



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine 1

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Intitulé :

Évaluation phytochimique et biologique d'une plante du Sahara Algérien « *Myrtus nivellei* » Batt & Trab

Présenté et soutenu par : **BIOU RAYANE**
LEMOUNES AHLEM

Soutenu le : 23/09/2021

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme HARZALLAH B.

M.C.B/U.F.M Constantine 1

Examinatrice : Mme TENIOU S.

M.A.A/U.F.M Constantine 1

Encadreur : Mme DEMMAK R.G.

M.C.B/U.S.B Constantine 3

Année universitaire : 2020 -2021

Remerciement

On remercie en premier lieu notre dieu qui nous a donné la Santé et la patience pour terminer ce travail.

Nous adressent nos sincères remerciements à notre encadreur Dr. Demmak pour nous honorer en acceptant de diriger et de nous aider tout au long de la réalisation de ce travail pour aussi ses conseils, ses commentaires, sa bienveillance. Ce fut un immense plaisir de travailler avec vous Docteur.

On tient à remercier tous les membres du jury de nous avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciement à l'ensemble du corps enseignant depuis l'école primaire aux études supérieures pour tous les connaissances qu'ils nous ont transmises.

Nous exprimons nos remerciements aussi au Mr. Boudarssa Nabil et Mr. Boudarssa Yasser pour leur aide dans la réalisation de ce travail.

Un très grand merci à nos parents Merci pour tout, pour le soutien dans les moments les plus compliqués, on tient à vous rendre hommage, car vous le mérites.

Merci à nos amies pour vos encouragements

Dédicace ◆

*A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation et
de ses dévouements*

*A celui qui s'est changé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes
conditions*

A ceux qui me sont les plus chers

A ceux qui m'ont toujours encouragé

Je dédie cette thèse à...

A Mes Très Chers Parents

Pour tous leurs sacrifices, leurs amour, leur soutien.

C'est à travers vos encouragements que je me suis réalisée.

*Que Dieu tout puissant vous garde et vous procure santé, bonheur et
longue vie.*

A mon frère Youcef et Ma sœur Yasmina

A la mémoire de mon grand-père Abdelmadjid.

A toute ma famille.

A ma binôme : L.Ahlem

*A mes amies : H.Sofia, Z.Chaima et B.Hounaida pour leurs aide et
encouragements.*

Rayane

Dédicace

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

À celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, ma mère.

À l'école de mon enfance, qui a été mon ombre durant Toutes les années de mes études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner de l'aide et à me protéger, mon père.

À mes deux chers frères Abd elkader et Mohamed amine.

À celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce travail, mon fiancé

Dr.BENSAOUCHA Y.

À toute ma famille

À ma binome Rayane ainsi a toute sa famille.

À mes proches amies fatima, imen , soraya.

À mes collègues de la promotion.

À mes enseignants.

À toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

AHLEM

Tables Des Matières

Introduction01

Partie I : Aperçu bibliographiques

Chapitre I : Les Métabolites secondaires des plantes

I.1 Les huiles essentielles03

I.2 Les flavonoïdes03

 I.2.1 Structure et classification03

 I.2.2 Localisation et distribution06

 I.2.3 Activités biologique07

I.3 Les tanins.....10

 I.3.1 Structure et classification.....11

 I.3.2 Localisation et distribution11

 I.3.3 Propriétés et utilisation des tanins11

I.4. Les saponosides12

 I.4.1 Classification.....12

 I.4.2 Propriétés des saponosides.....13

Chapitre II : Etude botanique de la plante ..

II.1 La famille Myrtacée.....14

 II.1.1 Généralités14

II.1.2 Position systématique.....	14
II.1.3 L'intérêt biologique de la famille Myrtacée.....	15
II.2 L'espèce <i>Myrtus nivellei</i>	16
II.2.1 Description botanique.	17
II.2.2 Nomenclature et position systématique.....	17
II.2.3 Distribution géographique.....	18
II.2.4 Exigences du sol et conditions climatiques.....	18
II.2.5 Utilisation traditionnelle.....	18
II.2.6 Composition chimique.....	19
 Chapitre III : Activités Biologiques de <i>Myrtus nivellei</i>	
III.1. Activité antioxydante	21
III.2 Activité antifongique	21
III.3 Activité antibactérienne	22
III.4 Activé anti-inflammatoire	22
 Partie II : Partie Pratique	
Chapitre I : Matériel et Méthodes	24
I.1. Matériels.....	24
I.2 Extraction.....	24

I.3 Détection et identification des métabolites secondaires	24
I.3.1 Identification des glycosides cardiaque.....	25
I.3.2 Réaction des tanins	26
I.3.3 Détection des flavonoïdes.....	26
I.3.4 Détection des polyphénols	26
I.3.5 Identification des saponosides.....	27
I.4 Dosage des polyphénols	27
I.5 études de l'activité antibactériennes.....	30

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1 Résultats	33
II.1.1 Screening phytochimique des métabolites secondaires	33
II.1.2 Dosage des polyphénols	37
II.1.3 Etude de l'activité antibactérienne	38
III.2 Discussion	40
Conclusion.....	42

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Summary

الملخص

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Principales classes des flavonoïdes	5
2	Les sources alimentaires des flavonoïdes	6
3	La taxonomie de myrtacées	15
4	Activités biologiques de certaines espèces de la famille des Myrtacées	16
5	Classification de <i>Myrtus nivellei</i>	17
6	Mode d'utilisation de <i>Myrtus nevillei</i>	19
7	Préparation des dilutions	29
8	Les dilutions préparées pour chaque extrait	30
9	Résultats de screening phytochimique (glycosides cardiaques)	33
10	Résultats de la présence des tanins	34
11	Résultats de la présence des flavonoïdes	35
12	Résultat de la présence des polyphénols	35
13	Diamètres des zones d'inhibition des trois extraits.	38
14	Diamètres des zones d'inhibition des trois extraits	39

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Structure de base de flavonoïdes	4
02	Structure des tanins hydrolysables	10
03	Structure des tanins condensés	11
04	Dammarane tétracyclique	12
05	Photographie d'espèce <i>Myrtus nivellei</i>	17
06	Position écologique de <i>M. nivellei</i> et <i>M. communis</i> au sein du climagramme d'Emberger	19
07	Protocole d'extraction de <i>Myrtus nivellei</i>	25
08	Les extraits préparés pour le dosage des polyphénols	29
09	Appareil UV –Spectrophotomètre	30
10	Les bactéries (A) <i>Escherichia coli</i> et (B) <i>staphylococcus aureus</i>	30
11	Le milieu chaud Mueller Hinton couler dans des boîtes de pétries	31
12	Incubation des boîtes à l'étuve	32
13	Identification des glycosides cardiaque	33
14	Résultats de détection des tanins dans les trois extraits (A) l'extrait éthanol /eau(B) l'extrait de dichlorométhane (c) l'extraits de méthanol	24
15	Résultat de Détection des flavonoïdes	34
16	Résultat de Détection des polyphénols	35

Liste des Figures

17	Résultat d'identification des saponines dans l'extrait méthanolique	36
18	La présence des saponosides dans les tubes 4 et 5 de l'extrait méthanolique	36
19	Courbe étalon à l'acide gallique	37
20	Composition en polyphénols des extraits de <i>Myrtus nivellei</i>	37

µg : microgramme

µl : microlitre

ADN : acide Désoxyribo Nucléique

C° : degré Celsius

CH₂Cl₂: dichloromethane

Cm : centimètre

CMI : concentration minimal inhibitrice

DPPH: 2, 2-diphenyl-bêta -picrylhydrazyl

EtOH/H₂O: Ethanol / eau

FeCl₃ : chlorure ferrique

FeCl₃ : chlorure ferrique

FLO• : un radical falvoxyde

G: gramme

h : heure

H₂SO₄: acide sulfurique

H₃PMo₁₂O₄₀: phosphomolybdic acid

H₃PW₁₂O₄₀: phosphotungstic acid

HCL : acide chlorhydrique

HIV : virus de l'immunodéficience Humaine

Kg : kilogramme

MeOH: methanol

mg : milligramme

mg : milligramme

Min: minutes

Liste des abréviations

ml : millilitre

Mm : millimètre

NA : sodium

Na₂CO₃: sodium carbonate

nm: nanometer

RH : une molécule stable

ROS : Espèce réactives de l'oxygène

S: second

UV : Ultraviolet

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité, l'Homme utilise de nombreuses plantes médicinales au cours de sa vie quotidienne pour la prévention et le traitement de plusieurs maladies. Selon les études, l'efficacité des plantes est liée aux composés actifs qu'elles renferment communément appelées ; métabolites secondaires.

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française ; comme une "drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ". Une "drogue végétale " est une plante ou une partie de plante, utilisées en l'état, soit le plus souvent sous forme desséchée, soit à l'état frais. L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments (**BRUNETON, 1999**).

Les plantes médicinales produisent un grand nombre de métabolites secondaires qui ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. De nos jours, un grand nombre de métabolites secondaires sont utilisés en médecine moderne.

La biochimie végétale, où phytochimie (chimie de végétales), est la science qui étudie la structure, le métabolisme, la fonction ainsi que les méthodes d'analyse, de purification et d'extraction des substances naturelles issues des plantes. Elle est indissociable des autres disciplines, telles que la pharmacognosie qui traite des matières premières et des substances à potentialité médicamenteuse d'origine biologiques appelés aussi substances bioactives végétales.

L'Algérie ; le plus grand pays africain présente une grande diversité des plantes car ce pays est constitué d'une multitude de reliefs de zones côtière ; montagnes ; steppes oasis et le Sahara ; cette dernière compte plusieurs espèces de plantes, parmi elles : les plantes aromatique et médicinales ; ces plantes utilisées par la population comme des plantes d'intérêts médicinales, alimentaires ; industrielle et pharmaceutique (**Quézel and Santa, 1963**)

Parmi les plantes médicinales de la couverture végétale saharienne il y'a la famille Myrtacée, cette famille possède des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle. La famille des Myrtacées de part son utilisation traditionnelle et sa richesse en composés

bioactives tels que : les flavonoïdes ; les huiles essentielles et les tanins fut l'objet de notre étude.

Myrtus nivellei est un arbuste appartenant à la famille des Myrtacées dont la principale caractéristique est qu'elle pousse et s'adapte bien à la sécheresse et à la chaleur, c'est une plante endémique de l'Algérie et du Tchad.

Myrtus nivellei est utilisé comme traitement pour les maladies inflammatoires, les troubles gastro-intestinaux et les champignons (**Hammiche et Maiza 2006, Ozenda 1977**).

Dans ce contexte, les objectifs principaux de ce travail se divisent en deux volets ;

- Le premier étant phytochimique, qui consiste à caractériser les différents métabolites secondaires que renferme la plante,
- Le deuxième biologique, qui consiste à évaluer l'activité antibactérienne des extraits de *Myrtus nivellei*

Notre recherche est divisée en deux parties : - Une partie théorique et une partie pratique, dans lesquelles notre étude sera menée sur tous les aspects de *Myrtus nivellei*.

Chapitre I :
Les métabolites
secondaires des plantes

I.1. Les huiles essentielles

Le terme « huiles essentielle » a été inventé au 16^{ième} siècle par le médecin Suisse Parascelsus Von Hohenheim dans le but de désigner le composé actif d'un remède naturel **(Burt, 2004)**.

Les huiles essentielles sont des produits odorants, obtenues par différentes techniques comme la distillation à vapeur d'eau des matières végétales qu'est le procédé le plus pratique dans l'industrie des arômes **(Frachomme P et al.,2001)**, ou bien par extraction à froid.

Ces huiles essentielles se forment dans la cellule végétale et s'accumulent dans les divers organes de la plante :

- Péricarpe des fruits
- Feuilles
- Pétales des fleurs **(R. Huet.,1991)**

L'extraction des huiles essentielles est la phase la plus importante du processus. Qui a pour but de capter les produits et les plus fragiles élaborées par le végétale.

Les huiles essentielles obtenues sont des produits généralement caractérisés par :

- Peut polaire
- Volatils
- Odoriférants
- Densité pour la plupart inférieure à celle de l'eau **(Valnet J.,2005)**

Les huiles essentielles sont parmi les éléments les plus utilisés dans l'industrie cosmétique dont l'aromathérapie, pharmaceutiques et l'industrie agroalimentaire. Cette utilisation intensive est dû à leurs propriétés antiseptique, Antimicrobienne, Anti toxiques, Anti-oxydant, Anti parasitaire et Anti cancéreuses **(Frachomme P et al.,2001)**

I.2. Les flavonoïdes

I.2.1 Structure et Classification

Les flavonoïdes ont une structure chimique de base constituée de deux cycles aromatiques (A) et (B) liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (cycle C) (W-Erdman *et al*, 2007).

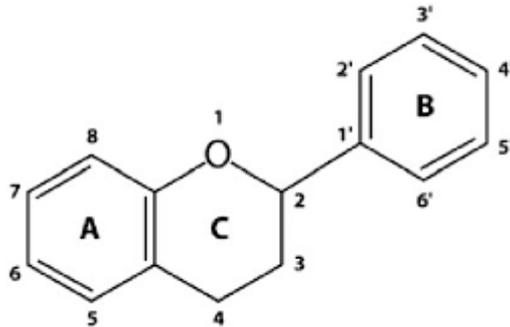
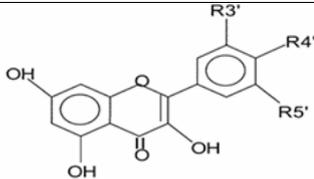
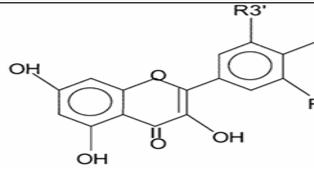
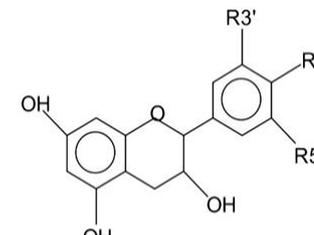
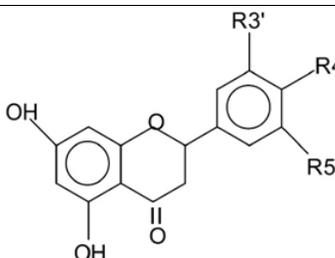
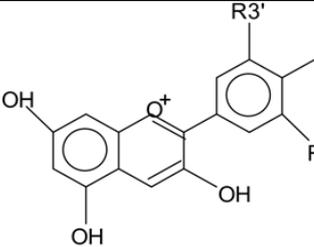
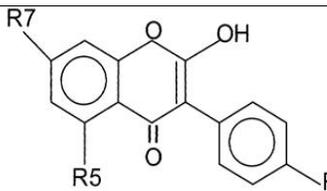


Figure 1 : structure de base de flavonoïdes (from Pietta., 2000).

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont :

- ✓ Les flavones
- ✓ Les flavanols
- ✓ Les flavanones
- ✓ Les dihydroflavonols
- ✓ Les isoflavones
- ✓ Les anthocyanes

Tableau 1 : Principales classes des flavonoïdes (Narayana et al, 2001 ; W- Erdman et al, 2007)

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoline
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myricétine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O-Glu	OH	Daidezine

I.2.2 Localisation et Distribution

✓ Localisation

Les composés phénoliques jouent un rôle majeur dans l'interaction entre les plantes et dans l'adaptation à l'environnement biotique et abiotique (**Hutzler et al.,1998**).

Les flavonoïdes sont localisés dans les tissus superficiels avec une prédominance dans tous les organes aériens et une teneur maximale dans les organes jeune (feuilles et boutons floraux) (**Milane.,2004**), ces substances sont synthétisées au niveau du chloroplaste puis migrent et se dissolvent dans les vacuoles (**Piquemal.,2008**).

L'accumulation des flavonoïdes se fait dans différents parties cellulaires et tissulaires de la plante pendant l'organogénèse et sous l'influence de nombreux facteurs de stimulation (**Hutzler et al.,1998**).

✓ Distribution

Les flavonoïde sont distribués dans les parties supérieurs des végétaux feuilles, les graines, les racines, tiges, bois ; fruits, pollens (**Verhoeven et al 2002**) et aussi dans des boissons et des fourrage par exemple (les isoflavones dans certain variétés de trèfle) (**J.M.Besle et al.,2004**).

Récemment, de nombreux travaux ont montré que certains fruits contiennent des flavonols, flavones, flavanones. Le tableau suivant représente les sources alimentaires des flavonoïdes (**d clin Nutr .2008**)

Tableau 2 : les sources alimentaires des flavonoïdes (d clin Nutr .2008)

Flavonoïdes	Aliments
Flavones	Persil, poivre, rouge, céleri, agrumes, oignon.
Flavanols	Oignons, chou frisé, , myrtilles
Isoflavones	Graines de soja, feuilles de trèfle ; orge, riz
Flavanols	Abricot, thé, raisin, chocolat, pommes
Flavanones	Agrumes
Proanthocyanidines	Fruits (poires, pommes, raisin)
Anthocyanines	Baies rouges, vins, raisin, thés

✓ **Les activités biologiques des flavonoïdes**• **Activité anti-oxydante**

Les flavonoïdes sont des substances antioxydants capable de piéger plusieurs espèces oxydatives par exemple : le superoxyde (O₂⁻), le peroxyde (ROO⁻), l'hydroxyle (OH⁻) par la transformation d'un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle et s'opposer à l'oxydation des macromolécules (**Van Acker et al., 1995**) (**Amić et al., 2003**) selon la réaction suivante :



La réaction de piégeage donne :

- une molécule stable (RH)

-un radical falvoxyde (FLO•)

Le radical falvoxyde (FLO•) subit :

- Un changement de structure par résonance
- Redistribution des électrons impaires sur le noyau aromatique pour donner des molécules de faible réactivité par rapport aux R• ;

Par ailleurs, les radicaux flavoxydes peuvent interagir entre eux pour former des

Composés non réactifs.



(Amić et al., 2003)

La structure des flavonoïdes est une structure aromatique qui donne une stabilisation de leurs formes radicalaires et permettent une délocalisation électronique importante.

L'activité antiradicalaire des flavonoïdes nécessite :

Structure ortho-dihydroxyphénolique du cycle B (3',4' dihydroxystructure), cette structure est importante pour l'activité antiradicalaire des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé.

La double liaison C2-C3 conjuguée avec la fonction 4 oxo qui est responsable de la délocalisation des électrons, en améliorant ainsi la capacité antiradicalaire. Les groupements hydroxyles libres en C3 et C5 (Amić et al, 2003).

- **Activité anti-cancéreuse**

Certaines études montrent que quelques flavonoïdes telle que : lutéoline, quercétine, kaempférol, apigénine, taxifoline inhibent d'une façon remarquable la lipogénèse des cellules cancéreuses et d'autres flavonoïdes sont capables d'induire l'apoptose, d'un autre côté la quercétine inhibe la croissance cellulaire en empêchant certaines phases du cycle cellulaire et en bloquant les sites récepteurs des hormones (Larocca et al.,1994).

Cette activité est assurée par l'intervention de plusieurs mécanismes :

- Piégeage des radicaux libres
- Inhibition du métabolisme d'acide arachidonique
- Formation d'un complexe inactif avec le carcinogène (Hertog, 1996)
- Prévention de l'activation des métabolites carcinogènes
- Inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses
- Arrêt du cycle cellulaire des cellules cancéreuses
- Induction de l'apoptose
- Inhibition des processus d'angiogénèse (Ren et al, 2003)

- **Activité anti-allergique :**

L'activité anti-allergique est attribuée à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine.

D'après les études de Di Carlo (1999) les flavonoïdes inhibent les enzymes comme l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca²⁺ dépendante, les deux sont responsables à la libération de l'histamine à partir des monocytes et des basophiles.

- **Activité anti-inflammatoire**

Les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires (Galati et al.,1994) (Read,1995) et les études de Middleton et Elliott (1996) montrent qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations.

Les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de prolifération des lymphocytes B et T, car ils peuvent moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation atheroxlerosique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires.

La quercétine, la myricétine, l'apigénine et la chrysin sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes en inhibant ces enzymes (**Landolfi et al., 1984**).

- **Activité antibactérienne**

Les composés phénoliques particulièrement les flavonoïdes et les tanins sont bien connus pour leur activité antibactérienne vis à vis des microorganismes.

En théorie, les flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs *in vitro* de l'ADN gyrase ce qui leur confère un puissant effet antibactérien (**Ohemeng.k.A et al., 1993**).

De nombreuses études ont rapporté que les flavonoïdes pouvaient avoir une action plus sélective en interagissant avec une glycoprotéine de surface du virus HIV, ainsi, ils empêchent la liaison du virus à la cellule hôte (**Mahmoud et al., 1993**).

Parmi les hypothèses avancées, le mécanisme d'action antibactérien des polyphénols est très complexe, il faut citer :

- L'inhibition des enzymes extracellulaires microbiennes,
- La séquestration du substrat nécessaire à la croissance microbienne ou la chélation de métaux tels que le fer,
- L'inhibition du métabolisme microbien (**Mila et Scalbert., 1994**).

Les flavonoïdes possèdent d'autres propriétés notamment ;

- Protection des plantes contre les radiations UV
- Sont impliqués dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales
- Agissent comme des pigments ou des co-pigments
- Modulation de la distribution d'auxine
- Fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries
- Symbiotiques et les légumineuses afin de faciliter la fixation de l'azote moléculaire
- Régulation de l'élongation des tiges

- Interviennent dans la maturité des fruits
- Sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux
- Herbivores (**Park et Cha, 2003 ; Subsamanian et al, 2007 ; Yang et al, 2008**)

I-3 Les tanins

I-3-1 Structure et classification

Les tanins sont des composés phénoliques complexe et hydrosolubles possédant une masse molaire comprise entre 500 et 3000 g/mol (**Bate-smith et Swain, 1962**), ils sont des substances non azotées avec des cycles aromatiques greffées d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles libres ou non (**Bruneton, 1987**).

Les tanins sont classés en deux groupes :

A/Tanins hydrolysables

Sont des esters de sucre simple de glucides et d'acides phénoliques.

Les tanins hydrolysables sont divisés en deux sous classe :

- *Les tanins galliques (gallotanins).
- * Les tanins ellagiques (ellagitanins).

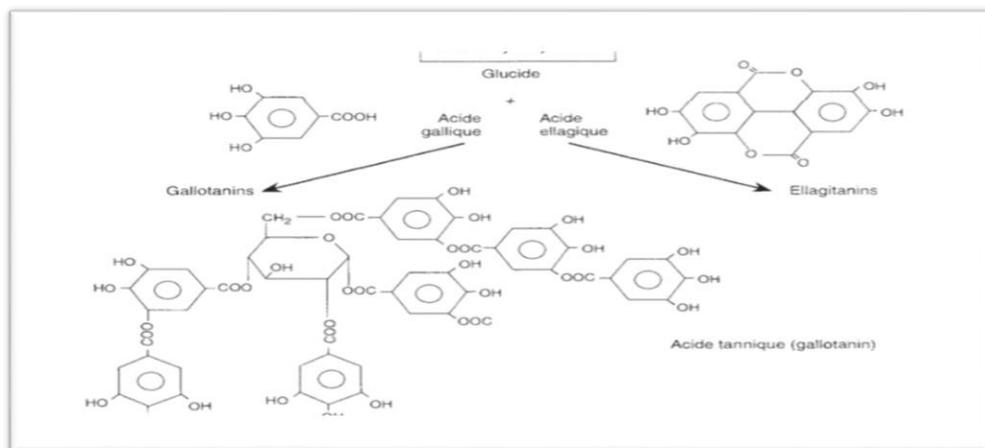


Figure 2 : structure des tanins hydrolysables (**Porter 1989, leinmuller et al.,1991**).

B/tanins condensés

Les tanins condensés ou les pro anthocyanidines sont oligomères ou polymères de flavanols, constitués d'unités de flavan-3-ols et de flavan-3,4 firole (**Khanbabaeaeet Ree., 2001**). Liées entre elles par des liaisons carbone -carbone (C4-C8), le plus souvent épicatechine et catéchine (**BRUNETON, 1999**).

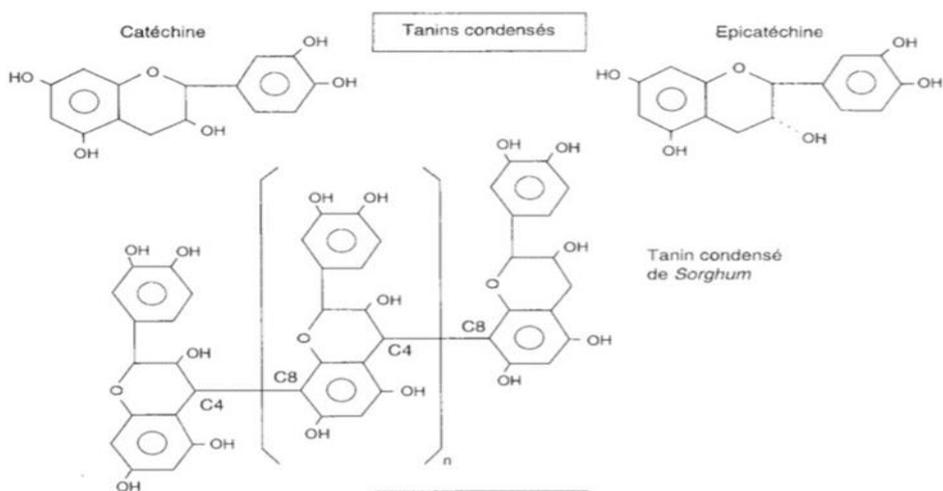


Figure 3 : structure des tanins condensés (**Porter 1989, leinmuller et al., 1991**).

I.3.2. Localisation et distribution

Les tanins sont distribués dans les arbres et les plants herbacées dicotylédones et dans nombreux aliments (les fraises, les framboises, les mûres, les noix, les vins, les feuilles de thé.

Ils sont caractérisés par une saveur astringente, il se trouve dans pratiquement tous les végétaux (**MESSAI. L, 2011**), Ils peuvent exister dans divers organes de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (**Scalbert, 1991**).

I-3-3 Les propriétés et l'utilisation des tanins

- Les tanins sont impliqués dans la protection contre les infections fongiques et bactériennes.
- Favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides (**Kansole., 2009**).
- Ils imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses.
- Sont des inhibiteurs enzymatiques et ont propriété vitaminiques (protecteurs capillaire) (**Roux et al., 2007**).

-Ils sont utilisés dans le domaine pharmaceutique comme : vasoconstricteur, anti diarrhéiques, hémostatiques comme protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes et dans le domaine industrielle employés dans l'industrie du cuir (verniss peintures) (**Pariset Hurabielle.,1981**)

I.4. Les saponosides

Saponines du mot latin « sapo », qui signifie savon, ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres ils ont la propriété de formation des mousses dans les solutions aqueuses. Cette propriété est dû à la combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires (**Manach, 2004**).

Les saponines sont une famille de métabolites secondaires qui sont produits par de nombreuses espèces végétales, en particulier les dicotylédones. Ces molécules ont généralement une activité antifongique et leur rôle naturel dans les plantes est d'être dans la protection contre les attaques de microbes pathogènes.

Les enzymes, les gènes et les voies biochimiques impliqués dans la synthèse de ces molécules complexes sont en grande partie non caractérisés pour aucune espèce végétale (**Anne EOsborn.,2003**). Un grand intérêt a été montré dans leur caractérisation et dans l'étude de leurs propriétés pharmacologiques et biologiques (**K. Hostettmann, A. Marston.,1995**).

I.4.1 Classification

Les saponosides classés en deux groupes en fonction de la nature de leur squelette aglycone :

➤ Saponosides triterpéniques

On les trouve principalement dans les Angiospermes dicotylédones. Ils sont constitués d'un aglycone triterpénique, qui se compose d'un squelette C₃₀, comprenant une structure penta cyclique. Ces saponosides présentent une cyclisation de (35) -2,3-époxy-2,3-dihydrosqualene. Et par rapport à cette cyclisation il y'a 3 types de saponosides triterpéniques (**Betina-Bencharif soumeya.,2014**) :

- ❖ Les saponosides de type dammarane tétracyclique :

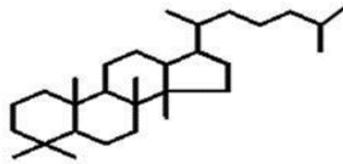


Figure 4 : Dammarane tétracyclique (Betina-Bencharif soumeya.,2014)

- Les saponosides triterpéniques penta cycliques :
- Les acides triterpéniques des saponosides
- ✓ **Saponosides stéroïdiques** : Sont presque exclusivement présents dans les angiospermes monocotylédones (chomsky,2012). Ils sont divisés en deux groupes :
- ✓ **Les spinosantes** : constituée d'un aglycone stéroïdique, un squelette en C27 Spirostane, comprenant généralement une structure de six anneaux .
- ✓ **Les furostanes** : quand la matière végétale est fraîche, le groupement hydroxyle en position C26 est engagé dans une liaison glycosidique, et ainsi la structure d'aglycone devient penta cyclique. Ceci est considéré comme un squelette furostane.

I-4-3 Les propriétés des saponosides

- **Propriétés économiques de saponosides**
 - Source de composés stéroïdiens
 - Synthèse des stéroïdes humains par leur aglycone qui étant libéré de son oligoholoside
- **Propriétés physiques**
 - Réduire fortement la tension superficielle des systèmes nitrogènes
 - Cristallisables
 - Solubles dans l'eau ; l'alcool dilué ; les solvants organiques apolaire

Chapitre II :
Étude botanique de la
plante

II-1 La famille des Myrtacées

II-1-1 Généralité

La famille des myrtacées est la huitième plus grande famille de plantes à fleurs. Cette famille regroupe environ 3800 espèces réparties en 133 genres, ce sont des plantes dicotylédones (**Oldrich et al.,2005**). Elles sont distribuées dans les régions tropicales et subtropicales, surtout en Australie, en Amérique du Sud et en Asie (**Mabberley D.J., 1997.**) (**Grattapaglia et al.,2012**).

La classification phylogénétique **APGIII (2009)** et les travaux récents de Soltis et *al.* (2011) classent la famille des myrtacées au sein des clades suivants : les Angiospermes, les Eudicotyledoneae, les Rosidae, les Malvidae et enfin l'ordre des Myrtales (**Soltis et al.,2011**). Les travaux de révision phylogénétique proposent deux sous familles : Myrtoideae et Psiloxylloideae avec 17 tribus au sein de la famille des myrtacées (**Wilson et al.,2012**).

II.1.2 Position systématique

Selon (**Grété P. 1965**) Les myrtacées sont classées selon le taxon suivant :

Tableau 3 : la taxonomie de myrtacées (**Grété P. 1965**)

Règne	Plantae
Sous-règne	Eucaryotae
Embranchement	Spermaphytæ
Sous-embranchement	Angiospermae
Classe	Dicotylédonae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae

II-1-3 Intérêt biologique de la famille Myrtacées

Les espèces de la famille myrtacée sont utilisées en médecine traditionnelle car ils possèdent des propriétés thérapeutiques ; le tableau suivant regroupe quelques exemples d'espèces dont les activités biologiques susdites ont été vérifiées et confirmées suite à différents travaux.

Tableau 4 : Activités biologiques de certaines espèces de la famille des Myrtacée

Espèce	Activités biologiques	Références
Cleistocalyx operculatus	Anti-inflammatoire antiseptique anti- oxydant antimicrobienne cytotoxique antitumorale	(Nguyen, T.D., and <i>al.</i> ,2009) (Nguyen,T.D.,and <i>al.</i> ,2008) (Chun, L.Y., and <i>al.</i> ,2004)
Melaleuca squarrosa	Anti-oxydant	(Morio, y., and <i>al.</i> ,2008)
Leptospermum polygalifolium	Antimicrobienne	(Kamarul'Ain, M., and <i>al.</i> , 2003)
Psidium guajava	Anti-oxydant Antihypertensive Anti-diarrhéique Anti nociceptive Antidiabétique Anti-allergique Antitumorale Anti-inflammatoire Cytotoxique Antispasmodique Anti génotoxique	(Rosa, M., and <i>al.</i> ,2008)
Syzygium samarangense -	Cytotoxique Anti- oxydante	(Morio, J.S,and <i>al.</i> ,2008)
Eucalyptus saligna	Antibactérienne	(Cimanga, K. and <i>al.</i> ,2002)

Eugenia jambos	Antipyrétique Anti-inflammatoire Antitumorale	(Ling,L.and <i>al.</i> ,2000)
Eucalyptus rostrata	Anti-oxydant	(Hideo, O. and <i>al.</i> ,1993)
Eugenia jambolana	Antidiabétique Anti-lipidemique	(Bhavna, S. and <i>al.</i> ,2008)

II.2. L'espèce *Myrtus nivellei*

II.2.1. Description botanique

Myrtus nivellei est un arbuste à feuilles persistantes grandes souvent avec une écorce floconneuse, fréquemment jusqu'à 150cm de haut dans les sites bien trompeurs. Les feuilles ont une couleur vert foncé, elles sont opposées, lancéolées et donnent une huile essentielle agréablement parfumée. Les pièces florales sont des multiples de cinq, avec un grand nombre d'étamines. Généralement les pétales sont blancs. Le fruit est une petite baie bleu- noire globeuse de 1 cm. Les fleurs sont pollinisées par des insectes, et les graines sont dispersées qui se nourrissent sur les baies. Il n'y a aucune période de floraison spécifique parce que cette espèce a été vu en fleurs à différentes périodes de l'année (Maire, 1940 ; Quézel et Santa, 1963 ; Ozenda, 1991).



Figure 05 : photographie d'espèce *Myrtus nivellei* (site internet 1)

II.2.2 Classification

Tableau 5 : classification de *Myrtus nivellei* (APG II, 2003)

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyta
Sous-embranchement	Angiospermae
Division	Magnoliophyta
Classe	Eudicots
Sous classe	Rosids
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>Myrtus nivellei</i> Batt & Trab.

II.2.3. Nomenclature et Position systématique

Noms communs :

- En français : Myrte du Sahara.
- En anglais : Saharan myrtle.
- En targui : Tefeltest.
- En arabe : Rayhanet elsahraa el wosta

II.2.4. Distribution géographique

- Local : Commune dans les montagnes du Hoggar et du Tassili
- Régional : Algérie et Tchad (Tibesti).
- Global : Le myrte du Sahara est endémique des montagnes du Sahara central.

II.2.5. Exigences écologiques

Les populations de myrte de nivelle se développent à plus de 1400 m d'altitude dans les massifs du Sahara central. Selon des conditions environnementales spécifique qu'est la température et la précipitation, et selon les données bioclimatiques du **WorldClim** le myrte de Nivelle appartient à l'étage climatique per-aride (précipitations annuelles inférieures à 100 mm). Par contre le *Myrtus communis* présente une plus vaste amplitude au niveau des bioclimats de précipitations annuelles de l'ordre de 800 à 1000 mm et précipitation de 400 à 600mm.

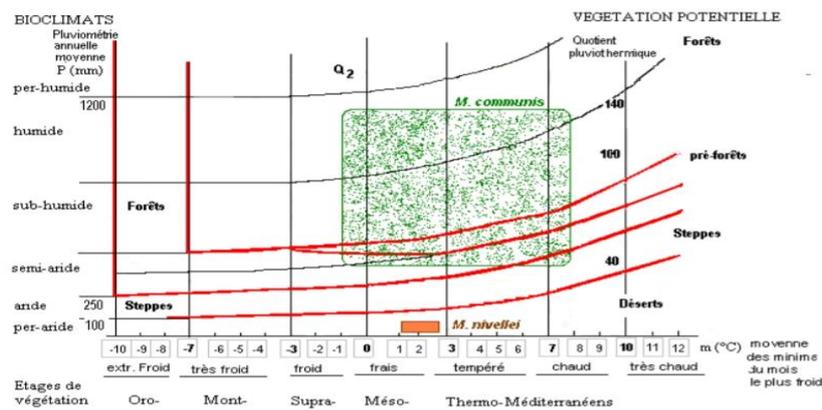


Figure 06 : Position écologique de *M. nivellei* et *M. communis* au sein du climagramme d'Emberger. (Hijmans R.J et al.,2005)

II.2.6. Utilisation traditionnelle

Les enquêtes ethnobotaniques réalisées dans le tassili des n'ajers ont mis en évidence l'utilisation traditionnelle de *Myrtus nivellei* dans le Sahara central pour le traitement de différents troubles représentés dans le tableau suivant (Hamliche V., Maiza K., 2006)

Tableau 6 : mode d'utilisation de *Myrtus nivellei*

Trouble	Mode d'utilisation de <i>Myrtus nivellei</i>
Affections de l'appareil digestif	1)- prise orale de la poudre ou « seffa » 2)- la décoction de feuilles
Fièvre	Macération de la poudre des feuilles dans l'eau froide puis la prise de filtrat due macérer plusieurs fois par jour.
Diabète	Absorption de l'infusion de feuilles à raison de 3 prises quotidiennes
Affection cutanées et soins capillaire	Application d'un ling trempé dans la décoction (Hammiche V., Maiza K., 2006) (Maiza K., 2008)
Affection gynécologiques	L'infusion de feuilles est absorbée dans les cas de dysménorrhée et de leucorrhée et de compléter le traitement par des bains de siège réalisés à partir de la décoction (Maiza K., 2008)

II .2.7. Composition chimique

Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *Myrtus nivellei* sont le 1.8 cineole (12,06 %) et l' α -terpineol (13,01%) est responsable de l'odeur florale sucrée exhalée par le végétal (Lawrence., 1993) et le δ -elemene (15,69%). Néanmoins l'azulène, présent dans cette huile essentielle à un taux non négligeable de l'ordre de 6,18%, est un composé très utilisé en cosmétologie et en pharmacologie en raison de ses propriétés anti-inflammatoires (Touaibia et al., 2014).

Cette huile essentielle est très riche en monoterpènes et en sesquiterpènes, qui représentent les deux principaux groupes de terpènes (Touaibia et al.,2014).

Selon les dosages spectrophotométriques Les extraits éthanoliques de *Myrtus nivellei* sont plus riches en polyphénols que les extraits méthanoliques. L'analyse des deux extraits (Ethanolique et méthanolique) a montré que l'extrait éthanolique est plus riche en polyphénols ; flavonoïdes flavanols, anthocyanes et sucres totaux ; par contre l'extrait méthanolique a présenté des contenues moindres mais ont été remarquablement riche en tanins (**Touaibia et al., 2014**).

Chapitre III :
Les activités biologiques
de Myrtus nivellei

III.1. Activité antioxydante

Vansant (2004) a défini les antioxydants comme substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS.

Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (**Mohammedi Zohra.,2012-2013**) La composition chimique du myrte saharien n'a été élucidée que très récemment (**Mansour, A et al.,2017**) (**Rached, W.,2017 et al**). Les propriétés biologiques de ces extraits et de leurs composés ont également été rapportées.

D'après l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Myrtus nivellei* par (**Touaibia, M et al.,2014**) a montré que l'extrait éthanolique est le plus efficace pour piéger les radicaux libres de DPPH (CE50 = 0,59 µg / ml).

III.2 Activité antifongique

Les déficits immunitaires constitutionnels font référence à différents types d'infections fongiques appelées mycoses, cutanées, muqueuses ou viscérales. Qui font partie d'un large problème sanitaire causé par des agents pathogènes fongiques qui sont des organismes eucaryotes, difficiles à distinguer des cellules du système immunitaire (**Santamaría et al., 2011**). Le traitement des mycoses fait appel à des antibiotiques antifongiques, mais l'incidence croissante de ces infections a poussé à rechercher de nouveaux agents antifongiques qui sont moins toxiques et moins générateurs de résistance que les antifongiques de synthèse (**Abad et al., 2007**).

Les plantes médicinales constituent une source intéressante pour la recherche de nouveaux agents antifongiques. Les activités biologiques des plantes médicinales, ont fait également l'objet de divers travaux. L'activité antimicrobienne de myrte a été décrite aussi bien sur les bactéries que sur les champignons. Elle est variable selon la composition chimique, les méthodes utilisées et les souches étudiées (**Bouzabata, 2015**). L'activité antifongique de l'huile essentielle de myrte (composition non décrite) a été évaluée après 24 h sur des souches

résistantes de levures tels que *Candida glabrata* (CMI90 : 0,5-4 µl/ml) et *Candida krusei* (CMI90 : 1-4 µl/ml) (Cannas et al., 2013).

III.3 Activité antibactérienne

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux. Pour résister à ces microorganismes, de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut, schématiquement, en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle et l'immunité acquise (Kaufmann, 1997).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman, 1998).

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobiennes des polyphénols, qui constituent les plantes médicinales dont les myrtes, qui ont le pouvoir d'inhiber la croissance bactérienne, avec un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif et à Gram positif (Ulanowska et al., 2007).

L'activité antibactérienne du myrte d'Algérie, a été également testée sur cinq souches : *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria*. Des valeurs de diamètres d'inhibition plus élevées ont été notées vis-à-vis *Escherichia coli* (15 mm), et *Salmonella sp.* (14 mm) (Ben Ghnaya et al., 2013).

III.3 L'activité anti-inflammatoire

Pour le développement de nouveaux agents anti-inflammatoires, les scientifiques ont testé des nombreux produits naturels sur différents animaux (Essawi TandSrour M.,2000).

Les propriétés anti-inflammatoires de l'espèce endémique du Sahara central : *Myrtus nivellei* ont été évalué *in vitro* par l'utilisation de l'extrait méthanolique.

En effet, M.Touaibia et F.Z.Chaouch2014 ont rapporté que cet extrait de *Myrtus nivellei* Batt & Trab n'entraîne aucune mortalité chez les souris à des doses allant jusqu'à 1000 mg / kg.

L'effet anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique a été évalué chez la souris, à différentes concentrations (100, 200 et 400 mg / kg). Il s'agit de la première démonstration que l'administration orale de l'extrait méthanolique produit des effets anti-inflammatoires significatifs.

D'après ces études ; les résultats ont montré l'efficacité et la sécurité de *Myrtus nivellei* et que l'extrait méthanolique est un composant anti-inflammatoire utile pour éviter les maladies inflammatoires.

Partie pratique

Chapitre I

Matériels et méthodes

I. Matériel et méthode

Dans cette partie nous avons essayé de mettre en évidence les composés phénoliques que pourraient renfermer l'espèce végétale *Myrtus nivellei* connue pour son utilisation en phytothérapie. Pour ce faire, nous avons commencé par une extraction puis un screening phytochimique et un dosage des polyphénols de ces extraits. Enfin, nous avons testé l'activité antibactérienne de ces extraits.

I.1 Matériels

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de l'espèce *Myrtus nivellei*.

I.2 Extraction

La partie extraction a été réalisée par Dr. Demmak au cours de sa thèse (Demmak., 2020) et dont l'espèce *Myrtus nivellei* a été récoltée de Djanet en Aout 2015.

Les différentes étapes d'extraction sont représentées dans le schéma suivant :

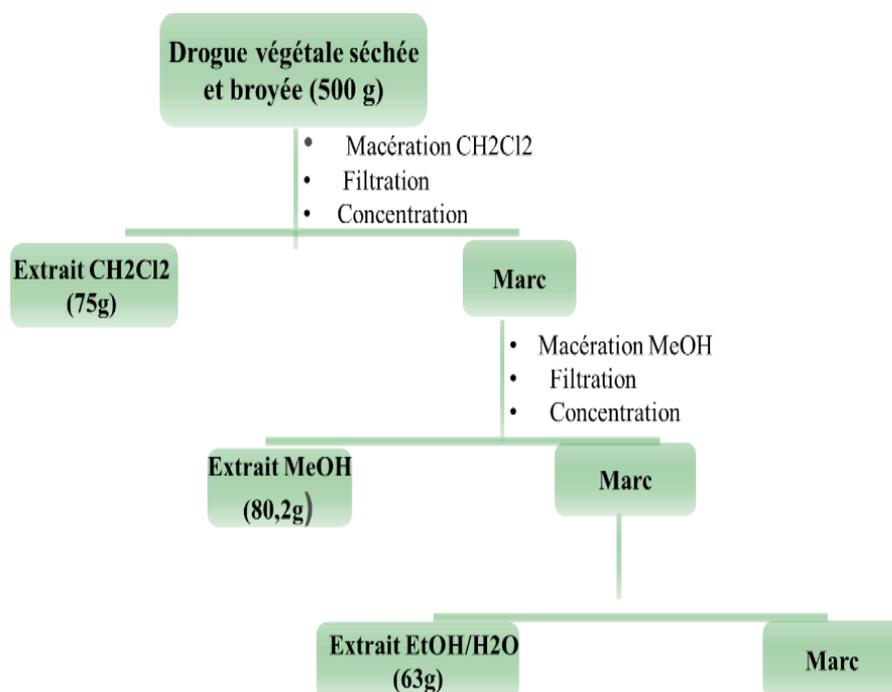


Figure 07 : protocole d'extraction de *Myrtus nivellei* (Demmak.,2020).

I.3 Détection et identification des métabolites secondaires

➤ Screening phytochimique

La première étape pour une étude chimique d'une plante passe par des essais « préliminaires » qui permettent de connaître globalement les familles de métabolites secondaires que renferme la plante.

Les techniques de détection sont caractérisées par : la rapidité, simplicité, reproductibles et sensibilités afin de ne mettre en œuvre qu'une faible quantité de matière végétale. Généralement, les métabolites sont mis en évidence par des réactions caractéristique en présence de réactifs spécifiques (**Yondo et al. ,2009**).

Les groupements chimiques recherchés dans notre travail sont :

- ✓ Glycosides cardiaques
- ✓ Tannins
- ✓ Flavonoïdes
- ✓ Saponosides
- ✓ Les polyphénols

La détection a été faite pour les trois extraits :

1-Extrait méthanolique

2- Extrait éthanol/eau

3- Extrait Dichlorométhane

I.3.1 Identification des glycosides cardiaque

La méthode générale de détection des glycosides cardiaque est basée sur la réaction avec l'acide sulfurique (H_2SO_4) et consiste en les étapes suivantes :

Etape 1 : Préparation de solution mère

- pour la préparation de la solution mère, nous avons déposé dans 3 tubes à essais une quantité de chaque extrait puis nous avons ajouté 2 ml de méthanol

Etape 2 :

-Dans 3 autres tubes à essais, 1ml de solution mère de chaque extrait a été mélangé à 2 ml de chloroforme et 0.5ml acide sulfurique. L'apparition d'une coloration brun-rougeâtre est indicatrice de la présence de glycosides cardiaque (**Hamide el haoud et al., 2018**).

I.3.2 Réaction des tanins :

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 0.5 ml de chaque extrait, 0.5 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl₃ diluée à 1%

➤ **Solution de FeCl₃ diluée à 1%**

- Dans une fiole jaugée, nous avons déposé 1 mg chlorure ferrique FeCl₃ puis ajouté 100ml d'eau distillée. L'apparition d'une coloration vert foncé ou bleue verte indique la présence des tanins.

- L'apparition d'une coloration vert foncé indique la présence des tanins catéchiques.

- L'apparition d'une coloration bleu-vert indique la présence des tanins galliques (**Hamide el haoud et al., 2018**).

I.3.3 Détection des flavonoïdes

La détection des flavonoïdes est basée sur la réaction à la cyanidine.

- Dans 3 tubes à essais, nous avons mis 4 ml d'éthanol puis nous avons ajouté 1 ml d'alcool chlorhydrique (HCL) suivie de 2 ml de chaque extrait.

- En ajoutant 2 à 3 morceaux de Magnésium

- observer un dégagement de chaleur puis une coloration rose orangé ou violacée.

- L'addition de quelque goutte d'alcool isoamylique a intensifié la coloration rose orangé qui a confirmé la présence de flavonoïdes.

1.3.4 Détection des polyphénols

La méthode générale de détection des polyphénols est basée sur la réaction du chlorure ferrique (FeCl₃) qui permet la mise en évidence rapide de polyphénols dans une plante (**Yondo et al., 2009**) et consiste en les étapes suivantes :

- ✓ Dans trois tubes à essais, mettre une quantité des trois extraits (E. méthanolique, E. Éthanolique, E. Dichlorométhane) puis l'ajout de quelque goutte de chlorure ferrique (Fe Cl₃ à 10 %)
- ✓ L'apparition du couleur vert noirâtre est indicatrice de la présence de polyphénols

I.3.5 Identification des saponosides

- Préparation de la solution mère pour chaque extrait
- Pour chaque extrait préparer une série de 10 tubes à essai numérotés de 1 à 10, introduire respectivement 1, 2, 3, ..., 10ml de la solution à analyser préparer par décoction en milieu aqueux, hydroalcoolique ou par infusion
- Ajustement du volume de chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée
- Agiter chaque tube dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde
- Laisser reposer 15 min et mesurer la hauteur de la mousse produite dans chaque tube (Hamid EL-Haoud *et al.*, 2018).

I.4 Le dosage des polyphénols

➤ Principe

Les polyphénols ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Ce réactif est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) il est réduit, lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxyde de tungstène et de molybdène, de couleur bleu (Ribereau, 1968).

La coloration bleue du mélange produit une absorbance maximale à une longueur d'onde caractéristique de 760nm. Cette absorbance est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (Ghazi et Sahraoui, 2005).

➤ Mode opératoire

• Réactifs et extraits utilisés

-Un polyphénol témoin : l'acide gallique pour la réalisation de la gamme d'étalonnage en milieu aqueux (10mg /100ml).

-Réactif de Folin-Ciocalteu : à 10 ml du réactif Folin Ciocalteu on a ajouté 90 ml d'eau distillée.

-Bicarbonate de sodium à 7.5 % : 15g de bicarbonate de sodium ont été dissous dans 2000 ml d'eau distillée.

➤ Préparation des solutions mère pour chaque extrait

Peser 12.5 mg, les dissoudre dans 2ml de solvant :

- 12.5mg de l'extrait méthanoïque dissout dans 2ml méthanol.
- 12.5mg de l'extrait éthanolique dissout dans 2ml (1ml eau plus 1ml éthanol).
- 12.5mg de l'extrait de Dichlorométhane dissout dans 2ml méthanol.

➤ **Détermination de la gamme d'étalonnage de l'acide gallique**

Une gamme de 6 concentrations d'acide gallique allant de 0 à 0.312mg /ml a été préparée à partir d'une solution mère de 20mg/100ml de concentration.

➤ **Analyse du standard**

- Introduction de 0.5 ml de la solution de l'acide gallique
- Ajout de 2.5 ml du réactif Folin Ciocalteu pause de 2 min puis l'ajout de 2ml de la solution de bicarbonate de sodium dans chaque tube.
- Agitation puis incubation à l'obscurité pendant 1 heure.
- Lecture des absorbances à 760 nm.

➤ **Dilution :**

- Pour chaque extrait préparation d'une série de 6 tubes pour une dilution $\frac{1}{2}$
- Pour chaque extrait utilisé les solvants suivants :
- Le méthanol pour l'extrait méthanol et l'extrait dichlorométhane
- Ethanol et l'eau distillée pour l'extrait éthanol/eau

Tableau 7 : préparation des dilution

Tube	01	02	03	04	05	06
Contenant	1ml solution mère + 1ml solvant	1ml solution de tube 1 +1ml solvant	1ml solution de tube 2 +1ml solvant	1 ml de tube 3+ 1ml solvant	1 ml de tube 4+ 1ml solvant	1 ml de tube 5+ 1ml solvant

➤ Analyse des extraits

- prélever 0.5 ml de chaque concentration des trois extraits et les mettre dans des tubes à essais

- Ajouter à chaque tube 2.5 ml du réactif Folin Ciocalteu

Bien agiter et laisser les tubes à température ambiante à l'obscurité, pendant 2 min

-Ajouter 2ml de la solution de bicarbonate de sodium (Na_2CO_3) dans chaque tube.

- Agitation puis incubation à l'obscurité et à température ambiante pendant 1 heure ; à l'issue de cette durée, lire à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, l'absorbance du contenu de chaque tube à la longueur d'onde de 760nm. Par rapport au méthanol pour (extrait méthanol et l'extrait dichlorométhane) et l'éthanol/eau pour (l'extrait éthanol /eau). Lecture des absorbances à 760 nm.



Figure 08 : les extraits préparés pour le dosage des polyphénols



Figure 09 : Appareil UV –Spectrophotomètre

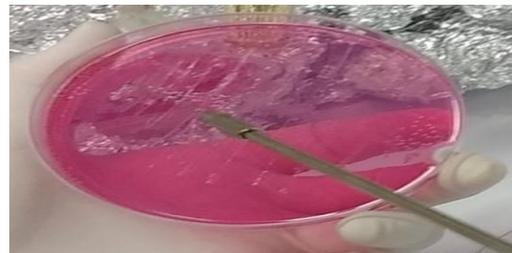
I.5 Etude de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des différents extraits a été évaluée avec la méthode de diffusion sur disque d'Agar.

Les souches bactériennes utilisées sont des bactéries pathogènes ; *Escherichia coli* (Gram négatif) et la bactérie *Staphylococcus aureus* (Gram positif). Les deux souches ont été conservées dans un bouillon nutritif.



(A)



(B)

Figure 10 : les bactéries (A) *Escherichia coli* et (B) *Staphylococcus aureus*

➤ **Préparation des solutions mères**

- Mettre 50 mg de chaque extrait dans 1 ml de solvant méthanolique

➤ **Dilution $\frac{1}{2}$:**

- Préparation de cinq dilutions pour chaque extrait :

Tableau 8 : les dilutions préparées pour chaque extrait

Tubes	1	2	3	4	5
Concentration(mg/ml)	25	12.5	6.25	3.12	1.56

➤ **Test de l'activité inhibitrice**

- préparation des petits disques de papier filtre (Whatman N 4, 6mm de diamètre).

-le milieu chaud Mueller Hinton coulé dans des boites de pétries avec une épaisseur de la gélose de 4 mm



Figure 11 : le milieu chaud Mueller Hinton couler dans des boites de pétries

- le matériel utilisé enrobés dans le papier aluminium et stérilisés à l'autoclave à 121 c° pendant 15 min

-prélèvement de 3 à 4 colonies bien isolées avec une anse de platine et les émulsionnées dans un tube contenant 10 ml de bouillon nutritif conservé pendant une nuit à 37 c°.

On termine l'ensemencement par écouvillonnage sur boîtes pétri.

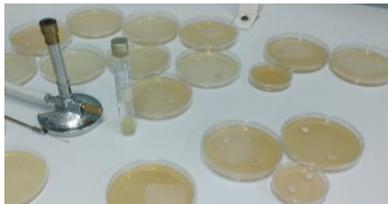
-L'écouvillon est plongé dans la suspension bactérienne, puis essoré en appuyant fermement sur la paroi interne du tube.

-L'écouvillon est frotté (haut /bas), répétition de l'opération 2 fois et à chaque fois en tournant la boîte de 60°

-À chaque fois l'écouvillon est rechargé lorsqu'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec la même souche.

-Application des disques :

- Les disques stériles imprégnés par une concentration (50mg/ml) d'extrait à tester à raison de 10 µl par disque sont déposés à l'aide d'une pince à la surface du milieu gélosés, préalablement ensemencé a 15 Mm du bord de la boîte de pétri.
- Les boîtes de pétri doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose.
- Enfin, les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37°



Incubation à
l'étuve pendant
24 h



Figure 12 : incubation des boites à l'etuve

-Pour la lecture, en mesurant pour chaque disque, le diamètre d'inhibition de chaque extrait.

Chapitre II

Résultats et discussion

II.1 Résultats

II.1.1 Screening phytochimique des métabolites secondaires

Des tests de détection ont été effectués sur les divers extraits de *Myrtus nivellei*, afin de révéler la présence de certaines classes de molécules bioactives contenues dans les trois extraits.

En appliquant les différents protocoles décrits dans la partie matérielle et méthodes. Le screening phytochimique des trois extraits de *Myrtus nivellei* nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

✓ Identification des glycosides cardiaque

L'ajout de 0.5 ml de l'acide sulfurique H_2SO_4 aux trois tubes contenant les extraits et 2 ml de chloroforme ont provoqué l'apparition d'une coloration brun-rougeâtre qui indique la présence des glycosides cardiaques dans l'extrait méthanolique.



Figure 13 : Identification des glycosides cardiaque (A) E. Méthanol

(B)E. Ethanol/eau (C) E. dichlorométhane

Tableau 9 : résultats de screening phytochimique (glycosides cardiaques)

L'extrait	Présence des glycosides cardiaques
Méthanol	+++
Ethanol /eau	---
Dichlorométhane	+

+ : présence , - : absenc

✓ Détection des tanins

Les 2 gouttes de la solution $FeCl_3$ ajouté au 0.5 ml de chaque extrait et 0.5 ml d'eau distillé ont provoqué un changement de couleur du vert foncé vers le gris dans le tube qui contient l'extrait éthanol / eau.



(A)

(B)

(c)

Figure 14 : Résultats de détection des tanins dans les trois extraits (A) l'extrait éthanol /eau
(B) l'extrait dichlorométhane (c) l'extrait méthanol

Tableau 10 : Résultats de la présence des tanins

Extraits	Présence des tanins
Méthanol	----
Ethanol /eau	+++
Dichlorométhane	----

+ :présence , - : absence

✓ Détection des flavonoïdes

L'addition de quelque goutte d'alcool isoamylique au tubes contenant 4 ml d'éthanol et 1 ml d'alcool chlorhydrique (HCL) et 2 ml de chaque extrait et 2 à 3 morceaux de Magnésium a intensifié la coloration rose orangé qui a confirmé la présence de flavonoïdes ans l'extrait méthanolique.



Figure 15 : Résultat de détection des flavonoïdes (A) E. dichlorométhane, (B) E. Méthanol
(C) E. Ethanol/eau

Tableau 11 : Résultats de la présence des flavonoïdes.

Extrait	Présence des flavonoïdes
Méthanol	+++
Ethanol/eau	---
Dichlorométhane	---

✓ Détection des polyphénols

L'ajout de quelques gouttes de chlorure ferrique ($FeCl_3$ à 10 %) Dans trois tubes à essais contenant les trois extraits a provoqué l'apparition de la couleur vert noirâtre dans les extraits méthanolique et éthanol/eau qui indique la présence des polyphénols .

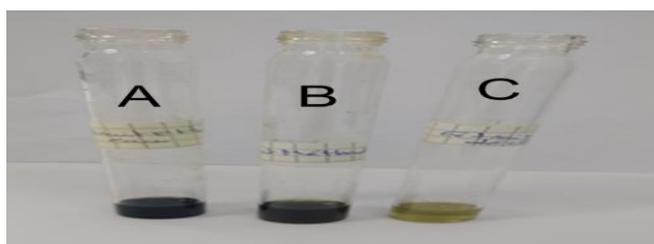


Figure 16 : Résultat de détection des polyphénols (A) E. Méthanol, (B) E. Éthanol/eau,
(C) E. Dichlorométhane

Tableau 12: Résultat de la présence des polyphénols.

Extrait	Présence des polyphénols
Méthanol	+++
Ethanol/eau	++
Dichlorométhane	---

✓ Détection des saponines

La préparation des séries de 10 tubes de chaque extrait et l'ajustement des volumes de chaque tube à 10 ml avec l'eau distillée puis l'agitation de chaque tube pendant 15 secondes a provoqué l'obtention d'une mousse qui indique la présence de saponines .

**Figure 17 :** résultat d'identification des saponines dans l'extrait méthanolique

✓ Observation

Après 15 min de repos en mesurant la hauteur de la mousse produite dans chaque tube et en résulte que les tubes 4 et 5 de l'extrait méthanolique contenant une mousse de hauteur égale 1cm.

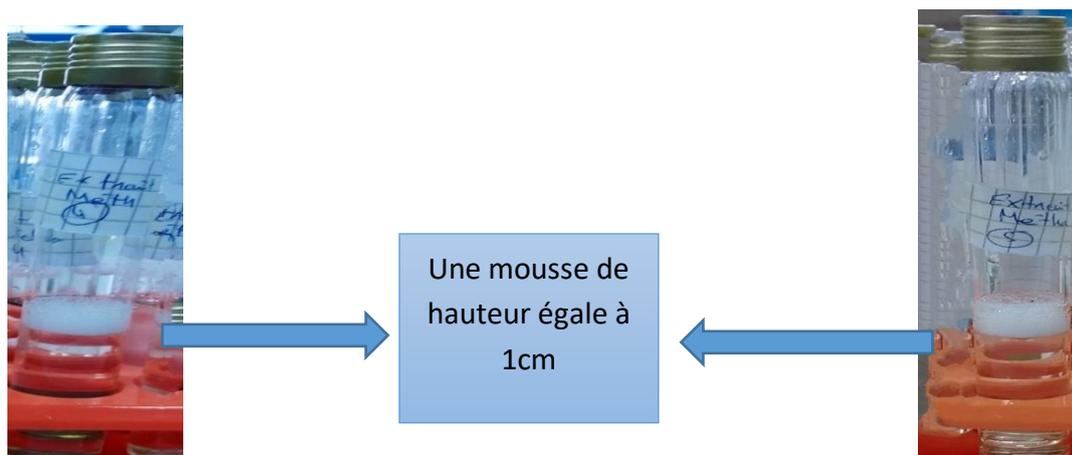


Figure 18 : La présence des saponosides dans les tubes 4 et 5 de l'extrait méthanolique

II.1.2 Dosage des polyphénols

- Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

D'après la méthode de Follin –ciocalteu ; le standard le plus souvent employé c'est l'acide gallique (Maisuthisakul et *al.* 2008).

Après la lecture de l'absorbance à la longueur d'onde de 760nm, des solutions d'acide gallique ont conduit à une régression linéaire positive, à un coefficient de corrélation ($R^2=0.9936$).

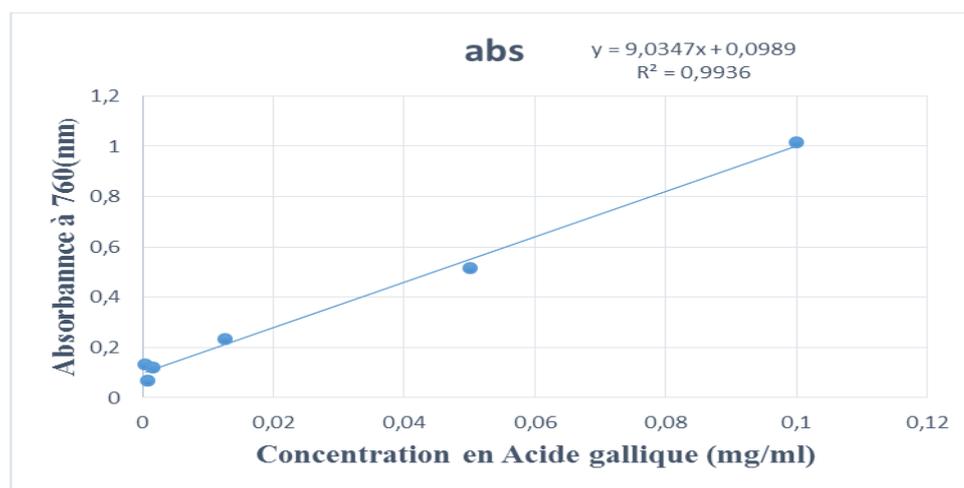


Figure 19 : Courbe étalon de l'acide gallique.

La figure 19 montre que la teneur en polyphénols des extraits polaires hydro-alcoolique et méthanolique évaluée respectivement à 16.84% et 9.19% sont nettement plus élevées que celle de l'extrait dichlorométhane qui n'affiche que 3.05%.

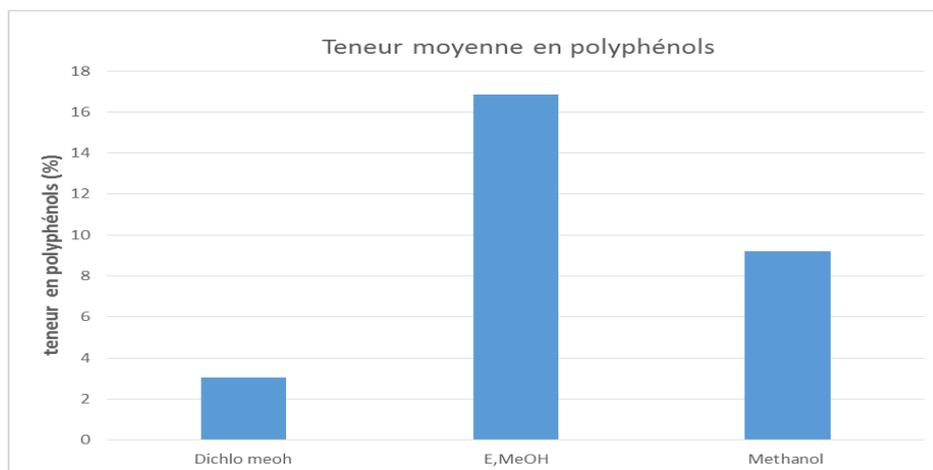


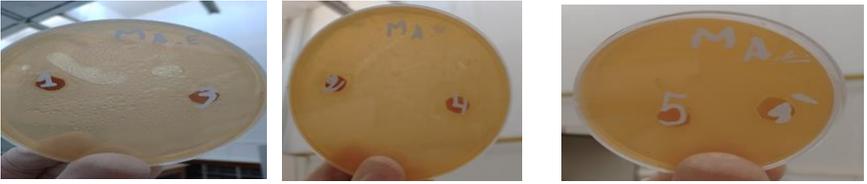
Figure 20 : Composition en polyphénols des extraits de *Myrtus nivellei*

II.1.3 Etude de l'activité antibactérienne

- **Test de l'activité inhibitrice**

L'activité antibactérienne des trois extraits de *Myrtus nivellei* a été évalué en utilisant la méthode de diffusion sur disque en milieu solide à l'égard de deux souches bactériennes *E. coli* et *Staphylococcus aureus*. Les résultats des zones d'inhibitions sont représentés dans le tableau ci-dessou

Tableau13 : Résultats de l'activité antibactérienne

Extrait et souche	Zone d'inhibition
l'extrait éthanol/eau sur la souche <i>E. coli</i> .	
l'extrait dichlorométhane sur la souche <i>E. coli</i>	
l'extrait méthanolique sur la souche <i>E. coli</i> .	
l'extrait éthanol/eau sur la souche <i>staphylococcus aureus</i> .	
l'extrait Méthanol sur la souche <i>staphylococcus aureus</i> .	

➤ **L'activité antibactérienne des extraits de *Myrtus nivellei***

Le tableau suivant montre les variations des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes apparues en présence des extraits (Ethanol/eau ; méthanol ; Dichlorométhane de *Myrtus nivellei*.

Tableau 14 : Diamètres des zones d'inhibition des trois extraits.

Souche	Extraits		
	Ethanol/eau	Méthanol	Dichlorométhane
<i>E. coli</i>	15 mm	15 mm	NA
<i>Staphylococcus aureus</i>	15 mm	16 mm	NA

Mm : millimètre, NA : non active

Les résultats montrent une activité antibactérienne plus ou moins importante des extraits (éthanol /eau ; méthanol ; dichlorométhane) de *Myrtus nivellei* sur les deux souches testées avec des zones d'inhibitions variables (15 mm à 16mm) à l'exception de l'extrait de dichlorométhane qui ne présentent aucun effet antibactérien. Par ailleurs, les résultats ont également montré que la souche *E. coli* est plus sensible aux extraits.

II.2 Discussion

Le screening phytochimique effectué sur les trois extraits de *Myrtus nivellei* révèle la présence d'importants métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les polyphénols, les saponosides et les glycosides cardiaques qui ont caractérisé principalement l'extrait méthanolique de la plante, alors que les tanins ont été caractérisé dans l'extrait éthanol/eau. Ces résultats sont accord avec ceux obtenue par Touaibia et al (2014) sur *Myrtus nivellei*. Ces métabolites secondaires identifiés possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques et cela confirme l'utilisation traditionnelle de *Myrtus nivellei* contre plusieurs pathologies telles que l'affections de l'appareil digestif, la fièvre et le diabète (**Hammiche V., Maiza K., 2006**).

La présence des flavonoïdes est probablement responsable de effets antioxydants de *Myrtus nivellei* (**Carlo et al., 2010**). Ces métabolites sont des antioxydants réputés pour leur action anti radicalaire (**Makhloufi, 2010**).

En parallèle la présence des saponosides explique l'activité anti-inflammatoire de *Myrtus nivellei*. Ces composés ont un grand intérêt qui a été démontrés de part des études de leurs propriétés pharmacologiques et biologiques (**K. Hostettmann, A. Marston., 1995**).

On trouve aussi la présence des tanins qui sont impliqués dans la protection contre les infections fongiques et bactériennes (**Kansole., 2009**) donc sont responsables des propriétés antifongiques et antibactérienne de *Myrtus nivellei*.

La teneur en polyphénols a été estimée par la méthode colorimétrique de Folin Ciocalteu. La teneur élevée en polyphénols (16,85%) dans l'extrait éthanolique est liée à la solubilité élevée des phénols dans les solvants polaires (**Ghedadba et al.,2014**).

Les résultats du dosage des polyphénols sont en accord avec l'étude de Touaibia et al (2014) qui montre que l'extrait éthanolique de *Myrtus nivellei* sont plus riches en polyphénols, soit 734 µg EAG /mg ES pour l'extrait EtOH et 348 µg EAG/mg ES pour l'extrait MeOH.

L'effet antibactérien des trois extraits de *Myrtus nivellei* a été mis en évidence par l'évaluation de l'effet inhibiteur sur les deux souches bactériennes : *Escherichia coli* (Gram négatif) et *Staphylococcus aureus* (Gram positif). La sensibilité de ces dernières à l'égard de l'extrait méthanolique à différentes dilutions était similaires pour les deux espèces ; en effet l'extrait a inhibé la croissance bactérienne avec une CMI =1.56mg/ml et ceci est en accord avec les résultats de l'équipe de Taouibia (2014). Cette activité est probablement dû à la richesse de ces extraits en polyphénols. Aussi que l'extrait éthanol/eau était actif contre les deux souches, mais avec une activité plus au moins faible par rapport à l'activité de l'extrait méthanolique avec une CMI=3.12 mg/ml. Par ailleurs, la bactérie *Escherichia coli* est plus sensible à ces deux extraits que la bactérie *Staphylococcus aureus* et ceci est en accord avec les résultats de Demmak (2020) .Alors que l'extrait dichlorométhane ne présente aucun effet antibactérien contre les deux souches bactériennes.

Conclusion Générale

Et

Perspectives

Conclusion générale

Ce travail présente une étude phytochimique et biologique d'une plante endémique du Sahara Algérien *Myrtus nivellei* et qui a pour objectif principal d'étudier par screening phytochimique les métabolites secondaires que renferme cette plante et d'évaluer son activité antibactérienne.

L'extraction a été réalisée par DR. Demmak au cours de sa thèse (Demark., 2020) et dont l'espèce *Myrtus nivellei* a été récoltée de Djanet en Aout 2015. Notre étude s'est faite sur les trois extraits de la plante : l'extrait dichlorométhane ; l'extrait méthanol et l'extrait éthanol/eau.

Les principaux résultats de l'analyse phytochimique de la plante *Myrtus nivellei* montrent bien l'abondance et la richesse de cette espèce en composés bioactifs tels que : glycosides cardiaques, Tannins, Flavonoïdes, Saponosides, polyphénols tandis que l'extrait méthanolique est plus riche en glycosides cardiaques, flavonoïdes, saponosides et les polyphénols, alors que l'extrait hydro-alcoolique est très riche en tanins, toutefois, ces composés ont été absents dans l'extrait dichlorométhane. La présence de ces composés montre bien leur rôle important dans la plante comme des substances bioactives.

Les analyses spectrophotométriques effectuées ont montré que la teneur en polyphénols des extraits polaires hydro alcoolique et méthanolique évaluée respectivement à 16.84% et 9.19% sont nettement plus élevées par rapport à l'extrait dichlorométhane qui n'affiche que 3.05%.

L'activité antibactérienne a été évaluée sur deux souches bactériennes *Escherichia coli* (Gram négatif) et *Staphylococcus aureus* (Gram positif) par la méthode de diffusion en milieu solide sur gélose. Les résultats biologiques de ce test ont montré que l'extrait méthanolique et l'extrait hydro-alcoolique sont actifs contre les deux souches mais avec des CMI différentes. En effet, l'extrait méthanolique a inhibé la croissance bactérienne avec une CMI plus au moins forte par rapport au CMI de l'extrait éthanol/eau. Par ailleurs, les résultats ont montré que la souche *Escherichia coli* est plus sensible aux deux extraits. Alors que l'extrait dichlorométhane ne représente pas un effet antibactérien contre les deux bactéries.

En perspective, il serait indispensable de compléter et d'approfondir ce travail par une étude phytochimique plus développée afin d'isoler et identifier les différents composés chimiq

Conclusion Générale et perspectives

présents, et les purifier en utilisant des techniques chromatographiques et spectroscopiques pour leur identification.

Les résultats de ce travail ouvrent un large champ pour étudier d'autres activités biologiques très importantes comme : activité anti inflammatoires *in vivo* mais aussi l'activité anticancéreuse et l'activité antioxydante.

Références
Bibliographiques

Abad, M. J., Ansuategui, M., & Bermejo, P. (2007). Active antifungal substances from natural sources. *Arkivoc*, 7(11), 6-145.

Am J Clin Nutr,(2008). Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. *The American journal of clinical nutrition*, 88(1), 38-50.

Amić, D., Davidović-Amić, D., Bešlo, D., & Trinajstić, N. (2003). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croatica chemica acta*, 76(1), 55-61.

Angiosperm Phylogeny Group. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161(2), 105-121

Bate-Smith, E. C. (1962). The phenolic constituents of plants and their taxonomic significance. I. Dicotyledons. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 58(371), 95-173.

Ben Ghnaya A., Chograni H., Messoud C., Boussaid M., 2013. Comparative Chemical Composition and Antibacterial Activities of *Myrtus communis* L. Essential Oils Isolated from Tunisian and Algerian Population. *Plant Pathology and Microbiology* 4, 1–5

Besle, J. M., Lamaison, J. L., Pradel, P., Fraisse, D., Viala, D., & Martin, B. (2004). Les flavonoïdes, des fourrages au lait. *Renc. Rech. Rum*, 11, 67.

Betina-Bencharif, S. (2014). *Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales: Cyclamen africanum, Zygophyllum cornutum et évaluation de leur activité anti-inflammatoire* (Doctoral dissertation, Université de Bourgogne; Université Mentouri-Constantine).

Bhavna, S., Chandrajeet, B., Partha, R. (2008),. *Food and chemical Toxicology* 46, p. 2376-2383 .

Billing, J., & Sherman, P. W. (1998). Antimicrobial functions of spices: why some like it hot. *The Quarterly review of biology*, 73(1), 3-49.

Bouzabata, A. (2015). CONTRIBUTION A L'ÉTUDE D'UNE PLANTE MÉDICINALE ET AROMATIQUE MYRTUS COMMUNIS L (Doctoral dissertation, Faculté de Médecine, Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie.).

BRUNETON J. ,1999-Les tanins. Ed. Éditions médicales internationales, Paris, 369-404.

Bruneton, J., & Barton, D. H. R. (1987). *Eléments de Phytochimie et de Pharmacognosie*. Technique et documentation.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

Cannas, S., Molicotti, P., Ruggeri, M., Cubeddu, M., Sanguinetti, M., Marongiu, B., & Zanetti, S. (2013). Antimycotic activity of *Myrtus communis* L. towards *Candida* spp. from clinical isolates. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 7(03), 295-298.

Chomsky, N. (2012). What is special about language. *SBS Lecture Series: Noam Chomsky*. University of Arizona.

Chun, L.Y., Jian, W. L., Dong, Z.W., Yan, H.L., Feng, Q. (2004),. *Pharmacological Research* 50, p. 505-510.

Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., Bruyne, T.D., Hermans, N., Totté, J., Pieters, L., Vlietinck, A.J. (2002),. *Journal of Ethnopharmacology* 79, p. 213-220.

Demmak R.G (2020) Evaluation phytochimique et biologique des substances naturelles de deux plantes du Sahara Algérien : *Solenostemma argel* Hayne et *Myrtus nivellei* Batt et Trab (Doctorat en sciences , Faculté de des Sciences de la Nature et de la Vie , Université.constantine 1)

Di Carlo, G., Mascolo, N., Izzo, A. A., & Capasso, F. (1999). Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life sciences*, 65(4), 337-353.

édition révisée, Faculté de Pharmacie de Paris – Masson: 429.

Erdman Jr, J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., ... & Burrowes, J. (2007). Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America flavonoids

workshop, May 31–June 1, 2005, Washington, DC. *The Journal of nutrition*, 137(3), 718S-737S.

Essawi, T., & Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 70(3), 343-349.

Franchomme, P., & Penoel, D. (2001). *The Aromatherapy exactly*. Ed. Roger Jollois, Paris, 480.

Franchomme, P., Jollois, R., & Penoel, D. (2001). *Aromatherapy Exactly: Encyclopedia of the therapeutic use of aromatic extracts*, Ed. Roger Jollois.

Galati, E. M., Monforte, M. T., Kirjavainen, S., Forestieri, A. M., Trovato, A., & Tripodo, M. M. (1994). Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid.(Note I): antiinflammatory and analgesic activity. *Farmaco (Societa chimica italiana: 1989)*, 40(11), 709-712.

Garrel, C., & Bigard, X. (2017). Stress oxydatif et micronutriments antioxydants. *Nutrition du Sportif*, 151-196.

Ghazi, F., & Sahraoui, S. (2005). Evolution des composés phénoliques et des caroténoïdes totaux au cours de la maturation de deux variétés de dattes communes: Tantboucht et Hamraïa. *Mémoire d'ingénieur. Institut national d'agronomie. Alger*.

Ghedadba, N., Hambaba, L., Aberkane, M. C., Oueld-Mokhtar, S. M., Fercha, N., & Bousselsela, H. (2014). Évaluation de l'activité hémostatique in vitro de l'extrait aqueux des feuilles de *Marrubium vulgare* L. *Algerian Journal of Natural Products*, 2(2), 64-74.

Grattapaglia, D., Vaillancourt, R. E., Shepherd, M., Thumma, B. R., Foley, W., Külheim, C., ... & Myburg, A. A. (2012). Progress in Myrtaceae genetics and genomics: Eucalyptus as the pivotal genus. *Tree Genetics & Genomes*, 8(3), 463-508.

Grêté P. (1965). *Précis de botanique, Systématique des angiospermes*. Tome II ; 2ème édition.

Hamid EL-Haoud, Moncef Boufellous, Assia BERRAN, Hind Tazougart et Rachid Bengueddour. SCREENING PHYTOCHIMIQUE D'UNE PLANTE MEDICINALE: MENTHA SPICATA L. *Am. J. innov. res. appl. sci.* 2018; 7(4): 226-233.

Références Bibliographiques

- Hammiche V., Maiza K., 2006. Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology* 105, 358–367.
- Hammiche, V., & Maiza, K. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of ethnopharmacology*, 105(3), 358-367.
- Hertog, M. G. L., & Hollman, P. C. H. (1996). Potential health effects of the dietary flavonol quercetin. *European Journal of Clinical Nutrition (United Kingdom)*.
- Hideo, O., Akio, M., Yasuko, Y., Mitsuru, N., Yoshimasa, T. (1993),. *Phytochemistry* 33, p. 557-561.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G., & Jarvis, A. (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology: A Journal of the Royal Meteorological Society*, 25(15), 1965-1978.
- Hostettmann, K., & Marston, A. (1995). Saponins, 548 p.
- Huet, R. (1991). Les huiles essentielles d'agrumes. *Fruits*, 46(4), 501-513.
- Hutzler, P., Fischbach, R., Heller, W., Jungblut, T. P., Reuber, S., Schmitz, R., ... & Schnitzler, J. P. (1998). Tissue localization of phenolic compounds in plants by confocal laser scanning microscopy. *Journal of Experimental Botany*, 49(323), 953-965.
- Kamarul'Ain. M ; Nigel. B.P; Rex. T.W. (2003). *Phytochemistry*, 64: 1285-1293. Kanoun.
- Kansole, M. M. R. (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia oppositifolia* et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Benth.
- Kaufmann, S.H.E. *Host response to intracellular pathogens*. Ed. Springer, R.G. London, New York, Austin, pp. 345, 1997.
- KHANBABA, K., REE, T.R., (2001). Tannins: Classification and Definition. *Journal of the Royal Society of Chemistry*, Vol. (18): 641-649p.

- Landolfi, R., Mower, R. L., & Steiner, M. (1984). Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids: structure-activity relations. *Biochemical pharmacology*, 33(9), 1525-1530.
- Lapčík, O., Klejdus, B., Kokoška, L., Davidová, M., Afandi, K., Kubáň, V., & Hampl, R. (2005). Identification of isoflavones in *Acca sellowiana* and two *Psidium* species (Myrtaceae). *Biochemical systematics and Ecology*, 33(10), 983-992.
- Larocca, L. M., Giustacchini, M., Maggiano, N., Ranelletti, F. O., Piantelli, M., Alcini, E., & Capelli, A. (1994). Growth-inhibitory effect of quercetin and presence of type II estrogen binding sites in primary human transitional cell carcinomas. *The Journal of urology*, 152(3), 1029-1033.
- Lawrence, J. C., & Larner, J. O. S. E. P. H. (1978). Activation of glycogen synthase in rat adipocytes by insulin and glucose involves increased glucose transport and phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry*, 253(7), 2104-2113.
- Ling, L.Y., Chih, Y.L., Kun, Y.Y. (2000),. Cancer letters 157, p. 65-75.
- M. P. G. Rosa, M. Sylvia and V. S. Rosario, "Psidium guajava: A Review ... and Pharmacology," *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 117, No. 1,27.
- Mabberley, D. J. (1997). *The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants*. Cambridge university press.
- Mahmood, N., Pizza, C., Aquino, R., De Tommasi, N., Piacente, S., Colman, S., ... & Hay, A. J. (1993). Inhibition of HIV infection by flavanoids. *Antiviral Research*, 22(2-3), 189-199.
- Maire R ., 1933-1940 - Etudes sur la flore et la végétation du Sahara central. *Mém. Soc. Hist. Nat. Afr. du Nord*, n° 3 : 1-433.
- Maisuthisakul, P., Pasuk, S., & Ritthiruangdej, P. (2008). Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(3), 229-240.
- Maiza, K. (2008). *Pharmacopée traditionnelle Saharienne Sahara Algérien* (Doctoral dissertation, Alger).

Références Bibliographiques

Makhloufi, A. (2010). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. *Mémoire de obtenir le grade de doctorat d'état en biologie. université Aboubaker Belkaid. Bechar. P, 166.*

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.

Mansour, A., Celano, R., Mencherini, T., Picerno, P., Piccinelli, A. L., Foudil-Cherif, Y., ... & Rastrelli, L. (2017). A new cineol derivative, polyphenols and norterpenoids from Saharan myrtle tea (*Myrtus nivellei*): Isolation, structure determination, quantitative determination and antioxidant activity. *Fitoterapia*, 119, 32-39.

Mario, J.S., Seiji, A., Satoshi, T., Yang, H., Kurt, A.R., Margaret, J.B., Roberto, R.G., Bernard, I.W., Edward, J.K. (2008),. *Food chemistry* 107, p. . 813-819.

Messai, L.,20011 & Belkacemi, D. Etude phytochimique d'une plante medicinale de l'est Algerien.

Mila, I., & Scalbert, A. (1993, September). Tannin antimicrobial properties through iron deprivation: a new hypothesis. In *International Symposium on Natural Phenols in Plant Resistance 381* (pp. 749-755).

Milane, H. (2004). *La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques* (Doctoral dissertation, Université Louis Pasteur (Strasbourg)(1971-2008)).

Mohammedi, Z., & Atik, F. (2012). HPLC-UV Analysis and antioxidant potential of phenolic compounds from endemic shrub of arid environment *Tamarix pauciovulata* J. Gay. *Journal of Life Sciences*, 6(8), 883.

Molino, P (ED). (2005). *A guide to medicinal plants in North Africa*. Spain: Malaga.

Morio, Y., Hideyuk, I., Kyoko, M., Tsutomu, H., Shoko, T., Yoshiaki, A.,. Takashi, Y. (2008),. *Phytochemistry* 69, p. 3062-3069.

- Narayana, K. R., Reddy, M. S., Chaluvadi, M. R., & Krishna, D. R. (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian journal of pharmacology*, 33(1), 2-16.
- Nguyen, T.D., Vivek, K.B., Jung, I.Y., Sun, C.K. (2009),. Food and chemical Toxicology 47, p. 449-453.
- Ohemeng, K. A., Schwender, C. F., Fu, K. P., & Barrett, J. F. (1993). DNA gyrase inhibitory and antibacterial activity of some flavones (1). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 3(2), 225-230.
- Osbourn, A. E. (2003). Saponins in cereals. *Phytochemistry*, 62(1), 1-4.
- Ozenda P., 2004. - Flore et végétation du Sahara. 3ème Ed. C.N.R.S., Paris, 662 p.
- Paris, M., Hurabielle, M., & Paris, R. R. (1981). *Abrégé de matière médicale: Monographies (2. Partie): plantes actives sur le système nerveux, sur l'appareil digestif, plantes cardiotoniques, plantes antiparasitaires, plantes insecticides, antibiotiques et antitumoraux d'origine végétale*. Masson. Paris.pp: 102-103-104-107.
- Park, H. J., & Cha, H. C. (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho. *Korean Journal of Biological Sciences*, 7(4), 327-330.
- Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of natural products*, 63(7), 1035-1042.
- Piquemal, G. 2008. Les flavonoïdes. (en ligne): http://www.detoursante.com/index.php?Option=com_content&view=article&id=166&Itemid=215.
- Porter, L. J., & Hemingway, R. W. (1989). Significance of the condensed tannins. In *Natural*
- Quézel, P., Santa, S., 1963. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. roducts of Woody Plants* (pp. 988-1027). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Rached, W., Bennaceur, M., Barros, L., Calhella, R. C., Heleno, S., Alves, M. J., ... & Ferreira, I. C. (2017). Detailed phytochemical characterization and bioactive properties of *Myrtus nivelii* Batt & Trab. *Food & function*, 8(9), 3111-3119.

- Read, M. A. (1995). Flavonoids: naturally occurring anti-inflammatory agents. *The American journal of pathology*, 147(2), 235.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., & Zhang, L. (2003). Flavonoids: promising anticancer agents. *Medicinal research reviews*, 23(4), 519-534.
- Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les Composés phénoliques des végétaux: par Pascal Ribéreau-Gayon... Dunod.
- ROUX, D., & CATIER, O. (2007). Botanique pharmacognosie phytothérapie. *Cahiers du préparateur en pharmacie*. Groupe Liaisons.
- Santamaría, R., Rizzetto, L., Bromley, M., Zelante, T., Lee, W., Cavalieri, D., ... & Kapushesky, M. (2011). Systems biology of infectious diseases: a focus on fungal infections. *Immunobiology*, 216(11), 1212-1227.
- Soltis, D. E., Smith, S. A., Cellinese, N., Wurdack, K. J., Tank, D. C., Brockington, S. F., ... & Soltis, P. S. (2011).
- Subramanian, S., Stacey, G., & Yu, O. (2007). Distinct, crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends in plant science*, 12(7), 282-285.
- Touaibia, M., & Chaouch, F. Z. (2014). COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DES EXTRAITS ALCOOLIQUES DE L'ESPECE SAHARO-ENDEMIQUE *Myrtus nivellei* Batt et Trab (MYRTACEAE). *Revue des Bioressources*, 4(4).
- Touaibia, M., & Chaouch, F. Z. (2014). COMPOSITION DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DES EXTRAITS ALCOOLIQUES DE L'ESPECE SAHARO-ENDEMIQUE *Myrtus nivellei* Batt et Trab (MYRTACEAE). *Revue des Bioressources*, 4(4).
- Touaibia, M., & Chaouch, F. Z. (2015). Anti-inflammatory effect of *Myrtus nivellei* Batt & Trab (Myrtaceae) methanolic extract. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 7(1), 77-82.
- TOUAIBIA, M., CHAOUCH, F. Z., CHERIF, H., & CHAOUIA, C. (2014). Caractérisation phytochimique de l'espèce saharo-endémique *Myrtus nivellei* Batt & Trab (Myrtaceae). *Algerian Journal of Natural Products*, 2(1), 27-34.

Ulanowska, K., Majchrzyk, A., Moskot, M., Jakóbkiewicz-Banecka, J., & Węgrzyn, G. (2007). Assessment of antibacterial effects of flavonoids by estimation of generation times in liquid bacterial cultures. *Biologia*, 62(2), 132-135.

Valnet-Rabier, M. B., Challier, B., Thiebault, S., Angonin, R., Margueritte, G., Mougin, C., ... & Fest, T. (2005). c-Flip protein expression in Burkitt's lymphomas is associated with a poor clinical outcome. *British journal of haematology*, 128(6), 767-773.

Vanacker, S. A., Tromp, M. N., Haenen, G. R., Vandervijgh, W. J. F., & Bast, A. (1995). Flavonoids as scavengers of nitric oxide radical. *Biochemical and biophysical research communications*, 214(3), 755-759.

Vansant, G. (2004). Radicaux libres et antioxydants: principes de base. In *Symposium «Antioxydants et alimentation»*. Institut Danone.

Verhoeven, M. E., Bovy, A., Collins, G., Muir, S., Robinson, S., De Vos, C. H. R., & Colliver, S. (2002). Increasing antioxidant levels in tomatoes through modification of the flavonoid biosynthetic pathway. *Journal of experimental botany*, 53(377), 2099-2106.

Wilson, P. G., O'brien, M. M., Heslewood, M. M., & Quinn, C. J. (2005). Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a mat K phylogeny. *Plant Systematics and Evolution*, 251(1), 3-19.

Yang, R. Y., Lin, S., & Kuo, G. (2008). Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 17.

Annexe

Tableau 01 : Les différents appareils utilisés

Appareils	Marque et modèle
Balance analytique	DENVER instrument (SI-234) FA2004B
Etuve	Nuve FN500
Agitateur magnétique	Fisher Scientific /Heating Magneticstirrer Fb 15001
Spectrophotomètre	SHIMADZU UV-1280
Autoclave	ADOLF WOLF SANO clav
Vortex	VWR VV3
Plaque chauffante	Lab Tech /Hotplate Stirrer

➤ **Réactifs et Produits chimiques utilisés**

- Méthanol
- Acide gallique
- Mulher Hinton
- Éthanol
- Aluminium chlorure
- Bouillon nutritif
- Dichlorométhane
- Acide ascorbique
- Bicarbonate de sodium
- Chlorure ferrique
- Folin ciocalteu

Résumé :

Myrtus nivellei est un arbuste appartenant à la famille des Myrtacée possédant à la fois des intérêts thérapeutiques et pharmacologiques. Le but de ce travail est l'étude phytochimique et biologique (Antibactérienne) de la plante. Cette étude a été réalisée sur les trois extraits de *Myrtus nivellei* (méthanol, éthanol/eau, dichlorométhane). Notre étude a été commencée par un screening phytochimique qui a permis la détection de différents métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, glycosides cardiaques, tanins et les saponosides) et le dosage des polyphénols qui a été effectuée par l'utilisation du réactif de Folin ciocalteu. Ces résultat a révélé la richesse de l'extrait éthanol/eau en polyphénols avec un teneur égal à 16.84%.

L'espèce *Myrtus nivellei* a présenté une très bonne activité antibactérienne, l'évaluation de cette activité montré que l'extrait méthanolique possède une bonne activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus* et *E. coli* avec un CMI égale à 1.56mg/ml. Et l'extrait éthanol /eau été actif contre les deux souches mais avec une activité moins que l'activité de l'extrait méthanolique avec une CMI=3.12mg/ml.

Mots clés : *Myrtus nivellei*,, activité biologique, screening phytochimique, métabolites secondaire, dosage des polyphénols, activité antibactérienne.

Summary:

Myrtus nivellei is a shrub belonging to the Myrtaceae family with both therapeutic and pharmacological interests. The purpose of this work is the phytochemical study and biological activities (Antibacterial) of the plant. This study was carried out on the three extracts of *Myrtus nivellei* (methanol, ethanol/water, dichloromethane). Our study was started by a phytochemical screening that allowed the detection of deferents secondary metabolites (polyphenols, flavonoids, cardiac glycosides, tannins and saponosides) and the polyphenol assay that was performed by using the Folin ciocalteu reagent started our study. Its results revealed the richness of the ethanol/water extract in polyphenols with a content equal to 16.84%.

The species *Myrtus nivellei* showed very good antibacterial activity, the evaluation of this activity showed that the methanolic extract has good inhibitory activity against *Staphylococcus aureus* and *E. coli*. with a CMI equal to 12.5mg/ml. And the hydro-alcoolique extract with a CMI equal to 3.12mg/ml.

Keywords: *Myrtus nivellei*, therapeutic and pharmacological interest, biological activity, phytochemical screening, secondary metabolites, dosage of polyphenols, antibacterial activity.

المخلص

ريحانة الصحراء الوسطى هي شجيرة تنتمي لعائلة Myrtaceae لها اهتمامات علاجية ودوائية، والهدف من هذا العمل هو دراسة الكيمياء النباتية والنشاط المضاد للبكتيريا للنبات.

أجريت هذه الدراسة على المستخلصات الثلاثة للنباتة (ميثانول، ايثانول/ماء، ثنائي كلوروميثان)، بدأت دراستنا بفحص كيميائي نباتي بالكشف عن وجود عدة مركبات بوليفينولية، وكذلك تم استخدام فحص Follin cioccalteu لتقدير الحجم الإجمالي للبوليفينول، وقد أشارت نتائجها إلى وجود كمية لا بأس بها من هذه الأخيرة في المستخلص (ايثانول/ماء) والتي قدرت قيمتها بـ 16.8%.

أظهرت ريحانة الصحراء الوسطى نشاطا مضادا للبكتيريا جيدا جدا، وأظهر تقييم هذا النشاط ان المستخلص الميثانولي له نشاط مثبط ضد *E. Coli* و *staphylococcus aureus* ومستخلص ايثانول /ماء أيضا بقيمة CMI قدرت بـ 1.56 ملغ/مل كما اظهر المستخلص ميثانول /ماء نشاط مثبط ضد *staphylococcus aureus* و *E. Coli* لكن كان اقل من نشاط المستخلص الميثانولي ب قيمة CMI قدرت بـ 3.12 ملغ/مل.

الكلمات المفتاحية: ريحانة الصحراء الوسطى، النشاط المضاد للبكتيريا، فحص كيميائي نباتي، البوليفينول،

Présenté par : BIOU RAYANE

LEMOUNES AHLEM

Thème : Etude phytothérapeutique d'une plante endémique du Sahara Algérien « *Myrtus nivellei* »

Mémoire de fin de cycle présenté en vue de l'obtention du diplôme de master en biochimie

Résumé :

Myrtus nivellei est un arbuste appartenant à la famille des Myrtacée possédant à la fois des intérêts thérapeutiques et pharmacologiques. Le but de ce travail est l'étude phytochimique et biologique (Antibactérienne) de la plante. Cette étude a été réalisée sur les trois extraits de *Myrtus nivellei* (méthanol, éthanol/eau, dichlorométhane). Notre étude a été commencée par un screening phytochimique qui a permis la détection de différentes métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, glycosides cardiaques, tanins et les saponosides) et le dosage des polyphénols qui a été effectuée par l'utilisation du réactif de Folin ciocalteu. Ces résultats a révélé la richesse de l'extrait éthanol/eau en polyphénols avec un teneur égal à 16.84%.

L'espèce *Myrtus nivellei* a présenté une très bonne activité antibactérienne, l'évaluation de cette activité montré que l'extrait méthanolique possède une bonne activité inhibitrice contre *Staphylococcus aureus* et *E. coli* avec un CMI égale à 1.56mg/ml. Et l'extrait éthanol /eau été actif contre les deux souches mais avec une activité moins que l'activité de l'extrait méthanolique avec une CMI=3.12mg/ml.

Mots clés : *Myrtus nivellei*, screening phytochimique, métabolites secondaire, dosage des polyphénols, activité antibactérienne.

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme HARZALLAH. B.

M.C.B/U.M.F Constantine 1

Examinatrice : Mme TENIOU S.

M.A.A/U.M.F Constantine1

Rapporteur : Mme DEMMAK. R.G.

M.C.B/U.S.B Constantine 3

Laboratoire de recherche : laboratoire de biochimie appliquée

Date de soutenance : 23 septembre 2021