



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
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 الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

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 Moléculaire et Santé

Intitulé :

**Contribution à l'étude phytochimique et activités
biologiques *in vitro* de l'espèce *Myrtus communis* L.**

Présenté et soutenu par :

Le : 02/07/2017

SEGHAOUIL Manel et ZERMANE Aya

Jury d'évaluation :

Présidente: HALMI Sihem MC.B- UFM Constantine.
Rapporteur : MAAMERI-HABIBATNI Zineb. MC.B- UFM Constantine.
Examinatrice : MOSBAH Asma. MC.B- UFM Constantine.

**Année universitaire
2016 - 2017**

REMERCIEMENT

*Après avoir rendu grâce au bon dieu le tout
puissant qui nous a données la force de
résister et la volonté de travailler et la puissance
pour accomplir ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements et
notre profondeur gratitude à notre promoteur Madame
Maamri-habibatni Zineb (M.C.B) qui nous a
accompagnées tout au long de la réalisation de ce
mémoire, puis sa disponibilité, ses remarques et ses
conseils.*

*Nous remercions également, les membres de jury
M .HALMI Sihem, (M.C.B) et M.MOSBAH Asma, (M.A. A)
d'avoir accepté d'honorer notre soutenance, qu'elles
trouvent ici l'expression de notre gratitude.*

*A toute l'équipe du laboratoire Biochimie,
et Monsieur Yasser pour nous avoir accueillis
dans son laboratoire de Zoologie.*

*A toutes personnes qui nous ont
aidés de près ou de loin ainsi que
mon oncle SEGHAOUIL Rachid.*





Dédicace

*Je dédie ce travail et
ma profonde gratitude à
mes chers parents.*

*Mon père EL-Hadi qui est peut
être fier de regarder le résultat des
années de sacrifices et de privations
pour m'aider à avancer dans la vie,
toutes les lettres ne seraient trouver les
mots qu'il faut et tous les mots ne
seraient exprimer la gratitude.*

*Ma mère Malika qui a œuvré pour ma réussite.
Son amour, son soutien, sacrifices et ses précieux
conseils*

*Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien
permanent venu de vous*

A mes chères sœurs ainsi que la petite belle Amani

*A tous mes amis avec lesquels j'ai partagé mes
années d'étude : Aya, Soraya, Khaoula, fatima, Houda ,
Meriem, Zineb, Saadou et yahia*

*Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin,
trouve ici l'expression de ma reconnaissance.*

Manel

Dédicace

À l'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie:

À la mémoire de ma grand mère Khadra , mes grands-pères et grands-mères: Puissent vos âmes reposent en paix. Que Dieu, le tout puissant, vous couvre de Sa Sainte miséricorde et vous accueille dans son éternel paradis.

À mes très chers parents Abdelaziz et Fadila

Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte. Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements. Jamais il n'aurait vu le jour sans les conseils que vous avez consentis pour mon éducation. Que Dieu vous protège et vous accord une longue vie pleine de santé et de bonheur.

Aux bougies qui illuminent ma vie avec leurs beaux rires à mes chères sœurs, adorable Amira, et la petite Assila.

À mon cher et agréable frère Ayoub.

À ceux qui m'ont toujours encouragé et que toutes fête ou réussite reste incomplète sans eux mes chère Oncles, Tantes, Cousins et Cousines.

À tous mes amis que j'ai passé avec eux des moments agréables embaumer de fraternités ; mon binôme Manel, Houda ,Soraya, Meriem, Khaoula, , Zineb, yahia et Saadou .

À tous mes professeurs.

À toute ma famille paternelle ZERMANE et maternelle BELABED.

À tous ceux qui me sont chers.

Aya.

Liste des Tableaux

Tableaux	Titres	Pages
1	Activités biologiques de certaines espèces de la famille des Myrtacées	4
2	Classification systématique de <i>Myrtus Communis L.</i>	10
3	Classification phylogénétique de <i>Myrtus Communis L.</i>	11
4	Différentes classes de flavonoïdes	19
5	Classification des terpènes et exemples	25
6	Propriétés biologiques des quelques poly phénols dans l'organisme	27
7	Marqueurs biologiques du stress oxydant	40
8	Souches bactériennes	52
9	Résultats des réactions de caractérisation des principaux métabolites secondaires contenus dans l'extrait méthanolique de <i>Myrtus communis</i>	55
10	Teneur des polyphénols totaux d'extrait méthanolique des tiges et des feuilles	60
11	Teneur des flavonoïdes d'extrait méthanolique des tiges et des feuilles	63
12	IC50 de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques.	67

Liste des Figures

Figures	Titres	Pages
1	Photos de <i>Myrtus communis</i> L : A : fleurs et feuilles et B : fruits et tiges	6
2	Caractéristiques botaniques de <i>Myrtus communis</i> L.	7
3	Distribution de <i>Myrtus communis</i>	8
4	La condition e la culture de <i>Myrtus communis</i> L.	9
5	Structure de base des acides benzoïque et cinnamique	16
6	Squelette de base des flavonoïdes	17
7	Structure de quelques tanins	20
8	Structure générale de tanins hydrolysable	21
9	Structure générale de tanins condensés	21
10	Structure des lignanes	22
11	Structure des coumarines	23
12	Structure des stilbènes	23
13	Structure des Anthocyanidines	24
14	Structure de la molécule d'isoprène	24
15	Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène	30
16	Origine extra et intra-cellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène	32
17	Les trois types de la SOD	34
18	Oxydation de l'acide ascorbique	35

19	Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules	38
20	Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras poly-insaturés et nature des produits terminaux formés	39
21	Lieu de la récolte de <i>Myrtus communis L.</i>	40
22	Milieu de culture (gélose Muller Hinton)	41
23	Macération dans l'éther de pétrole	42
24	Filtration de macéré sous vide	42
25	Évaporation du Filtrat	43
26	Protocole d'étude expérimentale	44
27	Dosage des polyphénols	47
28	Schéma de transformation du DPPH de sa forme active à celle inactive	49
29	Protocole de l'activité antioxydant	49
30	Protocole du Pouvoir réducteur	51
31	Préparation du milieu de culture	53
32	Ensemencement des souches bactériennes	54
33	Courbe d'étalonnage de l'Acide gallique	59
34	Résultats de dosage des polyphénols des extraits méthanolique de la plante à différentes concentrations : A : tiges. B : feuilles.	60
35	Teneurs en phénols totaux pour les deux parties de la plante étudiée	61
36	Courbe d'étalonnage de la Quercétine	62

37	Résultats de dosage des flavonoïdes des extraits méthanolique de la plante à différentes concentrations : A : tiges. B : feuilles.	62
38	Teneurs en flavonoïdes pour les deux parties de la plante étudiée	63
39	Comparaison des teneurs des poly-phénols et des flavonoïdes.	64
40	Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique de test DPPH.	65
41	Résultats d'activité anti-oxydante des extraits méthanoliques de la plante à différentes concentrations : A : tiges. B : feuilles.	66
42	Courbe de pourcentage d'inhibition de l'extrait (tiges et feuilles) <i>Myrtus communis L</i>	66
43	IC50 de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques.	67
44	Résultats de pouvoir réducteur des extraits méthanolique de la plante à différentes concentrations : A : tiges. B : feuilles.	69
45	Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.	69
46	Pouvoir réducteur des deux extraits méthanoliques.	70
47	Test de diffusion en milieu gélosé des extraits de tiges <i>Myrtus communis L</i> .	72
48	Test de diffusion en milieu gélosé des extraits de feuilles <i>Myrtus communis L</i> .	72
49	Zones d'inhibition (mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations d'extraits méthanoliques des feuilles.	74
50	Zones d'inhibition (mm) des quatre souches bactérienne testées en fonction des différentes concentrations d'extraits méthanoliques de tiges.	75
51	Zones d'inhibition (mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.	75

52	Zones d'inhibition (mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations d'acide gallique	76
53	Zones d'inhibition (mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations de la Quercétine.	78
54	Zones d'inhibition (mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations des deux extraits.	77

Liste des abréviations

Caractères

AA : Acide ascorbique

AGPI : Acides gras poly-insaturés

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

Ca²⁺ : Ion calcium

CL50: Concentration létale 50

Cu²⁺ : Ion cuivre

DMSO : diméthyle sulfoxyde

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

ERN: Espèces réactives de l'azote

ERO: Espèce Réactive de l'oxygène

EtOH : Ethanol

Fe²⁺ : Ions ferreux

Fe³⁺ : Ions ferriques

FeCl_3 : Chlorure de fer

GPx : Glutathion peroxydase.

GSH : Glutathion réduit

GSHPx : glutathions peroxydases

H : hydrogène.

H_2O : Eau

H_2O_2 : Le peroxyde d'hydrogène

H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène

HCl : Acide chlorhydrique

IC50 : Concentration permettant d'inhiber 50 % du radical DPPH

$\text{LOO}\cdot$: Radical peroxyde

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NaOH : Sodium hydroxyde

NO : Oxyde d'azote

NO• : Oxyde nitrique ou monoxyde d'azote

NO₂ : Dioxyde d'azote

O₂ : Oxygène

O₂•- : Anion superoxyde

OH• : Radical hydroxyle

ONOO : Peroxynitrite

POD : Peroxydase

R• : Radical d'acide gras

SOD : Superoxyde dimustase

Unités

°C : Degré Celsius

g : Gramme

L : Litre

mg : Milligramme

min : Minute

mm : Millimètre

Da: Dalton

mol : Mole

μl : Microlitre

nm : Nanomètre

Divers

UV/VIS : Radiation ultraviolette/ Visible

UVA : Radiations ultra-violettes

V : Volume

Liste des tableaux.....	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations	III
Introduction générale	1
Sommaire	

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Etude botanique de Myrtus communis L.

I.1.Famille des Myrtacées	3
I.1.1.Description botanique	3
I.1.2.Position systématique	3
I.1.3.Intérêt biologique de la famille Myrtacées	3
I.2.Genre <i>Myrtus</i>	5
I.3.Espèce <i>Myrtus communis</i> L	6
I.3.1.Description botanique	6
I.3.2.Biotope	7
I.3.3.Position systématique	10
I.3.4.Classification phylogénétique	10
I.3.5.Utilisation	11
I.3.5.1.Utilisation traditionnelle	11
I.3.5.2.Utilisation médicinale	12
I.3.5.3.Utilisation industrielle	12
I.3.6.Travaux antérieurs	12

Chapitre II : Métabolites secondaires

Introduction	14
II.1. Définition des métabolites secondaires	14
II.2. Biosynthèse	15
II.3. Classification des métabolites secondaires	15
II.3.1. composés phénoliques	15
II.3.2. Structure chimique	15
II.3.3. Biosynthèse des polyphénols	15
II.3.4. Propriétés biologiques des polyphénols.....	16
II.3.5. Classification des composés phénoliques.....	16
II.3.5.1 Acides phénoliques	16
II.3.5.2. Flavonoïdes	17
a. Structure des flavonoïdes.....	17
b. Biosynthèse des flavonoïdes.....	18
c. Classification des flavonoïdes.....	18
II.3.5.3. Tanins.....	20
II.3.5.4. Lignins	21
II.3.5.5. Coumarines	22
II.3.5.6. Stilbènes	22
II.3.5.7. Quinones	2
II. Anthocyanes	23
II. Alcaloïdes	23
II.3.2. Isoprénoides (Terpénoïdes)	24

II.3.2.1. Classification	24
II.4. Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires	26
II.4.1. Chez les humains	26
II.4.2. Chez les végétaux	28

Chapitre III : stress oxydant

III.1. Radicaux libres	29
III.1.1. Historique	29
III.1.2. Définition	29
III.1.3. Principaux types des espèces réactives d'oxygène (ERO)	30
III.1.4. Origines des radicaux libres	31
III.1.4.1 Origines exogènes	31
III.1.4.2. Origines endogènes	31
III.1.5. Rôle physiologiques des radicaux libres	32
III.2. Antioxydants	33
III.2.1. Classification	33
III.2.1.1. Antioxydants enzymatiques	33
a. Superoxyde dismutase (SOD)	33
b. Catalase	34
c. Glutathion peroxydase à sélénium (GPx)	34
III.2.1.2. Antioxydants non enzymatiques	35
a. Vitamine C	35
b. Vitamine E	36
c. Glutathion	36

D .Polyphénols	36
e. Caroténoïdes	36
f. Oligoéléments	36
III.3.Stress oxydant.....	37
III.3.1.Conséquences du stress oxydant.....	37
III.3.1.1Oxydation des glucides... ..	37
III.3.1.2Oxydation des protéines.....	37
III.3.1.3Oxydation de l'ADN.....	38
III.3.1.4Oxydation des lipides.....	38
III.3.2.Marqueurs biologiques du stress oxydant.....	39

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

Matériel et Méthodes	40
I.1. Matériel végétal.....	40
I.1.2. lieu de la récolte.....	40
I.2. Souches bactériennes testées.....	40
I.2.1. Milieu de culture.....	41
I.3. Méthodes	41
I.3.1. Préparation des extraits.....	41
I.3.1.1. Préparation de l'extrait de l'éther de pétrole.....	41
I.3.1.2. Préparation de l'extrait hydro-alcoolique.....	43
I.3.2. Criblage phytochimique.....	45
I.3.2.1. Quinones libres.....	45
I.3.2.2. Tanins.....	45
I.3.2.3. Tanins vrais.....	45
I.3.2.4. Alcaloïdes.....	45
I.3.2.5. Stérols et poly-terpènes.....	46

I.3.2.6. Saponines.....	46
I.3.2.7. Flavonoïdes (Cyanidine).....	46
I.3.2.8. Sucres réducteurs.....	46
I.3.3. Dosage colorimétrique (spectrophotométrique).....	47
I.3.3.1. Dosage des poly-phénols totaux.....	47
I.3.3.2. Dosage des flavonoïdes.....	48
I.3.4. Evaluation de l'activité biologique in-vitro	48
I.3.4.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante par le radical libre diphényle-picryl-hydrazyle (DPPH).....	48
I.3.4.2. Pouvoir réducteur.....	50
I.3.4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne	52

Chapitre II : Résultats et discussions

II.1. Screening phytochimique.....	55
II.2. Dosage spectro-photométrique.....	59
II.2.1. Dosage des poly-phénols totaux.....	59
II.2.2. Dosage des flavonoïdes	61
II.3. Activités biologiques.....	65
II.3.1. Activité anti-oxydante.....	65
II.3.1.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH).....	65
II.3.1.2. Povoir réducteur.....	68
II.3.2. Activité antibactérienne.....	71
Conclusion générale et perspectives.....	78
Références.	
Annexe.	
Résumé.	

Introduction

Introduction

Un grand nombre des plantes ; aromatiques, médicinales, des plantes épicées et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture. (**Bahorun. T et al, 1997**). Les plantes médicinales ont été utilisées depuis toujours pour prévenir ou traiter diverses maladies. Selon des études ethno-pharmacologiques plus de 1200 plantes utilisées à travers le monde, en médecine traditionnelle, pour leurs activités (**Bisht.K et al, 2010**). L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques. (**Quezel. P, Santa. S, 1963**).

Elles contiennent des molécules bioactives qui représentent des intérêts multiples mis à profit dans différent domaine. Parmi ces composés, les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés dans le domaine thérapeutique. (**Anderson. O.M et Markham. K.R, 2006**).

Les métabolites secondaires font l'objet de nombreuses recherches basées sur les cultures in vivo et in vitro de tissus végétaux. Ceci est notamment le cas des poly-phénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculo-protecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires (**Bahorun.T,1997**).

Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins. (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Dans ce contexte et notamment dans le cadre de notre recherche qui est l'étude des plantes médicinales, notre choix était basé non seulement sur une enquête pharmaco-traditionnelle auprès d'une population ayant connaissance de leur usage traditionnelle mais aussi grâce aux informations sur la richesse en principes actifs (Huiles essentielles, flavonoïdes) et à déterminer les propriétés biologiques de la plante *Myrtus communis L.*

L'espèce *Myrtus communis L.*, qui fait partie de la famille des myrtacées est connu par ces propriétés antiseptiques désinfectantes et astringentes (diarrhées, dysenterie) ainsi par leur

effet hypoglycémique. Reconnu également dans le traitement des maladies des voies urinaires et respiratoires (**Mimica-Dukic et al, 2010 ; Baba Aissa, 1999**).

Notre recherche est axée vers la quantification de composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes, anthocyanines, tanins), l'évaluation de l'activité nanti-oxydante et antimicrobienne des extraits des parties de plantes.

Ce travail est développé en deux parties :

✚ **La première partie** de ce mémoire nous proposerons une étude bibliographique, qui regroupe 3 chapitres :

- ✓ le premier chapitre basé principalement sur une étude botanique de *Myrtus communis* L.
- ✓ Le deuxième chapitre représente les groupes important des métabolites secondaires et leur classification et propriété pharmacologique.
- ✓ Le troisième chapitre englobe le stress oxydant

✚ **La deuxième partie** est une partie expérimental elle est divisé à son tour en deux chapitres qui sont matériel et méthodes, résultats et discussion.

Et on termine à la fin par une conclusion générale.

Chapitre I
Etude
botanique de Myrtus
communis L.

I.1. Famille des Myrtacées

I.1.1. Description botanique

Selon **Govaerts. R et Lucas. E, (2008)** la famille des Myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend plus de 5650 espèces réparties en 48 à 134 genres environ. Ce sont des arbres et des arbustes, Souvent producteurs d'huiles aromatiques.

Les Myrtacées sont des plantes à feuilles entières, opposées. Fleurs axillaires hermaphrodites. Calice cupuliforme. Etamines très nombreuses, insérées avec les pétales au sommet du tube calycinal. Gynécée infère ou semi- infère à 5 carpelles uniloculaires, à ovules nombreux, à placentation axile. Fruits bacciformes bleuâtres globuleux, de 5-8 mm de diamètre. (**Quezel. P et Santa. S, 1963**).

I.1.2. Position systématique

On peut définir la famille des Myrtacées du point de vue botanique selon les divisions suivantes : (**Grêté. P, 1965**).

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

I.1.3. Intérêt biologique de la famille Myrtacées

Beaucoup d'espèces de cette famille possèdent des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle. Dans le tableau suivant quelques exemples d'espèces dont les propriétés susdites ont été vérifiées et confirmées suite à différents travaux.

Tableau 1 : Activités biologiques de certaines espèces de la famille des Myrtacées.
(Chaouche. M, 2010)

Espèces	Activités biologiques	Références
<i>Cleistocalyx operculatus</i>	anti-inflammatoire antiseptique anti-oxydante antimicrobienne cytotoxique anti-tumorale	(Nguyen. T.D <i>et al</i> , 2009). (Nguyen. T.D <i>et al</i> , 2008). (Chun. L.Y <i>et al</i> , 2004).
<i>Melaleuca squarrosa</i>	anti-oxydante	(Morio. Y <i>et al</i> , 2008).
<i>Leptospermum polygalifolium</i>	Antimicrobienne	(Kamarul'Ain. M <i>et al</i> , 2003).
<i>Psidium guajava</i>	anti-oxydante anti-hypertensive anti-diarrhique antinociceptive antidiabétique anti-allergique anti-tumorale anti-inflammatoire cytotoxique antispasmodique anti-genotoxique	(Rosa. M.P.G <i>et al</i> , 2008).
<i>Syzygium samarangense</i>	Cytotoxique anti-oxydante	(Mario. J.S <i>et al</i> , 2008).
<i>Eucalyptus saligna</i>	Antibactérienne	(Cimanga. K <i>et al</i> , 2002).
<i>Eucalyptus rostrata</i>	anti-oxydante	(Hideo. O <i>et al</i> , 2002).

<i>Eugenia jambos</i>	Antipyrétique anti-inflammatoire anti-tumorale	(Ling. L.Y et al, 2000).
<i>Eugenia jambolana</i>	Antidiabétique anti-lipidémique	(Bhavna. S et al, 2008).
<i>Leptospermum scoparium</i>	Antimicrobienne	(Malcolm. H.D et al, 2004).
<i>Myrtus communis</i>	Antidiabétique anti-oxydante Antimicrobienne anti-mutagénique	(Aylin. S et al, 2004). (Yadegarinia. D et al, 2006). (Hayder. N et al, 2008).
<i>Syzygium aromaticum</i>	anti-hypertensive anti-oxydante antifongique anti-diabétique	(Kim. H.M et al, 1998). (Wojdylo. A et al, 2007). (Romina. V.B ; Miriam. G.E, 2008). (Ratna. C.P et al, 2005).

I.2. Genre *Myrtus*

Arbuste à feuilles ovoïdes, 2 à 3 fois plus longues que large, à nervation pennée. Fleurs grandes 10-15 mm, blanches, pourvues à la base de 2 bractées très petites, rapidement caduque. Bale ovoïde 6-8 mm. Rameaux pubescents dans leur jeunesse. (Quezel. P et Santa. S, 1856).

I.3. Espèce *Myrtus communis* L.

Le terme "*Myrtus*" vient du grec le mot "*myrtos*" (Plante ou arbuste) et "*communis*" signifie que les plantes communes poussent en groupes. (Sumbul. S et al, 2011).

I.3.1. Description botanique

Myrtus communis L. familles des myrtacées pousse spontanément et en abondance dans les régions méditerranéennes, commune dans le Tell et sur le littoral du centre. (Mimica-Dukic. N, 2010 ; Baba Aissa. F, 1999).



Figure 1 : Photos de *Myrtus communis* L. **A** : fleurs et feuilles et **B** : fruits et tiges.
(Aleksic. V et Knezevic. P, 2013).

D'après Migliore. J, (2011) Le myrte se caractérise par des branches (des tiges) rougeâtres (**Figure 2-a**) qui sont très ramifiées et ses petites feuilles d'un vert brillant (**Figure 2-b**), sont opposées, très rapprochées, subsessiles, ovales-lancéolées aiguës, entières, coriaces, persistantes, glabres et luisantes et courtement pétiolées.

La floraison peut débuter à partir de mai-juin et s'étale jusqu'en août sous la forme de fleurs blanches, odorantes, aux pétales d'un blanc éclatant ou taché de rose (**Figure 2-c-d-e**). Les fleurs sont solitaires, jusqu'à 3 cm de diamètre, isolées à l'aisselle des feuilles et portées par de longs pédoncules. Le calice à tube soudé à l'ovaire présente 5 lobes étalés et la corolle 5 pétales. Les étamines sont nombreuses à anthères jaunes forment des touffes ébouriffées. Le style, unique, présente un stigmate simple. (Migliore. J, 2011).

Le fruit de *M. communis* est une baie ovale (7-10 × 6-8 mm), et de couleur noir bleuâtre, quelque fois vert (**Figure 2-f-g**). La pleine maturité de ces fruits est atteinte au mois de novembre. Sous la peau bleu foncé, la chair blanche est plus ou moins épaisse, parfois presque entièrement résorbée, de saveur âpre, résineuse. (**Migliore. J, 2011**).

Les graines sont nombreuses avec des irrégularités de formes et de tailles. Elles sont réniformes, luisantes, couleur ivoire, et de saveur résineuse (**Figure 2-h**). (**Migliore. J, 2011**).

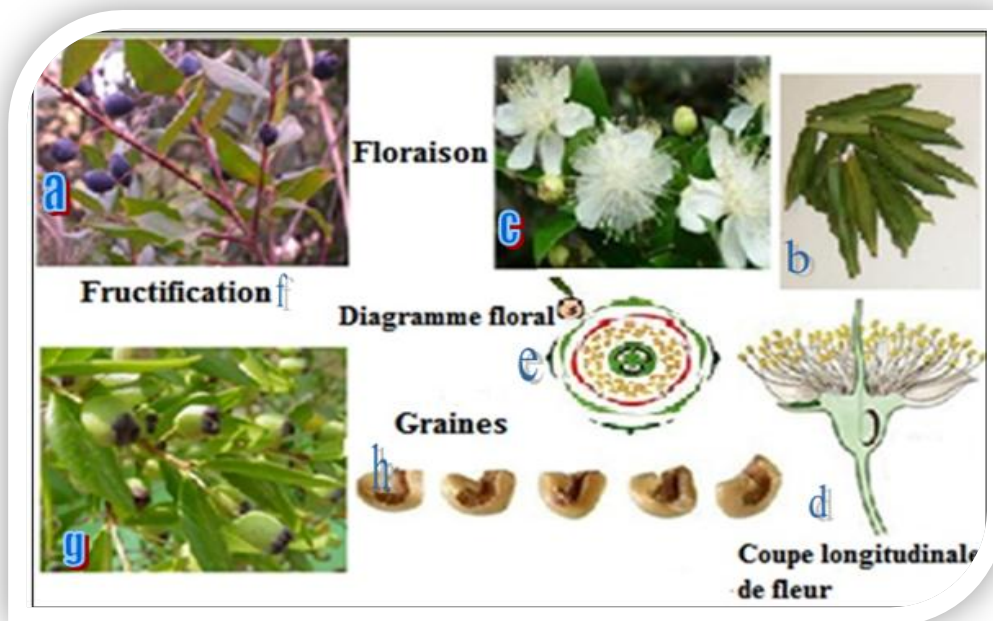


Figure 2: Caractéristiques botaniques de *Myrtus communis* L.

(**Migliore. J, 2011; Khadidja. K, 2011**).

I.3.2. Biotope

Le genre *Myrtus* est à la fois le type botanique d'une grande famille végétale, mais aussi son seul genre qui soit indigène en Méditerranée et au Sahara. Il pousse au niveau de la mer à 500-800 m d'altitude. (**Migliore. J, 2011**).

Myrtus communis L (myrte commun) est une plante médicinale aromatique, endémique à la région méditerranéenne (Figure 3). (Tuberoso. C. I. G et al, 2010).

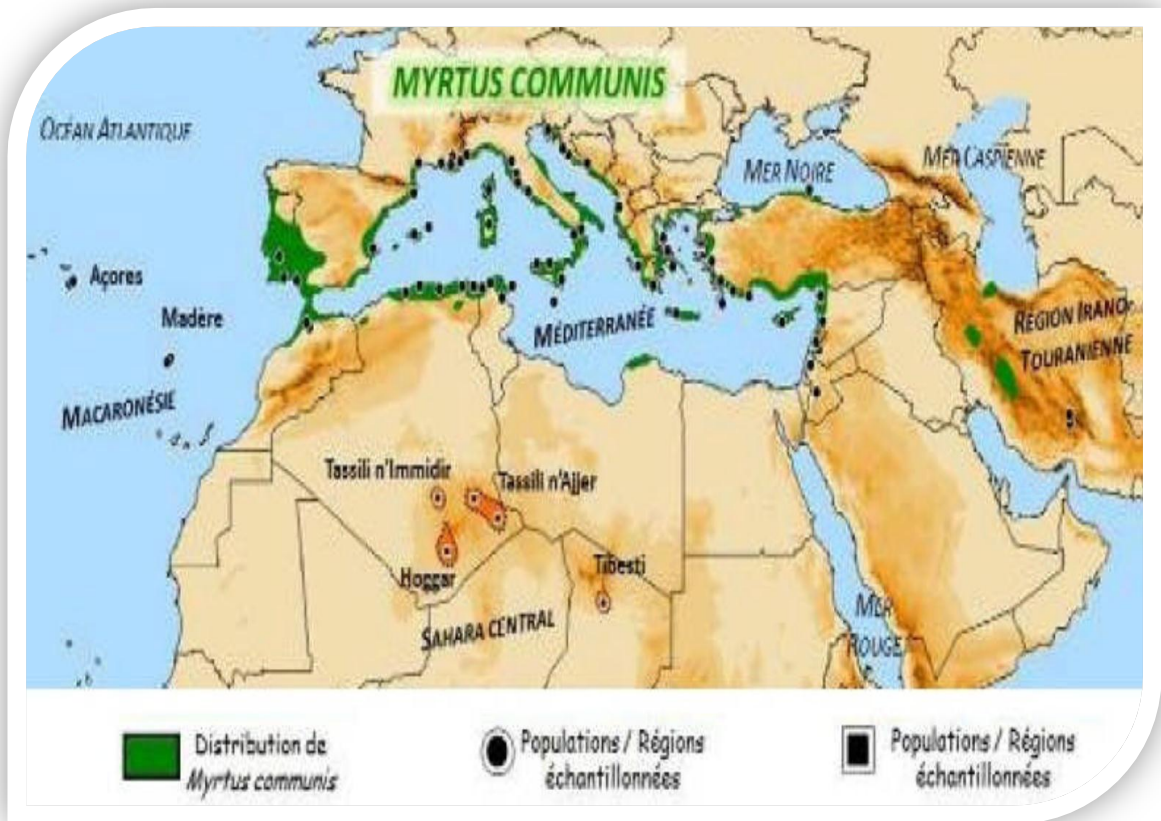


Figure 3: Distribution de *Myrtus communis*. (Migliore. J, 2011).

Le myrte se développe au sein des matorrals massifs d'arbustes thermophiles. En Algérie, il est commun dans les maquis et les forêts du Littoral. (Kaddem. S.E, 1990)

On le rencontre plus sur terrain acide. Il occupe principalement l'étage thermo-méditerranéen (moyenne des minima du mois le plus froid comprise entre 3 et 7°C). (Migliore. J, 2011).

D'après Rameau. J. C et al, (2011). *Myrtus communis* peut vivre plus de 300 ans.

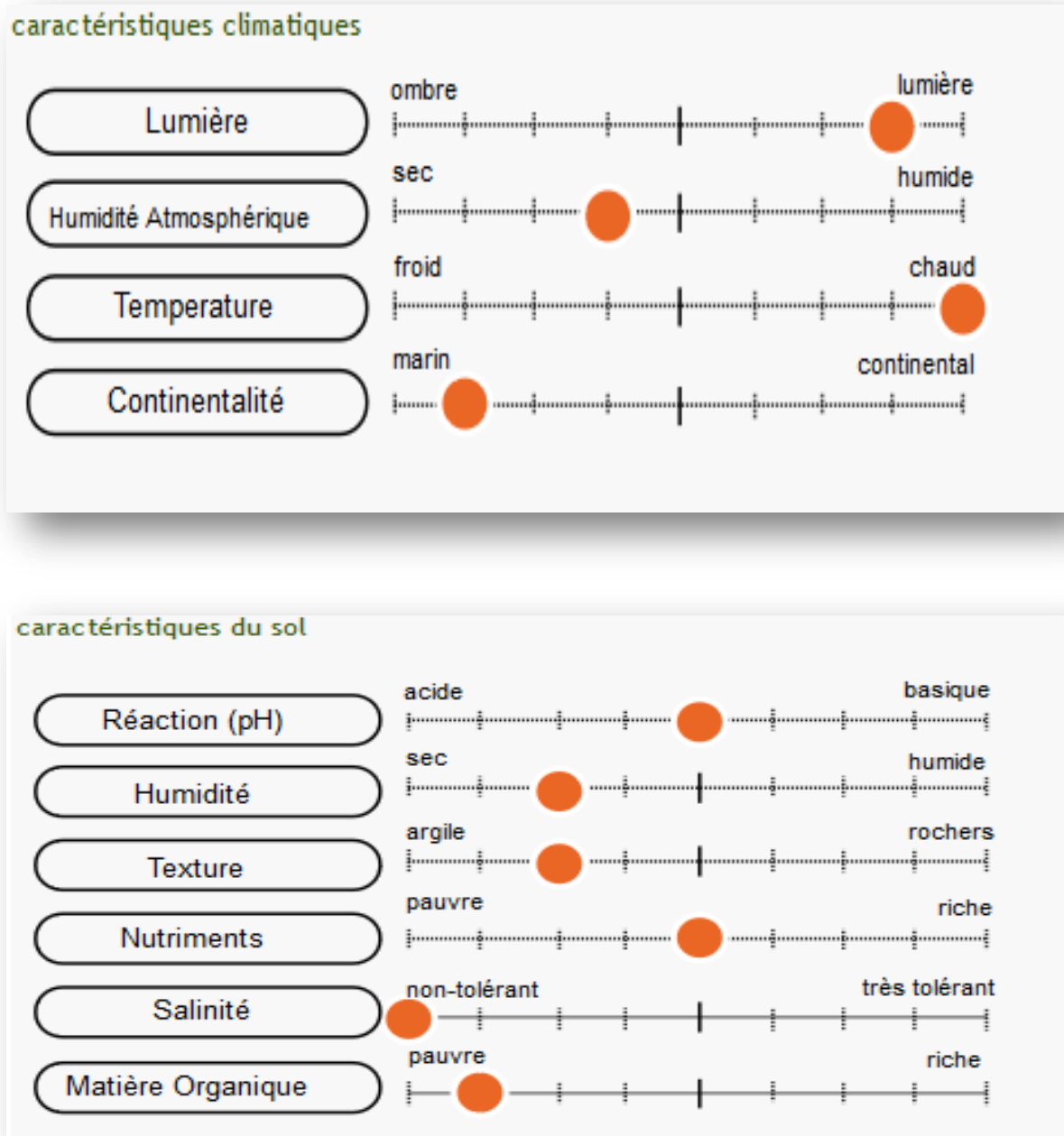


Figure 4: Les conditions de la culture de *Myrtus communis* L.
(Julve. Ph, 1998 ; <http://www.tela-botanica.org>).

I.3.3. Position systématique

Tableau 2 : Classification systématique de *Myrtus Communis* L.
(Quezel. P et Santa. S 1963).

Règne	Plantae
Sous-règne	Eucaryotes
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Myrtus
Espèce	<i>Myrtus Communis</i> L.

Nom vernaculaire : Rayhan, Mersin, A'as. ,Halmouche .

Français : Herbe de lagui, Myrte commun

Anglais: common myrtle, Greek myrtle, myrtle, sweet myrtle.

Espagnol: arrayán, mirto, murta, murt.

I.3.4. Classification phylogénétique

Nous allons nous référer à la classification **APG**, qui est une classification botanique des Angiospermes (**Angiosperm Phylogeny web site**) elle est basée sur des études moléculaires.

Des séquences de fragments d'ADN sont comparées permettant de mettre en évidence des parentés génétiques. La plus récente des classifications établies par le groupe *Angiosperms Phylogeny Group* est la classification APG III datant de 2009, Cette récente classification est basée sur deux gènes chloroplastiques et un gène nucléaire de ribosome. (**APG III, 2009**).

Tableau 3 : classification phylogénétique de *Myrtus Communis* L. (APG III, 2009).

Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Clade	Dicotylédones vraies
Clade	Eudicotylédones supérieurs
Clade	Rosidées
Clade	Eurosidées II ou Malvidées
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtacées
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>Myrtus communis</i> L

I.3.5. Utilisation

Le Myrte est utilisé pour lutter contre les bronchites et les dilatations bronchiques, les catarrhes muco-purulentes des voies respiratoires et urinaires, la tuberculose pulmonaire, la rhinorrhées, la sinusite, les otites, les diarrhées, les prostatites, et les hémorroïdes. Elle est connue également par leur effet hypoglycémique. (Mimica-Dukic. N et al, 2010; Baba Aissa. F, 1999).

I.3.5.1. Utilisation traditionnelle

En Algérie, les fruits sont soit consommés naturellement soit préparées sous forme d'infusion contre les diarrhées et comme hypoglycémiant. Ils constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies. (Beloued. A, 2003).

Dans la région de M'Sila, Boudjelal. A et al (2013) interrogent 83 herboristes. 19% d'entre-eux déclarent utiliser *Myrtus communis* comme traitement de l'hypertension et du diabète. Pour cela, ils utilisent les parties aériennes sous forme d'infusion ou de décoction.

En Tunisie (Boukef. M. K, 1986) où le myrte est utilisé dans le Nord du pays, les fruits sont recommandés à l'état frais ou sous forme de décoction pour soulager l'ulcère et les douleurs gastriques. Il est aussi préconisé sous cette forme en gargarisme pour traiter les gingivites.

Au Maroc (Bellakhdar. J, 1997) le fruit est mâché contre les gingivites et les aphtes, Il est utilisé aussi pour traiter le diabète.

I.3.5.2. Utilisation médicinale

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

I.3.5.3. Utilisation industrielle

Les baies du myrte sont utilisées comme essences aromatiques dans la cuisine, mais leur utilisation la plus importante est la production de liqueurs. **(Mulas. M et al, 2002)**. Ces fruits sont aussi utilisés pour faire d'excellentes confitures, gelées comme c'est le cas en Sicile (Italie) et Corse (France). **(Couplan. F, 2009 ; Sarl. T, 2007)**.

Au cours de ces dernières décennies, les systèmes intensifs de la culture du myrte ont été établis dans diverses régions du monde et particulièrement en Sardaigne (Italie), afin d'assurer à la fois un approvisionnement constant de matériel de bons fruits pour l'industrie de liqueur et la préservation des populations de myrte naturelles. **(Mulas. M et al, 2002)**.

De nos jours, le myrte est devenu un produit qui pourrait être qualifié d'identitaire. Il va permettre dans différents domaines, que ce soit l'alimentation ou la cosmétique, de donner un caractère identitaire au produit. C'est pour ces raisons que l'on retrouve en plus de la traditionnelle liqueur de myrte, des cosmétiques à base de myrte, mais également des produits alimentaires tels que pâtés, bières, etc.... aromatisés au myrte. **(Franceschini. P, 2016)**.

I.3.6. Travaux antérieurs

Les principaux travaux relatifs à l'étude des composés phénoliques du Myrte commun L. ont été réalisées en **1967** par **El-Sissi. H.I et El-Ansary. H** et concernent l'analyse des flavonoïdes contenus dans les feuilles.

En **1987**, **Diaz. A.M et Abeger. A** analysent les composés phénoliques simples et principalement les flavonoïdes et les acides phénoliques contenus dans les feuilles du myrte.

Après extraction au méthanol, l'extrait est passé dans une colonne ouverte pour l'isolement des molécules. Les fractions ainsi récoltées sont soumises à des études chromatographiques, spectro-photométriques et spectro-fluorométriques qu'ont permis d'identifier les acides ellagique et gallique, la quercétine et la patulétine.

Les travaux de **Martin. L.P et al, (1999)** sur les composés poly-phénoliques du péricarpe du fruit du myrte indiquent une composition riche en myricétine, en hespéridine 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.

En **1999, Romani. A et al** ont étudié la composition des poly-phénols extraits au solvant (EtOH à 70%) à partir des feuilles du myrte. L'extrait est purifié puis l'analyse qualitative et quantitative se fait par CLHP-DAD et CLHP/SM.

Les principaux composés identifiés par **Romani. A et al, (1999)**, sont l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide éllagique, la (-) catéchine, la (-) épicatechine, la(-) épigallocatechine, la myricétine-3-O-galactoside, la myricétine-3-O-rhamnoside, la quercétine-3-O-galactoside et la quercétine-3-O-rhamnoside. L'analyse est réalisée à plusieurs longueurs d'ondes à savoir : 254 nm, 280 nm, 310 nm, 330 nm et 360 nm.

Récemment, en **2006a, Montoro. P et al**, ont travaillé sur la stabilité et l'activité anti-oxydante des poly-phénols extraits des baies du myrte pour la préparation des liqueurs en Sardaigne et en Italie. Ils ont dosé les flavonoïdes et les anthocyanes par CLHP-UV-VIS et l'identification par LC/SM-ESI, après macération (EtOH à 70%) pendant 40 jours. Ils ont pu identifier 14 composés, parmi lesquels 8 anthocyanes et 6 flavonoïdes.

Montoro. P et al, (2006b) utilisent différentes techniques pour l'identification (RMN et LCES/ MS) et la quantification (CLHP-UV-VIS en utilisant des standards internes) des flavonoïdes et des anthocyanes présents dans les baies du myrte. Ils sont préparés en suivant une recette typique de liqueur de Myrtle de Sardaigne, afin d'évaluer la stabilité des extraits pendant 1 Année de stockage. L'activité anti-oxydante a été mesurée en utilisant un dosage TEAC, et l'activité de balayage des radicaux libres a été surveillée au cours de l'évaluation de la stabilité. L'extrait myrte a montré une intéressante activité de balayage des radicaux libres pour les anthocyanines et les flavonoïdes. L'activité anti-oxydante a été conservée en 3 mois.

Les travaux de **Wannes. W.A et al, (2010)** sur l'analyse des composés phénoliques de Myrte par HPLC ont permis d'identifier 10 composés, parmi lesquels 4 tanins hydrolysables qui sont la oenothéin B, la eugeniflorin, la D2, tellimagrandins I et la tellimagrandins, 2 acides phénoliques, (l'acide gallique et l'acide quinique 3,5-di-O-gallate) et 4 myricétine glycosides (myricétine 3-O-b-D-xyloside, myricétine 3-O-b-D galactoside, myricétine 3-O-b-D-galactoside 6-O-gallate et myricétine 3-O-a-L-rhamnoside).

Chapitre II
Métabolites
secondaires

Introduction

Les végétaux supérieurs ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes des métabolites dits secondaires. Ces composés sont utilisés par les plantes pour diverses fonctions adaptatives notamment en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. **(Thomas. M, 2011).**

Ces métabolites sont situés dans l'un des trois classes, des polyphénols, des alcaloïdes et des terpénoïdes. De nombreuses études ultérieures ont prouvé la bioactivité de ces molécules, citant les activités antitumorale, antivirale, antimicrobienne, antioxydant, anti-inflammatoire, etc. **(Thomas. M, 2011).**

II.1. Définition des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes. **(Boudjouref. M, 2011)**; sont caractérisés généralement par de faible concentration dans les tissus végétaux (généralement quelques pourcents du carbone total, si on exclue la lignine de cette catégorie). **(Newman. D et Cragg. G, 2012).**

II.2. Biosynthèse

La production des métabolites secondaires est étroitement liée au métabolisme primaire, résultent généralement de trois voies de biosynthèse: la voie de shikimate, la voie de mévalonate et du pyruvate. **(Verpoorte. R et Alfermann. A, 2000).** La plupart des précurseurs sont issus de la glycolyse (pyruvate, phosphoénolpyruvate, acétyl-CoA), de la voie des pentoses phosphate (glycéraldéhyde-3-P, Erythrose-4-P) et du métabolisme des lipides (glycéraldéhyde-3-P et acétyl-CoA). Ces précurseurs sont à l'origine de la diversité structurale observée au niveau des métabolites secondaires. **(Mayer. A, 2004).** Du point de vue synthétique, ces métabolites secondaires peuvent aussi être subdivisés en deux catégories : ils peuvent être de type phytoanticipines ou de constitution, C'est-à-dire synthétisés par la plante de manière permanente même en absence d'un facteur de stress par opposition aux métabolites induits ou phytoalexines qui sont synthétisés uniquement en cas de stress et sont donc formés de novo. **(Litvak. M. E et Monson. R, 1998).**

II.3. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique. **(Cuendet. M, 1999).**

D'après leur biosynthèse, les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois classes:

- Polyphénols.
- Terpénoïdes.
- stéroïdes et alcaloïdes. **(Hennebelle. T et al, 2004)**

II.3.1. composés phénoliques

Le terme « *polyphénols* » est fréquemment utilisé dans le langage courant et même dans des articles scientifiques ou de vulgarisation pour désigner l'ensemble des composés phénoliques des végétaux. **(Fleuriet. A, Jay-Allemand. C, 2005)**; Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires, d'un poids moléculaire élevé. La structure de base qui les caractérise est la présence d'un ou plusieurs noyaux aromatiques auxquels sont directement liés un ou plusieurs groupement hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction (éther, ester). **(Kheffach. A, 2015).** Ce sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. **(Adrian. J et Frangne. R, 1991).**

II.3.2. Structure chimique

Les composés phénoliques (phénoloïdes) sont caractérisés par la présence dans leur structure d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. **(Halket. J, et Waterman. D 2005).**

II.3.3. Biosynthèse des polyphénols

Les polyphénols sont synthétisés par deux voies biosynthétiques de :

- ❖ l'acide shikimique (shikimate).
- ❖ l'acétate-malonate. **(Mohammedi. Z, 2013).**

II.3.4. Propriétés biologiques des poly-phénols

Les poly-phénols sont associés à de nombreux processus physiologiques interviennent dans la qualité alimentaire, impliqués lorsque la plante est soumise à des blessures Mécaniques. (Bahorun. T, 1997).

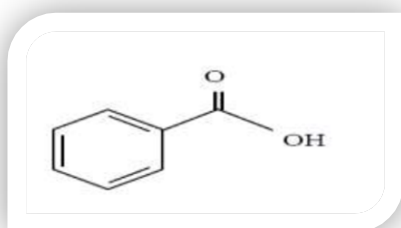
Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux. (Babar. A et al, 2007), anti-allergènes, vasodilatateurs. (Falleh. H et al, 2008) et antioxydants. (Gomez. C et al, 2006).

II.3.5. Classification des composés phénoliques

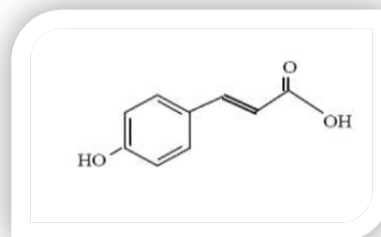
La classification de ces substances a été proposée par Harborne J. B 1980. On peut distinguer les différentes classes des polyphénols en se basant d'une part, sur le nombre d'atomes constitutifs et d'autre part, sur la structure de squelette de base, principales classes sont largement répandues. (Macheix J. J et al, 2006).

II.3.5.1. Acides phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle. Ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. (Wichtl. M et Anton. R, 2009).



Acide benzoïque



Acide cinnamique

Figure 5: Structure de base des acides benzoïques et cinnamiques.

(Bruneton. J 2009).

II.3.5.2. flavonoïdes

Selon **Ribereau. G.P,1968**, le terme flavonoïde signifie jaune en latin (*flavus* en latin), il désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. (**Seyoum. A et al, 2006**). Leur fonction principale semble être la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bêtaines). (**Bruneton. J, 1999**).

Les flavonoïdes se répartissent en fonction de la structure de molécules. En effet, plus de 6400 structures ont été identifiées. (**Harborne J. B et Williams. c.A 2000**).

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques, ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. (**Benhammou. N, 2011**).

Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est à- dire liée à des oses et autres substances. (**Heller. W et Forkmann. W ,1993**).

a. Structure des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. (**Bruneton. J, 1999**). Ont un squelette de base formé par deux cycles en C6 (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1-benzopyrane). (**Bruneton. J, 1999**). Qui peut évoluer en un hétérocycle (Cycle C) (**Figure 6**). (**Akroum. S, 2011**).

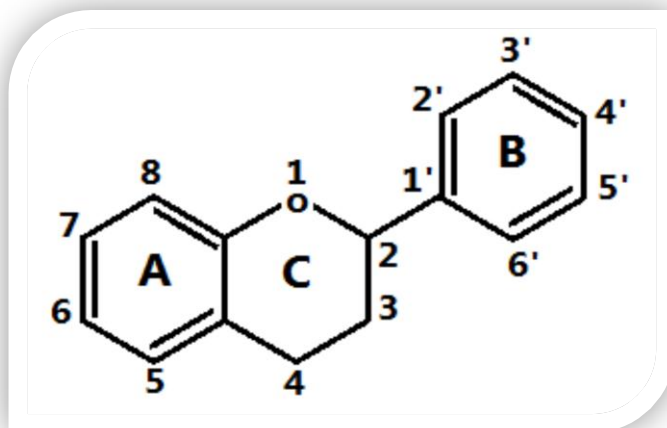


Figure 6 : Squelette de base des flavonoïdes. (**Heim. K et al, 2002**).

c. Biosynthèse des flavonoïdes

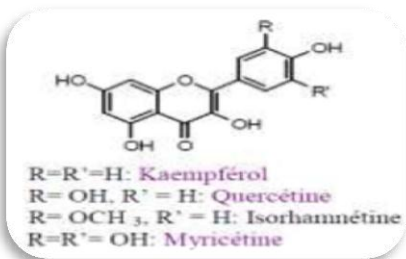
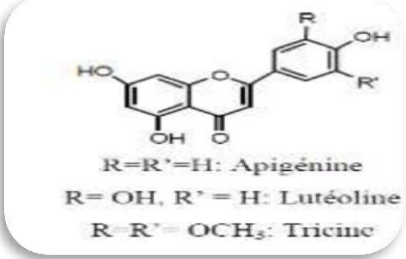
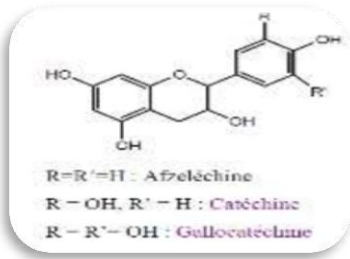

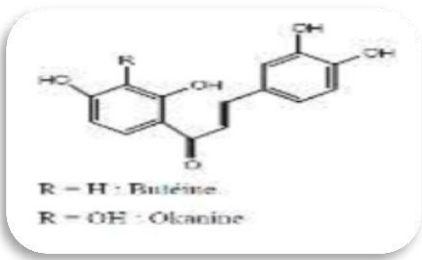
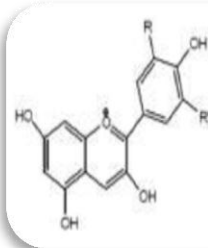
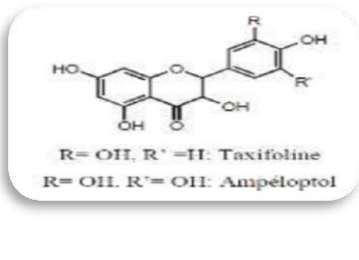
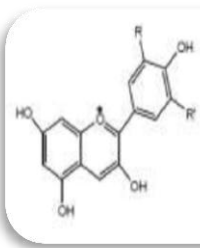
L'étape clé de la formation des flavonoïdes est la condensation de trois molécules de malonyl-CoA avec un ester du coenzyme A et d'un acide hydroxycinnamique, en règle générale le 4-coumaroyl-CoA, pour obtenir la 4, 2, 4', 6'-tetrahydroxychalcone (réaction catalysée par la chalcone synthase). Dans les conditions physiologiques normales, cette chalcone tend à s'isomériser en flavanone sous l'action de la chalcone isomérase qui induit une fermeture stéréospécifique du cycle conduisant à la seule (2S)-flavanone. Cette chalcone peut également se cycliser en aurone. **(Bruneton. J,1999).**

d. Classification des flavonoïdes

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo. **(Yao. H et al, 2004).**

Elles se divisent généralement en cinq classes : flavonols, flavones, anthocyanidines, flavonones et chalcones. **(Peterson. J, 1998).**

Tableau 4: Différentes classes de flavonoïdes. (Nkhili, E, 2009).

<p>Flavonols</p>  <p>R=R'=H: Kaempférol R=OH, R'=H: Quercétine R=OCH₃, R'=H: Isorhamnétine R=R'=OH: Myricétine</p>	<p>Flavones</p>  <p>R=R'=H: Apigénine R=OH, R'=H: Lutéoline R=R'=OCH₃: Tricin</p>
<p>Flavan-3-ols</p>  <p>R=R'=H: Afzéline R=OH, R'=H: Catéchine R=R'=OH: Gallocatéchine</p>	<p>Flavanones</p>  <p>R=H: Naringénine R=OH: Eriodictyol</p>
<p>Chalcones</p>  <p>R=H: Rutéine R=OH: Okanine</p>	<p>Aurones</p>  <p>R=R'=H: Pélagonidine R=OH, R'=H: Cynidine R=OCH₃, R'=H: Péonidine R=R'=OH: Déphinidine R=R'=OCH₃: Malvidine R=OH, R'=OCH₃: Pétonidine</p>
<p>Flavanonols</p>  <p>R=OH, R'=H: Taxifoline R=OH, R'=OH: Ampéloptol</p>	<p>Anthocyanes</p>  <p>R=R'=H: Pélagonidine R=OH, R'=H: Cynidine R=OCH₃, R'=H: Péonidine R=R'=OH: Déphinidine R=R'=OCH₃: Malvidine R=OH, R'=OCH₃: Pétonidine</p>

II.3.5.3. Tanins

Les tanins naturels sont des molécules poly-phénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise en 500 et 3000 Da et qui outre les réactions habituelles des phénols. (Merghem. R, 2009) ; sont très répandus dans le règne végétal, mais ils sont particulièrement abondants dans certaines familles comme les *conifères*, les *Fagacée*, les *Rosacée*. (Ghestem. A et al, 2001), Ces composés produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines. (Makkar. H, 2003; Mangan. J.L, 1988; Mcsweeney. C.S, et al, 2001). Grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques. (Khenaka. K, 2011). Elles sont localisées essentiellement dans les téguments de la graine et leur présence est étroitement corrulée a la coloration de téguments. (Merghem. R, 2009).

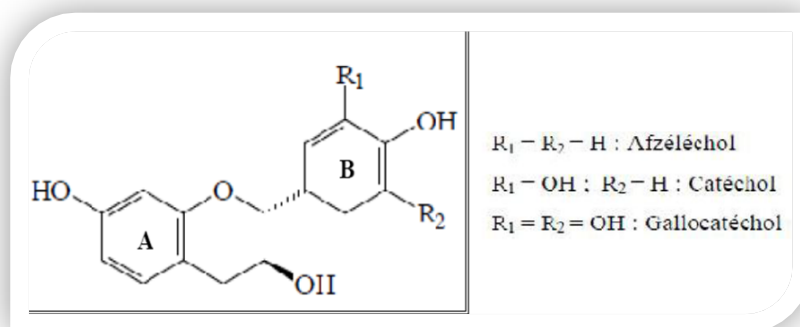


Figure 7: Structure de quelques tanins. (Kanoun. K, 2011).

a. Classification des tanins

Selon leur nature chimique ces composés sont divisés en deux classes :

- ❖ les tanins hydrolysables.
- ❖ les tanins condensés. (Cowan. M, 1999)

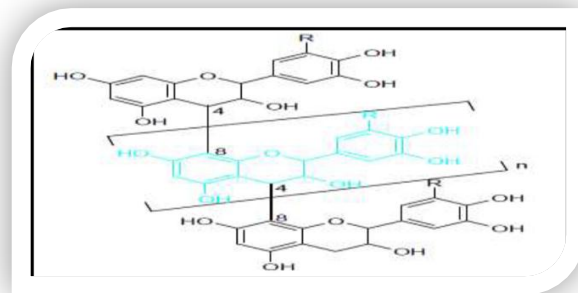
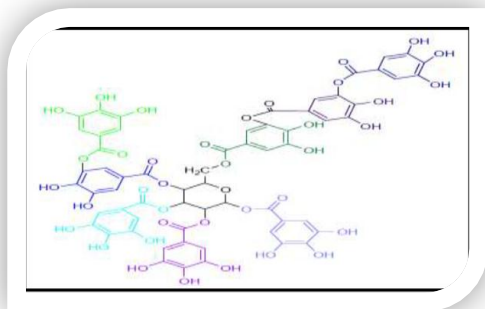


Figure 8: Structure générale des tanins Hydrolysable.

Figure 9: Structure générale des tanins Condensés

(Gilbert. B.L et Norris. D.M, 1968).

II.3.5.4. Lignins

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe. (Sarni. M.P et Cheynier. V, 2006).

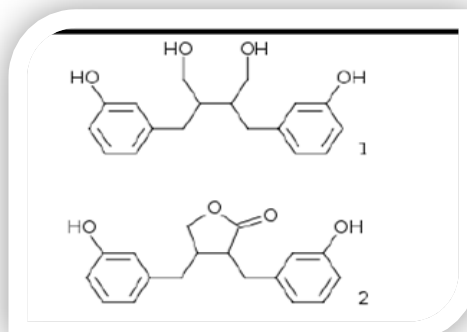


Figure 10: Structure des lignanes. (Midoun. T, 2011).

II.3.5.5. Coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève Tonka, coumarouna odorata (légumineuses) d'où la coumarine fut isolée, en 1820, elles sont largement distribuées dans le règne végétal. (Casley. S, 1993).

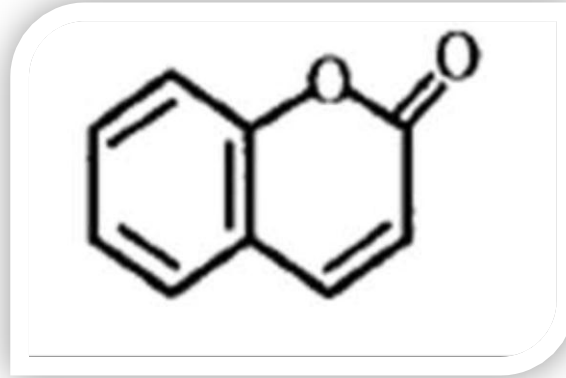


Figure 11 : Structure des coumarines. (Cowan. M.M ,1999).

II.3.5.6. Stilbènes

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, Le resvératrol et le ptérostilbène font partie de la famille des stilbènes et sont des composés synthétisés par la plante suite à un stress. (Perret. C, 2001).

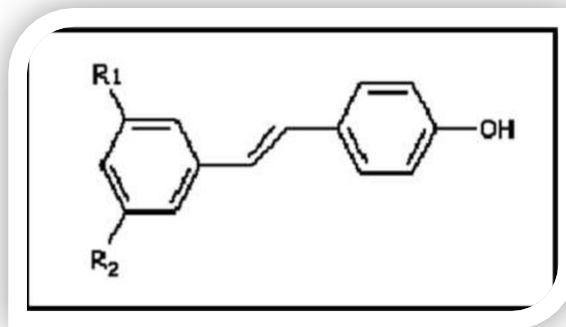


Figure 12: Structure des stilbènes (Perret. C, 2001).

II.3.5.7. Quinones

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On les trouve aussi dans les champignons, les bactéries et les organismes animaux comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. (Kansole. M.M.R, 2009).

II.3.5.8. Anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'oeil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. On trouve également les anthocyanes dans les racines, tiges, feuilles et graines. (Bassas. A et al, 2007).

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavon" généralement glucosylé en position C3. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. (Bessas. A et al, 2007).

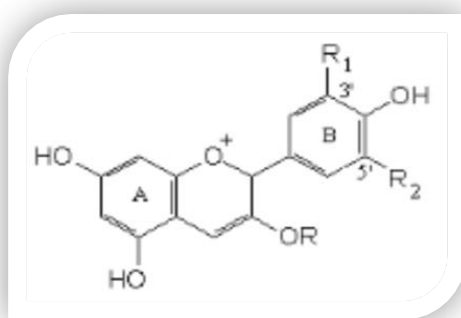


Figure 13: Structure des Anthocyanidines. (Bruneton. J, 1999)

II.3.5.9. Alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit pour la première fois par le pharmacien allemand Meissner. (Bruneton. J, 1999), les alcaloïdes représentent un groupe très vaste de métabolites secondaires avec structure, distribution et activités biologiques diverses. (Milcent. R, Chau. F, 2003) Les alcaloïdes sont des substances organiques naturelles composés de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote. (Schauenberg. P et Paris. F, 2005). La plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques. (Wichtl. M et Anton. R, 2009).

Les alcaloïdes existent rarement à l'état libre dans la plante, mais le plus souvent ils sont combinés à des acides organiques ou à des tanins. (Ziegler. J et Facchini P. J 2008).

II.4. Isoprénoides (Trapénoïdes)

Appelés aussi terpènes, constituent un vaste groupe de métabolites secondaires, sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. (Hellal. Z, 2011).

Ils répondent dans la plupart de cas à la formule générale (C₅H₈). (Seenivasan. P, 2006).

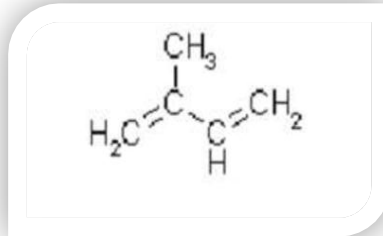


Figure 14: Structure de la molécule d'isoprène. (Calsamiglia. S et al, 2007).

a. Classification

Selon le nombre d'unités isopréniques qui les constituent (**tableau05**), on distingue :

Tableau 05: Classification des terpènes et exemples

N	Squelette carboné	Types	Exemples	Références
1	C ₁₀	Monoterpènes	Géraniol Mycènes Thymol	(Merghem. R, 2009)
2	C ₁₅	Sesquiterpènes	Farnésène Zingibrène Cadène	(Merghem. R, 2009)
3	C ₂₀	Diterpènes	Vitamine A Phytol Gibberellines	(Merghem. R, 2009)
4	C ₃₀	Triterpènes	limonine Acide aléonolique	(Merghem. R, 2009)
5	C ₄₀	Tétraterpènes	Caroténoïdes Lycopène	(Merghem. R, 2009)
6	C>40	Polyterpènes	Euphorbiacées Sapatacées	(Merghem. R, 2009)

II.5. Propriétés pharmacologiques des métabolites secondaires

II.5.1. Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques est largement montré dans la protection contre certaines maladies en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et de leurs propriétés anti-oxydante. Spécifiquement, on attribue aux flavonoïdes des propriétés variées: veinotonique, anti-tumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, anti-allergique, antispasmodique, antibactérienne, hépatoprotectrice, estrogénique et/ ou anti-estrogénique. Ils sont également connus pour moduler l'activité de plusieurs enzymes ou de récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la relaxation vasculaire et empêchent l'agglutinement des plaquettes sanguines. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide. Ils limitent l'oxydation des lipides sanguins et contribuent à la lutte contre les plaques d'athérome. Ils sont aussi anxiolytiques et protèges nos artères contre l'athérosclérose et réduit la thrombose (caillots dans les artères). (Kheffach. A, 2015). Les exemples de quelques composés phénoliques et de leurs activités biologiques sont récapitulés (tableau06)

Tableau 06: Propriétés biologiques des quelques poly phénols dans l'organisme. (Kheffach. A, 2015).

Polyphénols	Activités biologiques
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, anti-ulcéreuses, antiparasitaires antifongiques, antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires, anti-inflammatoires, anti parasitaires analgésiques et anti -oedémateuses
Flavonoïdes	Anti-tumorales, antiparasitaires, vaso-dilatatoires, antibactériennes, Anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, analgésiques, hypotenseurs, antivirales, diurétiques, ostéogène, anti-oxydantes, anti-atherogéniques, anti-thrombotique, antiallergique
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, anti-oxydant
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène, antioxydantes, antitumorales, antifongiques et anti-inflammatoires
Tannins galliques et catéchiqes	Antioxydantes
Lignanes	Anti-inflammatoires, analgésiques
Phytostérols	Agent de protection contre L'hormone dépendant du cancer de colons
Saponines	Antitumorale, anticancérigène,...

II.5.2. Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir dans certains aspects de la physiologie de la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions moléculaires avec certains microorganismes symbiotiques ou parasites...), dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV); soit directement dans la nature soit lors de la conservation après récolte de certains végétaux; dans les critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités nutritionnelles...) qui orientent les choix de l'homme dans sa consommation des organes végétaux (fruits, légumes, tubercules...) et des produits qui en dérivent par la transformation; dans les variations de certaines caractéristiques des végétaux lors des traitements technologiques (préparation des jus de fruits, des boissons fermentées...) pendant lesquels apparaissent fréquemment des brunissements enzymatiques qui modifient la qualité du produit fini. **(Kheffach. A, 2015).**

Chapitre III
Stress oxydant

III.1. Radicaux libres

III.1.1. Historique

L'oxygène, molécule indispensable à la vie, est susceptible d'entraîner des effets dommageables dans l'organisme via la formation de radicaux libres et d'espèces oxygénées activées (EOA). Ces notions ne sont toutefois pas nouvelles puisque, vers le milieu des années 50, Gerschman et Hartman avaient déjà évoqué la toxicité de l'oxygène et la «free radical theory» pour expliquer le processus de vieillissement. En 1969, les Américains McCord et Fridovich isolent à partir de globules rouges humains, un système enzymatique antioxydant, le superoxyde dismutase (SOD), capable d'éliminer l'anion superoxyde, démontrant ainsi pour la première fois, que notre organisme produit des EOA. Cette découverte a été le point de départ, dans le monde entier, de nombreuses recherches sur le stress oxydant et les antioxydants. (**Haleng. J, 2007**).

Selon **Sies. H et al, (1985)** La notion de stress oxydant dans les systèmes biologiques remonte aux années 1970 suit aux recherches sur l'activation de l'oxygène moléculaire et sur sa potentielle toxicité dans les organes des mammifères. Le concept de stress oxydant fut développé par Sies et ses collaborateurs, avec des termes synonymes tels que « stress pro-oxydant » ou « stress réducteur ».

III.1.2. Définition

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques, nommés radicaux libres organiques. (**Meziti. A, 2007**).

Selon la définition proposée par **Halliwell. B, (1996)**. Les radicaux libres sont des espèces capables d'exister indépendante, contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires.

Dans les cellules, On peut distinguer les radicaux primaires qui jouent un rôle particulier en physiologie. Les autres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule. Ces radicaux primaires dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron tel l'anion superoxyde $O^{2\cdot-}$ et le radical hydroxyle OH^{\cdot} , ou de l'azote tel le monoxyde d'azote NO^{\cdot} . (**Favier. A, 2003**).

III.1.3. Principaux types des espèces réactives d'oxygène (ERO)

Parmi les différentes classes de radicaux libres, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont les radicaux les plus abondants. Cette classe de radicaux libres regroupe des radicaux qui dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron, comme l'anion superoxyde (O_2^-), le radical hydroxyle ($OH\cdot$), le radical peroxy ($ROO\cdot$), le radical alkoxy ($RO\cdot$) et le radical perhydroxyle ($HO_2\cdot$). Le monoxyde d'azote ($NO\cdot$) et le dioxyde d'azote ($NO_2\cdot$) appartiennent à une autre classe de radicaux libres, les espèces réactives de l'azote (ERN). Les ERO et RNS peuvent être converties en espèces réactives qui ne sont pas des radicaux libres telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypobromeux ($HOBr$) et le nitroperoxyde ($ONOOH$). Il est à noter que ces molécules sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres dérivés de l'oxygène et leurs précurseurs sont appelés ERO. Parmi ces ERO, les radicaux O_2^{2-} et $OH\cdot$ sont considérés les plus réactifs. (Fang, Y.I et al, 2002; Favier, A, 2006).

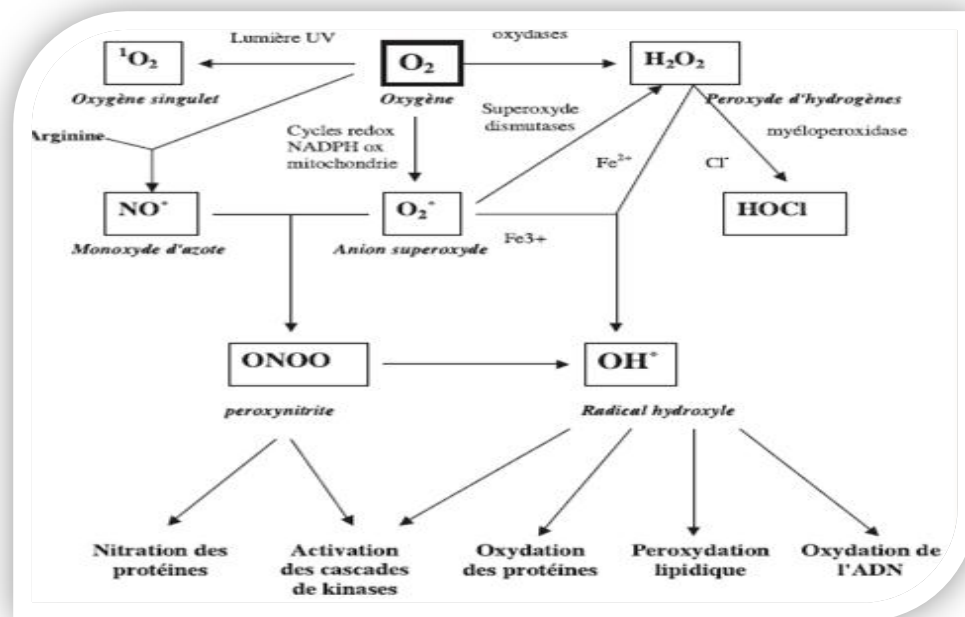


Figure 15 : Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène. (Favier, A, 2003).

III.1.4. Origines des radicaux libres

Les facteurs responsables de l'augmentation de la production de radicaux libres par l'organisme sont appelés facteurs oxydants. Ils se divisent en facteurs endogènes et exogènes.

III.1.4.1. Origines exogènes

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents extérieurs capables de donner naissance à des espèces oxygénées réactives (**Favier. A, 2003**).

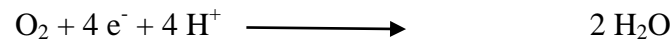
Les rayonnements UV (par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants) et les radiations ionisantes induisent la synthèse de radicaux libres dérivés de l'oxygène tels que O^{2-} , OH^{\bullet} , $1O_2$ et de molécules génératrices de radicaux libres.

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂), des toxiques présents dans notre environnement (suie, goudron, tabac, polluants industriels) sont également responsables de la synthèse de radicaux libres. Ils sont à l'origine d'une auto- oxydation des acides gras poly-insaturés (AGPI) des alvéoles pulmonaires. (**Favier. A, 2003**).

III.1.4.2. Origines endogènes

Le métabolisme cellulaire et l'inflammation sont considérés comme les principales sources endogènes de radicaux libres.

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, la plupart des radicaux libres se forment au cours de métabolisme de l'oxygène (réduction de l'oxygène moléculaire en eau) dans les mitochondries. Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons selon l'équation :



Cependant, et jusqu'à 5 % des cas, on peut assister à une réduction incomplète de l'oxygène en eau. Cette réduction incomplète aboutit à la production de l'oxygène singulet ($1O_2$) mais surtout de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$). La dismutation de $O_2^{\bullet-}$ va donner naissance au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) puis indirectement au radical hydroxyl (OH^{\bullet}). (**Pincemail. J et al, 1998 ; Valko. M et al, 2006**).

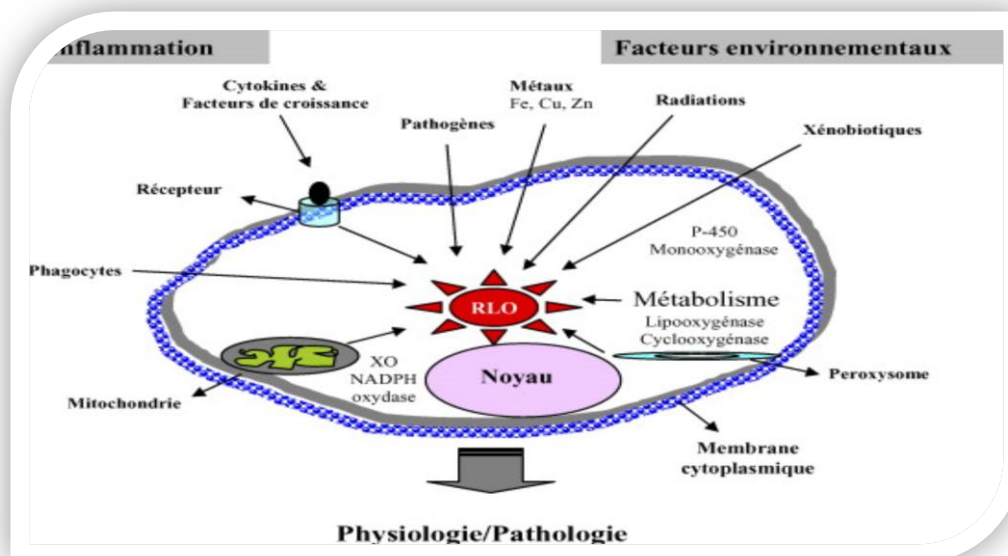


Figure 16 : Origine extra- et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène.

(Afonso. V *et al*, 2007).

III.1.5. Rôle physiologiques des radicaux libres

Le rôle des ERO est très complexe car elles peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration. Dans des conditions normales, elles sont générées en faible quantité. (Haleng. J *et al*, 2007) impliquées dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (prolifération cellulaire normale, métabolisme normal, état redox normal pour l'expression de gènes). (Defraigne. J ; Pincemail. J, 2007) et jouent un rôle dans la transduction du signal intracellulaire (Serteyn. D *et al*, 2002) et de messagers secondaires capables, notamment, de réguler le phénomène de l'apoptose ou d'activer des facteurs de transcription. (Huet. O ; Duranteau. J, 2008).

Les oxydants jouent donc un rôle important dans l'inactivation et la destruction des micro-organismes. (De moffarts. B *et al*, 2005) par la peroxydation et la déstabilisation des membranes lipidiques, par l'oxydation et l'inactivation de leurs protéines de structure, et enfin par l'oxydation de leur matériel génétique. (Kobayashi. T *et al*, 2001).

III.2. Antioxydants

Les antioxydants sont des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puissent réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur. (Hellal. Z, 2011).

III.2.1. Classification

Il existe une quantité innombrable d'antioxydants et ceux-ci peuvent être non enzymatiques ou enzymatiques. (You. H.J et al, 2003).

III.2.1.1. Antioxydants enzymatiques

a. Superoxyde dismutase (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde $O_2^{\cdot-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène.

L'activité des SOD est dépendante des apports nutritionnels en cuivre et à un moindre degré en zinc. (Goudable. J et Favier. A, 1997).

Il existe trois espèces de cette enzyme :

- Une forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD).
- Une forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD).
- Une forme extracellulaire (Ec-SOD). (Okado. M et Fridovich. I, 2001),

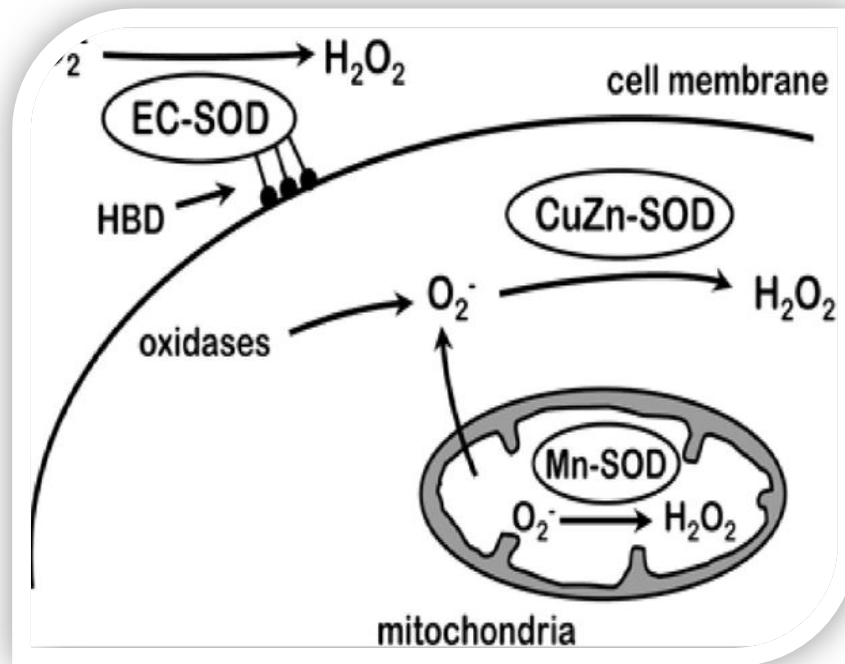


Figure 17 : Les trois types de la SOD. (Frank. M et al, 2004).

b. Catalase

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissus mais sont particulièrement abondantes dans le foie et les globules rouges. Elles sont considérées comme les plus efficaces parmi les enzymes connus. Elles sont tétramériques, chaque unité portant une molécule d'hème et une molécule de NADPH, Elles catabolisent les peroxydes d'hydrogènes en molécules d'eau pour prévenir la formation de radicaux hydroxyles. (Matés. J.M et al, 1999).

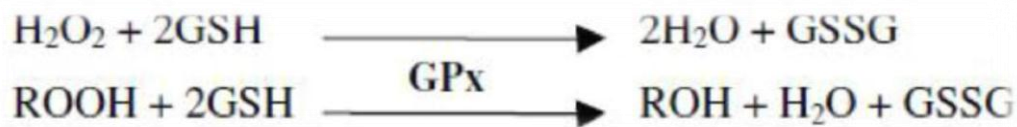
La réaction se fait en deux étapes:

- 1) $2 \text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
- 2) $\text{ROOH} + \text{AH}_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} \text{H}_2\text{O} + \text{ROH} + \text{A}$

c. Glutathion peroxydase à sélénium (GPx)

Les glutathions peroxydases et réductases sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries. Le rôle de la glutathion peroxydase (GPx) est de réduire d'une part le peroxyde d'hydrogène en molécule d'eau, et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcools. Lors de cette réaction, qui demande l'intervention de deux molécules de

glutathion (GSH), celles-ci se transforment en glutathion-disulfure (GSSG). (Marfak. A, 2003).



III.2.1.2. Antioxydants non enzymatiques

a. Vitamine C

L'acide L-ascorbique ou vitamine C est considéré comme le plus important antioxydant dans les fluides extracellulaires. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes O_2^- , du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , des radicaux hydroxyles $\text{HO}\cdot$, et de l'oxygène singlet $^1\text{O}_2$, le rôle antioxydant de la vitamine C est basé sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, avant qu'ils initient la peroxydation lipidique le produit formé étant le radical ascorbyle. La vitamine C protège ainsi les biomembranes et les lipoprotéines. (Bouldjadj. R, 2009).

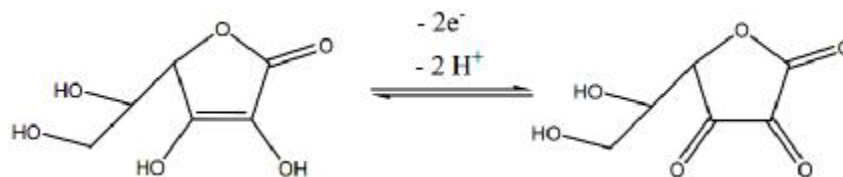


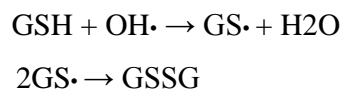
Figure 18 : Oxydation de l'acide ascorbique

b. Vitamine E

Regroupée la famille des tocophérols (α , β , δ , γ). Le caractère hydrophobe de la vitamine E lui permet de s'insérer au sein des acides gras de la membrane cellulaire et des lipoprotéines, où elle joue un rôle protecteur en empêchant la propagation de la peroxydation lipidique induite par un stress oxydant. Seuls α et δ tocophérols possèdent les propriétés antioxydants les plus intéressantes Il agit aussi par au moins deux mécanismes différents : directement piège ROS et régleme antioxydant enzymes telles sont GPX, CAT de foie, SOD, GST, GR et activités quinone réductase (DT-diaphorase). (Vertuani. S et al, 2004).

c. Glutathion

Le glutathion est un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine). (**LI et al, 2005**), joue un rôle important comme antioxydant endogène et dans le maintien de l'équilibre d'oxydo-réduction. En fait, le GSH participe à l'élimination du H₂O₂ et des LOOH, en servant de cosubstrat à l'enzyme GSH-Px. (**Ferrari. R.C et al, 1991**). Le GSSG formé par cette première réaction est à nouveau réduit en GSH par la GSH réductase, une enzyme qui utilise le NADPH comme cofacteur. Le GSH peut inhiber la peroxydation des lipides et s'avère efficace comme piègeur direct de certains ERO, tels les radicaux OH• et l'oxygène singulet 1O₂. (**Halliwell. B, 1996**). Il est antioxydant par son caractère nucléophile et radicalaire :

**d. Polyphénols**

Ils constituent une famille importante d'antioxydants présents dans les végétaux. (**Haleng. J, 2007**). Les polyphénols sont des antioxydants ils sont capables de piéger des radicaux libres, d'inhiber la peroxydation lipidique en réduisant les radicaux hydroxyl, superoxyde et peroxy. Ils sont aussi capables de piéger les ions métalliques, car ils ont des propriétés chélatrices. (**Delattre. J et al, 2005**).

e. Caroténoïdes

Est un élément liposoluble des caroténoïdes. (**Huy. L et al, 2008**). Les caroténoïdes sont capables de diminuer les dommages oxydatifs de l'ADN. (**Collins. A et Harrington. V, 2002**).

f. Oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydants requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la GPx de sélénium.

Cependant, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss). (**Buldak. L et al, 2014**).

III.3. Stress oxydant

Le stress oxydant est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives d'oxygène et la capacité des corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatif (**Halmi. S, 2015**).

Dans le système biologique, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libre et la destruction par le système de défense anti-oxydant donc c'est un déséquilibre de la balance anti-oxydant proantioxydant. (**Aliouat. A, Boulkelia. N, 2012**).

III.3.1. Conséquences du stress oxydant

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides. L'organisme peut aussi réagir contre ces composés anormaux par production d'anticorps, qui malheureusement peuvent aussi être des auto-anticorps créant une troisième vague d'attaque chimique. (**Favier. A, 2003**)

III.3.1.1. Oxydation des glucides

Le glucose peut s'oxyder dans conditions physiologique en présence de traces métalliques en libérant des cèto-aldéhydes, H_2O_2 et $OH\cdot$. Son oxydation entraîne la coupure de protéines et leur glycation par attachement du cèto-aldéhyde. Les protéines glyquées extraites du sérum de boeuf présentent un grand nombre de résidus tryptophanes oxydes, témoignant d'une atteinte radicalaire. (**Hunt. J et Wolf. S, 1991**).

III.3.1.2. Oxydation des protéines

L'oxydation des protéines par ROS /RNS peut produire une gamme de produits stables ainsi que réactifs tels que les hydroperoxydes de protéines qui peuvent générer des radicaux supplémentaires en particulier lors de l'interaction avec des ions de métaux de transition. Bien que la plupart des protéines oxydées qui sont fonctionnellement inactifs soient rapidement retirés, certains peuvent progressivement s'accumuler avec le temps et de contribuer ainsi aux dommages liés au vieillissement ainsi que diverses maladies. (**Devasagayam. T.P et al, 2004**).

III.3.1.3. Oxydation de l'ADN

Les dommages oxydatifs à l'ADN peut être le plus dangereux pour la cellule car il affecte le cycle cellulaire et conduit à des mutations et le cancer. L'oxydation de la guanine par le radical hydroxyle(OH●) à 8-hydroxy-2-désoxyguanosine (8-OHdG), qui a finalement conduit à GC → TA transversions lors de la réplication de l'ADN suite. Altération de l'ADN a été suggérée d'être responsable en partie dans les processus de vieillissement, le diabète sucré, les maladies inflammatoires et les maladies du foie. (Floyd. R.D, 1990)

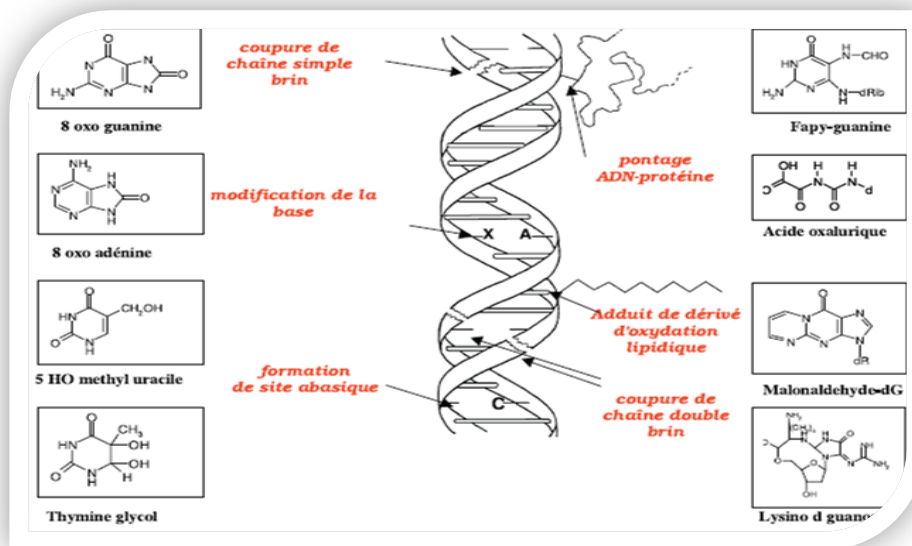


Figure 19 : Lésions de l'ADN formées par attaque radicalaire du patrimoine génétique des cellules. (Favier. A, 2003).

III.3.1.4. Oxydation des lipides

Les lipides et précisément leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par les EOR, réaction appelée peroxydation lipidique. Ses conséquences seront différentes:

- L'attaque des lipides circulants aboutit à la formation des LDL oxydées, qui captées par des macrophages forment le dépôt lipidique de la plaque d'athérome des maladies cardiovasculaires (Durand. J et Beaudoux. J.L, 2011).
- L'attaque des phospholipides membranaires entraîne la perte d'acides gras polyinsaturés, modifie la fluidité de la membrane et donc le fonctionnement de

nombreux récepteurs et transporteurs et la transduction des signaux. (Favier. A, 2003).

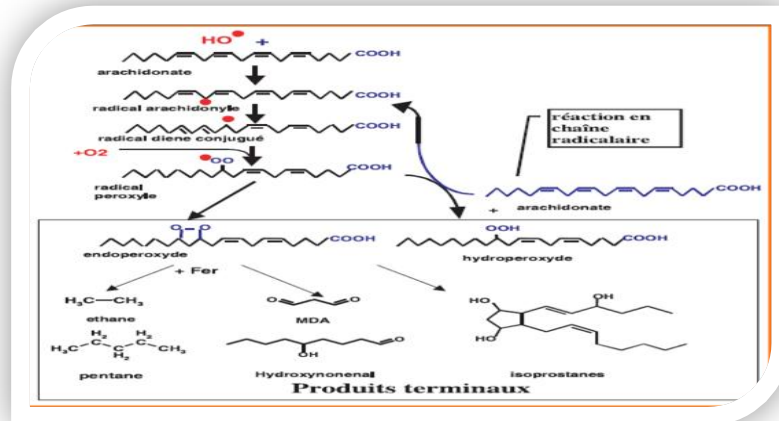


Figure 20 : Mécanisme en chaîne de la peroxydation des acides gras poly-insaturés et nature des produits terminaux formés. (Favier. A, 2003).

III.3.2. Marqueurs biologiques du stress oxydant

Ces différentes altérations biochimiques peuvent être utilisées pour évaluer le stress oxydant. (Slater. T, 1984).

Tableau 07 : Marqueurs biologiques du stress oxydant. (Collard, J, 2014)

Marqueurs biologiques		Explication
Au niveau des LIPIDES	MDA	Bon marqueur de la peroxydation lipidique. Seulement MDA n'est pas produit par l'acide Linoléique et ne représente que 1% des produits de décomposition des peroxydes lipidiques.
Au niveau des LIPOPROTEINES	LDL oxydés	Les LDL sont les composants sanguins les plus sensibles au stress oxydatif. Les Oméga 6 s'oxydent plus facilement que les Oméga 3. Normalement les PUFAS des LDL sont protégés contre les radicaux libres par différents antioxydants endogènes mais dès que ces antioxydants sont utilisés, la peroxydation lipidique commence.
	Ac anti LDL oxydées	Les LDL oxydés sont athérogènes et immunogéniques. Après la phase de décomposition des LDL oxydés, des auto-anticorps sont produits. Ces auto-anticorps sont le résultat d'une exposition à long terme d'un individu au stress oxydatif.
au niveau de l'ADN	8 OH-2'-deoxyguanosine	Des taux urinaires augmentés reflètent un stress oxydatif au niveau de l'ADN. L'oxydation de l'ADN aboutit à la formation de fragments 8-OH-2'-deoxyguanosine (8-OH2DG). Ces derniers sont éliminés par les enzymes de réparation de l'ADN mais si ces systèmes sont défectueux ou dépassés, la 8 OH-2' deoxyguanosine s'accumulera au sein de l'ADN pouvant causer des mutations.
au niveau des NEUTROPHILES	MPO	Une élévation de la myeloperoxydase (MPO) est le reflet d'une intense activation leucocytaire et par conséquent la preuve indirecte que des EOA ont été produits dans des situations pathologiques La MPO est un facteur prédictif de risque cardiovasculaire.

Partie II

Etude

expérimentale

Chapitre I

*Matériel et
Méthodes*

Matériel et Méthodes

Notre travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire de Biochimie. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie.

I.1. Matériel végétal

I.1.2. lieu de la récolte

L'espèce *Myrtus communis* L. a été récoltée en février 2017, du Nord-est Algérien dans la willaya de Jijel plus exacte de laaraba, (**Figuer21**).

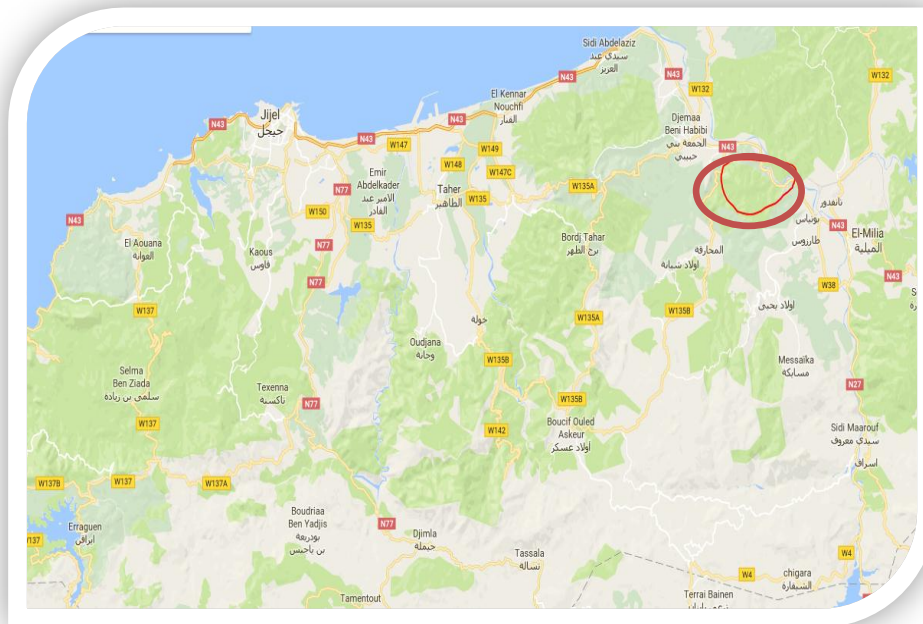


Figure 21 : lieu de la récolte de *Myrtus communis* L.

I.2. Souches bactériennes testées

Pour l'activité antibactérienne quatre souches cible de collection : *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P), *pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) et une de nature clinique *Bacillus* sp ; ont été apportées du laboratoire du Centre hôpital-universitaire (CHU) Benbadis de CONSTANTINE.

Ce sont des espèces Gram négatif et Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme et dont la plupart sont résistantes aux antibiotiques. Elles sont revivifiées à 37 °C par repiquage sur gélose Muller- Hinton (MH).

I.2.1. Milieu de culture

On a utilisé la gélose nutritive Muller Hinton (**Figure 22**) pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes à différentes concentrations d'extraits méthanoliques.



Figure 22 : Milieu de culture (gélose Muller Hinton). **(Photo originale)**

I.3. Méthodes

Les tiges et les feuilles de *Myrtus Communis* L. Ont été séchées à l'ombre, découpées en petits morceaux, puis broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à l'obtention d'une poudre moins fine pour la préparation des 2 extraits.

I.3.1. Préparation des extraits

Les deux extraits Ether de pétrole et méthanolique (**tiges, feuilles**) en référant à la méthode de macération permet d'effectuer une extraction solide-liquide.

I.3.1.1. Préparation de l'extrait de l'éther de pétrole

L'extrait d'éther de pétrole a été obtenu macération. Le broyat obtenu (200 g) pour la poudre des feuilles et (100g) pour la poudre des tiges est mis en macération dans l'éther de pétrole pendant 24 heures à température ambiante.

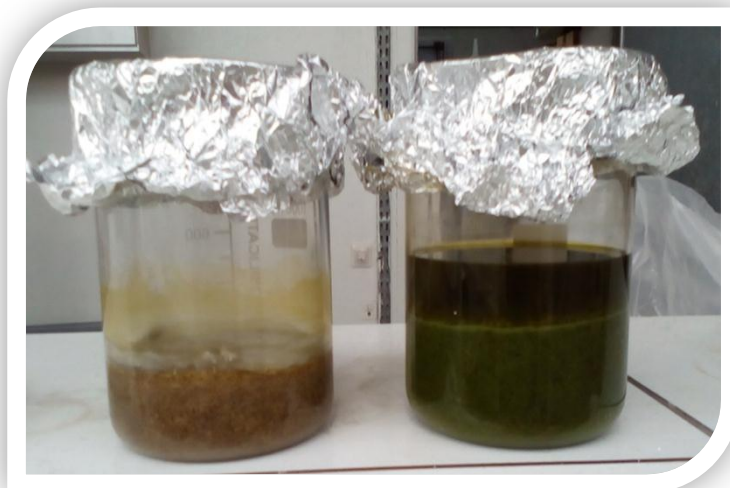


Figure 23 : Macération dans l'éther de pétrole. (Photo originale)

Le surnageant obtenu est filtré sous vide à l'aide d'un Büchner sur un papier filtre et on obtient le filtrat.



Figure 24 : Filtration de macérât sous vide. (Photo originale)

Les extraits ainsi obtenus sont évaporés à sec à l'aide de rota-vapeur (Buchi.R-210) dans une température de 40°C, l'extrait récupéré sous forme d'une pâte dans une boîte de pétri.

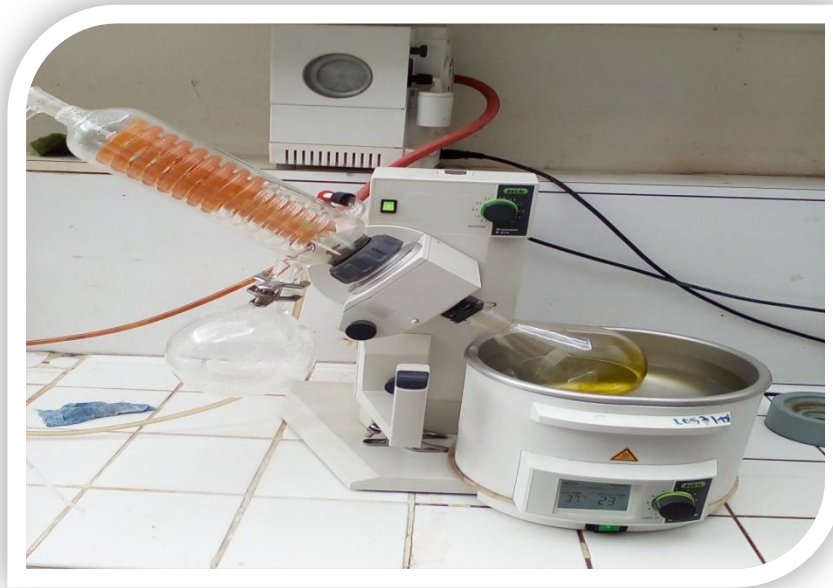


Figure 25 : Évaporation du Filtrat. (Photo originale)

Cette étape utilisée pour éliminer la chlorophylle pendant la préparation de l'extrait hydro-alcoolique.

I.3.1.2. Préparation de l'extrait hydro-alcoolique

La matière végétale (tiges et feuilles) a été mise à macérer dans le système solvant suivant : 7 volumes de méthanol + 3 volumes de l'eau distillée. Après une macération de 24 heures à température ambiante, Le mélange est filtré sous vide.

L'opération est répétée deux fois avec renouvellement de système solvant toute les 24 heures. Les deux fractions filtrées sont regroupées et évaporées à l'aide de rota-vapeur dans une température de 40°C.

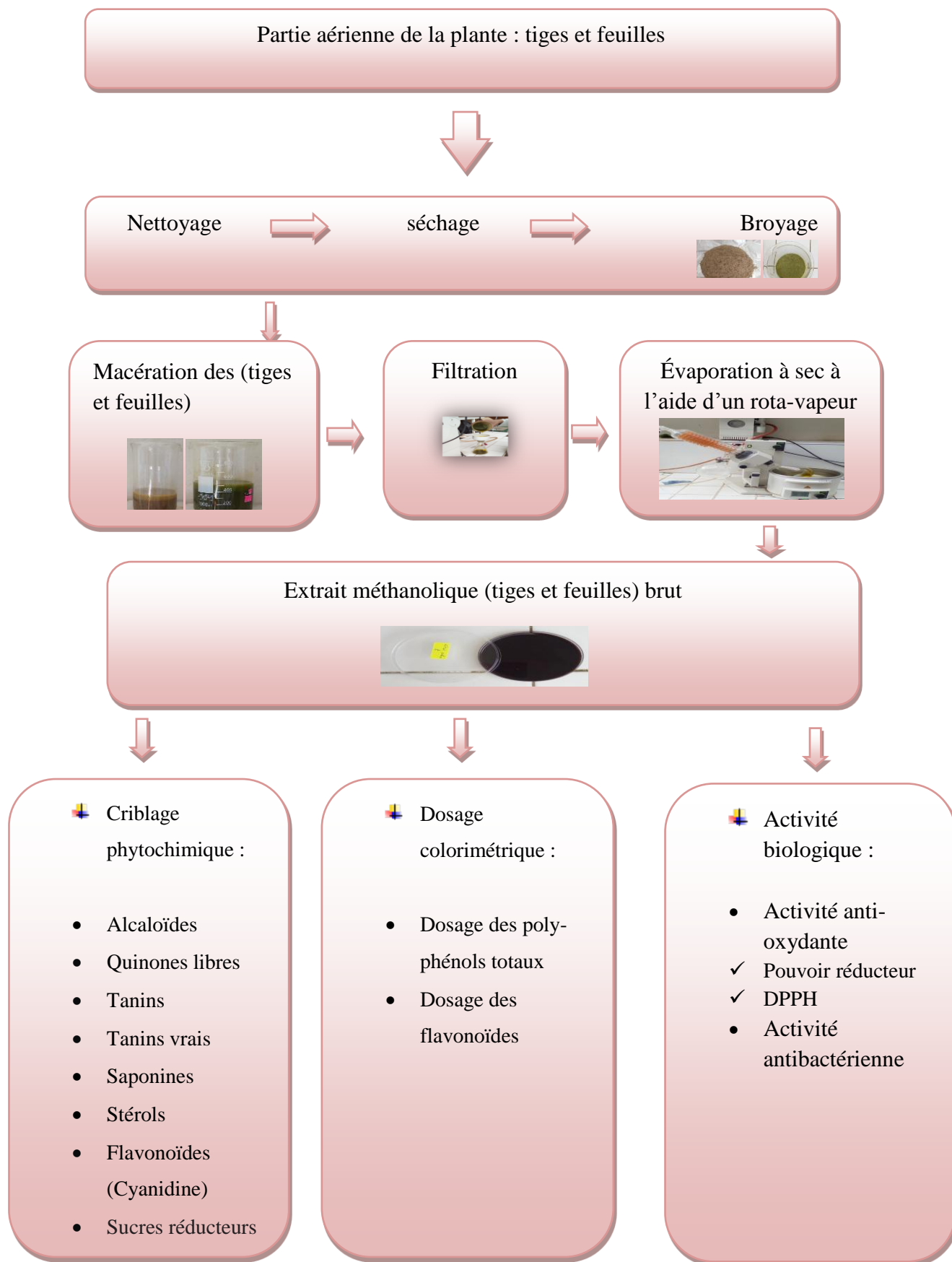


Figure 26 : Protocole d'étude expérimentale

I.3.2. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique 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. J, 1999).**

I.3.2.1. Quinones libres

Un gramme de matériel végétal sec est broyé et placé dans un tube sec avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 h, les extraits sont filtrés et concentrés au rota-vapor. La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet. **(Dohou. N et al, 2003).**

I.3.2.2. 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 catéchiqes. **(Dohou. N et al, 2003).**

I.3.2.3. Tanins vrais

Un aliquote d'extrait repris dans 2ml d'eau distillée, 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. A et al, 2007).**

I.3.2.4. Alcaloïdes

Test fondé sur la capacité qu'ont les 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 ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer, témoigne de la présence d'alcaloïdes. **(Dohou. N et al, 2003).**

I.3.2.5. 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 triturat. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive. (**koffi. N et al, 2009**).

I.3.2.6. 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. A et al, 2007**).

I.3.2.7. 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. N et al, 2011**).

I.3.2.8. 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. A et al, 2007**).

I.3.3. Dosage colorimétrique (spectrophotométrique)

I.3.3.1. Dosage des poly-phénols totaux

Le dosage des poly-phénols totaux a été effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu (Mahmoudi. S et al, 2013). Le réactif, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde 760nm.

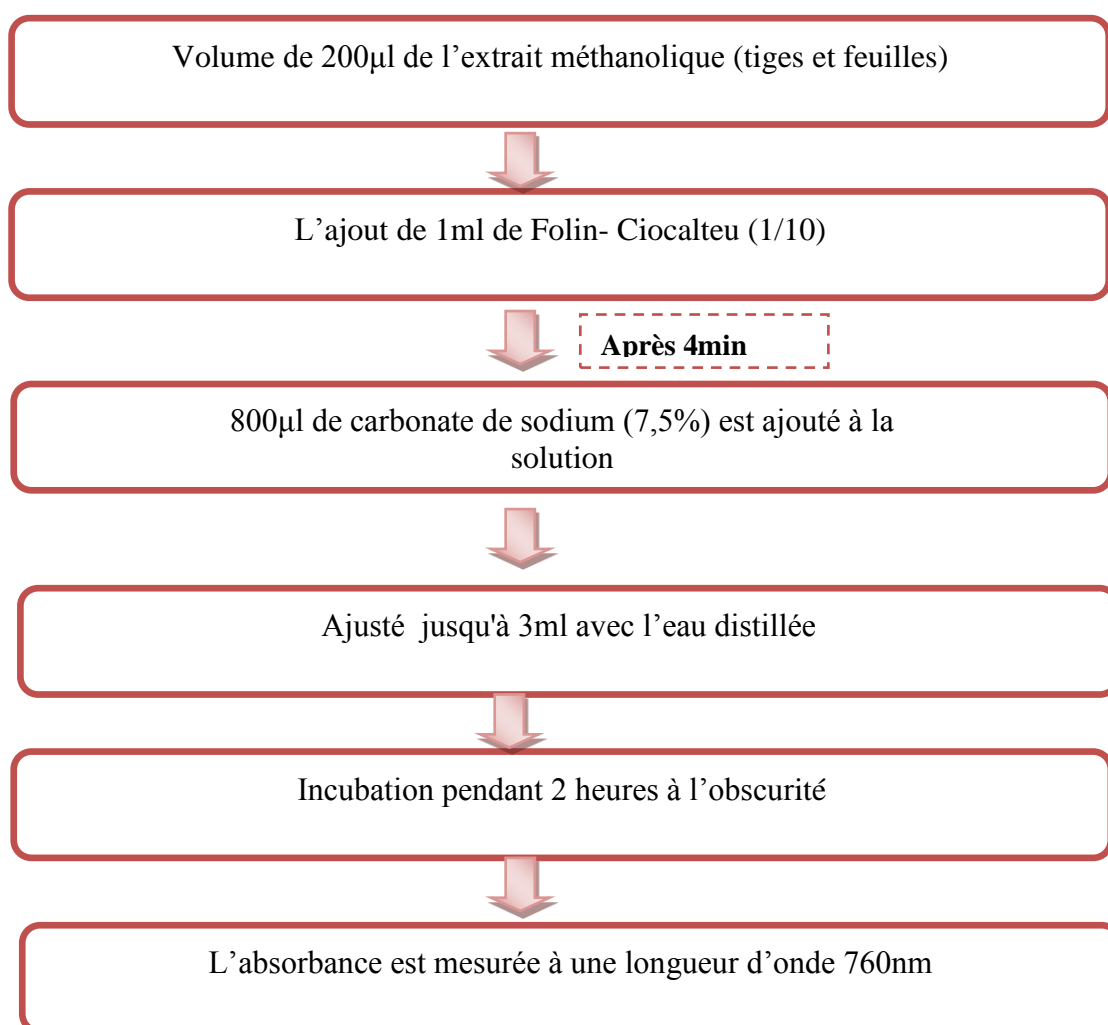


Figure 27 : Dosage des polyphénols

I.3.3.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes totaux a été effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3), le dosage consiste à prendre un volume de 1ml d'extrait méthanolique avec 1ml d' AlCl_3 (2%), après incubation pendant 10mn à l'obscurité à 37°C, l'absorbance est mesurée à une longueur d'onde 430nm.

Les concentrations des flavonoïdes de l'échantillon sont déterminées à partir une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-1 $\mu\text{g}/\text{ml}$). (Mahmoudi. S et al, 2013).

I.3.4. Evaluation de l'activité biologique in-vitro

I.3.4.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante par le radical libre diphényle-picryl-hydrazyle (DPPH)

Le composé chimique 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité anti-oxydante 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. DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. (Cristina. P et al, 2010). En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2.2 diphenyl 1 picryl hydrazyl de couleur violette se réduit en 2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (Figure 30). (Matkowski. A et al ,2008)

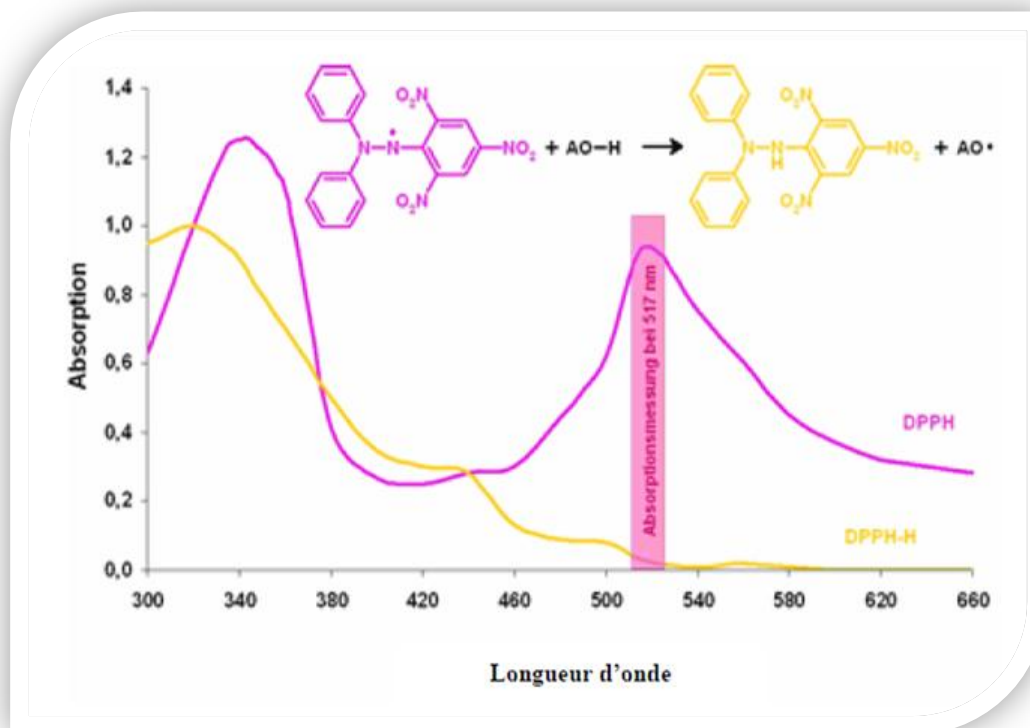


Figure 28 : Schéma de transformation du DPPH de sa forme active à celle inactive (Matkowski.A et al ,2008)

Les concentrations des échantillons et de l'acide ascorbique dans le milieu réactionnel sont comprises de 0 à 1mg/ml.

25 μ l de l'extrait méthanolique (tiges et feuilles) sont mélangés à 2 ml d'une solution de DPPH fraîchement préparée

Incubation à l'obscurité pendant **30min**

L'absorbance de chaque tube est mesurée à une longueur d'onde **517nm**

Figure 29 : Protocole de l'activité anti-oxydante

La capacité de piégeage du radical libre est ensuite calculée à travers le pourcentage d'inhibition en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{d'extrait}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

- A_{control} : absorbance du contrôle
- $A_{\text{d'extrait}}$: absorbance du test effectué

La valeur IC50 (inhibition concentration 50) présente la concentration d'inhibition nécessaire pour balayer 50% des radicaux libres.

Appelée également EC50 (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Les IC50 sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (Torres. R et al, 2006).

I.3.4.2. Pouvoir réducteur

La méthode est basée sur la réaction de réduction de Fe^{3+} présente dans le complexe ferrocyanure de potassium en Fe^{2+} .

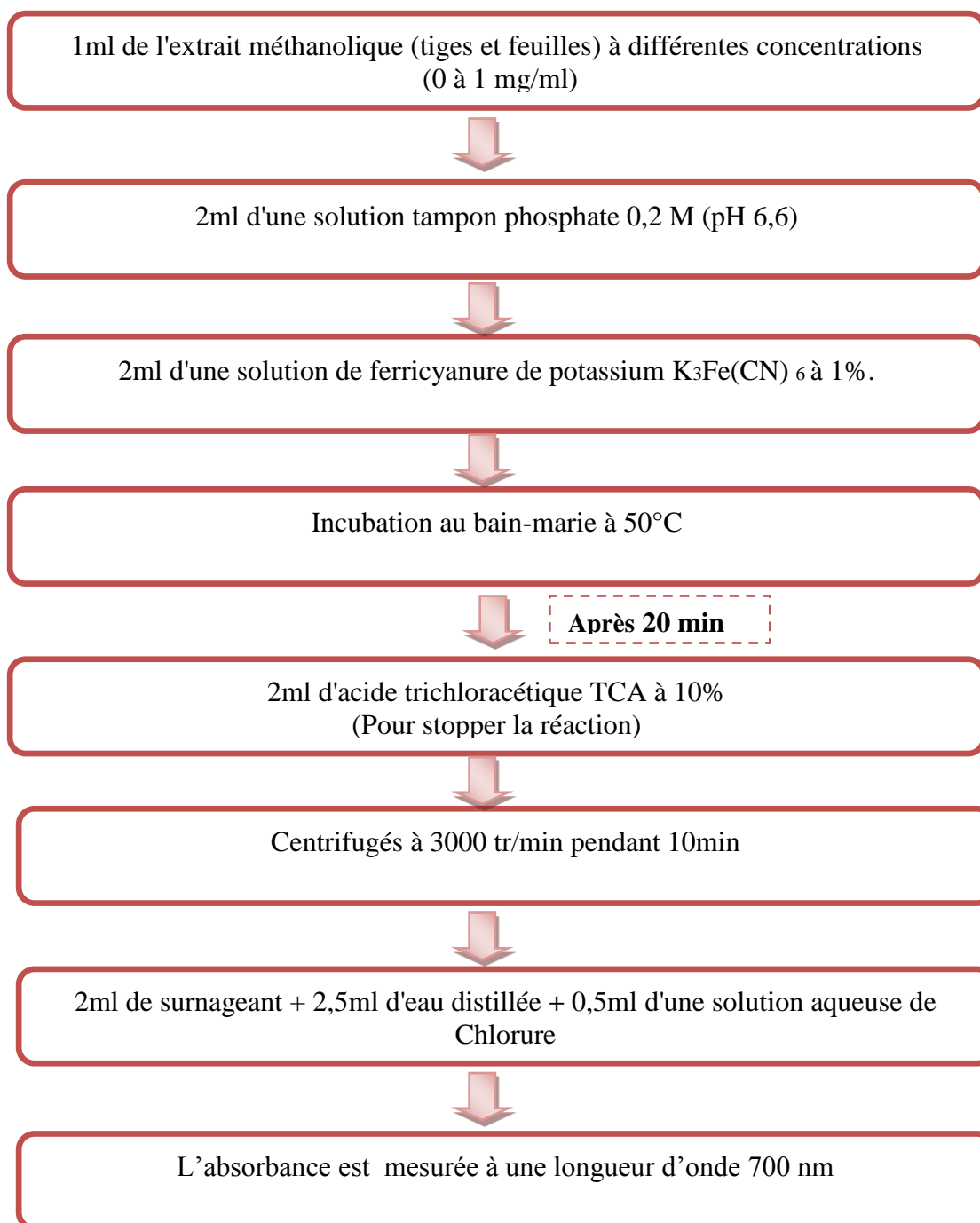


Figure 30 : Protocole du Pouvoir réducteur.

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.

I.3.4.3. Evaluation de l'activité antibactérienne**➤ Méthode de diffusion (Antibiogramme)**

L'activité antibactérienne des différents extraits végétaux est évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé telle que décrite par **Bauer. A.W et al. (1966)** et reprise par **Barry. A.L et al, (1985)**.

A partir de colonies jeunes de 18 à 24 h, une suspension bactérienne est réalisée dans l'eau distillée stérile pour chaque souche. La turbidité de cette suspension est ajustée à 0,5 Mc Farland puis diluée au 1/100. On obtient alors un inoculum estimé à 10⁶ unités formant colonie par millilitre (ufc/ml). Cet inoculum estensemencé par inondation sur des boites de Pétri contenant la gélose Muller-

Les disques imprégnés des différents extraits et fractions sont ensuite délicatement déposés à la surface de la gélose

Les boites de Pétri sont d'abord laissées pendant 1h à la température ambiante pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 h. (**Adesokan A. A, et al, 2007**). L'activité antibactérienne est déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque. (**Doughari. J.H et al, 2007**).

➤ Les souches bactériennes

On a choisi quatre souches pour l'évaluation de l'activité antibactérienne parmi les quelles deux sont Gram positive et deux Gram négative qui sont présenté dans le tableau suivant :

Tableau 08 : Souches bactériennes

Souches	Gram
<i>Bacillus Sp</i> (de nature clinique)	Positive
<i>Staphiloccoccus aureus</i> (ATCC 6538P)	
<i>pseudomonas aerugenosa</i> (ATCC 9027)	Négatif
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 8739)	

ATCC : American type culture collection

➤ **Milieu de culture**

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton (gélose nutritive) qui est fondu et refroidi à 45°C, coulé en boîte de pétri à une épaisseur de 0.4mm, et on le laisse solidifier durant 15 à 20 min.



Figure 31 : Préparation du milieu de culture (**Photos originaux**)

➤ **Stérilisation du matériel**

Les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques de 6 mm de diamètre sont préparés à l'aide de papier filtre et les pinces (enrobés dans du papier aluminium) ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

➤ **Préparation des dilutions d'extraits**

Les extraits méthanoliques de la plante *Myrtus Communis* L. (tiges, feuilles) sont solubilisés dans le DMSO pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives.

➤ **Préparation de l'inoculum**

Les souches bactériennes ont mis en culture dans un bouillant nutritif et incubées à 37°C pendant 48h.

➤ **Ensemencement et dépôt des disques**

1ml de chaque suspension de culture bactérienne est étalé à la surface du gélose avec un râteau



Figure 32 : Ensemencement des souches bactériennes (**Photos originaux**)

Les disques sont ensuite imprégnés des extraits méthanolique (tiges et feuilles) et délicatement placés dans les boites sur la gélose préalablement ensemencée à l'aide d'une pince stérile. Les boites de Pétri sont d'abord laissées pendant 1h à la température ambiante pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 24 h. (**Adesokan. A.A et al, 2007**).

Afin de se confirmer l'efficacité de notre extrait un antibiogramme réalisés avec les témoins négatif (Acide ascorbique, Acide gallique et quercétine) et de témoin positif (DMSO), ont aussi été déposés sur la surface de la gélose inoculée.

➤ **Lecture des antibiogrammes**

La lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibitions (mm). Les zones doivent être uniformément circulaires. (**Espinel-Ingroff. A, 2007**).

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits. (**Ponce. A.G et al, 2003**)

- ✓ Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm
- ✓ Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- ✓ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm
- ✓ Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm

Chapitre III

Résultats

et discussion



II.1. Screening phytochimique

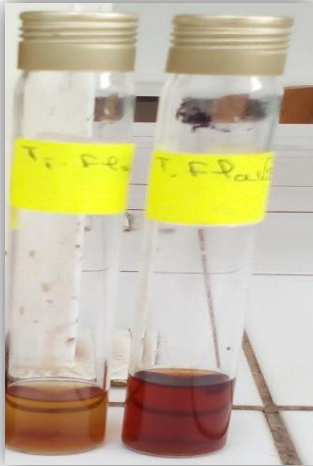
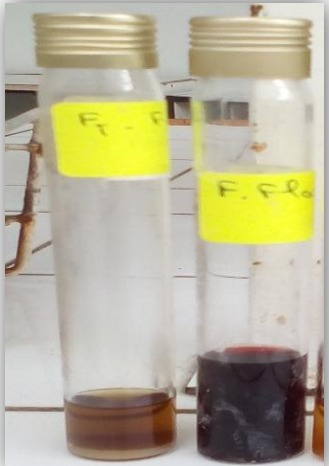




Les tests phyto-chimiques ont été réalisés sur l'extrait méthanolique de différentes parties (tiges et feuilles) de la plante *Myrtus communis* L.






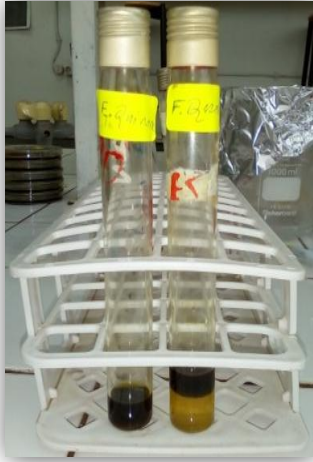
Le Screening phyto-chimique consiste à détecter des métabolites secondaires dans notre extrait par des réactions qualitatives. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

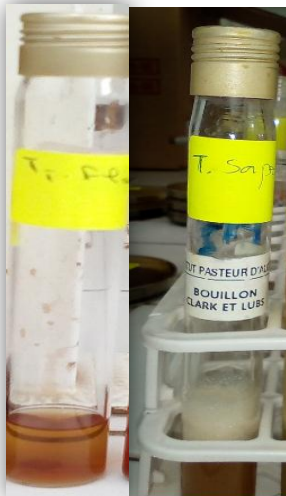

Les résultats sont mentionnés dans le **tableau 09**.

Tableau 09: Résultats des réactions de caractérisation des principaux métabolites secondaires contenus dans l'extrait méthanolique de *Myrtus communis* L.

Famille chimique	Tiges		Feuilles	
	Photo	Présence / absence	Photo	Présence / absence
Alcaloïdes (test de mayer)		-		-

<p>Flavonoïdes</p>		<p>++</p>		<p>+++</p>
<p>Tanins</p>		<p>++</p>		<p>+++</p>
<p>Tanins vrais</p>		<p>-</p>		<p>-</p>

<p>Stérols</p>		<p>++</p>		<p>+++</p>
<p>Sucres réducteurs</p>		<p>++</p>		<p>+++</p>
<p>Quinones libres</p>		<p>++</p>		<p>+++</p>

Saponine		++		+++
----------	---	----	--	-----

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

Les résultats des tests de la caractérisation chimique (**tableau09**), montrent que cette plante contient :

Les flavonoïdes qui sont observés par la transformation de la couleur de solution en rouge intense en contact avec quelques copeaux de magnésium, les tanins (galliques) sont présentés avec une intensité importante. Les tests phytochimiques réalisés par (**Baytop. P et al, 1999**) ont montré également que les feuilles de *Myrtus communis* L contiennent des tanins et des flavonoïdes.

On remarque aussi la présence des quinones qui sont détectés par le changement de couleur de la phase aqueuse en jaune, les saponines sont vues par l'apparition d'une mousse plus proche à 5 cm et les stérols et poly-terpènes par un anneau rouge brun. Le test phytochimique de la détection des sucres réducteurs est confirmé par la présence d'un précipité rouge brique dans les deux extraits avec une quantité différente.

L'absence totale des alcaloïdes et tanins vrais dans les deux parties de plante (tiges et feuilles).

La richesse de ces extraits en composés chimiques actifs pourrait expliquer leurs utilisations traditionnelles.

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de *Myrtus communis L.* ont démontré la présence des flavonoïdes et des tanins (Diaz. A.M et Abeger. A, 1987; Hinou. J et al, 1988; Hyder et al, 2004) ce qui est compatible à nos résultats.

II.2. Dosage spectro-photométrique

L'analyse quantitative des extraits par des dosages spectro-photométriques, avaient pour objectif la détermination de la teneur de quelques composés phénoliques (poly-phénols totaux, flavonoïdes). Pour chaque dosage, nous avons réalisé une courbe d'étalonnage à différentes concentrations d'étalon.

II.2.1. Dosage des poly-phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des extraits méthanoliques (tiges et feuilles) de *Myrtus communis L.* a été effectué par la méthode spectro-photométrique adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les concentrations de l'extrait d'acide gallique ont été variées entre 0 à 1mg/ml permet de tracer la courbe d'étalonnage, des mesures de l'absorbance de l'extrait à longueur d'onde 760nm.

La teneur en composés phénolique des deux extraits a été déterminée par extrapolation à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique.

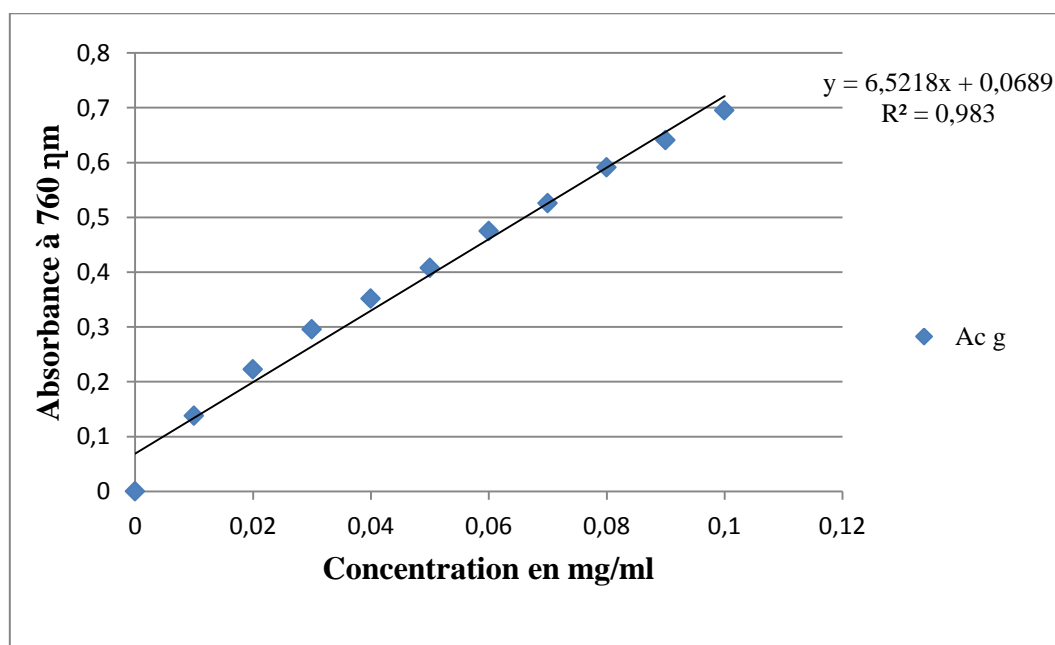


Figure 33 : Courbe d'étalonnage de l'Acide gallique.

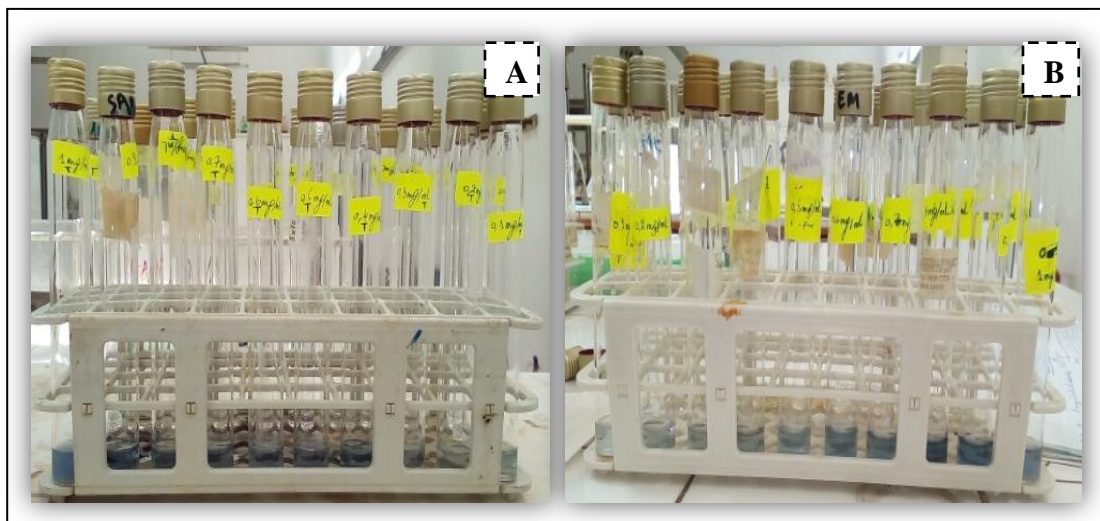


Figure 34: Résultats de dosage des poly-phénols des extraits méthanolique de la plante à différentes concentrations : **A:** tiges. **B:** feuilles. **(Photos originaux)**

Les résultats obtenus exprimés en mg équivalent d'acide gallique par g d'extrait sont mentionnés dans le **Tableau 10:**

Tableau 10: Teneur des polyphénols totaux d'extrait méthanolique de tiges et de feuilles.

	Extrait méthanolique Feuilles	Extrait méthanolique Tiges
Teneur en poly-phénols totaux (mg EAG/g d'extrait)	124.8	92.8

D'après le **tableau 10**, il apparait clairement que la teneur en poly-phénol est nettement plus importante dans l'extrait méthanolique de feuilles que celui de tiges.

Ces résultats importants reflètent les données trouvés dans la **Figure 35** où nous avons enregistré des tenures élevés des extraits bruts ce qui prouve la richesse de chaque partie de la plante en polyphénols.

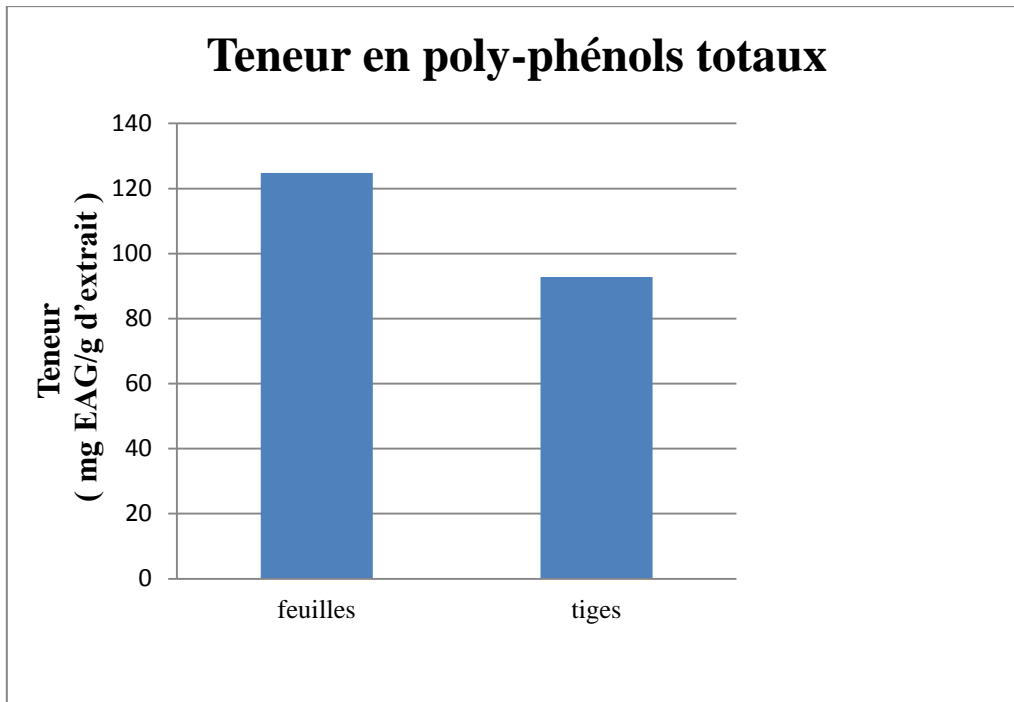


Figure 35: Teneurs en phénols totaux pour les deux parties de la plante étudiée.

Nous avons remarqué que les feuilles renferment plus de composés phénoliques que les tiges.

Une étude faite par **Wannes. W.A et al, (2010)** montre que la teneur des phénols totaux la plus élevée est remarquée dans les feuilles de *Myrtus communis var. italica* (33,67 mg GAE/g) puis de tiges (11,11 mg GAE /g). Ces teneurs sont inférieures à nos résultats, par contre la teneur des phénols totaux des feuilles de Myrte de la Grèce est nettement supérieur par rapport à notre plante, elle est de l'ordre de 373 mg GAE/g. (**Chryssavgi. G et al, 2008**). Ce qui laisse supposer que l'écologie de la plante est un facteur déterminant sur sa composition.

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante, ceci peut être lié aux conditions climatiques dures (température, sécheresse...) qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tel que les poly-phénols. (**Falleh. H et al, 2008**).

II.2.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode colorimétrique de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. La Quercétine considérée comme contrôle positif a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en flavonoïdes des différentes parties de la

plante qui est exprimé en mg équivalent de Quercétine (EQ) par g de matière végétale. (Figure 36).

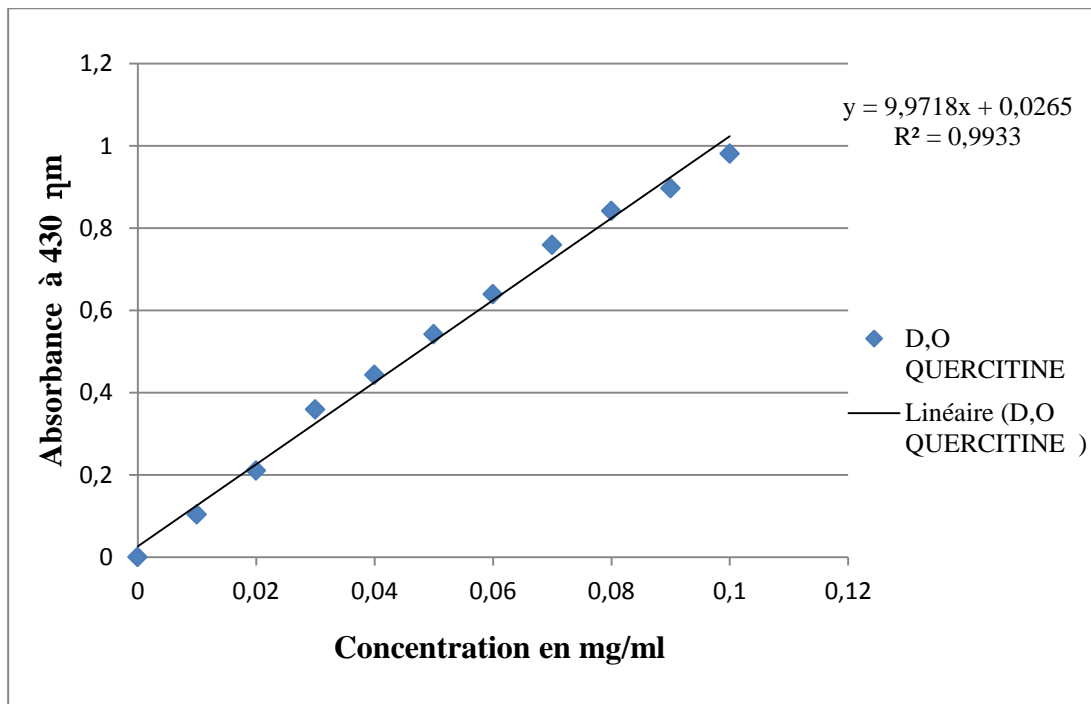


Figure 36: Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

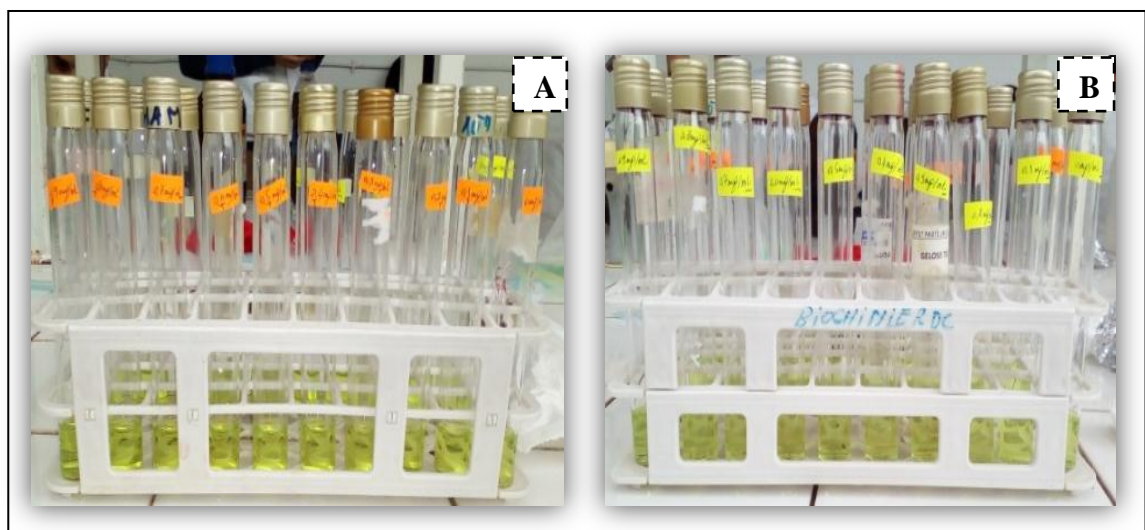


Figure 37: Résultats de dosage des flavonoïdes des extraits méthanolique de la plante à différentes concentrations : A: tiges. B: feuilles. (Photos originaux)

À partir de la courbe d'étalonnage, les résultats de la teneur en flavonoïde de la partie aérienne de *Myrtus communis* L. sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 11: Teneur des flavonoïdes d'extrait méthanolique des tiges et des feuilles.

	Extrait méthanolique Feuilles	Extrait méthanolique Tiges
Teneur en flavonoïdes (mg EQ/g d'extrait)	12.91	15.41

Les résultats sont récapitulés dans l'histogramme suivant :

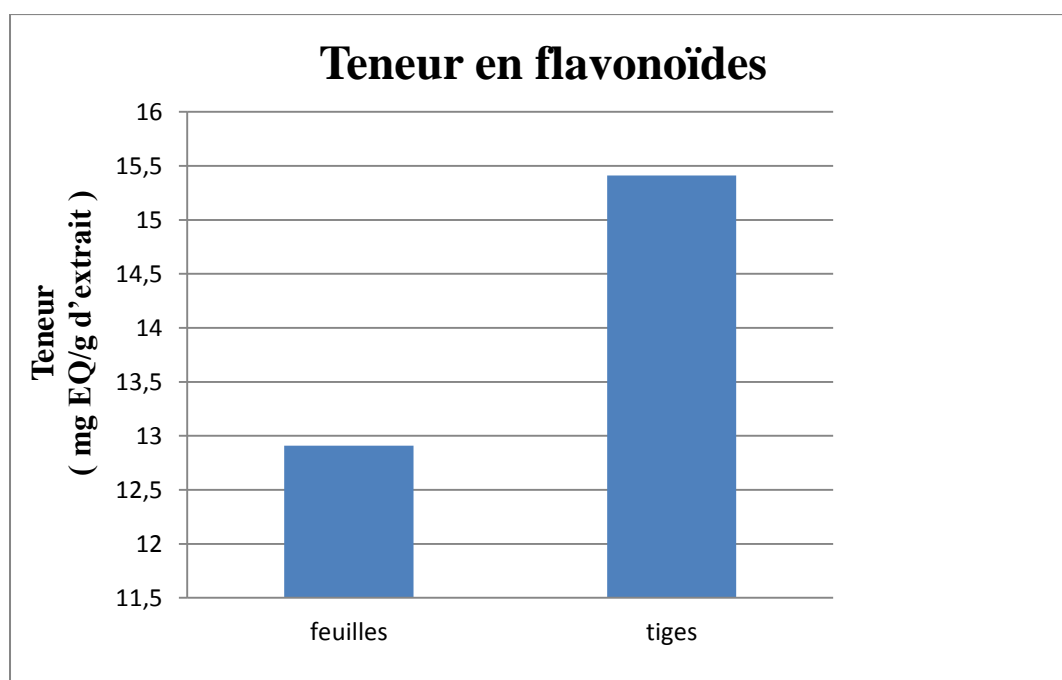


Figure 38 : Teneurs en flavonoïdes pour les deux parties de la plante étudiée.

Les résultats du dosage quantitatif des flavonoïdes (**Tableau 11 et Figure 38**) montrent que l'extrait méthanolique des tiges de *Myrtus communis* L. représente une teneur plus élevée de l'ordre de 15.41 mg EQ/g d'extrait (mg équivalent de la quercétine par g d'extrait), tandis que la teneur obtenue avec l'extrait méthanolique des feuilles de *Myrtus communis* L. de l'ordre de 12.91 mg EQ /g d'extrait.

Nous avons remarqué que les tiges renferment plus des flavonoïdes que les feuilles.

Selon **Wannes. W.A et al, (2010)** ont montré que la teneur des flavonoïdes dans les tiges et les feuilles de de *Myrtus communis var. italica* est de l'ordre 1,99 et 1,22 mg EC/g d'extrait respectivement. Mais ces teneurs apparaissent inférieure par rapport à nos résultats.

Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie, à cause de plusieurs facteurs qui peuvent influencer sur la répartition qualitative et quantitative des composées phénoliques dans nos extraits, parmi ces facteurs : les facteurs climatiques et environnementaux. (**Ebrahimi. N.S et al, 2008**). Et la période de récolte et conservation (**miliauskas. G et al, 2004**). Ainsi, la méthode d'extraction et de quantification, et aussi la sélectivité du solvant utilisée peuvent également influencer sur la teneur en polyphénols et en flavonoïdes totaux. (**Lee. K.W et al, 2003**).

D'après les résultats précédents, on constate que dans l'extrait méthanolique, la teneur en poly-phénols est supérieure que celle des flavonoïdes.

Les résultats sont présentés sous forme d'un histogramme (**Figure 39**).

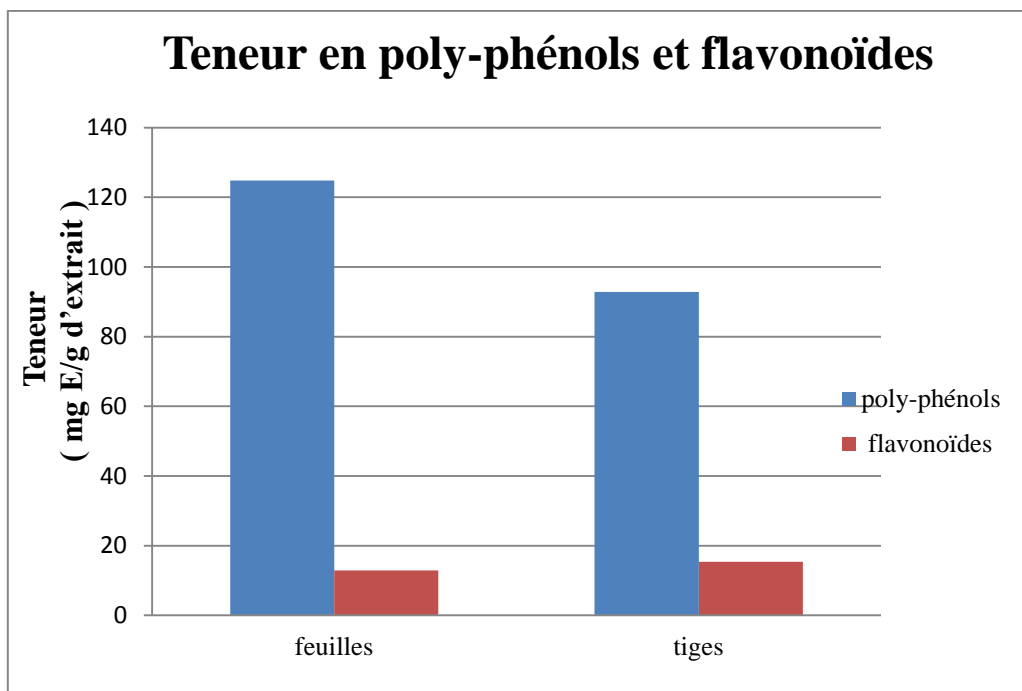


Figure 39: Comparaison des teneurs des poly-phénols et des flavonoïdes.

- **mg EAG/g d'extrait** : quantités des poly-phénols sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.
- **mg EQ/g d'extrait** : quantités des flavonoïdes sont exprimées en mg d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait.

Les histogrammes (**Figure 39**), on note les observations suivantes :

- ✓ les teneurs en poly-phénols enregistrées, en équivalent d'acide gallique, sont plus importantes dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Myrtus communis* L. que dans l'extrait méthanolique des tiges de *Myrtus communis* L.
- ✓ De même les teneurs en flavonoïdes, enregistrées en équivalent de quercétine, sont plus fortes dans l'extrait méthanolique des tiges de *Myrtus communis* L. que dans l'extrait méthanolique des feuilles de *Myrtus communis* L.

II.3. Activités biologiques

II.3.1. Activité anti-oxydante

II.3.1.1. Evaluation de l'activité anti-oxydante par diphényle-picryl-hydrazyl (DPPH)

La méthode de DPPH a été choisie, en raison de sa simplicité, rapidité, sensibilité et de sa reproductibilité, mais aussi parce que les mesures IC50 exprimées en mg/ml sont comparables entre elles et non pas seulement à celle d'une référence.

L'activité antioxydante de nos extraits a été évaluée par test DPPH ; le DPPH est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm.

Dans ce test on utilise l'acide ascorbique comme standard, les résultats obtenus (pourcentage d'inhibitions I%) sont représentés dans la courbe d'étalonnage (**Figure 40**).

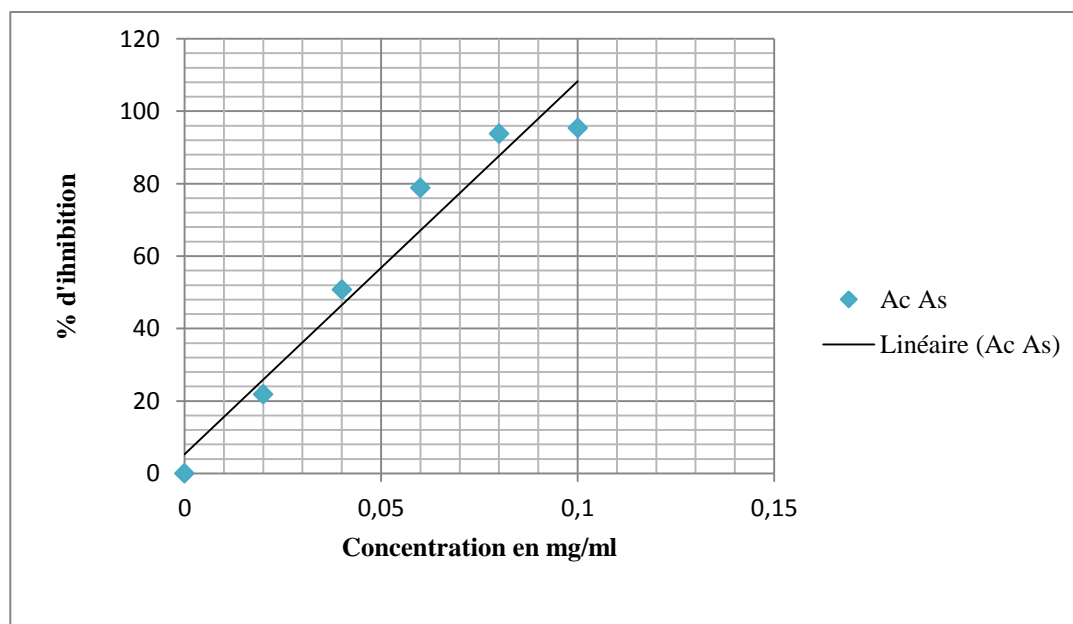


Figure 40: Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique de test DPPH.

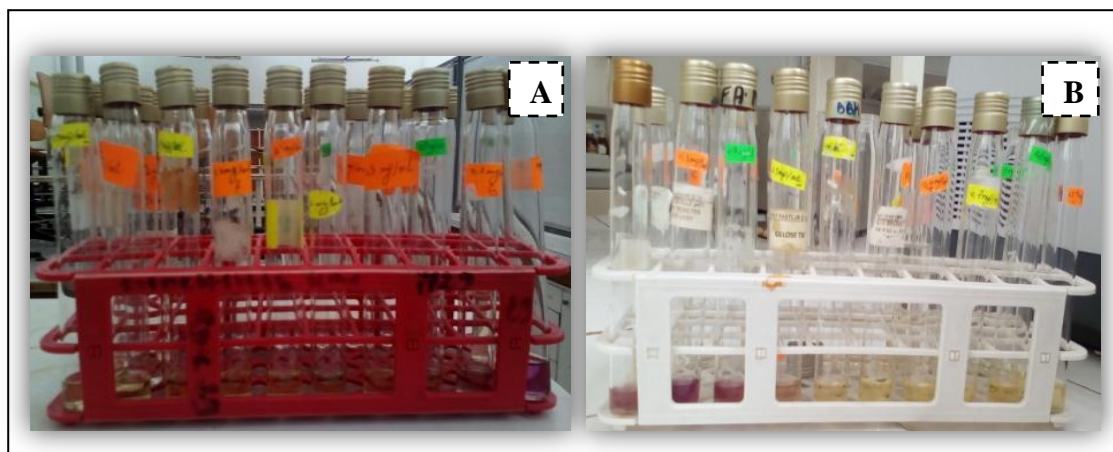


Figure 41 : Résultats d'activité anti-oxydante des extraits méthanolique de la plante à différentes concentrations : **A**: tiges. **B**: feuilles. **(Photos originales)**

A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée auparavant. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes (**Figure 42**), qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits de la plante. Nous avons déterminé la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC50), qui constitue l'activité anti-oxydante des extraits méthanoliques étudiés en utilisant la courbe de régression linéaire : $y = ax + b$.

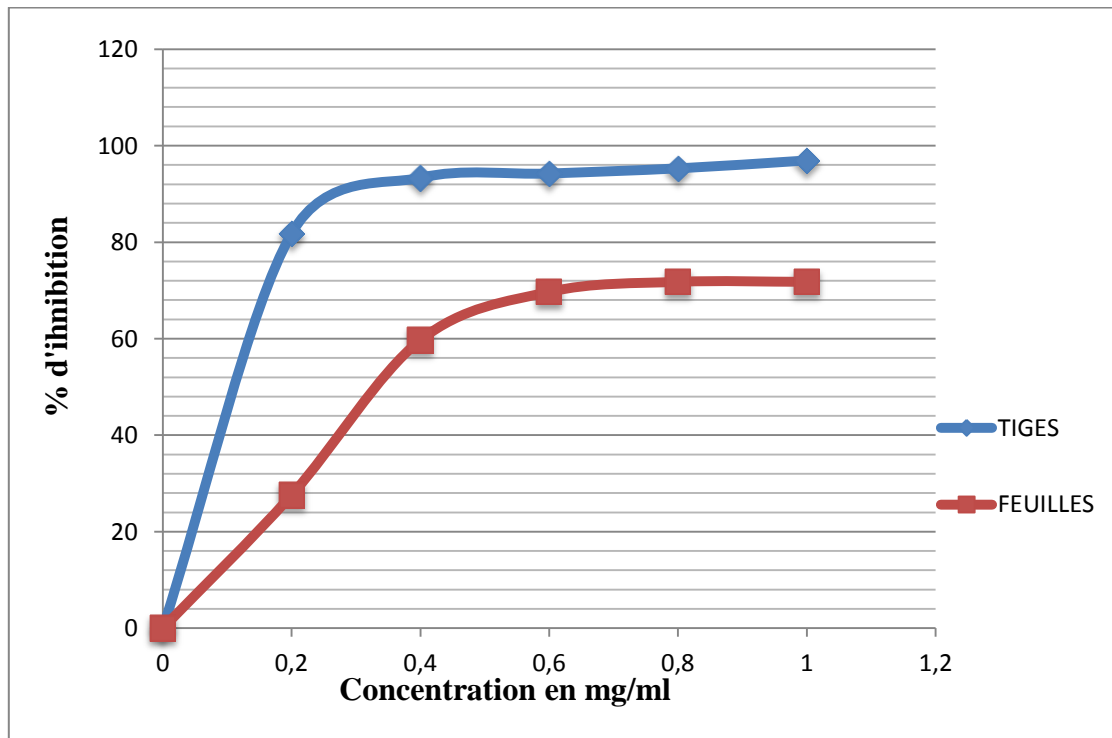


Figure 42: Courbe de pourcentage d'inhibition de l'extrait (**tiges et feuilles**)

Myrtus communis L.

Les valeurs des IC50 trouvées de notre extrait sont évaluées dans le **tableau 12** et l'histogramme (**Figure 43**)

Tableau 12: IC50 de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques.

	Acide ascorbique	Tiges	Feuilles
IC50 mg/ml	0.043	0.14	0.49

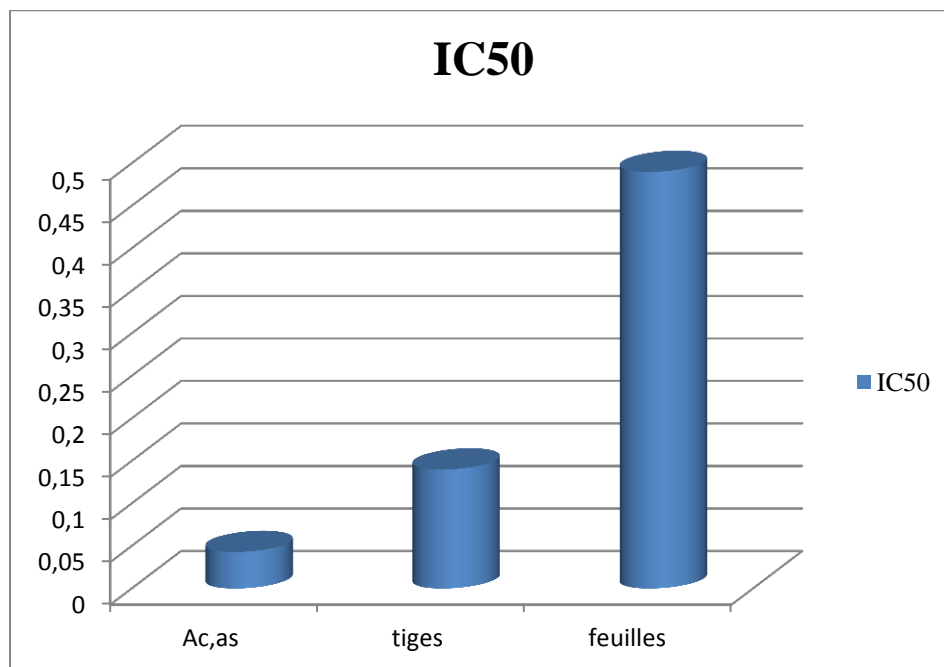


Figure 43: IC50 de l'acide ascorbique et des extraits méthanoliques.

L'activité anti-radicalaire des extraits est donc relativement dépendante de la teneur en Polyphénols totaux et en flavonoïdes.

La valeur de l'IC50 est inversement proportionnelle à la capacité anti-oxydante (taux d'inhibition I%) d'un composé, car elle reflète la quantité d'anti-oxydant requise pour neutraliser 50% de la concentration initiale du radical libre dans le milieu. Plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité anti-radicalaire d'un composé est appréciable.

Selon les résultats enregistrés, l'extraits méthanoliques tiges et feuilles de la plante est doté d'un pouvoir antioxydant important, leurs IC50 est : 0,14 mg/ml d'extrait méthanolique tiges et celle d'extrait méthanolique feuilles est : 0.481 mg/ml ; elles sont relativement élevées

que celle d'acide ascorbique dont la valeur est de l'ordre de 0,043 mg/ml. Il a été démontré que les molécules anti-oxydantes telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène (**De Pooter. H.L et al, 1986**).

Les résultats expérimentaux obtenus montrent que l'extrait méthanolique de tiges présente une activité assez importante avec une IC50 élevée, ceci suggère que cette plante possède des flavonoïdes doués d'activité anti-oxydante élevée, comme est signalé dans la publication (**Umadevi. I et al, 1988 ; Romani. A et al, 2002 ; Chryssavgi. G et al, 2008**).

L'extrait méthanolique tiges montre un pouvoir anti-radicalaire plus important par rapport à l'extrait méthanolique feuilles qui peut être expliqué par le fait que l'activité des flavonoïdes à piéger les radicaux libres dépend essentiellement de leurs structures individuelles et de leurs taux dans l'extrait.

Globalement, les résultats obtenus dans le présent travail indiquent l'existence d'une corrélation remarquable entre le pouvoir anti-radicalaire des deux extraits de la plante et leur teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes, ceci est en parfaite accord avec d'autres travaux réalisés sur l'activité anti-radicalaire d'extraits de plantes. (**Mansouri. A et al, 2005**).

II.3.1.2. Pouvoir réducteur

Selon **Wang. H et al, 2008**, le pouvoir réducteur est un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance.

L'activité anti-oxydante des extraits de la plante étudiée *Myrtus communis* L. ont été évalué en utilisant la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power).

Pour évaluer le pouvoir réducteur de ces extraits, on a suivi la réduction de Fe^{3+} par un électron provient de ces extraits (**Philips. A et al, 2010**). Le pouvoir anti-oxydant des extraits de myrtus se manifeste par le changement de la couleur du milieu réactionnel à 700 nm de jaune au bleu, un changement qui est évaluée par une technique spectro-photométrique (**Figure 46**).

(**Chung. Y.C et al 2002**).

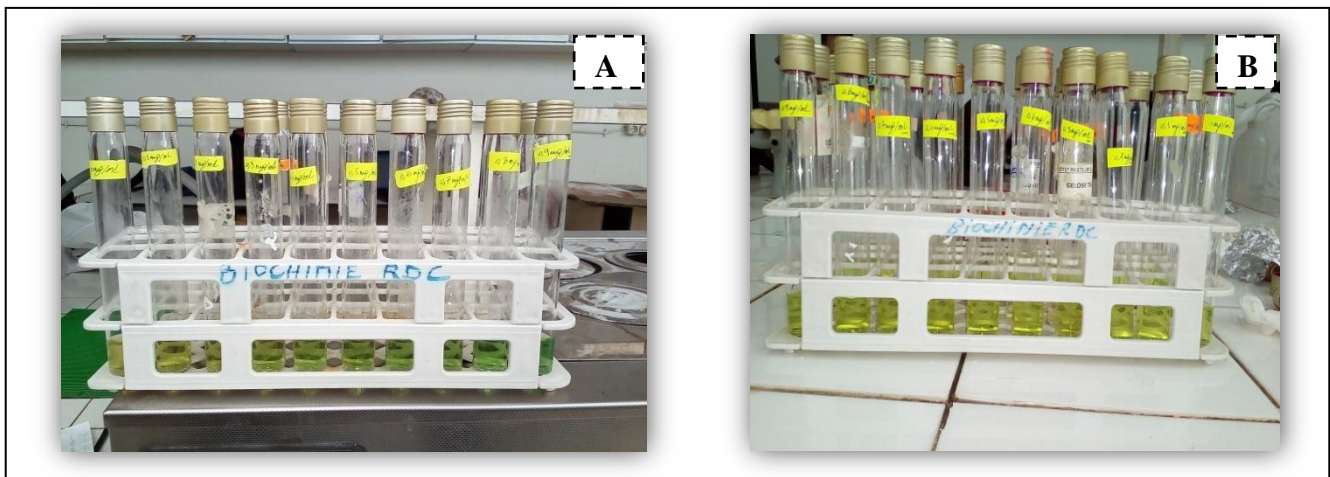


Figure 44: Résultats de pouvoir réducteur des extraits méthanolique de la plante à différentes concentrations : **A:** tiges. **B:** feuilles. (Photos originaux)

A partir de nos résultats en traçant les courbes des absorbances obtenues pour chaque extrait et de standard. (Figure 45 et Figure 46).

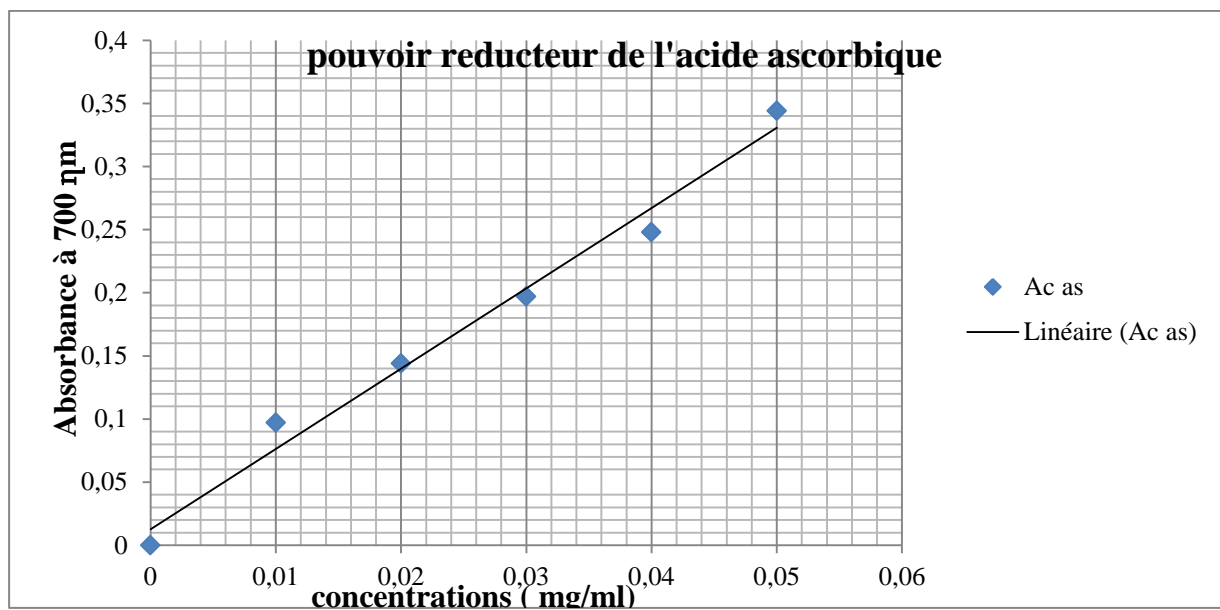


Figure 45: Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique.

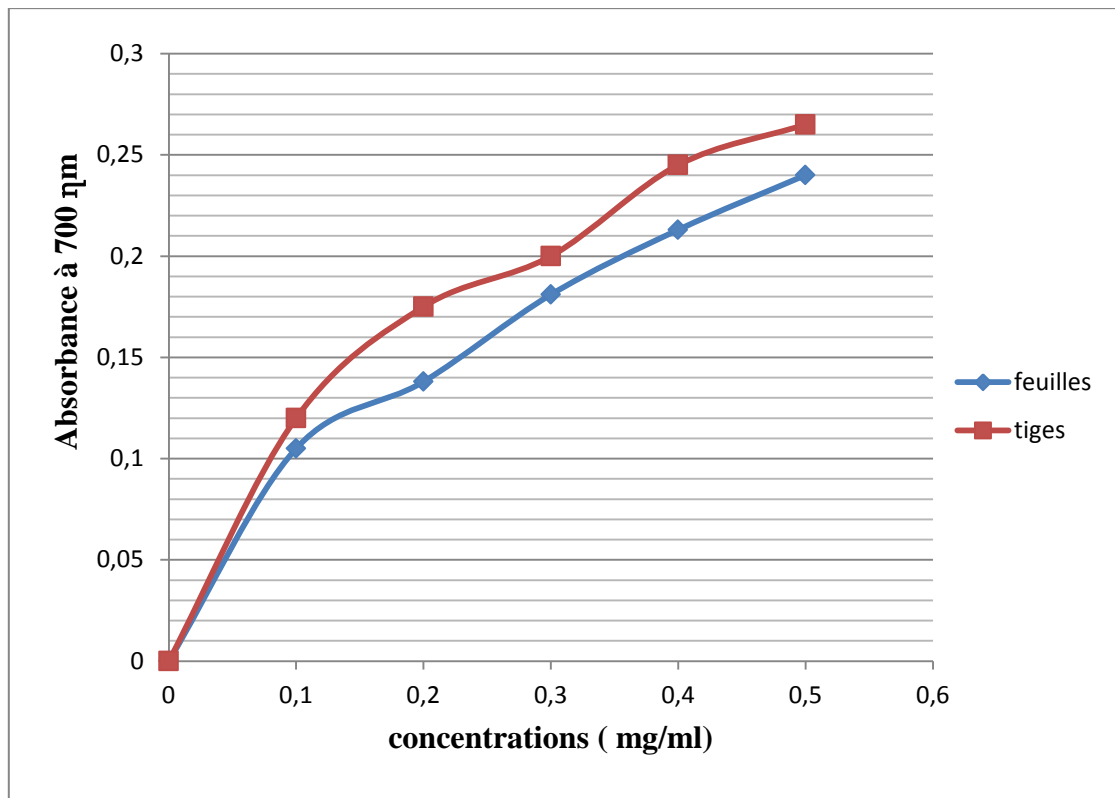


Figure 46: Pouvoir réducteur des deux extraits méthanoliques.

En comparant les valeurs obtenues pour les extraits de *Myrtus communis* L. sont inférieure à celle de l'acide ascorbique.

Ceci explique que nos extraits exercent une activité réductrice, mais qui reste inférieure à celle du standard (l'acide ascorbique).

On a pu remarquer que la capacité de réduction du fer est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos extraits, et ça été confirmé par beaucoup d'autres scientifiques (Su. M.S et al, 2008 ; Liuk. L et al, 2009).

A la concentration de 0,5mg/ml, le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique des tiges est égale à DO= 0.265 et de l'extrait méthanolique des feuilles est égale à DO= 0.24, est nettement inférieure à celui de l'acide ascorbique, pour ce dernier la DO= 0.197 à une concentration 0.05mg/ml. (Figure 47 et Figure 48).

A partir de ces résultats, nous avons remarqué que l'extrait méthanolique des tiges de *Myrtus communis* L. possède la meilleure activité réductrice que l'extrait méthanolique des feuilles. Donc on peut dire que, les composés réducteurs qui sont présent dans l'extrait des tiges sont plus importants que l'extrait des feuilles.

Les travaux de **Wannes. W.A et al (2010)** montrent que la capacité de réduction de fer des extraits méthanoliques des différents parties du *Myrtus communis var. italica* il est importante.

On observe une corrélation entre la capacité de réduction des extraits et la teneur en flavonoïde et en poly-phénol. En effet, plusieurs études ont démontré l'existence d'une relation étroite entre le contenu en poly-phénols du matériel végétal et sa capacité anti-oxydante. (**Burda. S et Oleszek. W, 2001**).

En conclusion, il convient de dire bien que les teneurs en composés phénolique constituent un facteur de valorisation de la capacité anti-oxydante des espèces végétale, la qualité de ces molécules serait beaucoup plus intéressante puisqu'elle détermine l'ampleur de leur propriétés biologiques (**Bettaieb. L et al, 2016**).

II.3.2. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits méthanoliques (Tiges et Feuilles) de *Myrtus communis* L. est testée vis-à-vis de quatre souches bactériennes via la méthode de diffusion sur disque. L'activités antibactérienne des deux extraits sont estimées par le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques (Méthode de diffusion sur gélose), exprimée en mm. Les résultats sont présentés dans le **la Figure 47 et la Figure 48, (voir tableau annexe 02)**.

Le DMSO sans extrait a été utilisé en tant que contrôle négatif et n'a montré aucun effet inhibiteur sur la croissance microbienne.

L'Acide ascorbique, Acide gallique et la Quercétine ont été utilisées comme des témoins positifs.

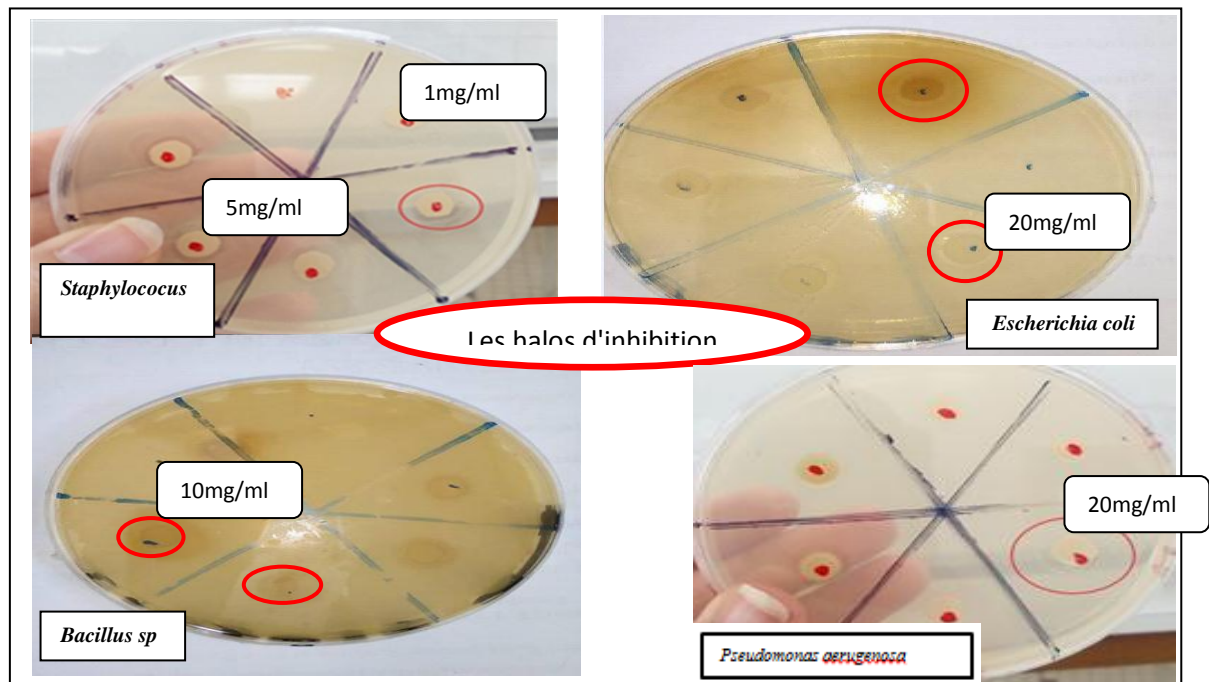


Figure 47: Test de diffusion en milieu gélosé des extraits de tiges *Myrtus communis* L.

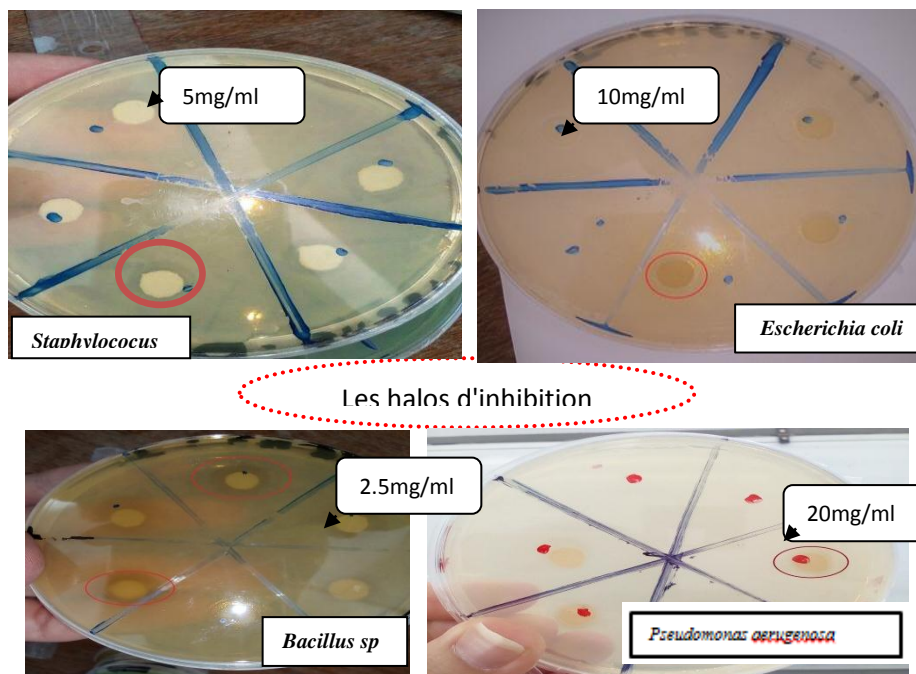


Figure 48: Test de diffusion en milieu gélosé des extraits de feuilles *Myrtus communis* L.

(Photos originaux)

Les résultats obtenus montrent que l'extrait méthanolique des deux parties de la plante *Myrtus communis* L. vis-à-vis différentes souches avérées actives avec une zone d'inhibition observée au tour du disque est supérieure ou égale à 9 mm, varie d'une souche à une autre. Cet effet demeure fort par rapport à celui des témoins positifs (Acide ascorbique, Acide gallique, Quercétine).

Les résultats montrent clairement l'effet de l'extrait méthanolique de feuilles du *Myrtus communis* L. sur les quatre souches étudiées. Un diamètre maximal d'inhibition de 15 mm est observé pour *Staphylococcus aureus*, 13 mm pour *Pseudomonas aeruginosa*, 12,8 mm pour *Escherichia coli*, et 11 mm pour *Bacillus sp.*

Les résultats montrent clairement l'effet de l'extrait méthanolique de tiges du *Myrtus communis* L. sur les quatre souches étudiées. Un diamètre maximal d'inhibition de 14 mm est observé pour *Staphylococcus aureus*, 13,5 mm pour *Escherichia coli*, 13 mm pour *Bacillus sp.*, et 11 mm pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats de **Mert. T et al ,2008** montrent que l'extrait méthanolique des feuilles exerce une activité anti-bactérienne comparable à nos résultats. Avec un diamètre maximal d'inhibition de 16 mm pour *Staphylococcus aureus*, 8 mm pour *Pseudomonas aeruginosa* et 9 mm pour *Escherichia coli*.

On peut conclure que les extraits méthanoliques des feuilles et des tiges du *Myrtus communis* L. sont actifs sur les germes testés. Ce qui nous mène à confirmer leur pouvoir antibactérien.

Plusieurs 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 lipopolysaccharides, 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. S, 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. S, 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. S, 2015).

Les résultats obtenus sont récapitulés dans les histogrammes suivants :

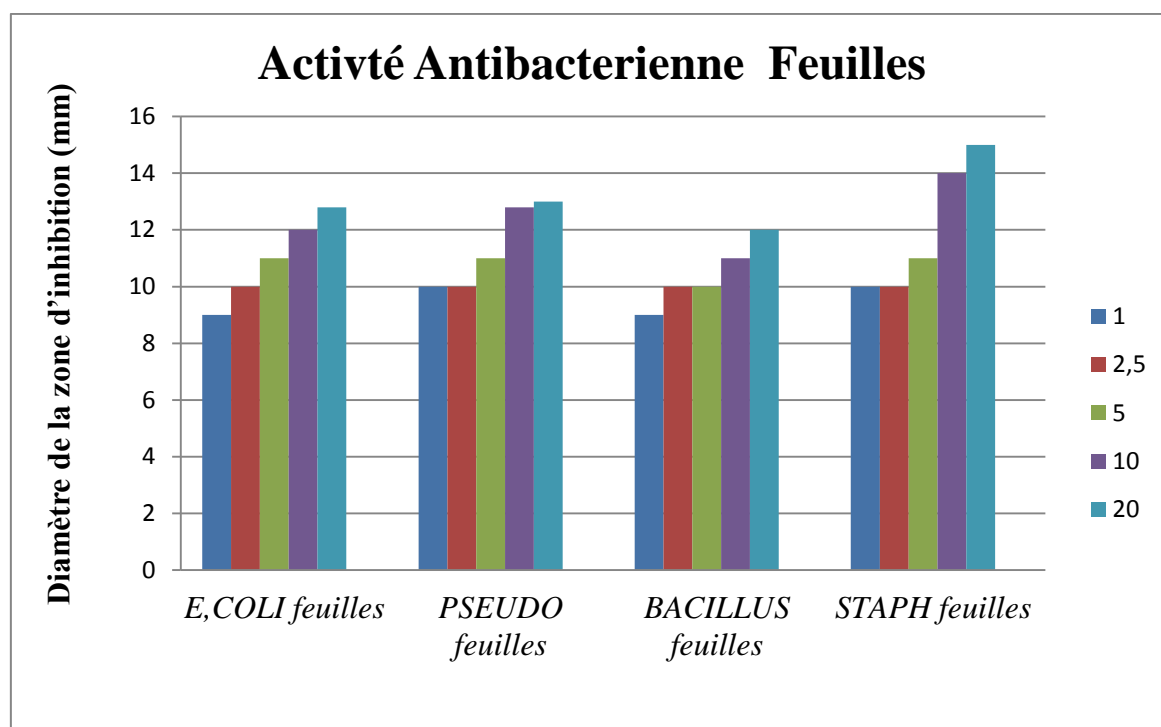


Figure 49: Zones d'inhibition (mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations d'extrait méthanolique des feuilles.

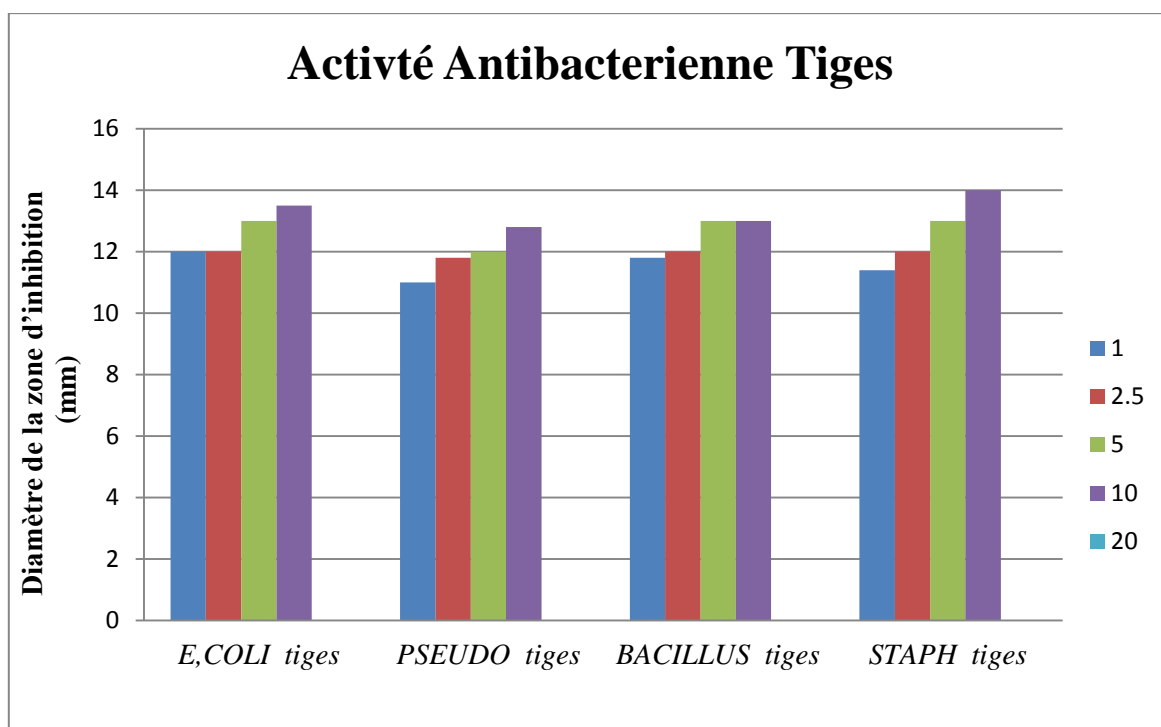


Figure 50: Zones d'inhibition (mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations d'extrait méthanolique de tiges.

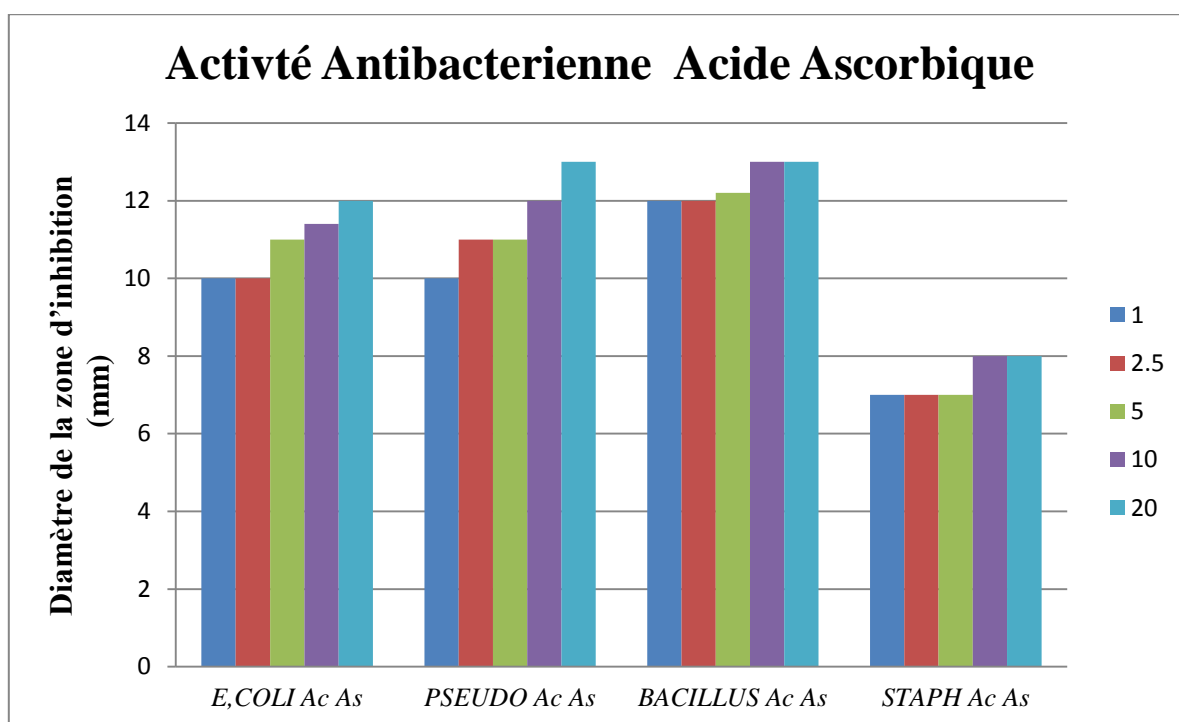


Figure 51: Zones d'inhibition (par mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique.

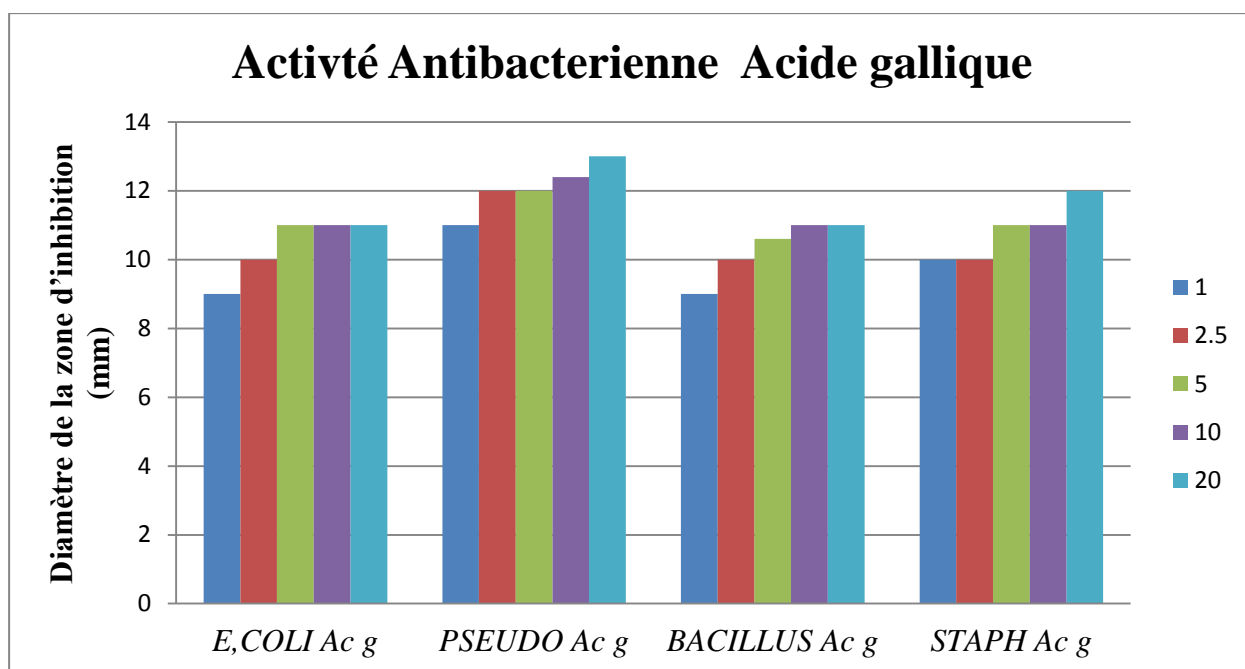


Figure 52: Zones d'inhibition (par mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations d'acide gallique.

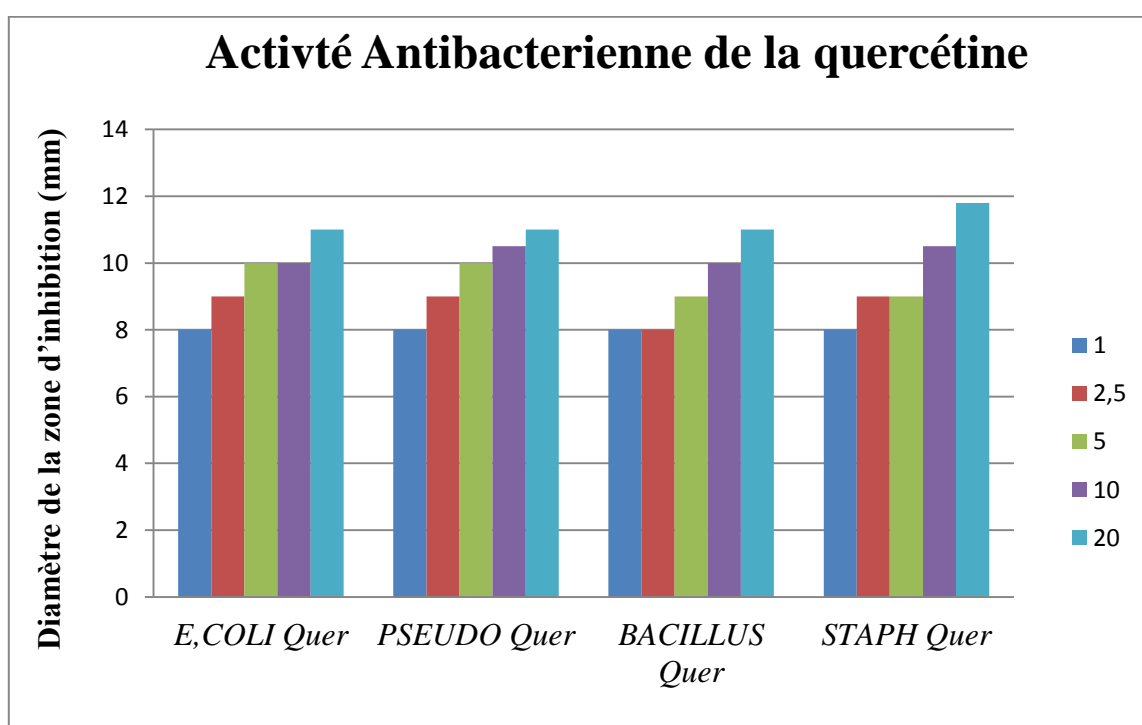


Figure 53: Zones d'inhibition (par mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations de la Quercétine.

Pour bien expliquer les résultats des zones d'inhibition de notre extrait on a réalisé l'histogramme suivant qui regroupe tous les résultats :

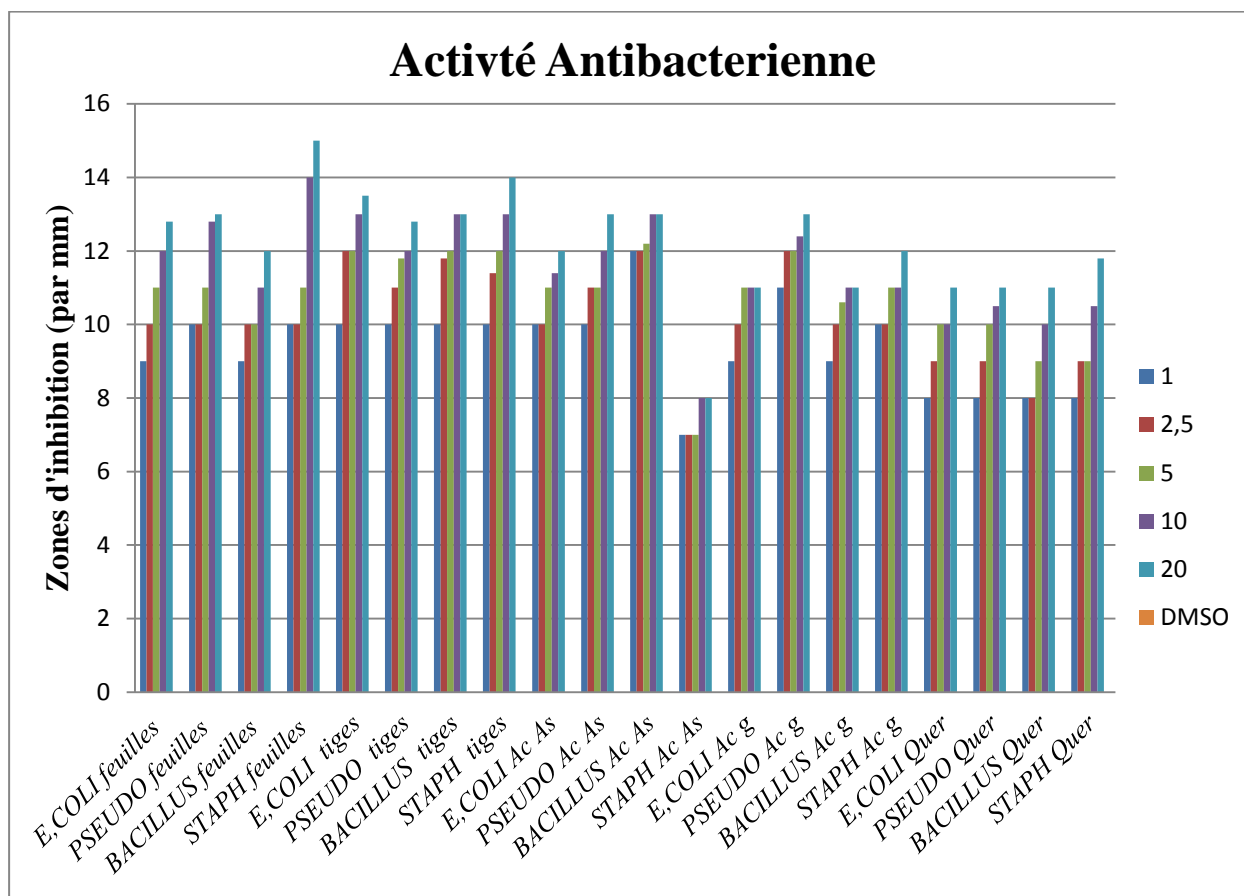


Figure 54: Zones d'inhibition (mm) des quatre souches bactériennes testées en fonction des différentes concentrations des deux extraits.

La zone d'inhibition augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits.

D'après **Cowan. M.M, 1999**, les flavonoïdes à caractère lipophile peuvent détruire les membranes microbiennes en augmentant la fluidité des lipides membranaires. Le nombre et la position des groupements hydroxyles présents sur le noyau aromatique des composés phénoliques peuvent entraîner la toxicité des microorganismes.

Les polyphénols, tels que les tannins et les flavonoïdes comme l'épigallocatechine, la catéchine, la myricétine, la quercétine, (**Shan. B et al, 2007**) et lutéoline (**Askun et al, 2009**) sont des substances antibactériennes importantes.

L'activité anti-microbienne ne dépend pas seulement de la présence des composés phénoliques, mais également de la présence de divers métabolites secondaires, de l'emplacement et le nombre des groupes d'hydroxyles (**Falleh. H et al, 2008**).

*Conclusion
générale et
perspectives*

Conclusion générale et perspectives

Les plantes médicinales de la nature présentent une source indéfinie de molécules bioactive, ces molécules résultant de métabolites secondaires produits à partir de métabolisme des nutriments, que sont très utilisées par l'homme dans les domaines médicinales.

La famille des myrtacées comprend plus de 5650 espèces réparties en 48 à 134 genres environ distribuées surtout dans les régions méditerranéennes.

Le présent travail a porté sur l'étude phytochimique et les activités biologiques (anti-oxydante et anti-bactérienne) des extraits bruts méthanoliques des parties aériennes (tiges et feuilles) de la plante *Myrtus communis* L. de la région de Laaraba- Jijel, préparés par une macération à froid.

Le screening phytochimique caractérisé par réactions colorées a montré la présence des flavonoïdes, des tanins, des saponosides, quinones libres et des sucres réducteurs, et l'absence des alcaloïdes et des tanins vrais dans les deux extraits de la plante (tiges et feuilles). La présence des composants précédents due à leur rôle important dans la plante, dont ils sont des produits considérés comme métabolites secondaires, en réponse au stress environnemental ou pour assurer un mécanisme de défense aux agressions provoquant des maladies chez les végétaux.

L'estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes a été réalisée par les courbes d'étalonnages des étalons.

Dosage des polyphénols totaux des extraits méthanoliques (tiges et feuilles) a été effectué par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu. En équivalent d'acide gallique. Les résultats obtenus montrent que les deux extraits méthanoliques caractérisés par une richesse en polyphénols, mais l'extrait des feuilles est plus riche en polyphénols totaux que celui des tiges.

Tandis que le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), en équivalent à la quercétine. Les résultats montrent que l'extrait méthanolique des tiges présente une teneur élevée de l'ordre 15,41mgEAQ /gE ; par rapport à celle d'extrait des feuilles qui est de l'ordre 12,91mgEAQ /gE.

Les résultats sur l'ensemble des tests biologiques des extraits méthanoliques montrent que :

L'activité anti-oxydante des extraits de *Myrtus communis* L. a été évaluée par méthodes de piégeage de radical libre DPPH.

Conclusion générale et perspectives

Les résultats ont montré que les deux extraits méthanoliques possèdent une activité anti-oxydante très importante avec des IC50 de l'ordre de 0,14mg/ml pour les tiges, et de 0,49mg/ml pour l'extrait méthanolique des feuilles, grâce à leurs constituants (composés poly-phénoliques).

Selon les résultats obtenus dans cette étude, nous pouvons conclure que l'extrait méthanolique de notre plante a une bonne activité anti-oxydante et une capacité de piégeage de radicaux libres intéressante, l'activité anti-radicalaire est dépendante du contenu en flavonoïdes et en polyphénols totaux des extraits.

L'étude du pouvoir antioxydant par une méthode basée principalement sur la capacité de l'extrait à donner un électron tout en convertissant le fer de la forme Fe^{3+} à la forme Fe^{2+} . Pour confirmer les propriétés puissantes que possèdent les flavonoïdes à piéger les radicaux libres.

L'extrait méthanolique de *Myrtus communis* L. exerce la meilleure activité réductrice de l'ordre de 0,5mg /ml pour les tiges avec une absorbance de 0,205nm, et pour l'extrait méthanolique des feuilles avec une absorbance de 0,24nm, mais ces activités sont relativement faible par rapport à l'activité réductrice de l'acide ascorbique (standard).

L'évaluation de l'activité antibactérienne montre que notre extrait a une activité antimicrobienne variable contre les différentes souches microbiennes testées.

Les résultats de notre étude montrent la richesse de la plante médicinale *Myrtus communis* L. en différents composés métabolique et possède une activité anti-oxydante et anti-bactérienne élevée, qui confirme leur utilisation traditionnelle et permet de l'utiliser dans différents domaines tels que le domaine pharmaceutique.

Alors ce travail peut être considéré comme un point de départ pour d'autres recherches sur les effets bénéfiques de *Myrtus communis* L.

En effet, il est souhaitable de compléter et d'approfondir ce travail par une étude phytochimique plus développée afin d'isoler et identifier les différents composés chimiques présents dans le myrte « Halmouche », et les purifier en utilisant des techniques chromatographiques et spectroscopiques pour leurs identification.

Il serait aussi intéressant de tester les différentes molécules isolées *in vivo* sur différents modèles biologiques, afin de trouver une application thérapeutique des molécules actives isolées et étudier l'effet synergique des extraits avec d'autres effets antifongiques et antibiotiques pour améliorer l'index thérapeutique

Réactifs chimiques et solvants

➤ Solvants et réactifs

Dans cette étude nous avons utilisé plusieurs réactifs chimiques et solvants parmi ces produits : Folin-Ciocalteu, acide acétique, acide gallique, acide ascorbique, quercétine, ferricyanure de potassium ($K_3Fe(Cn)_6$), trichloracétique(TCA), chlorure ferrique ($FeCl_3$), 2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle(DPPH), méthanol, éther de pétrole, anhydride acétique, paracétamol, trichlorure d'aluminium($AlCl_3$), NaOH, Na_2HPO_4 et NaH_2PO_4 .

➤ Solutions standards utilisées

- ✓ Acide ascorbique $C_6H_8O_6$
- ✓ Acide Gallique $C_7H_6O_5$
- ✓ Quercitine dyhydraté $C_{15}H_{10}O_7$
- ✓ DMSO

Appareillage

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



Annexe 01 : Appareillage de rotavapeur

❖ **L'ETUVE :**

Chambre de bains dont on élève la température pour faire transpirer. Local où la température est très élevée et la chaleur humide. Appareil utilisé en microbiologie pour maintenir les cultures de microbes.



Annexe 02 : Etuve

❖ **SPECTROPHOTOMETRE**

Est un appareil qui permet de mesurer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée



Annexe 03 : Spectrophotometre.

Préparation des solutions utilisées

➤ **Préparation de réactif de Mayer**

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

Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité blanc

➤ **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**

3.75g dissoudre dans 50ml d'eau distillé.

➤ **Préparation de trichlorure d'aluminium**

1g d' AlCl_3 dissoudre dans 50ml de méthanol.

➤ **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. *Annexes*

Résultats

Souches testées

Extraits

*Escherichia coli**Pseudomonas
aeruginosa*

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)

*Bacillus sp**Staphylococcus aureus*

TIGES

2.5 mg/ml	12		11		11.8		11.4
5 mg/ml	12		11.8		12		12
10 mg/ml	13		12		13		13
20 mg/ml	13.5		12.8		13		14
FEUILLES	1 mg/ml	9		10		9	10
2.5 mg/ml	10		10		10		10
5 mg/ml	11		11		10		11
10 mg/ml	12		12.8		11		14
20 mg/ml	12.8		13		12		15
DMSO	1 mg/ml	00		00		00	00
2.5 mg/ml	00		00		00		00
5 mg/ml	00		00		00		00
10 mg/ml	00		00		00		00
20 mg/ml	00		00		00		00
ACIDE	1 mg/ml	10		10		12	7
ASCORBIQUE							
E							
2.5 mg/ml	10		11		12		7
5 mg/ml	11		11		12.2		7
10 mg/ml	11.4		12		13		8
20 mg/ml	12		13		13		8
ACIDE							
GALLIQUE							
1 mg/ml	9	11		9		10	
2.5 mg/ml	10		12		10		10
5 mg/ml	11		12		10.6		11
10 mg/ml	11		12.4		11		11
20 mg/ml	11		13		11		12
QUERCETIN							
E							
1 mg/ml	8	8		8		8	
2.5 mg/ml	9		9		8		9
5 mg/ml	10		10		9		9
10mg/ml	10		10.5		10		10.5
20 mg/ml	11		11		11		11.8

Références

Adesokan. A.A ; Akanji. M.A ;and Yakubu. M.T.(2007). Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark, African Journal of Biotechnology, 6 (22) : 2502 - 2505.

Adrian. J ; Frangne. R. (1991). La science Alimentaire de A à Z, Ed. *Lavoisier, Paris*.

Akroum. S. (2011). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat en sciences, Université Mentouri de Constantine. Algérie : 113.

Aleksic. V ; and Knezevic. P.(2013). Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. Microbiol Res,168(6): 311-332.

Anderson. O.M ; Markham. K.R. (2006). Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications, CRC Press, Taylor & Francis Group, 1(32): 397-425.

Angelos. M.G; Kutala. V.K; Torres. C.A; He. G; Stoner. J.D; Mohammed. M;Oennan, K. (2005). Hypoxic perfusion of the ischemic heart and oxygen radical generation. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 290: 341-347.

Angiosperm Phylogeny web site
: www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/welcome.html **APG III. (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: 105-121.

Aylin. S ; Ilhan. G ;Cemal. C ; Erdem. Y. (2004). Journal of Ethnopharmacology, 93: 311-318.

Baba Aissa. F. (1999). Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique d'orient et d'occident : 181.

Bellakhdar. J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Paris. Ibis Press. : 764.

Bahorun. T. (1997). Substances Naturelles actives: La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius: 83.

Barry. A.L; and Thornsberry. C. (1985). Susceptibility test, diffusion test procedure, American Journal of Clinical Pathology, 19: 492 - 500.

Bauer. A.W ; Kirby. W.M.M; Sherris. T.C ; and Truck. M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, American Journal of Clinical Pathology, 45:493 - 496.

- Baytop. T. (1999).** Therapy with medicinal Plants in Turkey (Past and Present). Nobel Tıp Kitapevleri Press. Istanbul.
- Bellakhdar. J. (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Paris, Ibis Press. : 764.
- Beloued. A. (2003).** Plantes médicinales d'Algérie. Alger. Office des Publications Universitaires: 227.
- Benhammou. N. (2011).** Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de Doctorat en biologie. Université Aboubakr Belkaïd, Tlemcen. Algérie: 113.
- Bessas. A; Benmoussa. L; Kerarma, M. (2007).** Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie.
- Bhavna, S ;Chandrajeet, B ;Partha, R. (2008).** Food and chemical Toxicology, 46: 2376-2383 .
- Bisht. K; Wagner. K.H;and Bulmer. A.C. (2010) .** Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto-and DNA-protective dietary compounds. Toxicology, 278(1):88-100.
- Boizot. N ; Charpentier. J.P. (2006) .**Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques. *INRA*, 79-82.
- Bonnefont-Rousselot. D; Théron. P; Delattre. J. (2003).** Radicaux libres et anti-oxydants. In : Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires. Médecine-sciences. Flammarion (Ed), Paris: 59-81.
- Boudjelal. A; Henchiri. C; Sari. M; Sarri. D; Hendel. N; Benkhaled. A; Ruberto. G. (2013).** Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (NorthAlgeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of Ethnopharmacology*, 148: 395–402.
- Boudjouref. M, (2011).**Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbas, Sétif. Algérie :99.
- Boukef. M. K. (1986).** Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Paris : Agence de coopération culturelle et technique: 320.

Bruneton. J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, édition, Lavoisier Tec & Doc, Paris : 369-388.

Calsamiglia. S; Busquet. M; Cardozop. W; Castillejos. L; Ferret. A. (2007). Invitedreview: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. Journal of dairy science, 90: 2580–2595.

Chaabi. M. (2008). Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales africaines, diplôme de doctorat en Pharmacognosie: 168-169.

Chaouche. Massika. (2010). Recherche et Détermination Structurale des Composés Flavoniques de L'espèce: *Myrtus communis* L.(Myrtaceae) Memoire Présenté pour obtenir le diplôme de Magister En Chimie Organique. Universite Mentouri-Constantine: 4.

Chekir. Ghedira. L. (2004). Anti-genotoxic and free-radical scavengingactivities of extracts from (Tunisian) *Myrtuscommunis*, 564: 89 – 95.

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

Chung. Y.C; Chang. C.T; Chao. W.W; Lin. C.F; Chou. S.T. (2002). Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 2454–2458.

Chryssavgi, G; Vassiliki, P; Athanasios, M; Kibouri, T; Michael, K. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts, *Food Chemistry*, 107: 1120–1130

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: 213-220.

Couplan, F. (2009). Le régal végétal: Plantes sauvages comestibles, Edition sang de la terre: 189.

Cowan. N. M. (1999). Plant products as anti microbial agents, *Clinical microbiology reviews* , 12(4): 564-582.

Cuendet. M, (1999). Recherche de nouveaux composés capteurs de radicaux libres etanti-oxydants à partir d'une plante d'Indonésie : « *Fagraeablumei* » (Loganiaceae) et de trois

plantes d'altitude : « *Bartsiaalpina* » (Scrophulariaceae), « *Loiseleuriaprocumbens* » (Ericaceae) et Camp, Thèse de doctorat: 24.

De Pooter H.L , Schamp N. (1986) :Comparaison of the volatils composition of some Calamintha satureja species. In : Progress in essential oil research. Edition E-J. Brunk, Walter De Gruyter. Berlin. : 139-150.

Diaz, A.M ; Abeger, A. (1987). Contribution à l'étude des composés phénoliques des graines de *Myrtus communis* L. Plantes médicinales et phytothérapie, 21(4): 317-322.

Djadouri, D; Ben Dahra, I. (2014). Effets potentials antioxydants et anti-inflammatoire de l'homogénat d'Hélix aspersa dans un modèle expérimental de colite chimio-induite: 68.

Dohou. N; Yamni. K; Gmira. N; et Idrissi Hassani. L.M. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine Thymelaealythroides, Bull. Soc. Bordeaux , 142: 61-78.

Doughari. J.H; Pukuma. M.S ; and De. N. (2007). Antibacterialeffects of *Balanites aegyptiaca* L. Drel. And *Moringaoleifera* Lam. On *Salmonella typhi*. African Journal of biotechnology, 6 (19) :2212 - 2215

Ebrahimi. N.S; Hadian. J; Mirjalili. M.H ; Sonboli. A; and Youcef Zadi. M. (2008). Essential oil composition and antimicrobial activity of thymus caramanicus at different phonological stages. Food chemistry, 110: 927-931.

El-Sissi. H.I ; El-Ansary. H. (1967). Planta Medica, 1: 41-51.

Espinel-Ingroff.A. (2007). Standardized Disk Diffusion Method for Yeast swith the National committee for Clinical and Laboratory Standards institute (CLSI formerly NCCLS) M44-A reference method for testing *Candida spp*. Clin. MicrobioL New, 29(13): 97-100.

Falleh. H; Ksouri. R; Chaieb. K;Karray.Bouraoui. N; Trabelsi. N; Boulaaba.M ; Abdelly. C. (2008) . Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. Organs, and their biological activities. C. R. Biologies, 331; 372-379.

Favier. Alain. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique .l'actualité chimique: 108-115.

Fleuriet.A ; Jay-Allemand. C ; Macheix. J.J. (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes: 121-216.

Franceschini. Paul. (2016). *Myrtus communis L.* en Corse et en Méditerranée: De sa composition chimique jusqu'à ses utilisations Thérapeutiques: 18.

Ghestem. A ; Seguin. E; Paris. M; Orecchioni. A.M. (2001). Le préparateur en Pharmacie. 2ème ed. Ed. Tec et Doc, Paris. France: 275.

Gilbert. B.L; Norris. D.M. (1968). A chemical basis for barkbeetle (*scolytus*) distinction between host and non-host trees. *J Insectphysiol* , (14): 1063-1068.

Govaerts. R; Lucas. E. (2008). World Check list of Myrtaceae. Royal Botanic Gardens, Xv: 455.

Grêté, P. (1965). Précis de botanique, Systématique des angiospermes. Tome II ; 2ème édition révisée, Faculté de Pharmacie de Paris – Masson: 429.

Haioun. A; Hamoudi. F.Z. (2015). Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale Algérienne *Anethiumgraveolens* et leur effet cardioprotectrice contre la toxicité, Diplôme de Master en Toxicologie et Santé: 16.

Halenge. J. (2007). Le stress oxydant: 628.

Halket. J.M; Waterman. D; Przyborowska. A.M; Patel. R.K.P; Fraser. P.D; Bramley. P.M. (2005). Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolic profiling by GC/MS and LC/MS/MS. *Journal of Experimental Botany* ,56 (410):219-243.

Halmi. S. (2015). Etude botanique et phytochimique approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus*, diplôme de doctorat. biotechnologie végétale, Université Mentouri-Constantine: 17- 25.

Harborne. J.B ; and Williams. C.A . (2000). Advances in flavonoid research since 1992 *Phytochemistry*, 55: 481-504.

Hayder.N ; Skandrani. I; Kilani. S; Bouhlel. I; Abdelwahed. A; Ben Ammar. R; Mahmoud. A; Ghedira. K; Chekir-Ghedira. L. (2008). *South African Journal of botany*, 74: 121-125.

Heim. K; Tagliaferro. A; and Bobilya. D. (2002). Flavonoids antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.

Hellal. Z. (2011). Contribution à l'étude des propriétés antibacteriennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). mémoire de Magister en biologie. université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou. Algérie : 78.

Heller. W ; Forkmann. G. (1993). The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK : 399-425.

Hennebelle. T ; Sahpaz. S ; Bailleul. F. (2004). Polyphénols végétaux sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif, *Phytothérapie*, 1: 3-6.

Hideo. O ; Akio. M ; Yasuko. Y ; Mitsuru. N ; Yoshimasa. T. (1993). *Phytochemistry*, 33: 557-561.

Kaddem. S.E. (1990). Les plantes médicinales en Algérie. Paris, Le monde pharmaciens: 113.

Kamarul'Ain. M ; Nigel. B.P; Rex. T.W. (2003). *Phytochemistry*, 64: 1285-1293.

Kanoun. K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magister, Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen: 48.

Kansole. M.M.R. (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucosmartinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposstavaahl* et *Orthosiphon pallidus royle ex benth*. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

Khenaka. K. (2011). Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse de Magister En Microbiologie Appliquée, Université Mentouri- Constantine. Algérie. :81.

Kim. H.M ; Lee. E.H ; Hong. S.H ; Song. H.J; Shin. M.K ; Kim. S.H; Shin. T.Y. (1998). *Journal of Ethnopharmacology*, 60: 125-131.

Koffi. N ; Beugré. K; Guédé. N. Z ; Dossahoua. T; Laurent. A. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Kroubo (Agboville, Côte-d'Ivoire), *Sciences & Nature*, 6(1:1):15

Lee. K.W; Kim. Y.J; Lee. H.J; et Lee. C.Y. (2003). Cacao has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Food chemistry*, 51: 7292-7295.

Ling. L.Y; Chih. Y.L; Kun. Y.Y. (2000). Cancer letters, 157: 65-75.

Litvak. M.E ; Monson. R.K. (1998). Patterns of induced and constitutive monoterpene production in conifer needles in relation to insect herbivory, *Oecologia* ,114: 531-540.

Liuk. L; Sun. Y; Laura. T; Liang. X; Ye. H; Zeng. X. (2009). Determination of polyphenolic content and antioxidant activity of Kudingcha made from *Ilex kudingcha* C.J. *Tseng*, Food chemistry, 112: 35-4.

Mahmoudi. S; Khali. M; Mahmoudi. N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*CynarascolymusL.*) : 36.

Makkar. H.P.S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds, *Small Ruminant Research*, (49) : 241-25.

Malcolm. H.D; John. W.V.K; Bruce. M.S; Nigel. B.P; Rosemary. E.A; Peter. J; Weavers. R.T. (2004). *Phytochemistry*, 65: 1255-1264.

Mansouri. A; Embarek. G; Kokkalou.E; Kefalas. P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*), *Food Chemistry*, 89: 411-420.

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: 813-819.

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

Matkowski. A; Tasarz. P; and Szypula. E. (2008). Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from *Lamiaceae*, subfamily *Lamioideae* , *Journal of Medicinal Plants Research*, 2 (11): 321-330.

Mayer. A.M. (2004). Resistance to herbivores and fungal pathogens: Variations on a common theme. A review comparing the effect of secondary metabolites, induced and constitutive, on herbivores and fungal pathogens , *Israel Journal Of Plant Sciences*, 52: 279-292.

Midoun. T. (2011). Extraction Des Composés Phénoliques Et Étude Leurs Activités Antioxydante Par La Voltamétrie Cyclique, Mémoire Présenté pour l'obtention du diplôme de Master: 53.

Migliore. J. (2011). Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre *Myrtus* en méditerranée et au Sahara. Thèse de doctorat, Université Paul Cézanne d'Aix-Marseille III: 66-117.

Miliauskas. G; Venskutonis. P.R; et Van Beek. T.A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract, Food Chemistry, 85: 231-237.

Mimica-Dukić. N; Bugarin. D; Grbović. S; Mitić-Ćulafić. D; Vuković-Gačić. B; Orčić. D; Jovin. E; et Couladis. M. (2010). Essential Oil of *Myrtus communis* L. As a Potential Antioxidant and Antimutagenic Agents, 15: 2759-2770.

Montoro. P; Tuberoso. C.I.G; Perrone. A; Piacente. S; Cabras. P; Pizza. C. (2006a). Characterisation by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry of anthocyanins 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.

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

Mulas. M; Francesconi. A. H. D; & Perinu. B. (2002). Myrtle (*Myrtus communis* L.) as a new aromatic crop: cultivar selection, Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 9: 127-131.

Mulas. M; Francesconi. A.H.D; Perinu. B; & Fadda. A. (2002). 'Barbara' and 'Daniela': Two Cultivars for Myrtle Berries Production, Acta Horti culturae, 576: 169-175.

Najjaa. N; Zouari. S; Arnault. I; Auger. 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) :111-123.

Newman. D.J ; Cragg. G.M. (2012). Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. J. Nat. Prod, (75): 311-335

Nguyen. T.D; Jung. M.K; Sun. C.K. (2008). Food and chemical Toxicology, 46: 3632-3639.

Nguyen. T.D; Vivek. K.B; Jung. I.Y; Sun. C.K. (2009). Food and chemical Toxicology, 47: 449-453.

Nkhili. E.Z. (2009). Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat en Sciences des Aliments.

Perret. Camille.(2001). Thèse de doctorat Analyse de tannins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par *Botrytis cinerea* Pers: Fr.

Peterson. J.D.M. (1998). Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity, Nutrition Res, 18: 1995-2018.

Philips. A; Philips. S; Arul. V; Padmakeerthiga. B; Renju. V; Santha. S; et al.(2010). Free radical scavenging activity of leaf extracts of *Indigofera aspalathoides* – An in vitro analysis, J Pharm Sci Res, 2: 322-328.

Ponce. A.G; fritz. R; DEL Valle. C; roura. S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard , Libens mittel-wissenschaftund technology : 500-508.

Quezel. P; et Santa. S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II Edition. CNRS. Paris: 804-806.

Rameau. J.C; Mansion. D; Dumé. G. (2008). Flore forestière française: Région Méditerranéenne. Ed , Institut Pour Le Développement Forestier, 2432: 771.

Ratna. C.P ; Birger. H ; Braden. B ;Lauren. S; Waltner-Law. M. (2005). Journal of Ethnopharmacology, 96: 295-301.

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.

Romani. A ; Pinelli. P ; Galardi. N ; Mulinacci. N ; and Tattini. M. (2002). Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of

Pistacia lentiscus L, Phytochemical Analysis, 13: 79-86.

Romina. V.B ;Miriam. G.E. (2008). Food microbiology, 25: 324-334.

Rosa. M.P.G ; Sylvia. M ; Rosario. V.S. (2008). Journal of Ethnopharmacology, 117: 1-27.

Sarl. T. (2007). La boutique en corse, les plantes adaptées aux jardins et espaces verts varois. France: régis rostein: 4-8.

Sarni-machado. P; Veronique. C. (2006) . Les polyphénols en agroalimentaires , Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC.Paris (France): 398.

Seenivasan. P . (2006). In vitro antibacterial activity of som plant essential oils, Journal of complementary and alternative medicine. (9): 6-39.

Seyoum. A; Asres. K; and El-Fiky. F.K. (2006). Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids, Phytochemistry, 67 : 2058–2070.

Soltis. D; Smith. S. A; Cellinese. N; Wirdack. K. J; Tank. D. C; Brockington. S. F; et al. (2011). Angiosperm phylogeny: 17 genes, 640 taxa, American Journal of Botany, 98: 704-730.

Sumbul. S; Aftab Ahmad. M; Asif. M; & Akhtar. M. (2011). *Myrtus communis* Linn. A review, Indian Journal of Natural Products and Resources, 2: 395-402.

Su. M.S; Shyu. Y. T; Chien. P.J. (2008). Antioxydant activities of citrus herbal product extracts, *Food chemistry*, 111: 892-896.

Thomas. M. (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë ramnoides*) thèse de doctorat. Université Toulouse.

Torres. R; Faini. F; Modak. B; Urbina. F, Labbe.´ C; Guerrero. J.(2006): Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*, Phytochemistry, 67: 984–987.

Tremellen. K. (2008). Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. Hum Reprod Update, 14: 243-258.

Tuba. MERT ; Tuğçe. FAFAL ; Bijen. KIVÇAK ; H. Tansel. ÖZTÜRK. (2008).ANTIMICROBIAL AND CYTOTOXIC ACTIVITIES OF *MYRTUS COMMUNIS* L.J. Fac. Pharm, Ankara, 37 (3): 191 – 199.

Tuberoso. C. I. G; Rosa. A; Dessì. M. A et al. (2010). Chemical composition and antioxidant activities of *Myrtus communis* L. berries extracts , Food Chemistry, 123 : 1242-51.

Umadevi. I ; Daniel. M ; Sabnis. S. D. (1988). Chemotaxonomic studies on some members of Anardiaceae, In Proceedings of the Indian Academy of Sciences – Plant sciences, 98(3) : 205–208.

Verpoorte. R ; Alfermann. A.W. (2000). Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism. Ed. Kluwer Academic, Dordrecht. Netherlands: 286.

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: 1362–1370.

Wichtl. M ; Anton. R. (2009). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, Édition LAVOISIR, Paris: 38- 41.

Wojdylo. A; Oszmianski. J; Czemerys. R. (2007). Food chemistry, 105: 940-949.

Wolin. M.S; Ahmed. M; Gupte. (2005). Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms : basic concepts ,current conteroversise , and potential importance of cytosolic NADPH , Am J Physiol Lung cell Mol physiol, 289: 159-173.

Yadegarinia. D ; Gachkar. L ; Rezaei. M.B ; Taghizadeh. M ; Astaneh. S.A ; Rasooli. I. (2006). Phytochemistry, 67: 1249-1255.

Yao. L.H; Jiang. Y.M ; Shi. J; Tomas-barberan. F.A; Datta. N; Singanusong. R; Chen. S.S. (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. Plant, Food Hum. Nutr, 59 : 113-122.

Yves-Alain. B; Janat. A; Mamyrbekova. B; Boua. B; Fézan. H. Trabi; Ehouan. E.(2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. And Zarucchi (Caesalpinaceae), Sciences & Nature, 4 (2) : 217 – 225.

Ziegler. J; Facchini . P.J. (2008). Alkaloid Biosynthesis: Metabolism and Trafficking, Annu Rev Plant Biol , 59: 735 – 769.

Résumé

Notre travail a porté sur une étude phytochimique et une évaluation des activités biologiques in-vitro des extraits de deux parties de la plante *Myrtus communis* L.

Myrtus communis L. est une plante médicinale répandue dans les régions méditerranéennes, appartient à la famille des Myrtaceae. Connue sous le nom (Rayhan, Mersin, A'as, Halmouche).

Cette étude effectuée sur les extraits méthanolique des tiges et feuilles de *Myrtus communis* L. qui sont obtenus par macération à froid en utilisant comme solvant le méthanol /eau (7/3, V/V). Les tests phytochimiques ont révélé que cette plante est riche en flavonoïdes, tanins (gallique), quinones, saponines, stérols, poly-terpènes et les sucres réducteurs.

La teneur en phénols totaux est variable, l'extrait brut des feuilles présent une teneur de 124,8 mg EAG/g d'extrait, tandis que celle des tiges est 92,8 mg EAG/g d'extrait.

La teneur des flavonoïdes a été déterminée par quercétine, une tenure de (15,4mg EQ/g d'extrait) pour les tiges alors que pour les feuilles, elle est de (12,91mg EQ/g d'extrait).

L'activité anti-oxydante des différents extraits a été évaluée par la méthode de DPPH, les résultats obtenus pour l'activité anti-radicalaire montrent que les extraits possèdent un grand pouvoir avec des IC50 de l'ordre de 0,14 mg/ml pour les tiges, et de 0,49 mg/ml pour les feuilles. L'évaluation du pouvoir réducteur des deux extraits méthanoliques est de l'ordre de 0,5mg/ml est égale à DO= 0.265 pour les tiges, et DO= 0.24 pour l'extrait des feuilles.

L'activité antibactérienne a été testée sur trois souches de référence et une souche clinique par la méthode de diffusion en disque, en milieu solide les résultats montrent que l'extrait méthanolique des feuilles possède un pouvoir plus fort avec un maximal d'inhibition de 15 mm pour *Staphyococcus aureus*, que celle des tiges avec 14 mm pour *Staphyococcus aureus*.

Mots clés : *Myrtus communis* L., activité antioxydante, criblage phytochimique, activité antibactérienne.

Abstract

Our work focused on a phytochemical study and an evaluation of *in-vitro* biological activities of extracts of two parts (stems and leaves) of the plant *Myrtus Communis* L.

Myrtus communis L. is a medicinal plant widespread in the Mediterranean regions, belongs to the Myrtaceae family. Known as (Rayhan, Mersin, A'as or Halmouche)

This study was carried out on the methanolic extracts of the stems and leaves of *Myrtus communis* L. which are obtained by cold maceration using as solvent (methanol / water (7/3, V / V)). Phytochemical tests revealed that this plant is rich in flavonoids, tannins (gallic), quinones, saponins, sterols, poly-terpenes and reducing sugars.

The total phenol content is variable, the crude extract of the leaves has a content of 124.8 mg EAG / g of extract, while that of the stems is of the order of 92.8 mg EAG / g extract.

The content of the flavonoids was determined by quercetin, tenure of (15.4mg EQ / g of extract) for the stems whereas for the leaves it was (12.91mg EQ / g extract).

The antioxidant activity of the various extracts was evaluated by the DPPH method, the results obtained for the anti-free radical activity show that the extracts possess a high power with IC₅₀s of the order of 0.14 mg / ml for the stems, and 0.49 mg / ml for the leaves. The evaluation of the reducing power of the two methanol extracts is of the order of 0.5 mg / ml is equal to DO = 0.265 for the stems, and DO = 0.24 for the extract of the leaves.

The antibacterial activity was tested on three reference strains and a clinical strain by the disk diffusion method; in solid medium the results show that the methanol extract of the leaves has a stronger power with a maximum inhibition of 15 Mm for *Staphyococcus aureus*, than that of stems with 14 mm for *Staphyococcus aureus*.

Key words: *Myrtus communis* L., antioxidant activity, phytochemical screening, activity antibacterial.

ملخص

قد ركز عملنا على دراسة الكيمائية- النباتية وتقييم النشاط البيولوجي في المختبر لخلاصات جزأين (السيقان والأوراق)

من نبات الآس *Myrtus communis* L.

Myrtus communis L. هونبات طبي منتشر في منطقة البحر الأبيض المتوسط و ينتمي إلى عائلة Myrtaceae معروف باسم الريحان. المرسين. الآس أو الحلموش .

تم تنفيذ هذه الدراسة على خلاصات الميثيلي لسيقان و أوراق الآس التي حصلنا عليها عن طريق النقع البارد باستخدام (الميثانول / الماء 3/7) الاختبار الكيميونباتي أنه غني ب الفلافونويد . العفص (الغال) . القلويات. الصابونين. الستيروول. التربينات المتعددة و السكريات المرجعية.

محتوى الفينولات الكلية متنوع . المستخلص الخام للأوراق يقدم محتوى 124.8 مغ مكافئ لحمض الغاليك / غ مستخلص . في حين بالنسبة للسيقان فهو 92.8 مغ مكافئ لحمض الغاليك / غ مستخلص .

محتوى الفلافونويد حدد بواسطة الكارستين . وجدنا محتوى 15.4 مغ مكافئ للكارستين / غ مستخلص بالنسبة للسيقان أما بالنسبة للأوراق 12.91 مغ مكافئ للكارستين / غ.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمختلف المستخلصات بواسطة منهجية DPPH .

النتائج المتحصل عليها للنشاط ضد-جذري تظهر ان المستخلصات تمتلك IC50. تساوي 0.14 ملغ/مل بالنسبة للسيقان قدرة

و 0.49 ملغ / مل بالنسبة للأوراق. تقييم قدرة إرجاع المستخلصين في تركيز 0.5 ملغ / مل تساوي DO= 0.265 و بالنسبة للسيقان. و. DO= 0.24 بالنسبة للأوراق.

تم اختبار النشاط ضد البكتيري على ثلاث سلالات بكتيرية مرجعية و واحدة سريرية . من خلال طريقة قرص الانتشار في وسط صلب . أظهرت النتائج أن لمستخلص الأوراق الميثيلي أكبر منطقة تثبيط مع *staphylococcus aureus*

بقطر تثبيط يساوي 15 ملم .أنا بالنسبة لمستخلص السيقان فهو يساوي 14 ملم لنفس البكتيريا.

الكلمات المفتاحية :

Myrtus communis L. النشاط ضد البكتيري. النشاط المضاد للأكسدة . المسح الفيتوكيميائي.

Année universitaire : 2016/2017

Présenté par :

Seghaouil Manel et Zermane Aya

Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques *in vitro* de l'espèce *Myrtus communis* L.

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

Résumé

Notre travail a porté sur une étude phytochimique et une évaluation des activités biologiques in-vitro des extraits de deux parties (tiges et feuilles) de la plante *Myrtus communis* L.

Myrtus communis L. est une plante médicinale répandue dans les régions méditerranéennes, appartient à la famille des Myrtaceae. Connue sous le nom (Rayhan, Mersin, A'as ou Halmouche).

Cette étude a été effectuée sur les extraits méthanolique des tiges et feuilles de *Myrtus communis* L. qui sont obtenus par macération à froid en utilisant comme solvant (méthanol /eau (7/3, V/V). Les tests phytochimiques ont révélé que cette plante est riche en flavonoïdes, tanins (gallique), quinones, saponines, stérols, poly-terpènes et les sucres réducteurs.

La teneur en phénols totaux est variable, l'extrait brut des feuilles présente une teneur de 124,8 mg EAG/g d'extrait, tandis que celle des tiges est de l'ordre de 92,8 mg EAG/g d'extrait.

La teneur des flavonoïdes a été déterminée par quercétine, une tenure de (15,4mg EQ/g d'extrait) pour les tiges alors que pour les feuilles, elle est de (12,91mg EQ/g d'extrait).

L'activité anti-oxydante des différents extraits a été évaluée par la méthode de DPPH, les résultats obtenus pour l'activité anti-radicalaire montrent que les extraits possèdent un grand pouvoir avec des IC50 de l'ordre de 0,14 mg/ml pour les tiges, et de 0,49 mg/ml pour les feuilles. L'évaluation du pouvoir réducteur des deux extraits méthanoliques est de l'ordre de 0,5mg/ml est égale à DO= 0.265 pour les tiges, et DO= 0.24 pour l'extrait des feuilles.

L'activité antibactérienne a été testée sur trois souches de référence et une souche clinique par la méthode de diffusion en disque, en milieu solide les résultats montrent que l'extrait méthanolique des feuilles possède un pouvoir plus fort avec un maximal d'inhibition de 15 mm pour *Staphyococcus aureus*, que celle des tiges avec 14 mm pour *Staphyococcus aureus*.

Mots clés: *Myrtus communis* L., activité antioxydante, criblage phytochimique, activité antibactérienne.

Laboratoire de recherche : BIOCHIME

Jury d'évaluation :

Présidente: HALMI Sihem.

MC.B- UFM Constantine.

Rapporteuse : MAAMERI-HABIBATNI Zineb.

MC.B- UFM Constantine.

Examinatrice : Mosbah Asma.

MC.B- UFM Constantine.

Date de soutenance : 02/07/2017