



الشعبية الديمقراطية الجزائرية الجمهورية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE
POPULAIRE
العلمي البحث و العالبي التعليم وزارة
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الخوة منتوري
لثة علوم الطيبة و الحباة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية و مولكولارية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Intitulé :

**Investigation phytochimique et activités biologiques
d'une plante médicinale**

Myrtus communis L.

Présenté et soutenu par :

Le : 61/07/2019

HABALAT Chaima et CHETTA Imene

Jury de soutenance :


Présidente: Dr Habibatni Z; Maitre de conférences A , Université de Constantine1

Rapportrice: Dr Halmi S; Maitre de conférence B, Université de Constantine1

Examinatrice 1: Dr Madi A; Maitre de conférences B , Université de Constantine1

Examineur 2: Dr Bensouici Chawki , Maitre de recherche , Centre de recherche en biotechnologie Constantine.

*Année universitaire
2018 - 2019*



Remerciement

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail. Ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre gratitude à notre encadreuse, Mm **HALMI SIHEM**, qui a accepté de nous encadrer, et nos plus sincères remerciements et reconnaissances pour sa disponibilité, sa rigueur scientifique, et ses précieux conseils qui ont fait progresser ce travail. Les conseils, que vous nous avez prodigués tout au long de la rédaction, ont toujours été clairs et succincts, nous ont facilité grandement la tâche et nous ont permis d'aboutir à la production de ce manuscrit. Nous étions extrêmement sensibles à sa qualité humaine d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail.

Nos sincères considérations et remerciement sont également exprimés aux membres de jury : Mme **HABIBATNI Zineb**. Notre enseignante qui nous a fait l'honneur par sa présence en qualité de présidente de jury. Mme **MADI AICHA** pour avoir accepté d'examiner ce travail et sa présence.

Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude à monsieur **BENSOUICI Chawki**, chef de laboratoire au centre de recherche en biotechnologie, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'être membre de jury et examiner ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont à l'ingénieur de laboratoire de biochimie **BOUDARSA NABIL** pour toute l'aide qu'il nous a apportée et sa gentillesse.

Grand remerciement à Mr. **BEL-ABED** chef du laboratoire de bactériologie CHU. Et Mme **BEL-ABES MERIEM**, microbiologiste au sein du laboratoire.

Afin de n'oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui nous ont aidés à la réalisation de ce modeste mémoire.

DÉDICACES

Une chance m'a été offerte aujourd'hui pour remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce modeste travail :

*A ma Mère **HAMOUDA SMIRA** qui n'a jamais cessé de m'encourager, pour son affection, son amour et sa tendresse, ce que je leur dédie est incomparable devant leurs sacrifices.*

*A mon père **ABED** qui m'a entouré pour que rien ne m'entrave durant toute la période de mes études.*

*A mes frères **Abdellatif** et **MOHAMED ZAKARIA**, à mes sœurs **YOUSRA ET NOURHENE**. Je voudrais simplement leur dire que je les aime de tout mon cœur.*

*A mes grands-parents **BABA-DJADOU, POUPOU, MAMI, YAYA**.*

*A mes oncles : **SAMIR, DJAHID, SALIM, DJAMEL, KHALED**.*

*A Mes tantes : **HADJILA, NORA, NADJEMA, FARIDA, WASSILA, MAHDIA, MALIKA***

*A mes cousines adorables : **HADJER, AMINA, MERIEM, SARA, KENZA, KHAIRA.RANIA , SOUMIA ,SOUNDOUS**.*

*A ma chère binôme **HABALAT CHAIMA**.*

*A mes amies : **MERIEM, YASMINE, SABRINA, NOURHENE, MAROI, MANEL***

CHETTA IMENE

DÉDICACES

Je dédie ce mémoire à tous ceux qui me sont chers et pour tout l'amour qu'ils me portent :

A mes chers parents pour leur patience, leur soutien et leurs sacrifices.

*A ma Mère **KHOULED HADDA** qui n'a jamais cessé de m'encourager, pour son affection, son amour et sa tendresse, ce que je leur dédie est incomparable devant leurs sacrifices.*

*A mon père **ABDELOUAHEB** qui m'a entouré pour que rien ne m'entrave durant toute la période de mes études.*

*à ma sœur Cherifa et à mes frères **NABIL, NESEREIDDINE, MEHAMED BADIS**, à ma belle-sœur **HADJI ZEINEB** et mon nouveau **YOUSSRI DAIAELDDIN**, ma nièce **CHEHD ARWA***

*À mes cousins **MEHAMED ELMEHDI, ADEL** et **WALID***

*À ma cousine **NADA***

*À ma chère binôme **IMENE***

*À mes **ONCLES ET MES TENTES***

*À mon chère **AMER BOUHABILA***

*À ma chérie **kawter***

*À ma chère **KAIDI ROUMAISSA***

HABALAT CHAIMA

Abréviations

Abréviations	Signification	Abréviations	Signification
%	Pourcentage	C40H64	Tétra terpènes
(C ₅ H ₈) _n	Polyterpènes	C ₅ H ₈	Hémiterpènes
[Fe(CN) ₆] ³⁻	Ferricyanure	C ₅ H _x	Les terpènes
[Fe(CN) ₆] ⁴⁻	Ferrocyanure	CAT	Catalase
^o C	Degré Celsius	CLHP/SM	Chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse
A0	Absorbance initiale en absence de composé à tester.	CLHP-DAD	Chromatographie liquide à haute performance avec détecteur à barrette de diodes
AAR	Pourcentage de l'Activité Anti-Radicalaire.	CLHP-UV-VIS	Chromatographie liquide haute performance couplée à l'absorption Ultra-violet-Visible.
ABTS	2, 2'-azinobis-(3 ethylbenzthiazolin-6-sulfonic acide)).	COA	Coenzyme A
AC	Absorbance mesurée au temps t.	DPPH	2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl
AChE	Acétylcholinestérase	DTNB	5, 5,-Dithiobis (2-nitro-benzoic acide).
ADN	Acide désoxyribonucléique	E. Coli	<i>Escherichia coli</i>
AE	Absorbance en présence de l'extrait.	E.P	Ether de pétrole
AG	Acide gallique	EAG	Equivalent acide gallique
Al	Aluminium	EC50	Concentration efficace médiane
AlCl ₃	Chlorure d'aluminium	ERO	Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant
ARN	Acide ribonucléique	Fe ²⁺	Ions ferreux
ATCC	American type culture collection	Fe ³⁺	Ions ferriques
BChE	Butyrylcholinestérase	FeCl ₃	Chlorure de fer
C ₁₀ H ₁₆	Monoterpène	GP	Glutathion peroxydase
C ₁₅ H ₂₄	Sesquiterpènes	GR	Glutathion réductase
C ₂₀ H ₃₂	Diterpènes	GSH	Glutathion réduit
C ₃₀ H ₄₈	Triterpènes	GSSG	Glutathion oxydé

H	Hydrogène	NO ₂ ⁺	Nitronium(nitryl) ion
H ₂ O	Eau	NO ₂ CL	Nitryl chloride
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène	NOY	Nitroxyl anion
H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	Acide phosphomolybdique	O ₂	Oxygène
H ₃ PW ₁₂ O ₄₀	Acide phosphotungstique	O ₂ ^{•-}	Anion superoxyde
HCL	Chlorure d'hydrogène	O ₃	Ozon
HE	Huile essentielle	OH [•]	Radicale hydroxyle
HO	Holmium	ONOO ⁻	Péroxynitrites
HOCL	Acide hypochloreux	P.a	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
HPLC	Chromatographie liquide haute performance	PH	Potentiel hydrogène
IC50	Concentration inhibitrice médiane	PP	Polyphénols
K ₂ S ₂ O ₂	Potassium thiosulfite	PPM	Phosphomolybdate
K ₂ S ₂ O ₈	Potassium persulfate	R%	Rendement en pourcentage
K ₃ Fe	Potassium ferric	RDL	Radicale libre
Km	Kilomètre	RLO	Radicale libre oxygénés
LC/SM-ESI	Couplage de la chromatographie en phase liquide à la spectrométrie de masse en mode ionisation : Electrospray	RMN	Résonance magnétique nucléaire
M	Masse en gramme	RO [•]	Aloxyyl
MeOH	Méthanol	RO ₂ [•]	Peroxyle
MnO ₂	Le dioxyde de manganèse	ROOH	Hydroperoxyde organique
Mo ₈ O ₂₃	Molybdènes	ROONO	Alkyl peroxydinitrite
N ₂ O ₃	Dinitrogène trioxide	ROS	Espèce oxygénées réactives
N ₂ O ₄	Tetroxide	S	Activité de l'enzyme avec l'extrait
NADP	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate	Sec	Seconde
NADPH	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduite	Se-GPX	Glutathion peroxydase est un enzyme à sélénium
NaOH	Hydroxyde de sodium	SH	Sulfhydryles
NH ₂	Groupe amine	SO ₂	Sulfur dioxide
No [•]	Nitricxide	SOD	Superoxyde dimustase

TEAC	Trolox equivalent antioxydant activity).	Zn	Zinc
Tr/min	Tour par minute	β	Beta
URH•	Urate	μ l	Microlitre
V	Volume		

Figures

Figures	Titres	Pages
Partie I : Etude bibliographique		
Chapitre 1		
1	Aire de répartition de <i>Myrtaceae</i> dans le monde.	3
2	Aire de distribution de genre <i>Myrtus</i> .	4
3	Feuilles de <i>Myrtus communis</i> L.	6
4	Fleurs de <i>Myrtus communis</i> L.	6
5	Fruits de <i>Myrtus communis</i> L.	7
Chapitre 2		
6	Classification des métabolites secondaire.	9
7	Structure de base de phénol.	10
8	Classification des polyphénols	11
9	Structure de l'enchaînement.	12
10	Structure d'acides hydroxy benzoïques communs.	15
11	Structure d'acides hydroxy cinnamiques communs.	16
12	Tanins hydrolysables	17
13	Structures des tanins condensés	17
14	Principaux constituants de la lignine.	18
15	Structure d'une lignine.	18
16	Exemples des structures chimiques des lignanes. (A) unité de phénylpropane C6-C3. (B) Sauriol A (lien β - β'). (C) rufescidride.	19
17	Structure de coumarine(A) et d'acide 2- hydroxy-Z-Cinnamique(B).	19
18	Structure de coumarine.	20
19	Structure de base des stilbéne tans(A) ; cis(B).	20
20	Molécule d'isoprène.	22
21	Structure de a) nicotine, b) (<i>S</i>)-coniine et c) mescaline.	24
Chapitre 3		
22	Source endogène et exogène des radicaux libre.	28

23	Structure tridimensionnelle de la catalase.	29
24	Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase.	30
25	Structure tridimensionnelle de superoxyde dismutase.	31
26	Structure de l'acide urique.	32
27	Réaction d'oxydoréduction de l'acide ascorbique.	32
28	Structure chimique de base des tocophérols.	33
29	Structure chimique du β -carotène.	34
30	Composantes de la balance entre les molécules anti- et pro-oxydantes. GPx : Glutathion peroxydase, GSH : glutathion réduit, H ₂ O ₂ : peroxyde d'hydrogène, O ₂ ⁻ : superoxyde anion, .OH : radical hydroxyle, ¹ O ₂ : oxygène singlet, SOD : superoxide dismutases.	35
Chapitre 4		
31	Rôle de l'AChE au niveau des synapses.	38
32	Hydrolyse de l'acétylcholine par l'AChE.	38
Chapitre 5		
33	Structure d'une bactérie.	41
Partie II : Etude expérimentale		
Chapitre 1		
34	Partie arienne de <i>Myrtus communis L</i> : tiges et feuilles Séchées puis broyées.	44
35	Lieu de la récolte de <i>Myrtus communis L</i> .	45
36	Souches bacteriennes ATCC .	46
37	Souches prélevées à partir des patients.	46
38	Milieux de culture.	46
39	Extrait d'éther de pétrole pour les feuilles et tiges de <i>Myrtus communis L</i> .	47
40	A: Filtration sous vide à l'aide d'un Buchner. B: Filtration sous vide-Büchner.	48
41	A: Rota –vapeur. B: Les différent partie d'un rota-vapeur.	48
42	Extrait d'éther de pétrole des feuilles de <i>Myrtus communis L</i> .	49
43	Extrait d'éther de pétrole des tiges de <i>Myrtus communis L</i> .	49
44	Extrait hydro alcoolique des feuilles et tiges de <i>Myrtus communis L</i> .	49

45	Extrait méthanolique de tiges et feuilles de la plante <i>Myrtus Communis L.</i>	50
46	Protocole d'étude expérimentale.	51
47	Dosage des polyphénols.	54
48	Dosage des flavonoïdes.	55
49	Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 diphenyle-1-Picryl-Hydrazyle).	56
50	Protocol du pouvoir réducteur.	58
51	Oxydation d'ABTS par le persulfate de potassium.	59
52	Protocol de l'activité ABTS.	60
53	Protocol de l'activité le phosphomolybdate.	61
54	Protocol de l'activité anticholinestérase.	62
55	Principe de la méthode de diffusion sur disque.	64
Chapitre 2		
56	Extraits utilisés dans le dosage des polyphénols totaux. (A) : L'acide gallique à différentes concentration. (B) : Les extraits méthanolique (feuille, tiges) a différentes concentrations.	71
57	Courbe d'étalonnage d'acide gallique.	72
58	Teneurs en polyphénols pour les extraits de feuilles et tiges.	73
59	Extraits utilisés dans le dosage des flavonoïdes. (A) : Solution de quercitrine à différentes concentration. (B) : Les extraits méthanoïques (feuilles, tiges) a différentes concentration.	74
60	Courbe d'étalonnage de la quercétine.	74
61	Teneurs en flavonoïdes des deux extraits des feuilles et tiges.	75
62	Comparaison des teneurs des polyphénols et des flavonoïdes.	76
63	Résultat de l'activité antioxydante de DPPH par l'acide ascorbique.	77
64	Résultats de l'activité antioxydante de DPPH par les extraits de feuilles (A) et tiges(B) de la plante <i>Myrtus communis L.</i>	77
65	Activité antioxydante de DPPH.	78
66	Histogramme de l'IC50 pour l'acide ascorbique et les extraits de feuilles et tiges	79
67	Résultats du pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.	80
68	Résultats du pouvoir réducteur des extraits méthanoliques (A : Feuilles, B : Tiges) de <i>Myrtus communis L</i> à différentes	81

	concentrations.	
69	Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.	81
70	Pouvoir réducteur des deux extraits méthanoliques (feuilles, tiges).	82
71	Histogramme de l'EC50 pour l'acide ascorbique et les extraits de feuilles et tiges.	83
72	Photo prises lors du dosage de l'activité anti radicalaire ABTS.	84
73	Variation de l'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations des extraits.	85
74	Histogramme de l'IC50 des extraits des tiges, feuilles, BHT, BHA.	85
75	Résultats de l'activité antioxydante par le phosphomolybdate des extraits méthanoliques de la plante à différentes concentrations. A : Feuilles, B : Tiges.	87
76	Résultats de l'activité antioxydante par le phosphomolybdate de l'acide gallique.	87
77	Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante.	87
78	Activité antioxydante (test au phosphomolybdate) des extraits méthanoliques des feuilles et tiges.	88
79	Résultats de test d'inhibition d'AChE (A) et BChE (B).	89
80	Effet des extraits méthanoliques (tiges, feuilles) et la galantamine sur l'inhibition d'AChE.	89
81	Effet des extraits méthanoliques (tiges, feuilles) et la galantamine sur l'inhibition de BChE.	90
82	valeurs d'IC50 des tiges et feuilles pour AChE et BChE.	90
83	Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de <i>Myrtus communis L</i> sur <i>Streptococcus pneumoniae</i> isolé à partir des patients.	92
84	Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de <i>Myrtus communis L</i> sur <i>Escherichia coli</i> isolé à partir des patients.	92
85	Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de <i>Myrtus communis L</i> sur <i>Escherichia coli</i> ATCC.	93
86	Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de <i>Myrtus communis L</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> isolé à partir des patients.	93
87	Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de <i>Myrtus communis L</i> sur <i>Staphylococcus</i> ATCC.	93
88	Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de <i>Myrtus communis L</i> sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolé à partir des patients.	94
89	Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de <i>Myrtus communis L</i> sur <i>Pseudomonas</i> ATCC.	94
90	Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de <i>Myrtus communis L</i> sur <i>Acetobacter boumannii</i> isolé à partir des patients.	94

Tableaux

Tableaux	Titres	Pages
Partie I : Etude bibliographique		
Chapitre 2		
1	Différentes classes des flavonoïdes.	14
2	Classification des Terpénoïdes.	22
Chapitre 3		
3	Espèces réactives de l'oxygène et de l'azote.	26
Partie II : Etude expérimentale		
Chapitre 1		
4	Souches bactériennes isolées à partir des patients (SH).	63
Chapitre 2		
5	Rendement de l'extrait méthanolique (feuilles et tiges) de <i>Myrtus communis L.</i>	66
6	Résultats de screening phytochimique de la plante <i>Myrtus communis L.</i>	66
7	Absorbance et teneur des polyphénols totaux des deux extraits méthanolique de tiges et feuilles.	71
8	Absorbance et teneur des flavonoïdes des deux extraits méthanoliques de tiges et de feuilles.	73
9	CI50 de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques de tiges et feuilles.	76
10	CE50 des deux extraits méthanoliques et de l'acide ascorbique.	80
11	Activité antioxydante (test au phosphomolybdate) des extraits méthanoliques des feuilles et tiges.	85
12	Diamètre d'inhibition des souches bactériennes selon la concentration des extraits.	92

Sommaire

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction générale	1
Partie I : Etude bibliographique	
Chapitre 1 : Généralités sur le <i>Myrtus communis L</i>	
I.Introduction.....	3
I.1. La famille <i>Myrtaceae</i>	3
I.2. Le genre <i>Myrtus</i>	4
I.3. Classification et description botanique de <i>Myrtus Communis L</i>	5
I.3.1. Classification botanique.....	5
I.3.2. Description botanique.....	5
I.3.2.1. L'appareil végétatif.....	5
I.3.2.2. L'appareil reproducteur.....	6
I.4. Utilisation thérapeutique de <i>Myrtus Communis L</i>	7
I.5. Travaux antérieurs.....	8
Chapitre 2 : Les métabolites secondaires	
I.Introduction	9
II. Classification	9
II.1. Les composés phénoliques	9
II.1.1. Définition	9
II.1.2. La structure de polyphénol.....	10
II.1.3. La biosynthèse des polyphénols.....	10
II.1.4. Classification des polyphénols.....	11
II.1.4.1. Les flavonoïdes.....	11
II.1.4.2.Acide phénolique.....	15
II.1.4.3. Les tannins.....	16
II.1.4.4.La lignine (C ₆ -C ₃) n.....	18
II.1.4.5. Lignanes (C ₆ -C ₃) ₂	18
II.1.4.6. Les coumarines.....	19
II.1.4.7. Stiblènes.....	20

II.1.5. Intérêt des polyphénols.....	20
II.2. Les terpénoïdes.....	21
II.2.1. Définition.....	21
II.2.2. Structure.....	21
II.2.3. Classification.....	22
II.3. Les alcaloïdes.....	23
II.3.1. Définition.....	23
II.3.2. Rôle des alcaloïdes.....	23
II.3.3. Structure et classification.....	24
Chapitre 3 : Le stress oxydatif	
I. Introduction.....	25
II. Les radicaux libres.....	25
II.1. Définition.....	25
II.2. Principaux types des espèces réactives d'oxygène.....	26
II.3. Origine des radicaux libre.....	27
III. Antioxydants.....	28
III.1. Définition.....	28
III.2. Rôles.....	29
III.3. Classifications.....	29
III.3.1. Systèmes antioxydants enzymatiques.....	29
III.3.1.2. Systèmes antioxydants non enzymatiques.....	31
IV. Stress oxydant.....	34
IV.1. Définition.....	34
IV.2. Les conséquences du stress oxydant sur les biomolécules.....	35
Chapitre 4 : Alzheimer	
I. Introduction.....	37
II. Acétylcholinestérase ou cholinestérase globulaire ou encore cholinestérase vrai.....	37
III. Butyrylcholinestérase ou cholinestérase sérique ou pseudocholinestérase.....	39
Chapitre 5 : Activité antibactérienne	
1. Introduction.....	40
2. L'infection bactérienne.....	40
3. Définition d'une bactérie.....	40
4. Structure d'une bactérie.....	40

5. Description de quelques bactéries.....	42
Partie II : Etude expérimentale	
Chapitre 1 : Matériel et méthodes	
I. Matériel.....	44
I.1. Matériel végétal.....	44
I.1.1.Lieu de la récolte.....	45
I.2. Matériel de l'activité antibactérienne.....	45
II. Méthodes.....	47
II.1.La préparation des extraits.....	47
Préparation de l'extrait d'éther de pétrole.....	47
Préparation de l'extrait hydro-alcoolique.....	49
Calcul de rendement des extraits.....	50
II.2. Criblage phytochimique.....	52
Dosage colorimétrique (spectrophotométrie.....	53
Dosage des polyphénols totaux.....	53
II.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	54
Evaluation des activités biologiques <i>In-vitro</i>	55
Les activités antioxydantes.....	55
Détermination de l'activité antioxydante par le test DPPH.....	55
II.4.1.2. Réduction du fer.....	57
Test par piégeage du radical ABTS.....	59
Evaluation de l'activité antioxydante par le phosphomolybdate.....	61
II.4.2. Activité enzymatique.....	61
II.4.2.1.Activité anticholinestérase.....	61
II.4.3. Activité antibactérienne.....	62
II.4.3.1. Les souches bactériennes.....	62
II.4.3.2. Milieux de culture.....	63
II.4.3.3. Méthode d'étude de l'activité antimicrobienne par les extraits.....	63
Chapitre 2 : Résultats et discussion	
I.Le rendement en extrait sec.....	66
II. Criblage phytochimique.....	66
III. Dosage colorimétrique (spectrophotométrie).....	69
Dosage des polyphénols totaux.....	70

III.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	73
IV. Evaluation des activités biologiques <i>in-vitro</i>.....	76
Les activités antioxydantes.....	76
Détermination de l'activité antioxydante par le test (DPPH).....	76
IV.1.2. Réduction du fer	80
Test par piégeage du radical ABTS.....	84
Evaluation de l'activité antioxydante par le phosphomolybdate.....	86
IV.2. Activité enzymatique.....	89
IV.2.1. Activité anticholinestérase.....	89
IV.3. activité antibactérienne.....	92
Conclusion et perspectives.....	94
Références bibliographiques	
Annexe.	
Résumé.	

Introduction

Introduction générale

Les plantes sont considérées comme une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'homme dans plusieurs industries telles que l'industrie cosmétique, l'industrie agro-alimentaire et l'industrie pharmaceutique. La diversité de ces molécules naturelles qui ne sont pas essentielles à la viabilité des plantes reste une énigme pour les biologistes qui essayent de décrypter leurs rôles dans la nature. De même, l'élucidation des voies de biosynthèse conduisant à des produits naturels originaux est un champ d'investigation inépuisable pour les scientifiques **(Benabdelkader., 2012)**.

A cet effet, les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches qui amène à l'identification des principaux éléments actifs de la plante **(Chakoet al., 2014)**.

Les propriétés antioxydants des extraits végétaux sont massivement étudiées. Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibre entre la production de radicaux libres et d'enzymes antioxydantes, est en relation avec l'apparition de maladies telles que l'Alzheimer, l'artériosclérose et le cancer. Une façon de prévenir ce stress oxydatif qui endommage et détruit les cellules est de rechercher un apport supplémentaire de composés antioxydants **(Mohammedi ., 2013)**.

Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques **(Halimi., 2015)**.

Les principes actifs des extraits provenant de diverses sources végétales continuent à avoir un très grand intérêt comme supplément en médecine complémentaire. La plupart de ces extraits contiennent des vitamines, des flavonoïdes et d'autres polyphénols.

L'Algérie possède une richesse floristique considérable, ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentent divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique et plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles **(Aberkane., 2006)**.

Dans ce contexte et notamment dans le cadre du programme de recherche lancé par notre laboratoire sur les plantes médicinales, notre choix s'est porté sur la plante ***Myrtus communis L.***

Le ***Myrte commun, Myrtus communis L.***, est un arbuste typique du pourtour méditerranéen, il appartient à la famille des Myrtacées et recèle de multiples propriétés médicinales **(Paul., 2016)**.

L'objectif de notre travail vise à démontrer la richesse de cette plante en principes actifs (Polyphénols, flavonoïdes) et à déterminer leurs propriétés biologiques. Pour cela notre étude englobe deux aspects :

Le premier aspect de ce mémoire nous proposerons une brève étude bibliographique, qui regroupe 5 chapitres :

Le premier chapitre est basé principalement sur une étude botanique de *Myrtus communis L.*

Le deuxième chapitre porte des informations sur les métabolites secondaires ; leur classification et propriétés pharmacologiques.

Le troisième chapitre donne des notions importantes sur le stress oxydatif.

Le quatrième chapitre montre quelques informations sur la maladie d'Alzheimer

Et le dernier chapitre est consacré à l'effet antibactérien de l'extrait brut de *Myrtus communis L.* contre des bactéries à Gram positif et à Gram négatif pouvant être pathogènes pour l'homme.

Le second aspect est réservé à l'étude expérimentale subdivisée en deux : l'un présente le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail et l'autre consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale.

***Partie I : Etude
bibliographique***

***Chapitre 1 : Généralités
sur le Myrtus Communis L***

I. Introduction

Les plantes et les herbes aromatiques sont utilisées depuis longtemps comme remède naturel, au fur du temps ils ont créé une importance dans plusieurs domaines. Parmi ces plantes et herbes aromatiques le *Myrtus communis* L. C'est une plante commune dans le monde entier, elle est exploitée dans plusieurs domaines, pour différents raisons, sous forme fraîche ou bien sèche ou après son extraction.

La famille *Myrtaceae*

La famille ***Myrtaceae* - Myrtacées** renferme les plantes dicotylédones. Elles sont réparties en environ 130 genres pour environ 3 000 espèces (**Chatard., 2002**). Comprend surtout des arbres ou d'arbustes caducs parfois rhizomateux. Les feuilles sont opposées ou subopposées, plus rarement alternes, terrées ou pseudo-verticillées, sont stipulées, plus rarement petits et caducs avec un limbe simple et nervation pennée. Les tissus des feuilles, des rameaux et des fleurs renferment très fréquemment des glandes contenant des huiles essentielles (**Morlhon., 2002**).

Cette famille est répandue dans les régions chaudes d'Amérique du sud, d'Afrique, d'Asie et d'Australie (**Heywood ., 1996**). (**Figure 1**).

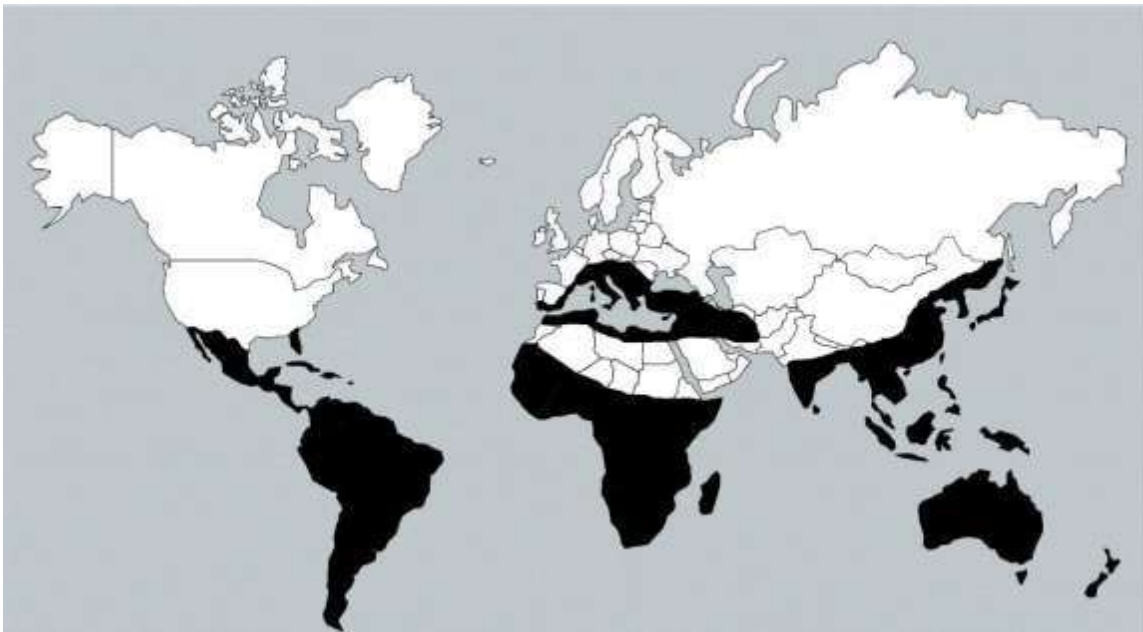


Figure 1: Aire de répartition de *Myrtaceae* dans le monde (**Heywood ., 1996**).

Le genre *Myrtus*

Le genre *Myrtus* appartenant à la famille des *Myrtaceae*, c'est le seul genre qui est localisé aussi bien en Méditerranée qu'au Sahara, il est représenté par deux taxons :

- ✓ Le *Myrte commun*, *Myrtus communis* L. à une distribution méditerranéenne (**Figure 2**), Puisqu'il s'étend en Micronésie (Açores et Madère), mais aussi en zone Irano Touranienne, et même en Asie (en Afghanistan voire au Pakistan) (**Bouzabata., 2017**).
- ✓ Le *Myrte de Nivelles*, *Myrtus nivellei* Batt. & Trab. Qui s'éloigne des rives de la méditerranée de 1000 km .Il est réparti uniquement au Sahara retrouvé en Algérie méridionale (Hoggar, Tassili N'Ajjer, Tassili N'Immidir et Tefedest) et au Tchad (Tibesti) (**Bouzabata., 2017**).

Les plantes de ce genre sont des arbustes à feuilles ovoïdes avec nervation pennée. Les fleurs sont grandes de 10 à 15 mm, de couleur blanche et pourvues à la base de 2 bractées très petites, Les rameaux sont pubescents dans leur jeunesse (**Quezel et al., 1963**).



Figure 2 : Aire de distribution de genre *Myrtus* (Migliore., 2011).

Classification et Description botanique de *Myrtus Communis*

Classification botanique

La classification de la plante *Myrtus communis* L. comme la suivantes : (Goetz *et al.*, 2012)

Règne : Plante

Sous-règne : *Tracheobionta*

Embranchement : *Magnoliophyta*

Sous- embranchement : *Magnoliophytina*

Sous-classe : *Rosidae*

Ordre : *Myrtales*

Famille : *Myrtaceae*

Genre : *Myrtus*

Espèce : *Myrtus communis*

Description botanique

C'est un arbrisseau aromatique, toujours vert, inerme, atteignant une hauteur de 1 à 3 mètres (Goetz *et al.*, 2012) :

L'appareil végétatif

✓ Les feuilles

Les petites **feuilles** de Myrte sont opposées, ovales et lancéolées à extrémité pointue. Elles sont persistantes, lisses, coriaces et de couleur vert foncé et brillant. Elles sont aromatiques grâce à l'huile essentielle qu'elles renferment (Daoudi., 2016). Elles sont très rapproché, subsessiles, entières et sans stipules (Goetz *et al.*, 2012). (Figure3).



Figure 3 : Les feuilles de *Myrtus communis* L.
(Anonyme 1).

✓ **Les rameaux**

Sont de taille fine et de couleur verte qui se transforme rapidement en brun orangé, pubescents dans leur jeunesse (Barboni., 2006).

L'appareil reproducteur

✓ **Les fleurs**

Les **fleurs** de *Myrte* sont de couleur blanche, poussent à l'aisselle des feuilles. Elles sont menues d'un long pédoncule et mesurent 3 cm de diamètre. Elles comportent jusqu'à 50 étamines proéminentes jaunes (Daoudi .,2016).

La corolle est représenté par cinq pétales blancs, libre, alterne avec les sépales, caducs, après floraison imbriquée (Courchrt ., 1898).

Le gynécée se compose d'un ovaire infère et adhérent de 2 à 3 carpelles, formant 2 à 3 loges dont les placentas axiles porte un grand nombre de petites ovules campylotropes (Courchrt ., 1898) , (Figure 4).

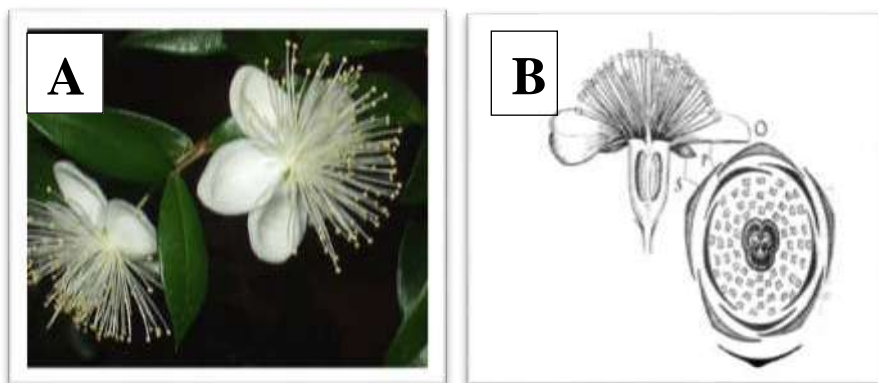


Figure 4 : Les fleurs de *Myrtus communis* L.
A: (Anonyme 2) B : (Courchrt .,1898).

✓ Les fruits

Le fruit de *Myrte* est une baie oblongue de couleur noir bleuté, de la taille d'un pois, et au goût astringent. Le style terminal, long et simple, porte à son sommet un renflement stigmatique unique (**Courchrt., 1898**).

Les fruits sont aromatiques, elles contiennent un nombre variable de graines (**Courchrt., 1898**), (**Figure 5**).

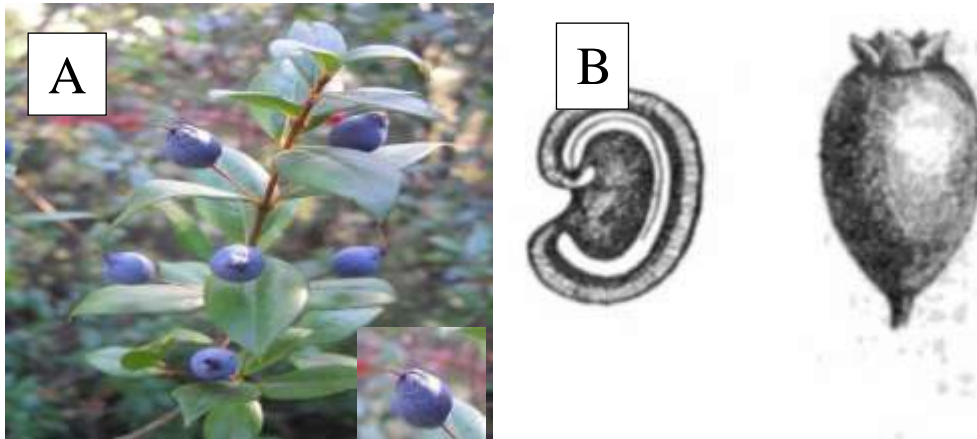


Figure 5: Les fruits de *Myrtus communis* L.
A: (Anonyme 3) **B:** (**Courchrt., 1898**).

Utilisation thérapeutique de *Myrtus Communis* L

- Les préparations à base de cette plantes sont préconisées contre les bronchites, les sinusites, les otites, les hémorroïdes. Les fruits constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies (**Bouzabata ., 2017**).
- Le Myrte diminue le taux de glycémie dans le sang donc il a une propriété hypoglymiante (**Bouzabata ., 2017**).
- De fait, le potentiel anti-inflammatoire, ainsi que l'effet antifongique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* a été démontré (**Bouzabata ., 2017**).
- Plusieurs brevets ont été déposés pour mettre en évidence l'activité anti tumorale de l'extrait de *M. communis* Il est ainsi entré dans la formulation de produits naturels à propriétés anticancéreuses (**Bouzabata., 2017**).
- Le Myrte possède un effet antiseptique, désinfectant, parasiticide. Il est stomachique stimulant et astringent (**Bouzabata ., 2017**).
- Il est utilisé aussi comme analgésique, cardiotonique diurétique, néphroprotectrice, annote (**Bouzabata ., 2017**).

Travaux antérieurs

Les principaux travaux relatifs à l'étude des composés phénoliques du *Myrte commun L.* ont été réalisés en 1967 par El-Sissi et El-Ansary relatif à l'analyse des flavonoïdes contenus dans les feuilles (Seghaouil *et al.*, 2017).

En 1987, Diaz et ses collaborateurs ont analysés les composés phénoliques simples et comme les flavonoïdes et les acides phénoliques contenus dans les feuilles du Myrte.

Plus récemment, les travaux de Martin Lopez *et al.*, en 1999 sur les composés poly phénoliques du péricarpe du fruit du *Myrte* indiquent une composition riche en MYR céatine, en HESPERIDINE et en ESCULINE. Les composés sont extraits par un mélange méthanol-eau (60 / 40) à température ambiante et séparés par chromatographie sur colonne ouverte. L'identification se fait par spectrométrie UV et par RMN du carbone-13 et du proton.

L'équipe Romani *et al.*, en 1999 ont étudié la composition des polyphénols qui ont été extraits par le solvant (éthanol à 70 %) à partir des feuilles du *Myrte*. L'extrait est purifié puis analysé par CLHP-DAD et CLHP/SM.

Récemment, en 2006, Montoro et ses collaborateurs ont travaillé sur la stabilité et l'activité antioxydante des polyphénols qui ont été extraits à partir du myrte pour la préparation des liqueurs en Sardaigne et en Italie. Ils ont fait le dosage des flavonoïdes et les anthocyanes par CLHP-UV-VIS et les identifiés par LC/SM-ESI (couplage de la chromatographie en phase liquide à la spectrométrie de masse en mode ionisation : Electrospray), sous l'effet des deux longueurs d'ondes caractéristiques de ces deux classes de composés poly phénoliques à savoir 350 nm et 520 nm. La macération est se passe par le contact des baies et l'éthanol à 70% pendant 40 jours. Ils ont pu identifier 14 composés, parmi lesquels huit anthocyanes et six flavonoïdes.

L'équipe Montoro *et al.*, 2006b) sont utilisés différentes techniques pour l'identification (RMN et LCES/MS) et la quantification (CLHP-UV-VIS en utilisant des standards internes) des anthocyanes présents dans les baies du *Myrte*.

Les travaux de Wannes *et al.*, 2010 sur l'analyse des composés phénoliques de Myrte par HPLC ont permis d'identifier dix composés, parmi lesquels quatre pour les tanins hydrolysables qui sont la oenothéin B, la Eugen florin, la D2, tellimagrandins I et la tellimagrandins, 2 acides phénoliques, (l'acide gallique et l'acide quinique 3,5-di-O-gallate) et quatre aussi pour myricétine glycosides (myricétine 3-O-b-D-xyloside, myricétine 3-O-b-D galactoside, myricétine 3-O-b-Dalactoside 6-O-gallate et myricétine 3-O-a-L-rhamnoside).

Chapitre 2 : Les métabolites secondaires

I. Introduction

Chez les plantes, on distingue deux catégories de métabolites : les primaires et les secondaires. Les primaires sont impliqués dans les processus vitaux essentiels. Les seconds ne participent pas directement à l'assimilation des nutriments ou à leur transformation et ils sont chimiquement différents des premiers malgré leur faible poids moléculaire, pour certains, leur structure peut être d'une très grande complexité, leur fonction essentielle est de défendre et de protéger la plante contre toutes sortes d'agents pathogène, de parasites phytophage ou prédateurs vertébrés et invertébrés. Ils sont également efficaces pour lutter contre les autres plantes concurrente (Jost *et al.*, 2016).

Les métabolites secondaire végétaux ont des intérêts multiples mais a profités dans l'industrie : en alimentation, en comitologie et en pharmacie. Ces composés sont en grande mesure en thérapeutique (Bahorun ., 1997).

II. Classification

Les composés du métabolisme secondaire sont classés en 3 grandes classes (Figure 6),(Merghem ., 2009).

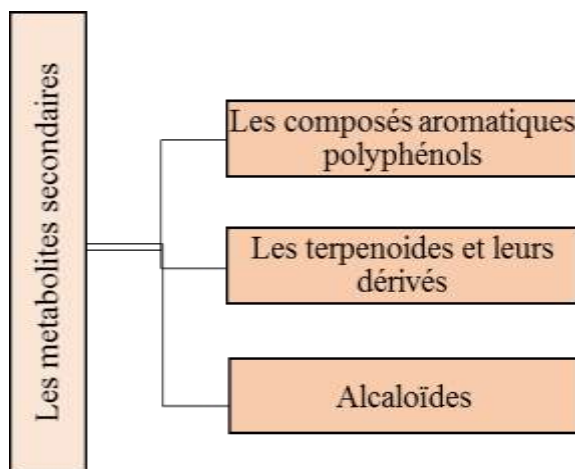


Figure 6: Classification des métabolites secondaire (Merghem ., 2009).

Les composés phénoliques

Définition

Les composés phénoliques ou les polyphénols (pp) constituent une famille de molécules très largement répandus dans le règne végétal. Sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétale, comme la croissance, ou la reproduction. (FLEURIET.,1982 ; YUSUF., 2006)

La structure de polyphénol

Les polyphénols sont caractérisés par la présence d'au moins un noyau benzénique qui est l'élément structural fondamental ; auquel est lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. (Jean., 2009). (Figure 7).

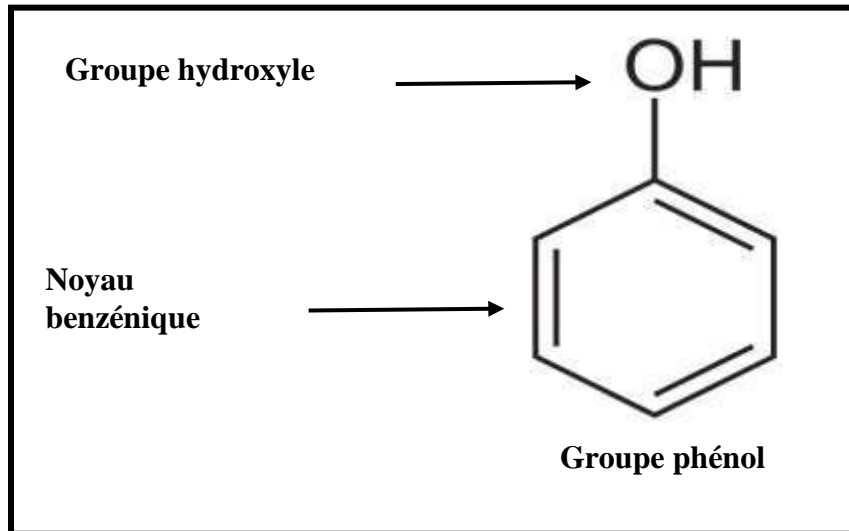


Figure 7: Structure de base de phénol.(Arnaud .,1997).

La biosynthèse des polyphénols

Il ya deux grands voies d'aromagéne se qui peuvent être à l'origine des composés phénoliques :

- La plupart des polyphénols dérivent de la voie de shikimate ou (l'acide shikimique), conduit des oses aux aminoacides aromatiques (phénylalanine et tyrosine) puis, par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et de très nombreux dérivés : acides benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines, etc (Jean ., 2009).
- Voie de l'acétate / malonate : La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyle COA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyle-COA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyle-COA carboxylase (Jean ., 2009).

Classification des polyphénols

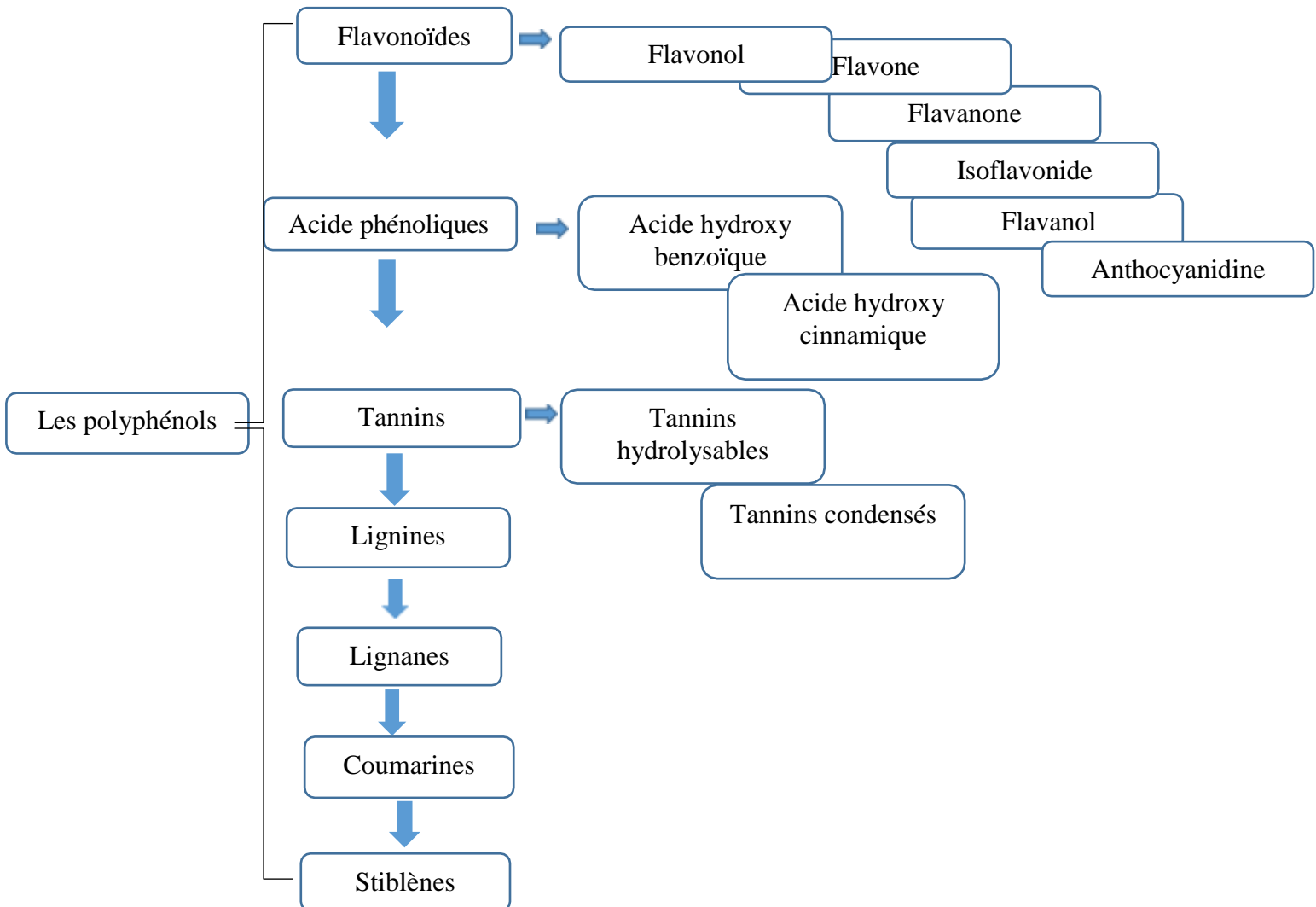


Figure 8: Classification des polyphénols.

Les flavonoïdes

➤ Définitions

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Bouakaz., 2006). Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge de différents organes végétaux (Havasteen., 2002).

➤ **Localisation et distribution**

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires (**Erlund., 2004**), où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Et jouent un rôle important dans la protection des plantes (**Bruneton., 1993**).

Les flavonoïdes se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier (**Delporte et al., 1999**).

➤ **Structure**

Les flavonoïdes dérivent de l'enchaînement benzopyrone et peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzopyrone (**Ghedra.,2005**),(Figure 9).

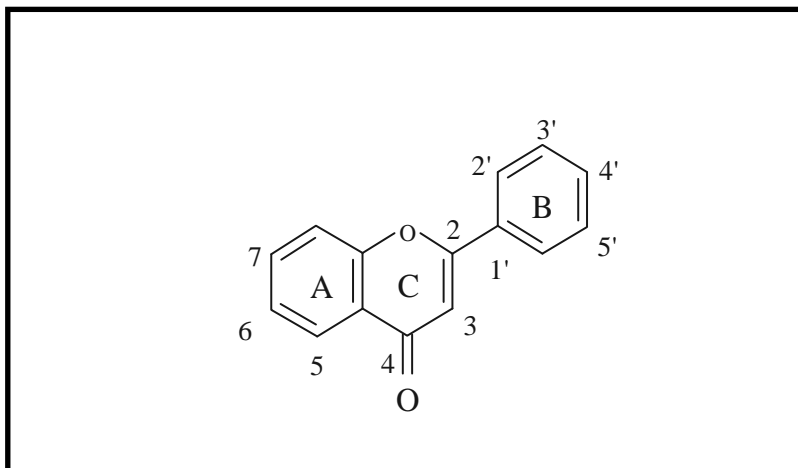


Figure 9 : structure de l'enchaînement (**Ghedra.,2005**).

➤ Classification des flavonoïdes

✓ **Flavonols**

Sont les flavonoïdes les plus abondants dans l'alimentation. (**Manche et al .,2004**). Ils sont caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle (OH) en position C-3, de l'hétérocycle central C et d'une double-liaison en C₂-C₃. (**Heller et al., 1993**). Parmi Les composés les plus représentatifs de cette famille sont le kaempferol et la quercitrine. Cette dernière possède un très fort pouvoir antioxydant en raison de sa structure chimique favorable au piégeage des radicaux libres. (**Manche et al .,2004**).

✓ Flavones

Ils sont abondants chez les plantes supérieures sous les deux formes aglycones ou glycosylés. Ils sont caractérisés par une structure C₆-C₃-C₆ avec une double liaison entre les carbones 2 et 3 de l'hétérocycle du squelette flavane et une fonction cétone en position 4 (4-oxo). Le cycle aromatique B est attaché à la position 2 (**Zakkad., 2017**).

Ils ont des activités physiologiques remarquables, notamment des propriétés antimicrobiennes et antivirales (**Stafford.,1990**).

✓ Les flavanones

Ont une structure similaire à celle des flavones mais ne possèdent pas d'insaturation au niveau de l'hétérocycle. Ils possèdent des structures uniques qui diffèrent des autres flavonoïdes, par l'absence de la double liaison entre le C₂ et le C₃ et par la présence des centres d'asymétrie en position 2. (**Zakkad., 2017**).

Les flavanones sont fréquemment rencontrés chez les Myrtacées (**Wollenweber et al.,2000**). Les flavanones se retrouvent dans les tomates la menthe et les agrumes (**Saffidine ., 2015**).

✓ Les isoflavonoïdes

Sont considérées comme des dérivés des flavones, elles représentent une sous-classe importante et très distinctive des flavonoïdes (**Bouheroum.,2007**). Contrairement à la plupart des autres flavonoïdes, les isoflavones sont caractérisées par la présence d'un cycle B fixé à C₃ plutôt que la position C₂. Ils ont une distribution très limitée dans le règne végétal (**Fraga ., 2009**).

Les produits dérivés du soja sont la principale source d'isoflavones (**Saffidine ., 2015**).

✓ flavanol

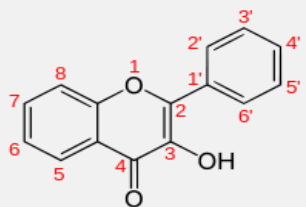
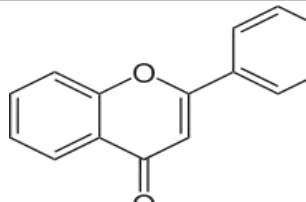
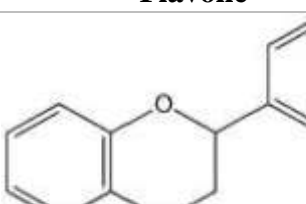
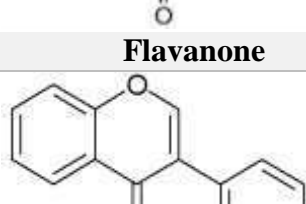

Les flavanols existent sous forme de monomères : l'unité la plus simple est la catéchine, ou la forme polymérique appelés proanthocyanidines Les principales sources de ce composé sont : la pomme, le chocolat et le thé (**Rezaire., 2012**).

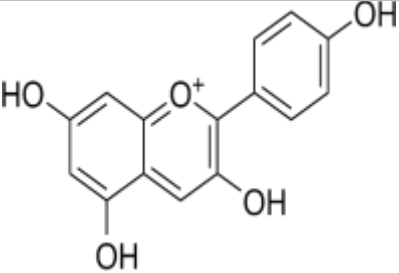
✓ Anthocyanidines

Sont des pigments naturels colorés que l'on retrouve dans les plantes vasculaires. Ils sont les dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium plus communément appelé cation flavylum (**Kong et al., 2003**).

Ils sont responsables de la coloration (orange, rose, rouge, violet et bleue) de certaines fleurs et fruits. (**Kerio et al .,2012**).

Tableau 1 : les différentes classes des flavonoïdes. (Hadj Salem .,2009).

Structure des différentes classes de flavonoïdes	Exemples	Substitutions
		5 6 7 3' 4' 5'
 <p>Flavanol</p>	Kaempférol Quercétine Myricétine	OH H OH H OH H OH H OH OH OH OH HO H OH OH
 <p>Flavone</p>	Apigénine Chrysin Lutéoline	OH H OH H OH H OH H OH H H H OH H OH OH OH H
 <p>Flavanone</p>	Hespéridine Naringénine	OH H OH OH OMe H OH H OH H OH H
 <p>Isoflavone</p>	Daidzéine Génistéine	OH H OH OH OH H OH H OH OH OH OH
 <p>flavanol</p>	Catéchine Gallocatéchine	H H OH H OH H OH H OH HOH H

 <p style="text-align: center;">Anthocyane</p>	Pélargonidine Cyanidine Delphinidine	OH H OH H OH H OH H OH OH OH H OH H OH OH OH OH
--	--	---

Acide phénolique

Les Acides phénols, Ces molécules sont caractérisées par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. Les acides phénols comprennent deux sous classes (Madi., 2018) :

➤ Acides hydroxy benzoïques

Les composés de cette classe se caractérisent par un squelette de C₆-C₁ existent fréquemment sous formes d'esters ou de glycosides (Madi., 2018).

Les principaux acides hydroxy benzoïques retrouvés dans les végétaux sont les acides phydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique et salicylique (Madi., 2018). La (Figure 10) illustre la structure de quelques exemples de ce groupe (Madi., 2018).

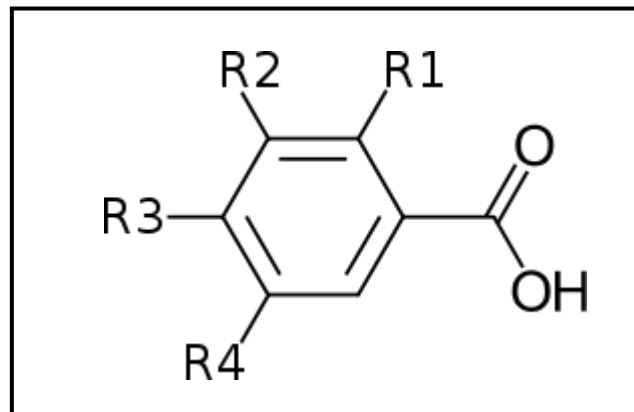


Figure 10: Structure d'acides hydroxy benzoïques communs.
(Fleuriet *et al.*, 2006a).

Acide hydroxy cinnamiques

Les acides hydroxy cinnamiques représentent un groupe très important dont la structure possède un cycle aromatique associé à trois carbones C₆- C₃ (figure11) ; par exemple : l'acide caféique, l'acide férulique, p-coumarique, et l'acide sinapique. Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires sont un des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules. De

plus, l'existence d'une double liaison dans la chaîne latérale conduit à deux séries isomères (Z et E) dont les propriétés biologiques peuvent être différentes (Madi., 2018).

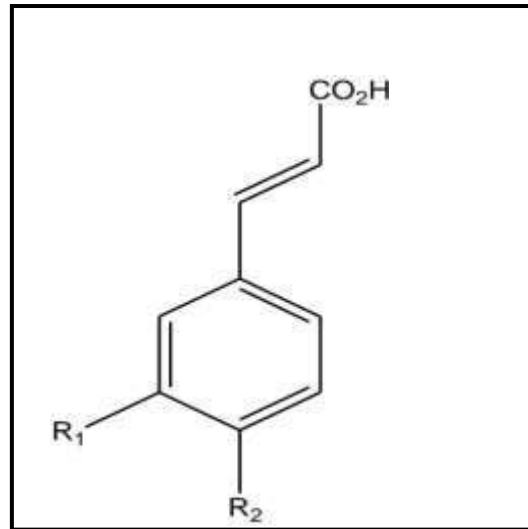


Figure 11: Structure d'acides hydroxy cinnamiques communs (Madi ., 2018).

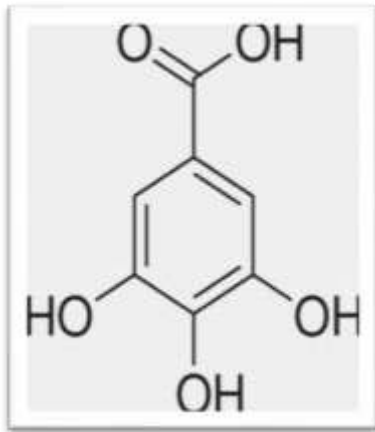
Les tannins

Les tannins (ou tanins) sont des composés poly phénoliques utilisés pour tanner les peaux. Les tannins ont plusieurs activités biologiques. Des études ont montré que des nombreux tannins présentent des propriétés antioxydants. Ces composés présentent une grande capacité de piégeage des radicaux libres et aussi dans l'inactivation des ions peroxydant (Bruneton .,1999).

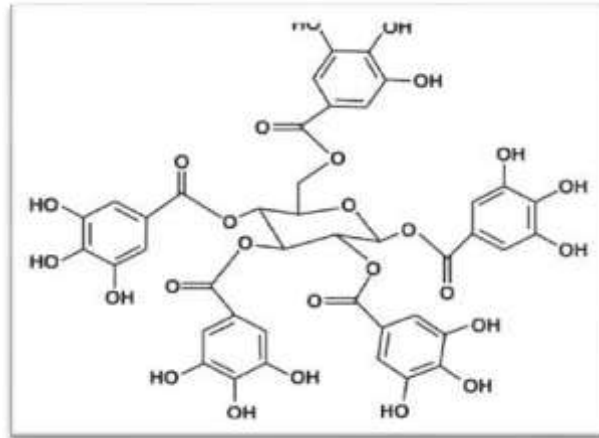
D'autres tannins présentent une activité antiseptique importante. En effet, ils présentent des activités antibactériennes, antifongiques et antivirales assez spectaculaires (Chung. K-T *et al.*, 1998). Selon leurs structures biochimiques, on distingue deux classes de tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

➤ Les tannins hydrolysables

Ces tannins sont des dimères d'acide gallique condensés sur des dérivés glycolyses. Ces composés donnent après hydrolyse à chaud à l'aide de solutions acides étendues une fraction glucidique (glucose) et une fraction polyphénolique (Figure12), (Doat .J., 1978).



Acide gallique

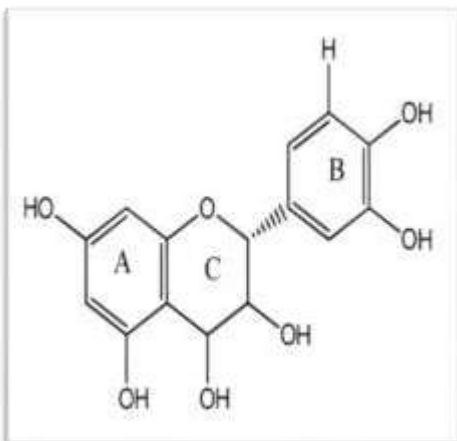


Tanin hydrolysable

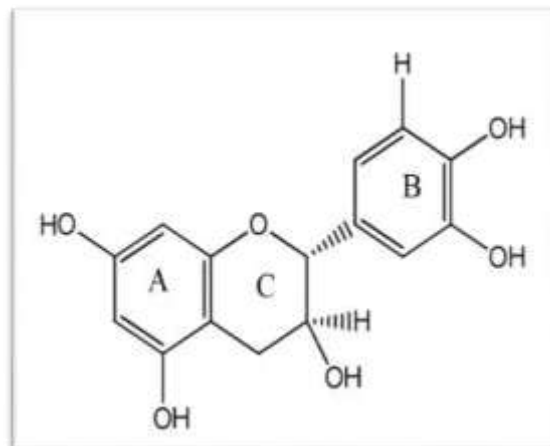
Figure 12 : Les tanins hydrolysables (Ghnimi .,2015).

➤ Les tannins condensés

Ces composés sont appelés aussi proanthocyanidines. Ces composés possèdent comme structure de base le flavan-3-ol ou le flavan-3,4-diol. Ces tannins ne renferment pas de sucres dans leurs molécules. Ils ne sont pas hydrolysés par les acides comme c'est le cas des tanins hydrolysables. Ils se transforment en présence d'acide fort ou d'agents d'oxydation en substances rouges qui sont les phlobaphènes. Les tannins condensés donnent une structure hérissée du groupement hydroxyle OH du composé phénolique pour former des liaisons avec les protéines (Ghnimi .,2015) ,(Figure 13).



flavan-3-ol



flavan-3,4-diol

Figure 13 : Structures des tanins condensés (Ghnimi .,2015).

La lignine (C₆-C₃) n

Est un polymère fortement ramifié, formés par trois alcools phénoliques simples (**Figure14**). Les alcools sont oxydés en radicaux libres par une enzyme ubiquiste chez les plantes ; l'aperoxydase. Les radicaux libres réagissent ensuite spontanément et au hasard pour former la lignine (**Boubekri .,2014**).

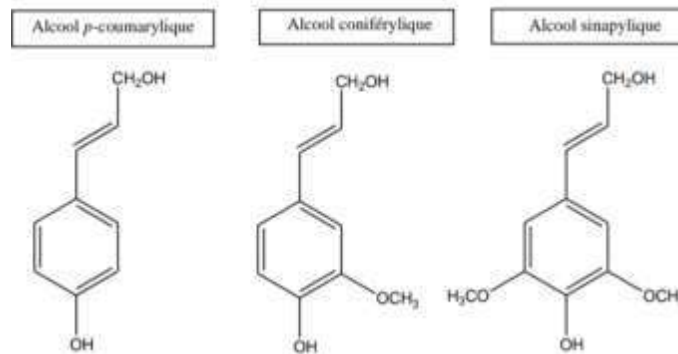


Figure 14 : Principaux constituants de la lignine (**Boubekri.,2014**).

La lignine est un très grand polymère, insoluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques, il est donc impossible de l'extraire sans lui faire subir d'importantes dégradations. (**Boubekri.,2014**) (**Figur15**).

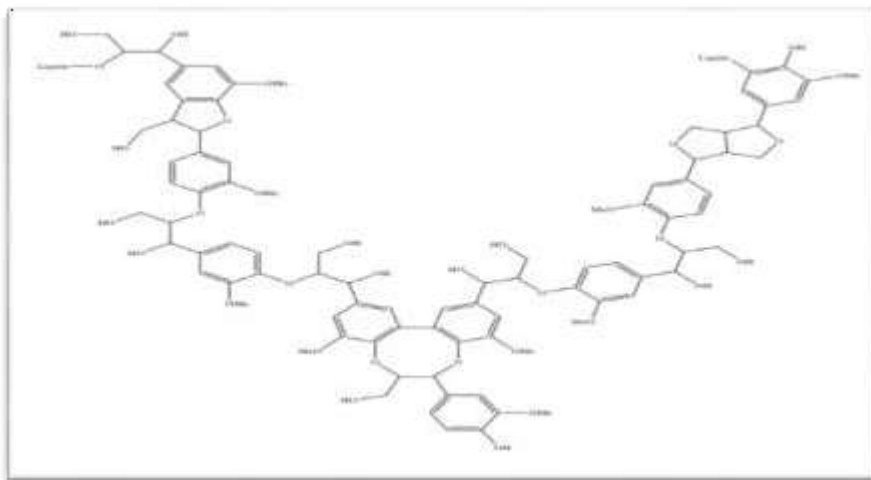


Figure 15: Structure d'une lignine (**Boubekri. ,2014**).

Lignanes (C₆-C₃)₂

Les lignanes (**Figure16**) répondent à une représentation structurale de type (C₆-C₃)₂ l'unité (C₆ - C₃) est considérée comme un propylbenzène. Ce sont des composés phénoliques bioactifs, non-nutritifs, non caloriques. On les trouve en plus forte concentration dans le lin et les graines de sésame et en faibles concentrations dans les fruits et les légumes Ils sont présents dans la plante sous forme de glucosides (**Boubekri .,2014**).

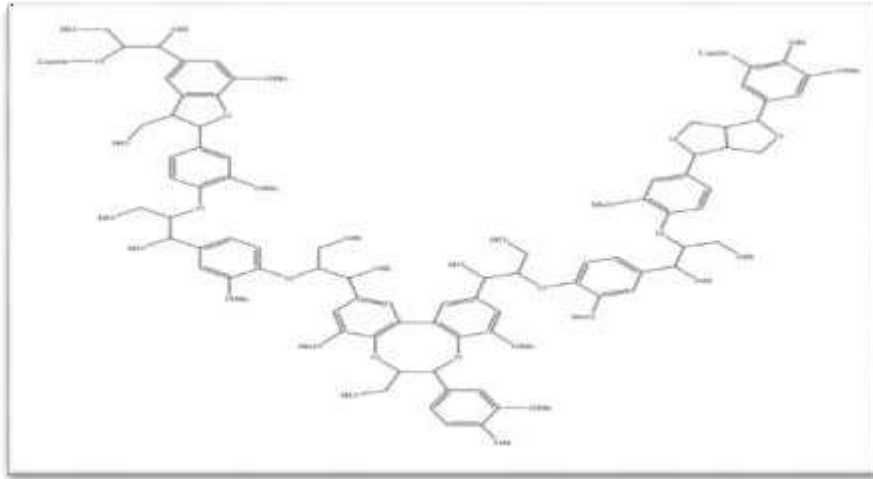


Figure 16: Exemples des structures chimiques des lignanes. (A) Unité de phénylpropane C6-C3. (B) Sauriol A (lien β-β'). (C) Rufescidride (**Boubekri .,2014**).

Les coumarines

➤ Définition

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka, d'où fut isolée pour la première fois en 1820 la coumarine (**Berreghioua .,2016**).

Les coumarines sont des 16 2H-1-benzopyran-2-ones, que l'on peut considérer en première approximation, comme étant des lactones des acides 2- hydroxy-Z- Cinnamiques (**Berreghioua.,2016**). (**Figure 17**).

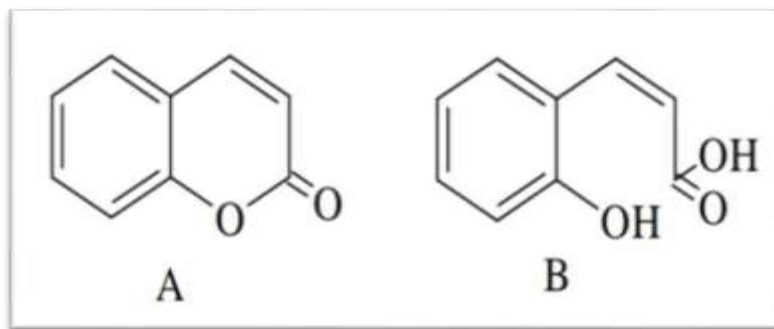


Figure 17 : Structure de coumarine(A) et d'acide 2- hydroxy-Z- Cinnamique(B). (**Berreghioua.,2016**).

Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, Tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées (**Gonzalez et al., 1997**).

Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes (**Figure18**), (**Igor., 2002**).

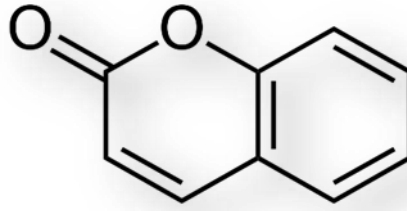
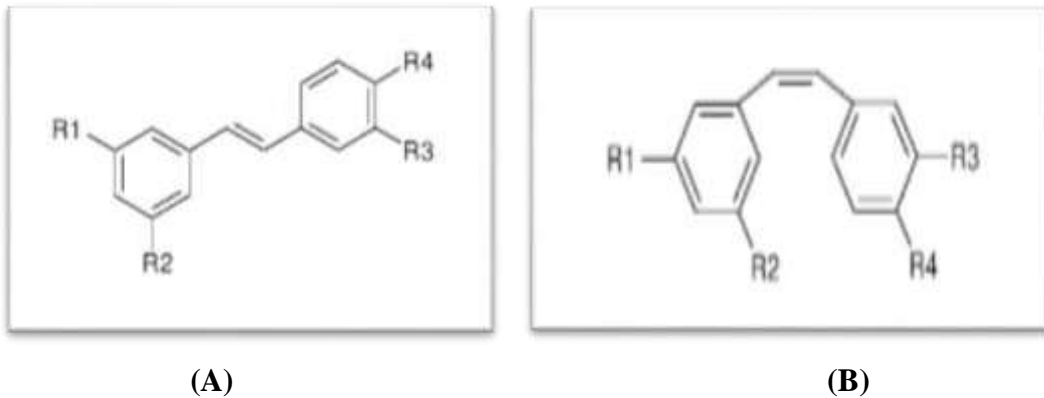


Figure 18 : Structure de coumarine (Igor., 2002).

Stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques issus du métabolisme secondaire des végétaux, synthétisés en cas d'exposition à un stress extérieur (Chong *et al.*, 2009), Ils présentent une structure de type C₆-C₂-C₆ : deux cycles benzéniques reliés par un pont éthylène (Figure 19) , (Jean-D.,2005).



Figures 19: Structure de base des stilbéne Tans(A) ; Cis(B) (Jean-D., 2005).

Intérêt des polyphénols

Les polyphénols interviennent dans la qualité alimentaire des fruits. Les anthocyanes et certains flavonoïdes participent à la coloration des fruits mûrs. Ils confèrent aux fruits et légumes leurs teintes rouges ou Bleutées (Marfak., 2003).

Les composés phénoliques déterminent également la saveur des fruits : les tanins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs, les flavanones sont responsables de l'amertume des Citrus (Dubois *et al.*, 1977).

En effet, de nombreuses revues qui confèrent le rôle de flavonoïde comme d'excellents piègeurs d'espèces réactives directement issues de l'oxygène (O₂-•, HO•, NO•, H₂O₂, 1O₂, HOCl, RO• et ROO•) issu à partir des biomolécules telles que les lipoprotéines, les protéines et les acides oligonucléiques (ADN, ARN)..ces molécules est fréquemment citée comme étant une clé pour la prévention et/ou la réduction du stress oxydatif en lien direct

avec des maladies chroniques comme les maladies cardiovasculaires, la carcinogénèse et les maladies neurodégénératives. Les radicaux libres seraient aussi impliqués dans le processus de vieillissement (**Quideau et al.,2011**).

Les composés phénoliques jouent un rôle de protection des plantes contre les invasions microbiennes, et présentent d'autres mécanismes d'action de lutte contre les champignons, bactéries et virus. Ces propriétés antifongiques et antivirales trouvent de nombreuses applications en médecine humaine (**Xia et al .,2011**).

Les stilbènes, le resvératrol, ont montré des propriétés anti-inflammatoires *in vivo* et *in vitro*. Les recherches se tournent actuellement vers la synthèse de produits à base de resvératrol dans le but de diminuer l'utilisation de médicaments synthétiques (**Udenigwe et al., 2008**).

Les flavonoïdes pourraient réduire le risque de cancer (**Collin et al .,2011**).

Les terpénoïdes

Définition

Les termes terpénoïdes, terpènes et isoprénoïdes sont souvent utilisés de façon interchangeable et proviennent de térébenthine (lat. balsamum terebinthinae), une huile essentielle (HE) dont les composés majeurs sont des terpénoïdes et qui est obtenue par distillation de la résine de conifères (**Phillips et al., 1999**).

Les tetrpénoïdes ont plusieurs usages dans différents secteurs. Ils sont largement utilisés dans le secteur de la nutrition humaine (saveur, conservateur) et l'industrie du parfum (**Van de Braak et al., 1999**)

Structure

Les terpènes sont des hydrocarbones naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100(le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (**Malecky .,2008**),(Figure20).

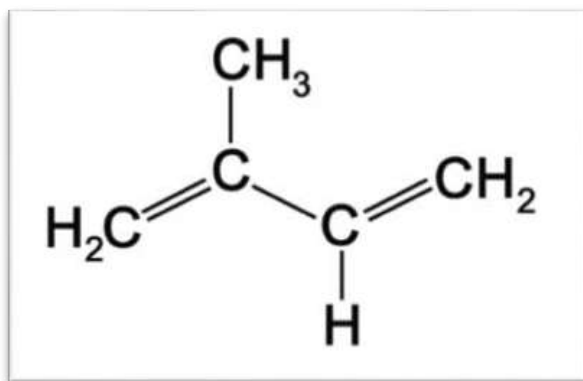

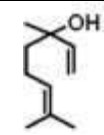
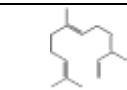





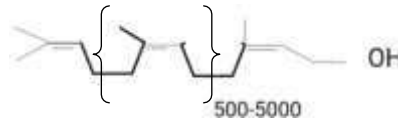
Figure20: Molécule d'isoprène (Malecky ., 2008).

Classification

Dans le règne végétal et Selon le nombre d'entités isoprène qui sont incorporées dans leurs structures il existe plusieurs classes de terpènes (**Tableau 2**) :

Tableau 2: Classification des Terpénoïdes (Benabdelkader ., 2012).

Classe	Formule brute	n° d'isoprène	Exemple
Hémiterpènes	C5H8	1	 Isoprène
Monoterpène	C10H16	2	 Linalool
Sesquiterpènes	C15H24	3	 α -farnesene
Diterpènes	C20H32	4	 Kaurene
Triterpènes	C30H48	6	 α -Amyrin
Tétraterpènes	C40H64	8	

			β -carotene
Polyterpènes	$(C_5H_8)_n$	45-30000	 le caoutchouc (cis-1,4-polyisoprène)

Les alcaloïdes

Définition

Un alcaloïde est un composé organique naturel (le plus souvent d'origine végétale), hétérocyclique avec l'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose. **(Bruneton .,1999 ; Zenk et al .,2007).**

Les alcaloïdes figurent parmi les substances les plus importantes pour leurs propriétés pharmacologiques et médicinales **(Raven et al., 2014).**

Les alcaloïdes sont des composés azotés alcalins, parmi lesquels la morphine, la cocaïne, la caféine, la nicotine et l'atropine **(Raven et al., 2014).**

Rôle des alcaloïdes

Les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques chez l'homme **(Donatien. , 2014).**

- ✓ Anti tumoraux : vincalécoblastine, vincristine, taxol, camptothécine 30
- ✓ Antalgiques : morphine, codéine
- ✓ Spasmolytiques : tubocurarine et papavérine,
- ✓ Vasodilatateurs : vincamine et ajmalicine,
- ✓ Emétiques : émétine,
- ✓ Antitussifs : codéine,
- ✓ Antiarythmiques : quinidine et ajmaline,
- ✓ Antipaludiques : quinine
- ✓ Ils sont également des agents de traitement de la maladie d'Alzheimer : galantamine **(Donatien., 2014).**

Structure et classification

La classification des alcaloïdes la plus utilisée est celle se basant sur la structure chimique de ces composés et leurs précurseurs moléculaires. Les alcaloïdes sont classés en trois grands types : les alcaloïdes vrai, les pseudo- alcaloïdes et les proto- alcaloïdes (Aniszewski., 2007).

➤ Alcaloïdes vrais

Les alcaloïdes vrais représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes, sont toxiques et disposent d'un large spectre d'activités biologiques. 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). (nicotine du tabac, **Figure21 a**).

➤ Les pseudo-alcaloïdes

Ce sont des composés alcaloïdiques qui ne dérivent pas d'acides aminés. Il s'agit généralement d'isoprenoïdes, et des drivées de l'acétate (Bruneton.,1999). (Coniine de la ciguë, **Figure21 b**).

➤ Proto-alcaloïdes

Ce sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique ; ils ont une réaction basique et sont élaborés in vivo à partir d'acides aminés (Bruneton., 1999).(Figure 21) .

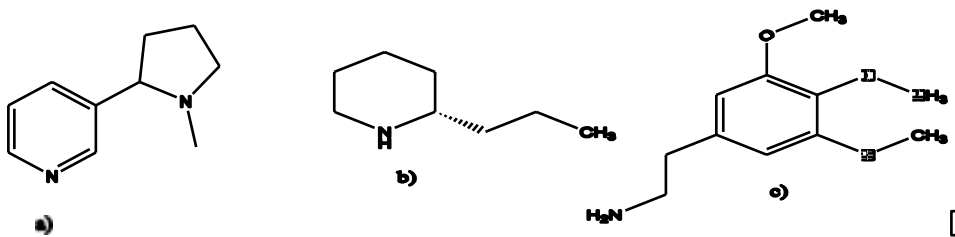


Figure 21: Structure de a) nicotine, b) (S)-coniine et c) mescaline (Jaber., 2017).

***Chapitre 3 : le stress
Oxydatif***

I. Introduction

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques par ce qu'ils sont nécessaires pour l'organisme à dose raisonnable, mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomène toxique et l'organisme va se protéger de ces excès par différents systèmes anti oxydants (**Laverve et al. , 2001**).

Le déséquilibre entre production et destruction constitue le stress oxydant qui dénaturera les macromolécules biologiques, lipides, ADN, ou protéines, créant des lésions biochimiques difficilement réversibles (**Laverve et al., 2001**).

La nutrition joue un rôle clef dans cet équilibre, en apportant aussi bien les molécules protectrices appelées antioxydants que des dérivés toxiques générateur de radicaux (fer, herbicides) ou les substrats de la peroxydation lipidique (acides gras polyinsaturés) (**Laverve et al.,2001**).

Le bon fonctionnement de l'organisme résulte de l'équilibre des systèmes qui peuvent tous être bénéfiques ou nuisibles selon leur activité (**Laverve et al., 2001**).

Au cours de ces dernières années, les termes radicaux libres, espèces oxygénées réactives (ROS), stress oxydant et antioxydants sont devenus des termes familiers tant dans le monde médical que dans le grand public (**Laverve et al.,2001**).

II. Les radicaux libres

Définition

Le radical libre (RDL) est une molécule ou un atome qui possède un ou plusieurs électrons non appariés ou célibataires au niveau de ses orbitales externes. Il réagit spontanément avec d'autres atomes ou molécules pour former un nouveau radical provoquant ainsi une réaction en chaîne qui n'est interrompue que lorsque deux RDL réagissent entre eux. Les RDL sont des espèces instables, très réactives, et qui possèdent un temps de demi – vie extrêmement court : $10^{-9} - 10^{-6}$ sec.

Parmi les composés oxydants formés après réduction de l'oxygène que nous respirons. On distingue :

- Les radicaux libres primaires : ils dérivent directement de l'O₂ par une réaction de réduction
- Les radicaux libres secondaires : ils sont formés par la réaction des radicaux libres primaires sur des composés biochimiques cellulaires.

- Les espèces actives de l'oxygène : ce sont des molécules ne possédant pas d'électron non apparié mais au fort pouvoir oxydant car elles peuvent donner naissance à des radicaux libres.

Les radicaux libres primaires et secondaires et les espèces actives de l'oxygène sont regroupées sous le nom d'espèces réactives de l'oxygène ou ERO (ou « ROS » en anglais pour réactive oxygène species).

Principaux types des espèces réactives d'oxygène

Les espèces radicalaires les plus importantes en biologie sont les radicaux libres oxygénés(RLO) et le monoxyde d'azote (NO) (**Patrick et al .,2007**).

La forme initiale des ROS, qui est obtenue par l'ajout d'un électron sur l'oxygène moléculaire (O₂) est l'anion superoxyde (O₂^{•-}). Ce dernier peut ensuite être transformé en différents ROS secondaires, tels que le radical hydroxyle (HO[•]), peroxyde (ROO[•]), ou encore le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), l'acide hypochloreux (HOCl) et l'hydroperoxyde organique (ROOH) qui ne sont pas des radicaux à proprement parler mais qui sont tout de même toxiques et capables de réagir pour former d'autres radicaux libres. Les RNS sont souvent représentés par le monoxyde d'azote (NO[•]) qui est formé à partir de la L'arginine, du radical guanidium et d'une molécule d'oxygène. Mis à part ses propriétés biologiques bien connues, le NO[•] est capable de réagir avec l'oxygène pour donner des nitrates ou avec d'autres radicaux libres tels que l'O₂^{•-} pour former des peroxy-nitrites (ONOO⁻) (**Smin .,2017**). Un récapitulatif des différents ROS et RNS est présenté dans le (**Tableau 3**).

Tableau 3 : espèces réactives de l'oxygène et de l'azote (**Sun ., 2009**).

Espèces réactives d'oxygène (ROS)		Espèces réactives de nitrogène(NOS)	
Forme radicalaire	Forme non radicalaire	Forme radicalaire	Forme non radicalaire
Superoxide (O₂^{•-}), hydroxyle (OH[•]), peroxyde (RO₂[•]),alkoxyl(RO[•]), hydroperoxyde(HO₂[•]).	Hydrogène peroxyde (H ₂ O ₂), hypochlorous acid (HOCL), OZON (O ₃), singlet oxygen (ΔGO ₂), peroxynitrite (ONOO ⁻).	Nitricoxide (NO [•]), Nitrogen dioxide (NO ₂ [•])	Nitrous acid (HNO ₂) dinitrogen trioxide / tetroxide (N ₂ O ₃ /N ₂ O ₄), nitronium (nitryl) ion (NO ₂ ⁺),peroxynitrite (ONOOY),alkyl peroxynitrite (ROONO),nitroxyl anion (NOY), nitryl chloride (NO ₂ CL)

Origine des radicaux libre

➤ Source exogène

L'organisme humain est exposé aux différents agents capables d'induire la génération des radicaux libres :

- Les rayonnements UV (ultra-violet) induisent la synthèse de radicaux libres et de molécules génératrices de radicaux libres par l'intermédiaire d'agents photosensibilisants. Les radiations ionisantes provoquent également la génération de radicaux libres dérivés de l'oxygène (**Afonso et al., 2007**).
- L'ingestion d'alcool induit la formation de radicaux libres selon divers mécanismes (**Hadi ., 2004**).
- Des molécules toxiques telles que le NO, le NO₂, le SO₂ et l'O₃ sont responsables d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés des alvéoles pulmonaires (**Hadi ., 2004**).
- Les métaux de transition tels que le mercure, le fer, le cadmium, le nickel, l'arsenic et l'amiante ont la capacité de produire les ERO par l'intermédiaire de la réaction de Fenton comme la production du radical hydroxyle et l'O₂^{•-}. Le Ni⁺² et le Fe⁺³ peuvent réagir avec H₂O₂ par différents mécanismes pour former des complexes du métaloxygène (**Mena et al., 2009 ,Wanges et al., 2014**).
- Les métaux lourds ayant une grande affinité avec les groupements sulfhydryles (-SH), inactivent facilement les antioxydants contenant du soufre (**Moller et al., 1996 , Valko et al., 2005**).
- Les médicaments (traitements contre le cancer, psoralène), les radiations (ionisantes, ultraviolets, micro-ondes) et l'absorption dermique (insecticides, médicaments) peuvent également contribuer à la génération des ERO (**Moller et al., 1996**).

➤ Sources endogènes de ROS

De nombreux systèmes enzymatiques identifiés dans les cellules sont également capables de générer des oxydants :

- Les NAD(P) H oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent O₂ en utilisant NADH ou NADPH comme substrat.
- La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ROS

(particulièrement O_2 et H_2O_2), lors de l'ischémie/reperfusion .

Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé soit par les cyclooxygénases, soit par les lipooxygénases (métallo-enzymes à fer), pour former entre autre des hydro peroxydés qui sont des précurseurs de leucotriènes, puissants médiateurs de l'inflammation (Valko *et al.*,2007).

Dans l'organisme, l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries (Centrale énergétique de la cellule) par voie enzymatique en molécule non toxique comme H_2O (Valko *et al.*,2007),(Figure22).

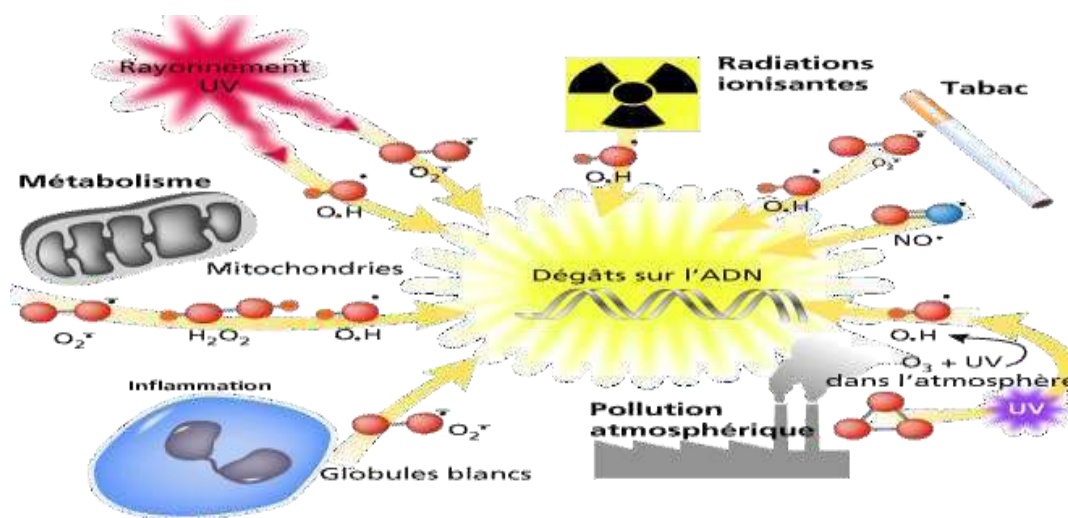


Figure 22: Source endogène et exogène des radicaux libre (Lanutrition .,2006).

III. Antioxydants

Définition

Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. En d'autres termes, un antioxydant est une substance qui, en faible concentration comparativement à la quantité des substances oxydables telles les espèces oxygénées réactives (ROS), retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines, les DNA et les carbohydrates. La production excessive des espèces réactives de l'oxygène est responsable de dégâts cellulaires importants notamment l'induction de ruptures et de mutations de l'ADN, la modification de structures protéiques, la peroxydation des lipides, l'inactivation de diverses enzymes et l'oxydation des sucres (Bagora .,2015). Les antioxydants peuvent être des enzymes ou de simples molécules.

Certains sont produits par l'organisme, ce sont les antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation, et sont donc exogènes (**Oueslati .,2017**).

Rôles

Un antioxydant peut donc écarter les radicaux peroxydes et donc d'empêcher un processus en chaîne. D'autres antioxydants fonctionnent en réagissant avec les initiateurs potentiels et de ce fait retardent la dégradation par oxydation en empêchant l'amorçage de chaînes d'auto-oxydation. Les hydroperoxydes générés par auto-oxydation sont eux –mêmes des initiateurs de chaînes potentiels et les auto-oxydations sont alors potentiellement autocatalysées. Certains antioxydants fonctionnent en réduisant ce type d'hydroperoxydes et en empêchant par là-même leur accumulation. D'autres antioxydants agissent en écartant les intermédiaires du processus en chaîne. Ils fonctionnent de la même manière que les inhibiteurs de radicaux. De tels antioxydants sont fréquemment appelés capteurs de radicaux (**Carey et al.,1996**).

Classifications

Les antioxydants peuvent être classés en deux groupes principaux : les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. Certains de ces antioxydants sont d'origine endogène qui inclut les enzymes, les molécules de faible poids moléculaire et les cofacteurs d'enzymes. Parmi les antioxydants non-enzymatiques, un grand nombre provenant des sources alimentaires (**Krim ., 2014**).

Systemes antioxydants enzymatiques

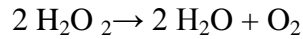
➤ La catalase

C'est une enzyme que l'on retrouve principalement dans la matrice des peroxysomes hépatique et elle représenterait jusqu'à 40 pour cent de la teneur protéique totale. Puisque H_2O_2 est toxique à la cellule, la catalase joue probablement un rôle protecteur (**Russo ., 1998**). Elle élimine l'eau oxygénée (**Figure23**), (**Andreoletti ., 2001**).



Figure23 : Structure tridimensionnelle de la catalase (**Desmier ., 2016**).

La catalase (cat) est une protéine hémique dans laquelle le groupe prosthétique catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène (**Amarenco et al., 2001**).



➤ La glutathion peroxydase

La glutathion peroxydase est un enzyme à sélénium (Se-GPx) capitale dans la lutte contre les radicaux libres. Elle utilise comme cofacteur le glutathion réduit (GSH), localisé dans le cytosol et les mitochondries (**Figure 24**), (**Médart ., 2009**).

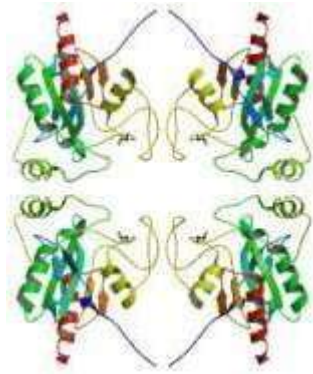
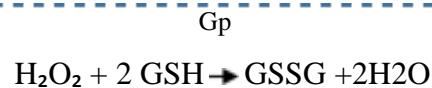
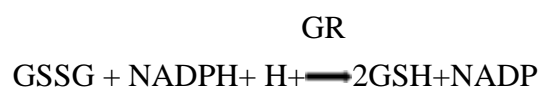


Figure 24 .: Structure tridimensionnelle de la glutathion peroxydase (**Desmier ., 2016**).

- 1- L'oxydation de du glutathion réduit (GSH) en glutathion oxydé (GSSG) s'effectue grâce à une glutathion peroxydase (GP), un enzyme qui contient sélénium (**Russo-M ., 1998**).



- 2- Le GSSG est ensuite reconverti en une glutathion réductase (GR) (**Russo-M., 1998**).



- 3- Un phospholipide –hydroperoxyde –glutathion peroxydase membranaire, contenant du sélénium et associé à la vitamine E, permet de réduire les hydroperoxydes membranaires résistants au glutathion peroxydase (**Russo-M ., 1998**).

➤ **Le superoxyde dismutase**

Le superoxyde dismutase est une métalloprotéine dont l'activité enzymatique consiste à faire la dismutation de l'action superoxyde en dioxygène et peroxyde d'hydrogène. Elle constitue la première ligne de protection contre des dérivés radicalaires (**Figure 25**), (**Maurice. S., 2012**).

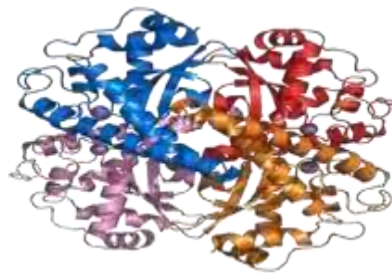


Figure 25: Structure tridimensionnelle du superoxyde dismutase. (**Desmier .,2016**). Les enzymes SOD sont considérées comme des piègeurs de radicaux libres, capable d'empêcher les dommages oxydatifs (**Phd . ,2014**).

Systèmes Antioxydants non enzymatiques

➤ **Le glutathion**

Le glutathion est un tripeptide, formé par la condensation d'acide glutamique, de cystéine et de glycine : gamma-L- Glutamyl- L-cystéine. A noter que le groupement amine de la cystéine se condense avec la fonction acide carboxylique en gamma de l'acide glutamique (**Mane. ,2012**).

Le glutathion a des propriétés antioxydants puisque le groupement thiol dans sa moitié cystéine est un agent réducteur et peut être oxydé et réduit. A cause de sa forte concentration et son rôle central dans le maintien de l'état redox des cellules, le glutathion est l'un des plus importants antioxydants de la cellule (**Mane.S. ,2012**).

➤ **L'acide urique**

L'acide urique est un piègeur d'O₂, des radicaux peroxydes et hydroxydes (RO₂• et HO•), de l'ozone et de HClO. La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactifs que HO• (**Figure 26**),(**Belkheiri ., 2010**).

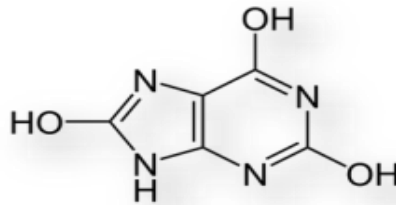


Figure 26 : Structure de l'acide urique (Belkheiri ., 2010).

L'acide urique, produit de la dégradation de certains éléments azotés (xanthine et hypoxanthine), circule en faible concentration dans le sang. À PH physiologique, il est majoritairement déprotoné sous forme d'urate URH^\bullet , et peut ainsi réduire rapidement les radicaux, ce qui conduit à la formation d'une espèce radicalaire URH^\bullet , relativement stable en raison de la délocalisation des électrons sur le noyau purine. L'acide urique est aussi un piègeur du peroxy-nitrite $ONOO^-$, ce qui explique son rôle protecteur vis-à-vis de la nitration des protéines .enfin, il peut chélater des ions métalliques (fer et cuivre), sous forme de complexes peu réactifs sur la plan catalytique (Bénédicte., 2008).

➤ **Vitamine c :**

L'acide ascorbique joue un rôle d'antioxydant, qui est lui aussi lié à sa capacité à donner des électrons. Ces électrons vont être donnés de manière séquentielle. Dans un premier temps, l'acide ascorbique va perdre un électron et former un radical ascorbyle assez stable (10^{-5} sec) comparé aux autres radicaux libres. Ce radical ascorbyle va ensuite perdre un électron et va donner l'acide déhydroascorbique. Sa stabilité est plus importante, de l'ordre de quelques minutes. Le passage de la forme oxydée à la forme réduite, et inversement, va dépendre majoritairement du pH. L'acide ascorbique et l'acide déhydroascorbique forment un couple redox (ou oxydant/réducteur) avec un passage par une forme intermédiaire (le radical ascorbyle) qui va permettre de capter les radicaux libres. Cette interaction avec les radicaux libres est responsable de son potentiel antioxydant (Figure27),(Julie., 2016).

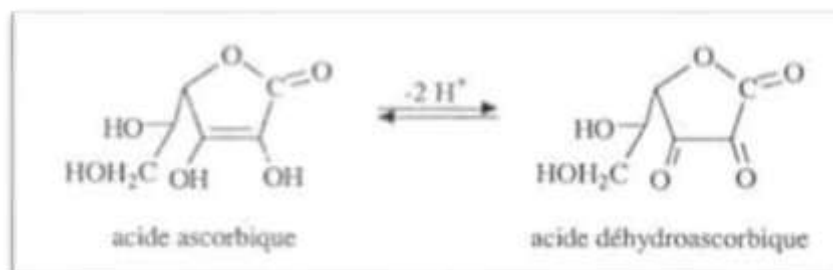


Figure27: Réaction d'oxydoréduction de l'acide ascorbique (Julie.P., 2016).

Dans certains cas la Vitamine C a été décrite comme molécule pro oxydante, entraînant la formation du radical hydroxyle (HO \cdot) notamment en présence de certains ions métalliques (fer, cuivre). Cette toxicité semble être liée à l'ingestion de quantités très importantes de vitamine C (Julie ., 2016).

➤ Vitamine E

La vitamine E (α -tocophérol) (Figure 28) est l'antioxydant liposoluble majeur des lipides. Elle protège *In-vivo* les structures moléculaires particulièrement sensibles à l'oxydation (double liaisons des acides gras polyinsaturés, bases nucléotidiques des brins d'ADN) et les structures condensées riches en lipides (membranes, lipoprotéines). La régénération de l' α -tocophérol se fait en permanence par les quinones et la vitamine C au niveau des sites d'action de la vitamine E, à l'interface entre les lipides et l'eau .Le potentiel antioxydant de l' α -tocophérol est important malgré sa faible concentration membranaire (Sekli-B. ,2011).

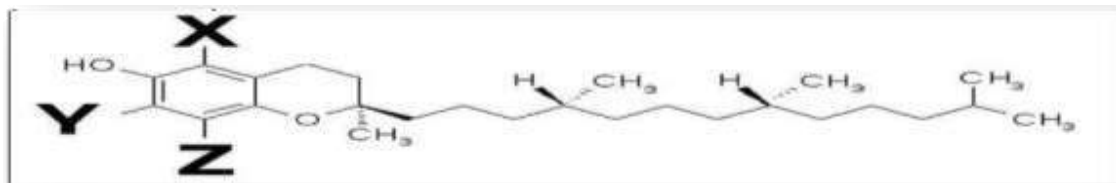


Figure 28 : Structure chimique de base des tocophérols.
X, Y et Z = H ou CH₃ (Sekli-B.,2011).

➤ Le β -carotène

Les caroténoïdes sont des éboueurs éminents de l'oxygène singlet et des radicaux peroxydes (Figure 29),(Grar., 2017).

Il existe plusieurs membres dans le groupe des caroténoïdes, mais le caroténoïdes le plus connu et étudié est le β - carotène, qui est un puissant antioxydant capable d'étancher rapidement l'oxygène singlet .Le β - carotène protège les acides gras de l'oxydation ; l'ajout d'un deuxième antioxydant permet sa préservation (Grar., 2017).

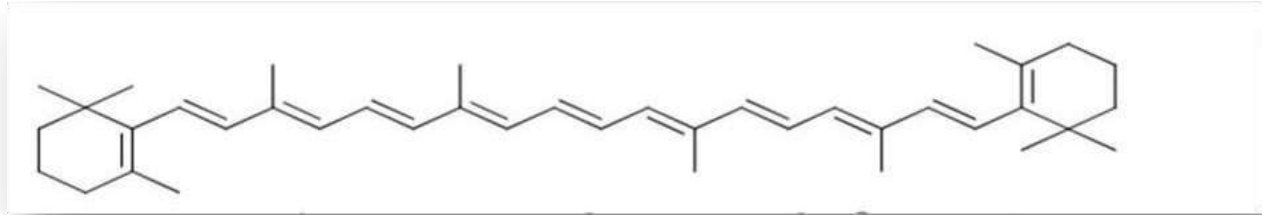


Figure 29: structure chimique du β -carotène (Grar., 2017).

➤ Les oligoéléments

1/ Le sélénium (Se)

Est un oligo-élément de numéro atomique 34 et de masse atomique 78,96. Le sélénium a un grand nombre de fonctions biologiques dans l'organisme humain, l'action la plus importante et la plus connue est son effet antioxydant, car il constitue la sélénocystéine, qui est une partie du centre actif de l'enzyme glutathion peroxydase. Il a été démontré que dans toutes les enzymes, dites séléno dépendantes, la sélénocystéine constitue le site actif (Krim., 2014).

2/ Le zinc (Zn)

Le zinc est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques et joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides. Il permet la production des prostaglandines (composés pouvant exercer une action anti-inflammatoire) à partir des acides gras polyinsaturés (Oméga 3 et 6). Il stabilise diverses hormones : insuline, gustine, thymuline. Ainsi, il est indispensable aux défenses immunitaires (Florence., 2017).

IV. Stress oxydant

Définition

Les ERO sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables : leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants. Ainsi, à l'état quiescent, on dit que la balance antioxydants/prooxydants (balance redox) est en équilibre. Cependant cette homéostasie redox peut être rompue, soit par une production excessive d'ERO, soit par une diminution des capacités antioxydante. On parle alors de stress oxydant (Camille *et al.*, 2011).

Le stress oxydant est défini par un déséquilibre profond entre les antioxydants et les peroxydants en faveur de ces derniers. Cette situation peut résulter d'une déficience ou défaillance en

systèmes antioxydants, des troubles de production, de distribution ou d'une abondance accrue des peroxydant (**Figure30**), (**Pincemail et al., 2002**), (**Brenneisen et al., 2005**).

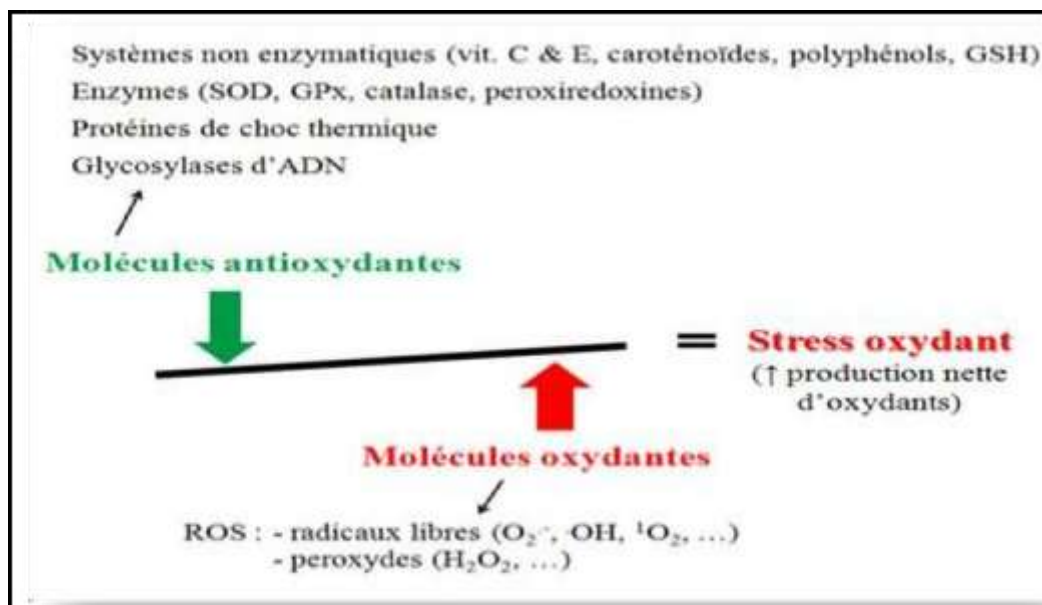


Figure 30: Composantes de la balance entre les molécules anti- et pro-oxydantes. GPx : Glutathion peroxydase, GSH : glutathion réducté, H_2O_2 : peroxyde d'hydrogène, O_2^- : superoxyde anion, $\cdot OH$: radical hydroxyle, 1O_2 : oxygène singlet, SOD : superoxyde dismutases (**Marie-Eve., 2012**).

Les conséquences du stress oxydant sur les biomolécules

Les dommages induits par les ERO sont : une peroxydation des lipides, une oxydation des protéines, des mutations de l'ADN. Ces altérations peuvent conduire à des pertes de fonction et d'intégrité, voire à la mort cellulaire notamment par l'intermédiaire de l'apoptose (mort cellulaire programmée) (**Baratli., 2015**).

➤ La peroxydation lipidique

Les premières cibles des ERO sont les lipides, notamment ceux présents dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation en raison de leur degré élevé d'insaturation. L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont eux-mêmes très réactifs. La peroxydation de lipides induit une diminution de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (**Baratli., 2015**).

Elle fournit également une grande variété de produit qui peut réagir avec les protéines et l'ADN (**Baratli.,2015**).

➤ **Acides nucléiques**

Les EROs, et plus particulièrement le radical hydroxyle (HO•), peuvent induire des cassures de l'ADN, des mutations ponctuelles (simple ou double brins) ou bien altérer les systèmes de réparation. des nitrations ou des méthylations des bases. Ces modifications vont ainsi perturber la transcription et la traduction par la suite, aboutissant à la formation d'une protéine tronquée et/ou non fonctionnelle. Ces altérations sont souvent à l'origine des phénomènes de mutagénèse, carcinogénèse ou encore de vieillissement prématuré (**Valko et al. , 2006**).

➤ **Carbonylation des protéines**

Les protéines sont également les cibles des ERO et le stress oxydant induit leur oxydation qui est également observée au cours du vieillissement. L'oxydation des protéines entraîne des modifications des acides aminés aboutissant à une perte de fonction des protéines. De manière générale ces protéines oxydées ne sont pas réparées mais sont dégradées par le protéasome. La carbonatation des protéines est utilisée comme marqueur d'oxydation. Elle a lieu au niveau des résidus lysine, arginine, proline et thréonine. La carbonylation peut être directe ou une conséquence de la peroxydation des lipides (**Alexis., 2014**).

Les ERO peuvent aussi dénaturer les protéines de soutien tel que le collagène et aussi les protéines circulantes comme l'albumine ou la transferrine. Les protéines de reconnaissance moléculaire (enzymes, anticorps ou récepteurs membranaires) sont aussi des cibles de l'oxydation radicalaire. Les attaques s'effectuent préférentiellement sur les acides aminés portant des chaînes latérales aromatiques (phénylalanine, tyrosine, histamine, tryptophane) et sur les acides aminés soufrés (**Lehucher Michel et al.,2001**).

Chapitre 4 :Alzheimer

I. Introduction

La maladie d'Alzheimer se caractérise par une démence qui commence généralement par un échec de reconnaissance subtil et une mauvaise mémoire. Elle s'aggrave lentement et finit par devenir incapacitante. Le système cholinergique semblait particulièrement sensible à la perte synaptique, surtout dans les régions corticales associées à la mémoire et aux fonctions exécutives. Des études récentes ont montré que la principale cause de la perte des fonctions cognitives chez les patients atteints de la MA était un déclin continu de la neurotransmission cholinergique dans les régions corticales et autres du cerveau humain. L'acétylcholinestérase (AChE) et la butyrylcholinestérase (BChE) sont des enzymes hydrolytiques qui agissent sur l'acétylcholine (ACh) et butyrylcholine (BCh) pour arrêter son action dans la fente synaptique en clivant le neurotransmetteur en choline et acétate. Les deux enzymes sont présentes dans le cerveau et détectées dans les enchevêtrements neurofibrillaires et les plaques neuritiques. Il a été suggéré que l'AChE prédomine dans le cerveau sain et que le BChE joue un rôle mineur dans la régulation des niveaux d'ACh dans le cerveau. Cependant, l'activité de la BChE augmente progressivement chez les patients atteints de la MA, tandis que l'activité de l'AChE demeure inchangée ou diminue. Les deux enzymes représentent donc des cibles thérapeutiques légitimes pour améliorer le déficit cholinergique considéré comme responsable du déclin des caractéristiques cognitives, comportementales et fonctionnelles globales de la MA. Malgré l'étiologie inconnue de la maladie d'Alzheimer, ces résultats confirment qu'elle est nécessaire pour contrôler l'activité du cholinestérase (ChE) à différents stades de son évolution. L'une des stratégies de traitement les plus efficaces a été suggérées pour limiter la fonction cholinergique et élever le niveau d'ACh en inhibant l'AChE et le BChE. Par conséquent, des inhibiteurs de l'AChE et de la BChE ont été mis au point pour le traitement de la MA (Satish .,2016).

II. Acétylcholinestérase ou cholinestérase globulaire ou encore cholinestérase vraie

Elle a une affinité presque exclusivement spécifique pour son substrat naturel, l'acétylcholine. Elle est synthétisée dans le globule rouge (où son rôle n'est pas connu) et le tissu nerveux. Elle est présente essentiellement au niveau des synapses dans le tissu nerveux et à la jonction neuromusculaire, dans la substance grise, les poumons et la rate. Son rôle physiologique est d'assurer le fonctionnement des synapses acétylcholinergiques, en évitant l'accumulation du neurotransmetteur. Elle est aussi présente de façon anormale dans le liquide amniotique au cours du défaut de fermeture du tube neural. La mesure de l'activité du cholinestérase globulaire permet de confirmer une intoxication aiguë ou chronique par un pesticide

organophosphoré. Dans le liquide amniotique, ce même cholinestérase est présent au cours d'une pathologie grave de l'embryogenèse se traduisant par un défaut de fermeture du tube neural.(Figure 31) , (Cardon.,2005).

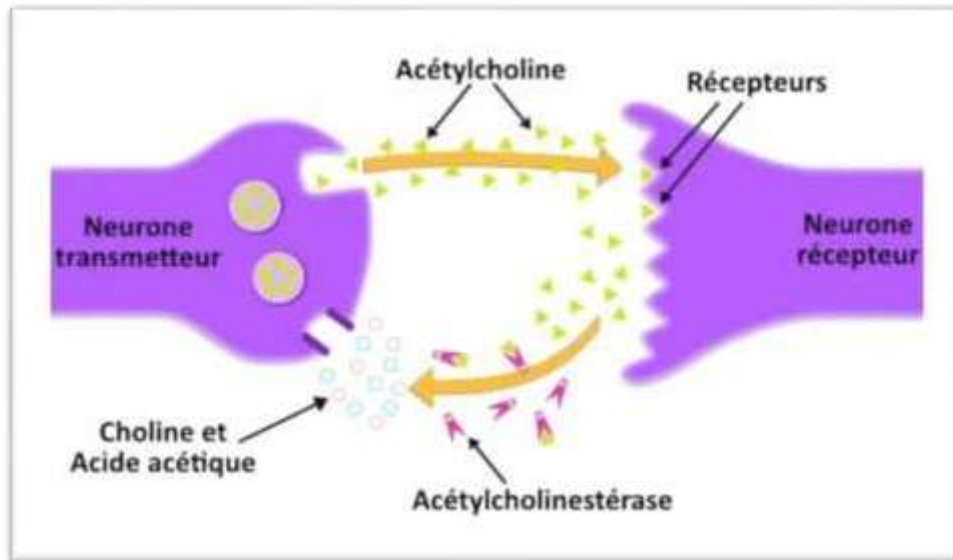


Figure 31 : Rôle de l'AChE au niveau des synapses (Ophélie.,2010).

Elle intervient dans les systèmes nerveux périphérique et central et joue ainsi un rôle majeur au niveau de la transmission de l'influx nerveux en éliminant l'acétylcholine (ACh), un neurotransmetteur cationique. L'ACh est libéré par le neurone présynaptique sous l'effet d'un potentiel d'action et diffuse dans la synapse pour se fixer à un récepteur cholinergique. Le potentiel d'action est ainsi transmis au neurone postsynaptique. A ce moment, l'AChE hydrolyse rapidement l'ACh, interrompant la transmission de l'influx nerveux (Figure32), (Ophélie.,2010).

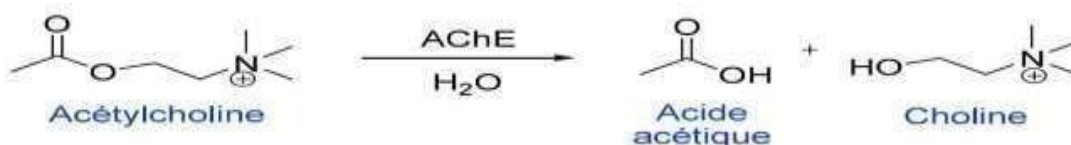


Figure 32 : Hydrolyse de l'acétylcholine par l'AChE (Ophélie., 2010).

Dans le système nerveux périphérique, lorsque l'ACh se lie à l'un de ses récepteurs sur les fibres musculaires notamment, des canaux à calcium s'ouvrent dans la membrane cellulaire, ce qui permet l'entrée d'ions calcium dans la cellule. S'ensuit alors une série d'étapes qui mènent à la contraction musculaire. Dans le système nerveux central,

l'acétylcholine intervient notamment dans l'apprentissage et la mémoire à court terme
(Ophélie ., 2010).

III. Butyrylcholinestérase ou cholinestérase sérique ou pseudocholinestérase

La butyrylcholinestérase (BChE) est une enzyme incriminée dans la genèse de différentes affections neurodégénératives et probablement neuropsychiatriques
(Mabrouk.,2011).

Elle a une affinité beaucoup plus large ; elle peut hydrolyser un grand nombre d'esters synthétiques et naturels, y compris l'acétylcholine et la succinylcholine. Elle est retrouvée dans le plasma ou le sérum, dans le foie (siège de sa synthèse), le pancréas, l'intestin et d'autres tissus. Son rôle physiologique n'est actuellement pas connu. Le dosage de chacune de ces enzymes est effectué par une technique colorimétrique, mesurant la cinétique d'hydrolyse à l'aide d'un substrat défini : la butyrylthiocholine pour le cholinestérase sérique (très stable à température ambiante), l'acétylthiocholine pour le cholinestérase globulaire. La mesure de l'activité enzymatique du cholinestérase sérique est indiquée comme témoin de l'intoxication par les insecticides organophosphorés au cours du suivi biologique des travailleurs exposés et à chaque fois qu'une intoxication aiguë accidentelle est suspectée. Il est inutile d'évaluer son inhibition au cours d'une intoxication par les carbamates, car la liaison est rapidement réversible (y compris dans le tube d'échantillon après le prélèvement). Elle est utile également pour évaluer une atteinte hépatique grave (diminution de sa synthèse) et rechercher une anomalie de production qualitative se traduisant par un ralentissement de la destruction de certains types de curarisants : son activité est dans ce cas généralement au-dessous de la normale **(Cardon.,2005).**

***Chapitre 5 : Activité
antibactérienne***

1. Introduction

Il est connu que le traitement des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. Mais, la consommation à grande échelle de ces « médicaments » a entraîné la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouveaux substituts, surtout les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration dans les recherches médicales (**Shtayeh et al .,1998**).

Alors, la recherche d'une nouvelle molécule naturelle contre plusieurs microorganismes contagieux et nocifs, est devenue très importante pour trouver un diagnostic et éviter les maladies mortelles (**Shtayeh et al., 1998**).

2. L'infection bactérienne

Une infection bactérienne est un ensemble de troubles qui résultent de la pénétration d'une bactérie pathogène dans un organisme. Elle peut être :

- locale, lorsqu'elle se manifeste uniquement au niveau où les germes ont pénétré.
- Générale : lorsqu'un germe franchit les barrières opposées par l'organisme à son entrée (peau, muqueuses) ou au niveau des ganglions, il pénètre dans le sang et se dissémine par celui-ci dans tout l'organisme.
- focale : c'est l'infection en foyer dans les tissus ou organes où les germes sont apportés par la circulation sanguine (**Shtayeh et al.,1998**).

3. Définition d'une bactérie

Les bactéries sont des êtres unicellulaires dont le noyau n'est pas nettement séparé du cytoplasme (procaryotes).

Elles se développent et se reproduisent de façon autonome par scissiparité (division en deux cellules identiques). Leur génome est constitué d'ADN (**Goita ., 2013**).

4. Structure d'une bactérie

Les bactéries ont une structure presque commune. La figure 33 montre les principes constituants des bactéries.

➤ Cytoplasme

Contient de nombreux ribosomes et un chromosome fait d'ADN à double brin, .On peut trouver chez certaines bactéries un ou plusieurs plasmides (des molécules d'ADN

circulaires plus petit que les chromosomes, et n'est pas nécessaire celle-ci se multiplie dans des conditions favorables) (Charles *et al.*, 2005).

➤ **La capsule**

Certaines bactéries possèdent une capsule recouvrant la paroi, souvent épaisse, elle a un rôle important dans le pouvoir pathogène de certaines bactéries, en empêchant la phagocytose (Charles *et al.*, 2005).

➤ **Les appendices**

Certaines bactéries peuvent se déplacer dans un milieu liquide grâce à des flagelles de nature protéique. Ces flagelles peuvent être disposés tous autour de la bactérie (disposition péritriche) ou bien seulement à un pôle (Charles *et al.*, 2005).

➤ **Les Plis**

Sont des éléments rigides plus courts que les flagelles, de nature protéique, ils peuvent intervenir dans les interactions avec d'autres bactéries ou avec les cellules eucaryotes (Charles *et al.*, 2005).

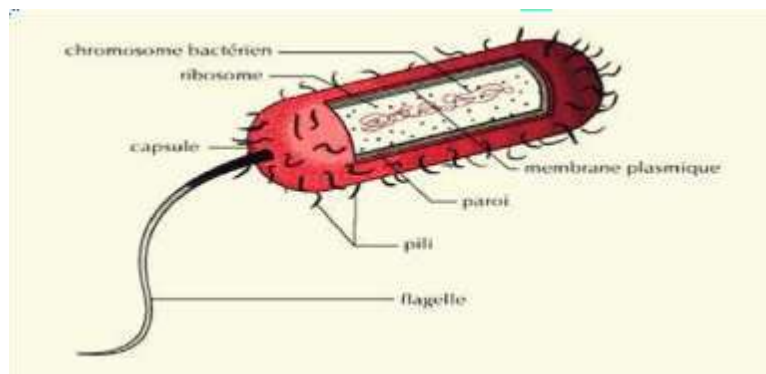


Figure 33 : Structure d'une bactérie (Jean-marie *et al.*, 2010).

➤ **La membrane cytoplasmique**

Elle contrôle les échanges de la cellule avec l'extérieur et contient le système de transport des électrons, impliqué dans la production d'énergie (Charles *et al.*, 2005).

➤ **La paroi**

C'est une structure rigide, responsable de la forme des bactéries, et leur permettant de résister à la lyse osmotique, après la coloration de Gram on distingue des bactéries Gram positives et Gram négatives (Charles *et al.*, 2005).

5. Description de quelques bactéries

➤ **Escherichia coli**

E. Coli c'est une bactérie immobile ou mobile avec une structure flagellaire péritriche et non sporulée ; sa température optimale de croissance est de 37°C. Elle est capable de croître sur des milieux ordinaires (**King et al., 2014**).

C'est une bactérie ubiquitaire retrouvée dans l'eau, dans les sédiments et en abondance dans l'intestin de l'homme et de nombreux animaux à sang chaud, où elle joue communément le rôle de bactérie commensale. Cependant, suite à l'acquisition et la combinaison de facteurs de virulence, cette espèce bactérienne peut également se comporter comme un microbe pathogène à localisation intestinale (**Ayad .,2017**).

➤ **Pseudomonas aeruginosa**

Est un bacille à Gram négatif ubiquitaire, présent notamment dans le sol et dans les milieux aquatiques, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Il mesure de 1 à 5 µm de long et de 0,5 à 1 µm de large. Bien que ce pathogène, ayant un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobie stricte, plusieurs isolats ont montré une capacité à croître en milieu anaérobie. P.a est une bactérie mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire. (**christiane .,2013**).

P.a est une bactérie mésophile capable de se multiplier à l'intérieur d'un large spectre de température allant de 4 à 45°C. La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C (**christiane .,2013**).

➤ **Staphylocoque aureus**

S. aureus est de forme sphérique (coque) et se regroupe généralement en amas. Cette bactérie se caractérise par la pigmentation dorée de ses colonies, justifiant le nom vernaculaire de « staphylocoque doré ». Ces *cocci* mesurent de 0,5 à 1,5µm de diamètre, sont immobiles, non sporulés et gram positive. Elle possède un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif, non-exigeante, elle est facilement cultivable en milieu gélosé classiques (**Solène .,2014**).

Staphylocoque Aureus fait partie de la flore commensale de l'Homme et de l'animal. Elle est présente sur la peau et les muqueuses, notamment au niveau des voies aériennes respiratoires supérieures et dans les intestins (**Solène .,2014**).

➤ *Acétobacter boumannii*

Les souches du genre *Acinetobacters*, ont constituées de coccobacilles à Gram négatif, non fermentant, immobiles, aérobies strictes, catalase positive et oxydase négative.

L'Acinetobacter croît rapidement sur des milieux usuels (gélose de sang de mouton ou de soja tryptique) à 37°C. Les colonies apparaissent lisses, opaques, de couleur jaune pâle à grisâtre, La forme est sphérique et généralement par paires ou en amas (Solène.,2014).

➤ *Streptococcus pneumoniae*

Le pneumocoque se présente de façon caractéristique dans les produits pathologiques sous forme de diplocoques immobiles sporulés, capsulés à Gram positif appariées par leurs extrémités pointues. La culture du pneumocoque est délicate en raison de sa tendance à la lyse spontanée ou autolyse. L'intervalle de température optimale la culture est de 25°C à 42°C. En routine, on cultive le germe entre 35°C et 37°C. Le pH optimal pour la culture est de 7,8. La présence de 5 à 10% de CO₂ est indispensable en primo culture. Cependant, l'anaérobiose stricte est meilleure pour le développement des pneumocoques.(Bere-C.,2010)

Le pneumocoque exige un milieu nutritifs enrichis au sang, soit des milieux supplémentés de composés thiolés (Bere-C.,2010).

***Partie II: Etude
expérimentale***

Chapitre 1: Matériel et méthodes

I. Matériel

Notre travail a été réalisé au niveau de:

- Laboratoire de biochimie, faculté de science de la nature et de la vie .université des Frères Mentouri Constantine Algérie.
- Centre de recherche en biotechnologie. Constantine. Algérie
- Laboratoire de microbiologie, Hôpital CHU. Constantine. Algérie.

Matériel végétal

Les essais ont été réalisés sur la partie aérienne du *Myrtus communis L* (feuilles et tiges), qui ont été récoltés en janvier 2019. Ensuite sont nettoyés et séchés à l'aire libre et à l'abri du soleil avec une température ambiante pour ne pas détruire les constituants de la plante, puis les feuilles et les tiges sont broyées grossièrement par un broyeur électrique (Figure37).

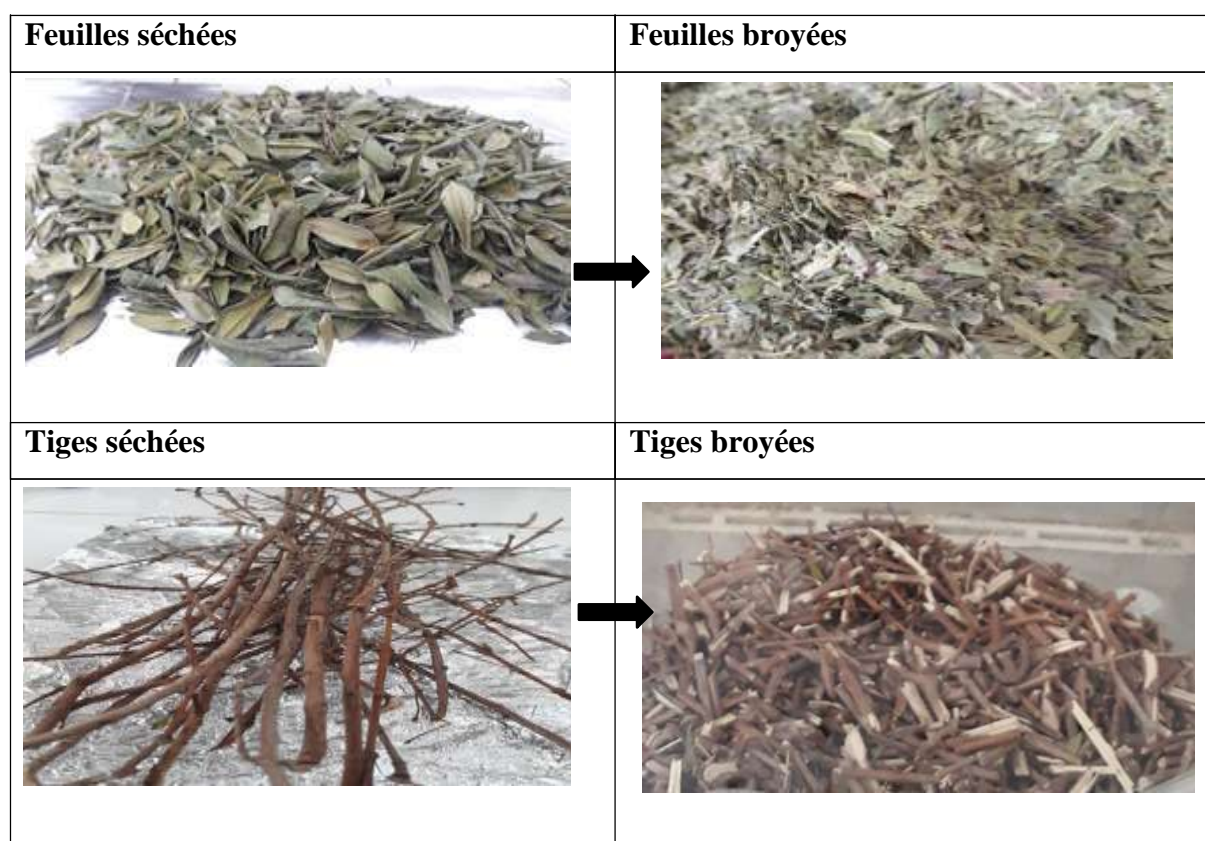


Figure 34:Partie arienne de *Myrtus communis L* : tiges et feuilles Séchées puis broyées (Photos original).

Lieu de la récolte

L'espèce *Myrtus communis L.* a été récolté dans la willaya du Jijel exactement El-Milia, elle se situe au Nord-est de l'Algérie. Elle est à 72km de la ville de Constantine, 57 km de la ville de Jijel, et à 15 km de la mer méditerranée, (GeoCities.,2009), (Figure 35).

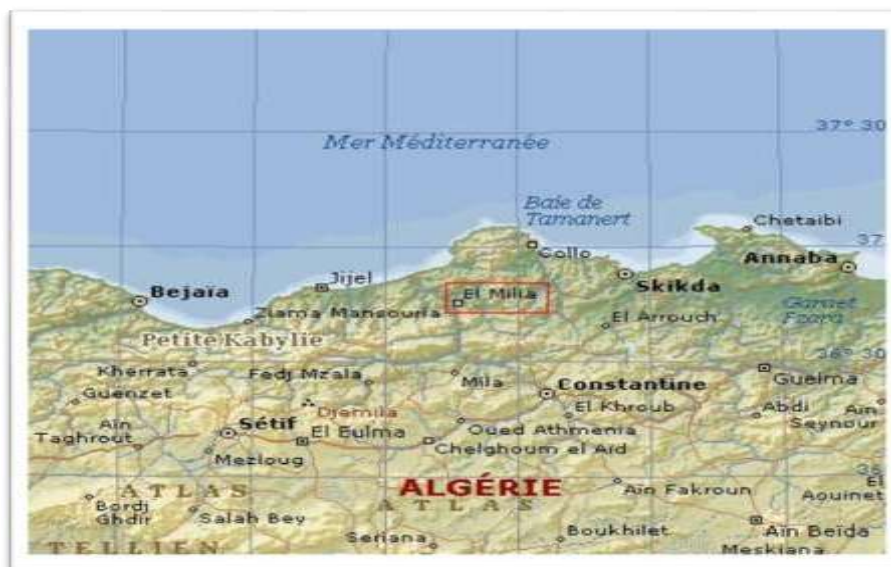


Figure 35: Lieu de la récolte de *Myrtus communis L.*
(Anonyme 4)

- **Caractéristiques de la région :**

Surface	232.07 km ²
Relief	Montagneux très accidentés 82
Climat	Méditerranéenne

Matériel de l'activité antibactérienne

- ❖ **Activité antibactérienne :**

- Les souches bactériennes utilisées sont :

Les souches bactériennes ATCC comme souche de référence : *E. coli*, *staphylococcus doré*, *Pseudomonas* (Figure36) ..

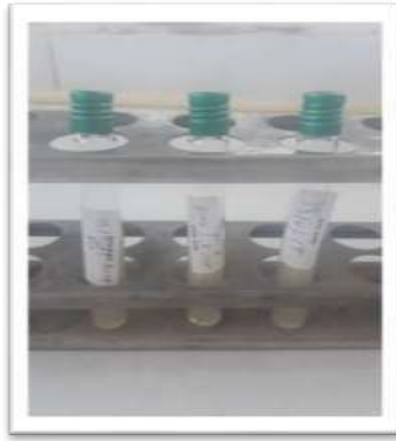


Figure 36 : Souches bactériennes ATCC (**Photo original**).

- Des souches prélevées à partir des patients : *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pneumoniae* (**Figure 37**).

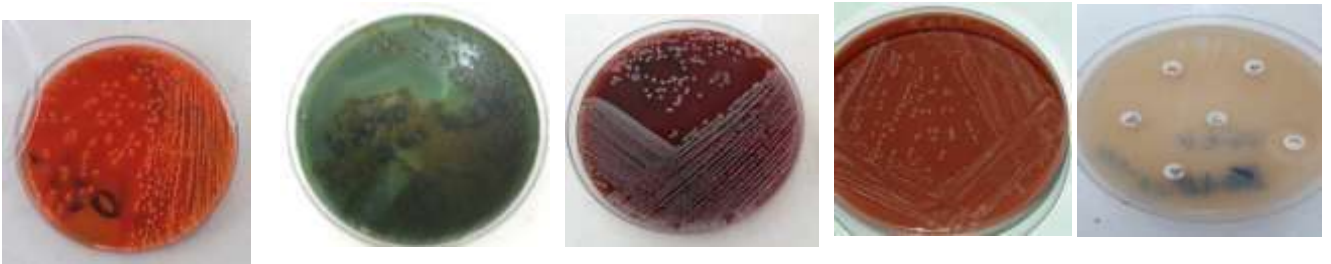


Figure 37 : Souches prélevées à partir des patients (**photo original**).

- Milieu de culture : chapmane, hektoen, gélose au sang cuit, (Mueller –Hinton), bouillon nutritive (**Figure 38**).



Figure 38: Milieux de culture (**photo original**).

II. Méthodes

La préparation des extraits

L'extraction est effectuée par épuisement successive du matériel végétal, en utilisant deux solvants à polarité croissante : éther de pétrole (EP), et méthanol (MeOH), les deux extraits : d'éther de pétrole et de méthanol (tiges et feuilles) sont réalisé par la méthode de macération qui permet d'effectuer une extraction solide- liquide.

Préparation de l'extrait d'éther de pétrole

50g de poudre des feuilles de la plante ont été extraits avec 500 ml de éther de pétrole, et 25g des tiges ont été extraits avec 250 ml d'éther de pétrole, les deux sont mis en macération pendant 24 heures et sous agitation à température ambiante (**Figure39**).



Figure 39: Extrait d'éther de pétrole pour les feuilles et tiges de *Myrtus communis* L (Photos originales).

Après 24 heures, le mélange a été filtré sous vide à l'aide d'un Büchner sur un papier filtre (Figure (A ,B),40).

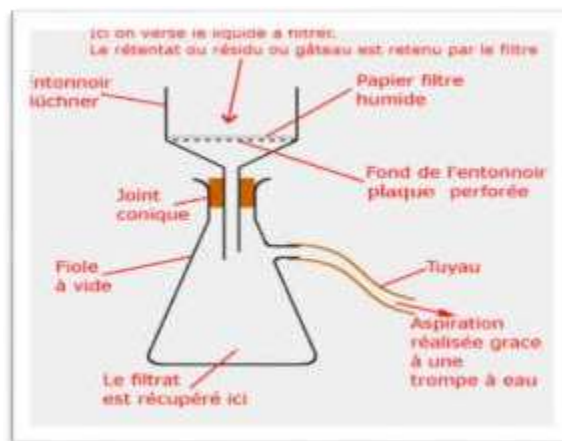


Figure A,40: Filtration sous vide à l'aide d'un Büchner (photo original).

Figure B, 40: Filtration sous vide-Buchner

Le résidu est ensuite concentré par évaporation rotative dans un rota –vapeur (Buchi.R-210), à une température de 40 °C (Figure(A ,B),41).

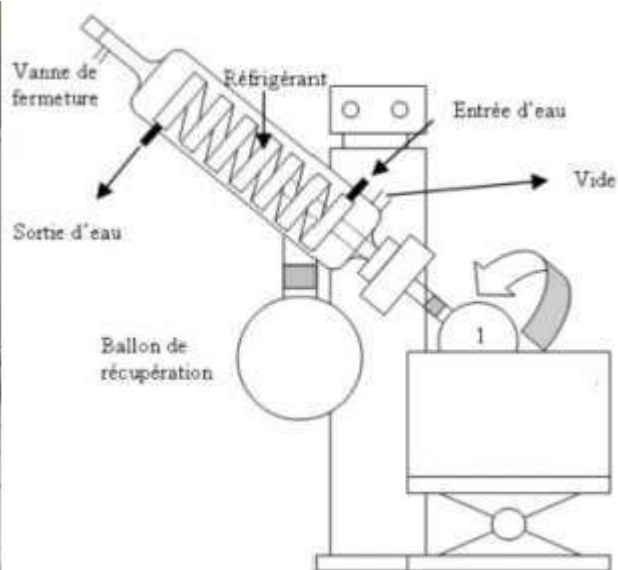


Figure A, 41 : Rota –vapeur (photo original)

Figure B, 41: Diffèrent partie d'un rota-

L'extrait a été récupéré dans une boîte de pétri, (**Figure 42,43**).

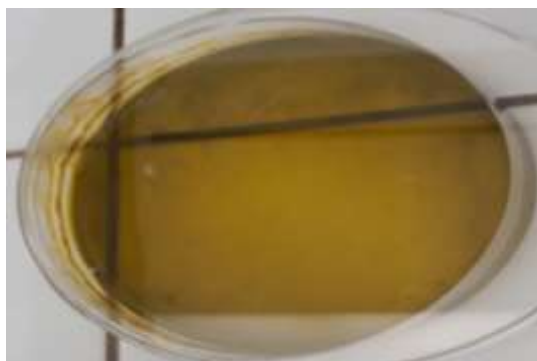


Figure 42: Extrait d'éther de pétrole des feuilles de *Myrtus communis* L.

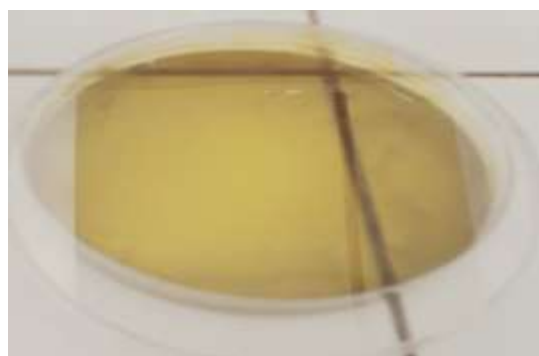


Figure 43: Extrait d'éther de pétrole des tiges de *Myrtus communis* L.

Préparation de l'extrait hydro-alcoolique

La matière végétale (tiges et feuilles) récupérée après l'élimination de la chlorophylle et la matière grasse a été mise en macération dans un solvant formé par: Sept volumes méthanol et trois volumes l'eau distillée. Après une macération de 24 heures et sous agitation à la température ambiante, la préparation a été filtrée (**Figure44**).



Figure44 : Extrait hydroalcoolique des feuilles et tiges de *Myrtus communis* L. (**Photos originales**)

Cette opération a été répétée deux fois successivement avec le changement de système solvant chaque 24 heures. Les deux filtrats obtenus sont regroupés dans un erlenmeyer ensuite évaporer à l'aide d'un rota-vapeur à la température de 40 °C.

L'extrait hydro-alcoolique brut a été récupéré dans des boîtes de pétri. (**Figure45**).

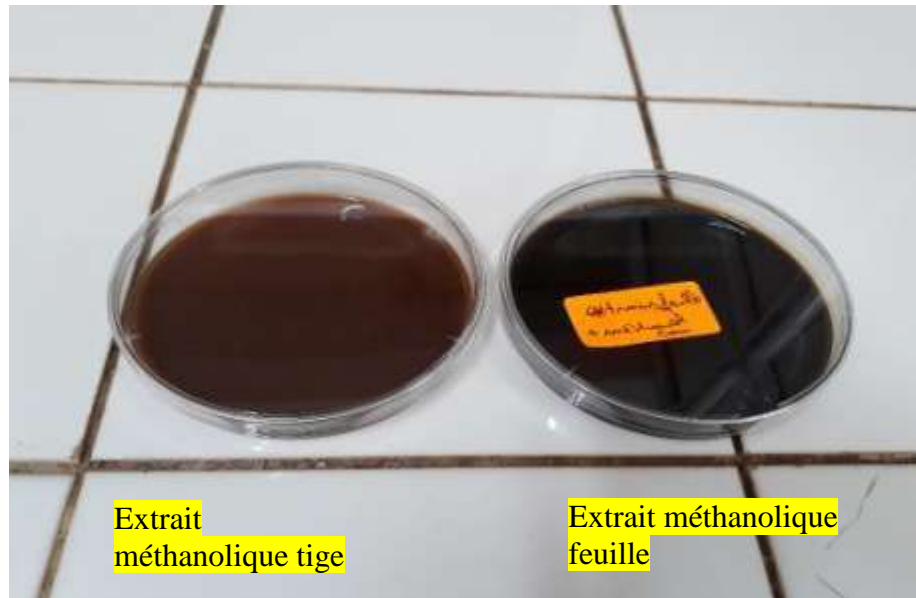


Figure 45 : Extrait méthanolique de tiges et feuilles de la plante *Myrtus Communis L.* (photo original)

Calcul de rendement des extraits

Le rendement en pourcentage de la plante en extrait sec a été calculé par la formule :

$$R(\%) = (M/M_0) * 100$$

R(%) : rendement en pourcentage.

M : masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀ : masse en gramme du matériel végétal de départ.

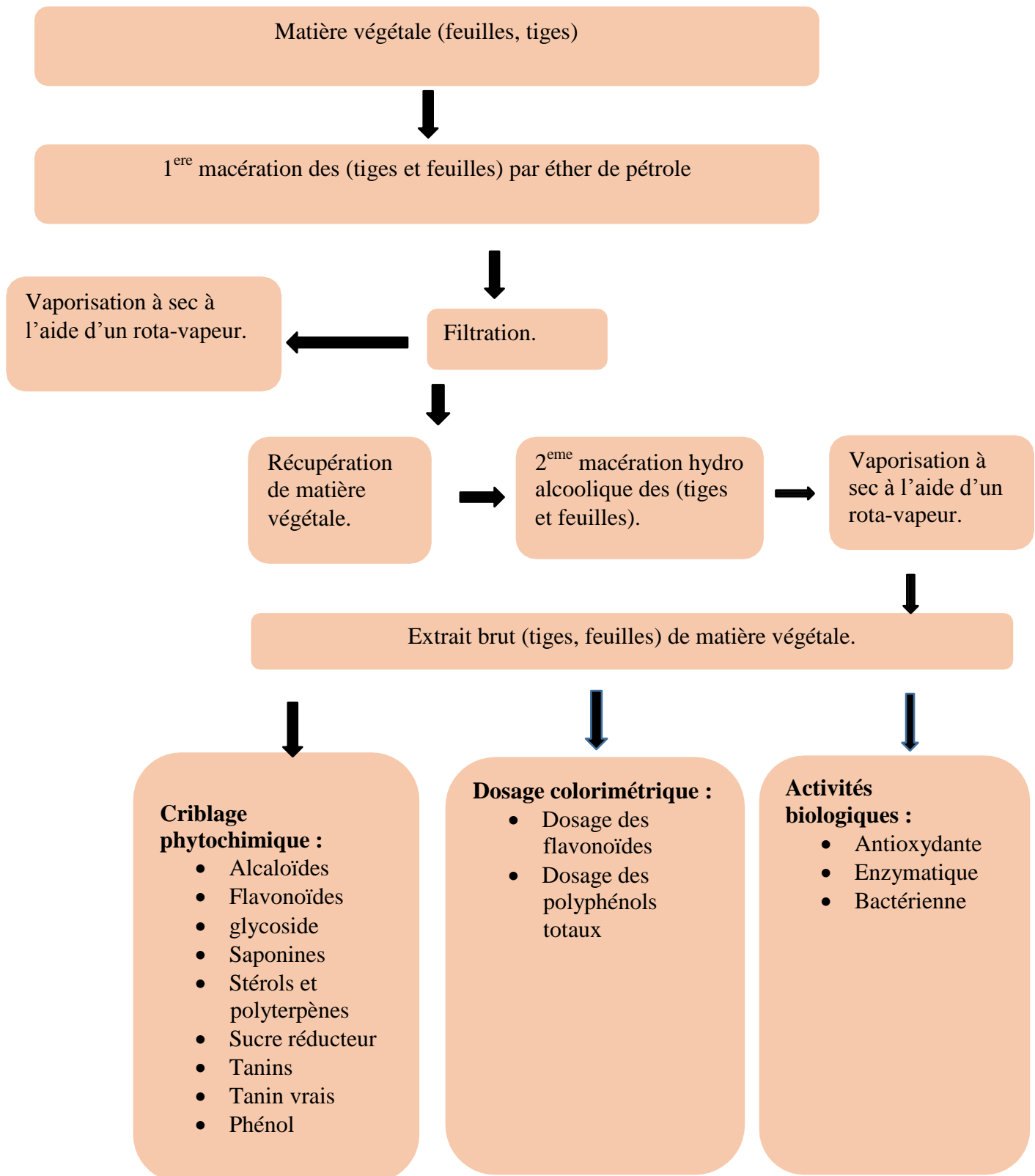


Figure46 : Protocole d'étude expérimentale.

Criblage phytochimique

Le criblage photochimique est une analyse qualitative basée sur des réactions de précipitations et / ou de colorations.

Les métabolites secondaires sont mis en évidence par une étude phytochimique qui consiste à caractériser les différentes familles de molécules existantes dans une plante **(Bruneton., 1999)**.

✓ **Alcaloïdes**

Test fondé sur la capacité des alcaloïdes à se combiner avec les métaux lourds Test de Mayer : L'extrait méthanolique est repris dans quelques ml d'HCl 50%.

La formation d'un précipité jaune, après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer, témoigne de la présence d'alcaloïdes **(Dohou et al., 2003)**.

✓ **Flavonoïdes (Cyanidine)**

L'extrait méthanolique dissout dans 1ml HCl et quelques copeaux de magnésium, l'apparition d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre indique une réaction positive. **(Najaa et al., 2011)**.

✓ **Flavonoïdes glycosides**

1 ml d'hydroxyde de potassium KOH à 1 % est ajouté à 2 ml de l'extrait dilué dans le méthanol. L'apparition d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes glycosides. **(Iqbal et al., 2011)**.

✓ **Saponines**

Leur présence est déterminée quantitativement par le test de la mousse, dans des conditions déterminées, l'extrait repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduit dans un tube à essai est agité vigoureusement, la formation d'une mousse (hauteur supérieur de 1cm) stable persistant pendant 15 min, indique la présence de saponines **(Yves-Alain et al., 2007)**.

✓ **Stérols et poly-terpènes**

Ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Le résidu est dissout dans 1 ml d'anhydride acétique ; nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât.

L'apparition, à l'interphase, d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive (**Koffi et al., 2009**).

✓ **Sucres réducteurs**

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence dans les extraits par le réactif de Fehling. 5 ml d'extrait brut sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70°C indique une réaction positive. (**Yves-Alain et al., 2007**).

✓ **Tanins**

1,5 g de matériel végétal sec sont placés dans 10 ml de MeOH 80 %. Après 15 minutes d'agitation, les extraits sont filtrés et mis dans des tubes secs. L'ajout de FeCl₃ à 1 % permet de détecter la présence ou non des tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchiques (**Dohou et al., 2003**).

✓ **Tanins vrais**

Un aliquote d'extrait repris dans 2ml d'eau distillée, puis ajouter quelques gouttes d'HCl concentré le tout est chauffé au bain marie bouillant, la formation d'un précipité rouge indique un test positif (**Yves-Alain et al., 2007**).

✓ **Phénol**

2 ml de l'extrait méthanolique ont été mélangés avec 2 ml de l'éthanol à 96 %. L'ajout de quelques gouttes de FeCl₃ permet l'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée qui indique la présence de phénols (**Aissous et al., 2016**).

Dosage colorimétrique (spectrophotométrie)

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin Ciocalteu, qui a été décrite en **2007** par **Li** et ses **collaborateurs**.

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de Tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃) (**Ribéreau .,1968**). 200µl de l'extrait dilué est mélangé avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans de l'eau distillée. Après 4 minutes, ajouter 800µl de Carbonate de sodium à concentration de 7,5%, puis ajuster le volume à 3 ml avec l'eau distillée. Après une incubation du mélange réactionnel pendant 2 heures à température ambiante et à l'obscurité, L'absorbance est mesurée à 760nm. La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations (0 -0.1mg/ml), dans les mêmes conditions et les mêmes étapes de dosage (**Figure47**).

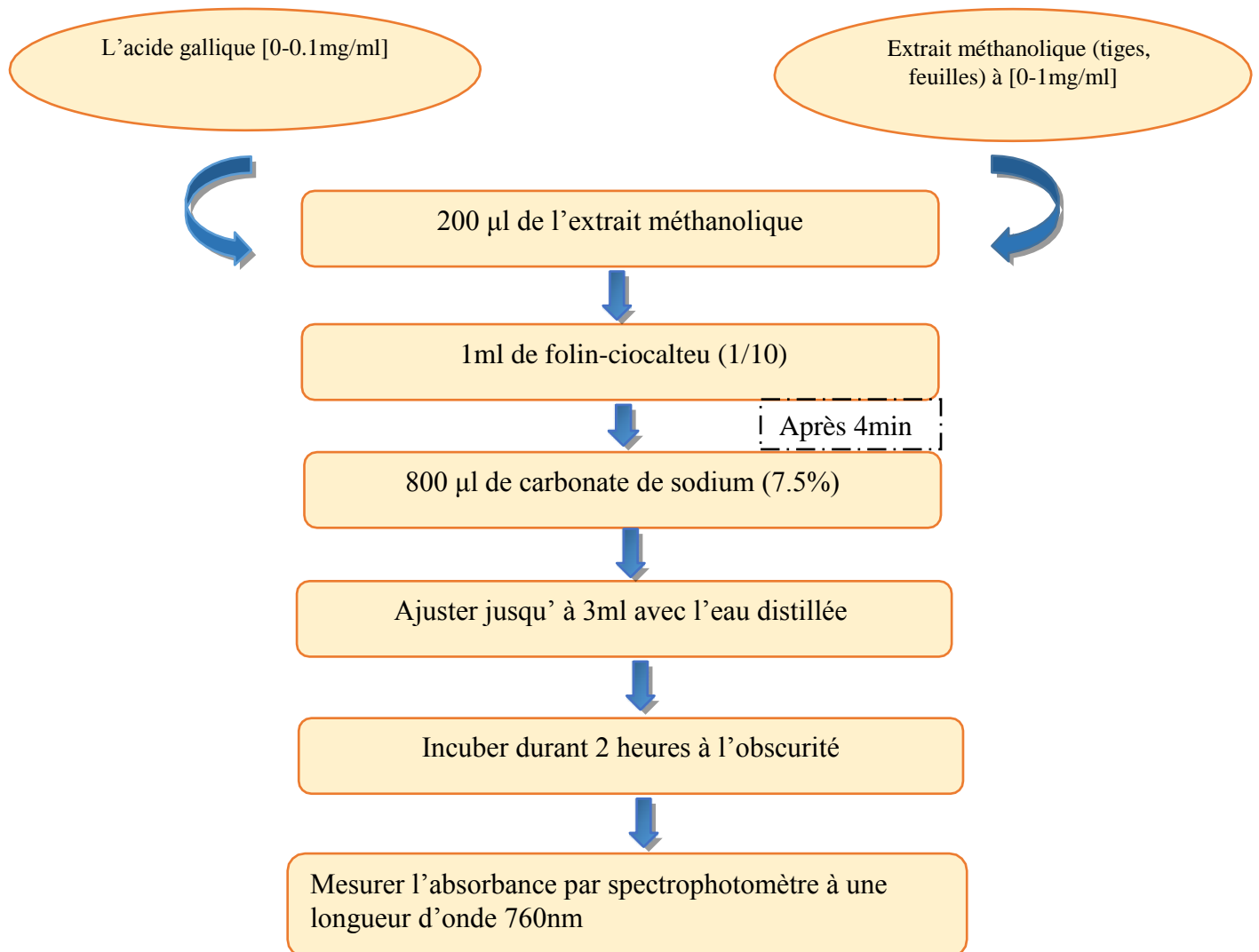


Figure 47: Dosage des polyphénols.

II.3.2. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes a été effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium. Elle est basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-Aluminium qui donne une coloration jaunâtre mesurable à 430 nm. Ceci est dû au fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneurs d'électrons (**Ribéreau ., 1968**).

✓ Le protocole

1ml d'extrait (tiges et feuilles) à concentration (1mg/ml) a été ajouté à 1ml d' AlCl_3 (2% dans le méthanol) ; Après 10min d'incubation à 37°C et à l'obscurité, l'absorbance est lue à 430nm. La concentration des flavonoïdes dans l'extrait a été calculée à partir d'une

courbe d'étalonnage $y = ax + b$ établie avec la Quercétine à différentes concentrations [0- 0.1] mg/ml (**Figure48**).

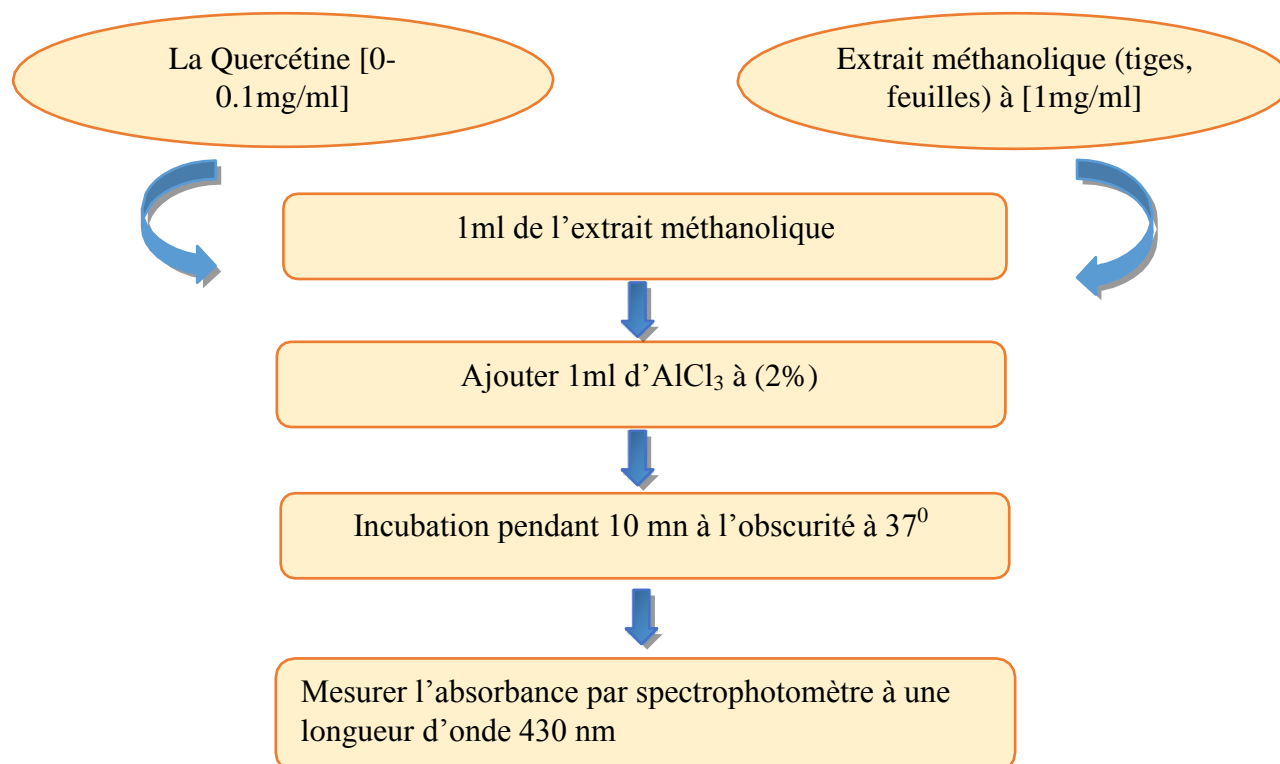


Figure 48: Dosage des flavonoïdes.

Evaluation des activités biologiques *in-vitro*

Les activités antioxydantes

Détermination de l'activité antioxydante par le teste DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α , α -diphényl- β picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont, d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, i.e. DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire (**Figure49**), (Cristina et al ., 2009).

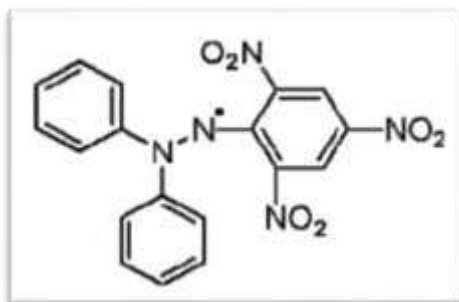


Figure49 : Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle) (Cristina *et al.*, 2009).

➤ **Principe**



Le DPPH (**Figure 53**) est un radical stable, présent en solution avec une coloration violette. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit par un capteur de radicaux libres. On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Où (AH) n symbolise un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH• (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H de couleur jaune. (Brand-Williams *et al.*, 1995).

➤ **Mode opératoire**

La méthode décrite par Tepe et autres (2005) a été employée. Différentes concentrations comprises entre [0-1 mg/ml] des échantillons étudiés (extrait tiges et feuilles) et de [0- 0,1 mg/ml] pour le témoin acide ascorbique.

50 µl d'une solution des échantillons et de témoin sont ajoutées à 2 ml de la solution de DPPH, après incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant .L'activité antiradicalaire est exprimée en pourcentage de DPPH réduit selon la formule suivante :

$$- A C] X 100$$

AAR (%) : Pourcentage de l'Activité Anti-Radicalaire.

AC : Absorbance en absence de l'extrait (contrôle négatif).

AE : Absorbance en présence de l'extrait.

La concentration d'extrait réduisant 50% de DPPH (IC50) est obtenue à partir de la courbe donnant l'AAR en fonction de la concentration de l'extrait. Le paramètre IC50 (concentration équivalente à 50% de DPPH perdu) est déterminé comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (Zerargui., 2015).

Réduction de fer

Principe

La réduction de l'ion Fe^{3+} est toujours utilisée comme indicateur des substrats donneurs d'électrons. La présence de réducteur dans les extraits cause la réduction du complexe Fe^{3+} /ferricyanure en fer ferreux (Fereira et al., 2007).



La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait contre un blanc qui permet de calibrer l'appareil (spectrophotomètre UV-VIS). Le contrôle positif est représenté par un standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons (Figure 50).

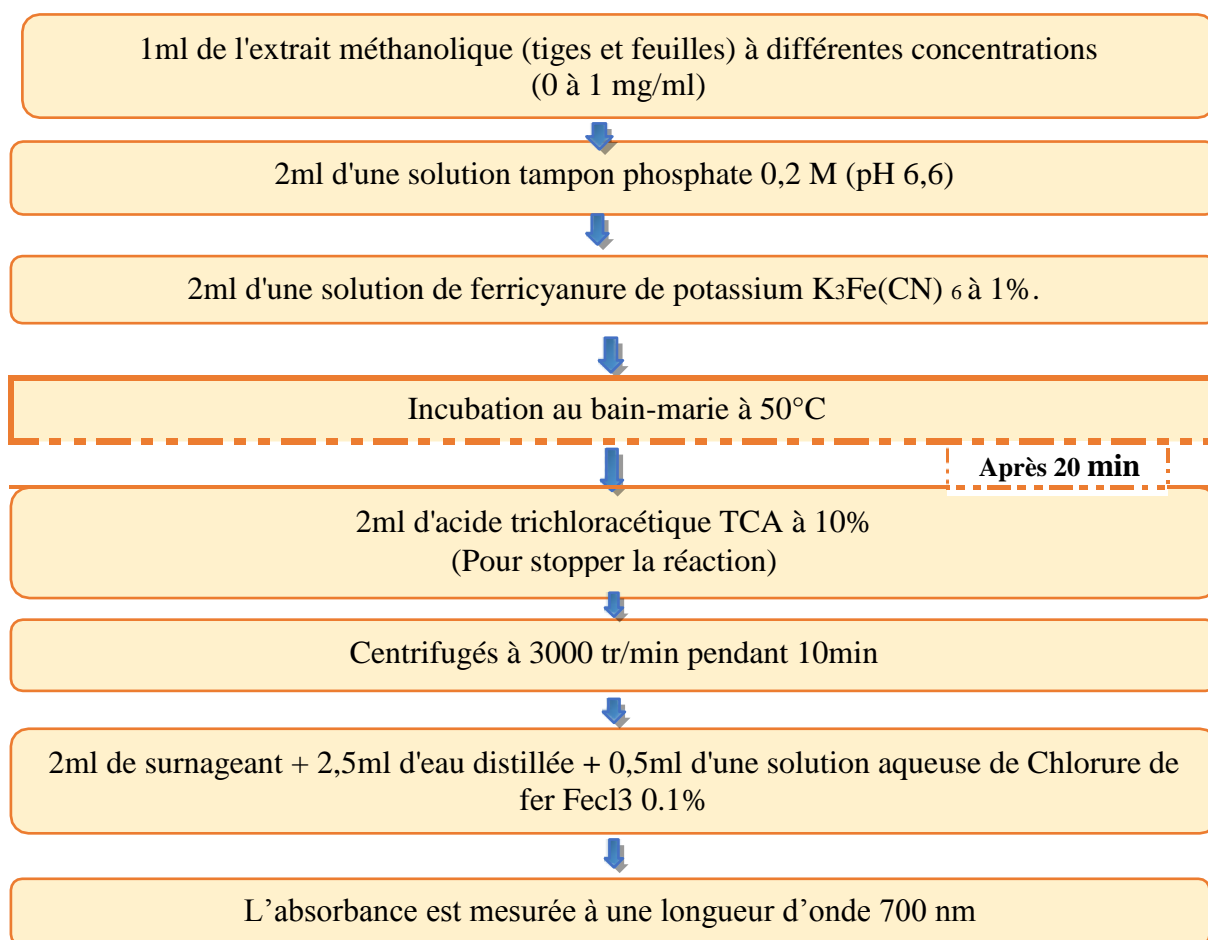


Figure 50 : Protocol du pouvoir réducteur (Seghaouil *et al.*, 2017).

Test par piégeage du radical ABTS

➤ Définition

Test ABTS radical (ABTS ou TEAC). Le premier test ABTS a été décrit en **1997** par **Miller *et al*** ; la méthode a été développée sur la base de l'absorbance du cation radical ABTS⁺ pour l'évaluation de la capacité antioxydante totale des fluides corporels et des solutions de médicaments.

ABTS: 2, 2'-Azinobis-(3-Ethylbenzthiazolin-6-Sulfonic Acid)).

TEAC: Trolox Equivalent Antioxidant Activity).

➤ Principe

Le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est stable sous sa forme libre. Ce radical est facilement formé à partir de l'acide correspondant par oxydation en présence de persulfate de potassium. D'autres oxydants peuvent être utilisés, tels que le dioxyde de manganèse (MnO₂) (**Figure51**).

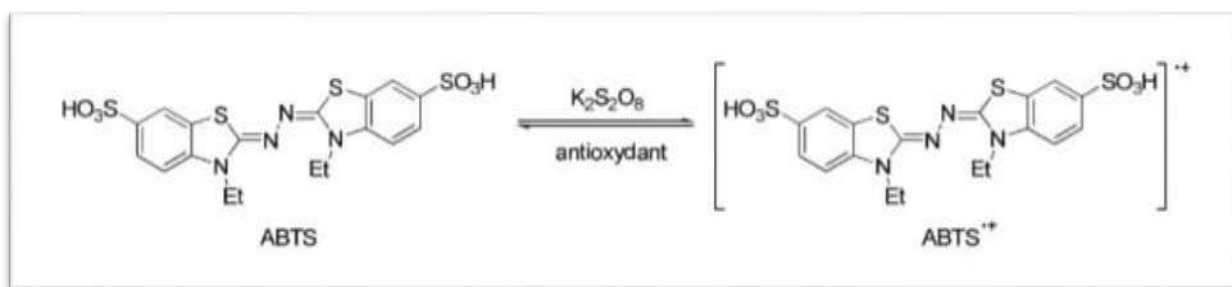


Figure51: Oxydation d'ABTS par le persulfate de potassium (**Brice., 2009**).

Ce radical est utilisé pour évaluer le pouvoir antioxydant de fluides biologiques, de mélanges complexes ou de composés purs. Il est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols, mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron. Ce radical est caractérisé par un spectre UV avec des maximums d'absorbance à 416, 650 et 734 nm. La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à ces longueurs d'onde. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cation entraîne sa réduction et une diminution de l'absorbance à 734 nm. Cette diminution dépend de l'activité antioxydante du composé testé mais souvent aussi du temps et de la concentration (**Figure 52**), (**Brice., 2009**).

➤ **Mode opératoire**

• **Méthode**

L'ABTS et du persulfate de potassium $K_2S_2O_8$: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12-16 h ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H_2O) a 0.700 ± 0.020 est lue à 734 nm avant l'usage. (Figure 52).

1. Préparation d'ABTS⁺

ABTS⁺ a été préparée par solubilisation de 19.2 mg de ABTS dans 5ml H_2O , 3.3mg (2.45 mM) ($K_2S_2O_8$) et 5 ml H_2O ; Le mélange est agité pendant 16 h à l'abri de la lumière. Pour former le radical cation ABTS⁺.

La solution diluée de radical ABTS⁺ est ajoutée à des solutions du *Myrtus communis L* à des concentrations variables, la concentration de la solution mère 0.5 mg/ml des tiges et feuilles. Pour chaque concentration, l'absorbance est mesurée, jusqu'à l'obtention d'un plateau.

Le pourcentage de réduction du radical ABTS⁺ est calculé selon la formule ci-dessous :

$$Q = 100 (A0 - AC)/A0$$

A0 = absorbance initiale en absence de composé à tester.

AC = absorbance mesurée au temps t.

Une courbe représentant la variation de la valeur de Q en fonction de la concentration du composé testé est alors tracée. Cela permet de déterminer l'EC50, concentration pour laquelle l'absorbance à 740 nm a diminué de 50 %. Pour plus de clarté, Les résultats seront indiqués sur les graphiques par l'inverse de l'EC50 (plus cette valeur est élevée, plus le composé est actif)

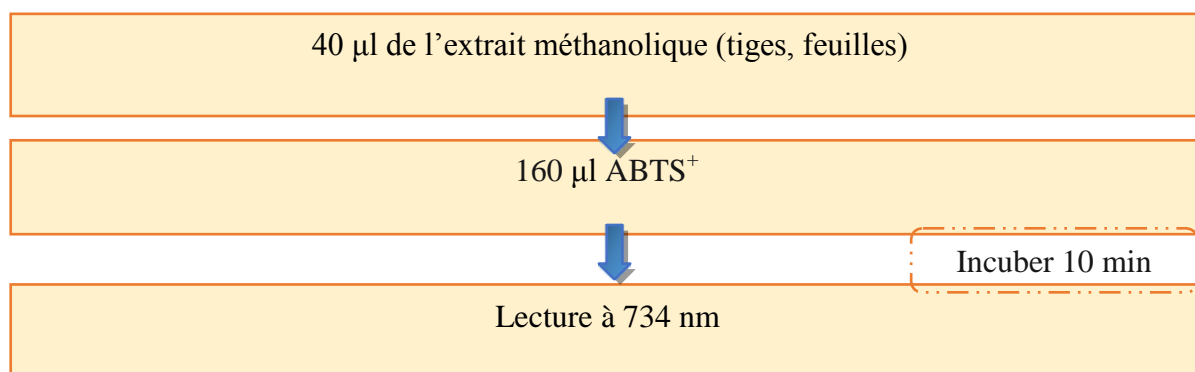


Figure 52: Protocol de l'activité ABTS (Re *et al.*,1999).

Evaluation de l'activité antioxydante par le phosphomolybdate

➤ Principe

Le test du pouvoir réducteur du Molybdate Phosphate est un essai direct qu'on emploie principalement pour mesurer la puissance des antioxydants non enzymatiques. Il repose sur la réduction des molybdates en Molybdène en présence des extraits en donnant une coloration verte détectable par l'UV à une longueur d'onde de 695nm (**Prieto et al. ,1999**).

➤ Mode opératoire

Le test phosphomolybdate (PPM) a été réalisé selon la méthode décrite par Prieto *et al.* En 1999 qui consiste à introduire dans un tube :(Figure 53).

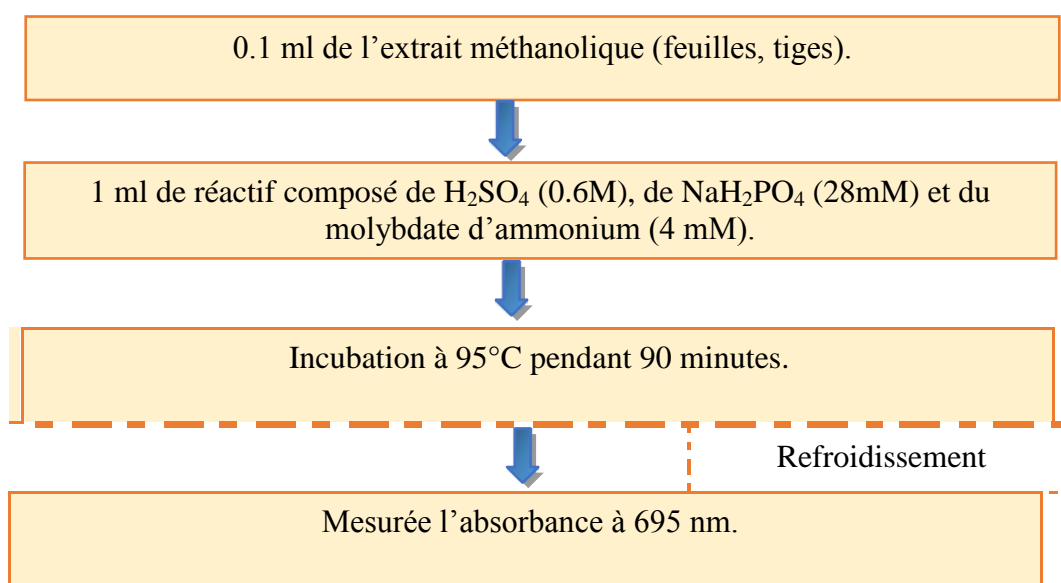


Figure 53: Protocol de l'activité le phosphomolybdate (**Prieto et al. ,1999**).

L'acide gallique est utilisé comme standard. La capacité antioxydante est exprimée en mg équivalent Acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS).

Activité enzymatique

Activité anticholinestérase

➤ Mode opératoire

On prend un seul eppendorff qui contient 20 µl de l'enzyme A « **AChE Solution** » et on ajoute 3 ml de tampon à PH = 8 puis on contrôle l'absorbance à 412 nm qui doit être entre 0.4-0.5.

On prend un seul eppendorff qui contient 20 μl de la solution B « **BChE Solution** » et on ajoute 2 ml de tampon à PH = 8 puis on contrôle l'absorbance à 412 nm qui doit être entre 0.4-0.5. (**Figure 54**).

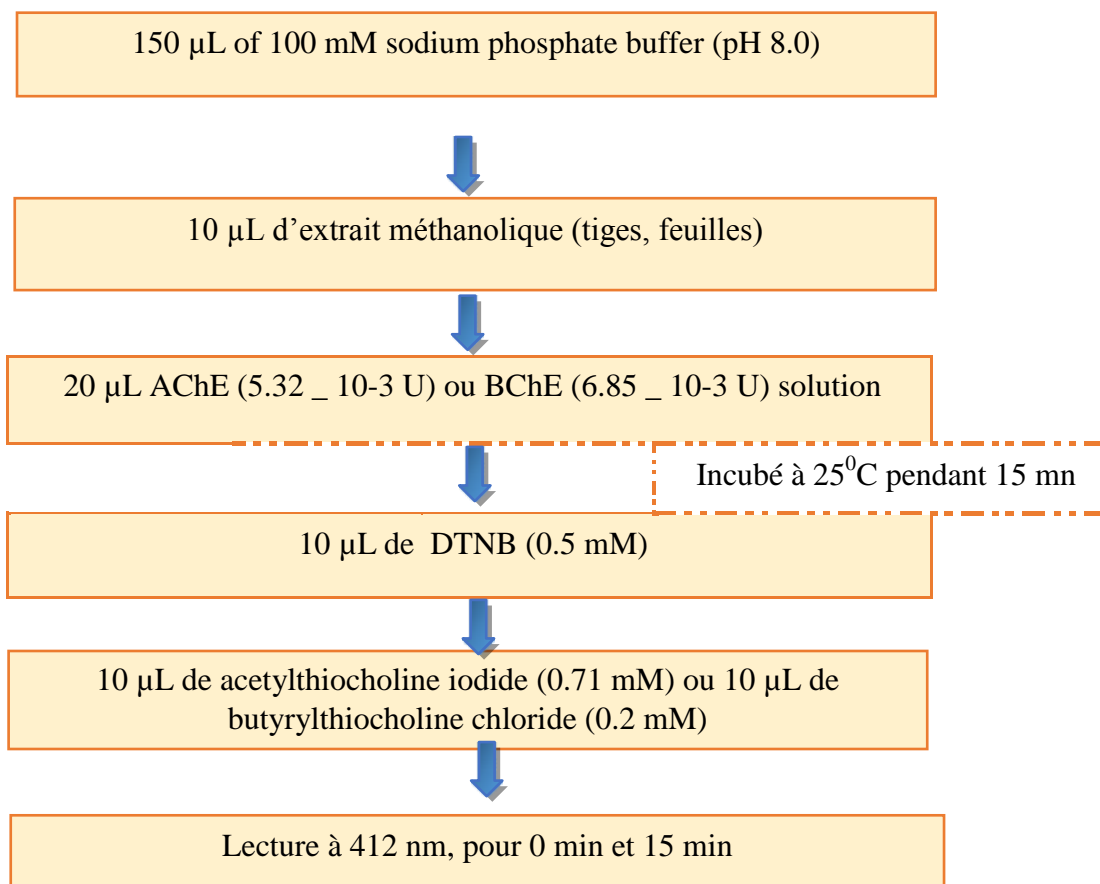


Figure 54: Protocol de l'activité anticholinestérase (**Ellman., 1961**).

Le pourcentage d'inhibition d'AChE ou BChE enzymes est déterminé par rapport au blanc (éthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule.

$$(E - S)/E * 100.$$

E : l'activité de l'enzyme sans extrait.

S : l'activité de l'enzyme avec l'extrait.

Le Galanthamine est utilisé comme référence.

Activité antibactérienne

Les tests de l'activité antibactérienne ont été effectués au niveau de laboratoire de bactériologie CHU- Constantine.

Les souches bactériennes

- Des bactéries ont été isolées à partir de prélèvements des malades avec des infections différentes : (**Tableau 4**)

Tableau 4: Souches bactériennes isolé à partir des patients.(SH)

Les bactéries	isolement
Escherichia coli	Pus
Pseudomonas aeruginosa	Liquide péritonéal
Staphylococcus aureus	Pus oreille
Acétobacter boumannii	Pus
Streptococcus pneumoniae	Liquide céphalo rachidien

➤ Les souches ATCC fournies par l'Institut Pasteur d'Alger. (ATCC = American Type Culture Collection) ont été utilisées comme souches de référence. Escherichia coli ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Staphylococcus aureus ATCC 25923. Les souches sont conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive). Ces bactéries sont conservées et reprendre leurs vies après leurs repiquages suc continue dans divers milieux de culture liquide et solide.

Milieux de culture

Plusieurs milieux de cultures (sélectif ou non sélectif, enrichie) ont été utilisés pour assurer la survie des souches bactériennes et tester l'extrait brut des (tiges et feuilles). Ces milieux d'isolements sont sélectionnés selon l'exigence de chaque groupe de bactéries

- Milieu de chapmane c'est un milieu sélectif, il est utilisé pour les *Staphylococcus*.
- Milieu de hektoen c'est un milieu d'isolement, il est utilisé pour *Pseudomonas aeruginosa*.
- Gélose au sang cuit c'est un milieu d'isolement enrichi, il est utilisé pour les *Streptococcus*.
- La gélose Mueller–Hinton c'est un milieu non sélectif pour réaliser l'antibiogramme.
- Bouillon nutritive.

Méthode d'étude de l'activité antimicrobienne des extraits

1) Méthode par diffusion sur milieu solide

- **Méthode de disque**

L'estimation de l'activité antibactérienne d'un extrait est réalisée par la procédure des disques (aromatogramme), qui est simple et pas coûteuse, et habituellement la plus utilisée en laboratoires de bactériologie pour le test de sensibilité aux antibiotiques.

- **principe**

C'est une méthode qualitative permettant de tester la sensibilité ou la résistance du micro-organisme à l'extrait brut par contact direct.

Le principe de cette méthode repose sur le pouvoir migratoire de l'extrait méthanolique (tiges et feuilles) sur un milieu solide à l'intérieur d'une boîte de pétrie, la suspension microbienne est d'abord inoculée et ensemencée en surface sur milieu gélosé en boîte de pétri (Chenni.,2016).

Un disque de papier filtre contenant l'extrait méthanolique est déposé sur la surface de la gélose ensemencée. Ensuite, Les boîtes de pétrie sont incubées dans les conditions optimales de température et de temps de micro-organisme considéré (Chenni .,2016).

Pendant l'incubation, les germes se développent sous forme de colonies visibles à l'œil nu, l'apparition d'un halo clair autour du disque signifie l'inhibition du développement microbienne. Le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré en millimètres, incluant le diamètre du disque (Figure55). Un témoin est préparé dans les mêmes conditions opératoires. (Chenni.,2016).

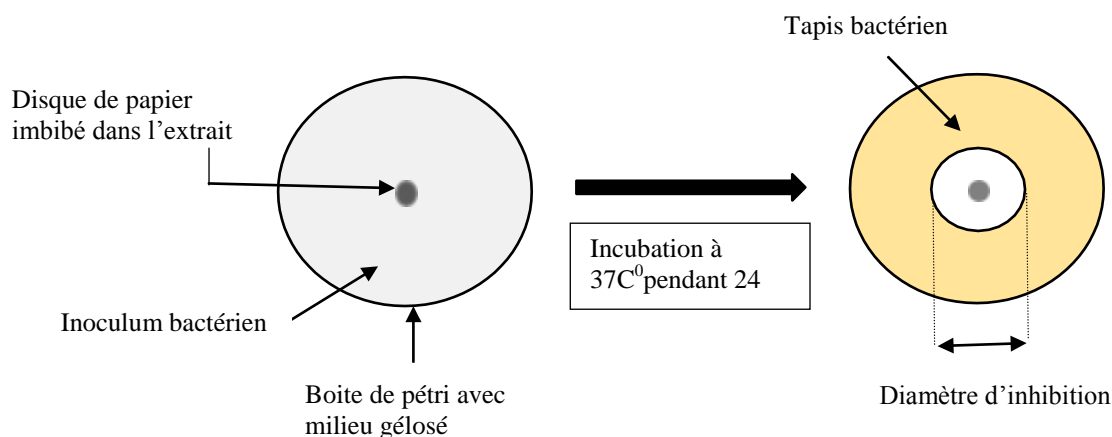


Figure 55: Principe de la méthode de diffusion sur disque (Chenni .,2016).

2) Préparation des dilutions

Les extraits (tiges et feuilles) sont dilués dans le méthanol selon les concentrations suivantes : [50mg/ml], [100mg/ml], [150mg/ml], [200mg/ml], [300mg/ml], [400mg/ml].

3) Préparation des disques

Les disques sont fabriqués à partir d'un papier wattman, ils ont un diamètre de 6 mm sont stériles et imbibés dans les extraits (tiges et feuilles) à différentes concentrations.

L'opération a été faite devant le bec benzène

4) Purification des souches bactériennes

Après l'isolement et identification des souches bactériennes qui ont obtenu à partir les patients, quelques colonies bien identifiées sont mis dans le bouillon nutritif. Les bactéries à tester ont étéensemencées sur les boîtes de pétri contenant des milieux sélectives appropriés aux chaque souche puis incubés à 37C⁰ pendant 24 heures.

5) Réactivation des souches bactériennes ATCC

A partir des tubes de conservation, on va mettre une petite quantité de bactéries dans le bouillon nutritif, ensuite les bactéries à tester ont étéensemencés sur les boîtes de pétri contenant des milieux sélectives appropriés aux chaque souche puis sont incubés à 37C⁰ pendant 24 heures, pour obtenir des colonies bien isolées (**Chenni .,2016**).

6) Préparation de l'inoculum bactérien

Après 24 heures d'incubation des souches bactériennes, une ou deux colonies bien isolés et identique sont prélevés à l'aide d'une anse de platine, puis émulsifiés dans l'eau physiologique, puis sont agités. La densité de l'inoculum a été ajustée à 0.5 Ferland (1.2X 10⁷ cellules /ml) (**Chenni .,2016**).

7) Teste d'efficacité

A l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la suspension bactérienne standardisée, on ensemence uniformément toute la surface des boîtes contenant le milieu Mueller -Hinton pour les bactéries (**Ouibrahim., 2015**).

Après séchage de la surface (environ 5 min), Les disques préparés ont été déposés délicatement à l'aide d'une pince flambée au Bec Bunsen sur la surface d'un milieu préalablement ensemencé par les souches microbiennes. Sans exception, les disques qui contiennent le méthanol sont mis au centre de chaque boîte comme référence. Les boîtes gélosées ainsi préparées sont maintenues à 4°C durant 20min afin de permettre la pré-diffusion. Ensuite, elles ont été incubées à 37°C pendant 24 heures (**Traoré et al., 2012**).

8) Lecture

Après 24 heures le diamètre de la zone d'inhibitions de la croissance des bactéries étudiées est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.

Chapitre 2: Résultats et discussion

I. Le rendement en extrait sec

Les rendements de l'extrait méthanolique des (tiges et feuilles) de *Myrtus communis L* sont Présentés dans le (Tableau 5).

Tableau 5: Rendement de l'extrait méthanolique (feuilles et tiges) de *Myrtus communis L*.

Extrait méthanolique	Feuilles	tiges
Rendement (%)	24.5%	10.4%

Les résultats obtenus montrent que le rendement de l'extrait de feuilles est plus élevé par rapport à l'extrait des tiges avec le pourcentage qui est égale à 24.5 % et 10.4% respectivement.

II. Criblage phytochimique







Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits méthanoliques de la partie aérienne (tiges, feuilles) de la plante *Myrtus communis L*.







Les tests photochimiques sont fondés sur la détection de différents métabolites secondaires existants dans les tissus végétaux de notre plante par des réactions qualitatives de caractérisation.







Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs caractéristiques à chaque famille de composés. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau ci-dessous : (Tableau 6).

Tableau 6: Les résultats de screening phytochimique de la plante *Myrtus communis L*.(Photos originales).

Photocomposés	Feuilles		Tiges	
	Photo	Présence/absence	Photo	Présence/absence
Alcaloïdes				

		-		-
Flavonoïdes		++		++
Flavonoïdes Glycosides		++		++
Saponines				

		++		++
Stérols et polyterpènes		+++		++
Sucre réducteur		+		+
Tanins				

		+++		+++
Tanins vrais		+		++
Phénol		+++		++

- (+++) : Réaction fortement positive.
- (++) : Réaction moyennement positive.
- (+) : Réaction faiblement positive □ (-) : Réaction négative.

Les résultats des tests photochimiques des deux parties (Tiges et feuilles) de la plantes *Myrtus communis L* ont été montrés dans **(le tableau 6)**.

Les résultats obtenus montrent l'apparition de la couleur rose dans les tubes destinés au test des flavonoïdes, ce qui nous a prouvés leurs présences dans les tiges et les feuilles de notre plante.

La présence des stérols et polyterpènes dans les deux extraits méthanoliques a été montré par la formation d'un anneau. L'intensité est plus forte dans les feuilles que les tiges. La précipitation de la couleur rouge brique a affirmé la présence des sucres réducteurs avec une intensité faible au niveau des deux extraits.

La couleur bleu noire signifie la présence de tanin gallique. Le teneur des tanins vrai dans les tiges est plus grand que les feuilles.

Les indices de mousses indiquent la présence des saponosides chez les deux extraits et avec une quantité importante.

Les phénols sont présents avec des quantités plus importantes dans l'extrait méthanolique des feuilles par rapport au l'extrait des tiges. Leur présence est confirmée par l'apparition d'une couleur bleuâtre.

Le test des alcaloïdes montrent un résultat négatif pour les deux extraits de notre plante.

Les familles chimiques détectées dans notre étude viennent de confirmer les résultats obtenus dans le travail réalisé par **Kanoun.k** en **2011** sur *Myrtus communis L*. de la région de Tlemcen ou le chercheur a montré la richesse de cette plante par les saponosides, tanins, flavonoïdes, stérols et polyterpènes.

III. Dosage spectro-photométrique

L'étude quantitative des extraits méthanoliques de *Myrtus communis L* au moyen de dosage spectro-photométrique a pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes. Pour chaque dosage, nous avons réalisé une courbe d'étalonnage à différentes concentrations d'étalon.

Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des phénols totaux des extraits méthanoliques des feuilles et tiges de *Myrtus communis L.*, a été réalisé selon la méthode spectrophotométrie de (Mahmoudi I.S., 2013) qui a utilisé le réactif de folin ciocalteu (FCR) (Figure 56).

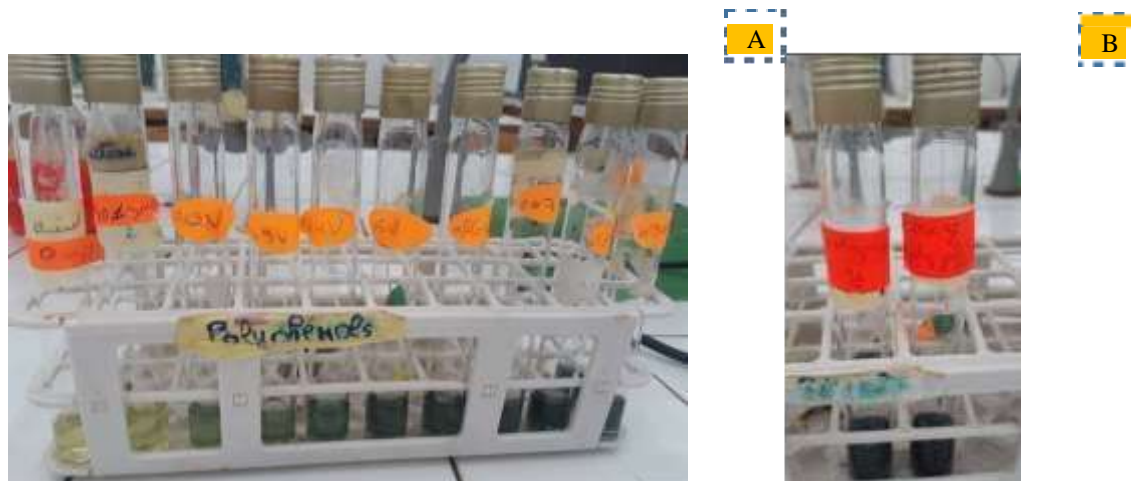


Figure 56: Les extraits utilisés dans le dosage des polyphénols totaux. (A) : L'acide gallique à différentes concentrations (B) Les extraits méthanoliques (feuilles, tiges) à différentes concentrations (photos originales).

Le contenu en polyphénols totaux est déterminé, à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage, qui a été réalisée avec un extrait de référence, l'acide gallique, à différentes concentrations variant de 0 à 0.1 mg/ml. La lecture a été effectuée par

un spectrophotomètre avec une longueur d'onde égale à 760 nm. (Figure 57).

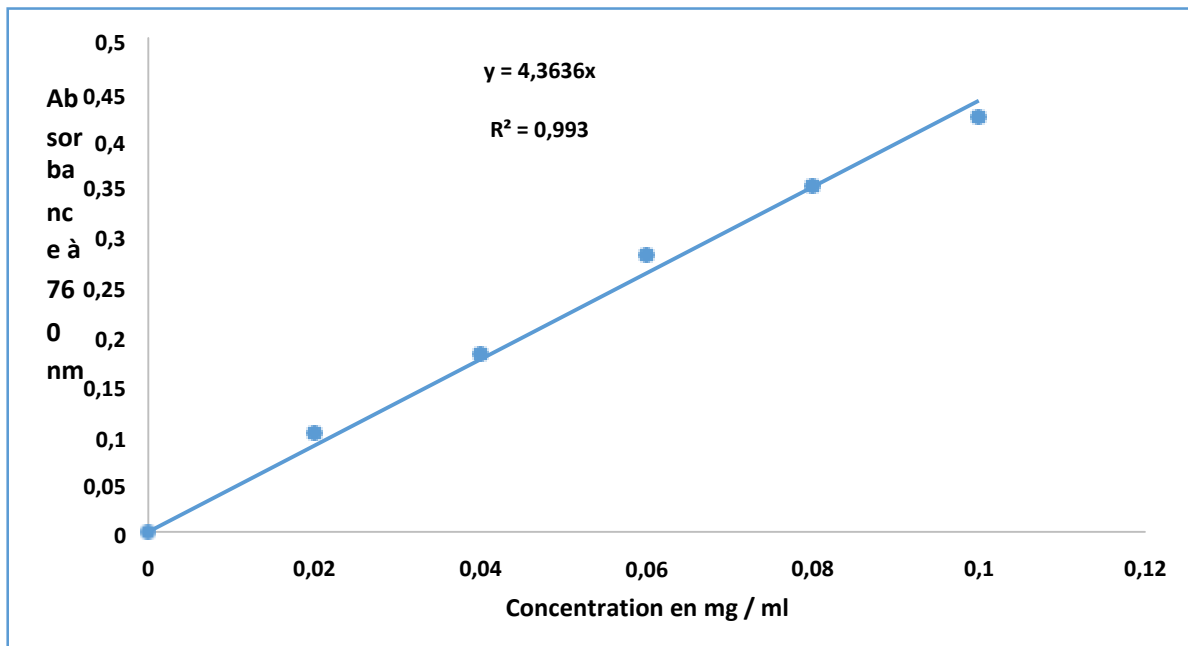


Figure 57: Courbe d'étalonnage d'Acide gallique.

Les teneurs en polyphénols totaux des deux extraits méthanoliques de *Myrtus communis* L (feuilles, tiges) sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait) et sont indiqués dans le tableau suivant : (Tableau7).

Tableau7 : Absorbance et teneur des polyphénols totaux des deux extraits méthanoliques de tiges et feuilles.

	Extrait méthanolique feuilles	Extrait méthanolique tiges
Absorbance	0.567	0.504
Teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g d'extrait)	188,39 mg AG/g extrait	73,92 mg AG/g extrait

Les résultats de dosage des polyphénols totaux illustrés sur le tableau, révèlent que les extraits méthanoliques des deux parties de la plante sont riches par les composés polyphénoliques. La teneur la plus élevée est constatée dans les feuilles par rapport aux tiges

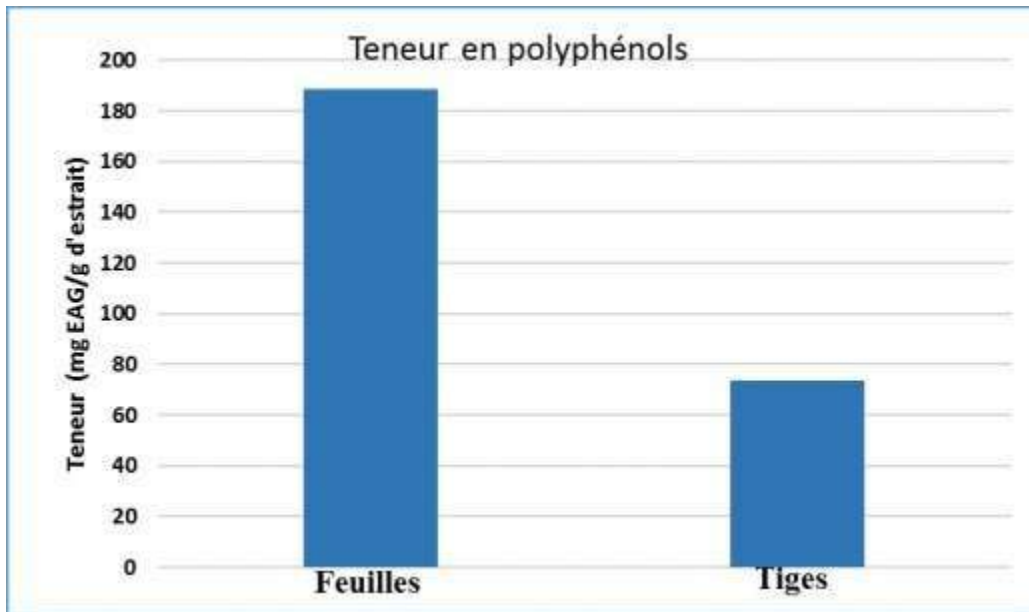


Figure 58 : Teneurs en polyphénols pour les extraits de feuilles et tiges.

En se référant à la littérature, les travaux de (Kanou.,2011)., sur des échantillons de feuilles et tiges de *Myrtus communis L.* montrent que les extraits méthanoliques obtenus contiennent une teneur en polyphénols totaux, de $(119,23 \pm 0,77 \text{ mg EAG/g})$ plus élevée dans l'extrait de feuilles que dans celui de la tige $(112,96 \pm 0,53 \text{ mgEAG/g})$. Et cela confirme nos résultats obtenus concernant la richesse de cette plante par les composés poly phénoliques.

Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes des deux parties de la plante a été effectué par la méthode spectrophotométrie (réaction colorimétrique de trichlorure aluminium AlCl_3). Les valeurs de la concentration ont été directement lues à partir de la droite d'étalonnage établies par une solution de référence (La Quercétine). La concentration est exprimée en mg d'équivalent de la Quercétine par gramme d'extrait (Figure 59).

La gamme de Quercétine est tracée par des concentrations comprises entre 0 et 0.1mg/ml.

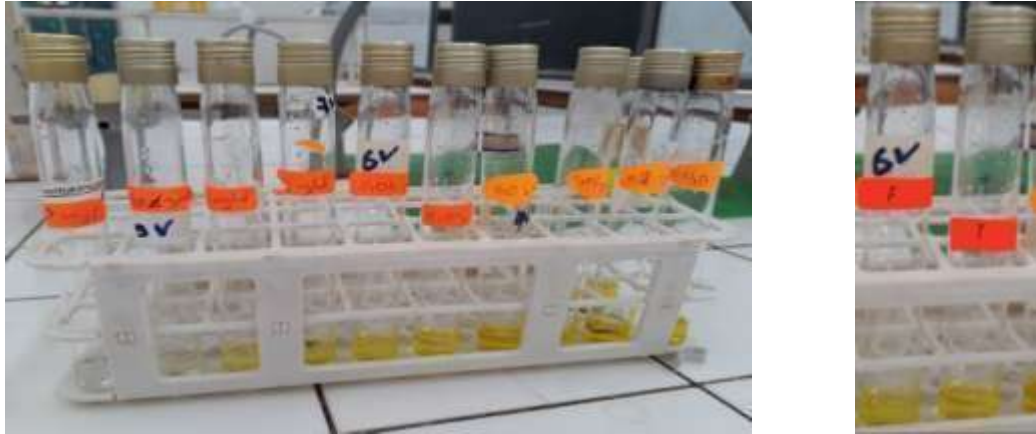


Figure 59 : Extraits utilisés dans le dosage des flavonoïdes. (A) Solution de la Quercétine à différentes concentrations. (B) Les extraits méthanoliques (feuilles, tiges) à différentes concentrations. **(Photos originales).**

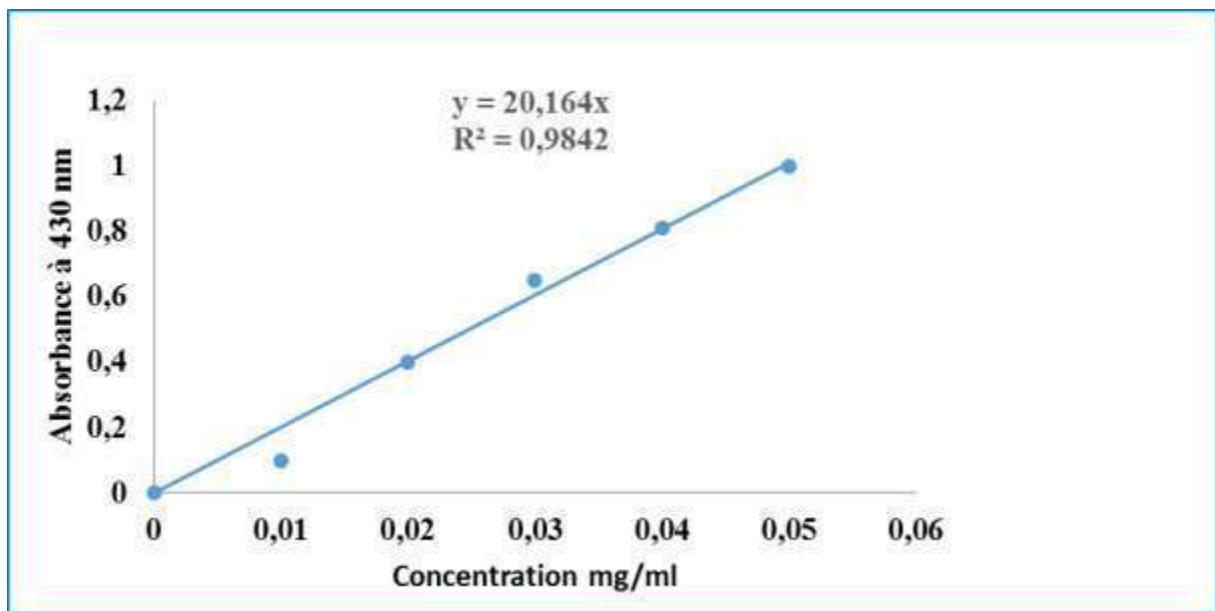


Figure 60 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

La quantité de flavonoïdes totaux des deux extraits de la plante (tiges, feuilles) est calculée à l'aide de l'équation de la droite d'étalonnage à partir des valeurs absorbances mesurées. **(Figure 60).**

Tableau 8 : Absorbance et teneur des flavonoïdes des deux extraits méthanoliques de tiges et de feuilles.

	Extrait méthanolique Feuilles	Extrait méthanolique tiges
Absorbance	0.720	0.354
Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait)	51,775	11,235

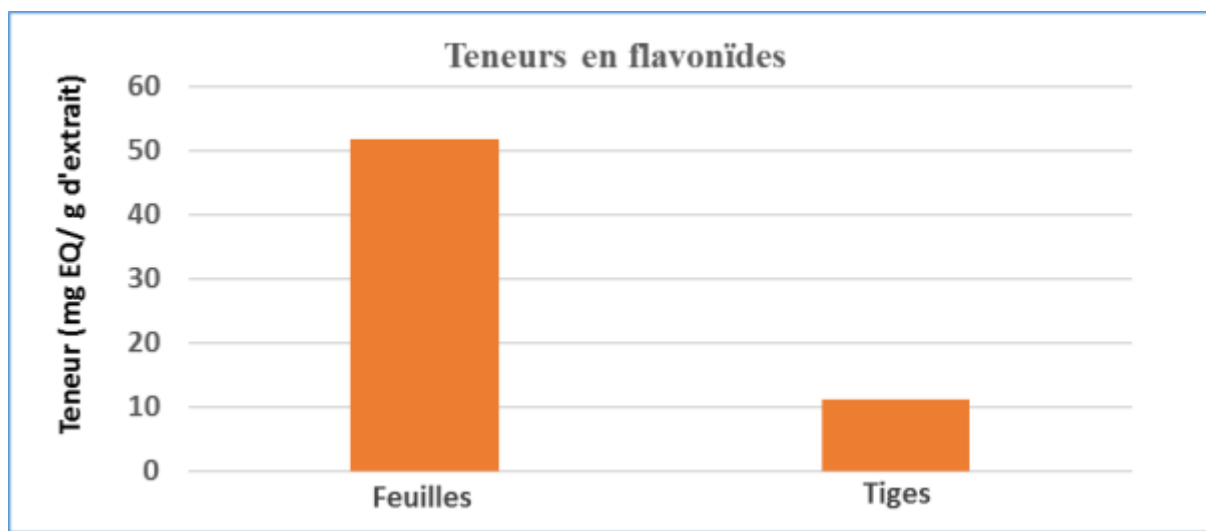


Figure 61 : Teneurs en flavonoïdes des deux extraits des feuilles et tiges.

Les résultats de dosage des flavonoïdes illustrés dans le **tableau 8** et la **figure 61** montrent que l'extrait méthanolique des feuilles de *Myrtus communis L.* représente une teneur plus élevée de l'ordre de 51,775 (mg EQ/ g d'extrait), alors que la teneur des tiges obtenue est de l'ordre de 11,235(mg EQ/ g d'extrait). On constate que les feuilles de *Myrtus* sont riches en flavonoïdes par rapport aux tiges.

Le travail effectué par **Fatima et al., 2018** sur les échantillons des feuilles des *Myrtus communis L.* d'origine d'Algérie (Jijel), montre que l'extrait obtenu contient une teneur élevée de flavonoïdes totaux estimée à $(38,4 \pm 0,9 \text{ mg QE / g d'extrait})$. Tandis que le travail de **Aidi-W et al., 2010** montre que la teneur en flavonoïdes totaux des tiges est de l'ordre $(5,17 \text{ mg QE / g d'extrait})$. Leurs résultats sont légèrement inférieurs par comparaison avec les résultats de notre travail, cette différence est dû aux plusieurs facteurs environnementaux, le lieu et la période de la récolte et conservation.

❖ **Comparaison entre feuilles et tiges de *Myrtus communis L.* selon leurs richesses en polyphénols totaux et flavonoïdes**

D'après l'histogramme la teneur en polyphénols et flavonoïdes des feuilles est supérieure à la teneur des tiges.

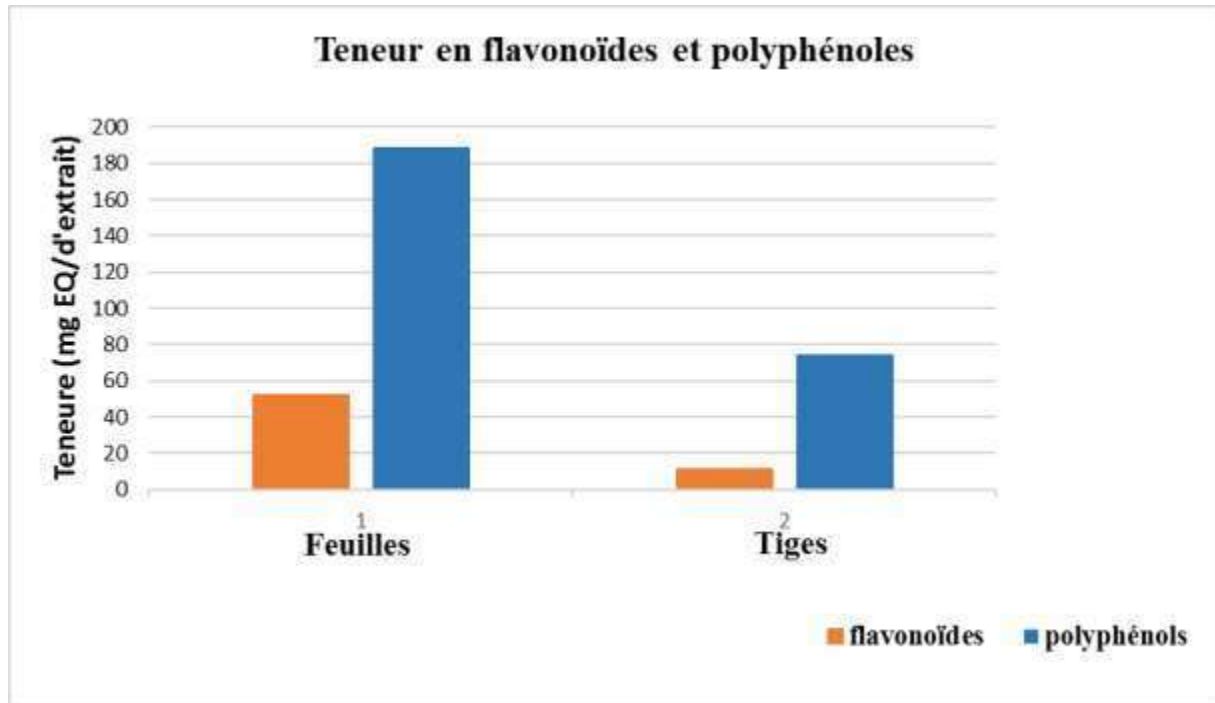


Figure 62 : Comparaison des teneurs des polyphénols et des flavonoïdes.

Les flavonoïdes sont considérés comme une sous classe des composés phénoliques, il est donc logique que la teneur en polyphénols totaux des extraits soit supérieure que la teneur des flavonoïdes **figure (62)**. Par conséquent les facteurs agissant sur la teneur en polyphénols, influencent forcément sur la composition en flavonoïdes.

IV. Evaluation des activités biologique *in-vitro*

Les Activités antioxydantes

Détermination de l'activité antioxydante par le test (DPPH)

L'évaluation de l'absorption de DPPH radicalaire s'explique par leur réduction en présence de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques (tiges et feuilles) de *Myrtus communis*. Cette réduction résulte de changement de la couleur violette vers le jaune lors de la formation des radicaux DPPH⁻. Commencent par la libération d'un atome d'hydrogène des extraits et leur acceptation par le radical DPPH (**Figures 63, 64**).

Il s'agit d'une méthode rapide, simple, peu coûteuse, facile, économique, valable et largement utilisée pour mesurer la capacité des composés à agir en tant que piègeurs de radicaux libres ou donneurs d'hydrogène et à évaluer l'activité antioxydante des aliments.



Figure 64: Résultats de l'activité antioxydante de DPPH par les extraits de feuilles (A) et tiges(B) de

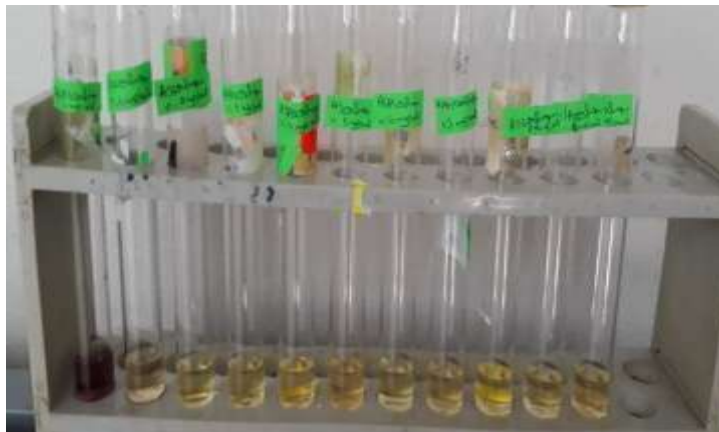


Figure 63: Résultat de l'activité antioxydante de DPPH par l'acide ascorbique (**Photo originale**).

la plante *Myrtus communis L* (**Photos originales**).

Nous avons utilisé l'acide ascorbique comme standard.

Le % d'inhibition a été calculé à partir des absorbances pour les différents extraits de la plante et pour le standard.

Les résultats sont exprimés sous forme d'une courbe en fonction des concentrations de chaque extrait (**Figure 65**).

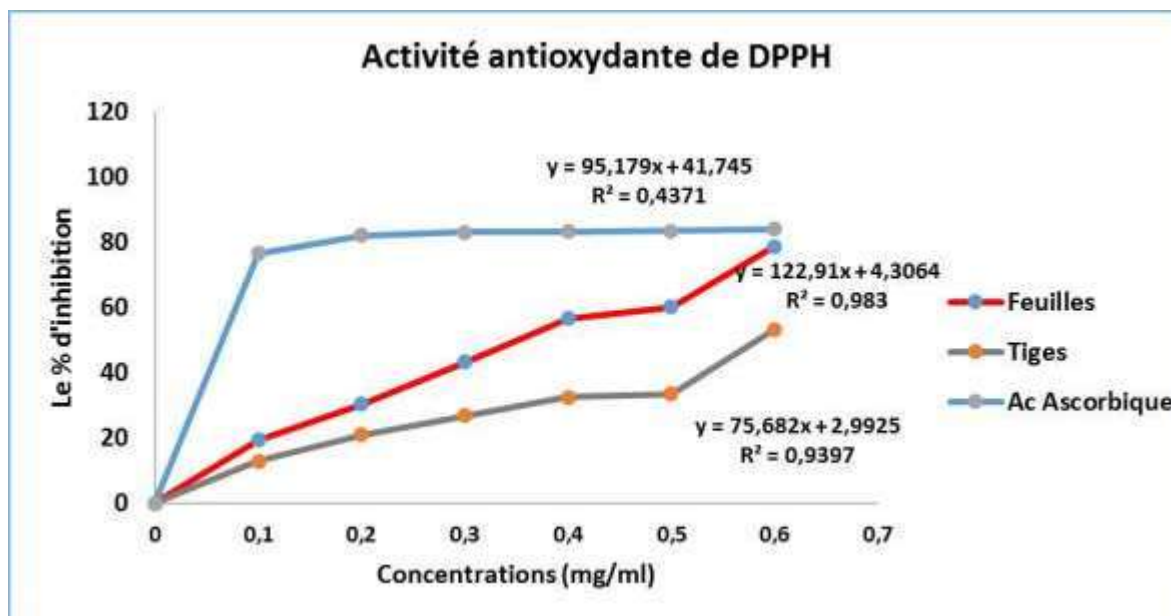


Figure 65 : Activité antioxydante de DPPH.

A partir des courbes d'étalonnage on a déterminé La CI50 de chaque extrait, c'est la concentration qui entraine 50% d'inhibition du radical libre DPPH.

Notons que l'activité antioxydante est inversement proportionnelle à la valeur de la CI50. Ainsi, l'extrait qui présente la CE50 la plus faible est celui qui présente l'activité antiradicalaire la plus importante.

Les valeurs de la CI50 de standard et des extraits de notre plante sont présentés dans le (Tableau 9) et l'histogramme au-dessous.

Tableau 9: LaCI50 de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques de tiges et feuilles.

	Acide ascorbique	Extrait de feuilles	Extrait de tiges
CI50 mg/ml	0.086	0.371	0.621

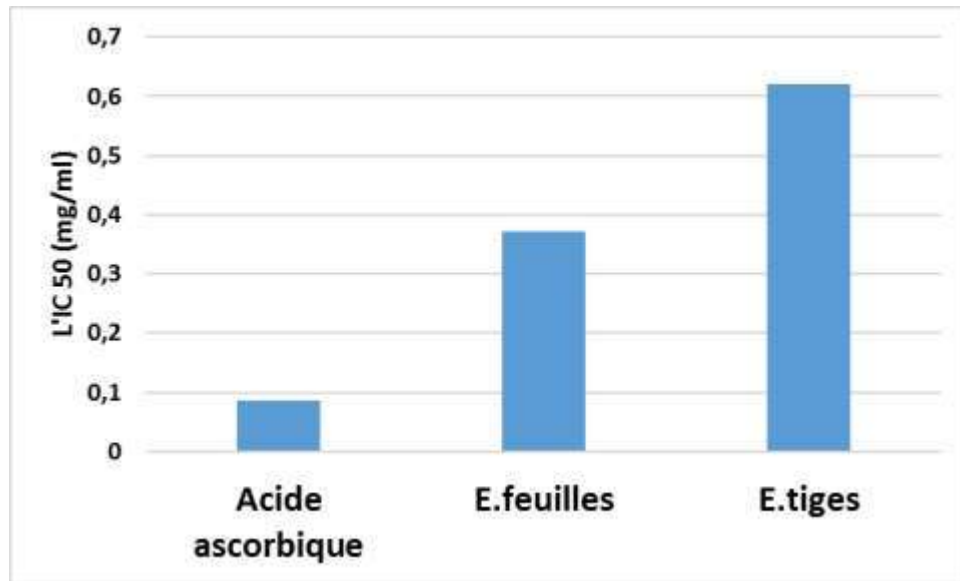


Figure66 : Histogramme de la CI50 pour l'acide ascorbique et les extraits de feuilles et tiges.

D'après les résultats obtenus, les extraits méthanoliques des feuilles et tiges de *Myrtus communis L* possèdent un pouvoir antioxydant assez important. Ce pouvoir est confirmé par les valeurs faibles de la CI50 et les pourcentages d'inhibitions qui sont élevés. La CI50 de l'extrait de feuilles est 0.371 mg/ml et celle de tiges est 0.621 mg/ml.

La CI50 des feuilles est plus faible par rapport à la CI50 des tiges, c'est-à-dire que l'extrait de feuilles est plus actif que celui des tiges. Et cela dû à la richesse des feuilles en métabolites secondaires.

Cette activité antioxydante de tiges et feuilles de *Myrtus communis L* est moyenne par comparaison avec la valeur de la CI50 de standard utilisé l'acide ascorbique, CI50= 0.086 mg/ml.

Les recherches effectuées par (**Kanoun., 2011**) sur l'activité antioxydante de DPPH de l'extrait de la plante *Myrtus communis L* montrent qu'elle possède un pouvoir antioxydant élevé, CI50 est égale à 0.26 mg/ ml. Ce résultat confirme nos résultats obtenus concernant cette activité.

Des études montrent que l'activité anti-radicalaire est corrélée avec le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits des plantes médicinales. Ceci mène à suggérer que l'effet antioxydant de différents extraits de notre plante peut être dû à un synergisme entre les polyphénols et d'autres composants (**Halmi., 2015**).

Réduction du fer)

L'activité antioxydante des extraits méthanoliques (feuilles et tiges) de *Myrtus communis* L a été évaluée en utilisant la Méthode de FRAP, décrite par

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les extraits. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (Singleton-V *et al.*,1965),(Figure67).



Figure67 : Résultats du pouvoir réducteur de l'acide ascorbique (Photo original).

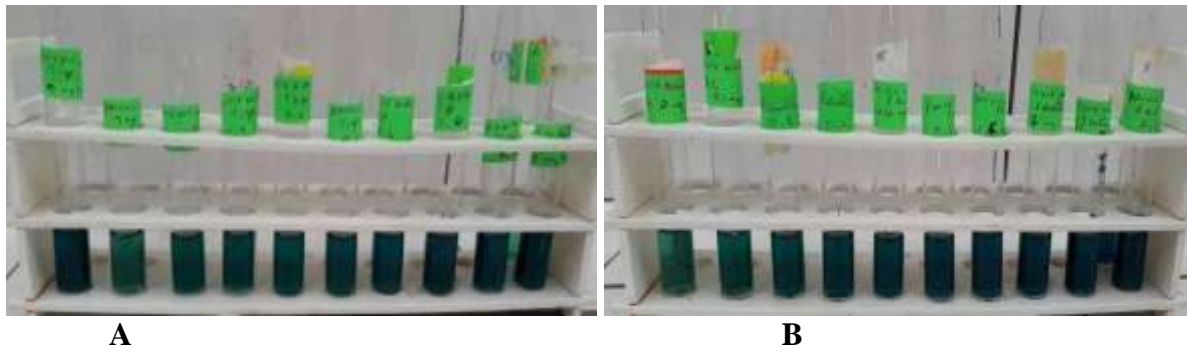


Figure 68 : Résultats du pouvoir réducteur des extraits méthanoliques (A : feuilles, B : tiges) de *Myrtus communis L* à différentes concentrations. **(Photos originales).**

Pour explorer les résultats obtenus, la méthode utilisée par la majorité des auteurs est celle de tracer les courbes des absorbances obtenues en fonction de différentes concentrations. Les résultats représentés dans les **Figures 69 et 70**, ont montré que la capacité de la réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de chaque extrait testé.

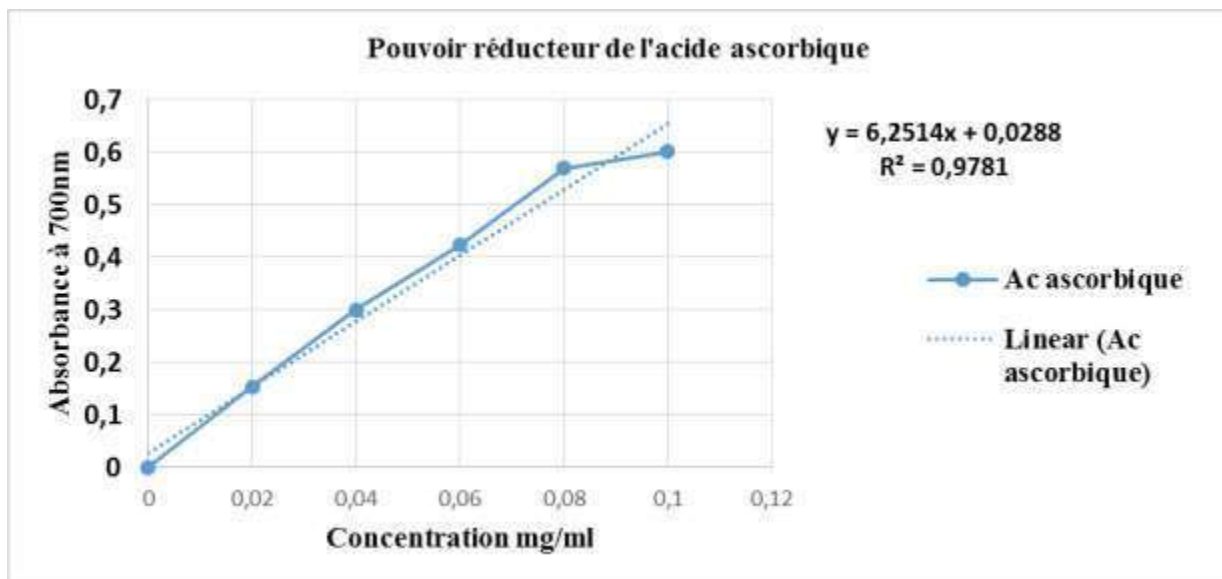


Figure 69 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.

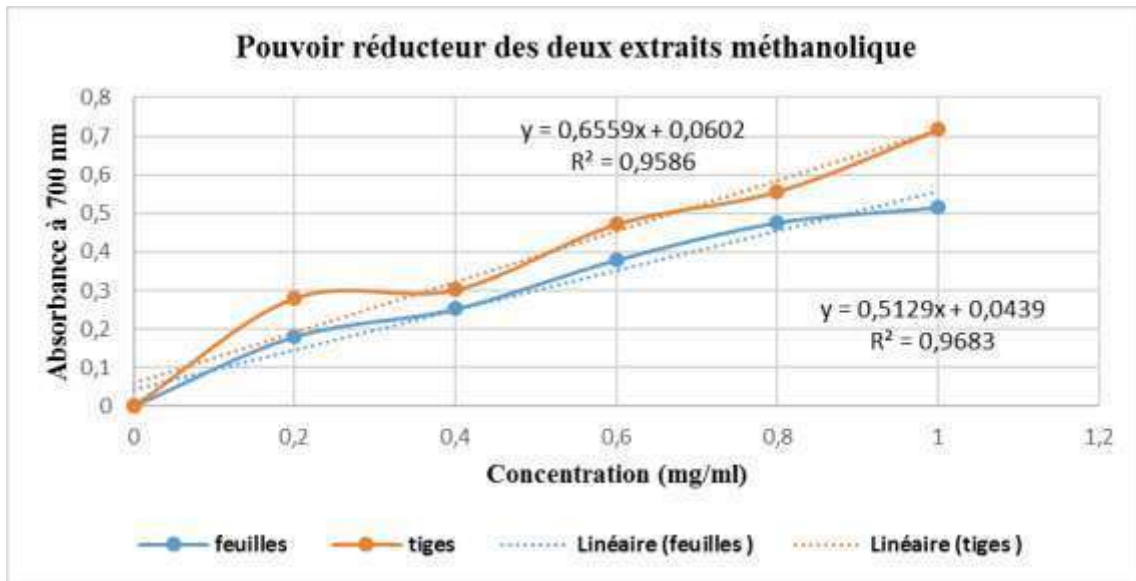


Figure 70 : Pouvoir réducteur des deux extraits méthanoliques (feuilles, tiges).

L'équation de la courbe d'étalonnage des deux extraits est utilisée pour déterminer la concentration effective à 50% (CE50).

Tableau 10 : CE50 des deux extraits méthanoliques et de l'acide ascorbique.

Extraits	CE50 mg/ml
L'extrait méthanolique des feuilles	0.889
L'extrait méthanolique des tiges	0.670
L'acide ascorbique	0.075

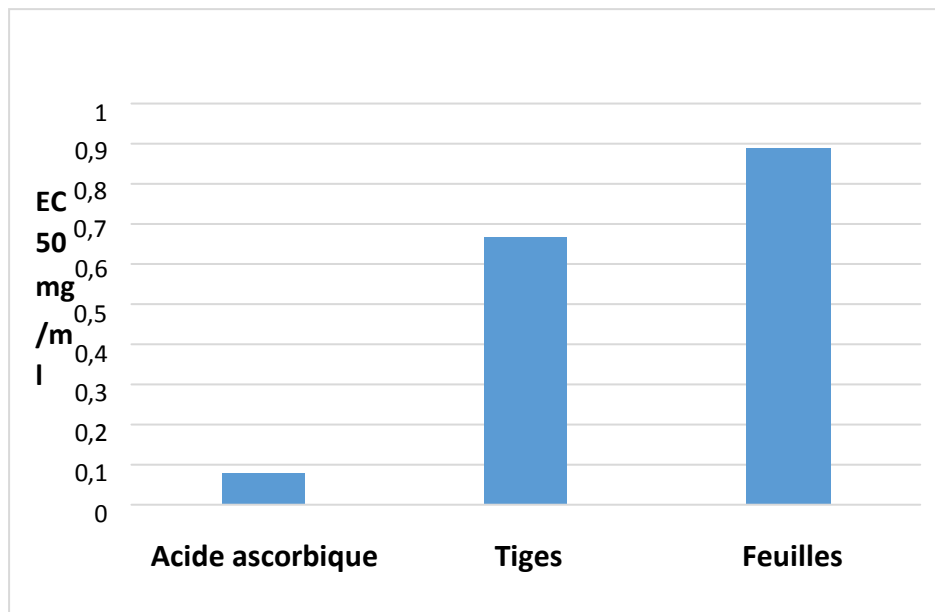


Figure 71: Histogramme de La CE50 pour l'acide ascorbique et les extraits de feuilles et tiges.

D'après les résultats obtenus, les extraits méthanoliques des feuilles et tiges de *Myrtus*. Le résultat obtenu montre que la capacité de l'extrait des tiges à réduire le fer est inférieure à celle de l'extrait méthanolique des feuilles, les CE50 sont 0.670 et 0.889 mg /ml respectivement, mais ce résultat est nettement supérieur à celui de l'acide ascorbique (Tableau..), pour ce dernier CE50 est égale à 0,075mg/ml.

Le pouvoir réducteur de l'espèce *Myrtus communis L* est probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants sont considérés comme des réducteurs et inactivateurs des oxydants (**Halmi.,2015**).

Les travaux de **Yesilyurt et al., 2008** montrent que les variations de l'activité réductrice des radicaux libres, sont, en général, directement liées aux taux des composés phénoliques présents dans la plante récoltée. Aussi (**Jeong et al.,2004 ; Kumaran et al.,2007**) ont également montré que le pouvoir réducteur d'un composé peut être considéré comme un indicateur de son potentiel antioxydant.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Su et al. ,2008** et **Liuk et al .,2009**, ils ont montré que la plante de *Myrtus communis L* possède un pouvoir réducteur élevé.

Test par piégeage ABTS

Lors de la mise en œuvre de ce test, l'ABTS incolore est préalablement oxydé avec du persulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) pour former le radical cationique $ABTS^{+•}$ de coloration bleu-vert (**Figure 72**). L'addition d'un composé antioxydant engendre la réduction du radical $ABTS^{+•}$ en ABTS. L'activité antioxydante est déterminée par la décoloration de la solution et s'exprime par le pourcentage d'inhibition (PI) de l'absorbance à 734 nm, longueur d'onde à laquelle le radical $ABTS^{+•}$ présente une bande d'absorption caractéristique (**Serigne et al., 2015**).

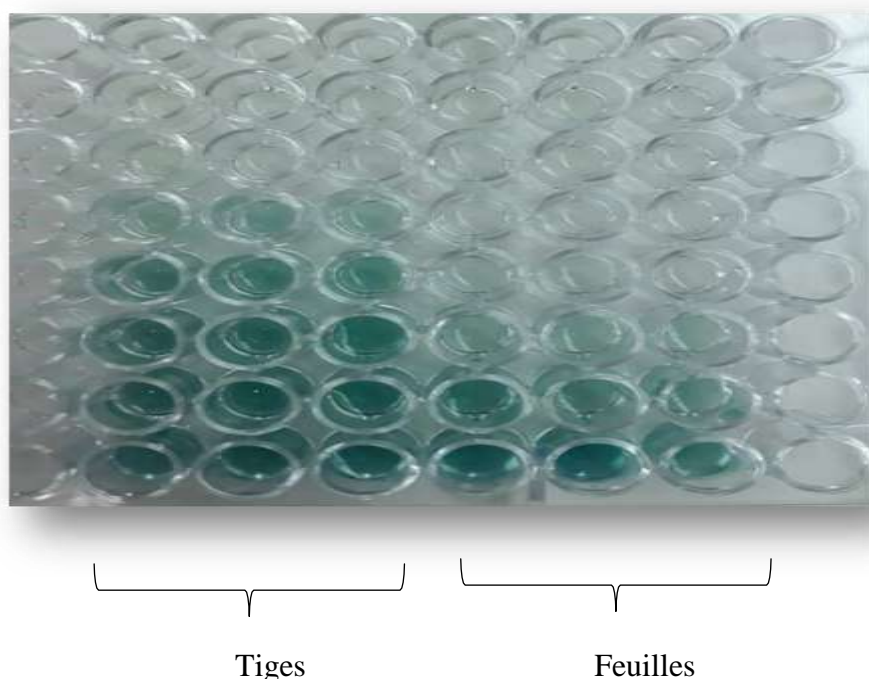


Figure 72 : Photo prises lors du dosage de l'activité antiradicalaire ABTS (**Photo originale**).

Les résultats de test d'inhibition de l'absorbance du radical $ABTS^{+•}$, par l'extrait méthanolique de feuilles et tiges de *Myrtus communis L.*, sont présentés dans le (**Tableau 11**).

Les extraits testés ont inhibé l'absorbance du radical $ABTS^{+•}$. Cette inhibition était dose dépendante pour les deux extraits méthanoliques : feuilles (E2) et tiges (E1),

L'hydroxyanisole butylé (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT). (**Tableau 11**)

La capacité de piégeage du radical libre ABTS est variable entre les extraits. Les extraits de BHA et BHT affichaient des activités réductrices supérieures à 50% alors que les extraits de feuilles et de tiges affichaient des activités réductrices inférieures à 50% pour les concentrations de 3.125 $\mu\text{g/ml}$ et 1.5625 $\mu\text{g/ml}$.

On a remarqué aussi que l'extrait de feuilles ne montre aucune activité pour la concentration de 100 µg.

D'après les analyses des résultats obtenus on constate que l'extrait de feuilles possède le plus grand effet inhibiteur par rapport à l'extrait de tiges (**Figure 73**).

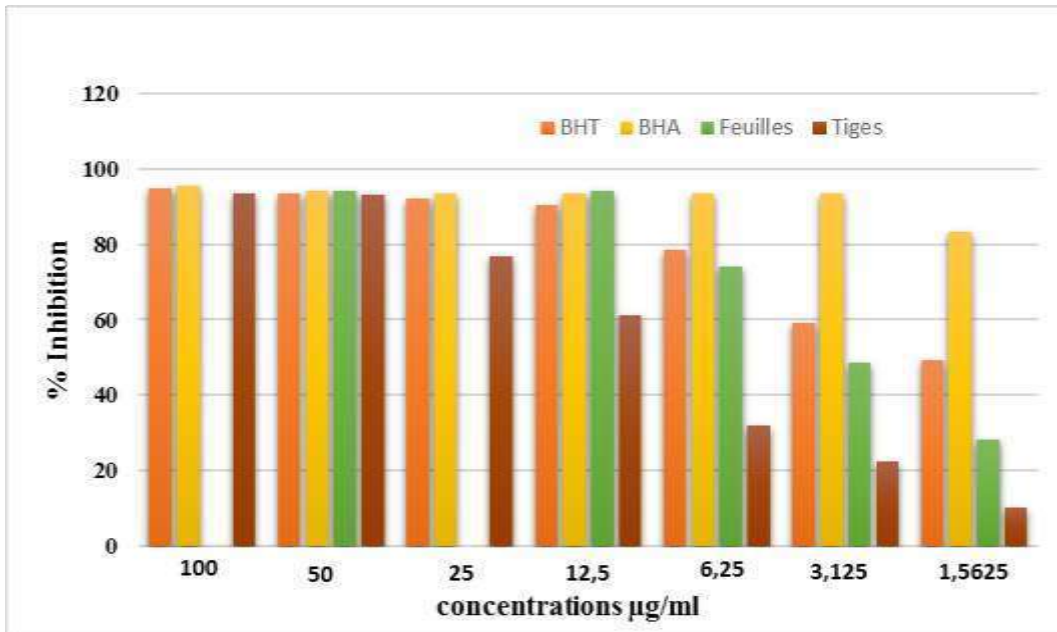


Figure 73 : Variation de l'inhibition de l'ABTS en fonction des concentrations des extraits.

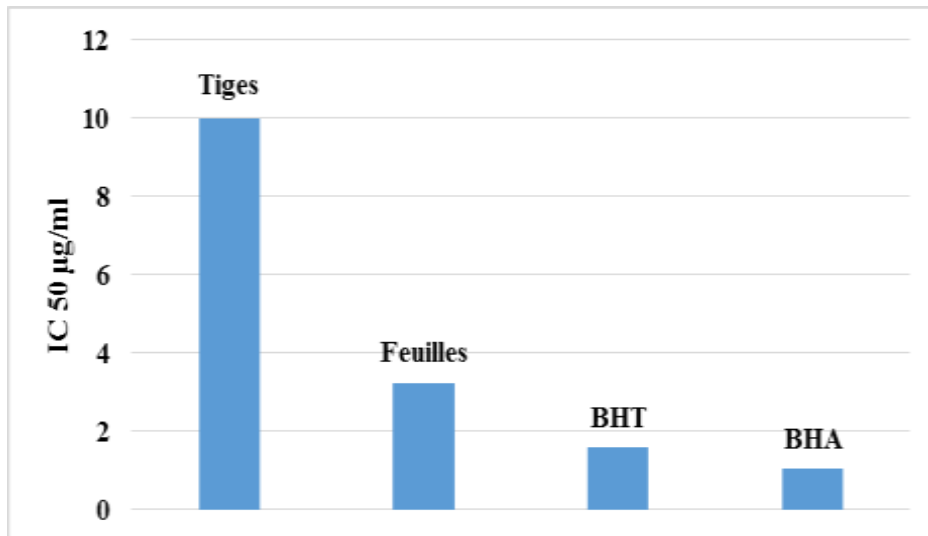


Figure 74: Histogramme de La CI50 des extrais des tiges, feuilles, BHT, BHA.

	tiges	feuilles	BHT	BHA
CI50 µg/ml	9.99	3.24	1.59	1.03

L'Histogramme montre que les différents extraits testés possèdent un pouvoir antioxydant assez important. Ce pouvoir est confirmé par les valeurs De CI 50 et le pourcentage d'inhibition.

D'après les valeurs de CI50 obtenus on constate que nos extraits de feuilles et tiges possèdent un très bon effet inhibiteur par rapport aux deux extraits utilisés comme référents le BHT et BHA, les valeurs sont respectivement : $3,24 \pm 0,16 \mu\text{g/ml}$; $9,99 \pm 1,08 \mu\text{g/ml}$; $1,59 \pm 0,03 \mu\text{g/ml}$; $1,03 \pm 0,00 \mu\text{g/ml}$.

(Sofiane *et al.*, 2014) montrent que l'extrait foliaire de myrtes possède effet un de scavenging plus fort que l'hydroxyanisole butylé et le α -tocophérol. Ainsi, ils ont constaté que l'extrait de myrte pourrait être utilisé comme antioxydant naturel potentiel, stabilisant alimentaire ou produit de santé naturel.

La présence de plusieurs unités de type acide phénolique peut concourir à renforcer l'activité antioxydante (Macheix-J *et al.*, 2006).

Le mécanisme de travail de la méthode ABTS pour l'évaluation de l'activité antioxydante est la même que celle de la méthode DPPH, mais la méthode ABTS est plus fiable que DPPH en raison de la solubilité du réactif ABTS dans les deux solvants aqueux par rapport au DPPH (Teow *et al.*, 2007). Pour laquelle, le dosage ABTS est meilleur que le DPPH lorsqu'il est appliqué aux végétaux contenant des propriétés hydrophiles, lipophiles, et des composés antioxydants à haute pigmentation (Floegel *et al.*, 2011).

Evaluation de l'activité antioxydante par le phosphomolybdate

Après l'ajout de la solution de phosphomolybdate d'ammonium aux extraits de la plante et une incubation pendant 90 mn, une coloration verte est apparue avec une intensité variable selon les concentrations (Figure 75).

Le dosage est basé sur la réduction de Mo (+6) en Mo (+5) par l'analyse de l'extrait et la formation subséquente d'un complexe phosphate-Mo (+5) à un pH acide. (Prieto *et al.*, 1999).

La capacité antioxydante totale a été exprimée en équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait. (Jayaprakasha GK *et al.*, 2002), (Figure 76).

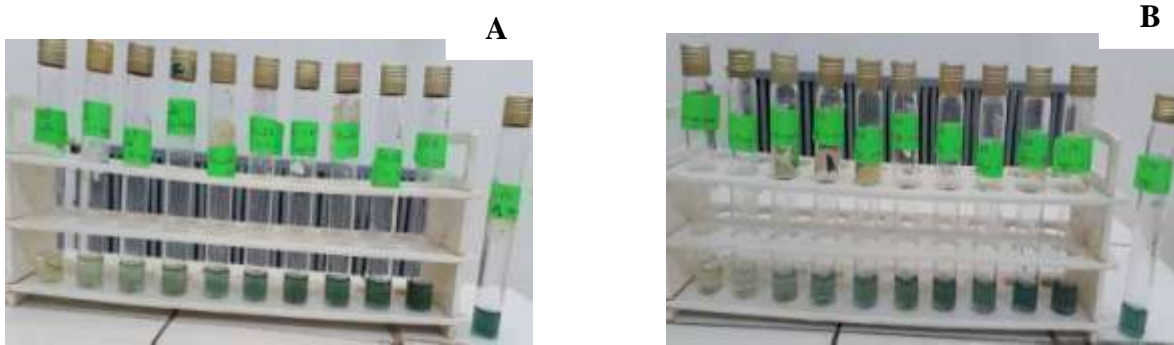


Figure 75: Résultats de l'activité antioxydante par le phosphomolybdate des extraits méthanoliques de la plante à différentes concentrations. A : Feuilles, B : Tiges (**photos originales**).



Figure 76: Résultats de l'activité antioxydante par le phosphomolybdate de l'acide gallique (**Photos originale**).

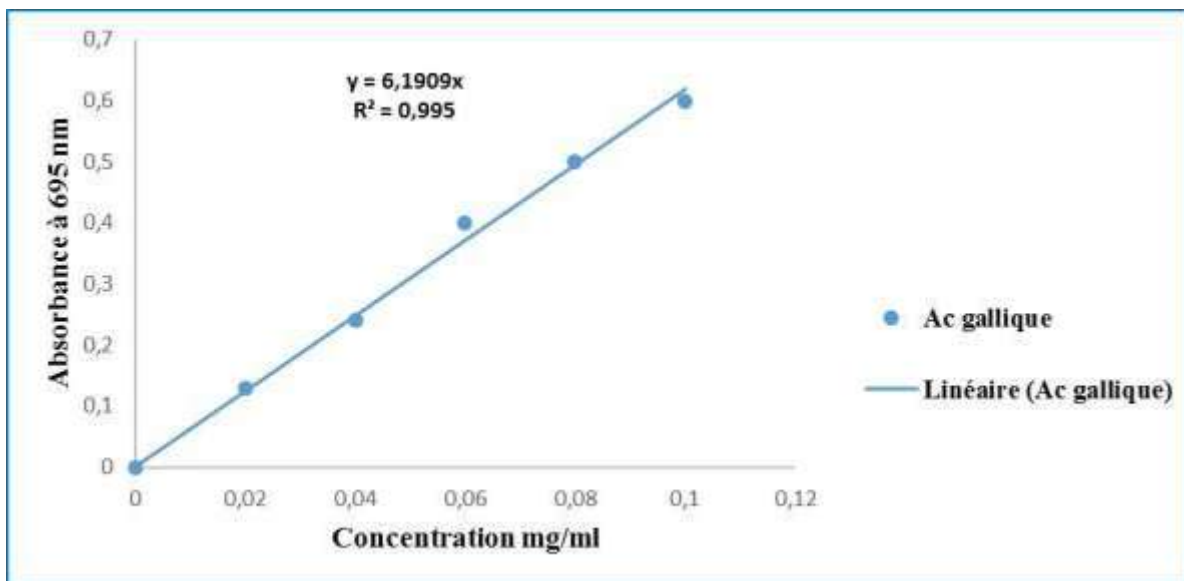
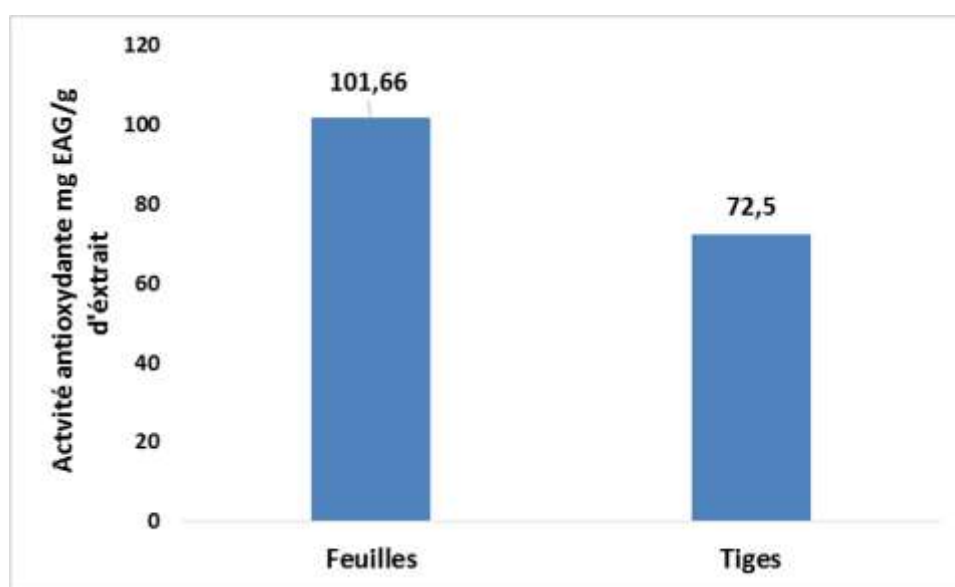


Figure77 : Courbe d'étalonnage de l'activité antioxydante.

Tableau 11: Activité antioxydante (test au phosphomolybdate) des extraits méthanoliques des feuilles et tiges.

Extraits	Tiges	Feuilles
Activité antioxydante Mg EAG/g d'extrait	72,5	101,66

**Figure 78 :** Activité antioxydante (test au phosphomolybdate) des extraits méthanoliques des feuilles et tiges.

Les valeurs obtenues lors de la mesure des activités antioxydantes des extraits méthanoliques des feuilles et tiges de notre plante par le test de phosphomolybdate d'ammonium sont illustrées dans le **tableau 11**.

Les résultats de **tableau 11** montrent que l'extrait des feuilles a une activité antioxydante plus élevée que l'extrait des tiges. Cette activité permet de réduire les ions Mo^{6+} en ion Mo^{5+} .

Les travaux effectués par **Jayaprakaska et al., en 2005** ont montré que le pouvoir réducteur de phosphomolybdate d'ammonium dépend de la teneur en composés phénoliques des échantillons et de la position ainsi que le nombre de groupements hydroxylés.

Scalbert.A en 1991, a montré que la capacité de réduire les ions Mo^{6+} en ion Mo^{5+} peut être dû à l'existence des polyphénols. En effet, ces derniers sont des composants très susceptibles d'auto-oxydation en présence de l'oxygène de l'air.

Activité enzymatique

IV.2.1. Activité anticholinestérase

Les résultats d'étude de l'activité cholinestérasique traités par les extraits (tiges et feuilles) de *Myrtus communis* L. sont présentés dans la (**Figure 79**), la dégradation de la couleur jaune vers le blanc indique que ces extraits ont des activités inhibitrices sur les enzymes de dégradation. Le galanthamine est utilisé comme contrôle positive.

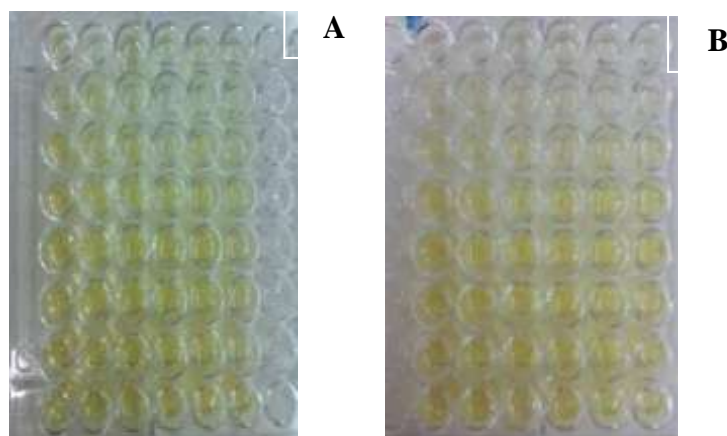


Figure 79: Résultats de test d'inhibition d'AChE (A) et BChE (B), (Photos originales).

Le pourcentage d'inhibition des deux enzymes AChE ou BChE est déterminé par rapport au blanc. Les résultats sont présentés sous forme d'un histogramme (**Figure 80**) en fonction de la concentration ($\mu\text{g/ml}$).

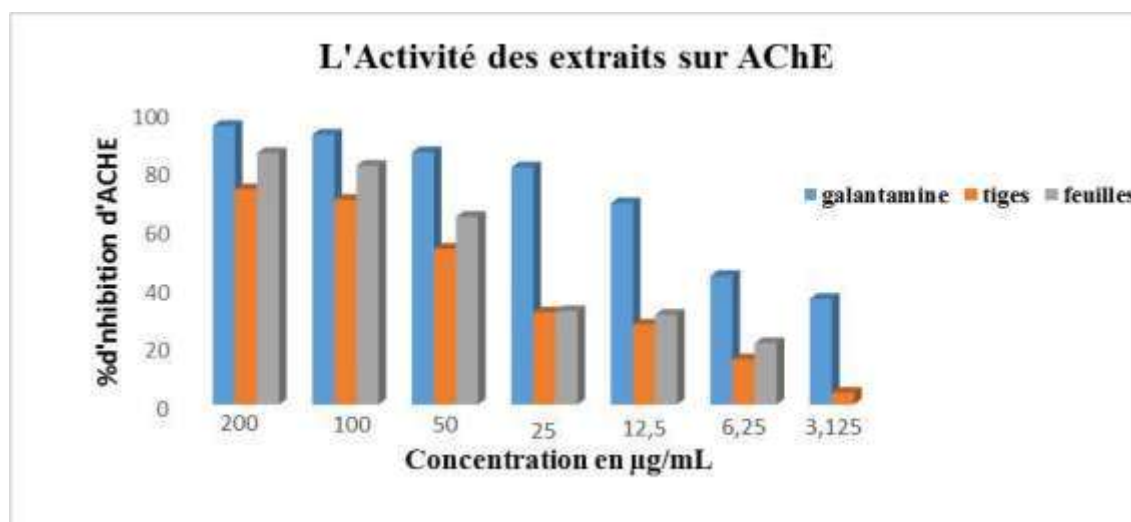


Figure80 : Effet des extraits méthanoliques (tiges, feuilles) et le galanthamine sur l'inhibition de AChE.

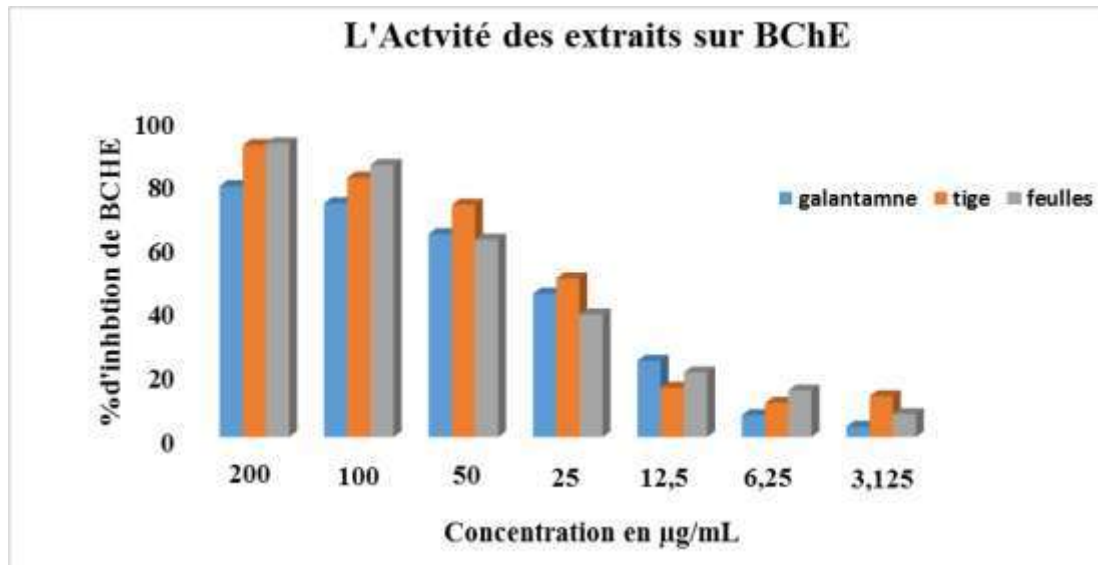


Figure 81 : Effet des extraits méthanoliques (tiges, feuilles) et le galanthamine sur l'inhibition de BChE.

D'après La figure (80), on constate que les différents extraits testes possèdent un effet inhibiteur vis-à-vis l'ACHé. Le pourcentage d'inhibition est varié entre 20.87% à 85.5% pour les feuilles, de 4% à 73.21% pour les tiges et pour le galanthamine est entre 35,93% et 94.77%.

On conclut que les feuilles ont un effet inhibiteur plus fort que les tiges, et cela est dû probablement à la richesse de l'extrait des feuilles par les métabolites secondaires par rapport à l'extrait des tiges.

La comparaison de l'IC50 des extraits de tiges et feuilles est illustrée dans la figure 82.

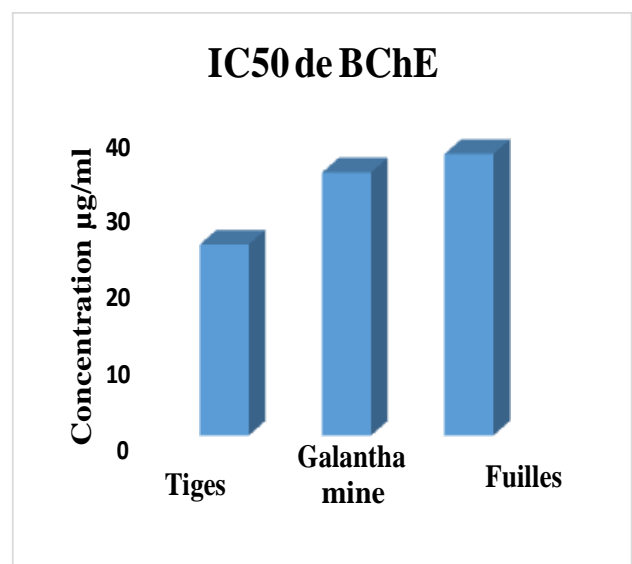
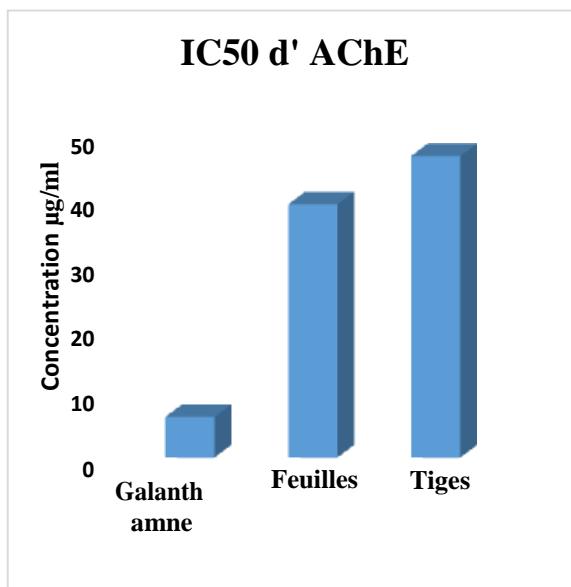


Figure82 : Les valeurs d'IC50 des tiges et feuilles pour AChE et BChE.

La figure (81) montre que le pourcentage d'inhibition vis-à-vis de BChE pour les différents extraits est varié entre 7.26% à 92.42% pour les feuilles, de 12.89% à 91.83% pour les tiges et de 3,26 % à 78,95 % pour le galanthamine. Le pouvoir inhibiteur le plus élevé est celui de l'extrait des tiges.

Les extraits testés de tiges et feuilles présentent, vis-à-vis de l'AChE, des valeurs de CI50 égale à 46.59 µg/mL et 39.11 µg/mL respectivement qui sont élevés en comparaison avec la galanthamine CI50 =6.27 µg/mL

La CI50 de l'extrait des tiges pour le test d'inhibition de BChE est inférieure par rapport de L'IC50 de l'extrait des feuilles et galanthamine 25.24 µg/mL, 34.75 µg/mL, 37.18 µg/mL. Ce résultat obtenu est très important parce que la galanthamine est un inhibiteur compétitif et réversible de l'BChE, utilisé dans plusieurs pays pour traiter la maladie d'Alzheimer.

Ibrahim et al., en 2011 affirment nos résultats obtenus, ils ont trouvés que les extraits de la plante de *Myrtus communis L* possèdent une activité inhibitrice sur les deux enzymes AChE et BChE, avec un pourcentage d'inhibition qui varie entre $17.49 \pm 3.99\%$ à $43.15 \pm 1.55\%$ et de $21,83 \pm 3,82\%$ $36,80\%$ respectivement. Et ils ont expliqués ce résultat par la richesse de cette plante par les composés bioactives.

Iv.3. Test antibactérien

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques (tiges et feuilles) de *Myrtus communis L* a été testé vis – à-vis cinq souches bactériennes prélevées partir des patients et trois souches ATCC qui ont été utilisées comme références. L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné dans les extraits étudiés. Le diamètre de la zone d'inhibition est exprimé en mm diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. Les résultats sont présentés dans la figure 83 ,84,85, et le tableau 12.

Le disque imprégné du méthanol a été utilisé en tant que contrôle négatif et n'a montré aucun effet inhibiteur sur la croissance bactérienne.

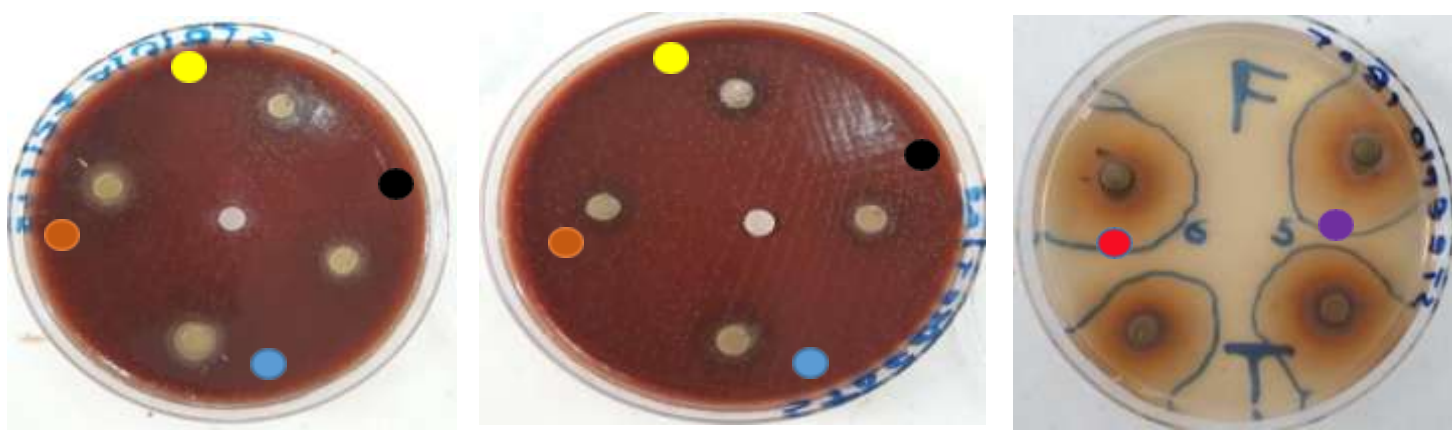


Figure 83: Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de *Myrtus communis L* sur *Streptococcus pneumoniae* isolé à partir des patients (**Photos originales**).

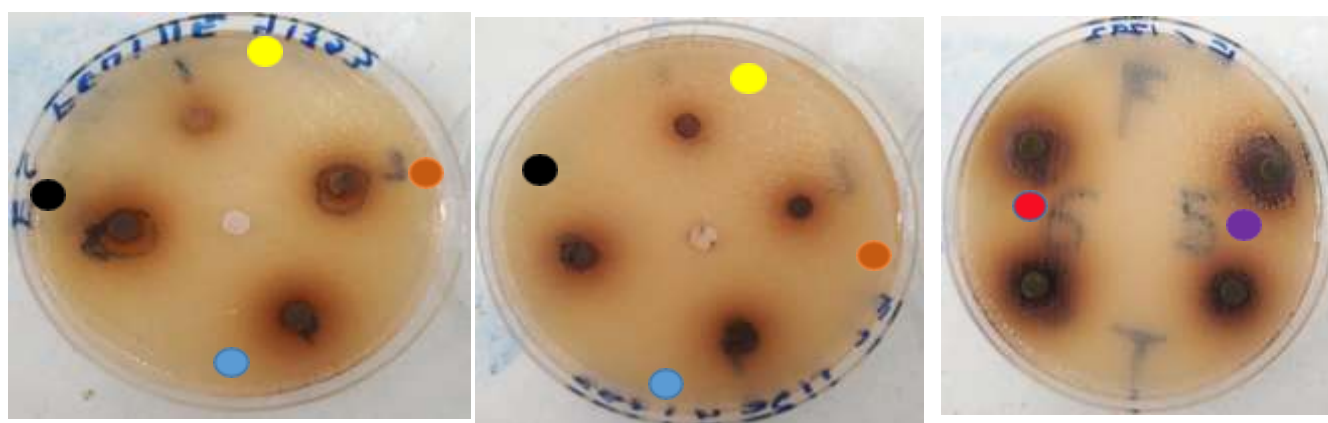


Figure84 : Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de *Myrtus communis L* sur *Escherichia coli* isolé à partir des patients (**Photos originales**).

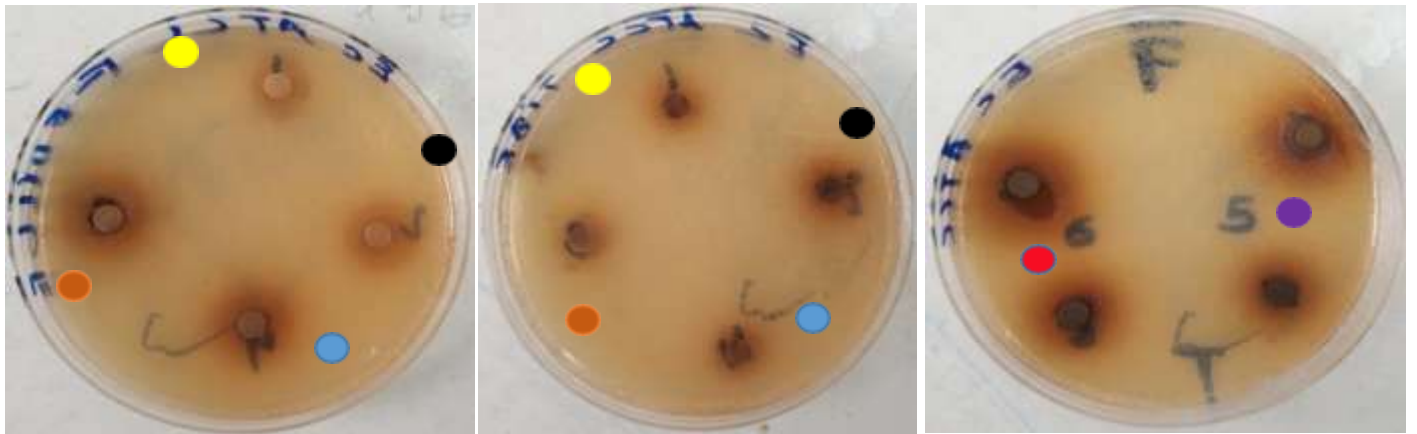


Figure 85: Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de *Myrtus communis* L sur *Escherichia coli* ATCC (Photos originales).

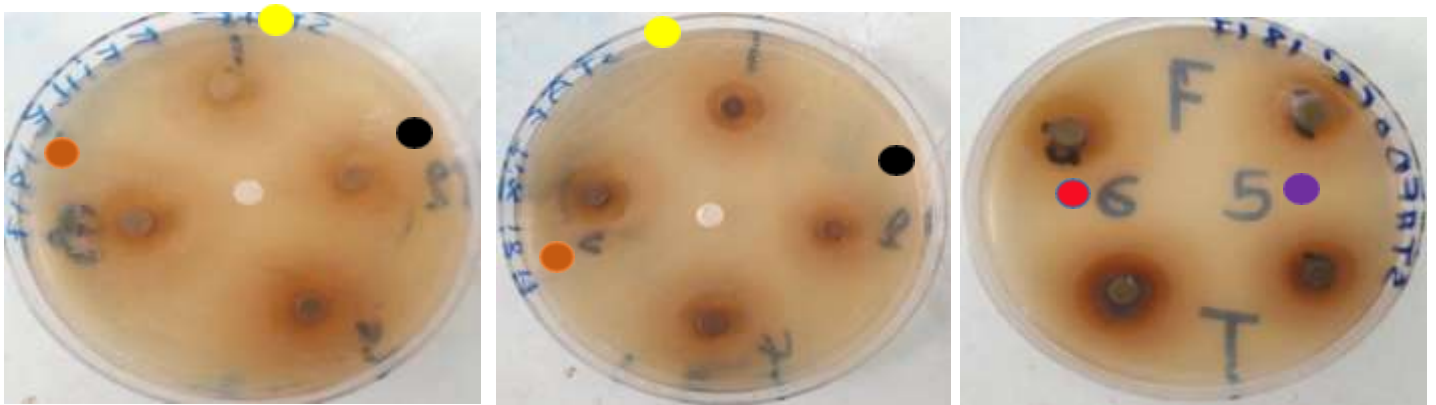


Figure 86: Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de *Myrtus communis* L sur *Staphylococcus aureus* isolé à partir des patients (Photos originales).

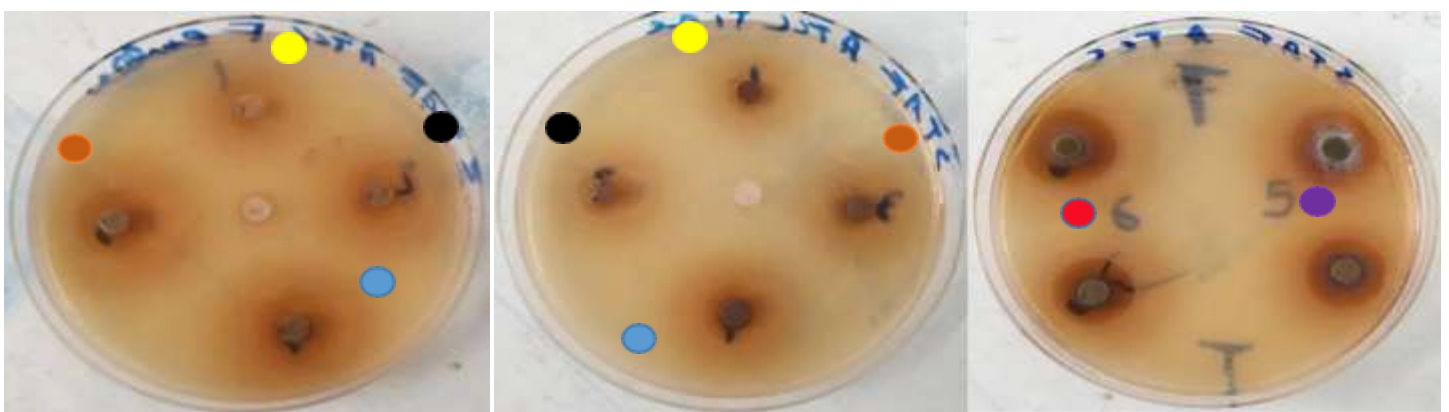


Figure 87: Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de *Myrtus communis* L sur *Staphylococcus* ATCC (Photos originales).

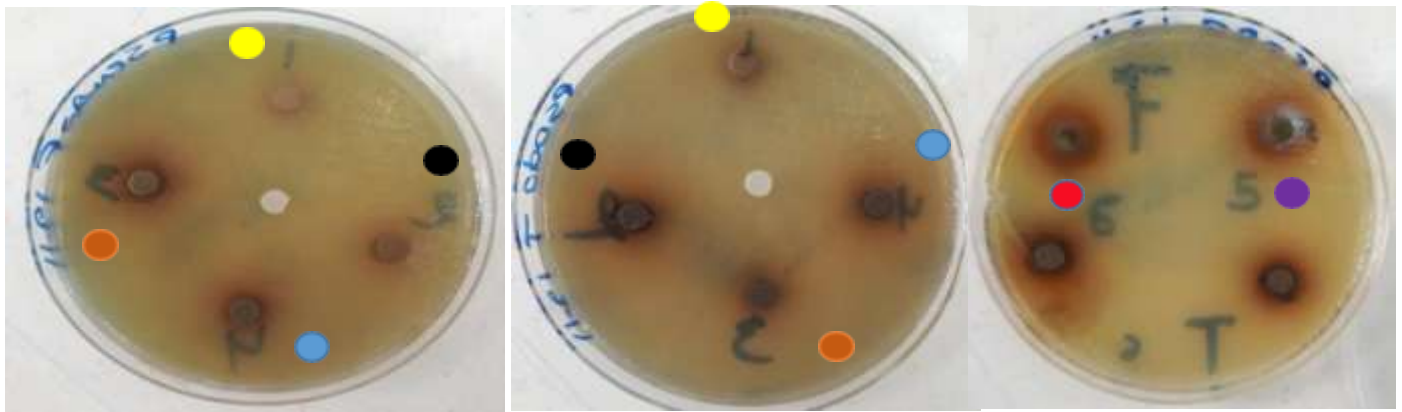


Figure 88: Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de *Myrtus communis L* sur *Pseudomonas aeruginosa* isolé à partir des patients (**Photos originales**).

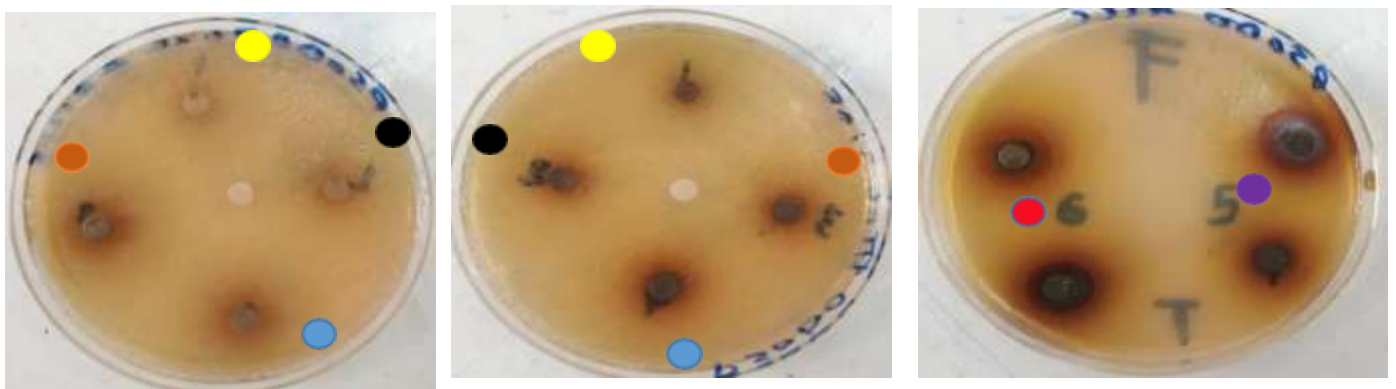


Figure 89: Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de *Myrtus communis L* sur *Pseudomonas ATCC* (**Photos originales**).

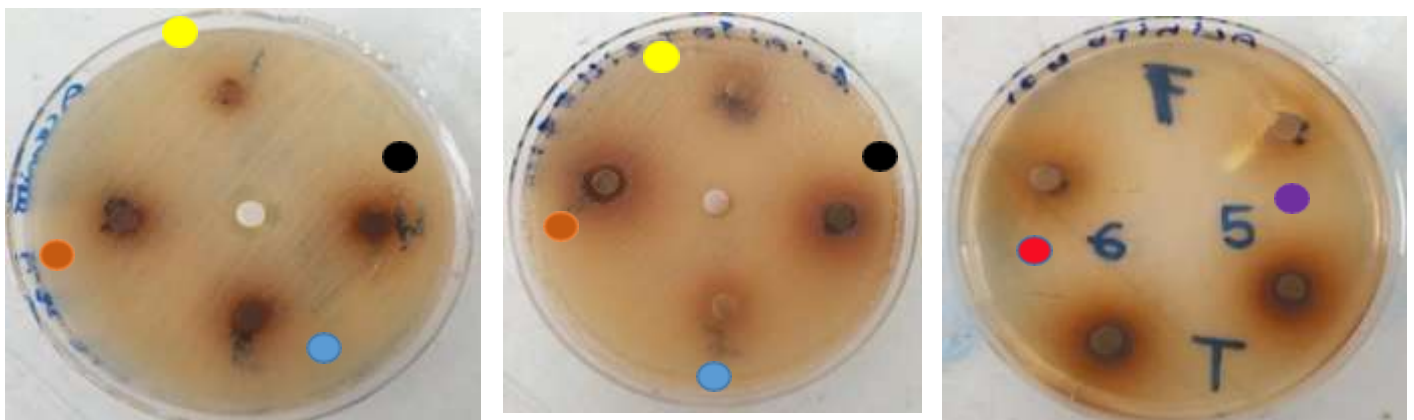


Figure 90: Activité antibactérienne des extraits de tiges et feuilles de *Myrtus communis L* sur *Acetobacter boumannii* isolé à partir des patients (**Photos originales**).

Les concentrations :

 50 mg/ml	 200 mg/ml
 100 mg/ml	 300 mg/ml
 150 mg/ml	 400 mg/ml

Tableau 12: Diamètre d'inhibition des souches bactériennes selon la concentration des extraits

extrait	[c](mg/ml)	Zones d'inhibition (mm)							
		<i>Streptococcus pneumoniae</i>	E.C	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>Acéntobacter boumanni</i>	E.C ATCC	<i>S. Aureus</i> ATCC	<i>P. aeruginosa</i> ATCC
feuilles	50	–	–	10	–	–	–	9	–
	100	–	–	11	–	5	–	11	–
	150	9	–	13	7	–	–	12	–
	200	10	–	14	7	–	–	12	–
	300	24	12	18	12	–	11	19	19
	400	30	12	18	16	–	13	20	16
tiges	50	–	–	9.5	–	–	–	7	–
	100	–	–	9.5	–	–	–	6	–
	150	9	–	12	–	–	–	9	–
	200	10	–	13	–	8	–	1	–
	300	28	10	17	10	–	–	18	11
	400	28	10	20	10	–	–	16	14
Me OH	–	–	–	–	–	–	–	–	–

D'après le tableau 12 on a constaté que le diamètre des zones d'inhibitions est augmenté en fonction en fonction des concentrations.

Les résultats montrent que les extraits méthanoliques des tiges et feuilles de la plante *Myrtus communis* L. induisent une inhibition remarquable sur la croissance de certains bactéries à gram positive et négative où le diamètre d'inhibition est égal ou supérieur à 5 mm.

Les résultats présentent clairement que les extraits de la plante ont des effets sur les *streptococcus pneumoniae* et *staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition maximal égale à 30 mm et 20 mm respectivement.

Les extraits montrent une activité inhibitrice vis-à-vis de *l'Escherichia coli* seulement pour les concentrations élevés (300 mg/ml, 400mg/ml) avec un diamètre d'inhibition maximal de 12mm.

De plus, les extraits méthanoliques n'ont pas un effet remarquable sur *Acétobacter boumanni*. La zone d'inhibition est trop faible environ 5-8 mm.

Les extraits possèdent les mêmes effets inhibiteurs sur les souches bactériennes ATCC que les souches bactériennes isolées à partir des patients. Et cela a été confirmé par le pouvoir antibactérien.

On peut conclure que les extraits méthanoliques des feuilles et des tiges du *Myrtus communis* sont actifs sur les germes testés.

Les résultats obtenus par **Aicha.,2008** sont comparable avec nos résultats, ils montrent que les feuilles de *Myrtus communis L* exercent une activité antibactérienne avec un diamètre entre 10 à 20mm pour *Staphylococcus aureus*. Aussi les travaux réalisés par **Mert et al,2008** montrent que le myrte a une activité antibactérienne avec un diamètre d'inhibition de 8 mm pur *Pseudomonas aeruginosa* ,et 9mm pour *Escherichia coli*.

Plusieurs d'autres travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-), Ceci peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les bactéries Gram (-), indépendamment de la membrane des cellules, possèdent une couche additionnelle la membrane externe, qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopoly-saccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules. Néanmoins, la présence des porines dans cette couche permettra la diffusion libre des molécules avec une masse moléculaire en-dessous de 600 Da. Cependant, l'inhibition de la croissance des bactéries Gram (-) a été rapportée, particulièrement en combinaison avec les facteurs qui peuvent déranger l'intégrité de la cellule et/ou la perméabilité de la membrane, telle que les basses valeurs du pH et les concentrations accrues en NaCl. (**Halmi., 2015**).

L'hypersensibilité de la souche *Staphylococcus aureus* ATCC peut s'expliquer par la probabilité de la sensibilité des bactéries Gram (+) aux changements environnementaux externes, tels que la température, le pH, et les extraits naturels due à l'absence de la membrane externe. (**Halmi ., 2015**).

La résistance des deux souches *Escherichia coli* ATCC et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC peut être attribuée à la capacité de l'agent antibactérien de diffuser uniformément dans l'agar. (**Halmi ., 2015**).

***Conclusion et
perspectives***

Conclusion et perspectives

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de substances naturelles bioactives tels les polyphénols, ces molécules suscitent actuellement l'intérêt de plusieurs chercheurs en raison des bénéfices qu'ils pourraient procurer à la santé de l'homme.

La présente étude s'est attelée sur l'étude phytochimique des extraits méthanoliques de la partie aérienne (tiges et feuilles) de la plante *Myrtus communis* L, de la région de EL-MILIA- Jijel, par la détermination de leurs teneurs en polyphénols et par l'évaluation de certaines activités biologiques.

Le screening phytochimique indique la richesse des feuilles et tiges de l'espèce *Myrtus communis* L. en flavonoïdes, Saponines, Stérols, Polyterpènes, Sucre réducteur, Tanins vrais et Phénol. Tandis que le résultat est négatif pour le test des alcaloïdes dans les deux extraits de notre plante.

Le dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux des extraits méthanoliques (tiges et feuilles) a été effectué par la méthode colorimétrique. Les résultats obtenus montrent que l'extrait des feuilles est plus riche que l'extrait des tiges par ces métabolites.

Le potentiel antiradicalaire des deux extraits a été déterminé *In-vitro* par plusieurs tests : DPPH, ABTS, Phosphomolybdate, ainsi que le test de pouvoir réducteur.

Les résultats de DPPH et ABTS ont montré que les deux extraits méthanoliques possèdent une activité antioxydante très importante avec des IC₅₀ égale à 0.371 mg/ml et 3.24 µg/ml respectivement pour l'extrait des feuilles et 0.621mg/ml, 9.99 µg/ml pour l'extrait des tiges. Cela est dû à la richesse des extraits par les composés phénoliques.

La capacité de l'extrait des tiges à réduire le fer est inférieure à celle de l'extrait méthanolique des feuilles, les EC₅₀ sont 0.670 et 0.889 mg/ml respectivement.

Le test de Phosphomolybdate a montré que l'extrait des feuilles a une activité antioxydante plus élevée que l'extrait des tiges. Cette activité permet de réduire les ions Mo⁶⁺ en ion Mo⁵⁺.

L'activité enzymatique des extraits méthanoliques (feuilles et tiges) de *Myrtus communis* L. montre que l'extrait des feuilles possède un effet inhibiteur plus important que les tiges vis-à-vis d'AChE. Par contre l'extrait des tiges a un effet inhibiteur plus élevé par rapport à l'extrait des feuilles vis-à-vis de BChE.

L'activité antimicrobienne, a été évaluée en utilisant une gamme de microorganismes afin de donner une idée sur l'étendue du champ d'activité antimicrobienne de nos extraits. Les résultats obtenus ont révélé que les extraits s'avèrent très efficaces contre *Staphylococcus*

Conclusion et perspectives

aureus, *Streptococcus pneumoniae*, et *Pseudomonas aeruginosa*, et moins efficaces vis-à-vis *E. Coli* et *Acétobacter boumanni*.

Les investigations réalisées pour cette plante sont considérées comme une première étape qui s'inscrit dans le cadre de leur valorisation, pour développer cet axe de recherche, un certain nombre de perspectives peuvent être envisagées :

- Du point de vue phytochimique, il nous semblerait pertinent, d'étendre nos investigations à l'identification et la purification des métabolites secondaires, appartenant à des classes différentes, potentiellement intéressants pour le traitement de plusieurs pathologies entre autres le cancer.
- Du point de vue activité antioxydante, sera mieux de compléter nos résultats obtenus par la méthode de modélisation moléculaire d'une manière plus exhaustive pour confirmer l'existence de corrélations entre structure et activité.
- Réalisation d'une étude *In vivo* sur un modèle animal.
- A la fin, du fait que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez important de métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques particulières qui demandent d'être exploitées par les recherches.

***Références
bibliographiques***

Aberkane M.C, 2006. Etude phytochimique de la plante *Publicaria laciniata*. Thèse de doctorat. Université de Batna. P163.

Afonso. V, Champy .R, Mitrovic. D, Collin P, Lomri A,2007. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases. *Revue du Rhumatisme*. **74:P** 636–643.

Aissous.A ,Bechara. R,2016. Caractérisation chimique et activités biologiques d'extrait brut hydroalcoolique des graines de *Lepidium sativum*.mémoire.Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.P 91.

Ali-shtayeh, Ms., Yaghmour, Rm-r., Faidi, Vr., Salem, k., al-nuri, ma, 1998. Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the palestinian area. *Journal of ethnopharmacology*.**60.P** 265-271.

Amarenco.P, Cacoub.P, Vahanian.A, et Drouet ,2001.In : Athérombose.Paris : John Libbey Eurotext.P292.

Andreolletti.Pierre, 2001.In: Etudes des relations structure/fonction de la catalase de la bactérie *Proteus Mirabilis* et de l'origine de la résistance aux peroxydes de la souche *Proteus Mirabilis* (PR).Paris.P229.

Aniszewski.T, 1994. In:The biological basis of quinolizidine alkaloids. *Science of Legumes*, 1: P 1–24

Ayad.amel ,2017.Etude des mécanismes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* au niveau des hôpitaux de l'ouest algérien. Thèse de doctorat. Algérie : université Abou berk belkaid –tlemcen,P174.

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.p 10

Bagora.Bayala ,2015. Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes .Thèse de doctora.France : Université Blaise Pascal -Clermont-Ferrand. P224.

Bahorun.T, 1997 : Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne .une source d'APPROVISIONNEMENT potentielle .Food and agricultural research council mauritias p83-94.

Balkis M. M., Leidish S. D., Mukheryei P. K., Ghannoun M. A, 2002. Mechanism of fungal resistance. *Drugs* **62:P** 1025–40

Benabdelkader .T, 2012. Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Thèse de doctorat, école normale supérieure de Kouba –Alger, Algérie et université Jean –Monnet de Saint –Etienne, France : P 281.

Barboni. T, 2006. Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, p 293.

Bere-charles.léonard,2010. Résistance des souches de *streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques à Bobo-Dioulasso : aspects phénotypiques et génotypiques. thèse de doctorat. Université d'ouagadougou unité de formation et de recherche en science de la vie et de la terre (ufr/svt/labiogene).P 99

Belkheiri. N. 2010. Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. P244.

Bénédicte.Lorrain, 2008. Inhibition de l'oxydation lipidique initiée par la métmyoglobine dans des émulsions stabilisées par le sérum albumine ou les phospholipides. Thèse de doctorat. Marseille : Université d'Avignon et des pays de Vaucluse. P349.

Berreghioua.Abdelaziz ,2016. Investigation phytochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicacées médicinales du sud algérien : *Moricandia arvensis* et *Zilla macroptera*. Thèse de doctorat. Algérie : Université Abou Bakr Belkaid –Tlemcen .P257

Bouakaz, I, 2006. Étude phytochimique de la plante *Genista microcephala*, Mémoire de magister. Université des Frères Mentouri Constantine. P91.

Boubekri.Chérifa, 2014. Étude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de doctorat. Algérie : université Khider-Biskra. p210.

Bouheroum. M,2007 . Étude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Rhantherium adpressum* et *Ononis angustissima*. Thèse de doctorat : Université MENTOURI .P175.

Bouzabata.A.2017. Contribution à l'étude d'une plante médicinale et aromatique *Myrtus communis* L. thèse de doctorat. Faculté de médecine, université Badji-mokhtar, Annaba, Algérie : p.260.

Brice.Nadal,2009. Synthèse et évaluation de nouveaux agents de protection contre les rayonnements ionisants. thèse de doctorat. Paris : Université Paris Sud - Paris XI. P277.

Bruneton. J ,1999. Pharmacognosie -Phytochimie, Plantes Médicinales, 3ème édition, (Ed.) Tec et Doc Lavoisier, p 1120.

Bruneton.J. 1993.Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales, 2^{ème} Ed. Lavoisier, Paris. Carcinogenesis 30 (1): 93- 100.

Brand-williams w., Cuvelier E.e, Berset c.1995. Use of a free radical .method to evaluate antioxidant activity. Lebensm.-wiss.u-technol., , 28, P25-30.

Bruneton. J. 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, edition, lavoisier tec & doc, paris : 369-388.

Cardon.N, Vaillant.C ,Cren.P, Gruffat.P,Rappold.J-P H,2005. Corbé1 Intoxication aiguë au pesticide organophosphoré et activités des cholinestérases. Journal Of Chemistry.P6.

Carey.F, Sundberg.R, 1996.In: Chimie organique avancée: Structures moléculaires et mécanismes réactionnels.3ème éditions.Paris,Bruelles : De Boeck Supérieur.P844.

Chako.F-Z , Medjoudja.K,2014. Etude bibliographique sur la phytochimie dequelques espèces du genre Nitraria.Memoire.Algérie :Universite Kasdi Merbah, Ouargla.P40.

Charles.n, Jean-louis.v. 2005. Bacteriologie médicale.2 emme edition. Paris :ISBN ,p255.

Chenni.mehammed.2016.Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "ocimum basilicum l."extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. Thèse de doctorat. Algérie : Université d'Oran Ahmed ben belle,p185.

Christiane.you essoh,2013.Etude épidémiologique de souches de Pseudomonas aeruginosa responsables d'infection et de leurs bactériophages pour une approche thérapeutique. Thèse de doctorat. Paris : université paris-sud xi,p240.

Chung. K-T, Wei. C-I., Johnson. M-G., 1998. Are tannins a double-edged sword in biology and health? *Trends Food Sci. Techn*, 9, p 168-175.

Collin.S ,Crouzet.J .2011.In : polyphénols et procédés :TEC&DOC.France :Lavoisier.p353.

Cristina.P, Ilonka.S, Bartek.T ,2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.4.P24-39.

Delporte. G, Mascolo. N, Izzo. A. A., et al.,1999 .Life. Scien., 65(4), P 337-53.

- Desmier.T,2016.** Les antioxydants de nos jours : définition et applications Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie Présentée et soutenue publiquement. Université de Limoges.p88.
- 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):P 317-322.
- Doat. J, 1978.** Les tannins dans les bois tropicaux. *Revue bois et forêts des tropiques*, 182, pp 37-54.
- Donatien.Kone , 2014 .** Enquête Ethnobotanique De Six Plantes Médicinales Maliennes - Extraction, Identification D'alcaloïdes - Caractérisation, Quantification De Polyphénols : Etude De Leur Activité Antioxydante. Bamako:La Faculté Des Sciences Et Techniques.P189
- Dohou. N , Yamni. K , Gmira. N, Idrissi hassani. L.m. 2003.** Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine thymelaealythroïdes, *bull. Soc. Bordeaux* , 142: 61-78.
- Dubois.G, Grosby.G ,Saffron P.1977.** Non nutritive Sweeteners: Taste structure relationships with forsome new simple dihydrochalcones. *Science*, 195 : P 397 - 399.
- Ellman.G-L, Courtney. K-D, Andres.V, Featherston. R-M, 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7.P 88–95.
- Erlund. 2004.***Nut. Res.* p24, 851-74.
- Ferreira .I, Baptista .P, Vilas-BOAS.M et Barros .L,2007.** Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*.P1511-1516.
- Fleuriet .A .1982 :**These Doc.Etat, Montpellier
- Floegel.A, Kim.D, Chung.S, Koo .S, Chun.O, 2011.** Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J Food Comp Anal*; 24.P 1043- 1048.
- Florence.Daine,2017.**Zinc- Rôles, besoins et sources alimentaires.doctissimo. food sources and bioavailability. *Am Journal Clin Nutr.* 79 : 727-47.
- Fraga, C. G. (2009).** Plant phenolics and human health: Biochemistry, Nutrition, and Pharmacology. John Wiley & Sons Edition, p 5-13.
- Ghedra.k.2005.**les flavonoïdes :structure, propriétés biologiques, rol prophylactique et emploi en thérapeutique.in :spriger .4eme Edition .Tunisie :p 162-169
- Ghnimi .wafa, 2015.** Etude phytochimique des extraits de deux euphorbiacées :ricinus communis et jatropha curcas. Evaluation de leur propriété antioxydante et de leur action

inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Thèse doctorat. France, Tunisie : Université de Lorraine, Université Carthage. p 244.

Goetz.P , Ghédira .K .2012.Phytothérapie anti-infectieuse .paris :Springer Science &Business Media ,2012 ,385.

Goita .adam, 2013.Les bactéries pathogènes d'origine hydrique de l'épidémiologie à la prévention. Thèse de doctorat.rabat : université mohamed v –souissi.p171.

Gonzalez.A-G, Estevez-Braun. A.1997. Coumarins, *Nat. Prod. Reprod*, 14 : P 465-475.

Grar.Hadria, 2017.Etude des propriétés immunomodulatrices et antioxydantes du β carotène et de la vitamine E chez la souris Balb/c rendu allergique à la β Lactoglobuline.Algérie : université d'Oran Ahmed ben Bella.P166.

Hadi.M 2004. La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ;études et applications thérapeutiques, Thèse pour obtenir le titre de docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur, Domaine : Pharmacochimie, Université Strasbourg I. P: 155.

Hadj Salem.Jamila ,2009. Extraction, identification, caractérisation de activités biologiques flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèses de dérivés de ces molécules par voie enzymatique.thèse doctorat.france.université lorraine. P 271.

Halmi.Sihem,2015.Etude botanique et phytochimique.Thèse de doctorat.Algérie : Université des Frères Mentouri De Constantine.P243.

Havsteen. B-H. 2002.The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.* p96,67–202.

Heller. W, Forkmann, G. 1993. Biosynthesis of Flavonoids, in *The Flavonoids: Advances in research since 1986*. Chaman and Hall, London, UK, pp-499-536.

Heywood V.H,1996. Flowering plants of the world. B.T. Batsford, Ltd, London.Cité par Grattapaglia D., Vaillancourt R.E., Shepherd M., Thumma B.R., Foley W., Kulheim C., Potts B.M., Myburg A.A. 2012. Progress in Myrtaceae genetics and genomics : *Eucalyptus* as the pivotal genus. *Tree Genetics Genomes* 8.P 463–508.

Igor Passi L B. 2002. Etude des activités biologiques de *Fagara zanthoxyloides* Lam. (*Rutaceae*). Thèse Pharmacie, Bamako . P133 .

Iqbal.H,Moneeb-U.R-K ,Riaz .U ,Zia. M , Naeem.K, Farhat .A-k ,Zahoor.U et Sajjad.H, 2011 .In: Phytochemicals screening and antimicrobial activities of selected medicinal plants

of Khyberpakhtunkhwa Pakistan African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 5(6).P 746-750.

Jaber.Ali. 2017.Matrices MALDI bitiophéniques spécifique aux alcaloïdes : étude des mécanismes fondamentaux et applications. these de doctorat.université deangers.p289.

Jayaprakash. M, Srinivasalu. S, Jonathan.M-P, Ram Mohan. V, 2005. A baselinestudy of physico-chemical parameters and trace metals in waters of EnnoreCreek, Chennai, India. Mar. Pollut. Bull. 50, 583–608.

Jean.Bruneton. 2009. Composés phénoliques. In :pharmacognosie ,phytochimie,plante médicinales.4eme Edition .paris :lavoisier p261-262.

Jean-Denis J.B. 2005. Caractérisation de polyphénols stilbéniques et de dérivés induits ou constitutifs de la vigne impliqué dans sa défense contre l'agent pathogène du mildiou de la vigne, *Plasmopara viticola* (Berk and Curt). Thèse de doctorat en Biochimie. Université de Neuchâtel.

Jean – Marie .G ,Loic .G , Gean Francois .L ,Dominique.R ,olivier .S ,Ellen schmitt .V ,hubert.v,2010.Les mammites.paris. 1 ere editon.pari :isbn. P255.

Jeong.S-M, Kim.S-Y,Kim.D-R, Jo.S-C, Nam.K-C,Ahn.D-U, Lee.S-C,2004. "Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels". Journal of Agriculture and Food Chemistry, vol 52.P3389–3393.

Jost.J.P,Jost.Y-C .2016. In :Strategie de déffence des plantes contre les les maladieset les parasites (et quelque application pratique).connaissance et savoir.france :publibook ,P53-55.

Julie.Pescheux, 2016. L'implication de la vitamine c dans la thérapeutique parodontale. Thèse de doctorat. Toulouse : Université Toulouse III – PAUL SABATIER.P70.

Kanoun.k ,2011. Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Memoire.Algérie: Universite aboubekr belkaid tlemcen.P118.

Kerio.L-C, Wachira.F- N, Wanyoko. J-K. & Rotich.M- K ,2012: Characterization of anthocyanins in Kenyan teas: Extraction and identification. Food Chemistry. 131, p 31–38.

Khaled. Oueslati, 2017.Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande. Thèse de doctora.France : université clermont auvergne.P240.

Kong. J-M, Chia.L-S, Goh. N-K, Chia. T-F ,2003. & Brouillard, R: Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*. 64: p 923–933.

Krim.Meriem, 2014. L'importance des antioxydants (Gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates chez les rats. Thèse de doctorat. Algérie(Annaba) : Université Badji Mokhtar .P207.

King, I. A., e. Loukiadis, p. Mariani-kurkdjian, s. Haeghebaert, f. X. Weill, c. Baliere, s. Ganet, m.gouali, v. Vaillant, n. Pihier, h. Callon, r. Novo, o. Gaillot, d. Thevenotsergentet, e. Bingen, p.chaud, and h. De valk, 2014. Foodborne transmission of sorbitolfermenting *escherichia colio*157:[h7] via ground beef: an outbreak in northern france. *Clinical microbiology and infection*. 20 (12).P 1136-1144.

Koffi. N , Beugré. K, guédé. N. Z , Dossahoua. T, Laurent. A. 2009. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays krobou (agboville, côte-d'ivoire), *sciences & nature*, 6(1:1):p15.

Kumaran.A , Karunakaran.R-J,2007.In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from india". *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*, vol 40.P 344–352.

Lauwerys.R, 1999. Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles : Insecticides organophosphorés. Mise à jour : mai 2005. 4e édition. Paris : Masson.P.774-782.

Lehucher-Michel. M. P, Lesgards. J. F., Delubac O., P. Stocker, P. Durand, M. Prost ,2001.*Stress oxydant et pathologies humaines*. Press Med., 30 p 1076-1081.

Leverve.X ,Cosnes.J ,Philippe. E ,Hasselmann .M .2001. radicaux libre , peroxydant et setrsse oxydant .In :*Traité de nutrition artificielle de l'adulte*. 2 emme edition.france. Springer science& busness Media.p 235-237.

Liuk.L, Sun.Y, Laura.T, et al,2009. Determination of polyphenolic content and antioxydant activity of Kudingcha made from *Ilex kuding- cha* C.J. Tseng. *Food Chem* 112.P 35–41.

Mabrouk.H, Mechria.H,Rahali.h, Douki.W,Gaha.L,2011. Butyrylcholinesterase activity in schizophrenic patients.*Journal Of Chemistry* .P247.

Macheix-J.J, Fleuriet.A, P. Sarni-Manchado, 2006. Composés phénoliques dans la plante - Structure, biosynthèse, répartition et rôles. *Les polyphénols en agroalimentaire*. Lavoisier, Paris.

Madi.Aicha, 2018.Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*. These doctorat.Algerie.Université DES FRERES MENTOURI. CONSTANTINE 1.

MALECKY .mostafa. 2012. MÉTABOLISME DES TERPÉNOÏDES CHEZ LES CAPRINS. Thèse doctorat. l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech).p205.

Manach. C, Scalbert. A, Morand. C, Rémésy .C, Jimenez .L. 2004. Polyphenols :
MANE.S ,2012. Etude comparée des propriétés antioxydantes des extraits d'écorces de tronc, des feuilles et des fruits (coques et graines) de *khaya senegalensis* (desr.) A. Juss (meliaceae).thèse de doctorat. Burkina faso : universite de ouagadougou.p120

Mane.S, 2012. Etude comparée des propriétés antioxydantes des extraits d'écorces de tronc, des feuilles et des fruits (coques et graines) de *khaya senegalensis* (desr.) A. Juss (meliaceae).Thèse de doctorat. BURKINA FASO : Université d'Ouagadougou.p120.

Marfak. A.2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools :formation de depsides. Thèse de doctorat. Université de Limoges,P 220

Martin- Lopez. T, Rubio. B, Villaescusa. L, Fernandez. L, Diaz. A.M. 1999. Polyphenolic compounds from pericarps of *Myrtus cummunis*, *Pharmaceutical Biology*, 37:P 28-31.

Maurice. Santelli, 2012.In : Chimie bio-organique.Paris : Lavoisier.P386.

Médart. Jacques, 2009.In : Manuel pratique de nutrition : l'alimentation préventive et curative .2éme édition.bruxelles : De Boeck Université.p279.

Mena S, Ortega A, Estrela JM 2009. Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. *Mutation Research*. **674: P** 36-44.

Merghem.R.2009. élément de biohime végétales. Bahaeddineedition.p :P120-121

Mert. T, Fafal .T, Kıvçak .B, Öztürk, H. T.2008. *Myrtuscommunis*'in Antimikrobiyal ve SitotoksikAktiviteleri. Ankara Ecz. Fak. Derg. 37 (3) 191-199. Onaran A. Yılar M. 2012. Antifungal activity of *Trachystemon orientalis* L. aqueous extracts againstplant pathogens. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 10 (3&4). p. 287-291.

Migliore. J,2011. Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre *Myrtus* en méditerranée et au Sahara. Thèse de Doctorat. Université Paul Cézanne AixMarseille III. Faculté des Sciences et Techniques, Discipline Biologie des populations et Ecologie.

Miller.N, Rice-E.C ,1997.Factors influencing the antioxydant activity determined by the ABTS+ radical cation assay.*Free Radical Res* .P195-199.

Mohammedi .Z,2013. Etude Phytochimique et Activités Biologiquesde quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie .Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid : 170.

Moller P, Wallin H, Knudsen LE ,1996. Oxidative stress associated with exercise, psychological stress and life-style factors. *Chemico-Biological Interaction*. **102** : P 17-36.

Montoro. P Tuberoso,C.I.G, Perrone. A,Piacente. S, Cabras. P, Pizza. C. 2006a. Characterisation by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry ofanthocyanins in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur, *J. Chromatogr. A*, 1112: 232–240.

Montoro. P, Tuberoso. C.I.G, Piacente. S, Perrone. A, De Feo. V, Cabras. P, Pizza. C.2006b. Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L.berries used for the preparation of myrtle liqueur, *J. Pharm. Biomed*, 41: 1614–1619.

Najjaa. N, Zouari. S, Arnault. I,A. J , Emna. A, Neffati. M. 2011. Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *allium alliumroseum l.* Et *allium ampeloprasum l*, *acta bot. Gallica*, 158(1) :p111-123.

Ophélie.Kwasnieski,2010. Etude théorique de la réactivation de l'AChE inhibée par le tabun.Thèse de doctorat.Paris : Université Pierre et Marie Curie.P177.

Ouibrahim .A, 2015. Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*laurus nobilis l.*, *ocimum basilicum l.* Et *rosmarinus officinalis l.*) De l'est algérien » ; thèse de doctorat . univesté. Badji mokhtar – annaba.

Oueslati.khaled. 2017.Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande.thèse de doctora.France :UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE.P240.

Oyaizu.M, 1986.In Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*.Vol 44.P.307–p 315.

Patrick.L, Dominique.B,Chantal.B,Bijan.G ,Gervaise.L ,Florence.P ,Jane-liste .S.2007.Radicaux libre et stresse oxydatif radicalaire. Technique permettant la mise en évidence d'un stress oxydatif au niveau vasculaire.Biologie et pathologie du cœur et desvaisseaux. 1ere edition.paris :john libbey eurotext.p311-433

Paul. franceshini.2016.MYRTUS COMUNIS L.EN Corse et en méditerranée : de sa composition chimique jusqu'à ses utilisation thérapeutique. Université Victor Segalen Bordeaux 2 U.F.R. .P 142.

PhD. Dr Eleonore Blaurock-Busch ,2014.In: La désintoxication douce: Programme de détoxification naturelle. Première édition.Paris : BoD - Books on Demand.p62.

Phillips, M. A. and Croteau, R. B. 1999. Resin-based defenses in conifers. Trends Plant Sci. 4, 184-190.

Prieto.P, Pineda.M, Aguilar.M, 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific application to the determination of vitamin E. Analytical Biochemistry. P 337-341.

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

Quideau .S- D, Deffieux. C, Douat-Casassus et L. Pouységu .2011. "Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. Angewandte Chemie - International Edition 50(3): 586-621.

Raven.P ,evert.R . 2014 .In :Biologie végétale.3 eme edtion.Bruxel:De boeck.p85.

Re.R, pellegrini.N, protegente.A, pannala.A, yang.M, rice-evans.c, 1999.antioxidant Activity applying an improved ABTS radical cationdecoloriationassay .free radical bio.med.26,1231-1237.

Rezaire. A. 2012, Activité anti-oxydante, et caractérisation phénolique du fruit de palmier amazonien *Oenocarpus bataua* (patawa). Thèse doctorat. Université des Antilles et de la Pharmacology. *John Wiley & Sons Edition*, p 5-13.

Ribereau-Gayon p.1968 .les composés phénoliques des végétaux ;ed :dumonde.paris.

Robertis.E, Robertis.E, 1983.In : Biologie cellulaire et moléculaire.7ème éditions. Paris : Presses Université Laval.P800.

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.

Russo-Marie. Françoise, 1998.In : L'inflammation.Paris : John Libbey Eurotext.P580.

Saffidine. Karima. 2015. Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L. Thèse de doctorat. sétif : UNIVERSITE farhat Abas .p132.

Sani.Muhammad-U, 2018.Effect of amitriptyline on equine serum butyrylcholinesterase: kinetic studies and docking calculation .P89.

Satish-N.D, Girdhar.S- D, Eugenio. M, Florian.N, Stephen.C, Marie-O. P, Xavier .B et Benjamin.R, 2016. Discovery and Structure–Activity Relationships of a Highly Selective Butyrylcholinesterase Inhibitor by Structure-Based Virtual Screening. *Journal of Medicinal Chemistry* .P7.

Scalbert.A ,1991. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*.30.P 3875 – 3883.

Seghaouil.M ,Zermane.A. 2017. Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques in vitro de l'espèce *Myrtus communis* L Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, P127.

SEKLI-BELAIDI.Fadhila ,2011. Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly(3,4 éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique : application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin.Thèse de doctorat.Toulouse : Université Toulouse III - Paul Sabatier.P212.

Serigne.O-S, Alioune.D-F, Rokhaya.G, Amadou.D, Khady.D, Ndeye.D, Bara.N , Yérim.M,2015 Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea) Vol 9.P1263

Singleton-V.L, Rossi-J.A, 1965 .In: Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Technology and Viticulture*. Vol16.P 144-153.

Smine.Selima.2017. Obésité induite par un régime riche en lipides (HFD) et effet protecteur d'un extrait polyphénolique de raisin (GSSE) : Approche protéomique.thèse de doctorat. L'Université de Rouen Normandie et de la Faculté des Sciences de Tunis.p154.

Sofiane.D, Khodir.M, Manar.A, Joséphine-L.K-H , Patrick.B, Céline. L, Jean _P. C, Marie_A. C, 2014. Antioxidative Properties and Ability of Phenolic Compounds of *Myrtus communis* Leaves to Counteract In Vitro LDL and Phospholipid Aqueous Dispersion Oxidation

Stafford .H-A .1990. flavonoid metabolism.CRC Press,Boca Raton,FL ,p298

Su .M-S, Shyu.Y-T, Chien.P-J,2008.Antioxydant activities of citrus herbal product extracts. *Food Chem*. 111.P 892–6.

Sun, Y, Jie.Ch, Basil .R. 2009. « Chemopreventive Agents Induce Oxidative Stress in CancerCells Leading to COX-2 Overexpression and COX-2-Independent Cell Death ».

Teow.C, Truong.V, Feete. R, Thompson.R, Pecota.K, Yencho.G, 2007. Antioxidant activities, phenolic and β -carotene contents of sweet potato genotypes with varying flesh colours. *Food Chem*; 103.P 829-838.

Traoré, m., thompson, b. & thomas, g.2012. Sustainable nutrition security: *restoring the Bridge between agriculture and health.*

Udenigwe.C-C, Ramprasath.V-R, Aluko.R-E, Jones.P-J, 2008. Potential of resveratrol in anticancer and anti-inflammatory therapy. *Nutrition Reviews* 66(8):p 445-454.

Valko .M, Leibfritz. D, Moncol .J, Cronin MT, Mazur. M , Telser .J, 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*,39(1), P 44-84.

Valko .M, Morris .H, Conin MTD ,2005. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*.12:P 1161-1208.

Van de Braak, S. A. A. J., and G. C. J. J. Leijten, 1999. Essential Oils and Oleoresins, CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam.

Wannes. W.A, Mhamdi. B, Sriti. J, Ben Jemia. M, 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 and Chemical Toxicology*, 48: P 1362–1370.

wollenweber .E, Wehde .R, Dorr . M, Lang . G.and Stevens J.F.2000.C-methyl flavonoids from the leaf waxes of some Myrtaceae. *Phytochemistry*, 55:965–970

Xia. E-Q, Deng.G-F ,Guo.Y-J, Li.H-B .2011. Biological activities of polyphenols from grapes. *International Journal of Molecular Sciences* 11(2): 622-646.

Yesilyurt.V, Halfon.B, Öwtürk .M ,Topçu.G,2008 .In: Antioxidant potential and phenolic constituents of *Salvia cedronella*. *Food chemistry*.P 31-39.

Yusuf. Y.2006 :trends food sci.Tech,17,P 64-71.

Yves-alain. B, Janat. A, Mamyrbekova. B, Boua. B, Fézan. H. Trabi, Ehouan. E. 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *caesalpinibenthamiana* (baill.) Herend. And *zarucchi* (caesalpinaceae), *sciences &nature*, 4 (2) : 217 – 225.

Zakkad.Farida. 2017. Etude phytochimique et évaluation de quelques propriétés biologiques de trois espèces de l'Euphorbia. Thèse de doctorat. ANNABA : UNIVERSITE BADJI MOKHTAR .p168.

Zenk, M.H., Juenger, M, 2007.Evolution and current status of the phytochemistry of nitrogenous compounds. *Phytochemistry Review* **68**, 2757 – 2772.

Zerargui.Fatima,2015. Activité antioxydante des extraits de racines *Tamus communis L.* et caractérisation des substances bioactives.Thèse de doctorat.Sérif : Université Ferhat Abbas Sétif 1.P169

Zhao.t,Ding.K-M,Zhang.L,Cheng.X-M.Wang.C-H,Wang.Z-T,2013.Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Inhibitory Activities of β -Carboline and Quinoline Alkaloids Derivatives from the Plants of Genus *Peganum* . *Journal of Chemistry*.P6.

Reference web

Anonyme 1 : www.pinterest.com

Anonyme 2 : www.pinterest.com

Anonyme 3 : www.pinterest.com

Anonyme 4 : www.oocities.org

Daoudi.M. Plantes médicinales et aromatiques :vertus, usages et précautions [en ligne].(modifier le 07/12/2016) Disponible sur < <https://www.bio-enligne.com> > consulté (23/03/2019).

Ser .Chatard.flore de la Réunion [en ligne].(modifier le 2002,2019) Disponible sur < [http://www.mi-aime-a-ou.com/Myrtaceae.php?page= 1](http://www.mi-aime-a-ou.com/Myrtaceae.php?page=1) > consulté (05/03/2019).

Morlhon. P. Plante Botanique[en ligne].(modifier le 2002 ,2019) Disponible sur < [https://www.plantes-botanique.org />](https://www.plantes-botanique.org/) consulté (19/03/2019).

<https://www.pinterest.com>

Florence.Daine.Zinc- Rôles, besoins et sources alimentaires [en ligne]. (modifié le 14 août 2017)Disponible sur : <http://www.doctissimo.fr/> (consulté le 19/05/2019).

Aïcha. Hennia.2016. Extraction et étude de l'activité biologique des huiles essentielles du Myrte (*Myrtus communis L.*).[en ligne] .1.(12/06/2019).

Annexe

Réactifs chimiques et solvants

➤ Solvants et réactifs

Dans cette étude on a utilisé plusieurs solvants et réactifs on site :

Méthanol, éther de pétrole, réactif de Mayer, d'hydroxyde de potassium KOH, acide sulfurique, réactif de Fehling. chlorure ferrique (FeCl_3), éthanol, Folin Ciocalteu, L'acide gallique, carbonate de sodium, La Quercétine, trichlorure d'aluminium(AlCl_3), 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH), tampon phosphate, ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, trichloracétique TCA, l'ABTS , persulfate de potassium $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, H_2SO_4 , de NaH_2PO_4 , NaOH, Na_2HPO_4 , tampon à PH = 8, sodium phosphate buffer, solution hypo saline (NaCl), ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), NaHCO_3 , DTNB 5, 5-Dithiobis (2-nitro-benzoic acid).

➤ Solutions standards utilisées

- Acide ascorbique $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$
- Acide Gallique $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$
- Quercitine dyhydraté $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$
- BHA hydroxyanisol butylé
- BHT butylhydroxytoulène

➤ Appareillage

Spectrophotomètre UV-visible, rota-vapor, bain marie, balance, vortex, agitateur magnétique, étuve, micropipette, ultrason, centrifugeuse.

Préparation des solutions utilisées

➤ Préparation d'hydroxyde de potassium

- ✓ KOH 1g
- ✓ Eau distillé 100 ml

➤ Préparation de réactif de Mayer

- ✓ Chlorure de Mercure 1.36g
- ✓ Iodure de Potassium 5g
- ✓ Eau Distillé 100ml

➤ Préparation de la Liqueur de Fehling

- ✓ Solution A

Dissoudre à chaud 40g de Sulfate de Cuivre (CuSO_4) dans 100ml d'eau distillée.

✓ **Solution B**

Dissoudre 200 g de tartrate double de sodium et de potassium, 150g d'hydroxyde de sodium dans 1000 ml d'eau.

✓ **Solution finale : A+B (V /V).**

➤ **Préparation de Carbonate de sodium**

7.5g dissoudre dans 100 ml d'eau distillé. ➤

Préparation de folin-cicalteu

- ✓ 1 volume folin
- ✓ 9 volumes EAU

➤ **Préparation de trichlorure d'aluminium**

- ✓ 2g d'AlCl₃
- ✓ 100 ml de méthanol.

➤ **Préparation de la solution DPPH**

- ✓ 3 mg de DPPH d
- ✓ 100 ml de Méthanol.

✓ **Préparation de tampon phosphate** ✓ **Solution 1 :**

Na₂HPO₄ 7.1g

Eau distillé 250 ml

✓ **Solution 2 :**

Na₂PO₄ 2H₂O 7.8 g

Eau distillé 250 ml

✓ **Solution 1 (37.5ml) + solution 2 (62.5 ml)**

➤ **Préparation de Solution tampon:**

- ✓ 8,890 g de (Na₂HPO₄, 2H₂O) + 500 ml de H₂O → V1.
- ✓ 1,56 g de (NaH₂PO₄, 2H₂O) + 100 ml de H₂O → V2.
- ✓ V1 +V2 → Solution tampon comme le montre le tableau suivant, on ajoute du NaOH pour augmenter la valeur du PH.

✓

PH	5,8	6,2	6,4	6,6	6,8	7	7,2	7,4	7,6	7,8	8
NaH ₂ PO ₄ (ml)	92	81,5	73,5	62,5	51	39	28	19	13	8,5	5,3
Na ₂ HPO ₄ (ml)	8	18,5	26,5	37,5	49	61	72	81	87	91,5	94,5

Les différentes solutions tampon.

✓ **DTNB (5,5Dithiobis (2-nitro-benzoic acid)) Solution**

16 mg DTNB + 1 ml (PH=7) + 7,5 mg NaHCO₃ + 1 ml (PH=7) + 2 ml (PH=7) +
4 ml (PH=8) → volume total 8 ml.

✓ **ACI (Acetylthiocholine iodide) substrate Solution:**

16 g ACI + 4 ml H₂O + 4 ml Tampon (PH =8).

✓ **BuCI (S-Butyrylthiocholine iodide) substrate Solution:**

4 mg BuCI + 4 ml H₂O + 4 ml Tampon (PH =8).

➤ **Préparation des enzymes**

✓ **AChE Solution**

0,2 mg AChE + 4 ml (PH=8) pour donner la solution A.

Mettre 20 µl de la solution A dans 20 eppendorffs.

✓ **BChE Solution**

0,2 mg BChE + 4ml (PH = 8)

➤ **Préparation des standards**

On a pesé 0.1mg de chaque standards dissoudre dans 1ml de méthanol.

➤ **Préparation des extraits**

On a pesé 1mg d'extrait méthanolique brut de la plante (tiges, feuilles)
dissoudre dans 1ml de méthanol.

Tableau 1: Antioxidant activity by the ABTS scavenging assay

Extr acts	% Inhibition in ABTS assay							
	1.56 25 µg	3.12 5 µg	6.2 5 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	10 0 µg	IC ₅₀ µg/ mL
E1	9,98 ±4, 76	22,2 1±5 ,26	31 ,7 7 ± 8, 30	61,2 9±3 ,51	76 ,7 8 ± 2, 56	93 ,2 4 ± 0, 48	93 ,6 1 ± 0, 16	9,99 ±1, 08
E2	28,0 5±0 ,29	48,6 0±1 ,93	74 ,2 5 ± 3, 27	94,0 7±0 ,24	-	94 ,1 1 ± 0, 16	Sa t	3,24 ±0, 16
BH T	49.2 2±0 .75	59.2 2±0 .59	78 .5 5 ± 3. 43	90.3 6±0 .00	92 .1 8 ± 1. 27	93 .3 7 ± 0. 86	94 .8 7 ± 0. 87	1.59 ±0. 03
BH A	83.4 2±4 .09	93.5 2±0 .09	93 .5 8 ± 0. 09	93.6 3±0 .16	93 .6 3 ± 0. 95	94 .2 0 ± 0. 90	95 .3 9 ± 2. 62	1.03 ±0. 00

Résumé

Résumé

Le *Myrte* ou *Myrtus communis L.*, est une plante aromatique, vivace, très répandue dans les régions méditerranéennes, appartient à la famille de *Myrtaceae*, et très utilisée dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique pour ces propriétés thérapeutiques.

Cette étude a pour but de déterminer la composition phytochimique, ainsi que l'évaluation de certaines activités biologiques, *In vitro*, des extraits méthanoliques (feuilles, tiges) de *Myrtus communis L.*

Pour cela nous avons réalisés des tests de screening qui nous ont donnés une idée générale sur les métabolites secondaires existants dans cette plante. D'après les résultats la plante apparaît riche en flavonoïdes, phénols, flavonoïdes glycosides, saponines, stérols, polyterpènes, les tanins et les tanins vrai.

La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait des feuilles est de l'ordre de 51.775 mg EQ/g d'extrait, et de 11.235 mg EQ/g d'extrait de tiges.

La teneur en polyphénols totaux a révélé que l'extrait de feuilles est plus riche en phénols, 188.39 mg EAG/g d'extrait, que l'extrait des tiges dont la teneur est de l'ordre de 173.92 mg EAG/g d'extrait.

La plante a manifesté un excellent pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH, pouvoir réducteur (FRAP), ABTS et Phosphomolybdate.

Les résultats de l'activité enzymatique montrent également que les extraits testés possèdent un effet d'inhibition sur les deux enzymes AChE et BChE, qui sont les responsables de la maladie d'Alzheimer.

L'activité antibactérienne a été testée sur cinq souches cliniques et trois souches de références par la méthode de diffusion ou des disques en milieu gélosé, les résultats montrent que les deux extraits méthanoliques de tiges et feuilles ont des effets inhibiteurs sur la croissance de *staphylocoque doré*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Mots clés :

Plante médicinale, Extraction, Screening phytochimique, Activités biologiques, *Myrtus communis L.*

Abstract

Myrtle or *Myrtus communis L.*, is an aromatic plant, perennial, very responsive in the Mediterranean regions, belongs to the family of *Myrtaceae*, and widely used in traditional and pharmaceutical medicine for its therapeutic properties.

The purpose of this study is to determine the phytochemical composition, as well as the evaluation of certain biological activities, *in vitro*, of methanolic extracts (leaves, stems) of *Myrtus communis L.*

To this end, we carried out screening tests that gave us a general idea of the secondary metabolites existing in this plant. According to the results the apparent plant rich in flavonoids, phenols, flavonoids glycosides, spooning, sterols, polyterpenes, tannins and true tannins.

The total flavonoid content of the leaf extract is about 51,775 mg EQ/g extract, and 11,235 mg EQ/g stem extract.

The total polyphenol content revealed that leaf extract is richer in phenols, 188.39 mg EAG/g extract, than stem extract, which contains about 173.92 mg EAG/g extract.

The plant has shown excellent antioxidant power by the method of DPPH, reducing power (FRAP), ABTS and Phosphomolybdate.

The enzyme activity results also show that the extracts tested have an inhibitory effect on the two enzymes AChE and BChE, which are responsible for Alzheimer's disease.

Antibacterial activity was tested on five clinical strains and three reference strains by the diffusion method or agar discs, the results show that both methanol extracts from stems and leaves have inhibitory effects on the growth of *staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords:

Medicinal plant, Extraction, Phytochemical screening, Biological activities, *Myrtus communis L.*

ملخص

الأس، هو زبات عطري، مغمور، شائع في مناطق البحر الأبيض المتوسط، وينتمي لى عائلة *Myrtaceae*، يسعمل كثيرا في الطب التقليدي والصيداني، وذلك المعينه للعلاجية.

طوع هدفنا تحديد المركبات الكيميائية
اوراق وسيفان شجيرة الأس

ولهذا قمنا بجراء تجارب Screening
و هذه النتائج استنتجنا ان هذه لبنة غنية ب flavonoïdes, phénols, flavonoïdes glycosides, saponines,

stérols, polyterpènes, les tanins et les tanins vrai

الكثيرة الموجودة في مستخلص الوراق ونودر و 77..15 مغ / مكفى للكارسينوجن غ لمستخلص 57.115 مكفى للكارسينوجن / غ مستخلص السيفان

لبنات الكوية الموجودة في مستخلص الوراق غنية ب إنزيمات نودر ب كمية 7...11 مغ مكفى حمض إغزاليف
مفص هذه لقيمة كبير من كمية إنزيمات الموجودة في مستخلص السيفان و التي نودر ب 711.1 مغ مكفى غ

ضو إغزاليف / غ مستخلص إغضلا

الأكسدة لمستخلص إغضلا ABTS et Phosphomolybdate. نذال مزجوة DPPH, pouvoir réducteur
(FRAP), تم

يغ ليشط الازيمية أيضا أن المستخلصين لهم تأثير على تثبيط الازيم)، المستخلص لزهانيف

لنشاط لصد البكتيري على خمس سالات سريرية وثالث سالات مرجعية من خلال طريقة زرس النشرتم

صيلة، أظهرت لنتائج أن المستخلصات إغضلاوية للسيفان والوراق لها في
الكثيرة البنية

Staphylocoque doré, Streptococcus pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa

الكلمات المفتاحية

الستخلص. النشاط البيولوجية screening *Myrtus Communis*L. النباتات الطبية

Année universitaire : 2018/2019

Présenté par :

HABALAT CHAIMA et CHETTA IMENE

Investigation phytochimique et activités biologiques d'une plante médicinale *Myrtus communis L.*

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Moléculaire et Santé

Résumé

Le *Myrte* ou *Myrtus communis L.*, est une plante aromatique, vivace, très répandue dans les régions méditerranéennes, appartient à la famille de *Myrtaceae*, et très utilisée dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique pour ces propriétés thérapeutiques.

Cette étude a pour but de déterminer la composition phytochimique, ainsi que l'évaluation de certaines activités biologiques, *In vitro*, des extraits méthanoliques (feuilles, tiges) de *Myrtus communis L.*

Pour cela nous avons réalisés des tests de screening qui nous ont donnés une idée générale sur les métabolites secondaires existants dans cette plante. D'après les résultats la plante apparaît riche en flavonoïdes, phénols, flavonoïdes glycosides, saponines, stérols, polyterpènes, les tanins et les tanins vrai.

La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait des feuilles est de l'ordre de 51.775 mg EQ/g d'extrait, et de 11.235 mg EQ/g d'extrait de tiges.

La teneur en polyphénols totaux a révélé que l'extrait de feuilles est plus riche en phénols, 188.39 mg EAG/g d'extrait, que l'extrait des tiges dont la teneur est de l'ordre de 173.92 mg EAG/g d'extrait.

La plante a manifesté un excellent pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH, pouvoir réducteur (FRAP), ABTS et Phosphomolybdate.

Les résultats de l'activité enzymatique montrent également que les extraits testés possèdent un effet d'inhibition sur les deux enzymes AChE et BChE, qui sont les responsables de la maladie d'Alzheimer.

L'activité antibactérienne a été testée sur cinq souches cliniques et trois souches de références par la méthode de diffusion ou des disques en milieu gélosé, les résultats montrent que les deux extraits méthanoliques de tiges et feuilles ont des effets inhibiteurs sur la croissance de *staphylocoque doré*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Mots clés :

Plante médicinale, Extraction, Screening phytochimique, Activités biologiques, *Myrtus communis L.*

Laboratoire de recherche : BIOCHIMIE

Jury d'évaluation :

Présidente: Dr Habibatni Z; Maitre de conférences A , Université de Constantine I

Rapporteuse: Dr Halmi S; Maitre de conférence B, Université de Constantine I

Examinatrice 1: Dr Madi A; Maitre de conférences B , Université de Constantine I

Examineur 2: Dr Bensouici Chawki , Maitre de recherche , Centre de recherche en biotechnologie Constantine

Date de soutenance : 16/07/2019