

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université de GHARDAIA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre
Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Option : science écologique

Thème

**Activités biologiques des extraits aqueux
de *Cotula cinerea* (Asteraceae)
de la région de Ghardaïa**

Présentée
par ATTIALLAH MABROUKA

Soutenu publiquement le : .../.../2015

Devant le jury :

M. TELLI ALIA	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Encadreur
M. BOURAS. N.	Maître de conférences A	Univ. Ghardaïa	Président
M ^{me} OUCI. H.	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	Examineur
M. KEMASSI. A.	Maître de conférences B	Univ. Ghardaïa	Examineur

2014/2015

The background features a vertical arrangement of pink roses on the left side, with several petals scattered across the page. A decorative border of small pink petals runs along the top and right edges. The text is centered in the middle of the page.

Dédicaces

À mes chers parents

À la mémoire de mes grands parents

À mes chers frères

À mes chers SALIMA, IMANE, KHOULOU, AYA, AHMED et ANFAL

À toute ma famille

À toute mes enseignants

À mes amis et mes collègues

À tous ceux qui aiment la science

A mes cousins et cousines

ATTIALAH M.

Remerciement

Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience à réaliser ce travail.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à la promotrice Melle TELLI ALIA Maitre assistante A au département de Biologie de la faculté SNV Université de Ghardaïa, sa présence et sa disponibilité permanente, pour ses conseils et son soutien, et pour m'avoir fourni ses idées nécessaires à l'expérimentation, ayant permis la réalisation sans difficulté ce présent travail.

Grand et respectueux remerciement va au Pr. M BOURAS N. Maitre de conférences A au département de Biologie de la faculté SNV Université de Ghardaïa, d'avoir accepté de présider le jury de mon mémoire

Merci aux membres du jury Mm OUCI H. Maitre assistant A au département de Biologie de la faculté SNV Université de Ghardaïa et Dr. KAMASSI A. Maitre de conférences B au département de Biologie de la faculté SNV Université de Ghardaïa, pour leur présence nécessaire et utile au sein du jury.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

A tout l'équipe des laboratoires pédagogiques de l'université de Ghardaïa

ATTIALLAH M.

Table de matière

Résumés
Liste des abréviations
Liste des tableaux
Liste des photos
Liste des figures

Introduction	01
--------------	-------	----

Chapitre I- Etude expérimentales

I- Matériels et méthodes.....	03
I.1.Matériel.....	03
I.1.1.Matériel végétal.....	03
I.1.1.1.répartition géographique.....	03
I.1.1.2.Position systématique.....	04
I.1.1.3.Description botanique de l'espèce.....	04
I.1.1.4. Récolte.....	04
I.1.1.5.séchage et broyage.....	04
I.1.2.Les souches bactérienne.....	05
I.2. méthodes.....	05
I.2.1.Extraction.....	05
a. Décoction.....	05
b. L'infusion.....	05
c. Macération.....	05
I.2.2. Détermination du rendement	06
I.2.3. Dosage polyphénol totaux	06
I.2.4. Dosage flavonoïde.....	06
I.2.5. Dosage acide-phénol.....	06
I.2.6. Dosage tannins condensé	07
I.2.7. Détermination des activité biologie.....	07

I.7.1 Evaluation de l'activité antioxydant.....	07
a. ABTS.....	07
b. DPPH.....	07
c. FRAP.....	07
I.2.7. Evaluation des activités antimicrobienne.....	08
I.2.8. Analyse statistique.....	08

Chapitre II. résultat et discussion

II. Résultat et discussion.....	09
II.1.1.Rendement d'extraction	09
II.1. 2.Teneur en polyphénol totaux.....	10
II.1.3. Teneur en flavonoïde.....	11
II.1.4. Teneur en acide phénol.....	12
II.1.5. Teneur en tannin condensé.....	12
II.2. Activités biologiques.....	14
II.2.1. activité anti-oxydante.....	14
II.2.1.1.ABTS.....	14
II.2.1.2.DPPH.....	16
II.2.3.FRAP.....	19
Activité antimicrobienne.....	21
II.3. Corrélation entre les différents variables étudiés	22
Conclusion.....	24
Références bibliographiques	
Annexes	

Activités biologiques des extraits aqueux de *Cotula cinerea*

Résumé

Ce travail contribue à la valorisation d'une espèce spontanée du Sahara septentrional *Cotula cinerea* (Asteraceae) en la caractérisant par le dosage de certains composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, acides phénols et tanins condensés) et l'évaluation des activités biologiques (anti-oxydante et antibactérienne) de ses différents extraits aqueux. Ces extraits sont obtenus selon les modes traditionnels de préparation qui sont : la décoction, l'infusion et la macération. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait obtenu par décoction présente les valeurs les plus élevées de rendement $22,71 \pm 1,05\%$, et de la teneur en polyphénols qui est $2853,30 \pm 256,78 \mu\text{g EAG/g}$ de poids sec (PS) du matériel végétal. Concernant les teneurs en flavonoïdes, acides phénols et tanins condensés, l'extrait obtenu par macération est le plus riche en ces composés avec des taux de $(690,92 \pm 72,08)$, $(333,33 \pm 28,87)$, $(1069,79114 \pm 91,83 \mu\text{g EAG/g}$ respectivement. L'activité anti-oxydante de ces extraits a été déterminée par trois tests qui sont ABTS, DPPH et FRAP. Les différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* ont réagi différemment avec ces tests. En effet, la meilleure activité pour le test d'ABTS est obtenue avec la décoction $(6389,85 \pm 129,09 \mu\text{M ET/g})$, alors que pour les tests de DPPH et FRAP les plus importantes activités ont été obtenues avec la macération et qui sont $(2002,27 \pm 17,39) \mu\text{M ET/g}$ et $(7576,19 \pm 67,51) \mu\text{M ET/g}$ respectivement. L' IC_{50} pour les tests ABTS et DPPH et EC_{50} pour le FRAP ont été déterminées les résultats sont la macération $\text{IC}_{50} = 21,19 \mu\text{g/ml}$, l'infusion $\text{IC}_{50} = 11,51 \mu\text{g/ml}$ et l'infusion, macération est égale $0,14 \mu\text{g/ml}$ respectivement. Les différents extraits ont été également soumis à un criblage pour leur possible activité antibactérienne. Les résultats obtenus ont montré que les différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* n'ont aucune activité antibactérienne sur les souches testées.

Mots clés : *Cotula cinerea*, extraits aqueux, activités biologiques, composés phénoliques, ABTS, DPPH, FRAP.

Biological activities of aqueous extracts of *Cotula cinerea*

Abstract

This Work focuses on the valorization of spontaneous species of the northern Sahara *Cotula cinerea* (Asteraceae) in characterizing the determination of certain phenolic compounds (polyphenols, flavonoids, phenolic acids and condensed tannins) and evaluation of biological activities (anti -oxydante and antibacterial) its various aqueous extracts. These extracts are obtained by conventional preparation methods which are: decoction, infusion and maceration. The results obtained showed that the extract obtained by decoction has the highest values of yield ($22.71 \pm 1.05\%$) and polyphenols which is ($2853.30, 256.78 \pm$). Regarding the contents of flavonoids, phenolic acids and condensed tannins, the extract is obtained by macerating the richest in these compounds with rate of (690.92 ± 72.08), (333.33 ± 28.87) (1069.79114 ± 91.83 , respectively. The antioxidant activity of these extracts was determined by three tests that are ABTS, DPPH and FRAP. Different *Cotula cinerea* aqueous extracts were reacts differently with these tests. In fact, better activity for ABTS test is achieved with the decoction ($6389,85\mu\text{M AND / g}$), whereas for the test of DPPH and the larger FRAP activities were obtained with the maceration and are ($2002.27 \pm 17, 39$) AND $\mu\text{M / g}$ and (7576.19 ± 67.51) AND $\mu\text{M / g}$ respectively. The IC₅₀ for ABTS and DPPH test and EC₅₀ for FRAP were determined the results are determined maceration IC₅₀ = 21.19 g / ml , the infusion IC₅₀ = 11.51 mg / ml and the infusion and maceration is equal to 0.14 mcg / ml , respectively.

The various extracts were also subjected to screened for their potential antibacterial activity. The results obtained showed that aqueous extracts of different *Cotula cinerea* have no antibacterial activity.

Keywords: *Cotula cinerea*, aqueous extracts, biological activities, phenolic compounds, ABTS, DPPH, FRAP

الملخص

تهدف هاته الدراسة إلى تثمين نبتة برية من شمال الصحراء *Cotula Cinerea* (استراسيا) وذلك بمعايرة مركبات فينولية معينة (البوليفينول، الفلافونويد والأحماض الفينولية والتانين مكثف) وتقييم الأنشطة البيولوجية (المضادة للاكسدة - والمضادة للجراثيم) لمختلف المستخلصات المائية. تم الحصول على هذه المستخلصات باتباع الأساليب التقليدية وهي: الغلي، والتسريب والنقع. وأظهرت النتائج المتحصل عليها أن المستخلصات التي تحصلنا عليها عن طريق الغلي لديها أعلى قيم من المردود (1.05 ± 22.71%) والبوليفينول وهي (256.78 ± 2853.30). وفيما يتعلق محتويات فلافونيدات وأحماض فينولية ومواد دابغة المختصرة، فإن النتائج المتحصل عليها عن طريق التنقيع هي الاغنى في هذه المركبات مع معدل (690.92 ± 72.08)، (28.87 ± 333.33) (+ 1069.79114 ± 91.83 على التوالي). وقدرت النشاط المضاد للأكسدة من هذه المستخلصات ب ثلاثة اختبارات هي ABTS، DPPH وFRAP. مختلف المستخلصات المائية ل *Cotula Cinerea* تفاعلت بطرق مختلفة مختلفة مع هذه الاختبارات. في الواقع، كانت افضل النتائج المتحصل لنشاط ل ABTS عن طريق الغلي قدرت ب (μM85،6389 و / ز)، بينما كانت افضل نتائج لاختبار DPPH وأنشطة FRAP عن طريق النقع وهم (17.39 ± 2002.27) و / μM. و (67.51 ± 7576.19) و / μM. تم تحديد قيمة (IC50) ل ABTS و DPPH واختبار FRAP تم تحديد نتائج النقع IC50 = 21.19 جم / مل، و IC50 التسريب = 11.51 ملغ / مل و التسريب و النقع يساوي 0.14 ميكروغرام / مل على التوالي، كما قمنا بتعريض المستخلصات المختلفة للنشاط المضاد للجراثيم. وأظهرت النتائج أن مختلف المستخلصات المائية ل *Cotula Cinerea* ليس لها نشاط مضاد للجراثيم.

الكلمات الدالة : السنجابية *Cotula*، المستخلصات المائية والأنشطة البيولوجية، المركبات الفينولية، ABTS، DPPH،

FRAP

Liste des abréviation

MV :	Matériel végétal
Min:	Minute
p/V :	Poids par volume
H :	Heur
°C :	Degré ceci
μM :	Micro mètre
mgEAG/g :	Miligrame équivalent acide gallique par gram
mgEAc/g :	Miligrame équivalent acide caféique par gram
Mg ER/g :	Miligrame équivalent ruttin par gram
MI :	Mililitre
Nm :	Nanou mètre
ET/g :	Equivalent de torolox par gram
Mg :	Miligrame
μl :	Micro litre
μMET :	Micro mètre Equivalent de torolox par gram
M:	Mol
NAOH	hydroxyde de sodium
Hcl	Acide chlorhydrique
IC₅₀ :	Inhibitrice concentration 50%
Fecl₃:	Chlorure de fer
FRAP (μMET/g):	Ferric Reducing Antioxidant Power en micro molaire equivalent de trolox par gramme.
DPPH (μMET/g) :	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle en micro molaire equivalent de trolox par gramme.
ABTs (μMET/g)	acide 2'2, azino-bis-(3-éthylebenzothiazoline)-6-sulfonique en micro molaire equivalent de trolox par gramme.
T.C (mg EC/g)	les tanins condensés en mg equivalent de catéchine par gramme.
A.PH (mg EAC/g)	les acides phénols en mg equivalent d'acide caféique par gramme
FLV (mg ER/g)	les flavonoïdes en mg equivalent de rutine par gramme.
PPT (mg EAG/g)	Les polyphénols totaux en mg equivalent d'acide gallique par gramme.
R(%)	Le rendement en pourcentage
GFCPM	Gentiana Fondation pour la connaissance ses plants médicinales

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
Tableau 01:	Concentration inhibitrice (IC ₅₀) de 50% de radical cation ABTS des différents extraits aqueux de <i>Cotula cinerea</i>	16
Tableau 02:	Concentration inhibitrice (IC ₅₀) de 50% de radical cation DPPH des différents extraits aqueux de <i>Cotula cinerea</i> .	18
Tableau 03:	Concentration inhibitrice (IC ₅₀) de 50% de radical cation FRAP des différents extraits aqueux de <i>Cotula cinerea</i>	21
Tableau04 :	Résultat de l'Activité Antibactérienne	21
Tableau 05:	Matrice de corrélation	22

Liste de photo

N°	Titre	Page
Photo 01 :	<i>Cotula cinerea</i> Del	03
Photo 02 :	<i>Cotula cinerea</i> séché	04

Liste des Figure

N°	Titre	Page
Figure 01	<i>Cotula cinerea</i> Del	03
Figure 02	<i>Cotula cinerea</i> après séchage	05
Figure 03	Rendement d'extraction des différents extraits aqueux de <i>Cotula cinerea</i> .	09
Figure 04	Résultat de Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de <i>Cotula cinerea</i> .	10
Figure 05	Résultat de Teneur en flavonoïde totaux des différents trois extraits	11
Figure 06	Résultat de Teneur en acide-phénol des trois extraits d	12
Figure 07	Résultat de teneur en tannins condensé d'extrait <i>cotula cinerea</i>	13
Figure 08	Activité anti-oxydante des différents extraits aqueux de <i>cotula cinerea</i> par le test d'ABTS	14
Figure 09	Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par décoction de <i>Cotula cinerea</i> .	15
Figure 10	Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par infusion de <i>Cotula cinerea</i> .	15
Figure 11	Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par macération de <i>Cotula cinerea</i> .	16
Figure 12	Activité anti-oxydante des différents extraits aqueux de <i>cotula cinerea</i> évaluée par le test DPPH	17
Figure 13	Relation entre l'inhibition de radical cation de DPPH et la concentration de l'extrait obtenu par infusion de <i>Cotula cinerea</i> .	18
Figure 14	Relation entre l'inhibition de radical cation de DPPH et la concentration de l'extrait obtenu par décoction de <i>Cotula cinerea</i>	18
Figure 15	Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par macération de <i>Cotula cinerea</i> .	18
Figure 16	Activité anti-oxydante des différents extraits aqueux d' <i>cotula cinerea</i> par le test de FRAP	19
Figure 17	Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par décoction de <i>Cotula cinerea</i> .	20
Figure 18	Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par l'infusion de <i>Cotula cinerea</i> .	20
Figure 19	Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par macération de <i>Cotula cinerea</i> .	21

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales et aromatiques ont été adjointes au changement et aux modifications des civilisations. Dans toutes les régions du monde, depuis plusieurs années, les médicaments naturels et surtout les plantes médicinales restent l'essentielle, voire l'unique ressource de la médecine des anciennes populations (MAKHLOUFI, 2010).

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux et renouvelable pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances (DIATTA *et al.*, 2013).

L'utilisation de plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Selon l'OMS (2013), la médecine traditionnelle, ou complémentaire et parallèle, a regagné son recours dans les pays développés. En effet, de très nombreux patients souffrant d'une sclérose en plaques font usage de traitements de la médecine complémentaire et parallèle: le taux d'utilisation va de 41 % en Espagne à 70 % au Canada et à 82 % en Australie (OMS, 2013).

Les plantes sont également utilisées pour leur propriété thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires qui sont des molécules spécifiques et sans action pour la croissance et la reproduction des plantes. Ces molécules servent pour la défense (lutte contre les agressions, maladies), à attirer des insectes et des animaux pour la reproduction, la pollinisation ou encore à éloigner les prédateurs (via des molécules colorées ou odorantes, herbicides, drogues), ils sont divisés principalement en trois grandes familles: Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes. (KHELIF et NAAM, 2014).

En effet, les antioxydants naturels font l'objet de nombreuses recherches et une nouvelle haleine vers l'exploitation des métabolites secondaires généralement et les polyphénols particulièrement tant dans la santé et vis-à-vis des maladies pernicieuses (cancer) que dans l'industrie agro-alimentaire. Ces composés qui sont représentés par la famille des flavonoïdes (flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols isoflavanols ; flavanones ; isoflavanones ; aurones et anthocyanidines), sont largement recherchés pour leurs propriétés biologiques : antioxydantes, anti-inflammatoires, antiallergiques

et anti-carcinogènes. Notant que l'efficacité puissante de ces substances à stopper les réactions radicalaires en neutralisant les radicaux libres est due principalement à leurs structures phénoliques avec la présence des groupements hydroxyles (BELYAGOUBI, 2012).

La zone Saharienne présente une flore spécifique, caractérisés par une importante diversité floristique, renfermant de nombreuses espèces endémiques hautement adaptées au climat de la zone aride, permis ces espèce *Cotula cinerea* (Gartoufa), appartenant à la famille « Astéraceae »; c'est parmi les plantes médicinales les plus utilisées par la population locale, en raison de leur propriétés médicinales. *Cotula cinerea* est utilisée contre l'insolation, coliques, toux et le refroidissement broncho-pulmonaire, elle est utilisée aussi en infusion pour faciliter la digestion (BOUZIAN, 2002).

Dans ce contexte, ce travail vise à évaluer les activités biologiques (anti-oxydante et antibactérienne) des extraits aqueux de *Cotula cinerea* ainsi que le dosage de certaines classes des composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes, acides-phénols et tanins condensés).

Les objectifs de la présente étude sont :

- Préparation des extraits aqueux selon les modes traditionnels de préparation (décoction, infusion et macération) de la partie aérienne de la plante *Cotula cinerea*.
- Détermination de la teneur en polyphénols, en flavonoïdes, en acides-phénols et en tanins condensés des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea*.
- Evaluation de l'activité anti-oxydante par trois tests qui sont : ABTS, DPPH et FRAP des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea*.
- Evaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* vis-à-vis trois souches par le test de diffusion sur l'agar.

Chapitre I-Matériel et méthodes

Chapitre I- Partie expérimental

I-Matériel et méthodes

I.1.-Matériel

I-1-1. Matériel végétal

L'espèce choisie dans cette étude est *Cotula cinerea*. Cette espèce est très utilisée par la population locale dans le Sahara comme remède et comme épice. En effet, dans le Sahara algérien et plus précisément à Ouargla, cette plante est destinée contre la colique, la diarrhée, la toux, le rhumatisme et la stérilité (Ould El Hadj *et al.*, 2003 ; Hammiche et Maiza, 2006 ; Belyagoubi, 2011).

I. 1. 1.1.- Répartition géographique

L'espèce *Cotula cinerea* est très rencontrée dans tout le Sahara, elle pousse dans les ergs et les sols peu ensablés. Dans la région d'Ouargla, Ghardaïa (Oued M' zab) et Bechar. *Cotula cinerea* est aussi connue dans les régions sahariennes d'Egypte et du Maroc (Bouziane, 2002).



Figure 01: Photo de *Cotula cinerea* Del. (source : www.sahara-nature.com)

I.1.1.2.- Position systématique (Quezel et Santa, 1963 ; Dupont et Guignard, 2007)

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous embranchement : Angiospermes

Classe : Endicots

Sous classe : Astéridées

Ordre : Astérales

Famille : Astéraceae

Genre: *Cotula*

Espèce : *Cotula cinerea* Del., syn. *Brocchia cinerea* (Del.) Vis.

Noms vernaculaires : Chihia ou Robita (Quezel et Santa 1963), Al gartoufa.

I. 1.1.3.- Description botanique de l'espèce

C'est une petite plante annuelle d'aspect laineux de 5 à 15 cm entièrement tomenteuse. Les tiges sont dressées ou diffuses. Les feuilles et les tiges vert-blanchâtre sont recouvertes de petits poils denses qui forment comme un manteau de velours. Les feuilles petites, entières épaisses et veloutées sont découpées en trois à sept dents ou 'doigts' qui se présentent comme une main légèrement refermée. Les fleurs sont de petits demi pompons jaune d'or au bout d'une courte tige. C'est une espèce Saharo-arabique commune dans tout le Sahara et les lieux sablonneux désertiques (Quezel et Santa, 1963).

I.1.1.4.- Récolte de la plante

L'espèce choisie dans cette étude (*Cotula cinerea*) a été achetée à l'état frais au mois de mars au niveau de marché de Mitlili.

I.1.1.5.- Séchage et broyage

Le matériel végétal est séché à l'abri de la lumière dans un endroit bien aéré à la température ambiante pendant 15 jours. Après le séchage, la plante sèche est réduite en poudre par un broyeur (FRITSCH.15.4300.00). La poudre de la plante est conservée dans des flacons en verre bien fermés.



Figure 02: Photo de *Cotula cinerea* après séchage

I.1.2.-Matériel biologique

Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude pour évaluer l'activité antibactérienne sont : *Escherichia coli* (bacille Gram-), *Proteus mirabilis* (bacille Gram-) et *Micrococcus luteus* (cocci Gram+). Toutes ces souches sont fournies par le Laboratoire de Bactériologie, Université de Ghardaïa.

I.2.- Méthodes

I.2.1.- Extraction

L'extraction est effectuée selon les modes traditionnels de préparation qui sont : la décoction, l'infusion et la macération.

a. Décoction

Le matériel végétal est mélangé avec de l'eau distillée à un rapport de (1/20 : p/v) puis bouillit à 98 ± 2 °C pendant 5 min. Le mélange est laissé reposer 15 min ensuite filtré.

b. Infusion

Le matériel végétal est mélangé avec de l'eau distillée bouillie à un rapport de (1/20 : p/v). Le mélange est bien agité et reposé 15 min ensuite filtré.

c. Macération

Le matériel végétal est mélangé avec de l'eau distillée à un rapport de (1/20 : p/v). Le mélange est laissé macérer pendant 24 heures à la température ambiante, puis filtré.

Les filtrats obtenus ont été concentrés par le rota vapor (Heidolph N:560-00000-00-0) pendant 2 heures. Les extraits sont conservés à +4 °C jusqu'à leur utilisation.

I.2.2.- Détermination de rendement

Le rendement de l'extraction est déterminé après évaporation de l'eau à 103 ± 2 °C pendant 24 heures à l'étuve (TRADA RAYPA:53485), il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale du matériel végétal soumise à l'extraction.

I.2.3.- Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dès 1965 (SINGLETON et ROSSI, 1965 ; BOIZOT et CHARPENTIER, 2006). Son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origine la plus diverse. Le réactif est constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes de tungstène et de molybdène (RIBEREAU-GAYON, 1968). La coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols présents dans les extraits végétaux. La mesure de l'absorbance est effectuée à 765 nm par un spectrophotomètre (JENWAY 6315) après une heure de repos à l'obscurité. Une courbe d'étalonnage est effectuée en prenant l'acide gallique comme référence. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique pour 1 g de poids sec de *Cotula cinerea* (mg EAG/g) (TELLI, 2009).

I.2.4.- Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux sont déterminés selon le test colorimétrique de KIM, JEONG et LEE (2003) avec quelques modifications. L'absorbance de développement de la couleur rose est déterminée à 510 nm par un spectrophotomètre (JENWAY 6315). La préparation de la courbe d'étalonnage est faite avec la rutine et les résultats sont exprimés en mg équivalent en rutine par 1 g du poids sec d'échantillon (mg ER/g) (TELLI, 2009).

I.2.5.- Dosage des acides-phénols

L'estimation du taux des acides-phénols est effectuée selon la méthode D'ARNOW (SZAUFER-HAJDRYCH, 2004). 1 ml d'échantillon est mélangé avec 5 ml de l'eau distillée, 1 ml HCl (0,5 M), 1 ml de réactif D'ARNOW et 1 ml de NaOH (1 M) et le volume est accompli à 10 ml par l'eau distillée. L'absorbance est mesurée à 490 nm (JENWAY 6315). La teneur en acides-phénols est exprimée en mg en équivalent d'acide caféique (EAC) par gramme du poids sec.

I.2.6.- Dosage des tanins condensés

La teneur en tanins condensés est effectuée selon la méthode décrite par SUN et al. (1998). A 0,2 ml d'extrait, 1 ml de réactif de vanilline 1% fraîchement préparé est additionné. Après incubation pendant 20 min à 30 °C, l'absorbance est mesurée à 510 nm (JENWAY 6315). Les tanins condensés sont calculés en mg équivalent de (+) catéchine par gramme poids sec.

I.2.7.- Détermination des activités biologiques

I.2.7.1.- Evaluation de l'activité antioxydant

a. Test d'ABTS

L'activité anti-oxydante a été mesurée en utilisant une méthode améliorée d'ABTS comme décrit par CAI et al. (2004). La solution de radical cation (ABTS^{•+}) est préparée par la réaction d'ABTS (7 mM) et persulfate de potassium (2,45 mM) pendant 16 heures en obscurité et à 23 °C. La solution d'ABTS^{•+} obtenue est diluée avec de l'éthanol (80%) afin d'obtenir une absorbance de 0,700±0,02 à 734 nm. A 3,9 ml de la solution d'ABTS^{•+} (0,700±0,02) est additionné 0,1 ml d'échantillon testé et mélangés vigoureusement. Le mélange réactionnel est laissé reposer à 23 °C pendant 6 min et l'absorbance à 734 nm est immédiatement enregistrée. Une courbe d'étalonnage est préparée en utilisant le Trolox comme standard à différentes concentrations (50 à 500 µM). les résultats sont exprimés en µM en équivalent de Trolox par g du poids sec (TELLI, 2009).

b. Test de DPPH

Le test de DPPH est fait selon la méthode de BRAND-WILLIAMS et al. (1995) avec quelques modifications. La solution de DPPH est préparée par dissolution de 25 mg de DPPH avec 100 ml de méthanol (80%). La solution utilisée est diluée par le méthanol afin d'obtenir une absorbance de 1,700±0,02 à 515 nm. Les extraits de *Cotula cinerea* (100 µl) est réagis avec 3900 µl de la solution de DPPH pendant 30 min à l'obscurité, puis l'absorbance de mélange est lu à 515 nm. Le Trolox est utilisé comme standard pour la préparation de la courbe d'étalonnage (50 à 500 µM). les résultats sont exprimés en µM ET/g du poids sec.

c. Test de FRAP

Le test de FRAP est fait selon la méthode de Benzie et Strain (1996) avec des petites modifications. La solution de FRAP est fraîchement préparée par mélange de 10 ml de 300 mM

de tampon acétate (pH 3,6), 1 ml d'une solution de 10 mM TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) et 1 ml d'une solution de FeCl₃.6H₂O et après chauffé à 37 °C avant l'utilisation. 150 µl des extraits ont été réagis avec 2850 µl de la solution de FRAP pendant 30 min à l'obscurité. La lecture de produit coloré (le complexe tripyridyltriazine ferreux) a été effectuée à 593 nm. La courbe d'étalonnage de Trolox est linéaire entre 50 et 800 µM. Les résultats ont été exprimés en µM équivalent de Trolox ET/g du poids sec de matériel végétal.

I.2.7.2.- Evaluation des activités antimicrobiennes

L'activité antibactérienne des extraits aqueux de *cotula cin* est évaluée par la technique de diffusion sur l'agar (méthode des disques) selon la méthode décrite par Falleh et ses collaborateurs (2008) vis-à-vis de trois souches bactériennes (à Gram-: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* et à Gram+: *Micrococcus luteus* . Les différentes espèces bactériennes sont d'abord repiquées par la méthode des stries dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton, puis incubées à 37 °C pendant 24 h. Une ou plusieurs colonies de chaque culture pure sont prélevées et transférées dans l'eau physiologique .

Un prélèvement à partir de cet inoculum sert à ensemercer de nouvelles boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton par technique d'écouvillonnage. Des disques de papier filtre de 6 mm de diamètre, stériles, sont chargés des extraits aqueux et placés à la surface de ces boîtes. Les disques des contrôles négatifs sont imprégnés d'eau distillée. Les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h. Les résultats sont exprimés en diamètres des zones d'inhibition produites autour des disques.

I.2.8- Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés en moyenne \pm écart type de trois réplicats analytiques. Le probit a été utilisée comme model afin de déterminer IC₅₀ et EC₅₀. Pour déterminer la corrélation entre les méthodes de l'activité anti-oxydante et la contribution des différents composés phénoliques à la capacité anti-oxydante, le coefficient de corrélation de Person a été calculé. Toutes les analyses ont été réalisées par XLSTAT 2009.

Chapitre II-Résultats et discussions

Chapitre II-Résultats et discussions

II.- Résultats et discussions

II.1.Rendements d'extraction

Les résultats de rendement d'extraction des différents extraits de *Cotula cinerea* sont présentés dans la figure 01.

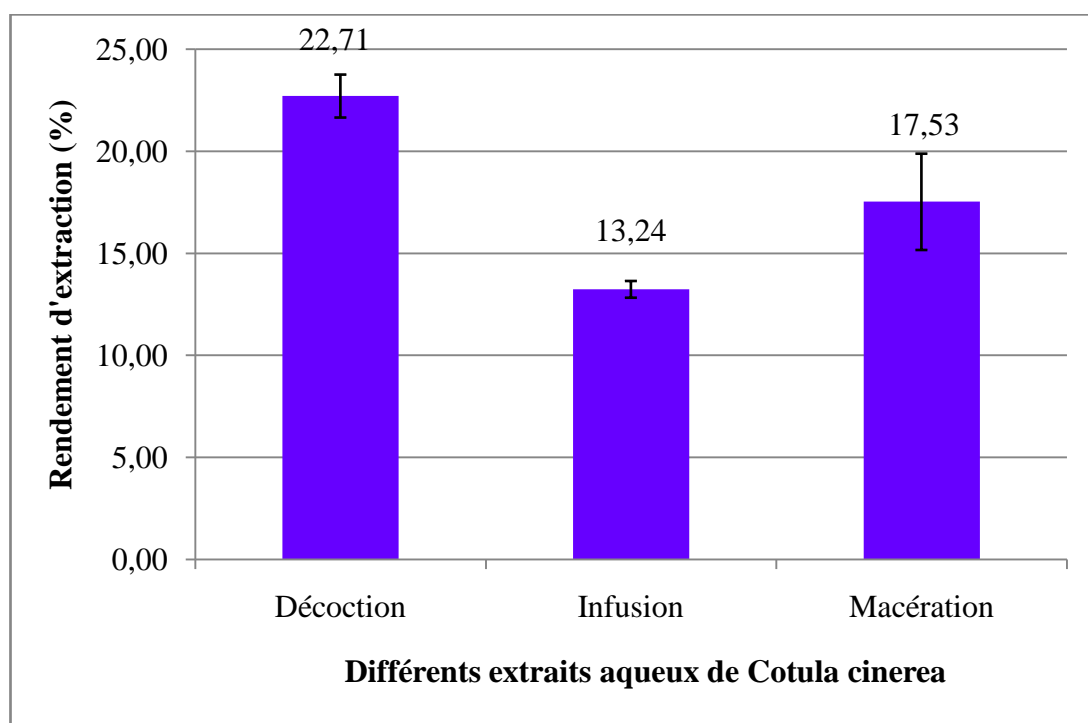


Figure 03 : Rendement d'extraction des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea*.

Nous constatons que le rendement d'extraction varie d'un extrait à un autre et d'un mode de préparation à un autre. Le rendement le plus élevé a été observé avec l'extrait obtenu par décoction ($22,71 \pm 1,05\%$), suivi par l'extrait de macération ($17,53 \pm 0,85\%$), et enfin l'extrait de l'infusion qui possède le plus faible rendement avec ($13,24 \pm 0,41\%$).

Il a été démontré que pour l'extraction par les solvants à température élevée permettait d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs que lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante et qu'ils sont plus élevés pour l'extrait aqueux que éthanolique (Majhenic et al., 2007).

Cela peut être expliqué par le fait que l'eau à haute température fait ramollir les tissus secs et permet la diffusion des différentes molécules polaires dans la phase liquide (Albano et Miguel, 2010). La chaleur peut, cependant, conduire à la dégradation des molécules thermolabiles (Seidel, 2005), c'est la raison pour laquelle la décoction a été effectuée pendant un temps réduit.

II. 2.- Teneur en polyphénols totaux

Les résultats de la teneur en polyphénols de différents modes d'extraction de *Cotula cinerea* sont présentés dans la figure 02.

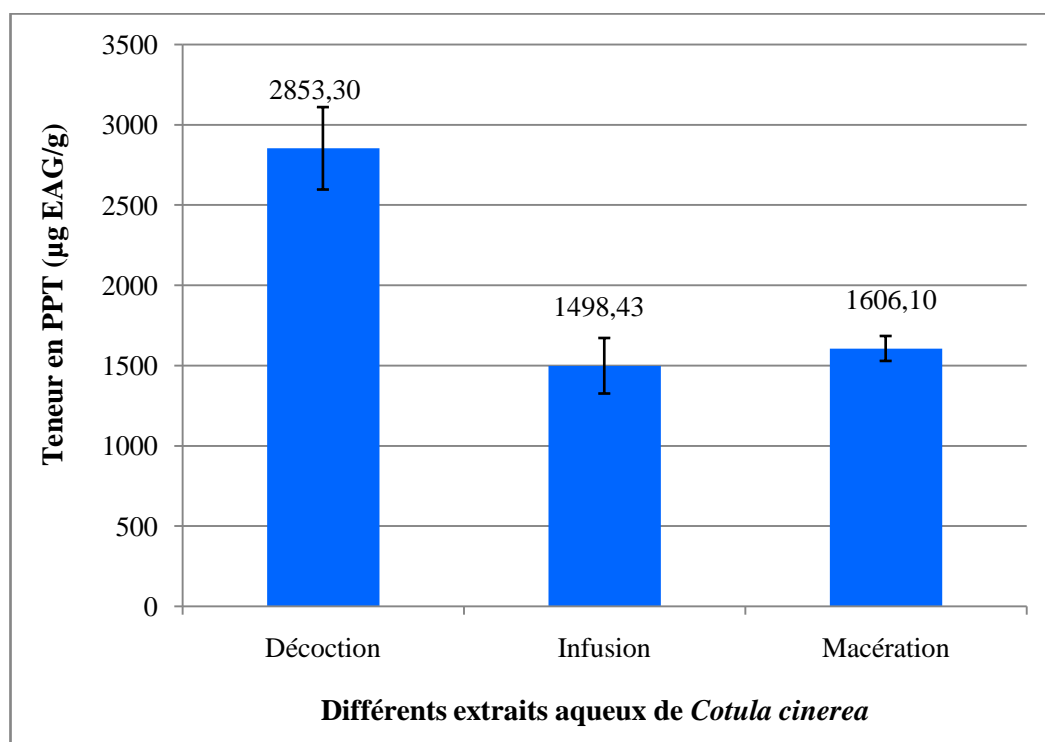


Figure 04: Résultat de Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de *Cotula cinerea*.

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait aqueux obtenu par la méthode décoction est le plus riche en polyphénols totaux avec un taux de $2853,30 \pm 256,78$ µg EAG/g, suivi par la

macération et l'infusion qui ont respectivement $1606,10 \pm 77,71 \mu\text{g EAG/g}$ et $1498,43 \pm 173,06 \mu\text{g EAG/g}$.

Des études ont prouvé que l'élévation de la température fait faciliter l'extraction des polyphénols par l'intensification de la solubilité de solutés et le coefficient de diffusion (AL-Farsi et Lee, 2007). Bien que l'infusion soit le meilleur mode de préparation qui préserve à la plante ses principes actifs (Chevallier, 2001), nos résultats montrent que la décoction permet l'extraction d'une quantité importante des composés phénoliques.

Cependant, plusieurs molécules peuvent réagir avec le réactif de Folin-Ciocalteu telles que les protéines et les acides aminés aromatiques.

II.1.3. Teneur en flavonoïde

La figure 03 présente les résultats de la teneur en flavonoïdes des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea*

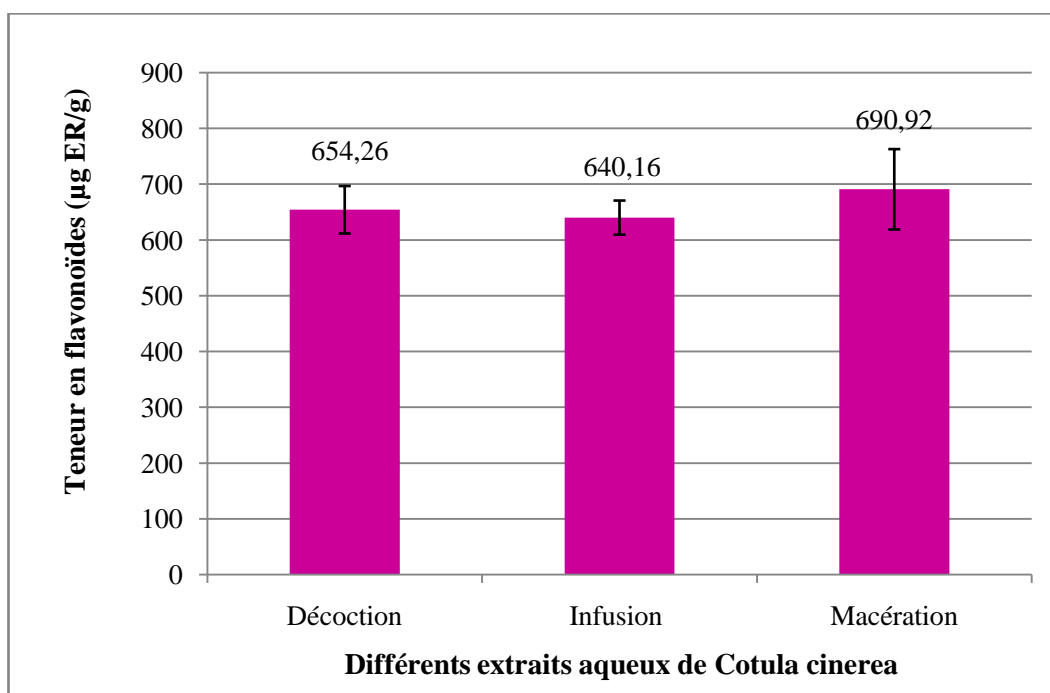


Figure 05: Teneur en flavonoïdes des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea*.

Au vue des résultats obtenus, il ressort que la teneur la plus importante des flavonoïdes a été enregistrée pour la macération avec $690,92 \pm 72,08 \mu\text{g ER/g}$, tandis que l'infusion a la teneur la plus faible ($640,16 \pm 30,60 \mu\text{g ER/g}$).

Il est important de souligner que la méthode utilisée (le choix des extraits), ainsi que les conditions dans lesquelles l'extraction est effectuée (à chaud ou à froid), affectent tous le contenu total en phénols et flavonoïdes (Lee et *al.*, 2003; Boudjouref, 2011).

II.1.4. Teneur en acides-phénols

La teneur en acides-phénols a été déterminée par le réactif d'Arnaw. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 04.

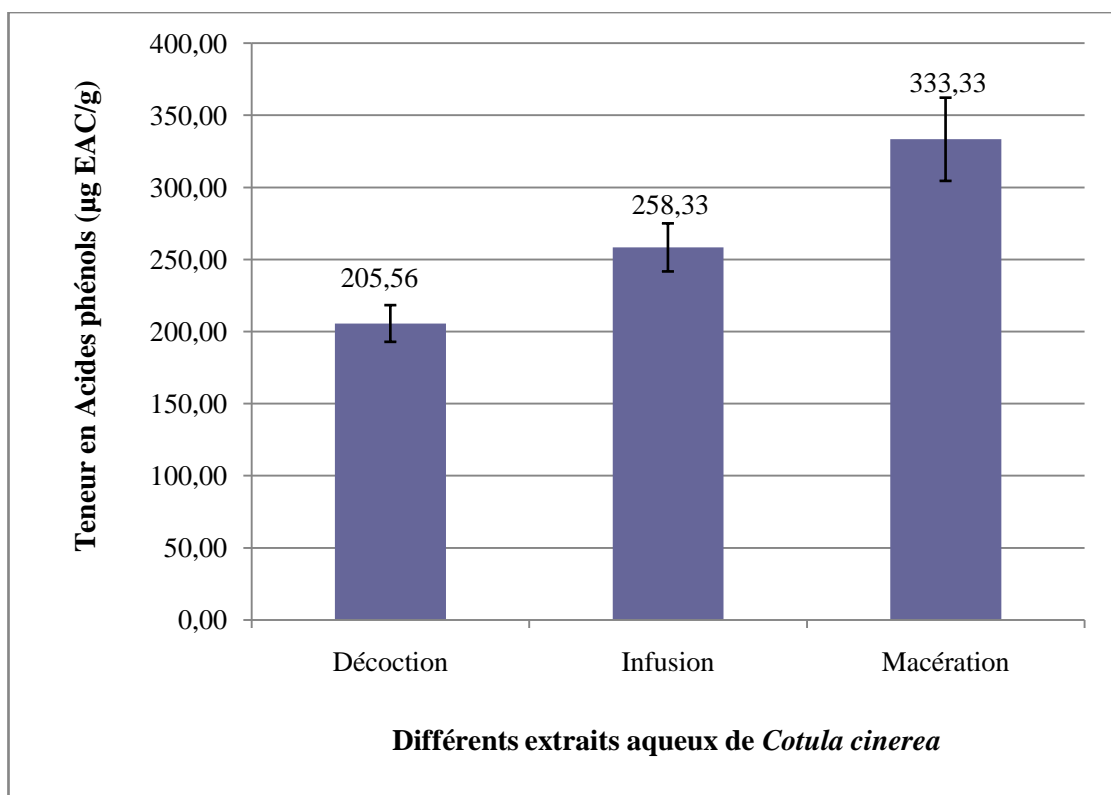


Figure 06 : Teneur en acide phénols des extraits aqueux de *Cotula cinerea*.

Il est à noter que l'extrait de macération est le plus riche en acides phénols avec des teneurs de $(333,33 \pm 28.87 \mu\text{g EAC/g})$, suivi par l'infusion et la décoction avec des teneurs de $258,33 \pm 16.67 \mu\text{g EAC/g}$ et $205,56 \pm 12.73 \mu\text{g EAC/g}$ respectivement.

Les acides-phénols constituent la classe des composés phénoliques simples et qui sont sensibles aux températures très élevées, ce qui peut expliquer leur taux important dans l'extrait de

la macération. La température élevée en présence de l'oxygène conduit à l'oxydation des composés phénoliques et à leur polymérisation (Renard *et al.*, 2014).

II.1.5. Teneur en tanins condensés

La teneur en tanins condensés des extraits aqueux de *Cotula cinerea* sont présentés dans la figure 05.

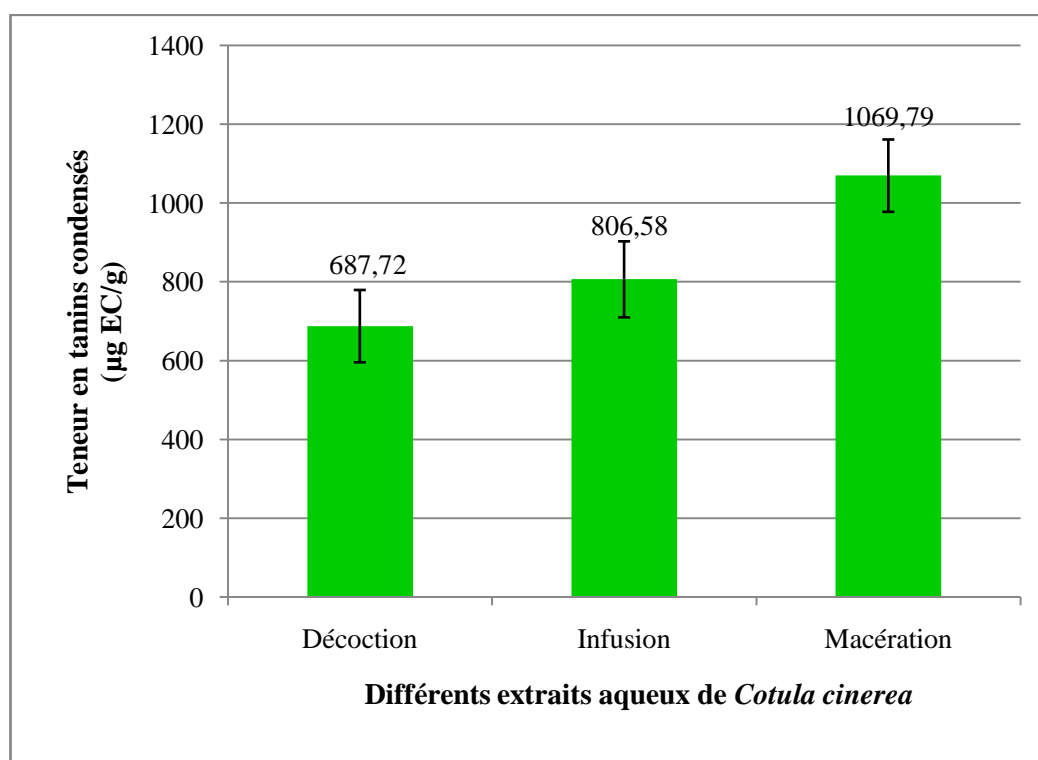


Figure 07 : Teneur en tanins condensés des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea*

Concernant les tannins condensés, les résultats obtenus montrent que la teneur la plus élevée est obtenue avec la macération ($1069,79 \pm 91,83 \mu\text{g EC/g}$) suivi par infusion ($806,58 \pm 96,43 \mu\text{g EC/g}$), alors que la teneur la plus faible est enregistrée pour l'extrait de décoction ($687,72 \pm 91,83 \mu\text{g EC/g}$).

A haute température, l'eau extrait aussi des substances indésirables comme les protéines, les lipides et les colorants non phénoliques qui causent des interférences lors de dosage des tanins. Nous pouvons alors conclure que l'extraction des tanins condensés dépend de leur nature chimique, du solvant utilisé et des conditions opératoires. Or, les teneurs en tanins condensés peuvent être variables aussi en raison de plusieurs facteurs tels que : la sensibilité des tanins à

des plusieurs voies de dégradation (l'oxydation, la lumière...), les conditions climatiques et les différents stressés biotiques (GHEDADBA et al., 2014).

II.2. Activités biologiques

II.2.1. Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante des extraits a été évaluée in vitro par trois méthodes différentes : l'ABTS, DPPH et FRAP.

II.2.1.1. ABTS

Les résultats de l'activité anti-oxydante évaluée par le test d'ABTS pour les extraits aqueux de *Cotula cinerea* sont présentés dans la figure 08.

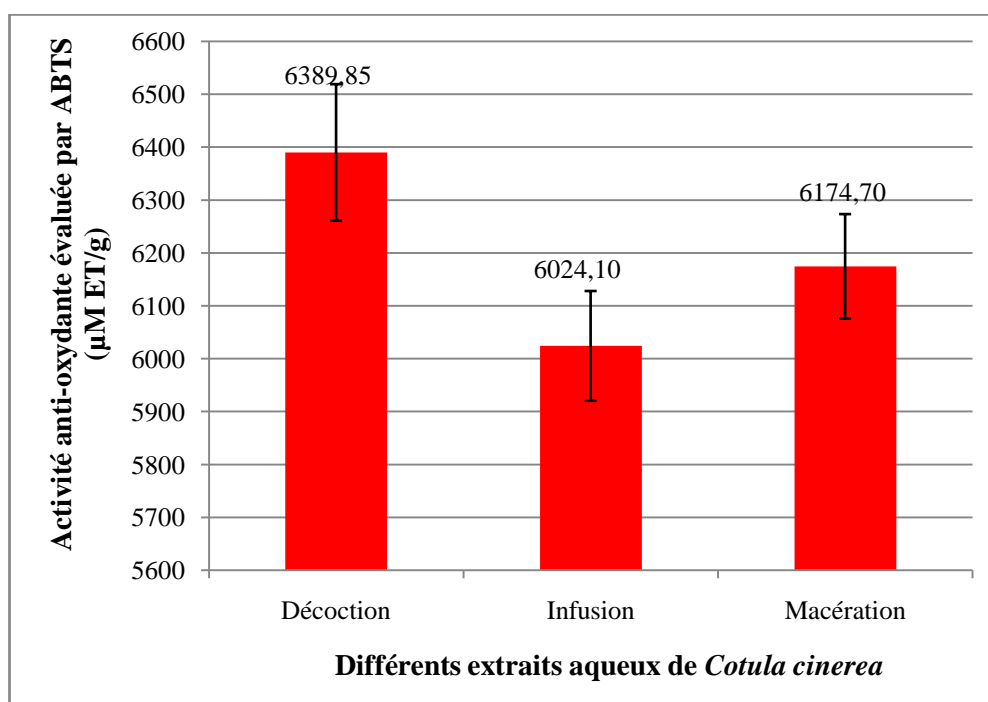


Figure 08: Activité anti-oxydante des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* évaluée par le test d'ABTS.

Il ressort de ces résultats que l'extrait obtenu par décoction présente la meilleure activité anti-oxydante qui est de $6389,85 \pm 129,09 \mu\text{M ET/g}$, suivi par la macération et l'infusion avec des valeurs respectives de $6174,70 \pm 98,59 \mu\text{M ET/g}$ et $6024,10 \pm 103,74 \mu\text{M ET/g}$.

• **Détermination de IC₅₀**

Pour déterminer la concentration inhibitrice de 50% de radical cation d'ABTS⁺, on a utilisé le probit comme moyen statistique. Pour cela, les pourcentages d'inhibition de radical ont été transformés en probit et les concentrations en logarithme décimale, ce qui permet d'établir l'équation des régressions entre le probit et Log₁₀ (concentration).

Les résultats obtenus, présentés dans les figures 09, 10 et 11 et le tableau 01, montrent que la macération aqueuse de *Cotula cinerea* présente la valeur la plus faible d'IC₅₀ (21,19 µg/ml) en comparaison avec les autres extraits et en comparaison avec l'IC₅₀ de Standards utilisés (Trolox et acide gallique) qui ont les valeurs suivantes 56,33 µg/ml et 78,15 µg/ml respectivement. Ces résultats prouvent l'efficacité des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* dans l'inhibition de l'ABTS⁺. En effet, BELYAGOUBI (2011) a montré que plus l'IC₅₀ est petite plus l'extrait est efficace à inhiber les radicaux libres, et par conséquent sa richesse en molécules ayant la capacité de réduire l'effet nocif les agents oxydants.

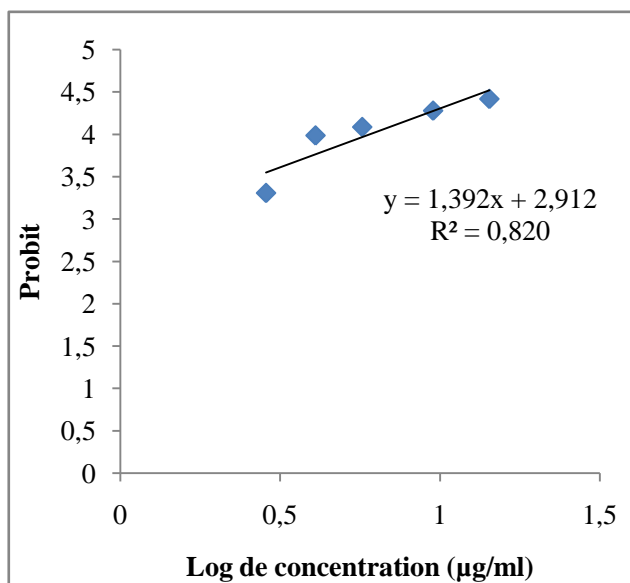


Figure 09: Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par décoction de *Cotula cinerea*.

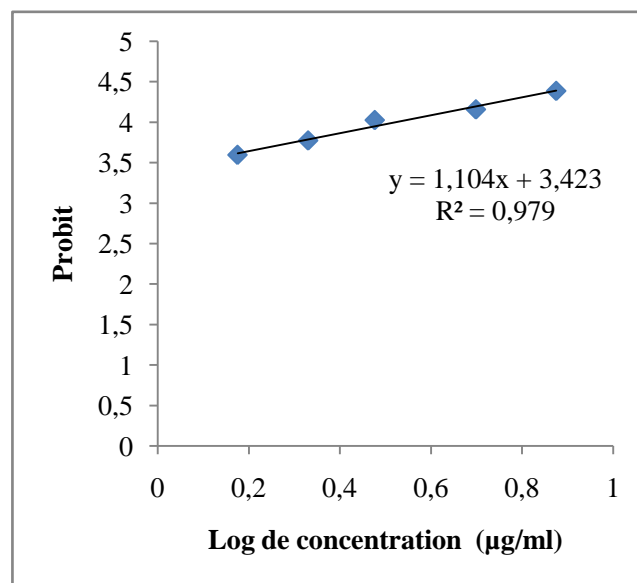


Figure 10: Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par infusion de *Cotula cinerea*.

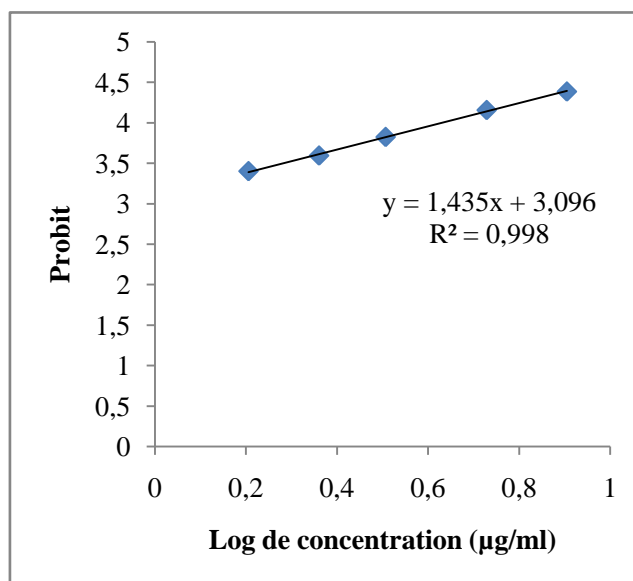


Figure 11: Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par macération de *Cotula cinerea*.

Tableau 01: Concentration inhibitrice (IC₅₀) de 50% de radical cation ABTS des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea*.

Extrait	Equation de régressions	Coefficient de régressions	IC ₅₀ (µg/ml)
Décoction	$y = 1,3923x + 2,9128$	$R^2 = 0,8207$	31,56
Infusion	$y = 1,1042x + 3,4234$	$R^2 = 0,9797$	26,78
Macération	$y = 1,4354x + 3,0964$	$R^2 = 0,9988$	21,19

II.2.1.2. Test de DPPH

Les résultats de l'activité anti-oxydante évaluée par le test DPPH pour les extraits aqueux de *Cotula cinerea* sont présentés dans la figure 12.

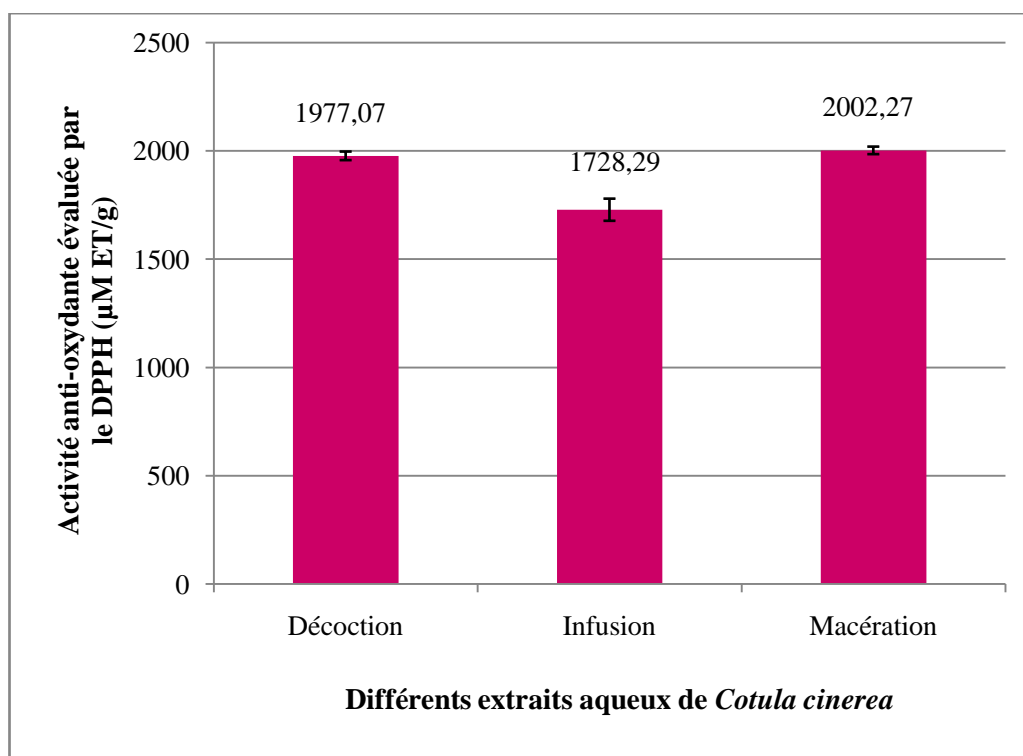


Figure 12: Activité anti-oxydante des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* évaluée par le test DPPH.

Les extraits obtenus par le mode macération et décoction sont assez proche ensuite viennent l'infusion avec des test DPPH respectives de (2002,27±17,39 µM ET/g), (1977,07±19,81 µM ET/g) et (1728,29±51,075 µM ET/g) .

- **Détermination de IC₅₀**

Pour chacun des extraits analysés pour leur capacité de piégeage de radicaux libres du DPPH. L'IC₅₀ est définie comme étant la concentration en produit nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH plus la valeur de l'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande.

A partir des figures 13,14,15, nous avons calculé les IC₅₀ de chaque extrait, Les valeurs des IC₅₀ obtenues pour l'ensemble des extraits, sont représentées dans le tableau 02, dont les valeurs sont exprimées en concentrations finales µg /ml.

D'après ces résultats déduire que la réduction de 50% du DPPH a été atteinte pour tous les extraits testés. Dans ce cas, la concentration EC₅₀ de la fraction infusion présente une bonne activité du piégeage du radical DPPH de l'ordre de (11.51 µg/ml) en comparaison à celle de l'extrait de macération(12.11 µg/ml) et de l'extrait de décoction (29.63 µg/ml)

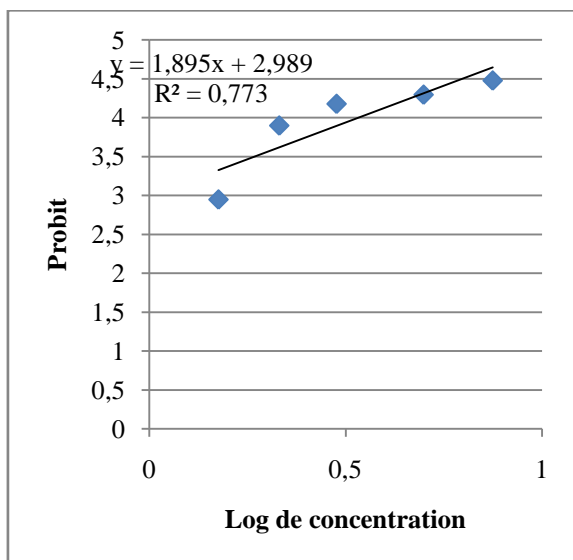


Figure 13: Relation entre l'inhibition de radical cation de DPPH et la concentration de l'extrait obtenu par infusion de *Cotula cinerea*.

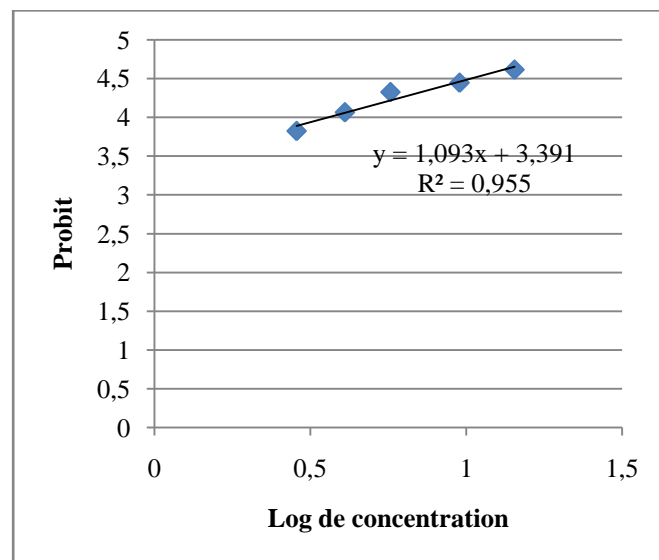


Figure 14: Relation entre l'inhibition de radical cation de DPPH et la concentration de l'extrait obtenu par décoction de *Cotula cinerea*.

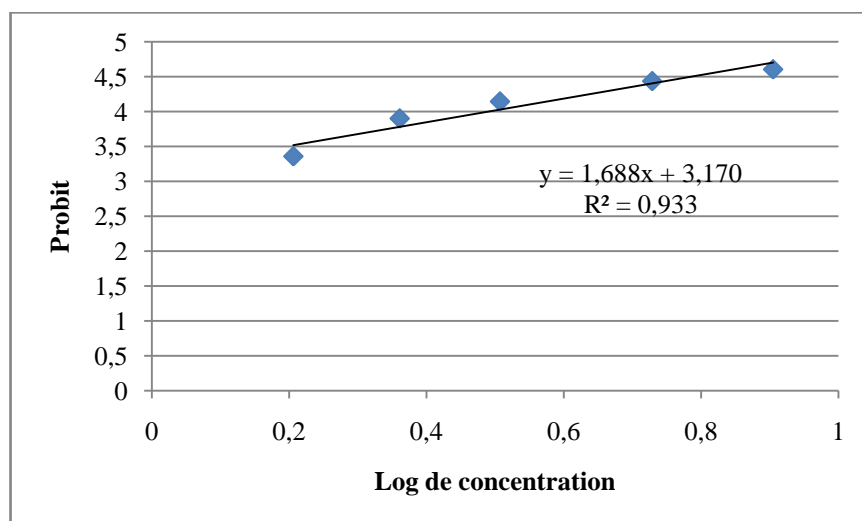


Figure 15: Relation entre l'inhibition de radical cation d'ABTS et la concentration de l'extrait obtenu par macération de *Cotula cinerea*.

Tableau 02: Concentration inhibitrice (IC_{50}) de 50% de radical cation DPPH des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea*.

Extrait	Equation de régressions	Coefficient de régressions	IC ₅₀ (µg/ml)
Décoction	$y = 1,093x + 3,391$	$R^2 = 0,955$	29,63
Infusion	$y = 1,895x + 2,989$	$R^2 = 0,773$	11,51
Macération	$y = 1.688x + 3,170$	$R^2 = 0,933$	12,11

II.2.1.3. Test de FRAP

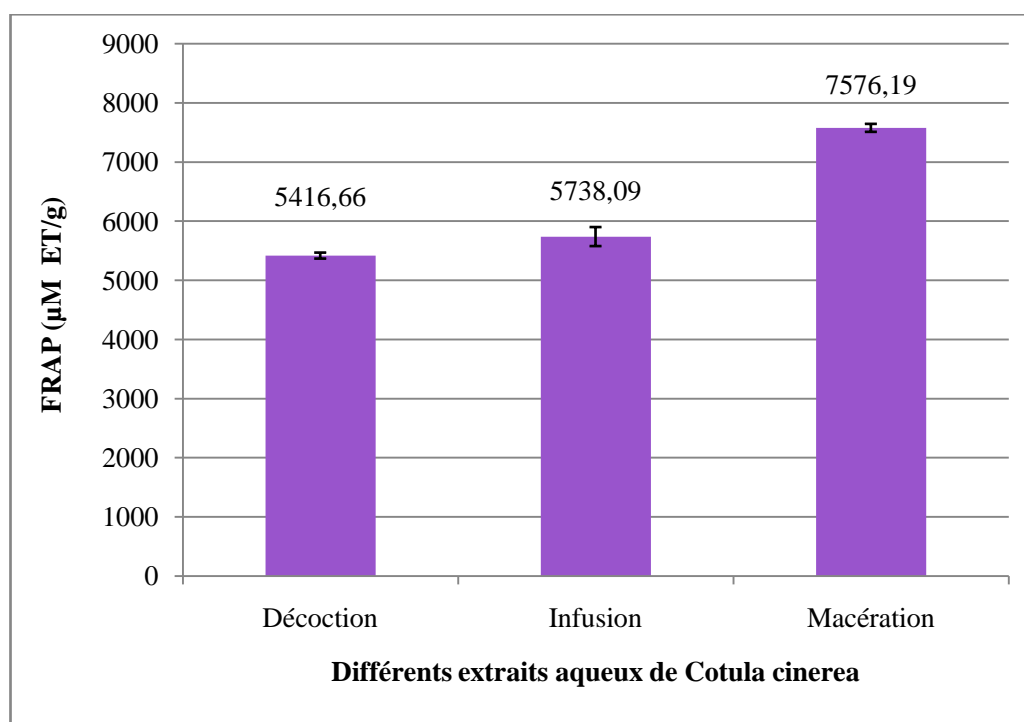


Figure 16: Pouvoir réducteur de fer des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea*.

Les résultats de l'activité anti-oxydante évaluée par le test de FRAP pour les extraits aqueux de *Cotula cinerea* sont présentés dans la figure 16.

Les résultats indiquent que l'extraction par macération de la plantes ont la capacité à réduire Fe^{3+} en Fe^{2+} savoir: ($7576,19 \pm 67,51 \mu\text{M ET/g}$), suivie par l'infusion ($5738,09 \pm 160,72 \mu\text{M ET/g}$) et enfin la décoction ($5416,66 \pm 50,67 \mu\text{M ET/g}$).

- **Détermination de IC₅₀**

Pour déterminer la concentration inhibitrice de 50% de radical cation de FRAP, on a utilisé le probit comme moyen statistique. Pour cela, les concentrations efficace qui permettent de réduire 50% des ions de fer ferrique en fer ferreux ont été transformés pourcentage puis en probit et les concentrations des différents extraits en logarithme décimale, ce qui permet d'établir l'équation des régressions entre le probit et Log_{10} (concentration).

Les résultats obtenus, présentés dans les figures 17, 18 et 19 et le tableau 03, montrent que la macération et l'infusion de *Cotula cinerea* présente les valeurs les plus faibles d' EC_{50} (0,14 $\mu\text{g/ml}$) en comparaison avec les autres extraits et en comparaison avec l' IC_{50} de Standards utilisés (Trolox et acide gallique) suivi par la décoction de *Cotula cinerea* 4,03 $\mu\text{g/ml}$. Ces résultats montrent l'efficacité des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* à réduire les ions de fer ferrique en fer ferreux et par conséquent l'intervention de ces ions dans la génération des radicaux libres par la réaction de Fonton .

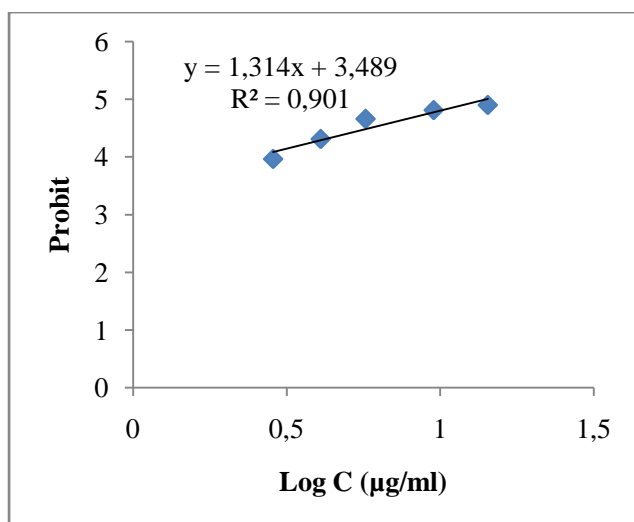


Figure 17: Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par décoction de *Cotula cinerea*.

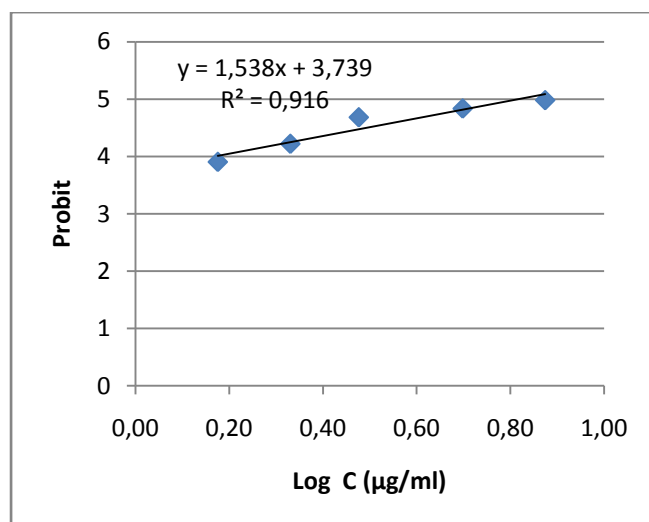


Figure 18: Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par l'infusion de *Cotula cinerea*.

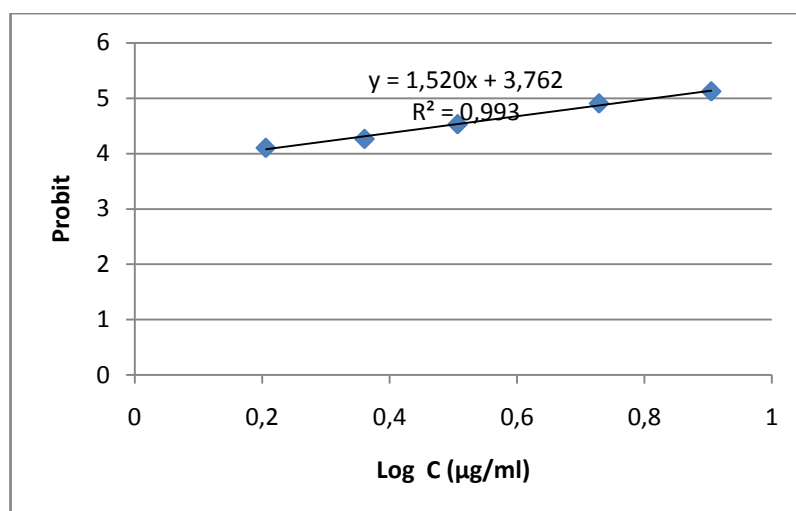


Figure 19: Relation entre l'inhibition de radical cation de FRAP et la concentration de l'extrait obtenu par macération de *Cotula cinerea*.

Tableau 03: Concentration inhibitrice (IC₅₀) de 50% de radical cation FRAP des différents extraits aqueux de *Cotula cinerea*

Extrait	Equation de régressions	Coefficient de régressions	IC ₅₀ (µg/ml)
Décoction	$y = 1,314x + 3,489$	$R^2 = 0,901$	4,03
Infusion	$y = 1,538x + 3,739$	$R^2 = 0,916$	0,14
Macération	$y = 1.520x + 3,762$	$R^2 = 0,993$	0,14

II.2.2. Activité antimicrobienne

Il apparait qu'aucune zone d'inhibition n'est apparue autour des disques imbibés avec les différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* à différentes concentration sur les souches bactériennes testées.

Tableau 04: Résultat de l'activité antibactérienne.

Dilution	0	1/10	1/25	1/50	1/75	1/100
<i>Echerichia coli</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	-	-

-: Absence de zone d'inhibition

Les résultats obtenus dans le présent travail montrent que l'extrait aqueux de *cotula cinerea* n'a aucun effet inhibiteur envers la croissance de toutes les souches bactériennes testées.

La méthode d'extraction aqueuse ainsi que la quantité d'extrait mise dans les disques pourrait être à l'origine de ces résultats.

En fait, Il a été rapporté que les huiles essentielles des plantes, et non leurs extraits, ont la plus grande efficacité dans le traitement des pathologies infectieuses (Rios et Recio, 2005).

En fait, les huiles essentielles ont l'avantage de ne pas engendrer une résistance bactérienne du à leur contenu en un large spectre de composés bioactifs (Maggi *et al.*, 2009).

Il a été rapporté que les composés responsables de l'action antibactérienne semblent vraisemblablement être les diterpénoïdes phénoliques, qui sont les composés principaux de la fraction apolaire des extraits des plantes (Fernandez-Lopez *et al.*, 2005).

Ces composés sont de nature hautement lipophile est par conséquent sont extraits par des solvants de faible polarité tel que le chloroforme (Albano et Miguel, 2010). Ceci pourrait expliquer l'absence de l'activité antibactérienne dans l'extrait aqueux ainsi (Benbrinis, 2012)

II.3. Corrélacion entre les différents variables étudiés

Le tableau 05 présentent les matrices de corrélacion exprimant les différentes corrélacions entre les teneurs en composés phénoliques et les activités anti-oxydante.

Tableau 05: Matrice de corrélacion

Matrice de corrélation (Pearson) :

Variab les	PPT	FLV	AcPh	TC	ABTS	DPPH	FRAP
PPT	1						
FLV	-0,114	1					
AcPh	-0,073	0,390	1				
TC	-0,533	0,215	0,532	1			
ABTS	0,807	0,033	0,143	-0,513	1		
DPPH	0,450	0,356	0,806	0,233	0,592	1	
FRAP	-0,528	0,399	0,799	0,904	-0,378	0,435	1

Les valeurs en gras sont différentes de 0 à un niveau de signification $\alpha=0,05$

D'après ce tableau, une corrélation très significative est observée entre la teneur en polyphénols totaux contenu dans les fractions aqueuses et l'activité antioxydante évaluée par le test d'ABTS ($R^2= 0.807$).

Une corrélation très positive est observée entre la teneur en acides-phénols contenu dans les fractions aqueuses et l'activité antioxydante obtenue par le test de DPPH_ et FRAP, qui sont $R^2= 0.806$ et $R^2= 0.799$ respectivement.

Une corrélation très significative est observée entre la teneur en TC contenu dans les fractions aqueuses et l'activité antioxydante par test de FRAP, mesuré avec les indices de corrélation $R^2= 0.904$.

Une faible corrélation est observée entre la teneur en FV et l'activité antioxydante .

Alors cette coordinance confirme que l'activité antioxydante de la plante étudiée est due principalement à la composition phénolique, ce qui est confirmé par les recherches bibliographiques qui ont démontré que les composés phénoliques sont des donneurs puissants de proton dans les légumes et les fruits, (Boubekri, 2014).

Conclusion

Conclusion

La connaissance et l'usage des plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. Leur importance dans le domaine de la santé publique est très accentuée dans ces dernières années grâce aux thérapeutiques qu'elles procurent. Dans ce cadre, cette étude vise à valoriser une espèce spontanée du Sahara septentrional *Cotula cinnerea* par l'évaluation de certaines de ces propriétés biologiques.

L'extraction des principes actifs a été faite par trois modes traditionnels de préparation (décoction, infusion et macération). Le dosage de certains composés phénoliques montre la variation de la richesse des différents extraits selon le mode de préparation. En effet, la décoction est riche en polyphénols totaux ($2853,30 \pm 256,78 \mu\text{g EAG/g}$), alors que la macération est riche en flavonoïdes, acides-phénols et tanins condensés ($690,92 \pm 72,08 \mu\text{g ER/g}$, $333,33 \pm 28,87 \mu\text{g EAC/g}$ et $1069,79 \pm 91,83 \mu\text{g EC/g}$ respectivement).

L'évaluation de l'activité anti-oxydante a été effectuée par trois tests qui sont l'ABTS, DPPH et le FRAP. Par ailleurs, la décoction présente la meilleure capacité anti-oxydante dans l'inhibition de l'ABTS^{•+} avec de $6389,85 \pm 129,09 \mu\text{M ET/g}$. En ce qui concerne le DPPH et le FRAP, la macération présente la plus importante activité anti-radicalaire et réductrice de fer qui sont respectivement $2002,27 \pm 17,39 \mu\text{M ET/g}$ et $7576,19 \pm 67,51 \mu\text{M ET/g}$. la détermination d'IC₅₀ pour l'ABTS et le DPPH et EC₅₀ pour le FRAP prouve que les différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* ont les meilleurs pouvoirs antioxydants en comparaison avec les standards (Trolox et acide gallique).

L'étude de l'activité antibactérienne des extraits aqueux de *Cotula cinerea* en utilisant la méthode de disques sur trois souches bactériennes (*E. coli*, *Proteus merabilis*, *Micrococcus luteus*) montre que ces extraits n'ont pas la capacité à inhiber la croissance bactérienne.

Ce travail nécessite d'autres études approfondies afin d'évaluer d'autres activités biologiques des extraits aqueux et organiques et de déterminer et d'identifier les différentes molécules responsables de ces activités. La valorisation de cette espèce permet son utilisation en industries pharmaceutique, cosmétologique et alimentaire.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Al-Farsi, M. A. and Lee, C. Y. 2008b. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry* 108: 977-985.

B

BELYAGOUBI, N. 2012. Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen, PP: 162.

BENBRINIS, S. 2012. Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Thèse de magister en biochimie. Université FERHAT Abbas-SETIF. PP: 62

BOUDJOUREF, M. 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie . Université Ferhat Abbas Sétif .PP: 136 .

BOUZIAN ,M. 2002. Caractérisation structurale de quelques molécules organiques dans la plante *Cotula cinerea* de la région de Ouargla. Thèse de Magister Chimie Organique. UNIVERSITE DE OUARGLA .PP:53.

BUBONJA-SONJE M, GIACOMETTI J, ABRAM M., 2011. Antioxidant and antilisterial activity of olive oil, cocoa and rosemary extract polyphenols. *Journal Food Chemistry*, 127: 1821-1827.

BRAHMI, I., 2014 . Etude in vitro de l'effet *allélotoxique* des extraits aqueux des quelque plantes spontanées sur la croissance des quelque moisissures associé aux *céréales*. Thèse de Master académique . universite kasdi merbah OUARGLA, PP :47.

BOUBEKRI.C. 2014. Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques . Thèse de doctorat . Université Mohamed Khider – Biskra.PP: 160 .

C

Chevallier A. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse. pp: 61, 293.

D

DIATTA ET AL, 2013: Les plantes médicinales utilisées contre les dermatoses dans la pharmacopée Baïnouk de Djibonker, région de Ziguinchor (Sénégal). P 5600

DUPONT, F., GUIGNARD, J.L. (2007). Abrèges botanique systématique moléculaire. 14ème édition révisée, Masson

F

FERNANDEZ-LOPEZ J, ZHI N, ALESON-CARBONELL L, PEREZ-ALVAREZ J A AND KURI V (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*, 69: 371-380.

G

GURUDEEBAN, RAJAMANICKAM, RAMANATHAN & SATYAVANI, 2010: Antimicrobial activity of *citrullus colocynthis* in Gulf of Mannar. *International Journal of Current Research*. 2 : 078-081.

H

HARRAR, A., 2012, Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister . Université Ferhat Abbes Sétif. PP:73 .

K

KURT. H., 2002. Les plantes médicinales: de l'usage traditionnel aux médicaments modernes. Switzilande. institué de pharmacognosie et phytochimie, université de Lausanne, Switzilande., PP:42.

M

MAKHLOUFI. A. 2010. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat en biologie. l'université aboubaker belkaid Bechar . PP : 137.

N

Nabil GHEDADBA et al., 2014. Évaluation de l'activité hémostatique *in vitro* de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products* 2:2 : 64-74
Copyright

O

OULD EL HADJ M. D., HADJ-MAHAMMED., M., ZABEIROU, H., 2003. Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région d'Ouargla (Sahara septentrional (Est). *Courrier du Savoir* – N°03, 47-51.

Q

QUEZEL. P., SANTA.S.,1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome II, Ed. CNRS, Paris.

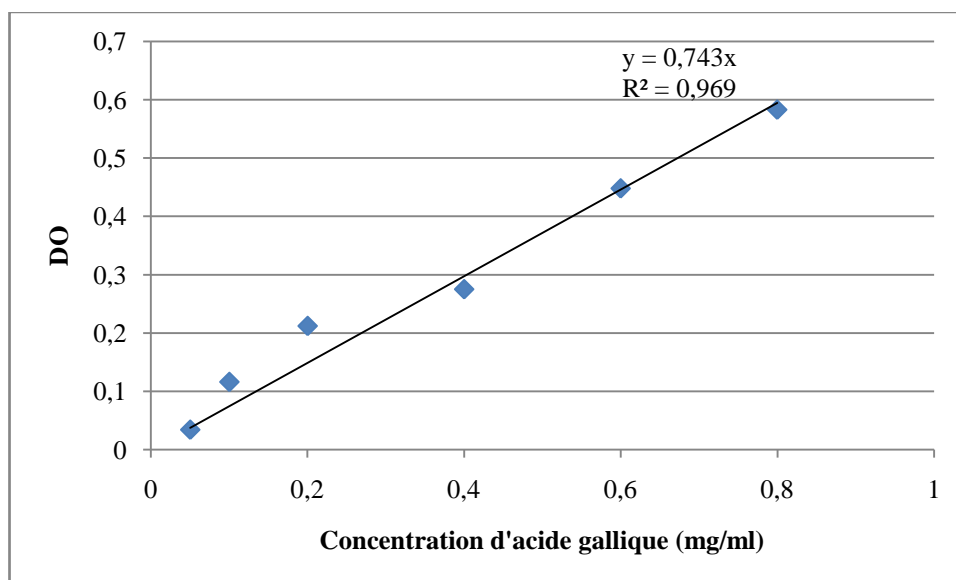
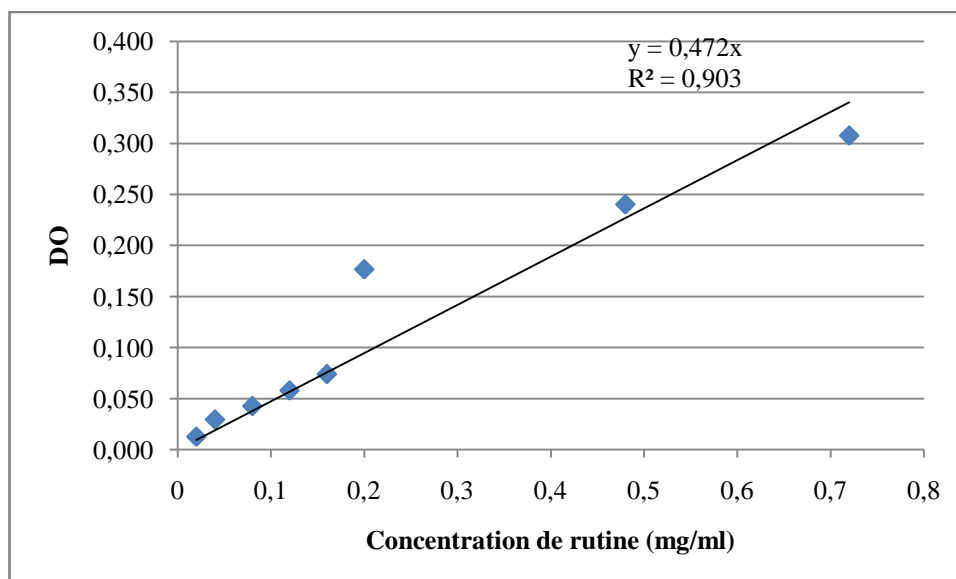
R

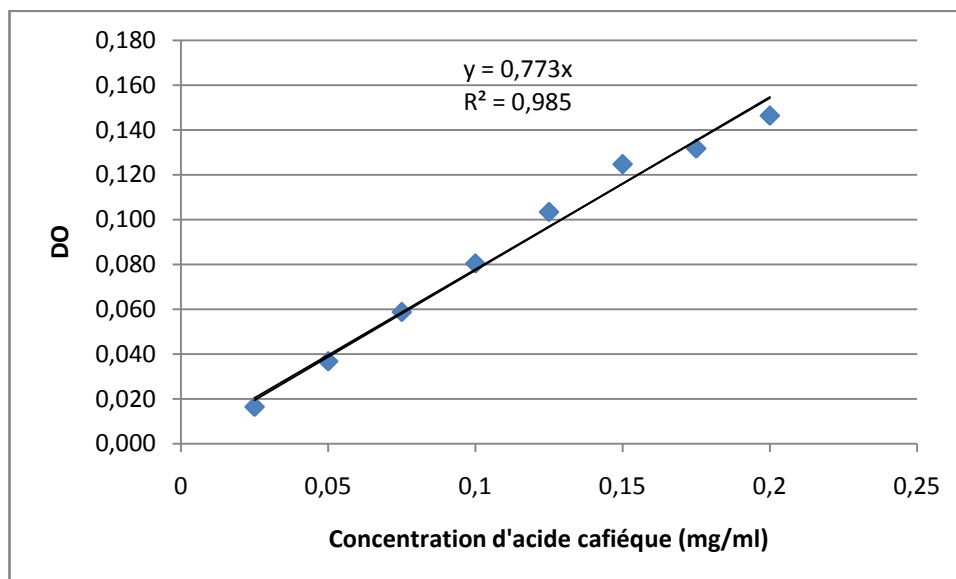
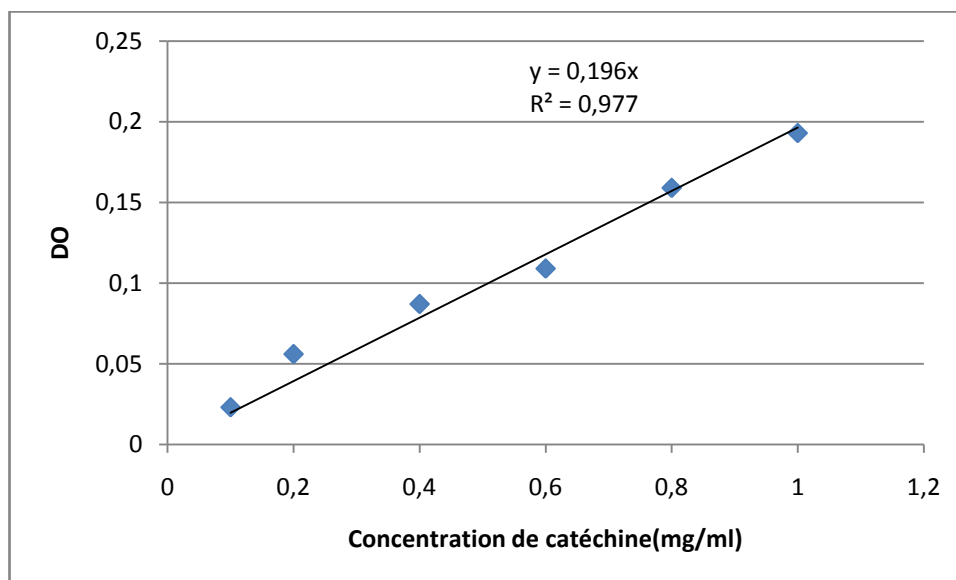
ROKiA. S.,2006.Le Rôle des plantes médicinales Médecine Traditionnel.Maitre assistante en Pharmacognosie, 10^{eme} école d'été de l'IEPF et de SIFEE, université de Bamako. P:12.

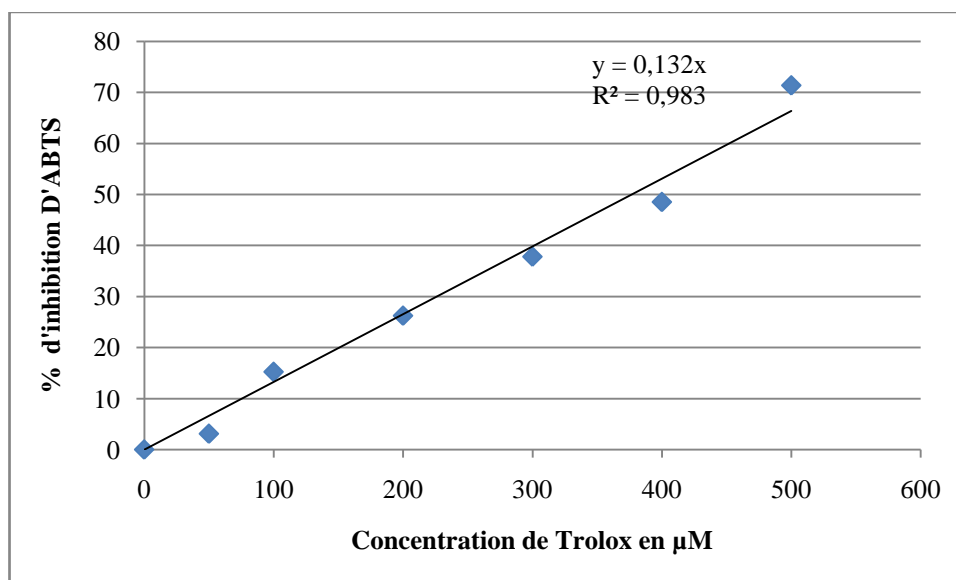
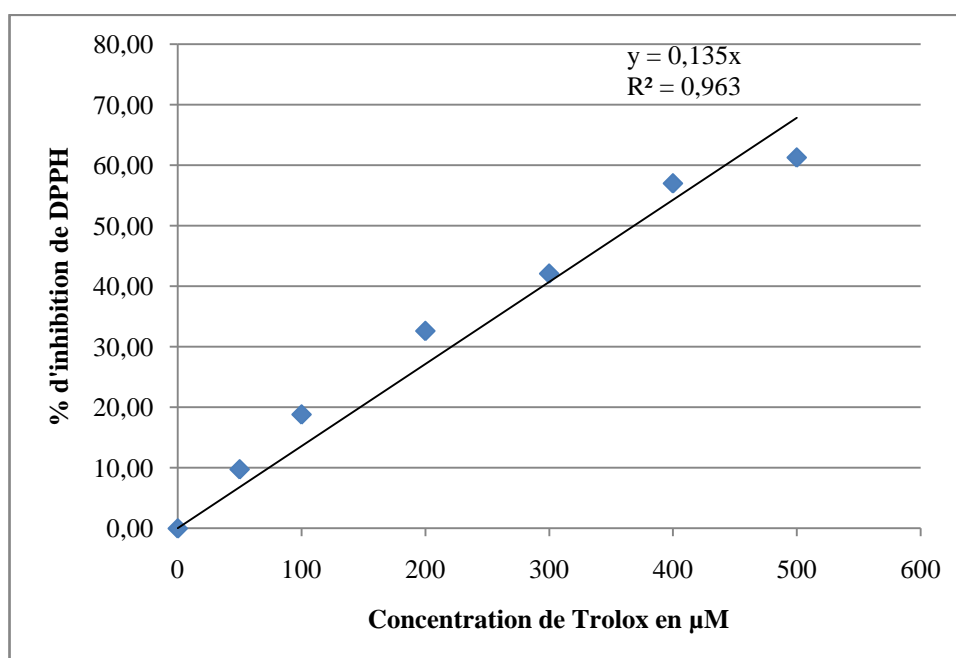
T

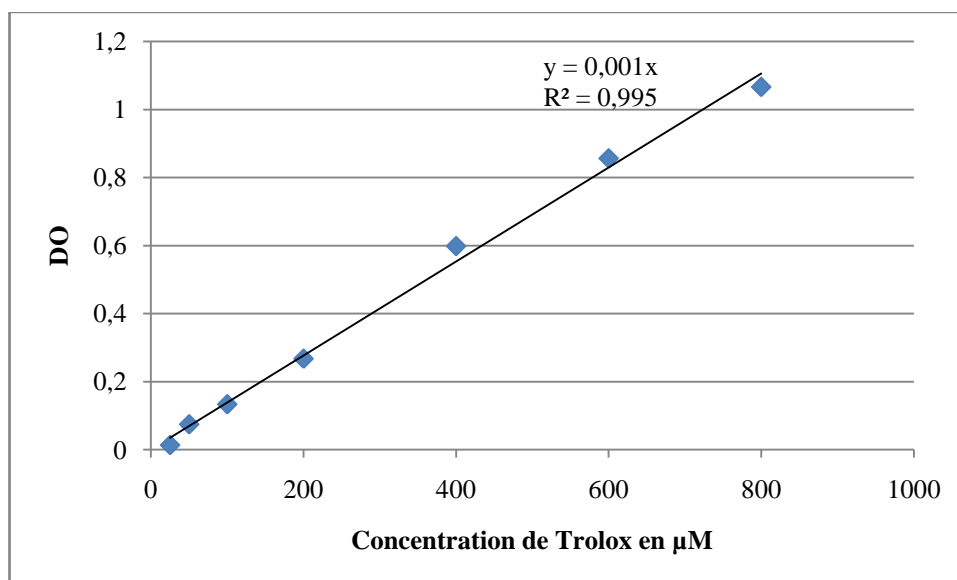
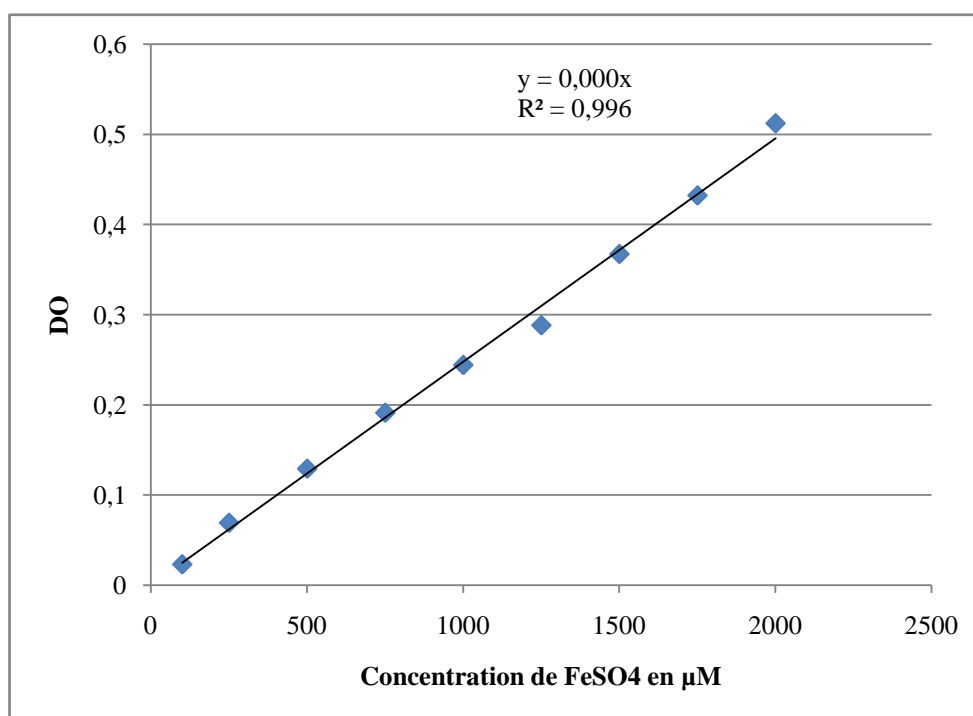
TELLI. A. 2009 Extraction, identification et activité biologique des polyphénols des dattes (*Phoenix dactylifera*) au cours de différents stades phénologiques (Variété Ghars). Thèse de magistère. kasdi merbeh -ouargla. PP: 108.

Annexes

Annexe 01 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique**Annexe 02 :** Courbe d'étalonnage de rutine

Annexe 03 : Courbe d'étalonnage d'acide caféique**Annexe 04** : Courbe d'étalonnage de catéchine

Annexe 05 : Courbe d'étalonnage de Trolox pour l'ABTS**Annexe 06** : Courbe d'étalonnage de Trolox pour le DPPH

Annexe 07 : Courbe d'étalonnage de Trolox pour le FRAP**Annexe 08**: Courbe d'étalonnage de sulfate de fer pour le test de FRAP

Annexe 09: Photos des gammes d'étalonnage



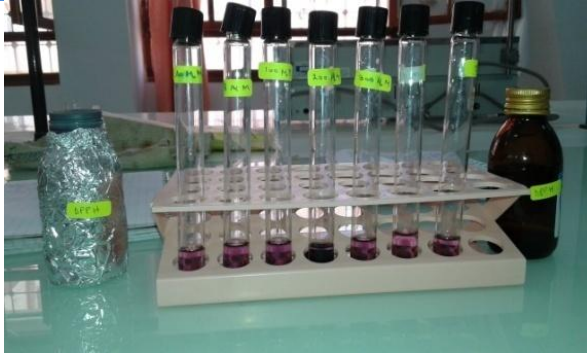
Annexe10 : Photos des gammes d'étalonnage des activités anti-oxydantes



Dosage de polyphénol totaux



Dosage de FRAP



Inhibition de DPPH

Annexe 11: Broyeur



Résumé

Ce travail s'intéresse à la valorisation d'une espèce spontanée du Sahara septentrional *Cotula cinerea* (Asteraceae) en la caractérisant par le dosage de certains composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, acides phénols et tanins condensés) et l'évaluation des activités biologiques (anti-oxydante et antibactérienne) de ses différents extraits aqueux. Ces extraits sont obtenus selon les modes traditionnels de préparation qui sont : la décoction, l'infusion et la macération. Les résultats obtenus ont montré que l'extrait obtenu par décoction présente les valeurs les plus élevées de rendement et de la teneur en polyphénols qui sont respectivement $(22,71 \pm 1,05)$, $(2853,30, \pm 256,78)$. Concernant les teneurs en flavonoïdes, acides phénols et tanins condensés, l'extrait obtenu par macération est le plus riche en ces composés avec des taux de $(690,92 \pm 72,08)$, $(333,33 \pm 28,87)$, $(1069,79114 \pm 91,83)$ respectivement. L'activité anti-oxydante de ces extraits a été déterminée par trois tests qui sont ABTS, DPPH et FRAP. Les différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* ont réagi différemment avec ces tests. En effet, la meilleure activité pour le test d'ABTS est obtenue avec la décoction $(6389,85 \mu\text{M ET/g})$, alors que pour les tests de DPPH et FRAP les plus importantes activités ont été obtenues avec la macération et qui sont $(2002,27 \pm 17,39) \mu\text{M ET/g}$ et $(7576,19 \pm 67,51) \mu\text{M ET/g}$ respectivement. L' IC_{50} pour les tests ABTS et DPPH et EC_{50} pour le FRAP ont été déterminées les résultats sont la macération $IC_{50} = 21,19 \mu\text{g/ml}$, l'infusion $IC_{50} = 11,51 \mu\text{g/ml}$ et l'infusion et macération est égale $0,14 \mu\text{g/ml}$ respectivement. Les différents extraits ont été également soumis à un criblage pour leur possible activité antibactérienne. Les résultats obtenus ont montré que les différents extraits aqueux de *Cotula cinerea* n'ont aucune activité antibactérienne.

Mots clés : *Cotula cinerea*, extraits aqueux, activités biologiques, composés phénoliques, ABTS, DPPH, FRAP.

Abstract

This Works focuses on the valorization of spontaneous species of the northern Sahara *Cotula cinerea* (Asteraceae) in characterizing the determination of certain phenolic compounds (polyphenols, flavonoids, phenolic acids and condensed tannins) and evaluation of biological activities (anti-oxydante and antibacterial) its various aqueous extracts. These extracts are obtained by conventional preparation methods which are: decoction, infusion and maceration. The results obtained showed that the extract obtained by decoction has the highest values of yield and polyphenols which are respectively (22.71 ± 1.05) $(2853.30, 256.78 \pm)$. Regarding the contents of flavonoids, phenolic acids and condensed tannins, the extract is obtained by macerating the richest in these compounds with rate of (690.92 ± 72.08) , (333.33 ± 28.87) (1069.79114 ± 91.83) , respectively. The antioxidant activity of these extracts was determined by three tests that are ABTS, DPPH and FRAP. Different *Cotula cinerea* aqueous extracts were reacts differently with these tests. In fact, better activity for ABTS test is achieved with the decoction $(6389,85 \mu\text{M AND / g})$, whereas for the test of DPPH and the larger FRAP activities were obtained with the maceration and are $(2002.27 \pm 17, 39)$ AND $\mu\text{M / g}$ and (7576.19 ± 67.51) AND $\mu\text{M / g}$ respectively. The IC_{50} for ABTS and DPPH test and EC_{50} for FRAP were determined the results are determined maceration $IC_{50} = 21.19 \text{ g / ml}$, the infusion $IC_{50} = 11.51 \text{ mg / ml}$ and the infusion and maceration is equal to 0.14 mcg / ml , respectively.

The various extracts were also subjected to screened for their potential antibacterial activity. The results obtained showed that aqueous extracts of different *Cotula cinerea* have no antibacterial activity.

Keywords: *Cotula cinerea*, aqueous extracts, biological activities, phenolic compounds, ABTS, DPPH, FRAP.

المخلص

تهدف هاته الدراسة إلى تبيين نبتة برية من شمال الصحراء *Cotula Cinerea* (استراسيا) وذلك بمعايرة مركبات فينولية معينة (البوليفينول، الفلافونويد والأحماض الفينولية والتانين مكثف) وتقييم الأنشطة البيولوجية (المضادة للاكسدة - والمضادة للجراثيم) لمختلف المستخلصات المائية. تم الحصول على هذه المستخلصات باتباع الأساليب التقليدية وهي: الغلي، والتسريب والنقع. وأظهرت النتائج المتحصل عليها أن المستخلصات التي تحصلنا عليها عن طريق الغلي لديها أعلى قيم من المرودود والبوليفينول التي هي على التوالي (1.05 ± 22.71) (2853.30 ± 256.78) . وفيما يتعلق محتويات فلافونيدات وأحماض فينولية ومواد دابغة المختصرة، فإن النتائج المتحصل عليها عن طريق التتقيع هي الاغنى في هذه المركبات مع معدل (690.92 ± 72.08) ، (333.33 ± 28.87) (1069.79114 ± 91.83) على التوالي. وقدرت النشاط المضاد للاكسدة من هذه المستخلصات ب ثلاثة اختبارات هي ABTS، DPPH وFRAP. مختلف المستخلصات المائية ل *Cotula Cinerea* تفاعلت بطرق مختلفة مختلفة مع هذه الاختبارات. في الواقع، كانت افضل النتائج المتحصل لنشاط ل ABTS عن طريق الغلي قدرت ب $(6389.85 \mu\text{M} / \text{g})$ ، بينما كانت افضل نتائج لاختبار DPPH وأنشطة FRAP عن طريق النقع وهم $(2002.27 \pm 17.39) \mu\text{M} / \text{g}$ و $(7576.19 \pm 67.51) \mu\text{M} / \text{g}$ على التوالي. تم تحديد قيمة IC_{50} ل ABTS و DPPH واختبار FRAP تم تحديد نتائج النقع $IC_{50} = 21.19 \text{ جم / مل}$ و IC_{50} التسريب = 11.51 ملغ / مل و التسريب و النقع يساوي $0.14 \text{ ميكروغرام / مل}$ على التوالي، كما قمنا بتعريض المستخلصات المختلفة للنشاط المضاد للجراثيم. وأظهرت النتائج أن مختلف المستخلصات المائية ل *Cotula Cinerea* ليس لها نشاط مضاد للجراثيم.

كلمات البحث : *Cotula cinerea*، المستخلصات المائية والأنشطة البيولوجية، المركبات الفينولية، ABTS، DPPH، FRAP