



*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*Université Abbès Laghrou - Khenchela-*  
*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire*



## **MEMOIRE**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

### **Master académique**

**FILIERE : Science Biologique**

**OPTION : Biochimie Appliquée**

### **Thème**

**Contribution à l'étude phytochimique et activité  
antioxydante des extraits des feuilles de  
*Myrtus communis* L. (Rayhane)  
de la région de Guelma**

Présentée par : **BENAMRANE Selma**

### **Jury de soutenance :**

Présidente : **M<sup>me</sup> KHADOUMA Asma**

MAA. Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

Encadreur: **M<sup>me</sup> BOUHALIT Samira**

MAA. Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

Examineur: **M<sup>r</sup> BOUSSAA Abd-El Halim**

MAA. Univ. Abbès Laghrou - Khenchela

*Promotion : Juin 2017*

# Remerciement

*Je tiens tout d'abord à remercier ALLAH tout puissant de m'avoir donné la patience, la santé et pour m'avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer ce travail.*

*Mes vifs remerciements s'adressent aux membres de jury ; d'avoir accepté d'évaluer ce travail ; M<sup>me</sup> Khedouma Asma d'être présidente du jury de soutenance, et M<sup>r</sup> Boussaa Abd EL Halim pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Je tiens à remercier vivement M<sup>me</sup> Bouhalit Samira maître assistant à université Abbès Laghrour-Khenchela, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec la plus grande rigueur scientifique, sa compréhension, sa compétence, la qualité de ses conseils et son aide durant tout le long de mon mémoire.*

*J'adresse mon profond remerciement aussi à l'équipe des laboratoires pédagogiques de l'université de Khenchela pour l'aide qu'ils m'ont donné et les efforts déployés pour faciliter mon travail.*

*Enfin, je remercie tous les enseignants durant ce long cycle de formation, et tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*A mes très chers parents, En témoignage de ma reconnaissance pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études. Qu'ALLAH leurs prête santé.*

*A mes deux chers frères ; Aymen et Nadjib*

*A mes chères sœurs et mes beaux frères*

*A mes neveux et mes nièces*

*Et à mes chères amies*

*Je dédie ce travail en témoignage de  
mon profond respect*

## *Résumé*

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude des molécules antioxydantes d'origine naturelle, provenant de la flore terrestre ou même aquatique. Nous sommes intéressées dans ce travail à l'étude des composés phénoliques et l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits de *Myrtus communis* L., qui est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie.

Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes, des quinones, et des terpénoïdes. L'analyse des extraits des feuilles par CCM a révélé la richesse des extraits FCH, FAC, FBU et EBR en composés phénoliques.

Les résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes montrent que l'extrait méthanolique est plus riche en composés phénoliques suivi par les fractions d'acétates d'éthyle et la fraction butanolique avec des teneurs en composés phénoliques de (75.91, 60 et 55.9 mg EAG/g d'extrait successivement), alors que la fraction butanolique est la plus riche en flavonoïdes (38.42 mg EQ/g).

L'évaluation quantitative du pouvoir piégeur des extraits vis-à-vis du DPPH confirme que les extraits FBU et FAC sont les plus actifs, avec des  $IC_{50}$  de l'ordre de 0.62 et 0.64 mg/ml respectivement suivi par l'extrait EBR et FCH.

Donc on peut dire que les feuilles de *Myrtus communis* L. sont caractérisées par une activité antioxydante, vu de leur richesse en composés phénoliques, surtout les extraits obtenus suite à l'extraction par des solvants organiques.

**Mots clés :** *Myrtus communis* L., Flavonoïdes, Polyphénols totaux, Activité antioxydante, DPPH.

## *Abstract*

### **Contribution to the phytochemical study and antioxydant activity of leaves' extracts of *Myrtus communis* L. (Rayhan) of Guelma region**

Much of the current researches focus on the study of natural antioxidant molecules derived from terrestrial or even aquatic flora. In this work we are interested of phenolic compounds's study and the evaluation of the antioxydant properties of the extracts of *Myrtus communis* L., which is a medicinal plante used in traditional medecine in Alegria.

The phytochemical tests carried out demonstrate the presence of flavonoids, tannins, alkaloids, quinones, and terpenoids. The results of thin-layer chromatography of leave's show that the FCH, FAC FBU and EBR extracts are rich in phenolic compounds.

The results of the polyphenol and flavonoid dosage show that the methanolic extract followed by the fraction of ethyl acetate and butanolic fraction are rich in phenolic compounds than the other extracts (75.91, 60 and 55.9 mg EAG/ g of extract), whereas the butanolic fraction is more rich in flavonoids (38.42 mg EQ/ g).

The quantitative evaluation of the trapping power of the extracts against DPPH confirms that the FBU and FAC extracts are the most active, with IC<sub>50</sub> of the order of 0.62 and 0.64 mg / ml respectively, followed by the extracts EBR and FCH.

Thus, it can be said that the leaves of *Myrtus communis* L. are characterized by an antioxidant activity, in view of their richness in phenolic compounds, especially the extracts obtained after extraction with organic solvents.

**Keywords:** *Myrtus communis* L., Flavonoids, Total Polyphenols, Antioxidant Activity, DPPH.

## إسهام في الدراسة الفيتو كيميائية

## الريحان

ركز اهتمام الكثير من البحوث الحالية على دراسة الجزيئات المضادة للأكسدة الطبيعية، من أصل النباتات التي تنمو على سطح الأرض أو المائية. في بحثنا هذا نهتم بدراسة المركبات الفينولية و تقييم الخصائص الأثرية أو الريحان *Myrtus communis* L. الذي يعتبر النباتات الطبية التي

فيتوكيميائية التي أجريت أظهرت وجود الفلافونويد التانينات، قلويدات، الكينونات، و تيربينويدات

اسيتات الايثيل البوتانول و الميثانول بالمركبات الفينولية.

تظهر نتائج الفحص الكمي لبوليفينول والفلافونويد أن مستخلص الميثانول غني بالمركبات الفينولية اسيتات الايثيل و البوتانول (75.91 60 55.9 غ معادل حمض الغاليك/ ) في حين أن هذا الأخير هو الأغ بالفلافونويدات (38.42 ملغ معادل الكرسيتسن/ ).

التقييم الكمي للنشاط المضاد تركيزات منخفضة 50 اسيتات الايثيل هي نشاطا حيث ( 0.64 0.62 / ) بمستخلصات الميثانول

يمكننا القول بان الريحان تتميز بنشاط مضاد نظرا لغناها بالمركبات الفينولية المستخلصات الناتجة عن الاستخلاص بالمذيبات العضوية.

DPPH

*Myrtus communis* L : البوليفينولات الاجمالية، الفلافونويد

## *Liste des abréviations*

<b><sup>1</sup>O<sub>2</sub></b> :	Oxygène singulet
<b>4-HNE</b> :	4-Hydroxy-2-Nonéal
<b>AO</b> :	AntiOxydants
<b>CCM</b> :	Chromatographie sur Couche Mince
<b>CYP</b> :	CYtochromes P450
<b>DMAPP</b> :	DiMéthylAllyl PyroPhosphate
<b>DPPH</b> :	Radical 2.2 DiPhényle-1-PicrylHydrazyl
<b>EA-1-</b> :	Extrait Aqueux infusé
<b>EA-2-</b> :	Extrait Aqueux décocté
<b>EAA</b> :	Espèces Azotées Actives
<b>EBR</b> :	Extrait BRut méthanolique
<b>EOA</b> :	Espèces Oxygénées Actives
<b>ESA</b> :	Espèces Soufrées Actives
<b>FAC</b> :	Fraction ACétate d'éthyle
<b>FBU</b> :	Fraction BUtanolique
<b>FCH</b> :	Fraction du CHloroforme
<b>FCR</b> :	Folin Ciocalteu Reactif
<b>FPP</b> :	Farnésyl-PyroPhosphate
<b>FVT</b> :	FlaVonoïdes Totaux
<b>GGP</b> :	GéranylGéranyl-Pyrophosphate
<b>GPP</b> :	Géranyl-PyroPhosphate
<b>GPX</b> :	Glutathion PeroXydase
<b>GR</b> :	Glutathion Réductase
<b>GSH</b> :	Glutathion réduit
<b>GSSG</b> :	Glutathion disulfide
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> :	Peroxyde d'hydrogène
<b>HOCl</b> :	Acide hypochloreux
<b>HSV-1</b> :	Virus <i>Herpes simplex</i>
<b>IC<sub>50</sub></b> :	Concentration Inhibitrice médiane
<b>IPP</b> :	IsoPentenyl Pyrophosphate
<b>LDL</b> :	Light Density Lipoproteins

<b>MDA :</b>	<b>MalonDiAldéhyde</b>
<b>mg EAG :</b>	<b>mg Equivalent d'Acide Gallique</b>
<b>mg EQ :</b>	<b>mg Equivalent de Quercétine</b>
<b>MVA :</b>	<b>Acide MéValonique</b>
<b>N<sub>2</sub>O :</b>	<b>Dioxyde d'azote</b>
<b>NADPH :</b>	<b>Nicotinamide-Adenine-Dinucleotide-Phosphate</b>
<b>NO :</b>	<b>Monoxyde d'azote</b>
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup> :</b>	<b>Radical superoxyde</b>
<b>OH :</b>	<b>Radical hydroxyle</b>
<b>ONOO<sup>-</sup> :</b>	<b>Anion peroxydinitrite</b>
<b>PAR :</b>	<b>Puissance AntiRadicalaire</b>
<b>PI% :</b>	<b>Pourcentages d'Inhibition</b>
<b>PPT :</b>	<b>PolyPhénols Totaux</b>
<b>Rf :</b>	<b>Facteur de Rétention</b>
<b>RL :</b>	<b>Radicaux Libres</b>
<b>RLO :</b>	<b>Radicaux Libres Oxygénés</b>
<b>ROOH:</b>	<b>Hydroperoxydes organiques</b>
<b>ROS :</b>	<b>Reactive Oxygen Species</b>
<b>SOD :</b>	<b>SuperOxyde Dismutase</b>
<b>SUA-MM :</b>	<b>Saignements Utérins Anormaux-MénoMétrorragies</b>

## *Liste des figures*

<b>Figure n°1 :</b>	Voies de formation des radicaux libres de l'oxygène.....	05
<b>Figure n°2:</b>	Altérations de l'ADN par les attaques radicalaires.....	07
<b>Figure n°3 :</b>	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés.....	08
<b>Figure n°4 :</b>	Elimination du H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> par les réactions enzymatiques combinées de la GPX et la GR.....	10
<b>Figure n° 5:</b>	Nomenclature et numérotation des atomes dans un composé de type flavonoïde.....	15
<b>Figure n°6:</b>	Classification des flavonoïdes.....	16
<b>Figure n°7:</b>	Croquis d'un rameau de <i>Myrtus communis</i> L.....	22
<b>Figure n°8:</b>	Carte de répartition géographique de <i>Myrtus communis</i> L.....	23
<b>Figure n°9 :</b>	Protocole d'extraction liquide-liquide.....	29
<b>Figure n°10 :</b>	Schéma de la 1 <sup>ère</sup> Série des Tests Phytochimiques.....	32
<b>Figure n°11 :</b>	Schéma de la 2 <sup>ème</sup> Série des Tests Phytochimiques.....	34
<b>Figure n°12 :</b>	Schéma du dosage des polyphénols totaux.....	37
<b>Figure n°13 :</b>	Schéma du dosage des flavonoïdes totaux.....	38
<b>Figure n°14 :</b>	Teneur en eau des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L.....	40
<b>Figure n°15 :</b>	Rendements des extraits des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L.....	42
<b>Figure n°16 :</b>	Photos des chromatogrammes résultants de l'analyse des extraits par CCM.....	48
<b>Figure n°17 :</b>	Histogramme de la teneur en polyphénols totaux pour les différents extraits des feuilles de <i>M. communis</i> L.....	49
<b>Figure n°18 :</b>	Histogramme de la teneur en flavonoïdes pour les différents extraits des feuilles de <i>M. communis</i> L.....	50
<b>Figure n°19:</b>	Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L.....	52
<b>Figure n°20:</b>	Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'acide ascorbique.....	53

## *Liste des photographies*

<b>Photographie n°1 :</b>	Feuilles et baies de <i>Myrtus Communis</i> L.....	21
<b>Photographie n°2 :</b>	La fleur de <i>Myrtus Communis</i> L.....	22

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau n°1:</b>	Classification des composés phénoliques.....	13
<b>Tableau n°2:</b>	Rendements et caractéristiques des extraits des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L.....	41
<b>Tableau n°3:</b>	Résultats du screening Phytochimique des différents extraits des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L.....	44
<b>Tableau n°4:</b>	Résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits de <i>Myrtus communis</i> L.....	46
<b>Tableau n°5:</b>	Valeurs des IC <sub>50</sub> trouvées pour les extraits des feuilles de la plante.....	54
<b>Tableau n°6:</b>	Valeurs des PAR trouvées pour les extraits des feuilles de la plante.....	55

## *Table des matières*

Résumé.....	I
Abstract.....	II
.....	III
Introduction .....	1

### **PREMIERE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE**

#### **Premier Chapitre : Le Stress Oxydant**

I. Le Stress Oxydant .....	3
1. Définition du stress oxydant : .....	3
2. Définition des radicaux libres .....	3
3. Les différents types des radicaux libres .....	4
4. Origines des radicaux libres .....	5
5. Les effets délétères du stress oxydant .....	6
5.1. Oxydation d'ADN .....	6
5.2. Peroxydation des lipides .....	7
5.3. Oxydation des protéines .....	8
5.4. Oxydation des polysaccharides .....	8
II. Les Antioxydants .....	9
1. Les Antioxydants endogènes .....	9
1.1. Antioxydants enzymatiques .....	9
1.2. Antioxydants non enzymatiques .....	10
2. Les antioxydants exogènes .....	11
2.1. La Vitamine E .....	11
2.2. La vitamine C .....	11
2.3. Les Caroténoïdes .....	11
2.4. Les composés phénoliques : .....	11
2.5. Les flavonoïdes .....	11

#### **Deuxième Chapitre : Les Métabolites Secondaires**

1. Généralités.....	12
2. Classification des métabolites secondaires .....	12

2.1. Les composés phénoliques .....	12
2.2. Les alcaloïdes .....	17
2.3. Les isoprénoïdes (terpénoïdes) et stéroïdes .....	18

### **Troisième Chapitre : Etude Botanique De *Myrtus Communis* L.**

1. La famille des Myrtacées .....	20
2. Le genre <i>Myrtus</i> L. ....	20
3. L'espèce <i>Myrtus communis</i> L. ....	20
3.1. Description botanique .....	20
3.2. Dénominations selon la nomenclature .....	22
3.3. Position systématique .....	22
3.4. Répartition géographique .....	23
3.5. Composition des extraits de <i>Myrtus communis</i> L. ....	23
3.6. Les effets pharmacologiques de myrte.....	25
3.7. Domaines d'application de myrte .....	25

## **DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE**

### **Premier Chapitre : Matériels Et Méthodes**

I. Matériel d'étude .....	27
1. Matériel végétal .....	27
2. Réactifs chimiques et instrumentation .....	27
II. Méthodes appliquées.....	27
1. Détermination de la teneur en eau .....	27
2. Préparation des extraits :.....	28
2.1. Préparation d'extrait aqueux par infusion .....	28
2.2. Préparation d'extrait aqueux par décoction .....	28
2.3. Préparation d'extrait méthanolique .....	28
3. Fractionnement de l'extrait brut .....	28
4. Les tests phytochimiques préliminaires .....	30
5. Criblage phytochimique par chromatographie sur couche mince .....	35
6. Dosage des polyphénols totaux (PPT) .....	36
7. Détermination des flavonoïdes totaux (FVT) .....	37
8. Evaluation de l'activité antioxydant par la méthode de DPPH.....	38
9. Etude statistique .....	39

## **Deuxième Chapitre : Résultats et Discussion**

1.Le taux d'humidité .....	40
2.Rendement des extraits .....	41
3.Analyse des extraits des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L. ....	43
3.1.Analyse qualitative des extraits.....	43
3.1.1.Tests phytochimiques préliminaires.....	43
3.1.2.Criblage phytochimique par chromatographie sur couche mince .....	45
3.2.Analyse quantitative des extraits.....	49
3.2.1.Dosage des polyphénols totaux.....	49
3.2.2.Dosage des flavonoïdes totaux .....	50
4.Évaluation de l'activité antioxydante de DPPH .....	51
<b>Conclusion générale et perspectives .....</b>	<b>56</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>58</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>IV</b>

# *Introduction*

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des substances et composés naturels bioactifs, elles ont toujours eu un rôle de grande importance sur la santé. À l'heure actuelle, les substances naturelles dans les plantes sont encore le premier réservoir de nouveaux médicaments.

L'Algérie, pays connu par ses ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques (Gaussen, 1982). Néanmoins, il faut noter que, d'une part, le nombre d'espèces végétales diminue et que d'autre part, le savoir des médecines traditionnelles tend lui aussi à disparaître progressivement. Il en résulte une urgence à connaître et protéger ces espèces et les savoirs qui leur sont associés. La recherche des molécules bioactives d'origine naturelle constitue d'ailleurs un des axes prioritaires de l'industrie pharmaceutique algérienne mais également des médecins et des chimistes cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle.

*Myrtus communis* L. est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Elle est connue par ses propriétés antiseptiques désinfectantes et astringentes (diarrhées, dysenterie) ainsi par leur effet hypoglycémiant. Reconnu également dans le traitement des maladies des voies urinaires et respiratoires (Mimica-Dukic *et al*, 2010 ; Baba Aissa, 1999).

Ce présent travail s'inscrit dans le but d'une contribution à une meilleure connaissance de cette plante médicinale de la région des Aurès et de découvrir certains constituants chimiques et l'étude de certaines activités biologiques des feuilles de *Myrtus communis* L.

Notre travail a été divisé en deux parties ; nous aborderons dans une première partie une étude bibliographique qui regroupe trois chapitres dont le premier concerne le stress oxydant. Le deuxième chapitre est consacré aux métabolites secondaires, et le dernier chapitre c'est une description botanique de la plante *Myrtus communis* L.

La deuxième partie à deux chapitres dont le premier décrit le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail qui porte sur :

- L'analyse des différents extraits organiques et aqueux des feuilles de *Myrtus communis* L. en utilisant la CCM.
- Evaluation de la teneur en polyphénols totaux, en flavonoïdes des différents extraits.

- L'étude de l'activité antioxydante des différents extraits des feuilles de *Myrtus communis* L. en utilisant le test au DPPH.

Enfin dans le deuxième chapitre nous présente les résultats obtenus et leurs discussions.

Première Partie:  
Synthèse Bibliographique

# Premier Chapitre: Le Stress Oxydant

## **I. Le Stress Oxydant**

Notre organisme a besoin d'énergie pour fonctionner correctement. Les cellules transforment les nutriments apportés par l'alimentation en énergie et en eau. Cette transformation génère environ 2% des molécules d'oxygène; qui peuvent s'avérer délétères en raison de leur caractère oxydant. L'oxygène est à l'origine de la formation de dérivés plus réactifs appelés espèces réactives de l'oxygène, qui doivent être neutralisées par des systèmes de défense faisant intervenir des molécules dites antioxydants (Boubeki, 2014).

### **1. Définition du stress oxydant**

Le stress oxydant est défini comme étant un déséquilibre dans la balance antioxydants/ pro-oxydants en faveur de ces derniers, que ce soit par déficit en antioxydants ou lors d'une surproduction énorme des radicaux. Suite à ses effets délétères tel que l'oxydation d'ADN, la peroxydation des lipides et l'oxydation des protéines et des polysaccharides ; le stress oxydant peut être la cause ou une des causes des maladies comme la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, le cancer, l'athérome ou la cataracte, et aussi le syndrome d'apnées du sommeil. Mais il peut aussi être la conséquence de la plupart des maladies chroniques évolutives comme les maladies rhumatismales inflammatoires, les maladies chroniques inflammatoires de l'appareil digestif, les maladies broncho-pulmonaires, les affections de la peau, le diabète, les maladies cardiovasculaires et les affections virales chroniques (Favier, 2003; Brack, 2010).

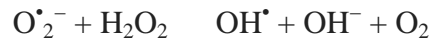
### **2. Définition des radicaux libres**

Stricto sensu, un radical libre est une espèce chimique (atome ou molécule) contenant un ou plusieurs électrons non appariés sur l'orbite électronique la plus externe. Il s'agit d'espèces chimiques très réactives, agressives et à durée de vie très courte ( $10^{-9}$ - $10^{-6}$  sec). Ces radicaux cherchent dans leur environnement un électron d'une molécule stable plus proche pour s'apparier en déstabilisant alors la molécule attaquée et la transformer en radical. Les radicaux peuvent réagir avec des composants cellulaires (ADN, lipides, protéines...) aboutissant à des lésions cellulaires irréversibles, mais dans des conditions physiologiques agissent comme des substances de signal importantes en plus de l'utilité dans la défense chez les bactéries (Chahine, 2014 ; Jdidi, 2015).

### 3. Les différents types des radicaux libres

Parmi les espèces radicalaires qui se forment dans les cellules, on distingue des composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et dénommés radicaux primaires (Espèces Oxygénées Actives EOA). Les autres espèces radicalaires, dites radicaux secondaires (Espèces Azotées Actives EAA, et Espèces Soufrées Actives ESA), qui se forment par réaction de radicaux primaires sur les composés de la cellule (Bouزيد, 2014 ; Chahine, 2014).

Les espèces oxygénées actives (EOA) incluent le radical superoxyde ( $O_2^{\bullet-}$ ) qui est formé chimiquement par l'addition d'un électron supplémentaire à la molécule d'oxygène ( $O_2$ ), et le radical hydroxyle ( $OH^{\bullet}$ ) produit par interaction entre le  $O_2^{\bullet-}$  et le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  selon la réaction suivante de Haber-Weiss.



Ainsi que les radicaux libres et les composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) produit par dismutation de l'anion superoxyde, l'acide hypochloreux ( $HOCl$ ) capable d'interrompre certaines fonctions des protéines même à de très faibles concentrations, et l'oxygène singulet ( $^1O_2$ ) qui n'est pas un vrai radical mais capable d'oxyder d'autres molécules (Winterbourn & Kettle, 2013; Bouزيد, 2014; Chahine, 2014; Marinho *et al.*, 2014).

Alors que les Espèces Azotées Actives (EAA) incluent le monoxyde d'azote ( $NO^{\bullet}$ ) synthétisé par voie enzymatique à partir d'un atome d'azote de l'acide aminé arginine et d'une molécule d'oxygène, le dioxyde d'azote ( $N_2O^{\bullet}$ ) qui est résultat de la réaction du  $NO^{\bullet}$  avec l'oxygène, et l'anion peroxynitrite ( $ONOO^-$ ) qui en résulte de la réaction entre le monoxyde d'azote et  $l'O_2^{\bullet-}$  (Bouزيد, 2014).

Pour les espèces soufrées actives (ESA) ; elles ont comme origine l'oxydoréduction à un électron du couple disulfure/ dithiol des protéines ou des petits peptides (Houée Levin, 2005).

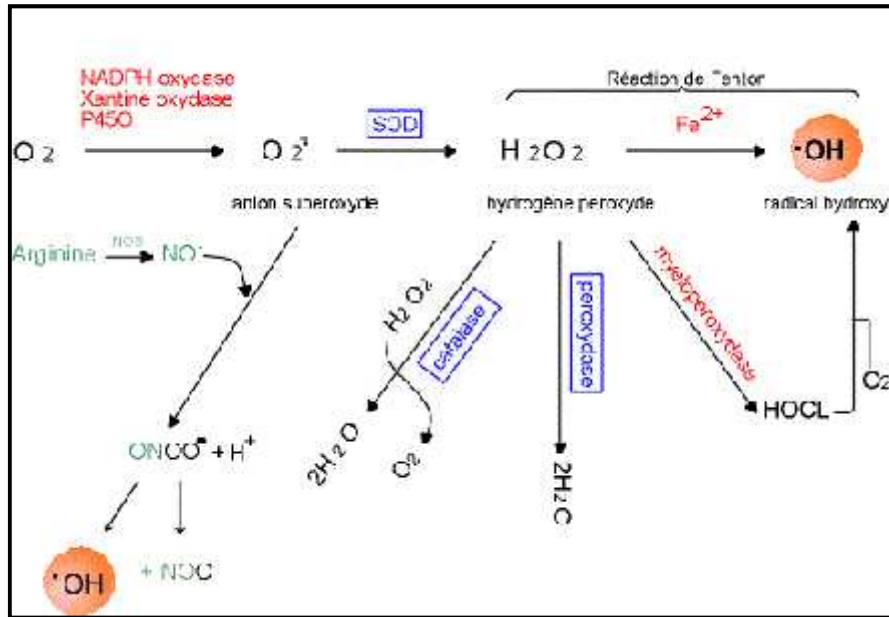


Figure n°1 : Voies de formation des radicaux libres de l'oxygène (Hierso, 2015)

#### 4. Origines des radicaux libres

Les espèces réactives d'oxygène (ROS) produites dans l'organisme peuvent avoir une origine exogène ou endogène, dû à un dysfonctionnement des sources de production ou de leur système d'élimination.

Les sources endogènes incluent le dysfonctionnement de la mitochondrie qui est considéré comme la plus grande source de production des ROS, Les cytochromes P450 (CYP) dont les réactions qu'elles catalysent peuvent parfois conduire à la formation d' $O_2^{\cdot-}$  lorsque l' $O_2$  subit une réduction monovalente, la xanthine oxydase qui génère des radicaux libres (RL) en réduisant l'hypoxanthine en xanthine et la xanthine en acide urique, l'oxydation du NADPH conduisant à la formation du  $H^+$  et de l' $O_2$  qui réagissent entre eux pour former du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), et les peroxysomes qui représentent une source importante de  $H_2O_2$  (Schrader & Fahimi, 2006 ; Maghzal *et al.*, 2012 ; Bouzid, 2014 ; Boyer, 2016).

En plus des sources endogènes, il existe des sources exogènes liées le plus souvent à une mauvaise hygiène de vie tel que; les rayons X et ionisants qui sont capables de générer des radicaux libres oxygénés (RLO) en scindant la molécule d'eau, les facteurs personnels et émotionnels, les traumatismes physiques, l'âge, les substances chimiques comme les herbicides et les insecticides, l'alcool et le tabac, ainsi que les médicaments

contenant du fer administrés en grandes quantités, et les particules inhalées tel que l'amiante, la silice (Adly, 2010).

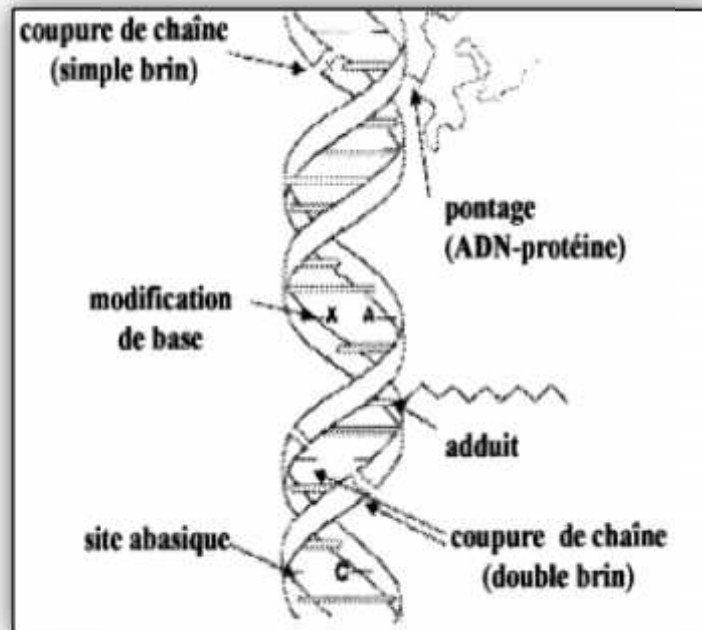
## **5. Les effets délétères du stress oxydant**

### **5.1. Oxydation d'ADN**

Les attaques radicalaires de l'ADN peuvent être classées en cinq catégories selon le type du dommage causé (Figure n°2) :

- Les modifications des bases azotées en particulier la guanine. Cela entraîne un non appariement des bases, ou un mauvais appariement, ou encore un blocage de la réplication de l'ADN,
- La formation des sites abasiques due à la rupture de la liaison N-glycosidique entre le désoxyribose et la base azotée,
- Les coupures des brins résultant essentiellement d'une déshydrogénation du désoxyribose,
- La formation d'adduits due aux aldéhydes issus de la peroxydation lipidique en particulier le 4-hydroxy-2-nonéal (4-HNE) et la malondialdéhyde (MDA),
- Les pontages ADN-protéines : les radicaux libres (RL) peuvent agir indirectement en attaquant les protéines qui sont en contact de l'ADN : histones, enzymes et facteurs de la réplication ou de la transcription ... Les protéines oxydées réagissent alors avec l'ADN formant des pontages ADN-protéines.

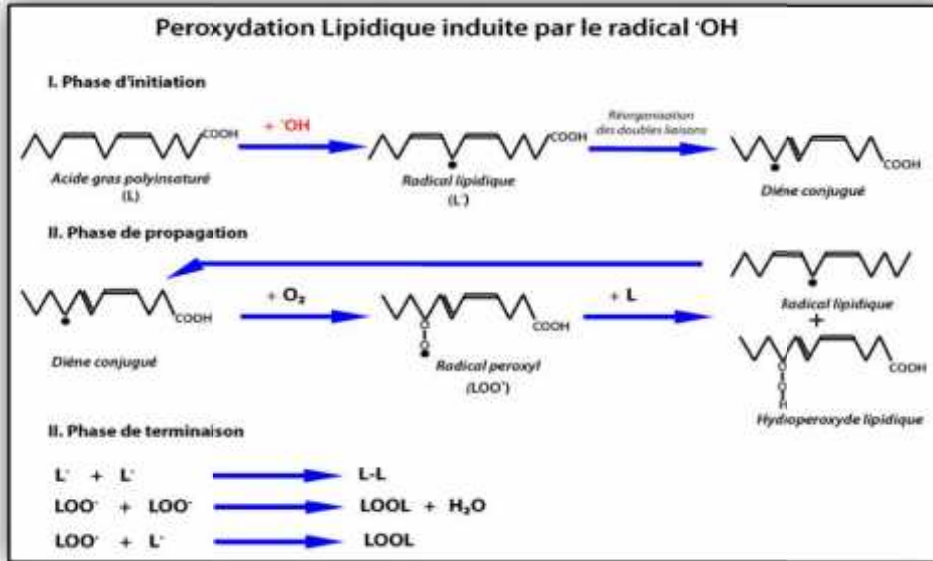
Les conséquences des RL sur l'ADN peuvent participer à une mutagénèse, à un arrêt des divisions cellulaires par blocage des mécanismes de réplication, à un arrêt de la synthèse protéique par blocage des mécanismes de transcription/traduction, et enfin à une mort cellulaire (Dizdaroglu & Jaruga, 2012).



**Figure n°2:** Altérations de l'ADN par les attaques radicalaires (Favier *et al*, 2003)

### 5.2. Peroxydation des lipides

Principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le  $\text{OH}^\bullet$  capable d'arracher un H sur les carbones situés entre deux doubles liaisons, pour former un radical diène conjugué, oxydé en radical peroxyde. Cette réaction appelée peroxydation lipidique forme une réaction en chaîne (Figure n°3). L'attaque des lipides peut concerner les lipoprotéines circulantes aboutissant à la formation des LDL oxydées qui formeront le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardio-vasculaires alors que l'attaque des phospholipides membranaires modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction du signal (Chahine, 2014).



**Figure n°3 :** Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras polyinsaturés et nature des produits terminaux formés (Favier *et al.*, 2003).

### 5.3. Oxydation des protéines

Tous les acides aminés peuvent être oxydés par les ROS et former des groupements carbonylés. Les acides aminés soufrés (cystéine et méthionine) et aromatiques (tyrosine et tryptophane) sont les plus sensibles à l'oxydation. Par exemple, l'oxydation des groupements thiols (-SH) peut donner lieu à la formation de pont disulfure entre deux résidus. Ces dommages peuvent entraîner des altérations structurales et fonctionnelles importantes : perte d'activité enzymatique, non reconnaissance de la protéine par son récepteur. Normalement, ces protéines non fonctionnelles sont prises en charge par des systèmes protéolytiques tel que le protéasome et dégradées. Cependant, lorsque ces systèmes protéolytiques sont défectueux, les protéines oxydées peuvent former des agrégats, dû au fait qu'elles deviennent hydrophobes et s'accumuler dans les cellules (Boyer, 2016).

### 5.4. Oxydation des polysaccharides

Les RLO attaquent les glycosaminoglycanes et notamment les protéoglycanes. Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant du  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{OH}\cdot$ , qui entraîneront la coupure des protéines et leur glycation (Chahine, 2014).

## II. Les Antioxydants

Les antioxydants (AO) sont définis comme toute substance présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, et capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat (Chahine, 2014).

Les antioxydants sont regroupés en classes et sous-classes selon l'origine et la nature chimique :

### 1. Les Antioxydants endogènes

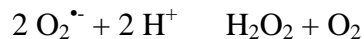
Sont synthétisés au sein de l'organisme et peuvent être classés en deux sous-classes; les antioxydants enzymatiques et non-enzymatiques :

#### 1.1. Antioxydants enzymatiques

##### ➤ La superoxyde dismutase

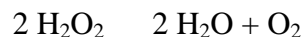
La superoxyde dismutase (SOD) (EC 1.15.1.1) est une enzyme convertissant le superoxyde en peroxyde d'hydrogène selon la réaction ci-après. Ce dernier est secondairement soit dismuté en oxygène et eau grâce à la catalase, soit transformé en eau lors d'une réaction couplée à l'oxydation du glutathion, catalysée par la glutathion peroxydase (GSH-Px) (Chahine 2014).

#### SOD



##### ➤ La catalase

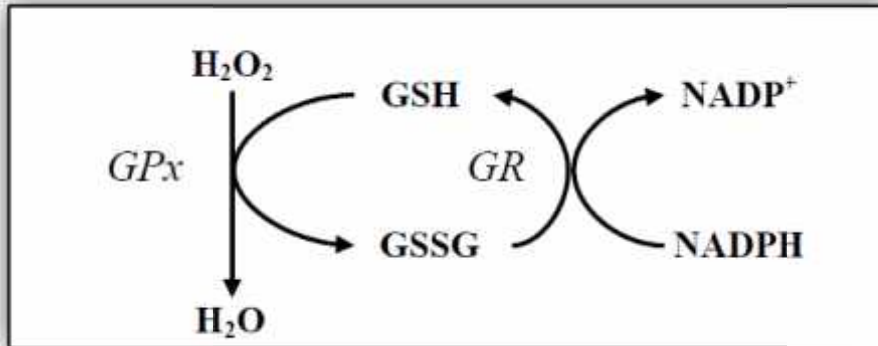
La catalase (EC 1.11.1.6) est une enzyme capable de transformer le peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire selon la réaction ci-dessous. La réaction catalysée par cette enzyme consiste en une dismutation du peroxyde d'hydrogène (Hierso, 2015).



##### ➤ La glutathion peroxydase et glutathion réductase

La glutathion peroxydase (GPX) (EC 1.11.1.9) est une enzyme séléno-dépendante, dont il existe plusieurs isoformes, réparties différemment dans la cellule. Elle catalyse la réaction de transformation des  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Cette réaction met en jeu une molécule antioxydante non enzymatique, le glutathion, sous sa forme réduite GSH. En réalité, 2 molécules de GSH sont nécessaires pour former la forme oxydée du glutathion à savoir le glutathion disulfide (GSSG). La glutathion réductase (GR) (EC1.8.1.7) a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons.

La GR est chargée de réduire le glutathion qui a été oxydé par les nombreux processus cellulaires. Elle utilise l'oxydation du NADPH en NADP<sup>+</sup> pour réduire le GSSG. (Bouزيد, 2014).



**Figure n°4 :** Elimination du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par les réactions enzymatiques combinées de la GPX et la GR

## 1.2. Antioxydants non enzymatiques

### ➤ Le glutathion réduit

Le GSH peut agir directement avec les RL mais il est essentiellement utilisé comme substrat par la GPX pour l'élimination des H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Lors d'un stress oxydant, le taux de GSH généralement diminue. Pour cela, il est important d'évaluer le glutathion oxydé (GSSG) et le rapport GSH/GSSG afin d'avoir une idée plus précise sur le fonctionnement de cet antioxydant. En effet, une diminution du ratio GSH/GSSG est en faveur d'une réaction des défenses antioxydantes pour l'élimination des RL (Bouزيد, 2014).

### ➤ L'acide urique

C'est un produit terminal majeur du métabolisme des purines chez l'homme, il est à pH physiologique majoritairement ionisé sous forme d'urate, un piègeur puissant de radicaux (OH<sup>•</sup>, ROO<sup>•</sup>, NOO<sup>•</sup>...). Ces réactions conduisent à des espèces radicalaires qui seront à leur tour réduites (notamment par la vitamine C). Les propriétés antioxydantes de l'urate in vivo peuvent être appréciées indirectement par le fait qu'un produit de réaction de l'urate avec les EOA appelé l'allantoïne, est présent à des taux élevés lors d'un stress oxydant (Haleng *et al.*, 2007).

En cas de stress oxydant, la concentration de l'acide urique augmente, en particulier lors du phénomène d'ischémie-reperfusion, et les xanthines oxydases formées lors de ce phénomène produisent des RL et provoquent une transformation des hypoxanthines, en xanthine et acide urique (Johnson *et al.*, 2009).

## **2. Les antioxydants exogènes**

### **2.1. La Vitamine E**

Il existe cinq isomères de la vitamine E, appelés tocophérol. La forme la plus abondante de la vitamine E est l' $\alpha$ -tocophérol mais la forme la plus efficace serait la  $\gamma$ -tocophérol (Haleng *et al.*, 2007).

Au niveau des membranes cellulaires, elle inhibe le mécanisme de peroxydation des lipides et limite l'oxydation des LDL (Chahine, 2014).

### **2.2. La vitamine C**

La vitamine C va piéger certains radicaux libres comme le HO $\cdot$  ou le O $_2^{\cdot-}$  mais va aussi permettre de régénérer la vitamine E oxydée. Cependant, il semblerait que la vitamine C joue un rôle différent en fonction de sa concentration. Ainsi, à faible concentration elle agirait comme un pro-oxydant et participerait à la formation des ROS, alors qu'à forte concentration, elle se comporterait comme un antioxydant (Tabatabaei-Malazy *et al.*, 2015).

### **2.3. Les Caroténoïdes**

Ils sont majoritairement représentés par le  $\beta$ -carotène, appelée aussi «pro-vitamine A». La plupart des caroténoïdes et vitamine A interagissent avec l'oxygène singulet et ainsi empêchent l'oxydation de plusieurs substrats comme les acides gras polyinsaturés (Bouzid, 2014).

### **2.4. Les composés phénoliques**

Les polyphénols sont des antioxydants présents dans les végétaux qui peuvent protéger contre la glycoxydation des protéines et ils sont également connus pour avoir des propriétés anti-inflammatoires. (Sears & Ricordi, 2012; Bartosz, 2014). Les composés phénoliques permettent également de préserver et d'économiser la vitamine E et la vitamine C qui sont eux-mêmes de puissants antioxydants (Chahine, 2014).

### **2.5. Les flavonoïdes**

Les effets protecteurs des flavonoïdes contre les oxydants dans les systèmes biologiques peuvent être attribués à différents procédés soit par transfert direct d'électrons du radical libre aux flavonoïdes, soit par voie indirecte par la chélation des ions métalliques, l'activation des enzymes antioxydantes, ou l'inhibition des oxydases (Procházková *et al.*, 2011).

# Deuxième Chapitre: Les Métabolites Secondaires

## **1. Généralités**

Chez les plantes, il existe un métabolisme secondaire, c'est une exclusivité du monde végétal. Ces produits, à structure chimique souvent complexe et généralement décrits comme non essentiels pour la survie des plantes, sont très dispersés et très différents selon les espèces. Ils représentent une grande source potentielle d'agents thérapeutiques, et pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre les plantes et leur environnement : plusieurs composés phénoliques participent à la filtration des UV, les pigments floraux sont essentiels aux processus de pollinisation, et ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal comme la croissance ou la reproduction (Gravot, 2008 ; Bhooshan Pandey *et al.*, 2009 ; Thomas, 2009 ; Kanoun, 2011) .

## **2. Classification des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont produits en très faibles quantités, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique. On distingue trois classes principales : (Merabet & Menaifi, 2015)

### **2.1. Les composés phénoliques**

#### **2.1.1. Généralités**

Les polyphénols sont des composés naturels, exclusivement synthétisés dans le règne végétal. Leur répartition qualitative et quantitative est inégale selon les espèces, les organes, les tissus et les stades physiologiques des plantes (Bhooshan Pandey *et al.*, 2009) .

Il s'agit des dérivés non azotés connus par une grande variété structurale dont environ 8000 composés ont été identifiés dont l'unité structurale de base commune est issue des voies de biosynthèse suivantes : (Lobstein, 2010)

#### **➤ La voie de Shikimate**

C'est souvent la voie de biosynthèse des composés aromatiques, elle joue un rôle critique pour contrôler le métabolisme de la voie de phénylpropanoïde (Harrar, 2012).

#### **➤ La voie des phénylpropanoïdes**

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique, des précurseurs de lignine (Harrar, 2012).

➤ **La voie de biosynthèse des flavonoïdes**

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base, l'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation, catalysée par la chalcone synthase, d'une unité phényle propanoïde avec trois unités malonyl-CoA. Cette chalcone est l'intermédiaire caractéristique de la synthèse des divers flavonoïdes (Harrar, 2012).

**2.1.2. Classification des composés phénoliques**

Selon Corona (2011) les polyphénols peuvent être répartis en deux classes majeures ; les flavonoïdes et les non flavonoïdes (Tableau n°1) :

**Tableau n°1 : Classification des composés phénoliques**

La classe	Les sous-classes
Les non-flavonoïdes	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Les acides phénoliques</li> <li>✓ Les stilbènes</li> <li>✓ Les lignanes, lignines et subérines</li> </ul>
Les flavonoïdes	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Les flavones</li> <li>✓ Les flavanes</li> <li>✓ Les flavanones</li> <li>✓ Les flavonols</li> <li>✓ Les anthocyanes</li> <li>✓ Les prénylchalcones et dihydrochalcones</li> </ul>

**A. Les non-flavonoïdes**

**a. Les acides phénoliques**

➤ **Les acides hydroxybenzoïques**

Les structures varient selon les hydroxylations et les méthyloxylation sur le cycle phénolique aromatique (Boutakiout, 2015).

➤ **Les acides hydroxycinnamiques**

Ils sont plus abondants que les acides hydroxybenzoïques. Ils sont principalement composés de l'acide p-coumarique, caféique, férulique et synapique (Boutakiout, 2015).

➤ **Les coumarines**

Les coumarines sont caractérisées par une structure qui comporte le noyau benzo-pyrone (coumarine), résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy- cis cinnamique (Ben Rhouma-Martin, 2013).

➤ **Les tannins hydrolysables**

Ce sont des esters d'acides phénoliques (acide gallique ou ellagique) associés à un polyol (habituellement le glucose) (Boutakiout, 2015).

**b. Les stilbènes hydroxylés**

Ces dérivés hydroxylés sont des composés formés de deux noyaux aromatiques liés par un groupe éthylénique (C6-C2-C6) (Lobstein, 2010).

**c. Les lignanes, lignines et subérines**

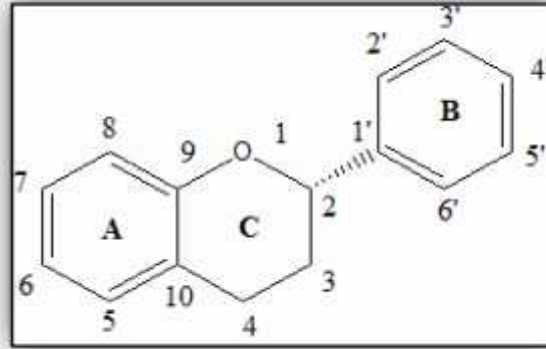
Les lignanes sont des dimères ramifiés de phénylpropènes. Ils sont formés par dimérisation de trois types d'alcools : alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool synapique. Alors que les lignines sont des polymères d'alcools conifériques, sinapyliques et p-coumarique.

Par contre, les subérines sont des polyesters des acides férulique et p-coumarique avec des acides aliphatiques (Renault Roger *et al.*, 2002 ; Ghnimi, 2015).

**B. Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des produits naturels de bas poids moléculaire qui appartiennent à la classe générale des polyphénols, représentant les métabolites secondaires les plus abondants chez les plantes avec plus de 8 000 structures connues (Pessel, 2013; Malbert, 2014).

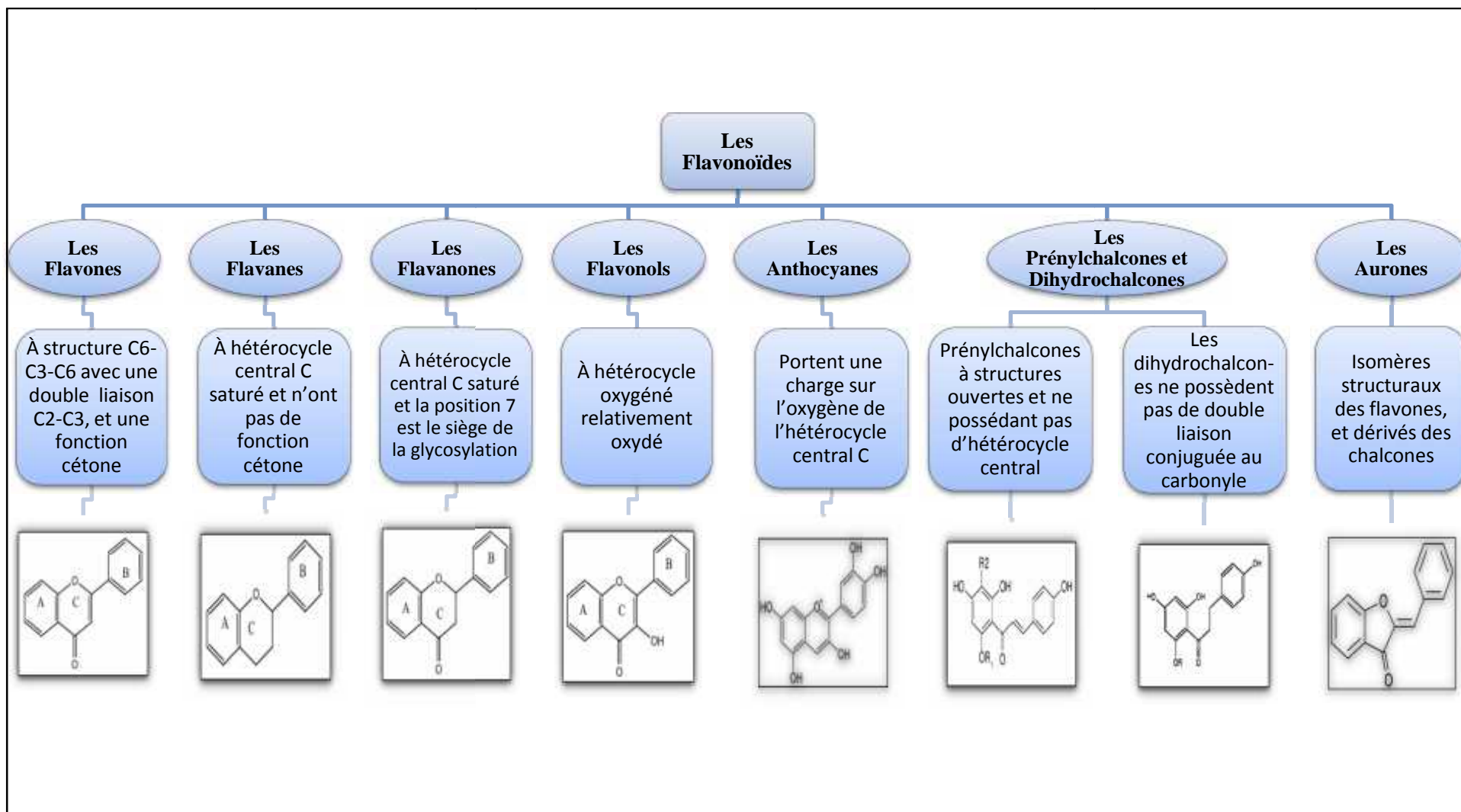
Les flavonoïdes possèdent une structure commune composée d'un squelette carboné de type 2-phénylchromane, appelée aussi noyau flavane. Il est composé de deux cycles aromatiques, et d'un cycle central (nommés respectivement A, B et C dans la nomenclature initialement proposée par Hemingway en 1982 et améliorée par Porter en 1988) (Diharce, 2014).



**Figure n° 5:** Nomenclature et numérotation des atomes dans un composé de type flavonoïde (Diharce, 2014).

Tous les flavonoïdes peuvent être classés en plusieurs groupes, et l'appartenance d'une molécule à une sous-famille dépend de deux points principaux :

- ✓ Le degré d'oxydation de l'hétérocycle central,
- ✓ Le degré d'hydroxylation des différents cycles (Diharce, 2014).



**Figure n°6:** Classification des flavonoïdes (Boutakiout, 2015 ; Ghnimi, 2015).

### **2.1.3. Activités et intérêts pharmacologiques des composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont dotés de certaines activités biologiques telles que l'activité antibactérienne, antifongique, anti-tumorale, anti-inflammatoire, et principalement antioxydante ainsi qu'ils présentent un effet protecteur vasculaire et capillaro-veineux (Kanoun, 2011).

Vers la fin du 20<sup>ème</sup> siècle, les études épidémiologiques et les méta-analyses associées ont fortement suggéré que la consommation à long terme des régimes alimentaires riches en polyphénols végétaux offrait une certaine protection contre le développement des cancers, des maladies cardiovasculaires, du diabète, de l'ostéoporose et des maladies neurodégénératives (Boutakiout, 2015).

## **2.2. Les alcaloïdes**

### **2.2.1. Généralités**

Les alcaloïdes sont des molécules hétérocycliques azotées et faiblement basiques à structure souvent complexe et dont l'activité physiologique et pharmacologique est souvent marquée. Les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance: jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines, ces substances sont trouvées concentrées dans les vacuoles.

La plupart des alcaloïdes sont dérivés d'acide aminés tels que le tryptophane, l'ornithine, la lysine, l'asparate, l'anthranilate, la phénylalanine et la tyrosine. Ces acides aminés sont décarboxylés en amines et couplés à d'autres squelettes carbonés. (Muhammad, 2013 ; Yezza & Bouchama, 2013 ; Merabet & Menaifi, 2015)

Les alcaloïdes sont regroupés en trois genres :

#### ➤ **Les alcaloïdes vrais**

Ils dérivent d'acides aminés et comportent un atome d'azote dans un système hétérocyclique. Ils sont présents dans les plantes, soit sous forme libre, soit sous forme de sel, soit comme N-Oxyde (Badiaga, 2011).

#### ➤ **Les pseudo-alcaloïdes**

Les pseudo-alcaloïdes présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés (Badiaga, 2011).

Dans la majorité des cas connus, ce sont des dérivés d'isoprénoïdes (alcaloïdes terpéniques) et du métabolisme de l'acétate (Rakotonanahary, 2012).

➤ **Les proto-alcaloïdes**

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un hétérocycle, ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acide aminé. Ils sont souvent appelés « amines biologiques » et sont soluble dans l'eau (Badiaga, 2011).

L'origine de ces alcaloïdes remonte aux acides aminés suivants : la lysine, phénylalanine, tyrosine, acide anthranilique, acide nicotinique, histidine, tryptophane et l'ornithine (Mauro, 2006).

**2.2.2. Propriétés biologiques et intérêts pharmacologiques des alcaloïdes**

Les propriétés toxiques ou médicamenteuses des alcaloïdes font de ce groupe de métabolites secondaires un intérêt particulier. Au niveau du système nerveux central ils agissent comme dépresseurs (morphine, scopolamine) ou comme stimulants (caféine, strychnine,...). Au niveau du système nerveux autonome comme sympathomimétiques (éphédrine), anticholinergiques (atropine). Certains jouent le rôle des anesthésiques locaux (cocaïne), d'antipaludiques (quinine). (Kansole, 2009)

**2.3. Les isoprénoïdes et stéroïdes**

Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à 5 carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpénoïdes.

Les triterpènes qui sont des molécules à 30 carbones composés de 6 unités isoprènes, et dont l'un des produits de dégradation sont les stéroïdes qui peuvent être considérés comme des triterpènes tétracycliques ayant perdu au moins trois méthyles. Ce sont des métabolites secondaires qui ont un rôle vital dans la maintenance de l'intégrité structurale de la plupart des structures membranaires des organismes, ils assistent aussi dans la régulation de la perméabilité de ces membranes aux différents ions, et les eucaryotes les synthétisent pour leur diététique (Krief, 2003 ; Benaïssa, 2011; Yezza & Bouchama, 2013).

Les terpénoïdes sont issues d'une voie de biosynthèse dont l'acide mévalonique (MVA) est la clé. La condensation de 3 molécules d'acétyl-CoA forme le  $\beta$ -hydroxy  $\beta$ -méthylglutaryl-CoA, ensuite la réduction de ce dernier donne MVA qui est par la suite activé par une enzyme spécifique. Le MVA est converti en isopentenyl pyrophosphate (IPP) ou isoprène actif. C'est le IPP qui constitue l'unité isoprénique d'enchaînement, et il s'isomérisé en diméthylallyl pyrophosphate (DMAPP).

La condensation d'une molécule (DMAPP) avec une molécule (IPP), conduit au (GPP) précurseur des monoterpènes en C-10. Le couplage de ce dernier avec une nouvelle

molécule (IPP), conduit au farnésyl pyrophosphate (FPP) précurseur des sesquiterpènes en C-15 qui peut agir avec une autre molécule de (IPP) pour former le géranyl-géranyl pyrophosphate (GGP) précurseur des diterpènes en C-20. D'autre part, le couplage réductif de deux unités (FPP) donne le squalène en C30, précurseur des triterpènes cycliques et stéroïdes (Ayad, 2008).

Troisième Chapitre:  
Étude Botanique  
De *Myrtus Communis* L.

Le myrte commun (*Myrtus communis* L.) est une plante médicinale endémique de la région méditerranéenne, elle a été utilisée par les habitants pour ses propriétés culinaires et médicales depuis l'antiquité. Dans de nombreux pays, c'est une tradition bien établie, malgré l'intérêt scientifique croissant dans ce domaine, il existe un manque de données sur la composition des plantes médicinales, les applications thérapeutiques et les risques liés à leur consommation (Aleksic & Knezevic, 2014).

### **1. La famille des *Myrtacées***

La famille des *Myrtacées* doit son nom au genre *Myrtus*, elle contient 140 genres et environ 5950 espèces. Ce sont des arbres et des arbustes dont toutes les espèces sont boisées et contiennent des huiles essentielles ou aromatiques. Les feuilles sont sempervirentes, simples et disposées de manière alternée ou opposée. Les fleurs sont composées de 5 pétales, mais certaines espèces en sont dépourvues. Les étamines sont généralement très voyantes avec des couleurs vives.

Un grand nombre des espèces de cette famille sont utilisées en phytothérapie ou aromathérapie. Parmi celles-ci nous pouvons citer : *Eucalyptus globulus* (le gommier bleu), *Melaleuca cajuputi* (le cajepout), *Melaleuca quinquenervia* (le niaouli), *Syzygium aromaticum* (le giroflier), et *Myrtus communis* (le myrte commun) (Franceschini, 2016).

### **2. Le genre *Myrtus* L.**

Le genre *Myrtus* se divise en seize espèces, réparties de manière disjointe autour du monde. On pensait que ce genre contenait un plus grand nombre d'espèces (60 espèces) mais il a du être démembré (Franceschini, 2016).

Ce sont des Arbuste à feuilles ovoïdes, 2 à 3 fois plus longues que larges, à nervation pennée, à fleurs grandes de 10-15 mm, blanches, pourvues à la base de 2 bractées très petites et des rameaux pubescents dans leur jeunesse (Quezel & Santa 1856).

### **3. L'espèce *Myrtus communis* L.**

#### **3.1. Description botanique**

*Myrtus communis* L. (*M. communis*) est une plante médicinale aromatique, appartenant à la famille des *Myrtaceae* endémique à la région méditerranéenne.

Le myrte commun pousse au niveau de la mer à 500-800 m d'altitude. Il est de 1,5 - 4 m de haut et les branches rougeâtres ramifiées forment une tête étroite, couvertes de feuilles épaisses. Les feuilles sont petites, vertes, opposées, très rapprochées, subsessiles, ovales-lancéolées, aiguës, entières, coriacées, persistantes, glabres, luisantes et courtement

pétiolées. Les fruits sont des baies ovales (7-10 × 6-8 mm), de couleur noir bleuâtre, quelquefois verte. La pleine maturité des fruits est atteinte au mois de novembre. Sous la peau bleue foncée, la chair blanche est plus ou moins épaisse, parfois presque entièrement résorbée, de saveur âpre, résineuse. Ces fruits sont divisés intérieurement en trois loges qui renferment des graines nombreuses courbées en croissant (Photographie n°1). (Chidouh, 2013 ; Alipour & Dasht & Hosseinzadeh, 2014).



**Photographie n°1 :** Feuilles et baies de *Myrtus Communis* L.  
(legrenierdubienetre.fr, 2017)

Les feuilles sont persistantes de 2 à 5 cm de long et aromatiques après écrasement, comme dans le cas de la myrrhe ou de l'eucalyptus. Le goût de celui-ci est amer et intense, principalement en raison de son astringence. Les fleurs sont solitaires, jusqu'à 3 cm de diamètre, isolées à l'aisselle des feuilles et portées par de longs pédoncules. Le calice à tube soudé à l'ovaire présente 5 lobes étalés et la corolle 5 pétales. Les étamines sont nombreuses à anthères jaunes forment des touffes ébouriffées. Le style, unique, présente un stigmate simple (Photographie n°2).

La pollinisation se fait par les insectes, et les graines sont dispersées par les oiseaux. En Algérie, il est commun dans les maquis et les forêts du littoral (Chidouh, 2013; Alipour & Dasht & Hosseinzadeh, 2014).



Figure n°7: Croquis d'un rameau de *Myrtus communis* L. (Coste, 1937)



Photographie n°2 : La fleur de *Myrtus Communis* L. (mesarbustes.fr, 2016)

### 3.2. Dénominations selon la nomenclature

- **Arabe:** A'as, arrayhan.
- **Français:** Herbe du lagui, Myrte commun.
- **Anglais:** Common myrtle, Greek myrtle, Myrtle, Sweet myrtle.
- **Espagnol:** Arrayán, Mirto, Murta, Murt.
- **Italien:** Mirtella, Mirto, Mortella, Mortin (Goetz & Ghedira, 2012).

### 3.3. Position systématique

- ✓ **Règne :** *Plantae*
- ✓ **Sous-règne :** *Tracheobionta*
- ✓ **Embranchement :** *Magnoliophyta*
- ✓ **Sous-embranchement :** *Magnoliophytina*
- ✓ **Sous-classe :** *Rosidae*
- ✓ **Ordre :** *Myrtales*
- ✓ **Famille :** *Mytaceae*
- ✓ **Genre :** *Myrtus*
- ✓ **Espèce :** *communis* L.
- ✓ **Variétés :** *M. communis* var. *italica* L.  
*M. communis* var. *baetica* L.  
*M. communis* var. *lusitanica* L. (Goetz & Ghedira, 2012)

### **3.4. Répartition géographique**

Le myrte est une partie courante de la flore typiquement méditerranéenne (Figure n°8). La plante pousse abondamment du nord-ouest à l'est de la méditerranée, y compris les pays limitrophes et l'Asie occidentale, ainsi que les régions égéennes. Il est originaire du sud de l'Europe, de l'Afrique du nord (l'Algérie, la Tunisie,...) et de l'Asie occidentale, et également distribué en Amérique du sud, au nord-ouest de l'Himalaya et en Australie. Le myrte est cultivé dans des jardins, en particulier dans les régions indiennes du nord-ouest, en raison de ses fleurs parfumées.

Cette espèce est l'un des arbustes à feuilles persistantes les plus importants du maquis méditerranéen. En Italie, il pousse le long des côtes et sur les collines internes et il abonde surtout dans les îles, où il représente l'une des espèces les plus caractéristiques (Cannas *et al.*, 2013). Au Portugal, le myrte se développe sauvage principalement dans le centre et le Sud du pays. Cette herbe se développe spontanément en Iran, Espagne, France, Grèce, Turquie, Algérie, Maroc, Croatie et Monténégro (Aleksic & Knezevic, 2014).



**Figure n°8:** Carte de répartition géographique de *Myrtus communis* L.

(Wikipedia.org , 2014)

### **3.5. Composition des extraits de *Myrtus communis* L.**

Le profil des extraits de *M. communis* L. est constitué des composés polyphénoliques, regroupés dans trois grandes classes chimiques:

- Les acides phénoliques : sont l'acide gallique, ellagique, caféique, syringique, vanillique et férulique.
- Les tanins : tanins hydrolysables (gallotannins) et des proanthocyanidines (tanins condensés).
- Les flavonoïdes : sont la myricétine, la quercétine, la catéchine et leurs dérivés ;

- ✓ Flavonols (dérivés des la myricétine et quercétine): myricetin-3-D-galactoside, myricetine-3-D-rahmnoside, quercétine-3-rutinoside, quercétine-3-D-rahmnoside
- ✓ flavanols (dérivés de la catéchine)

La composition des extraits peut varier de manière significative, selon l'organe utilisé pour l'extraction. Amensour *et al.*, (2009) ont montré que les extraits de feuilles contiennent une quantité significativement plus élevée de composés phénoliques totaux que les extraits des baies. Yoshimura *et al.*, (2008) ont identifié dix composés phénoliques de la feuille de myrte comprenant :

- Quatre tanins hydrolysables,
- deux composés polyphénoliques apparentés,
- Quatre flavonols.

Selon Aidi Wannes *et al.*, (2010), la feuille et les fleurs sont particulièrement riches en tanins totaux. Comme les proanthocyanidines sont faiblement présentées, les auteurs ont suggéré que les tanins des feuilles et des flocons appartiennent à une classe de tanins hydrolysée. Cependant, ils ont estimé que la tige de myrte est pauvre en tanins et en flavonoïdes modérément riches (catéchine).

Les flavanols dans les feuilles de *M. communis* L. sont détectés en quantités relativement importantes (Aidi Wannes *et al.*, 2010), à l'exception des dérivés de la quercétine et des acides phénoliques, qui ont été trouvés uniquement en petites quantités. La composition d'extrait final dépend également du solvant d'extraction utilisé pour la préparation de l'extrait, principalement en raison de sa polarité. Les solvants les plus couramment utilisés pour la préparation d'extrait du myrte sont l'eau, l'alcool (méthanol ou l'éthanol), l'acétate d'éthyle, l'éther diéthylique et le chloroforme. Tuberoso *et al.*, (2010) ont prouvé que les extraits d'éthanol et d'eau présentaient une quantité plus élevée de composés extraits par rapport aux extraits d'acétate d'éthyle, mais le plus élevé en antiradical et antioxydant (Aleksic & Knezevic, 2014).

### **3.6. Les effets pharmacologiques de myrte**

Les propriétés pharmacologiques de myrte ont été signalées dans de nombreuses études et ont obtenus des résultats prometteurs.

- Dans l'étude d'Akin *et al.*, (2010), l'huile essentielle de *Myrtus communis* montre une activité considérable contre la plupart des bactéries gram-négatives et positives à une concentration de 0,5% (v / v).
- Mahboubi et Ghazian Bidgoli en (2010) évaluent l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* contre *Candida albicans* et d'autres espèces (*Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, et six isolats d'*Aspergillus flavus*).
- Moradi *et al.*, en (2011) ont déterminé l'effet de l'extrait hydroalcoolique de myrte iranien sur le HSV-1 *in vitro*. L'analyse a révélé que la concentration cytotoxique 50% (CC) de l'extrait hydroalcoolique de feuilles de myrte à HSV-1 était égale à 4,96 mg / mL.
- En 2008 Chrysavgi *et al.*, à partir d'une huile essentielle de myrte, riche en acétate de myrtenyl, démontrent une activité antioxydante et remarquent une augmentation de la proportion des composés phénoliques lors de la floraison au mois d'Aout. Le rôle d'antioxydant a suscité beaucoup d'intérêt pour leur effet protecteur contre les radicaux libres qui peuvent être la cause de nombreuses maladies dont le cancer.
- Le myrte peut être utilisé dans le traitement des aphtes en raison de ses propriétés antibactériennes, antigénotoxiques, et de son activité de piégeage des radicaux libres vue précédemment.
- En 2014, Qaraaty *et al.*, publient dans Journal of Pharmaceutical Sciences une étude randomisée en double aveugle sur l'effet du sirop des baies de myrte sur les saignements utérins anormaux. Les résultats de cette étude ont montré l'efficacité du sirop de myrte dans le traitement à court terme des saignements utérins anormaux-ménométrorragies (SUA-MM).

### **3.7. Domaines d'application de myrte**

#### **➤ Utilisation traditionnelle**

En Algérie, les fruits sont soit consommés naturellement soit préparées sous forme d'infusion contre les diarrhées et comme hypoglycémiant. Ils constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies.

En Tunisie où le myrte est utilisé dans le nord du pays, les fruits sont recommandés à l'état frais ou sous forme de décoction pour soulager l'ulcère et les douleurs gastriques. Il est aussi préconisé sous cette forme en gargarisme pour traiter les gingivites.

Au Maroc, le fruit est mâché contre les gingivites et les aphtes, Il est utilisé aussi pour traiter le diabète (Chidouh, 2013).

➤ **Utilisation médicinale :**

Les baies du myrte ont une longue histoire d'application dans les industries pharmaceutiques. Elles sont utilisées pour leurs effets positifs sur la santé humaine, comme antiseptique, astringent, carminative, tonique des cheveux, analgésique, cardiotonique, diurétique, anti-inflammatoire, stomachique, néphroprotecteur, antidote, hémostatique, tonique du cerveau et antidiabétique (Sumbul *et al.*, 2011).

➤ **Utilisation industrielle :**

Les baies du myrte sont utilisées comme essences aromatiques dans la cuisine, mais leur utilisation la plus importante est la production de liqueurs. Ces fruits sont aussi utilisés pour faire d'excellentes confitures, gelées.

Au cours de ces dernières décennies, les systèmes intensifs de la culture de myrte ont été établis dans diverses régions du monde et particulièrement en Sardaigne (Italie), afin d'assurer à la fois un approvisionnement constant de matériel de bons fruits pour l'industrie de liqueur et la préservation des populations de myrte naturelles (Chidouh, 2013).

➤ **Utilisation culinaire :**

Les valeurs nutritionnelles des constituants des baies du myrte sont: Huile brute (2.37%), huile essentielle (0.01%), protéine brute (4.17%), fibre brut (17.41%), énergie brute (11.21 Kcal/g), sucre réducteur (8.64%), tannins (76.11 mg/199 g), cendres (0.725%), extrait soluble dans l'eau (52.94%).

Dans tout le bassin méditerranéen, les fruits de myrte, frais ou séchés, servent de condiment, en particulier avec la volaille et le gibier. Au Chypre et en Turquie, ils sont communément vendus sur les marchés.

Le fruit avant la découverte du poivre, servait à assaisonner certains aliments. Les romains l'employaient pour aromatiser l'huile d'olive. Les grecs modernes mangent encore ces baies lorsqu'elles sont mûres. Les oiseaux en sont très avides (Chidouh, 2013).

Deuxième Partie:  
Etude Expérimentale

# Premier Chapitre: Matériel et Méthodes

## I. Matériel d'étude

### 1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des feuilles de *Myrtus communis* L., récoltées en mois de Février 2017 de la région de Guelma, dont l'identification a été effectuée par M<sup>me</sup> Bouhalit Samira ; maître assistant à université Abbès Laghrour Khenchela.

Pour la préparation des différents extraits, la partie aérienne cueillie de la plante est séchée à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante. Le séchage est de 7 jours en moyenne.

Les feuilles sont isolées et séparément réduites à l'aide d'un broyeur en poudre fine qui est soigneusement conservée dans un bocal en verre jusqu'à son utilisation.

### 2. Réactifs chimiques et instrumentation

Le travail a été effectué au niveau des laboratoires pédagogiques de l'université Abbès Laghrour Khenchela en utilisant les réactifs chimiques suivant:

Le méthanol, l'éthanol, le n-butanol, l'acétate d'éthyle, le chloroforme, l'hydroxyde de sodium (NaOH), l'ammoniaque (NH<sub>4</sub>OH), le sulfate de potassium, l'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), l'acide chlorhydrique (HCl), le formol, l'éther de pétrole, l'éther éthylique, l'acétone, l'acide acétique, le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>), le chlorure de fer (FeCl<sub>3</sub>), le lugole, les réactifs de Fehling, Stiasny, Mayer et Wagner, le Folin Ciocalteu, l'acide ascorbique, l'acide gallique, la quercétine et le DPPH.

Et les instrumentations et les appareils utilisés sont :

L'évaporateur rotatif, l'étuve, le spectrophotomètre, la chambre UV, bain marie, la cuve de chromatographie, et l'ampoule à décanter.

## II. Méthodes appliquées

### 1. Détermination de la teneur en eau

Elle est déterminée par la méthode gravimétrique qui consiste en la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve d'une masse de 5g de poudre végétal placée à 105 °C pendant 24h jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

$$\text{Le teneur en eau (humidité)\%} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \cdot 100$$

Dont **M<sub>1</sub>**: poids de la prise d'essai, et **M<sub>2</sub>** : Poids après dessiccation (Raffauf, 1996).

## **2. Préparation des extraits**

### **2.1.Préparation d'extrait aqueux par infusion**

Elle est basée sur la préparation d'une infusion, en mettant 50 g de poudre végétale dans 500 ml d'eau bouillante pendant 30 min. Après refroidissement et filtration, le filtrat récupéré est évaporé à sec dans l'étuve à 50°C (Boubacar Souley, 2005).

### **2.2.Préparation d'extrait aqueux par décoction**

Elle est basée sur la préparation d'une décoction, en introduisant 30g de la poudre végétale dans 300 ml d'eau distillée, le tout est chauffé jusqu'à l'ébullition pendant 3h et réduction du volume initiale à 1/10<sup>ème</sup>. Après refroidissement et filtration, le filtrat récupéré est évaporé à 50°C dans une étuve (Boubacar Souley, 2005).

### **2.3.Préparation d'extrait méthanolique**

La préparation d'extrait méthanolique est réalisée par épuisement à froid de 100g de la poudre végétale dans 300 ml d'une solution hydro-alcoolique; méthanol/eau distillée (8:2 V/V) pendant 24h avec agitation continue à température ambiante. Après filtration à l'aide d'un papier Wattman n°4; le résidu est macéré deux autres fois avec la même solution et le même volume.

Le solvant est évaporé à sec sous pression réduite à 45°C à l'aide d'un évaporateur rotatif, et l'extrait sec obtenu est ensuite stocké à une température de +4°C.

## **3. Fractionnement de l'extrait brut**

L'extraction des flavonoïdes a été réalisée par la méthode décrite par Bekkara *et al.*, (1998). Les solvants employés pour le partage liquide-liquide sont : le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. L'extrait brut (EBR) est fractionné en utilisant une série de solvants à polarité croissante. 5g d'extrait méthanolique sont initialement dilués dans 100 ml d'eau bouillante, filtrés et le filtrat est mélangé avec 50 ml (x2) de chloroforme (V/V). Après décantation la phase aqueuse inférieure est récupérée et destinée à l'évaporation dans l'étuve à 45°C (phase chloroformique), alors que la phase supérieure subit un autre fractionnement par 50 ml d'acétate d'éthyle (V/V), après décantation la phase organique supérieure est récupérée. L'acétate d'éthyle est par la suite évaporé à sec à 45°C dans une étuve, et l'extrait résultant est considéré comme étant la fraction de l'acétate d'éthyle (FAC), La phase aqueuse inférieure est soumise à un autre fractionnement par 50 ml de n-butanol pour donner la fraction butanolique (FBU). Le raffinat qui en résulte représente la fraction aqueuse (FAQ) résiduelle.

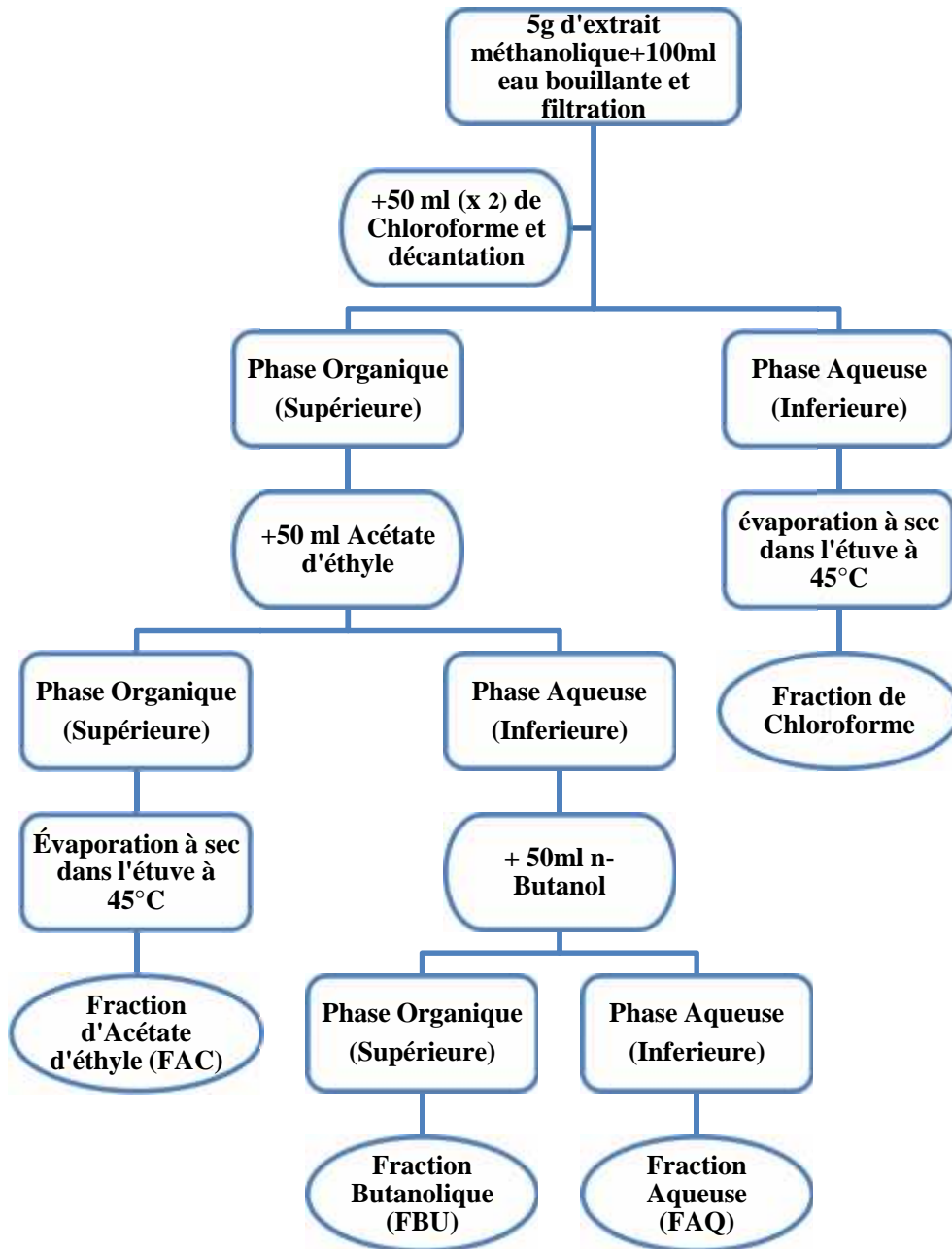


Figure n°9 : Schéma d'extraction liquide-liquide  
(Bekkara *et al.*, 1998)

➤ **Calcul des rendements d'extraction**

Le rendement des différents extraits obtenus est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé par l'équation :

$$R(\%) = (Me / Mv) \times 100$$

**R (%)** : Rendement en %, **Me** : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant,  
**Mv** : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (Harborne, 1980).

#### **4. Les tests phytochimiques préliminaires**

Dans le but de vérifier la présence ou l'absence de quelques composants phytochimiques, nous avons réalisé quelques tests classiques en utilisant des réactifs chimiques spécifiques. Ces tests ont été réalisés selon les méthodes standardisées (Debray *et al.*, 1971; Études rwandaises, 1977 ; Rizk, 1982 ; Trease & Evans, 1987; Kanoun, 2011)

Certains tests reposent sur l'utilisation de l'infusé à 5% obtenu par introduction de 5g de poudre végétale sèche dans 100 ml d'eau bouillante pendant 15mn, suivie d'un refroidissement et filtration.

##### **➤ Test des alcaloïdes**

La mise en évidence de la présence des alcaloïdes est faite par macération de 1 g de poudre végétale dans 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10%) pendant 24h. Après la filtration quelque gouttes de réactif de Wagner sont ajoutés à 1 ml de macéré. L'apparition de précipité brun traduit la présence des alcaloïdes.

Quelques gouttes de réactif de Mayer sont additionnées, dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes (Kanoun, 2011).

##### **➤ Test des flavonoïdes**

Pour mettre en évidence la présence des flavonoïdes il suffit de macérer 1g de la poudre sèche dans 15 ml d'HCl dilué à 1% pendant 24h, filtrer et procéder au test suivant : prendre 5 ml du filtrat, le rendu basique par l'ajout du NH<sub>4</sub>OH. Un test positif est révélé par l'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure de tube à essai (Kanoun, 2011).

##### **➤ Test des coumarines**

L'identification est faite par macération de 5 g de poudre végétale dans 20 ml d'éther pendant 24h. La filtration, l'évaporation du filtrat, et l'ajout de 0,5ml de NH<sub>4</sub>OH à 25% sont suivis d'observation de la fluorescence sous une lampe UV à 366 nm (Rizk, 1982).

##### **➤ Test des stérols et triterpènes**

L'identification des stérols et triterpènes est faite par macération de 5 g de poudre végétale dans 20 ml d'éther pendant 24h. La filtration, l'évaporation du filtrat, sont suivis par l'ajout de 0.5 ml d'anhydride acétique et 0.5 ml de chloroforme avec un peu d'acide sulfurique; un anneau rouge-brunâtre désigne leurs présence (Kanoun, 2011).

➤ **Test des quinones**

Pour mettre en évidence la présence des quinones il suffit de mouiller 2g de poudre avec une solution d'acide chlorhydrique à 10%. Il s'en est suivi d'une macération dans 3 ml d'un mélange d'éther du pétrole durant 3 minutes.

Après filtration, 1 ml de cette solution est traité avec 1 ml d'une solution aqueuse de soude caustique NaOH (1%). Une coloration rouge-rosâtre apparaît témoignant la présence des quinones (Études rwandaises, 1977).

➤ **Test des composés réducteurs**

Leur détection consiste à traiter 1ml de l'extrait méthanolique avec 2 ml d'eau distillée et ajouter quelques gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Le caractère réducteur des aldoses ou des cétones est révélé par la transformation de couleur au rouge ou rouge brique (Trease & Evans, 1987).

➤ **Test d'amidon**

Placez quelques gouttes de Lugol ou l'eau iodée en contact avec 1 ml de l'extrait végétal. Si une Coloration bleu foncé est développée, cela signifie qu'en est en présence d'amidon (Kanoun, 2011).

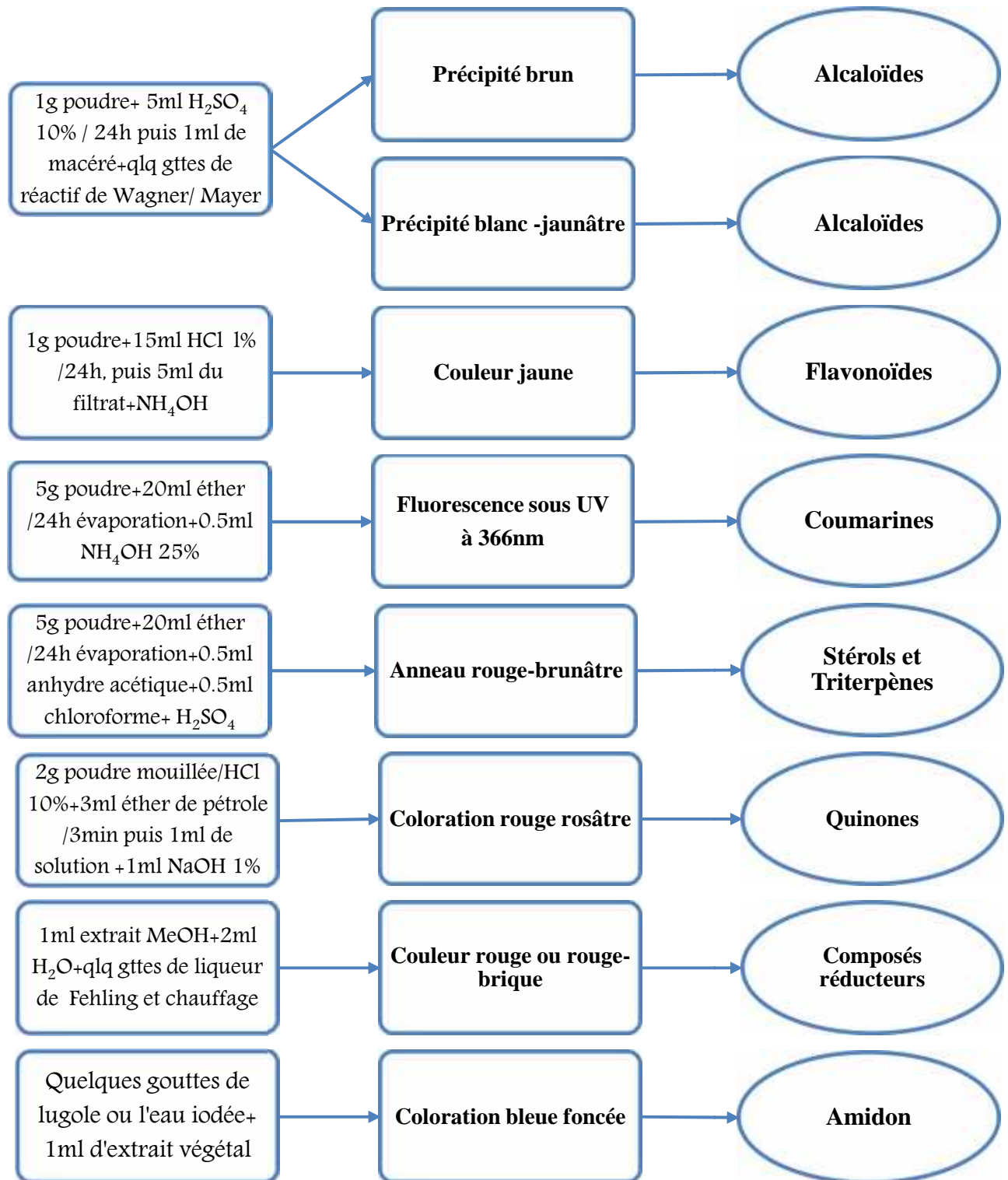


Figure n°10 : 1<sup>ère</sup> Série des Tests Phytochimiques

➤ **Test des Tanins**

Ce test consiste à mettre 5ml d'infusé à 5% dans un tube à essai, et ajouter 1ml de solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  à 1% goutte à goutte. En présence de tanins, il se développe une coloration bleu-vert (tanins catéchiques) ou bleu-noire (tanins galliques). La différenciation des tanins catéchiques et galliques est obtenue par la réaction de Stiasny (Trease & Evans, 1987).

) **Réaction de Stiasny**

6 ml d'infusé à 5% sont introduit dans un tube à essai, sur lesquels sont ajoutés 3ml de réactif de Stiasny, le tout est chauffé au Bain-Marie à  $90^\circ\text{C}$  pendant 15 mn. L'obtention d'un précipité montre la présence des tanins catéchiques.

On procède à une filtration et saturation du filtrat d'acétate de sodium pulvérisé, et puis l'ajout de quelques gouttes d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  à 1%, le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny.

➤ **Test des saponines**

La détection des saponines est réalisée par deux tests différents :

) Une forte agitation de 3 ml d'infusé à 5%. La solution est laissée pendant 15 minutes. La persistance de mousse d'au moins 1 cm pendant 15 min indique la présence de saponines.

) Introduction de 0.5g de poudre végétale dans un tube à essai et ajout de 5 ml d'eau distillée. Le mélange est fortement agité, et laissé pendant 15min. La persistance de mousse d'au moins 1 cm pendant 15 min indique la présence de saponines (Rizk, 1982).

➤ **Test des terpénoïdes**

Ils sont mis en évidence par l'ajout de 2ml de  $\text{CHCl}_3$ , 1ml d'anhydride acétique et 1 ml d'acide sulfurique concentré à 5ml d'infusé. L'apparition d'une coloration violette indique leur présence (Kanoun, 2011).

➤ **Test des anthocyanes**

La détection des anthocyanes est effectuée en introduisant 2 ml d'infusé à 5% dans un tube à essai, et l'ajout de 2 ml  $\text{HCl}$  (2N) avec quelques gouttes d'ammoniac.

Si la coloration s'accroît par acidification puis vire au bleu violacé en milieu basique, indique la présence d'anthocyanes (Debray *et al.*, 1971).

➤ **Test des caroténoïdes**

Ce test est réalisé par l'ajout quelques millilitres (3 ml) d'HCl, puis 3 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sur 3 ml de l'infusé. Il apparaît une coloration vert-bleu qui témoigne la présence des caroténoïdes (Études rwandaises, 1977).

➤ **Test des mucilages**

La détection des mucilages est effectuée en introduisant 1ml d'infusé à 5% dans un tube à essai, et l'ajout de 5 ml d'éthanol pendant quelques minutes. Il apparait un précipité qui témoigne leur présence (Études rwandaises, 1977).

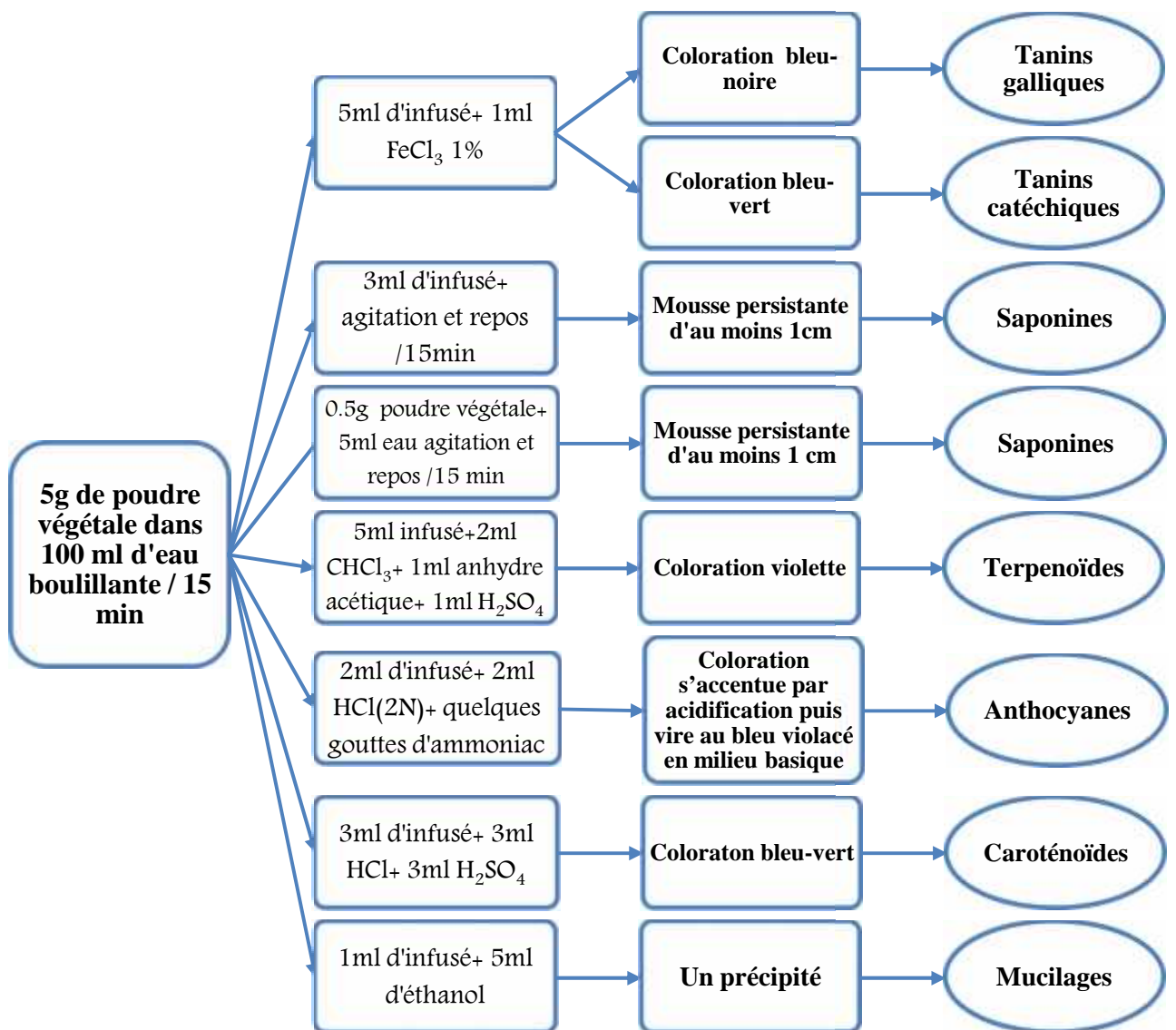


Figure n°11 : 2<sup>ème</sup> Série des Tests Phytochimiques.

## **5. Criblage phytochimique par chromatographie sur couche mince**

La chromatographie sur couche mince est une technique permettant d'identifier les différents phytoconstitués des extraits méthanoliques, aqueux, la fraction de chloroforme, d'acétate d'éthyle (FAC), butanolique (FBU) et aqueuse (FAQ) de la plante étudiée.

### ➤ **Phase fixe**

Des plaques de chromatographie sur couche mince de gel de silice sur un support en plastique pour la séparation des différentes fractions.

### ➤ **Phase mobile**

Six systèmes de solvants organiques à polarités différentes ont été essayés

- **Système 1** : Toluène/ Acétate d'éthyle/ Méthanol (5/3/1) (v/v/v).
- **Système 2** : Chloroforme/ Méthanol / Eau (6.5/1.5/2) (v/v/v)
- **Système 3** : Acétone/Eau (1/1) (v/v).
- **Système 4**: n-Butanol / Acide acétique / Eau (6/1.5/2.5) (v/v/v).
- **Système 5** : Acétate d'éthyle/ Méthanol/ Eau (7/2/1) (v/v/v).
- **Système 6** : Ether de pétrole/ Acétate d'éthyle (8/2) (v/v).

### **5.1.Dépôt des échantillons**

À l'aide d'une micropipette (10 µl) les échantillons à séparer qui sont préalablement solubilisés dans le méthanol (50 mg/ml) sont déposés sur la plaque d'une façon perpendiculaire et linéairement. Plusieurs dépôts successifs du même analyte en même endroit peuvent être effectués, cette pratique permet de concentrer l'analyte (Sine, 2003).

### **5.2.Développement des plaques**

Dans la cuve recouverte et préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié ; Chaque plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée. La phase mobile entraîne par capillarité les échantillons à étudier vers le haut de la plaque (Sine, 2003).

### **5.3.Révélation des plaques**

A l'aide d'un crayon les différents spots sont marqués, et les plaques sont séchées à température ambiante, puis observées sous lumière UV à 254 et 366 nm dans une chambre noire (Marston & Hostettmann, 2006).

Les plaques obtenues sont ensuite révélées par pulvérisation avec :

- Trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) 1% : obtenue par solubilisation du  $\text{AlCl}_3$  dans l'éthanol.

Après pulvérisation, la plaque est séchée à température ambiante

- Trichlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ) 10 % : obtenu après solubilisation du  $\text{FeCl}_3$  dans un mélange méthanol/ eau (1:1).

Après pulvérisation, la plaque est séchée à température ambiante.

#### **5.4.Expression des résultats**

La fluorescence sous UV, la coloration après révélation et le facteur de rétention ( $R_f$ ) ; sont des caractéristiques propres pour chaque spot obtenu à la fin de migration et révélation. Le facteur de rétention ( $R_f$ ) est calculé via l'équation :

$$R_f = d/D$$

Dont : **d**: Distance parcourue par le constituant. **D**: Distance parcourue par le solvant.

#### **6. Dosage des polyphénols totaux (PPT)**

A 100  $\mu\text{L}$  de chaque extrait végétal (2mg/ml), sont ajoutés 500  $\mu\text{L}$  de réactif de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois dans de l'eau distillée. Après 5 minutes en obscurité, on ajoute 1500  $\mu\text{l}$  de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 2%.

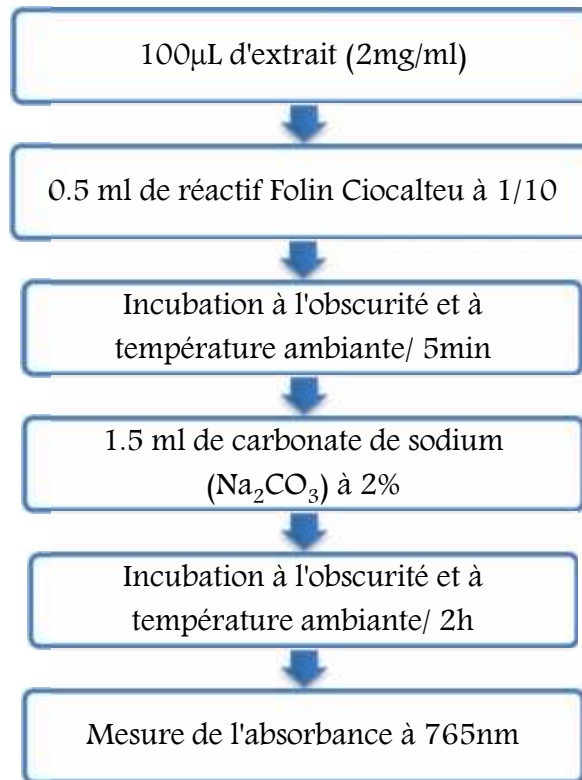
L'absorbance du mélange réactionnel est mesurée à 765 nm contre un blanc, après une incubation pendant 2 heures à une température ambiante et à l'obscurité.

Dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage la courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (50-100-200-300-500  $\mu\text{g/ml}$ ). Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg d'EAG/g) (Singleton & Ross, 1965).

$$\text{Teneur en phénols totaux} = C (V.D / P_s)$$

**C** : concentration des polyphénols en équivalent d'acide gallique déduit de la courbe

**V** : Volume de l'extrait **D** : facteur de dilution **P<sub>s</sub>** : poids de la matière sèche.



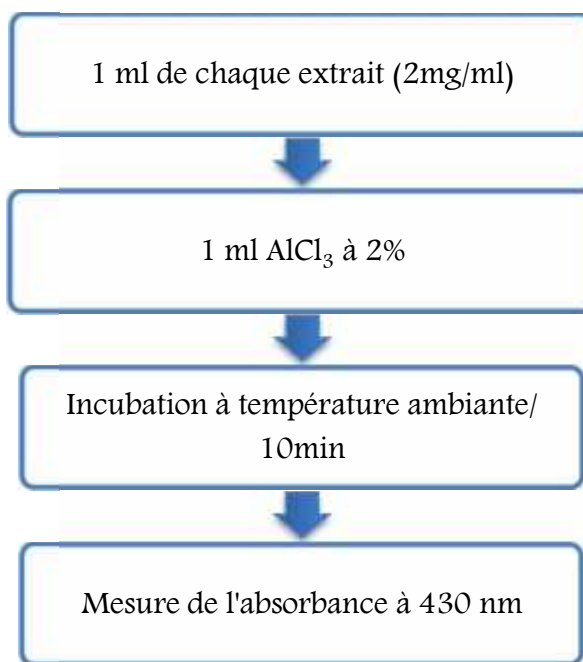
**Figure n°12 :** Dosage des polyphénols totaux  
(Singleton & Ross, 1965)

### 7. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

Des solutions de l'ordre de 0, 20, 30, 40, 50 µg/ml ont été préparées, et une courbe d'étalonnage a été réalisée en utilisant la quercétine.

A un temps initial on ajoute 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans le méthanol) à 1 ml de chaque extrait (2 mg/ml).

L'absorbance de chaque mélange obtenu est mesurée au spectrophotomètre UV visible à 430 nm. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de la quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS) (Djeridane *et al.*, 2006 ; Boudiaf, 2006).



**Figure n°13 :** Dosage des flavonoïdes totaux (Djeridane *et al.*, 2006 ; Boudiaf, 2006).

### 8. Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode de DPPH

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH. L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Benhammou *et al.*, (2007).

Des solutions à différentes concentrations croissantes (0 - 0.5 - 0.75 - 1 - 1.5 - 2 mg/ml) ont été préparées à partir des extraits organiques dissous dans le méthanol à 2 mg/ml.

Une autre série des solutions à différentes concentrations croissantes (1 – 3 – 6 – 9 – 12 mg/ml) ont été préparées à partir des extraits aqueux dissous dans l'eau distillée à 12 mg/ml, et le DPPH à été solubilisé dans le méthanol absolu  $6.10^{-5}M$ ,

50 µl des solutions de différentes concentrations de chaque extrait sont ajoutés à 1950 µl de la solution méthanolique fraîchement préparée du DPPH (0,024 g/l), et le mélange est vortexé.

Le contrôle négatif est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée. Ainsi que le témoin positif, acide ascorbique est préparé dans les mêmes conditions.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 min, et à température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

$$I \% = ((Ac-At)/Ac) * 100$$

**Ac** : absorbance du contrôle négatif      **At** : absorbance du test effectué

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures  $\pm$  standard de déviation

➤ **Calcul des concentrations inhibitrices médianes (IC<sub>50</sub>)**

IC<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice médiane (aussi appelée EC pour Efficient Concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH

Les IC sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

➤ **Calcul de l'activité anti radicalaire**

PAR ou activité anti radicalaire qui est inversement proportionnel à la concentration d'inhibition médiane (IC<sub>50</sub>) (Prakash et *al*, 2007).

$$PAR = 1/ IC_{50}$$

## **9. Etude statistique**

Les expériences sont réalisées en triplicata et les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'écart-type en utilisant Microsoft Excel 2007.

# Deuxième Chapitre: Résultats Et Discussion

### 1. Le taux d'humidité

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 % (Paris et Moyse, 1965). Nous avons utilisé la méthode pondérale pour déterminer la teneur en eau dans la poudre des feuilles sèches de notre plante. C'est la détermination de la perte de masse par dessiccation à l'étuve.

Il apparait selon nos résultats que *Myrtus communis* L. possède une teneur en eau égale à 9.98% puisqu'elle est une espèce à répartition strictement méditerranéenne donc elle n'est pas en besoin du caractère succulent pour résister aux saisons sèches.

Belmimoun, (2015) apporte un pourcentage d'humidité des feuilles fraîches de *M. communis* L. de 63.5%, de la région de Tlemcen, qui est relativement élevée par rapport à la notre. Cette différence réside dans le fait que les feuilles qu'on a utilisé sont déjà séchées. La teneur en eau, inférieure à 10% confère à notre poudre une meilleure conservation à long terme.

D'une manière globale la teneur en eau des plantes est très variable selon l'aire de répartition, les espèces, les organes et les stades végétatifs (Soltner, 2001).

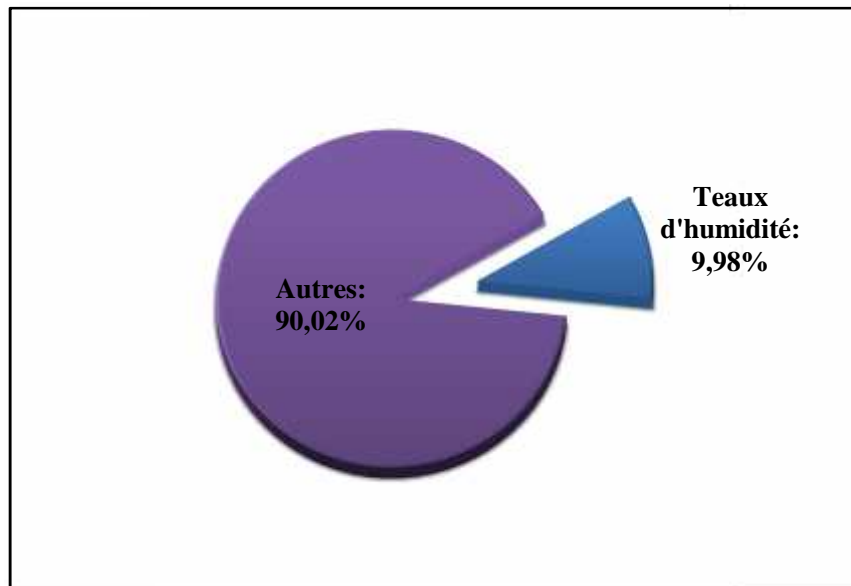


Figure n°14 : Teneur en eau des feuilles sèches de *Myrtus communis* L.

## 2. Rendement d'extraction

La préparation des extraits des feuilles de *Myrtus communis* L. a été effectuée selon la méthode proposée par Bekkara, (2006). Cette extraction est réalisée par l'utilisation d'une série de solvants à polarité croissante (Méthanol Chloroforme Acétate d'éthyle n-Butanol) permettant ainsi la séparation des composés selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extraction.

Pour l'extrait aqueux -1-, c'est le résultat d'une simple infusion à 10%, suivant la méthode de Drissa *et al.*, (2004) ; pour l'extrait aqueux -2-, c'est une décoction à 10%.

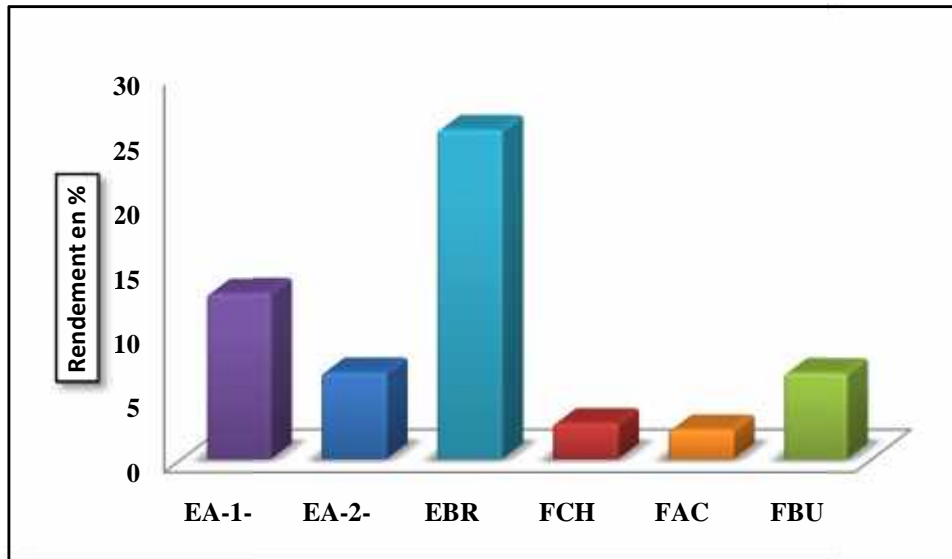
Les procédés d'extraction ont permis d'obtenir six extraits : l'extrait brut Méthanolique (EBR), les extraits aqueux obtenus par infusion (EA-1-), et par décoction (EA-2-), ainsi que les fractions obtenues lors du fractionnement de l'extrait brut; fraction du chloroforme (FCH), fraction acétate d'éthyle (FAC), et la fraction butanolique (FBU).

La couleur, l'aspect ainsi que le rendement de chaque extrait par rapport au poids des feuilles séchées et pulvérisées sont représentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau n°2 :** Rendements et caractéristiques des extraits des feuilles de *Myrtus communis* L.

Extrait	Masse (g)	Aspect	Couleur	Rendement(%)
Aqueux-1-	6,443	Cristaux	Miel	12,89
Aqueux-2-	2.02	Cristaux	Miel	6.73
Méthanolique	25,49	Pâteux	Marron foncé	25,49
Chloroformique	0,551	Poudre	Vert foncé	2,81
Acétate d'éthyle	0,452	Pâteux	Marron clair	2,30
Butanolique	1,314	Pâteux	Marron clair	6,7

Les rendements représentés dans le tableau ci-dessus sont illustrés sous forme d'un histogramme permettant de faire une comparaison entre les rendements des différents extraits des feuilles de *M. communis* L:



**Figure n°15 :** Rendements des extraits des feuilles de *Myrtus communis* L.

D'après ces résultats, nous constatons que l'extrait méthanolique des feuilles de *Myrtus communis* L. enregistre un fort rendement par rapport aux autres extraits (25.49%) ceci a été confirmé par Kanoun, (2011) avec un rendement égale à 25.03%. Pour l'extrait aqueux (décocté) qui dote un rendement de l'ordre de 6.73%, les travaux antérieurs réalisés par Hosseinzadeh et ses collaborateurs en 2011 sur cette espèce ont enregistrés des rendements plus forts (24.50 %), ce dernier présente un rendement faible par rapport à l'extrait aqueux infusé (12.89%). En revanche, le rendement des fractions chloroformique, acétate d'éthyle, et butanolique qui sont de l'ordre de 2.81%, 2.30% et 6.7% respectivement étaient moins élevés par rapport aux autres rendements enregistrés.

D'une manière générale, l'extraction est une étape très importante avant l'analyse quantitative et qualitative proprement dite. Elle est influencée par la méthode d'extraction, le pH, la température, le rapport quantité de matière au volume du solvant, les intervalles de temps, le nombre et les étapes d'extractions individuelles, jouent également un rôle important dans la variation de quantification des extraits obtenus.

### **3. Analyse des extraits des feuilles de *Myrtus communis* L.**

#### **3.1. Analyse qualitative des extraits**

##### **3.1.1. Tests phytochimiques préliminaires**

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits préparés à partir des feuilles de *Myrtus communis* L. en utilisant des solvants de polarité différente et des réactifs spécifiques de révélation. Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilité des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un examen sous la lumière ultraviolette, ou un changement de couleur spécifique où la coloration est proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

La mise en évidence de ces derniers nous permet d'avoir une bonne idée sur les activités pharmacologiques que possède la plante, et les résultats du screening phytochimique réalisé sont représentés dans le tableau n°3. Les résultats du screening phytochimique réalisé montrent la présence des flavonoïdes, alcaloïdes, des tanins catéchiques, des quinones, et des terpénoïdes ainsi que la présence des anthocyanes et les mucilages en faibles quantités ;

- La mise en évidence des flavonoïdes présents avec une intensité importante est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune dans la partie supérieure du tube à essai.
- Les alcaloïdes sont présents à des quantités moyennes, et leur détection est mise en évidence par l'apparition d'un précipité brun ou un précipité blanc jaunâtre
- La détection des quinones présents avec une forte quantité, est mise en évidence par le développement d'une intense couleur rouge-rosâtre.
- Les tanins sont présents avec une intensité importante, leur présence est confirmée par une réaction positive avec le réactif de Stiasny et le chauffage au bain marie en donnant un précipité. Il s'agit donc des tanins catéchiques.
- Le test fortement positif des terpénoïdes nous a montré leur présence avec apparition d'une coloration violette.
- On remarque aussi la présence des mucilages, et des anthocyanes mais avec des quantités faiblement importante, ainsi l'absence totale des coumarines, stérols et triterpènes, des saponosides, d'amidon, des composés réducteurs, et des caroténoïdes.

**Tableau n°3:** Résultats du screening Phytochimique des différents extraits des feuilles de *Myrtus communis* L.

Extrait utilisé	Recherche des		Résultats
Extrait d'acide sulfurique	Alcaloïdes	Mayer	(++)
		Wagner	(++)
Extrait d'acide chlorhydrique	Flavonoïdes		(+++)
Extrait étherique	Coumarines		(-)
	Stéroïls et triterpènes		(-)
Extrait d'acide chlorhydrique	Quinones		(+++)
Extrait méthanolique	Composés réducteurs		(-)
Infusé à 5%	Amidon		(-)
	Saponines	Test de poudre	(-)
		Test d'infusé	(-)
	Tanins	Tanins Catéchiques	(+++)
		Tanins Galliques	(-)
	Terpénoïdes		(+++)
	Anthocyanes		(+)
	Caroténoïdes		(-)
	Mucilages		(+)

- ) Test fortement positif : (+++)
- ) Test moyennement positif : (++)
- ) Test faiblement positif : (+)
- ) Test négatif : (-)

Les travaux antérieurs ont démontré la présence des flavonoïdes, des tanins et des coumarines (Diaz & Abeger, 1987; Hinou *et al.*, 1988; Hyder *et al.*, 2004) ce qui est comparable à nos résultats, à l'exception des coumarines qui sont révélées absents dans notre extrait des feuilles de *Myrtus communis* L. obtenu de la région de Guelma, et ceci est en accord avec l'étude de Kanoun (2011).

De même les tests phytochimiques réalisés par Baytop, (1999) ; Romani *et al.*, (1999) ont montré également que les feuilles de *Myrtus communis* L. contiennent des tanins, des flavonoïdes et des huiles volatiles.

La moyenne teneur en alcaloïdes, et la faible quantité des anthocyanes sont comparables à l'étude de Belmimoun (2015), qui montre la présence des anthocyanes avec une forte teneur et de même pour les alcaloïdes dans l'extrait aqueux ce qui fait la différence avec les autres travaux

La composition chimique d'un végétal varie selon les espèces et au sein même d'une espèce. Elle dépend des conditions de culture (qualité du sol, climat, irrigation, traitements phytosanitaires), et de la période de récolte (précoce ou tardive).

### **3.1.2. Criblage phytochimique par chromatographie sur couche mince**

Pour une caractérisation partielle des différents extraits des feuilles de *Myrtus communis* L., une chromatographie sur couche mince (CCM) a été réalisée.

Dans notre étude, nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince pour les extraits aqueux (1) et (2), l'extrait méthanolique, la fraction chloroformique, acétate d'éthyle et butanolique, sur une plaque de gel de silice en utilisant six systèmes d'élution, la révélation est réalisée par l' $\text{AlCl}_3$ , et l'observation est faite sous lumière ultraviolette.

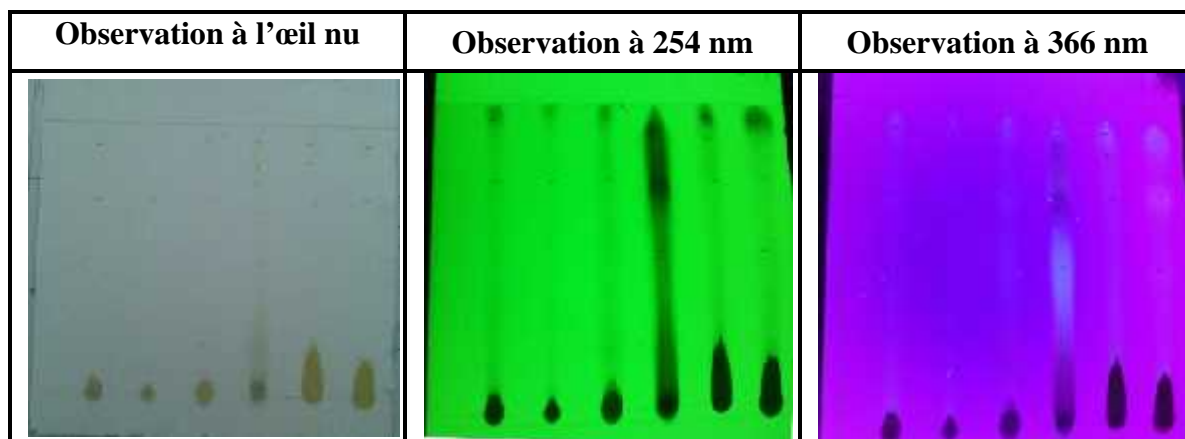
Le système solvant utilisé Acétone/Eau (v/v) a permis d'obtenir une très bonne séparation chromatographique des extraits polaires, selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. Les résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits sont reportés dans le tableau n°4

**Tableau n°4** : Résultats de la chromatographie sur couche mince des extraits de *Myrtus communis* L. Acétone/Eau (V/V), gel de silice.

<b>Extrait</b>	<b>Rapport Frontal (Rf)</b>	<b>Couleurs des spots (UV à 365 nm)</b>	<b>Suggestion des classes des flavonoïdes (Markham, 1982)</b>
<b>EA -1-</b>	0.92	Jaune	Flavonols
	0.72	Violet	Flavonols, ou Flavonones, ou Isoflavones, ou Flavones
<b>EA -2-</b>	0.72	Violet	Flavonols, ou Flavonones, ou Isoflavones, ou Flavones
<b>EBR</b>	0.93	Rouge	Anthocyanidine-3-glucoside
	0.72	Violet	Flavonols, ou Flavonones, ou Isoflavones, ou Flavones
	0.97	Jaune	Flavonols
<b>FCH</b>	0.95	Rouge	Anthocyanidine-3-glucoside
	0.85	Bleu pale	Acide phénol
	0.68	Rouge	Anthocyanidine-3-glucoside
	0.49	Jaune	Flavonols

	0.21	Violet	Flavonols, ou Flavonones, ou Isoflavones, ou Flavones
	0.19	Bleu vif	Hydroquinones
<b>FAC</b>	0.93	Violet	Flavonols, ou Flavonones, ou Isoflavones, ou Flavones
	0.87	Vert	Rutine
	0.71	Bleu pale	Acide phénol
<b>FBU</b>	0.95	Violet	Flavonols, ou Flavonones, ou Isoflavones, ou Flavones
	0.73	Violet	Flavonols, ou Flavonones, ou Isoflavones, ou Flavones
	0.48	Bleu pale	Acide phénol

Les chromatogrammes obtenus lors du criblage phytochimique par CCM sont illustrés dans la figure n° 16.



**Figure n°16 :** Photos des chromatogrammes résultants de l'analyse des extraits par CCM (dans le système solvant : Acétone-Eau (V/V)).

D'après les suggestions des classes des flavonoïdes proposées par (Markham, 1982 ; Riov & Gottlieb, 2006) ; l'identification des composés phénoliques de notre plante nous a permis de mettre en évidence la présence de l'un de ces quatre composants; flavones, flavonones ou les isoflavones en plus des flavonols, et l'anthocyanidine -3-glucoside dans l'extraits méthanolique. De même pour l'extrait aqueux (1) et (2), à l'exception de l'anthocyanidine -3-glucoside.

Pour la fraction chlorformique ; elle est constituée des flavones, flavonones, ou isoflavones en plus des flavonols, hydroquinones, l'anthocyanidine -3-glucoside et l'acide phénol, alors que la fraction acétate d'éthyles est composée des flavones, flavonones, isoflavones, ou flavonols, la rutine et l'acide phénol.

Et finalement, la fraction butanolique qui est composée des flavones, flavonones, flavonols, ou isoflavones, et l'acide phénol.

Nous avons remarqué en particulier que certains flavonoïdes étaient très répandus chez la plante étudiée comme les flavones, flavonones, flavonols, isoflavones par la présence abondante des taches violettes ce qui est confirmé par l'étude faite par Belmimoun, (2015).

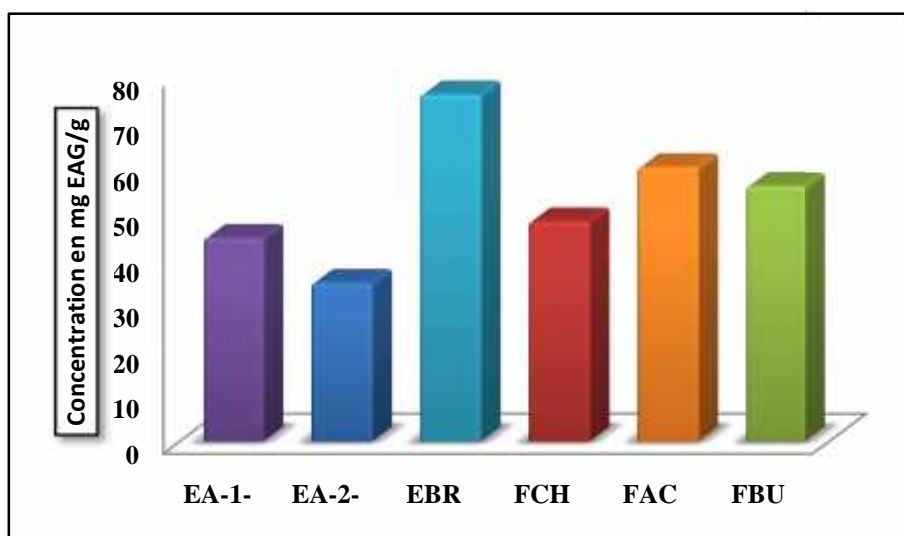
En effet, ces molécules pouvaient être présentes sous différentes formes (aglycones ou avec substitutions), soit chacune dans une plante, soit plusieurs formes dans la même plante (Markham, 1982 ; Zedde, 2009).

A titre comparatif, les extraits polyphénoliques de *M. communis* sont plus riches en composés phénoliques (15 spots) que ceux des extraits aqueux (3 spots), ces résultats ont été confirmés en aval par le dosage des polyphénols et l'activité antioxydante.

### 3.2. Analyse quantitative des extraits

#### 3.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode colorimétrique adaptée de Singleton & Ross (1965) avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus (Figure n°17) sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale sèche (mg EAG/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique.



**Figure n°17 :** Teneur en polyphénols totaux pour les différents extraits des feuilles de *M. communis. L*

D'après l'histogramme illustré ci-dessus, nous avons remarqué une variabilité des teneurs en phénols totaux, où la teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait méthanolique (75.91 mg EAG/g), la fraction d'acétate d'éthyle et la fraction butanolique, avec des valeurs de l'ordre de (60 et 55.9 mg EAG/g respectivement), et la plus faible teneur est celle de la fraction chloroformique (48.18 mg EAG/g). Alors que l'extrait aqueux obtenu par infusion possède une teneur plus élevée que l'extrait aqueux décocté,

L'étude faite par Kanoun, (2011) a montré une teneur en PPT d'extrait méthanolique des feuilles égale à  $119,23 \pm 0,77$  mg EAG/g, et la recherche de Belmimoun, (2015) a obtenue un résultat supérieur à ce dernier ( $200,41 \pm 1$  mg EAG/g), ce qui est considéré comme une teneur largement supérieure à celle de notre travail.

Pour l'extrait aqueux Belmimoun, (2015) a trouvé une teneur en PPT égale à  $121,23 \pm 0,77$  mg EAG/g, ce qui n'est pas comparable à nos résultats (44.55 mg EAG/g).

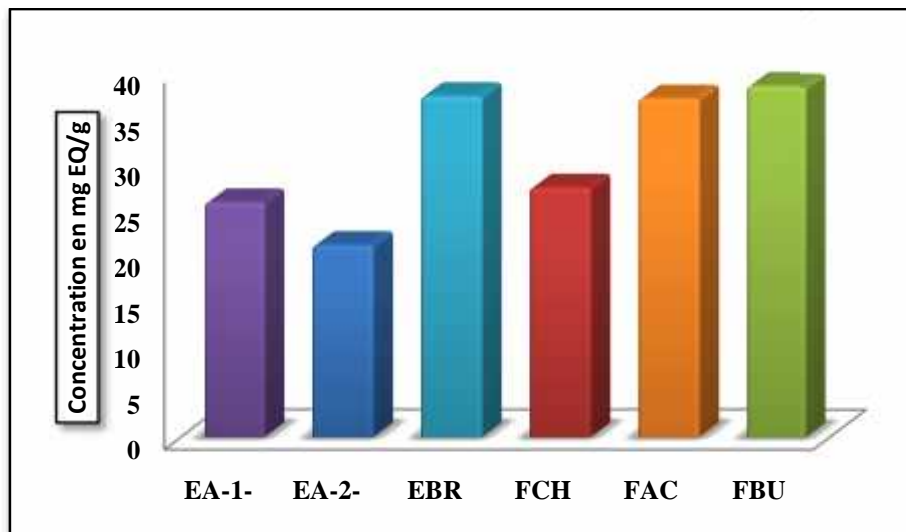
La variabilité des résultats est due à la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu qui est l'inconvénient principal du dosage colorimétrique. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tout les groupes hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines etc. (Vuorela, 2005 ; Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

Le solvant d'extraction emporte des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique (Djeridane *et al.*, 2006). Le dosage par ce réactif donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait. Il n'est pas spécifique aux polyphénols, mais beaucoup de composés peuvent réagir avec le réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (Tawaha *et al.*, 2007).

En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Falleh *et al.*, 2008 ; Podsedek, 2007).

### 3.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par une méthode spectrophotométrique, dont la quercétine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une droite d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différents extraits des feuilles de myrte qui est exprimée en mg équivalent de quercétine par gramme de matière végétale sèche (mgEQ/g) (Figure n° 18)



**Figure n°18 :** Teneur en flavonoïdes pour les différents extraits des feuilles de *M. communis* L.

D'après l'histogramme illustré ci-dessus, nous avons observé des teneurs rapprochées en flavonoïdes dans les extraits méthanolique, fraction d'acétate d'éthyle et butanolique, elles représentent des valeurs de  $37.3 \pm 0.173$ ,  $37.03 \pm 0.105$ , et  $38.42 \pm 0.418$  mg EQ/g respectivement. Les teneurs les plus basses ont été obtenues avec l'extrait aqueux- 2- avec une valeur proche à  $21.03 \pm 0.159$  mg EQ/g.

L'étude faite par Belmimoun, (2015) a montré que l'extrait aqueux des feuilles a une teneur en FVT égale à  $7,256 \pm 0,57$  mg EQ/g qui n'est pas similaire à notre résultat ( $25.7 \pm 0.089$  mg EQ/g)

Pour l'extrait méthanolique, les travaux faits par Kanoun, (2011) et Belmimoun, (2015) ont montrés des teneurs en FVT de l'ordre ( $6,56 \pm 0,57$  et  $22,423 \pm 0,12$  mg EQ/g), qui sont inférieures à celle de notre étude ( $37.3 \pm 0.173$  mg EQ/g)

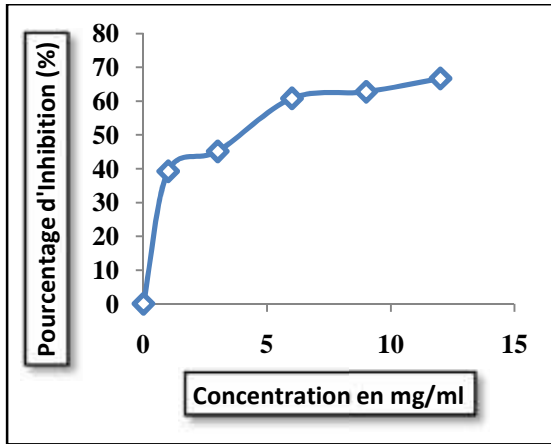
#### **4. Évaluation de l'activité antioxydante de DPPH**

Le radical DPPH' est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*, 2008). L'activité antioxydante est déterminée par la diminution de l'absorbance d'une solution alcoolique de DPPH' à 515 nm, qui est due à sa réduction à une forme non radicalaire DPPH-H par les antioxydants (AH) donateurs d'hydrogènes présent dans l'extrait végétal ou par une autre espèce radicalaire (Maisuthisakul *et al.*, 2007 ; Da Silva Pinto *et al.*, 2008).

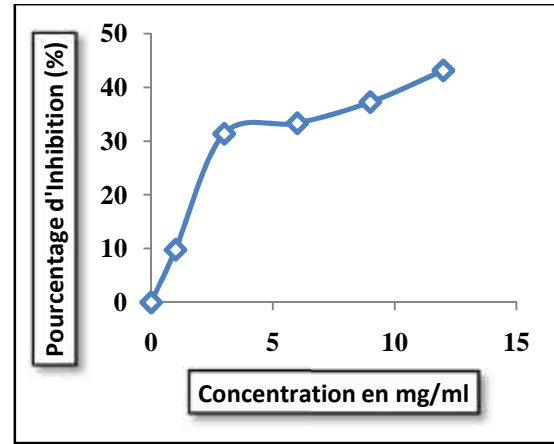
Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydante des différents extraits des feuilles de myrte afin de préjuger et localiser la fraction possédant le plus fort pouvoir antioxydant.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes à partir desquelles nous pouvons déterminer les pourcentages d'inhibition (PI%) obtenus en fonction des concentrations utilisées, ainsi la valeur de la concentration inhibitrice ( $IC_{50}$ ), et l'activité antiradicalaire (PAR) de chaque extrait.

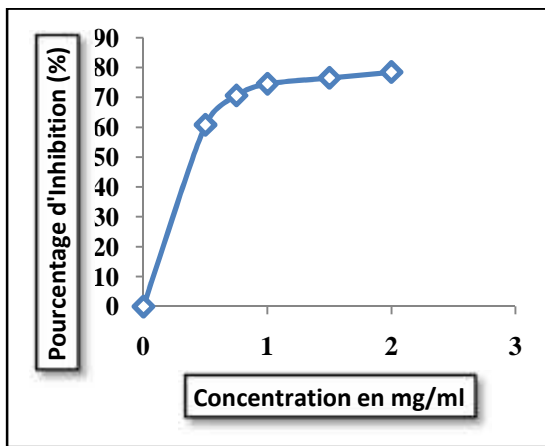
Les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits sont représentés dans les graphes ci-après (figure n°19) :



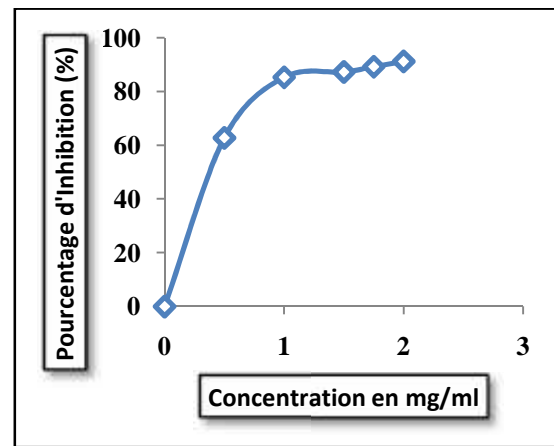
(A). Pourcentage d'inhibition d'EA -1-



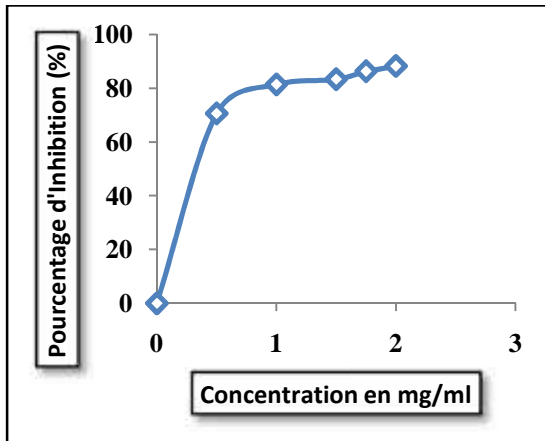
(B). Pourcentage d'inhibition d'EA -2-



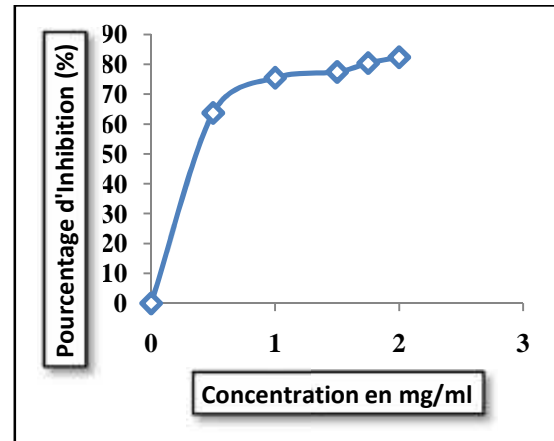
(C). Pourcentage d'inhibition d'EBR



(D). Pourcentage d'inhibition de la FAC



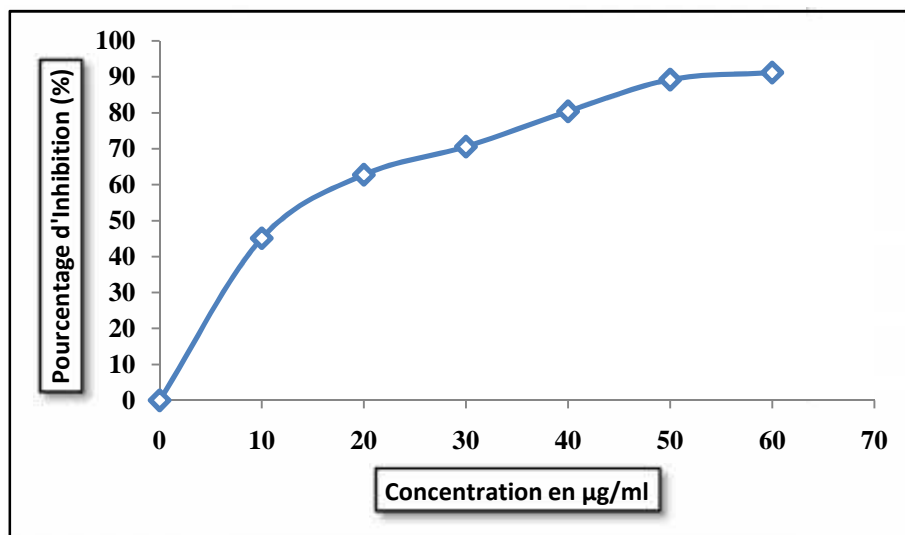
(E). Pourcentage d'inhibition de la FBU



(F). Pourcentage d'inhibition de la FCH

**Figure n°19:** Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour les différents extraits des feuilles de *Myrtus communis L.*

Les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour le contrôle positif (Acide Ascorbique), sont représentés dans le graphe ci-après (figure n°20) :



**Figure n°20:** Pourcentages d'inhibition du DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour l'acide ascorbique.

D'après les résultats ci-dessus, on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente significativement avec l'augmentation de la concentration, et les taux d'inhibition du DPPH enregistrés en présence des différents extraits de la plante sont inférieurs à ceux du standard.

La fraction d'acétate d'éthyle, la fraction butanolique, la fraction chloroformique et l'extrait brut ont montré un pouvoir croissant de piégeage du radical DPPH<sup>•</sup>, ce pouvoir est plus important par rapport aux extraits aqueux, ceci est démontré par l'allure des graphes de ces derniers qui est inférieure à celles des autres extraits, et qui trace une courbe exponentielle avec la présence d'une phase stationnaire définissant la réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire.

#### ➤ Calcul des IC<sub>50</sub>

La concentration inhibitrice médiane (IC<sub>50</sub>) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre à 50%. Plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée (Pokorny *et al.*, 2001).

Les concentrations des échantillons nécessaires pour inhiber 50% du DPPH radicalaire, ont été calculées par régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction de différentes concentrations des différents extraits.

Les valeurs des IC<sub>50</sub> trouvées pour tous les extraits testés sont représentées dans le tableau n°5.

**Tableau n°5 : Valeurs des IC<sub>50</sub> trouvées pour les extraits des feuilles de la plante**

<b>l'extrait testé</b>	<b>EA -1-</b>	<b>EA -2-</b>	<b>EBR</b>	<b>FCH</b>	<b>FAC</b>	<b>FBU</b>	<b>AA</b>
<b>IC<sub>50</sub> mg/ml</b>	6.14	12.68	0.65	0.74	0.64	0.62	0.002

En comparant les IC<sub>50</sub> des différents extraits testés par rapport à celle de l'acide ascorbique, nous avons remarqué que l'acide ascorbique présente une valeur de IC<sub>50</sub> largement inférieure aux autres extraits. L'extrait brut ainsi que les autres fractions présentent des IC<sub>50</sub> rapprochées, alors que celles des extraits aqueux sont largement supérieures.

L'acide ascorbique présente la plus petite concentration inhibitrice (0.02 mg/ ml), suivie par la fraction butanolique, (0.62 mg/ ml) qui est supérieure à celle trouvée par Kanoun, (2011) (0,21 mg/ ml), après la fraction d'acétate d'éthyle (0.64 mg/ml) qui est supérieure à la concentration mentionnée dans l'étude de Kanoun en 2011 (0,098 mg/ml), et l'extrait méthanolique par une concentration de l'ordre de (0.65 mg/ml) qui est presque égale à celle trouvée dans la recherche de Touaibia et Chaouch en 2012 (0.69 mg/ml).

Alors que les extraits aqueux présentent des concentrations plus grandes que les autres concentrations, mais l'extrait obtenu par infusion présente une concentration inférieure à celle de l'extrait obtenu par décoction (6.14 – 12.68 mg/ml respectivement).

➤ **Calcul de la PAR :**

Un autre paramètre calculé à partir de la concentration efficace, c'est l'activité anti radicalaire. Plus ces valeurs ne tendent pas et s'éloignent du zéro, plus la puissance antioxydante augmente. Les valeurs de l'activité antiradicalaire sont rapportées dans le tableau n°6.

**Tableau n°6 : Valeurs des PAR trouvées pour les extraits des feuilles de la plante**

L'extrait testé	EA -1-	EA -2-	EBR	FCH	FAC	FBU	AA
<b>PAR</b>	0.16	0.079	1.54	1.35	1.56	1.61	50

En comparant les valeurs de l'APR des différents extraits testés, nous avons remarqué une grande activité antiradicalaire pour le standard égale à 50, ainsi que les fractions butanolique et d'acétate éthyle présentent aussi une bonne activité antiradicalaire.

L'acide ascorbique est 32 fois plus actif que l'extrait méthanolique, et 30 fois plus actif que la fraction butanolique

Les extraits peuvent être donc classés par ordre croissant de l'activité antiradicalaire, comme suit :

$$AA > FBU > FAC > EBR > FCH > EA -1- > EA -2-$$

Il est évident que la forte activité des extraits, acétate d'éthyle et méthanolique est attribuée à leur richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins.

L'extrait butanolique possède la plus forte teneur en flavonoïdes, suivi par l'extrait méthanolique et l'extrait d'acétate d'éthyle. Une étude faite par Kang *et al.* (2003) a suggéré que les molécules polaires présentes dans les extraits végétaux contribuent à l'augmentation de l'activité antiradicalaire.

Dans cette méthode, la décoloration du DPPH en présence de l'antioxydant est réalisée en acceptant un électron ou un atome d'hydrogène cédé par un composé antioxydant Apostolou *et al.*, (2013). Ainsi, la forte capacité d'élimination de l'extrait de *M. communis* est peut-être dû à la capacité d'hydrogène / donneur d'électrons des composés polyphénoliques présents dans cet extrait, ce qui les dotent d'un bon antioxydant agissant comme inhibiteur des radicaux libres.

L'activité antioxydante des extraits dépend essentiellement du taux des polyphénols accumulés durant le cycle végétatif de la plante. Les travaux de Gardeli *et al.*, (2008) ont également démontré que les extraits de *M. communis* L. récoltés en période estivale sont les plus antioxydants.

*conclusion Générale  
Et Perspectives*

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs, connues par leurs propriétés thérapeutiques. Le présent travail avait pour but la recherche des métabolites secondaires, la détermination de la teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes, ainsi que l'activité antioxydante correspondante des extraits (EA, EBR, FCH, FAC et FBU) des feuilles de *Myrtus communis* L. de la région de Guelma.

Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante en métabolites secondaires, où nous avons constaté la présence des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes et des terpénoïdes ainsi que la présence des quinones dans les feuilles de la plante. L'analyse chromatographique sur couche mince montre que le Myrtus contient principalement de flavonoïdes de types flavone, flavonol, flavonone et isoflavone.

Les rendements des extraits réalisés sur les feuilles de la plante sont relativement importants. Pour l'extrait brut, le rendement est le plus élevé suivi par celui de l'extrait aqueux infusé. Les différentes fractions obtenues ont les rendements les plus petits.

L'analyse quantitative montre que la teneur des phénols totaux la plus élevée est constatée dans l'extrait brut méthanolique, ainsi que les fraction d'acétate d'éthyle et butanolique.

L'extrait aqueux obtenu par infusion possède une teneur en PPT plus élevée par rapport à l'extrait aqueux décocté, ce qui permet de conclure que le traitement thermique conduit à la destruction des composés bio-actifs.

Concernant les flavonoïdes, nous avons observé des teneurs élevées et rapprochées dans l'extrait brut méthanolique, et les fractions buanolique et acétate d'éthyle.

La présence des flavonoïdes dans nos extraits est mise en évidence par un essai de caractérisation par CCM, l'analyse effectuée a montré la présence principalement de flavonoïdes de types flavone, flavonol, flavonone et isoflavone.

Effectivement, le test au DPPH révèle que ces trois extraits sont les plus actifs comme piègeurs du radical DPPH dont l'extrait (FBU) qui est le plus riche en composés phénoliques et principalement les flavonoïdes, présente l'effet antiradicalaire le plus puissant suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle, alors que les deux extraits aqueux et l'extrait méthanolique, ont montré une activité antiradicalaire faible par rapport à IC<sub>50</sub> de l'acide ascorbique.

Ce qui confirme les propriétés puissantes que possèdent les flavonoïdes à piéger les radicaux libres.

Enfin, Nous pensons montrer à travers ce travail que les plantes constituent un réservoir très intéressant pour la recherche dans le futur, l'ensemble de ces résultats obtenus in-vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances et source naturelle biologiquement active. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

*Références  
Bibliographiques*

**-A-**

- Adly, A. (2010). Oxidative stress and disease: An updated review. *Research Journal of Immunology*. 3:129-145.
- Aidi Wannes, WA., & Mhamdi, B., & Sriti, J., & Jemia, MB., & Ouchikh, O., & Hamdaoui, G., & Kchouk, ME., & Marzouk, B. (2010). Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food Chem Toxicol*; 48:1362–70.
- Akin, M., & Aktumsek, A., & Nostro, A. (2010). Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *Afr J Biotechnol*; 9(4):531–5.
- Aleksic, V., & Knezevic, P. (2014). Antimicrobial and antioxidant activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological research* 169:240–54.
- Alipour, G., & Dashti, S., & Hosseinzadeh, H. (2014). Review of pharmacological effects of *Myrtus communis* L. and its active constituents.
- Amensour, M., & Sendra, E., Abrini, J., & Bouhdid, S., & Pérez-Alvarez, JA., & Fernández-López, J. (2009). Total phenolic content and antioxidant activity of myrtle (*Myrtus communis*) extracts. *Nat Prod Commun*;4(6):819–24.
- Apostolou, A., & Stagos, D., & Galitsiou, E., & Spyrou, A., & Haroutounian, S., & Portesis, N., et al. (2013). Assessment of polyphenolic content, antioxidant activity, protection against ROS-induced DNA damage and anticancer activity of *Vitis vinifera* stem extracts. *Food Chem Toxicol*. 61: 60-68.

**-B-**

- Badiaga M, (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako.10 p.
- Baytop, T. (1999). Therapy with medicinal Plants in Turkey (Past and Present), *Nobel Tıp Kitapevleri Press*, Istanbul.
- Bekkara, F., & Jay, M., & Viricel, M.R. (1998). Distribution of phenolic compounds within seed and seedlings of tow *Vicia faba* cvs differing in their seedtannin content, and study of their seed and root phenolic exudation, *Journal Plant and Soil*, 203: 27-36.

- Belmimoun, A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales. Mémoire de doctorat en Sciences Biologiques.
- Ben Rhouma-Martin, G. (2013). Oligomérisation enzymatique de flavonoïdes et évaluation des activités biologiques des oligomères synthétisés. Thèse de doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires.
- Benaissa O, (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique. Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. 63p.
- Benhammou, N., & Atik Bekkara, F., & Kadifkova, P. (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf . *Advances in Food Sciences*. pp 29(3) .155-161.
- Bhooshan Pandey, K., & Rivzi, S.I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2(5):270–278.
- Boubacar, S.A. (2005). Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Combretum glutinosum* Perr.ex DC (Combretacea), Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Bamako, Mali.
- Boubekri, C. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Mémoire de doctorat en sciences, université Mohamed Khider, Biskra.
- Boudiaf, K. (2006). Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif.
- Boutakiout, A. (2015). Etude physico-chimique, biochimique et stabilité d'un nouveau produit : jus de cladode du figuier de Barbarie marocain (*Opuntia ficus-indica* et *Opuntia megacantha*).Ingénierie des aliments. Université d'Angers; Université Sultan Moulay Slimane (Maroc).
- Bouzid, M.A. (2014). Exercice physique, marqueurs antioxydants et peroxydation lipidique: effets de l'âge et du niveau d'aptitude physique. Thèse de doctorat en physiologie, université de Lille 2, Lille.
- Boyer,F. (2016). Stress oxydant et pathologie diabétique : impact de l'hyperglycémie et de l'albumine glyquée sur les cellules cardiaques et adipeuses. Médecine humaine et pathologie. Université de la Réunion.

- Bozin, B., & Mimica-Duric, N., & Samojlik, I., & Goran, A., & Igic, R. (2008) . Phenolics as antioxydants in garlic (*Allium sativum* L. Alliaceae).

**-C-**

- Cannas, S., & Molicotti, P., & Ruggeri, M., & Cubeddu, M., & Sanguinetti, M., & Marongiu, B., & Zanetti, S. (2013). Antimycotic activity of *Myrtus communis* L. towards *Candida spp.* from clinical isolates. J Infect Dev Ctries; 7(3):295–8.
- Chahine, N. (2014). Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la doxorubicine en condition ischémique. Thèse en cotutelle de Docteur en physiopathologie, Université de Reims Champagne-Ardenne et l'Université Libanaise.
- Chidouh, A. (2013). Caractérisations chimiques et physico-chimiques des extraits hydrosolubles du myrte (*Myrtus communis*). Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée.
- Corona, G. (2011). Seaweed polyphenols: bioavailability and Healthy benefits. Bioactive from Seaweed, and Innovative Ingredients in Salt Reduction, p 5.
- Coste, H. (1937). Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes. Tome 2, taxon n°1275. Paris : Librairies des Sciences et des Arts, p. 75.

**-D-**

- Da Silva Pinto, M., & Maria, Lajolo F., & Innes Genovese, M. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananasa* Duch). *Food Chemistry* . p107: 1629-1635.
- Debussche, M., & Cortez, J., & Rimbault I. (1987). Variation in fleshy fruit composition in the Mediterranean region: the importance of ripening season, life-forme, fruit type and geographical distribution. *Oikos*, vol. 49 (3): 244-252.
- Diaz, A.M., & Abeger, A. (1987). Contribution à l'étude des composés phénoliques des graines de *Myrtus communis* L. *Plantes médicinales et phytothérapie*, 21(4):317-322.
- Diharce, J.(2014). Etude par modélisation moléculaire de systèmes multienzymatiques impliqués dans la biosynthèse des flavonoïdes. Autre. Université Nice Sophia Antipolis.

- Dizdaroglu, M., & Jaruga, P. (2012). Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res* : 46:382-419.
- Djeridane, A., & Yous, M., & Nadjemi, B., & Boutassouna, D., & Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem.* 97: 654 -660
- Djeridane, A., & Yous, M., & Nadjemi, B., & Boutassouna, D., & Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian compounds. *Food Chem. medicinal plants extracts containing phenolic.* 97: 654-60.

**-F-**

- Falleh, H., & Ksouri, R., & Chaieb, K., & Karray Bouraoui, N., & Trabelsi, N., & Boulaaba, M., & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies.* 331: 372-379.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique* : 108-115.
- Franceschini, P. (2016). *Myrtus communis* L. en Corse et en Méditerranée : de sa composition chimique jusqu'à ses utilisations thérapeutiques. *Sciences pharmaceutiques.*

**-G-**

- Gardeli, C., & Papageorgiou, V., & Mallouchos, A., & Theodosis, K., & Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts, *Food Chemistry*, **107**, 1120-1130.
- Ghnimi, W. (2015). Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Université de Lorraine.
- Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. France, Paris: Springer-Verlag. Pp. 313-318
- Gómez-Caravaca, A.M., & Gómez-Romero, M., & Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2006). Advances in the analysis of

phenolic compounds in products derived from bees. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 41: 1220- 34.

- Gravot, A. (2008). Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. Équipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR 118 APBV. Université de Rennes 1 – L2.

**-H-**

- Haleng, J., & Pincemail, J., & Defraigne, J.O., & Charlier,C., & Chapelle, J.P. (2007). Le stress oxydant/ Rev Med Liege. 62 (10): 628-638
- Harborne, J.B. (1980). Secondary Plant Products. Encyclopedia of Plant Physiology, Vol 8,Bell EA, Charlwood BV, eds, Springer-Verlag, Berlin, 1980,pp.329- 402. In: Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Macheix, J.J., Fleriet, A., Christian, A. 2005. PPTUR Lausanne
- Harrar, A. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. mémoire de magister en Biochimie et physiologie expérimentale.
- Hierso,R.(2015). Implication du stress oxydant dans la physiopathologie de la drepanocytose : crises vaso-occlusives, taux d'anticorps anti-bande 3 et oxydation du globule rouge. mémoire de doctorat en sciences de la vie, université des Antilles et de la Guyane.
- Hinou , J., & Lakkas, N., & Philianos, S. (1988). Les constituants polyphénoliques de *Myrtus communis* L, Plantes médicinales et phytothérapies 22:98 –103.
- Hyder, N., & Abdelwahed, A., & Kilani, S., & BenAmmar, R., & Mahmoud, A., & Ghedira, K., & Chekir-Ghedira, L. (2004). Anti-genotoxicand free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis*, 564:89 –95.

**-J-**

- Johnson, R.J., & Sautin, Y.Y., & Oliver, W.J., & Roncal, C., & Mu, W., & Gabriela Sanchez-Lozada, L., & Rodriguez-Iturbe, B., & Nakagawa, T., & Benner. SA. (2009). Lessons from comparative physiology: could uric acid represent a physiologic alarm signal gone awry in western society? J Comp Physiol B. : 179:67-76.

**-K-**

- Kang, H.G., & Chun, O.K., & Kim, D.O., & Moon, H.Y., & Lee, C.Y. (2003). Contribution of individual polyphenolics to total antioxidant capacity of plums. *J. Agric. Food Chem*, 51, 7240-7245.
- Kanoun, K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magistère en Biologie. Université de Tlemcen.
- Kansole M, (2009). Etude ethnobotanique, phytocuimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia oppossta vahl* et *Orthosiphon pallidus royle ex benth*. Mémoire (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.
- Krief S, (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.

-L-

- Li, H.B., & Cheng, K.W., & Wong, C.C., & Fan, K.W., & Chen, F., & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chem*; **102**: 771-776.
- Lobstein, A. (2010). Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, pp 3-25.

-M-

- Maghzal, GJ., & Krause, KH., & Stocker, R., & Jaquet, V. Detection of reactive oxygen species derived from the family of NOX NADPH oxidases. *Free Radic Biol Med*. 2012 : 53:1903-1918.
- Mahboubi, M., & Ghazian Bidgoli, F. (2010). In vitro synergistic efficacy of combination of amphotericin B with *Myrtus communis* essential oil against clinical isolates of *Candida albicans*. *Phytomedicine*, 17, p771-774.
- Maisuthisakul, P., & Suttajit, M; & Pongsawatmmit, R. (2007). Assessment of phenolic content and free radical scavenging capacity of some that indigenous plants . *Food Chemistry*. P 100:1409-1418.
- Malbert, Y. (2014). Flavonoid glucodiversification with engineered sucrose-active enzymes. *Biotechnology*.

- Marinho, H.S., & Real, C., & Cyrne, L., & Soares, H., & Antunes, F. (2014). Hydrogen peroxide sensing, signaling and regulation of transcription factors. *Redox Biol.* 23(2):535–62.
- Markham, K. R. (1982). Techniques of flavonoids identification, Academic press, London. Chap. 1 and 2: 1-113.
- Marston, A., & Hostettmann, K. (2006). Separation and Quantification of Flavonoids. In *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*, O.M. Andersen, K.R. Markham, Eds. CRC Press: pp 1-36.
- Mauro N, (2006). Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs: la (+)-anatoxine-a et la (±)- camptothécine. Thèse de docteur en chimie, université Joseph Fourier Grenoble I: 15-16.
- Merabet, C., & Menaifi, H. (2015). Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante et anti-inflammatoire de l'espèce: *Myrtus communis* L.
- Moradi, M.T., & Karimi, A., & Rafieian, M., & Kheiri, S., & Saedi, M. (2011). The inhibitory effects of myrtle (*Myrtus communis*) extract on Herpes simplex virus-1 replication in baby hamster kidney cells. *J Shahrekord Univ Med Sci*, 12, 54-61.
- Muhammad, D. (2013). Étude phytochimique et biologique des trois alphitonia (*rhamnaceae*) endemiques a la nouvelle-caledonie. Mémoire de doctorat en pharmacie. Université de Reims Champagne, Ardenne.
- Pessel, F. (2013). Synthèse éco-compatible de flavonoïdes fonctionnalisées par le glucose comme antioxydants potentiels. Autre. Université Paris Sud - Paris XI.
- Pokorny, J., & Korczak, J. (2001). Preparation of natural antioxidant, in *Antioxidants in Food: Practical Applications*, 1st ed., Pokorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M., Eds., Woodhead Publishing Limited, Abington, Cambridge, England, pp. 311-330.
- Procházková ,D., & Boušová, I., & Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia* 82, 513–523.
- Qaraaty, M., & Kamali, S-H., & Dabaghian, F.H., & Zafarghandi, N., Mokaberinejad, R., & Mobli, M., & Amin, G., & Naseri, M., & Kamalinejad, M., & Amin, M., & Ghaseminejad, A., & Khabiri, S.H., & Talei, D. (2014). Effect of myrtle fruit syrup on abnormal uterine bleeding: a randomized double blind, placebo-controlled pilot study. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, p22-45

-Q-

- Quezel, P., & Santa, S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II Edition. CNRS. Paris. P 636- 637.

-R-

- Raffauf, R.F. (1996). Plant Alkaloids: A Guide to their Discovery and Distribution; Ed: FOOD Products Press., 189-190.
- Rakotonanahary M, (2012). Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. p16, 19, 27, 28.
- Renault-Roger, C., & Philogene, B.J.R., & Vincent, C. (2002). Biopesticides d'origine végétale. Edition Tec & doc, p.337.
- Romani, A., & Pinelli, P., & Mulinacci, N., & Vincieri, F.F., & Tattini, M. (1999). Identification and quantitation of polyphenols in leaves of *Myrtus communis* L., Chromatographia ; 49, 17-20.

-S-

- Sadowska-Bartosz, I., & Galiniak, S., & Bartosz, G. (2014). Polyphenols protect against protein glycoxydation. Free Radic Biol Med. 75 Suppl 1:S47.
- Schrader, M., & Fahimi, HD., (2006). Peroxisomes and oxidative stress. Biochim Biophys Acta BBA -Mol Cell Res. 1763(12):1755–66.
- Sears, B., & Ricordi, C. (2012). Role of fatty acids and polyphenols in inflammatory gene transcription and their impact on obesity, metabolic syndrome and diabetes. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 16(9):1137–54.
- Sine, J.P. (2003). Séparation et analyse des biomolécules: méthodes physicochimiques cours et exercices. Ellipses editions marketing, pp 99-101.
- Soltner, D. (2001) .Les bases de la production végétale : Tome 3 ; la plante et son amélioration, Science et techniques agricoles, P303.
- Sumbul, S., & Aftab Ahmad, M., & Asif, M., & Akhtar, M. (2011). *Myrtus communis* Linn. - A review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2, 395-402.

-T-

- Tabatabaei-Malazy, O., & Nikfar, S., & Larijani, B., & Abdollahi, M. (2015). Influence of Ascorbic Acid Supplementation on Type 2 Diabetes Mellitus in Observational and Randomized Controlled Trials; A Systematic Review with Meta-Analysis. *J Pharm Pharm Sci.* 1;17(4):554–82.
- Tawaha, K., & Alali, F. Q., & Gharaibeh, M., & Mohammad, M., & El-Elimat, T. (2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chem.* 104: 1372-1378.
- Touaibia, M., & Chaouch, F. (2013) .Pouvoir antioxydant des extraits de *Myrtus communis* L. obtenus in situ et in vitro, *Nature and Technology Journal*
- Trease, E., & Evans, W.C .(1987). *Pharmacognosie, Billiaire Tindall.* London 13 th Edition. P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pomme). *Journal of Medicine and scintific.* 4(3), 179-182. Nigeria. ISSN 1682-4474.
- Tuberoso, C. I. G., & Rosa, A., & Dessì, M. A *et al.* (2010). Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts. *Food Chemistry,* 123,1242-51.

-V-

- Vuorela, S. (2005). Analysis, isolation and bioactivities of rapeseed phenolics. Ed. University of Helsinki, Helsinki, p. 76

-W-

- Winterbourn, CC., & Kettle, AJ. (2013). Redox reactions and microbial killing in the neutrophil phagosome. *Antioxid Redox Signal.* 18(6):642-60.

-Y-

- Yezza, S., & Bouchama, S. (2013). Index des métabolites secondaires végétaux
- Yoshimura, M., & Amakura, Y., & Tokuhara, M., & Yoshida T. (2008). Polyphenolic compounds isolated from the leaves of *Myrtus communis*, *Journal of Natural Medicines,* 62, 366-368

**-Z-**

- Zedde, C. (2009). La purification dans le laboratoire de synthèse, service HPLC spcmib/ict/pict toulouse III.

*Les Annexes*

**Annexe n°1 : Réactifs de caractérisation****➤ Réactif de Stiasny**

A 10 ml de formol à 40%, ajouter 5 ml d'HCl concentré.

**➤ Réactif de Wagner**

2 g de KI et 1,27 g d'I<sub>2</sub> solubilisé dans 100 ml d'eau distillée.

**➤ Réactif de Mayer**

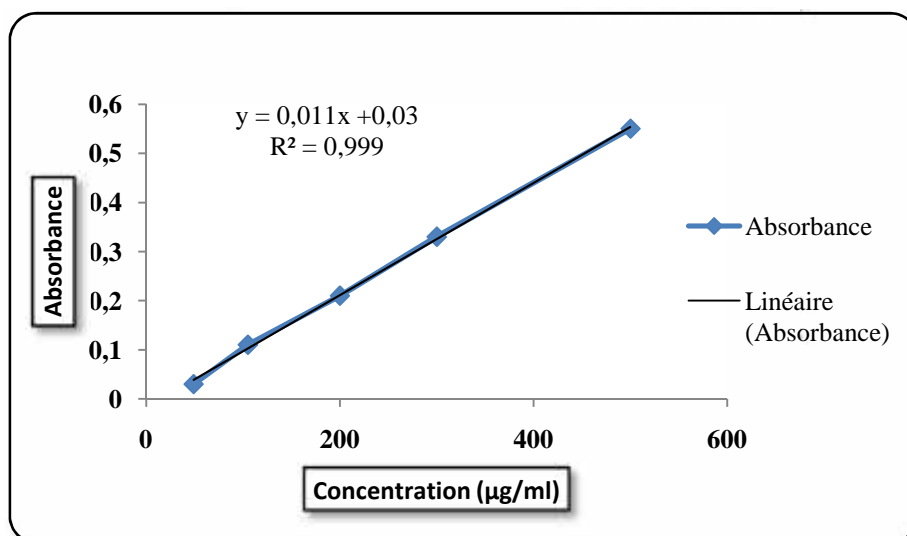
5 g de KI + 1,358 g de HgCl<sub>2</sub> solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.

**➤ Liqueur de Fehling****✓ Solution A**

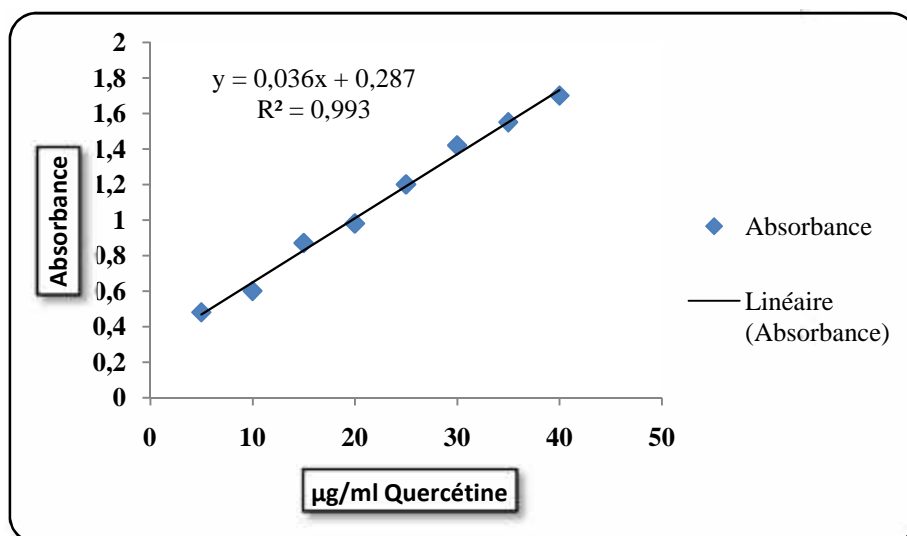
35 g CuSO<sub>4</sub> + 500 ml Eau distillée + 5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Laisser refroidir et compléter à un litre avec l'eau distillée.

**✓ Solution B**

150 g Sel de Seignette + 500 ml Eau distillée. Refroidir et ajouter 300 ml de lessive non carbonaté et compléter à un litre avec l'eau distillée.

**Annexe n°2 : Droite d'étalonnages de l'acide gallique (moyenne ± SD)**

**Figure n°21 :** Droite d'étalonnages de l'acide gallique (moyenne ± SD).

Annexe n°3 : Droite d'étalonnages de la quercétine (moyenne  $\pm$  SD)Figure n°21 : Droite d'étalonnages de la quercétine (moyenne  $\pm$  SD)

<b>Année Universitaire : 2016/ 2017</b>	<b>Présenté par : Benamrane Selma</b>
<b>Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L. (Rayhane) de la région de Guelma</b>	
Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master en Biochimie Appliquée	
<p><i>Résumé</i></p> <p>Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude des molécules antioxydantes d'origine naturelle, provenant de la flore terrestre ou même aquatique. Nous sommes intéressées dans ce travail à l'étude des composés phénoliques et l'évaluation des propriétés antioxydantes des extraits de <i>Myrtus communis</i> L., qui est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie.</p> <p>Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes, des quinones, et des terpénoïdes. L'analyse des extraits des feuilles par CCM a révélé la richesse des extraits FCH, FAC, FBU et EBR en composés phénoliques.</p> <p>Les résultats du dosage des polyphénols et des flavonoïdes montrent que l'extrait méthanolique est plus riche en composés phénoliques suivi par les fractions d'acétate d'éthyle et butanolique avec des teneurs en composés phénoliques de (75.91, 60 et 55.9 mg EAG/g d'extrait successivement), alors que la fraction butanolique est plus riche en flavonoïdes (38.42 mg EQ/g).</p> <p>L'évaluation quantitative du pouvoir piégeur des extraits vis-à-vis du DPPH confirme que les extraits FBU et FAC sont les plus actifs, avec des IC<sub>50</sub> de l'ordre de 0.62 et 0.64 mg/ml respectivement suivi par l'extrait EBR et FCH.</p> <p>Donc on peut dire que les feuilles de <i>Myrtus communis</i> L. sont caractérisées par une activité antioxydante, vu de leur richesse en composés phénoliques, surtout les extraits obtenus suite à l'extraction par des solvants organiques.</p>	
<b>Mots clés :</b> <i>Myrtus communis</i> L., Flavonoïdes, Polyphénols totaux, Activité antioxydante, DPPH.	
Le travail à été réalisé aux laboratoires pédagogiques, Université de Khenchela.	
<b>Date De Soutenance :</b> 28 /06/2017	