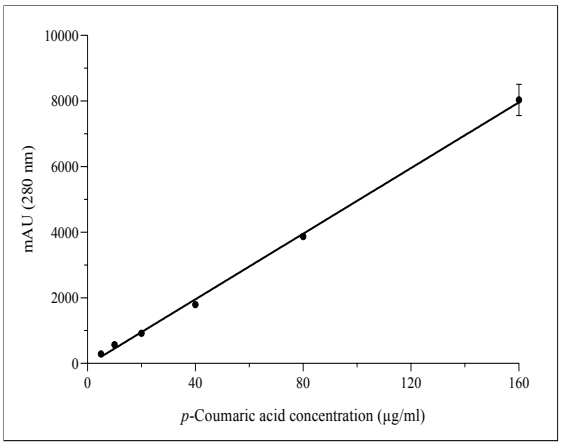

mAU (280 nm)
Caffeic acid concentration (µg/ml)

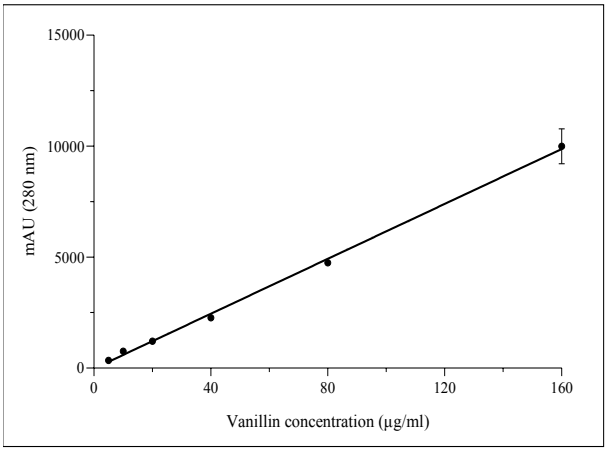

mAU (280 nm)
Syringic acid concentration (µg/ml)

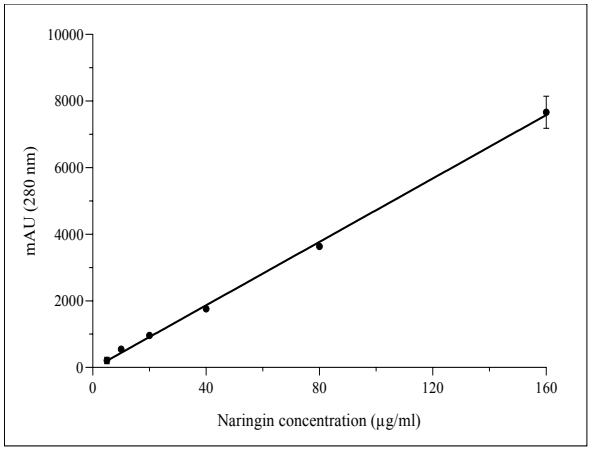

mAU (280 nm)
Rutin concentration (µg/ml)

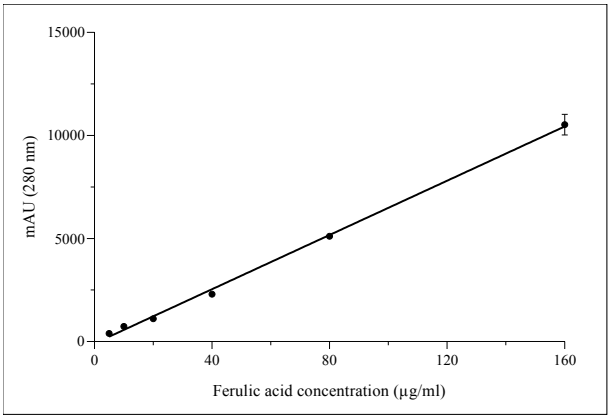

mAU (280 nm)
Luteolin 7-glucoside concentration (µg/ml)

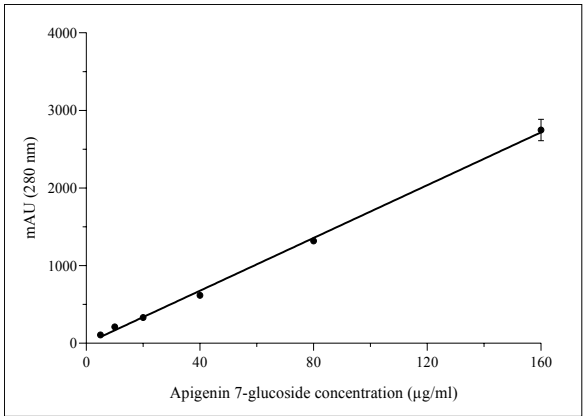

mAU (280 nm)
Ellagic acid concentration (µg/ml)


mAU (280 nm)
p-Coumaric acid concentration (µg/ml)


mAU (280 nm)
Vanillin concentration (µg/ml)


mAU (280 nm)
Naringin concentration (µg/ml)


mAU (280 nm)
Ferulic acid concentration (µg/ml)


mAU (280 nm)
Apigenin 7-glucoside concentration (µg/ml)

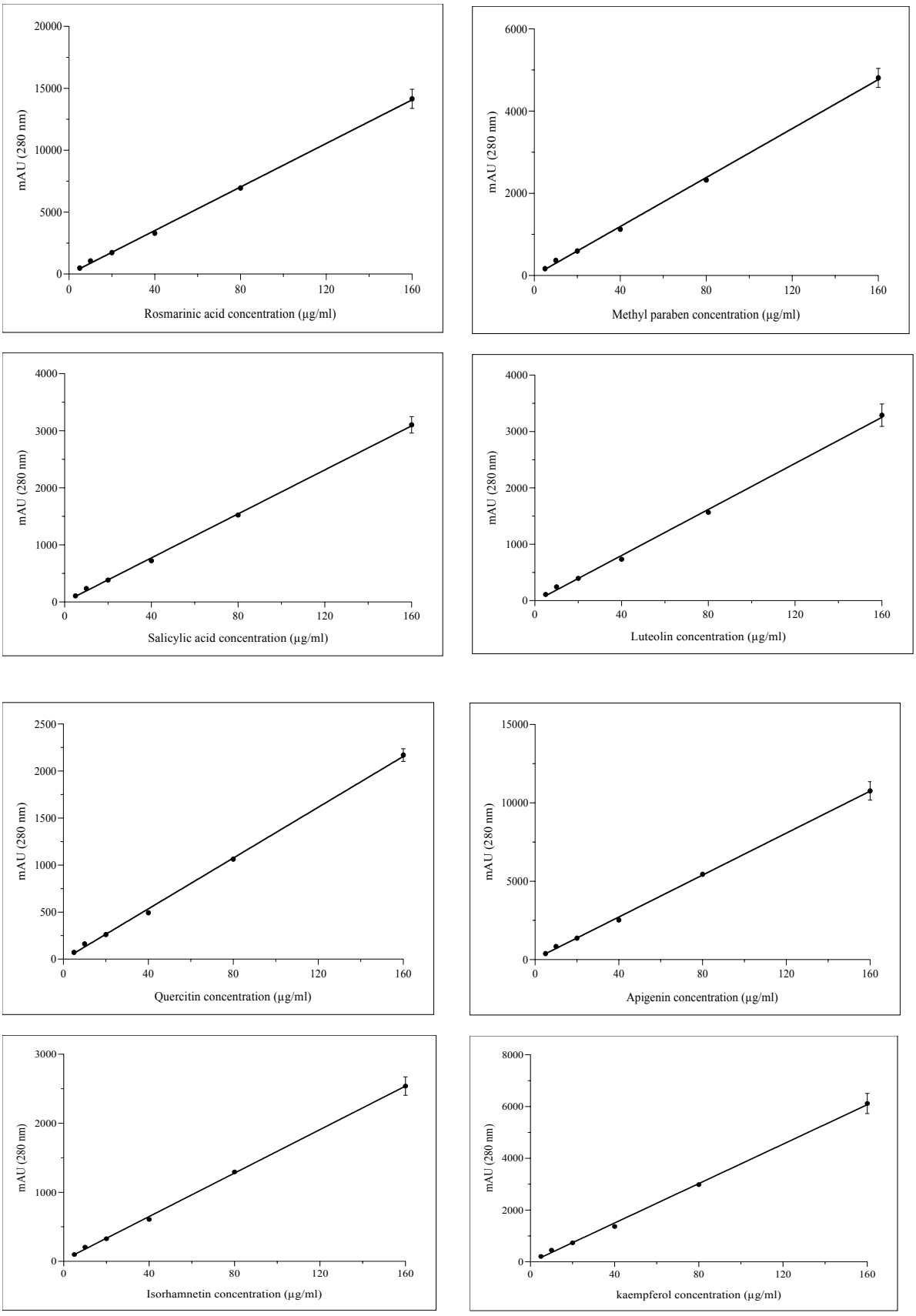


Figure : Courbes d'étalonnages des étalons par HPLC-MS