

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ DE BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE

DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



Réf :...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

M^{elle} SAIAH Sarah & M^{elle} DERRADJI Chaima

Thème

Contribution à l'étude comparative de l'activité antioxydante de deux extraits des feuilles de *Myrtus communis* L.

Soutenu le: 14/07/2021

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
<i>Mme Metidji Karima</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mme Djouahra-Fahem Djamila</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme Bensmail Souhila</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année universitaire : 2020/2021

Remerciements

Avant toute chose, nous tenons à remercier Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné la force, la patience et la santé pour terminer cette année d'étude.

*Au terme de ce travail nous tenons à remercier notre promotrice Madame **DJOUAHRA DJAMILA**, de nous avoir proposé le sujet de ce mémoire et pour les efforts, pour ses orientations, ses encouragements, sa patience, sa confiance et surtout pour les conseils qu'elle nous a prodigués.*

Nous tenons également à remercier tous les membres de notre jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

*A Mme **METIDJI KARIMA** qui nous a fait l'honneur de présider notre jury*

*A madame **BENSMAIL SOUHILA** qui nous a fait honneur d'examiner notre jury*

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Sarah & Chaima

Dédicaces

Le cœur plein de joie, je dédie ce modeste travail à :

Ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

*Particulièrement à mes très chers parents : **Miloud & Oumelkhir***

Pour leurs endurance, leur amour, leurs sacrifices et leurs encouragements.

*A mes sœurs (**Asma, Khadidja**) , qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.*

*A mes très chères amies : **Hind, Soumia, Amina, Zahia***

A tous mes camarades de la promotion master 2 : Biochimie Appliquée

*A mon binôme **Chaima***

Sarah

Dédicaces

A mes parents qui m'ont donné le sens de la vie.

A mes grands-parents pour les quels je dois tous mon respect

*A mon frère **Fatah** et mes sœurs : **Imain, Fatma et Roukaia.***

*A toutes les familles. **DERRADI, et HAMOUDI***

*A toutes mes camarades :**Soumaia,Dalal,Masouda ,khadidja et Amina***

*A mon binôme **Sarah***

*A tous mes camarades de la promotion master 2 Biochimie Appliquée : **Faisa et Fariel***

A titre de reconnaissance, d'amour et d'affection.

Chaima

Table des Matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Première partie 1 (Synthèse Bibliographique)

Chapitre I: Généralités sur le *Myrtus communis* L.

I.1- Présentation de la famille Myrtaceae.....	3
I.2- Classification.....	3
I.3- Noms vernaculaires.....	3
I.4- Description botanique.....	4
I.5- Description géographique.....	4
I.6- Composition chimique.....	4
I.6.1- Métabolites secondaires isolés à partir de <i>Myrtus communis</i> L	6
I.6.1.1- Les polyphénols	6
I.6.1.2- Les huiles essentielles.....	8
I.7- Utilisations.....	9

Chapitre II : Les Polyphénols

II.1- Définition des polyphénols.....	10
II.2- Structure chimique de polyphénols.....	10
II.3- Classification des polyphénols.....	10
II.3.1- Les composés phénoliques.....	11
II.3.1.1- Les acides phénoliques.....	11
II.3.1.1.1- Les acides benzoïques.....	12
II.3.1.1.2 - Les acides cinnamiques.....	12
II.3.1.2- Les coumarines.....	13
II.3.1.3- Les quinones.....	13
II.3.1.4- Les tanins.....	13
II.3.1.5- Les flavonoïdes.....	13
II.3.1.6- Les anthocyanes.....	14
II.4- Extraction et caractérisation des polyphénols	14
II.5- Intérêts et rôles des composés phénoliques	14

II.6- Autres activités des polyphénols	15
II.7- Domaines d'application des polyphénols	15

Chapitre III : Activité antioxydante

III.1- Définition d'oxydation.....	16
III.2- Les antioxydants.....	16
III.3- Les radicaux libres dans le système biologique	16
III.4- Stress oxydant	16
III.5- Mécanisme d'oxydation	17
III.5.1- L'auto-oxydation.....	17
III.5.2- La photo-oxydation.....	17
III.5.3- La voie enzymatique	17
III.6- Classification des antioxydants	17
III.6.1- Selon le mécanisme d'action	17
III.6.1.1- Antioxydants de type I	17
III.6.1.2- Antioxydants de type II	18
III.6.1.3- Antioxydants de type III.....	18
III.6.2- Selon l'origine	18
III.6.2.1- Les antioxydants synthétiques	18
III.6.2.2- Les antioxydants naturels.....	19

Deuxième Partie 2 (Partie Pratique)

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1- Récolte	21
I.2- Séchage	21
I.3- Les tests phytochimiques	21
I.3.1- La préparation de l'infusion à 5%	21
I.3.2- Identification tannins totaux	22
I.3.3- Identification des tannins galliques	22
I.3.4- Identification des saponosides	22
I.3.5- Identification des anthocyanes	22
I.3.6- Identification des mucilages.....	22
I.3.7- Identification de l'amidon	22
I.3.8- Identification des coumarines	22
I.3.9- Identification des glucosides	23

I.3.10- Identification des les leuco-antocyanes	23
I.3.11- Identification des flavonoïdes	23
I.3.12- Identification des iroïdes	23
I.4- L'extraction de polyphénols	23
I.4.1- Calcul de rendement de l'extrait sec.....	23
I.5- Dosage des polyphénols totaux.....	25
I.6- Dosage des flavonoïdes.....	25
I.7- Activité antioxydante	26
Chapitre II : Résultats et discussion	
II.1- Screening phytochimique	28
II.2- Le rendement d'extraction	29
II.3- La teneur en polyphénols totaux	29
II.4- La teneur en flavonoïdes	31
II.5- L'activité antioxydante.....	32
II.5.1- Calcul d'IC ₅₀	33
Conclusion	35
Références Bibliographiques	36

Liste des abréviations

Al Cl₃ :	Trichlorure d'aluminium
BHA :	Butuyl-Hydroxy-Anisole
BHT :	Butuyl-Hydroxy-Toluène
DDPH :	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EAG :	Equivalents d'acide gallique
EAM :	Extraction assistée par micro-ondes
EAU :	Extraction assistée par ultrasons
ESC :	Extraction par solvant conventionnel
GC-MS :	Chromatographie en phase gazeuse spectrométrie de masse
HPLC-DAD :	Chromatographie liquide hautes performances avec détection par barrette diodes
HPLC-ESI-MS :	Chromatographie en phase liquide à hautes performances/spectrométrie de masse en tandem avec ionisation par électrospray
HPLC-GC :	Chromatographie liquide haute performance couplée à la chromatographie en phase gazeuse
HPLC-MS :	Spectrométrie de masse en tandem à chromatographie en phase liquide haute performances
HPLC-UV :	Chromatographie liquide haute performance-ultraviolet
HPLC-UV/VIS:	Chromatographie liquide haute performance- ultraviolet-visible
HPTLC :	Chromatographie sur couche mince haute performance
H₂SO₄ :	Acide sulfurique
H₃PW₁₂O₄₀ :	Acide phosphotungstique
H₃PW₀₁₂O₄₀ :	Acide phosphomolybdique
I % :	Pourcentages d'inhibition
IC₅₀ :	Concentration inhibitrice à 50%
LC-MS-MS :	Chromatographie liquide/spectrométrie de masse en tandem
MS :	Matière sèche
Na₂CO₃ :	Carbonate de sodium

Liste des figures

Figure 1 : Photographie des différentes parties aériennes de <i>Myrtus commuins</i> L.....	4
Figure 2: Répartition du <i>Myrtus communis</i> L. dans le monde	5
Figure 3 : Les principaux composants polyphénoliques du <i>Myrtus communis</i> L.	7
Figure 4: Les différentes huiles essentielles de <i>Myrtus communis</i> L.....	9
Figure 5 : Structure des polyphénols	10
Figure 6 : Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque	12
Figure 7 : Quelques dérivés de l'acide hydroxydcinnamique	12
Figure 8 : Structure de base de coumarine	13
Figure 9 : Structure de base des flavonoïdes	13
Figure 10 : Structure générale des anthocyanes	14
Figure 11 : Structures chimiques de quatre antioxydants synthétiques	19
Figure 12 : Structures chimiques des quelques antioxydants naturels.....	20
Figure 13: Carte géographie de wilaya de Bouira illustrant la région de collecte (Djabahia)	21
Figure 14 : Les étapes d'extraction des polyphénols des feuilles de <i>Myrtus communis</i> par la méthode de macération	24
Figure 15 : Réduction du radical libre DPPH	26
Figure 16 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0,2 mg/ml).....	30
Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la quercétine (0,5 mg/ml).....	31
Figure 18 : Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH* par l'acide ascorbique.....	32
Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du DPPH par l'extrait aqueux (A) et éthanolique	34

Liste des tableaux

Tableaux I: Composition chimiques de <i>Myrtus communis</i> L.....	5
Tableau II: Les composés phénoliques de <i>M. communis</i> L.....	8
Tableau III: Les principales classes des composés phénoliques.....	11
Tableau IV: Activités biologiques des composés polyphénoliques.....	15
Tableau V: Les principaux métabolites secondaires contenus dans l'extrait de <i>M. communis</i> L.....	28
Tableau VI: Caractéristiques et rendements des différents extraits obtenus par macération des feuilles de <i>M. communis</i> L.....	29

Introduction

Introduction

Les plantes sont une usine biologique naturelle, qui produit des substances biochimiques actives telles que les phénols, les huiles essentielles.... (Croteau *et al.*, 2000). Elles sont considérées toujours comme une source très essentielle pour la fabrication des médicaments, et mettent à la disposition de l'homme des substances qui peuvent être utilisées pour sa santé et satisfaire ses besoins vitaux (Hostettmann *et al.*, 1998; Croteau *et al.*, 2000).

Les plantes aromatiques et médicinales occupent une large place et jouent un grand rôle dans le domaine économique (Bellakhdar, 1997). Elles sont à la fois un produit fini consacré à la consommation et une matière première pour l'obtention des substances actives (Aberkane, 2006). Elles sont utilisées dans plusieurs domaines: industrie alimentaire, cosmétique, pharmacocinétique (Chaker, 2010).

Parmi les substances élaborées par les plantes, on retrouve, dans une grande mesure, les métabolites secondaires notamment les polyphénols qui sont utilisées en thérapeutique, comme des anti-inflammatoires, antioxydants, inhibiteurs enzymatiques, antiradicalaires (Bahorun, 1997). Ils sont présents dans toutes les parties des plantes (racines, tiges, feuilles, fleurs et fruits) et ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques, parmi ces substances: les flavonoïdes, les tannins et les anthocyanes (Boizot et Charpentier, 2006).

Actuellement la population algérienne utilise une bonne quantité de plantes aromatiques et médicinales endémiques parmi lesquelles on cite le *Myrtus communis* L.

Cette espèce appartient à la famille des myrtacées elle est connue par des propriétés antioxydantes, astringentes et désinfectantes. Elle est reconnue aussi par ces applications dans les traitements des maladies des voies respiratoires et urinaires (Baba Aissa, 1999; Mimica-Dukie *et al.*, 2010) et comme producteur des antioxydants d'origine naturelle pour augmenter la durée de conservation des aliments (Velioglu *et al.*, 1998).

L'objectif de notre travail consiste à faire une étude phytochimique sur la plante *Myrtus communis* L, ensuite évaluer l'activité antioxydante de ses extraits éthanolique et aqueux.

Notre travail comporte deux parties : une partie bibliographique qui contient trois chapitres dont le premier qui rapporte des généralités sur la plante *M. communis* L. Le deuxième est consacré à l'étude des polyphénols, leurs propriétés et classification, alors que

le troisième chapitre est réservé à l'étude de l'activité antioxydante. Une deuxième partie (partie pratique) qui décrit le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail ainsi que les résultats obtenus et leur discussion. En fin une conclusion et quelques perspectives.

Première partie (synthèse bibliographique)

Chapitre I

Généralités sur le *Myrtus communis* L

Chapitre I: Généralités sur *Myrtus communis* L.

I.1- Présentation de la famille *Myrtaceae*

Les Myrtacées est une famille de plante de dicotylédones qui comporte 5650 espèces qui produisent des huiles aromatiques, elles sont classées comme des plantes médicinales (**Aidi Wannan et al., 2010**).

Parmi les 1.500.000 espèces végétales, seulement 10% sont des plantes aromatiques parmi lesquelles on peut citer la famille de *Myrtaceae*. Le *Myrtus communis* L. qui est une plante sauvage, le nom grec : «*Myrtus* » indique le Myrte et «*communis*» signifie connue. Elle est classée comme une plante médicinale, c'est une espèce d'arbuste buissonnant au port dressé Elle est présente dans plusieurs régions dans le monde, elle est endémique pousse spontanément dans les régions méditerranées et dans le Sahara (**Aidi Wannan et al., 2009**).

I.2- Classification

La classification botanique de *Myrte commun* est représentée comme suivant (**Goetz, 2012**) :

Règne	Plantae
Sous - règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Dicotylédones
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>M. communis</i> L.

I.3- Nom vernaculaires

Arabe : Arrayhan الريحان

Bérbère : Chilmoune

Français : Myrte commun

Anglais : common myrtle, sweet myrtle

Espagnol : murt

Allemand : Braut-Myrte, Brautmyrte

Italien : Mirto (**Goetz, 2012**).

Chapitre I: Généralités sur *Myrtus communis* L.

I.4- Description botanique

Myrte commun contient des feuilles, fruits et des fleurs. Elle est caractérisée par des feuilles de 2 à 5 cm de long à très court pétioles, opposée de couleur verte foncée et ovale. Des fleurs sont de couleur blanche solitaires et très odorantes, la floraison débute à partir de mois de Mai et peut aller jusqu'à à Aout (**Barboni, 2006**).

Cette floraison donnent des fruits de couleur noir bleuâtre, qui sont présents du mois d'Octobre jusqu' à Février (**Bouzabata et al., 2016**). Ils sont à saveur résineuse, avec un gout astringent, contiennent des graines réniformes et luisantes. Toutes les parties de la plante contiennent des poches aux huiles essentielles responsables de son odeur suave (**Fournier, 1948; Montastier, 1997**).



A

B

C

Figure 1: Photographie des différentes parties aériennes de *M. communis* L. (**Alesic et Knezevic, 2014**). A : feuilles, B : fleurs, C : fruits

I.5- Description géographique

La plante *Myrte commun* a une distribution circum-méditerranéenne. Elle pousse spontanément sur les Iles, en Asie et dans la zone irono-toure (**Migliore, 2011; Hennia et al. 2018**). En Algérie, elle se trouve sur les montages de l'Atlas tellie et d'autre régions côtières (**Quèzel et Sana, 1962; Baba Aissa, 1999; Mimica-Dunkic, 2010**).

I.6- Composition chimique

La composition chimique d'une plante se diffère selon : l'origine, le mode d'extraction, l'organe et le stade végétal de maturité. Les différents composés de *M. communis* L. sont représentés dans le tableau I.

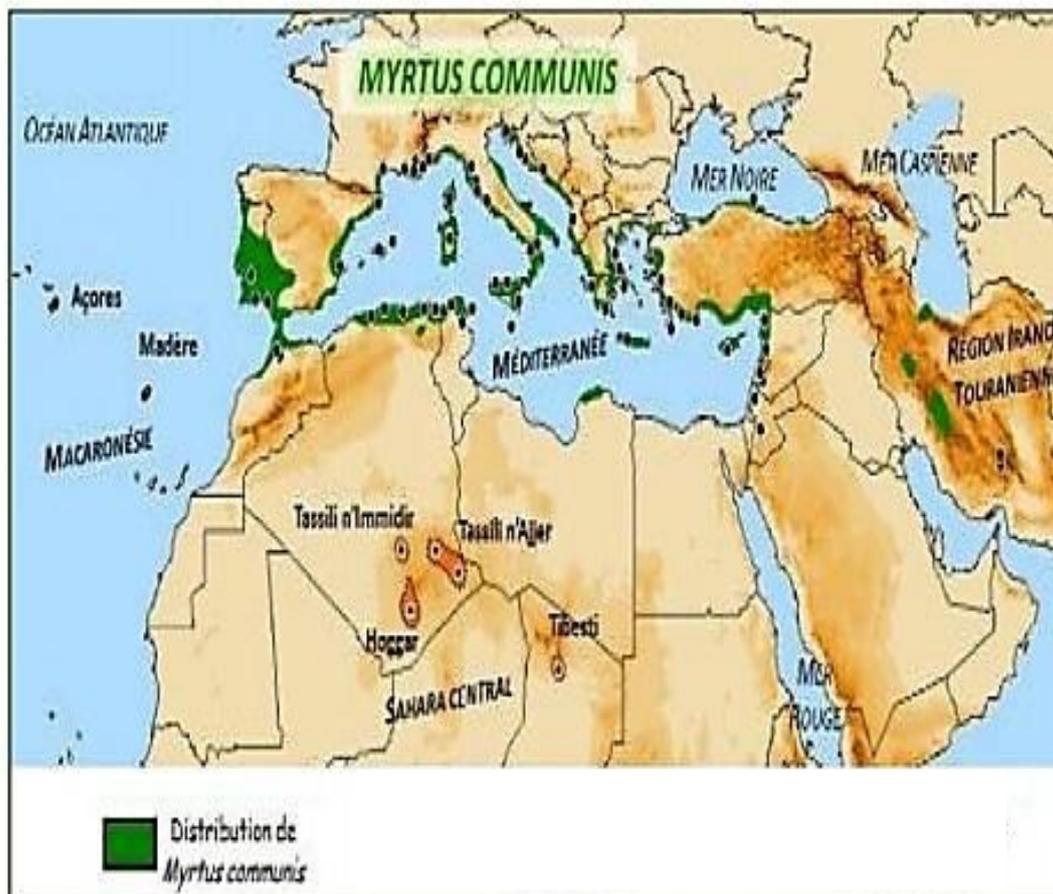


Figure 2: Répartition du *M. communis* L. dans le monde (Migliore, 2011)

Tableaux I: Composition chimique de *M. communis* L. (Cevat *et al.*, 2007).

Humidité (%)	74,44
Matière sèche (%)	25,56
Cellulose (%)	17,41
Sucres réducteurs (%)	8,64
Tannins (%)	0,0761
Huile végétale (%)	2,37
Huile essentielle (%)	0,01
Protéines (%)	4,17
Extraits solubles dans l'eau (%)	52,94
Cendres (%)	0,72
Acidité (% d'acide malique)	0,14
Valeur énergétique (Kcal/g)	11,21

I.6.1- Métabolites secondaires isolés à partir de *M. communis* L.

I.6.1.1- Polyphénols

Les polyphénols sont des molécules comportant plusieurs phénols. Ils forment un groupe des substances chimiques naturellement présente dans les plantes. Les polyphénols sont des métabolites secondaires (**Lebham, 2005**). Ils sont regroupés en trois classes : les acides phénoliques, les tannins et les flavonoïdes (Figure 3).

Les acides phénoliques est une composé organique possédant des propriétés antioxydants, il est utilisé pour prévenir les maladies liées au vieillissent en neutralisant les radicaux libre de l'organisme. Les composants majoritaires des feuilles se sont les tannins hydrolysables, flavonols et les proanthocyanidines avec une faible concentration par contre dans la tige on retrouve les flavonoïdes et une concertation faible en tannins. Tandis que les autres composés, ils sont présents en très faible concentration (**Aidi wannes et al., 2010**).

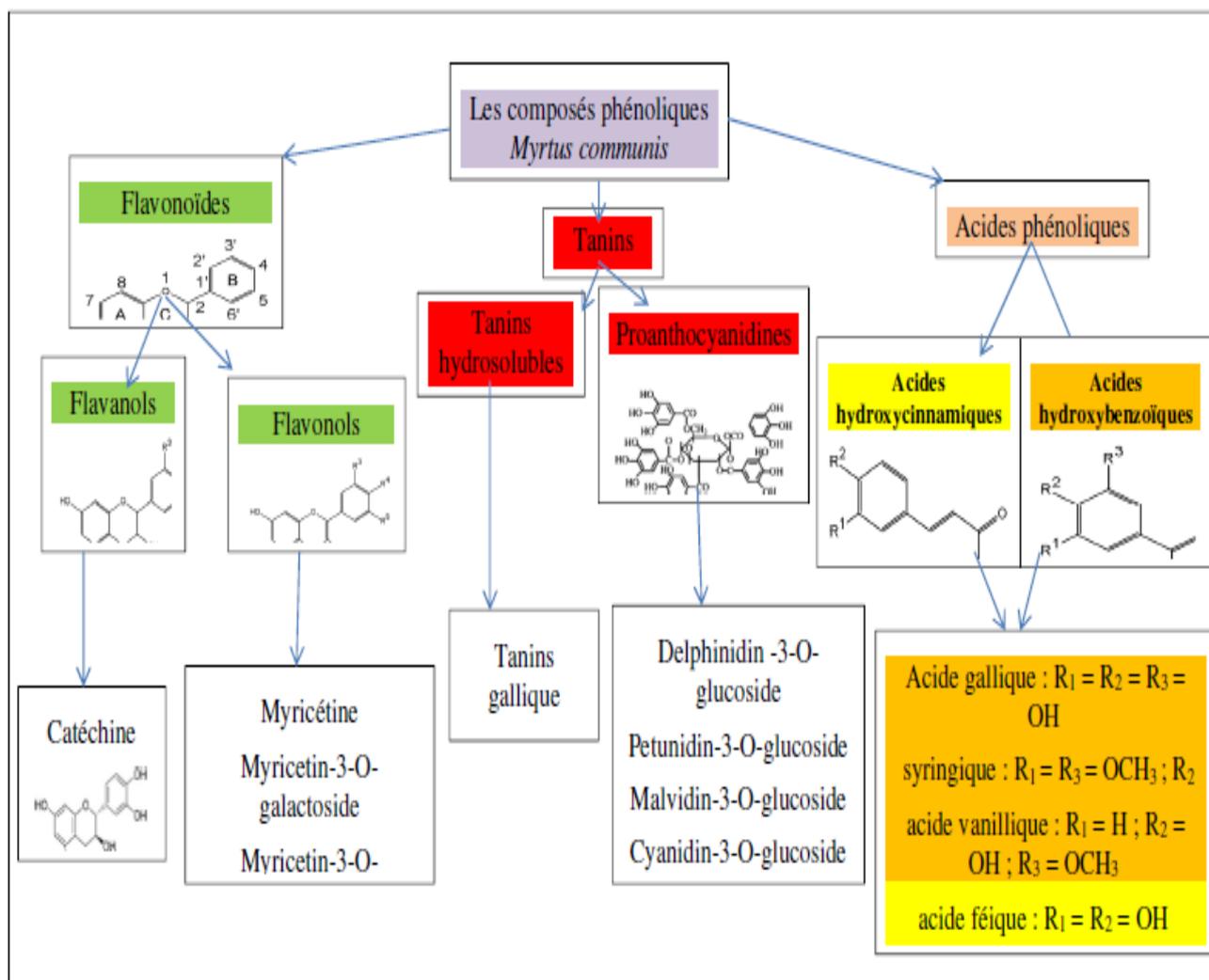
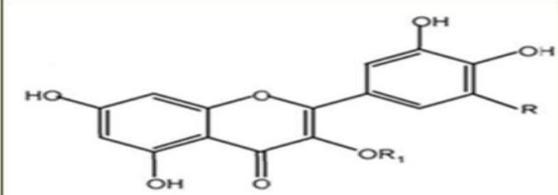
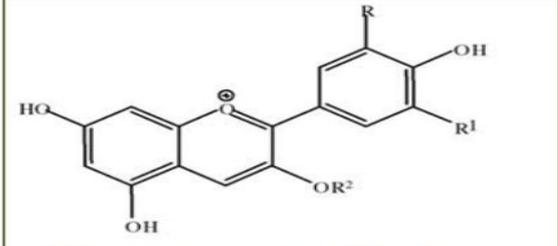
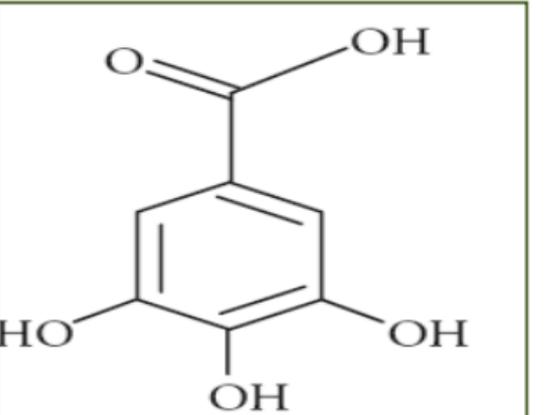


Figure 3: Les principaux composants polyphénoliques du *M. communis* L. (Aleksic et Knezevic, 2014; Heim *et al.*, 2002).

D'après les travaux de Montoro *et al.* (2006), les flavonoïdes et les anthocyanes ont été extraits des baies de *M. communis* L. alors que, les acides phénoliques comme l'acide gallique sont présents dans les différentes parties des fruits de *M. communis* L. (Aidi Wannes *et al.*, 2013). Les différentes structures des composés isolés sont représentées dans le tableau II.

Chapitre I: Généralités sur *Myrtus communis* L.

Tableaux II: Les composés phénoliques de *M. communis* L. (Montoro *et al.*, 2006; Theron, 2011)

Composés phénoliques	Structure
Flavonoïdes	<div style="text-align: center;">  <p>The structure shows a flavonoid aglycone core with a hydroxyl group at position 5, a carbonyl group at position 4, and a hydroxyl group at position 7. The C-3 position is substituted with a phenyl ring that has a hydroxyl group at position 3' and a substituent R at position 4'. The C-2 position is substituted with an OR₁ group.</p> </div> <p>Myricétine-3-<i>O</i>-galactoside, R=OH, R₁ = galactose Myricétine-3-<i>O</i>-rhamnoside, R=OH, R₁ = rhamnose Quercétine-3-<i>O</i>-glucoside, R=H, R₁ = glucose Myricétine-3-<i>O</i>-arabinoside, R=OH, R₁ = arabinose Quercétine-3-<i>O</i>-rhamnoside, R=H, R₁ = rhamnose Myricétine R=OH, R₁=H</p>
Anthocyanes	<div style="text-align: center;">  <p>The structure shows an anthocyanidin aglycone core with hydroxyl groups at positions 5 and 7, and a carbonyl group at position 4. The C-3 position is substituted with a phenyl ring that has a substituent R at position 3' and a hydroxyl group at position 4'. The C-2 position is substituted with an OR² group.</p> </div> <p>Delphidine-3-<i>O</i>-glucoside, R=R₁=OH, R₂= glucose Pétuidine-3-<i>O</i>-glucoside, R=OH, R₁=OCH₃, R₂= glucose Cyanidine-3-<i>O</i>-glucoside, R=OH, R₁=H, R₂= glucose Paéonidine-3-<i>O</i>-glucoside, R= OCH₃, R₁=OH, R₂= glucose Malvidine-3-<i>O</i>-glucoside, R=R₁=OCH₃, R₂= glucose Delphidine-3-<i>O</i>-arabinoside, R=R₁=OH, R₂= arabinose Pétuidine-3-<i>O</i>-arabinoside, R=OH, R₁=OCH₃, R₂= arabinose Malvidine-3-<i>O</i>-arabinoside, R=R₁=OCH₃, R₂= arabinose</p>
Acides phénoliques	<div style="text-align: center;">  <p>The structure shows gallic acid, which consists of a benzene ring with three hydroxyl groups at positions 3, 4, and 5, and a carboxylic acid group at position 1.</p> </div>

I.6.1.2- Les huiles essentielles de *M. communis* L.

Dans les feuille de myrte les composants majoritaires sont le 1,8-céneol, 1'- α -pinène, le limonène, linalol et parfois l'acétate de myrtémyle. La teneur en ces composés secondaires

Chapitre I: Généralités sur *Myrtus communis* L.

diffère selon la région, par exemple dans les régions centres d'Algérie, les composants majoritaires sont: le 1,8-céneol (15,8%), 1'- α -pinène(2,9%), le limonène(8,7%)

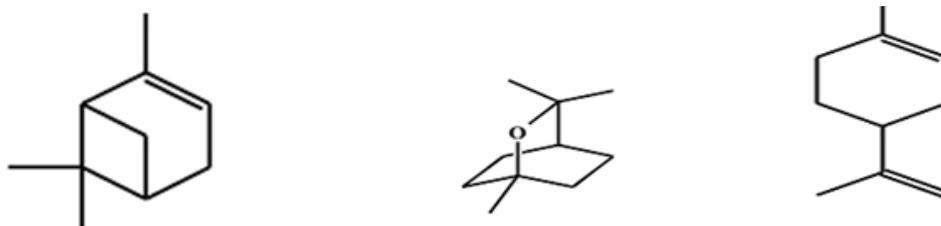


Figure 4: Les différentes huiles essentielles de *M. communis* L. (de gauche à droite : pipène, cinéol, limonène) (Bouzabata *et al.*, 2015).

I.7- Utilisations

M. communis L. a été depuis longtemps utilisée soit dans la préparation alimentaire comme un épice, soit comme plante médicinale. Le *Myrtus* est caractérisé par son odeur agréable, mais il n'est pas utilisé comme une épice à une grande échelle à cause de son goût intense très désagréable. Dans la médecine, il est utilisé comme un désinfectant, antiseptique et un agent hypoglycémique. Toutes les parties de la plante sont utilisées, la poudre des feuilles est utilisée pour traiter les maladies des ongles et les pertes séminales, les maladies cardiaques et pulmonaires. Les fruits frais ou séchés sont utilisés comme des agents antihémorragiques et les graines sont utilisés pour traiter les affections osseuses (Baba-Aissa, 1991).

En Algérie, les feuilles de myrte sont usées contre les infections pulmonaires, urinaires, les diarrhées et les hémorroïdes. Les fruits sont utilisés pour traiter le diabète, l'hypertension et ainsi pour améliorer la digestion (Baba-Aissa, 1991).

Chapitre II

Les polyphénols

II.1- Définition des polyphénols

Les polyphénols appelés aussi des composés phénoliques sont des molécules organiques présentes dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis la racine jusqu'aux fruits, donc ils font partie de notre alimentation (Gravot, 2008). Ils jouent un rôle dans les interactions de la plante avec son environnement et dans la défense contre les herbivores (Bravo, 1998).

II.2- Structure des polyphénols

La structure chimique des polyphénols est comparable à tous les polyphénols. Ils sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient (Manallah, 2012).

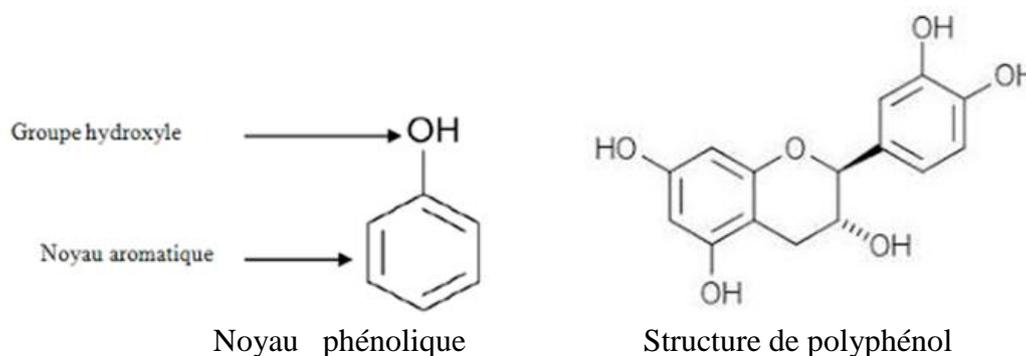
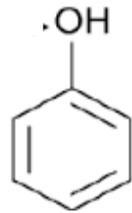
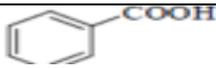
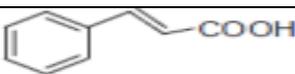
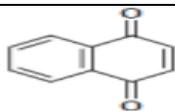
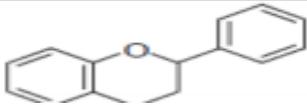


Figure 5: Structure des polyphénols (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006)

II.3-Classification des polyphénols

Les polyphénols forment plus de 8000 composés naturels, qui sont divisés en plusieurs classes. La classification se base sur le nombre de noyaux aromatiques, la structure et les éléments stricts qui lient ces noyaux (tableau III).

Tableau III: Les principales classes des composés phénoliques (El Gharras, 2009).

Squelette carbone	Classe	Structure de base
C_6	Phénols simples	
C_6-C_1	Acides hydroxybenzoïques	
C_6-C_3	Acides hydroxycinnamique coumarines	
C_6-C_4	Naphtoquinones	
$C_6-C_2-C_6$	Stilbènes	
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes	
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes	
$(C_6-C_3)_{21}$	Lignines	
$(C_6-C_3-C_6)_{12}$	Tanins condensés	

II.3.1- Les composés phénoliques

II.3.1.1- Les acides phénoliques

Ils sont solubles dans l'éther, présent sous forme d'ester localisés dans les feuilles. Elles sont insolubles dans l'alcool (Barboni, 2006). Ils présentent des propriétés biologiques importantes comme antiseptiques urinaires, anti-inflammatoires et hépto-protecteurs (Bruneton, 1996). On distingue deux classes d'acides phénoliques :

➤ Les acides benzoïques

D'après **Ribereau (1968)**, les acides benzoïques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbone. Ils sont représentés par les protocatéchiques, P-hydroxybenzoïques, salicyliques, vanilliques, syringiques, O-hydroxybenzoïques, gentisiques et galliques (Figure 6).

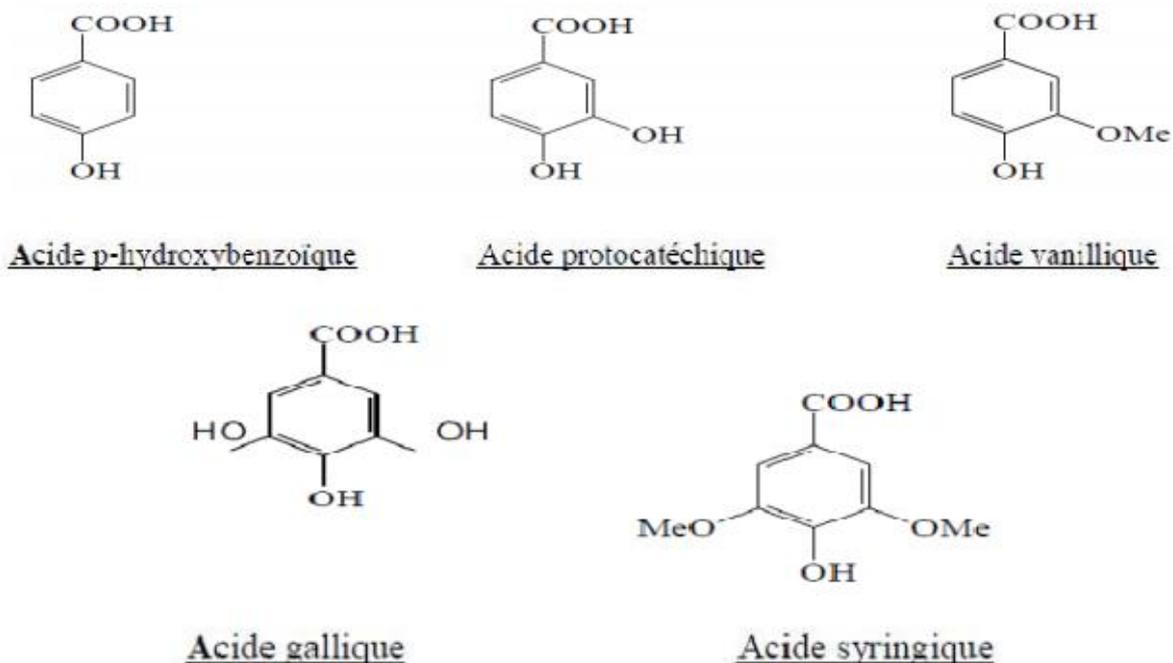


Figure 6: Quelques dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (**Ribereau, 1968**).

➤ Les acides cinnamiques

Ces acides possèdent une structure du type C₆-C₃. Les substances les plus fréquentes sont l'acide caféique, acides cinnamiques et l'acide P-coumarique (Figure 7) (**Ribereau, 1968**).

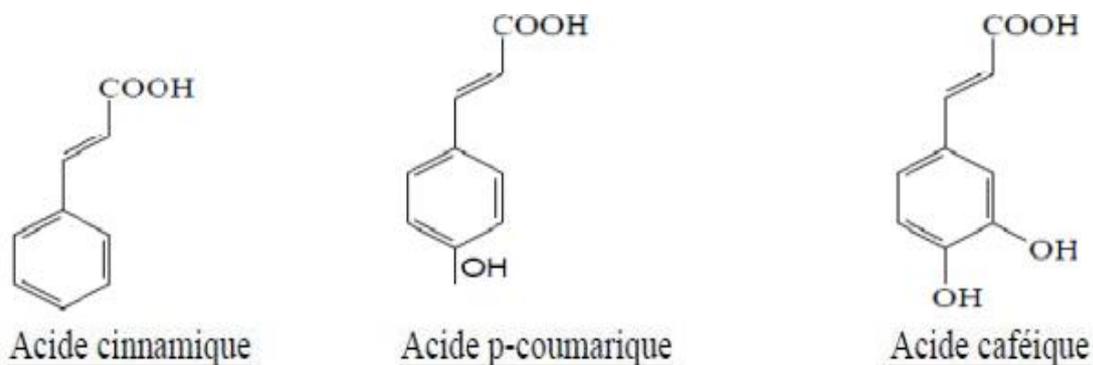


Figure 7: Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique (**Ribereau, 1968**).

II.3.1.2- Les coumarines

D'après **Igor (2002)**, les coumarines sont les composés phénoliques les plus connus. Ils sont caractérisés par leurs activités antivirales, anticoagulantes, immunostimulantes et cytotoxiques (Figure 8).

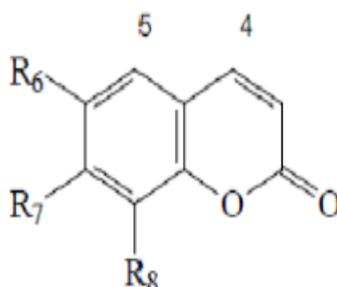


Figure 8: Structure de base de Coumarine (**Igor, 2002**).

II.3.1.3- Les quinones

Ce sont des substances brillantes et colorées, on les retrouve dans les végétaux, les bactéries et les champignons. Ils sont utilisés dans la formulation des médicaments, les colorants et dans les fongicides (**Kansola, 2009**).

II.3.1.4- Les tannins (polyphénols complexes)

Les tanins sont des groupes phénoliques à haute poids moléculaire. La structure moléculaire est formée d'acide hydroxylique associé à des glucides, à des protéines ou à des enzymes de digestion (**Dey et Harborne, 1989**).

II.3.1.5- Les flavonoïdes

Parmi les 8000 composés phénoliques, il y'a 4000 flavonoïdes, qui sont classés comme métabolites secondaires dans le règne végétal. Ils contiennent des pigments végétales qui sont responsables de la coloration des fruits, des fleurs et des feuilles (**Guignard, 1996**). Les flavonoïdes sont des molécules possédant deux noyaux aromatiques et un hétérocycle central (**De Rijke et al., 2006**).

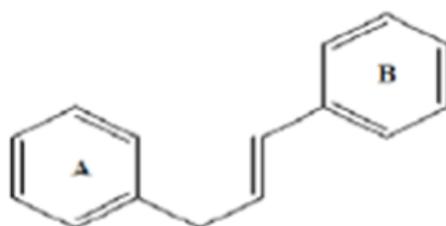


Figure 9: Structure de base des flavonoïdes (**Bruneton, 1996**).

II.3.1.6- Les anthocyanes

D'après **Bassas *et al.* (2007)**, les anthocyanes sont généralement des groupes des anthocyanidols et leurs dérivés sont glycosylés. Ils sont retrouvés dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. Ils existent dans les racines, feuilles, tiges et graines.

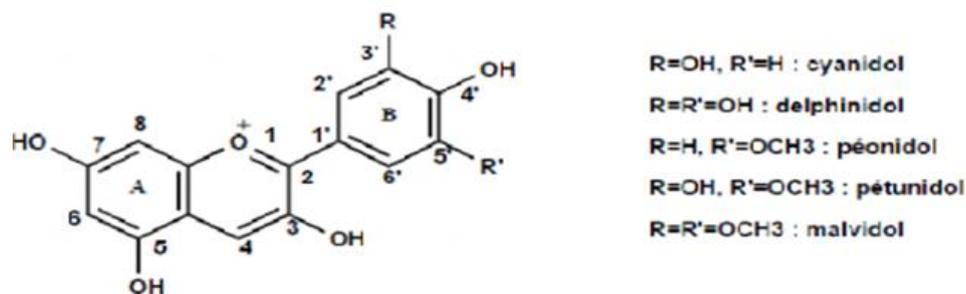


Figure 10: Structure générale des anthocyanes (**Bassas *et al.*, 2007**).

II.4- Extraction et caractérisation des polyphénols

Il existe plusieurs techniques pour l'extraction et l'identification des polyphénols, parmi ces techniques on a les méthodes d'extraction: extraction assistée par micro-ondes (EAM), extraction assistée par ultrasons (EAU), CSE. Les solutions les plus utilisés pour l'extraction sont : éthanol, méthanol, acétate d'éthyle, éther di-éthylique, éther di-isopropylique

Les méthodes d'identification des polyphénols sont : HPLC-DAD, HPLC-MS /MS, HPLTC, HPLC-MS, HPLC-PDA, HPLC-UV/VIS, Spectrométrie de masse, GC-MS, LC-MS/MS, LC-ES/MS, HPLC-GC, HPLC/EST-MS (**Tenuta *et al.*, 2020; Kachkoul *et al.*, 2019; Bianca *et al.*, 2018; Jardim *et al.*, 2017; Dahmoune *et al.*, 2015; Guimaeaes *et al.*, 2003; Pimpao *et al.*, 2013; Messaoud *et al.*, 2012; Barbani *et al.*, 2010; Montoro *et al.*, 2006**).

II.5- Intérêts et rôles des composés phénoliques

Les polyphénols possèdent une activité antioxydante très importante. Ils ont une capacité à absorber et neutraliser les radicaux libres. Aussi, les polyphénols sont capables de se lier à des macromolécules par complexation avec les glucides, les protéines et les enzymes digestives. (**Harborne, 1993**), ce qui leurs donnent un rôle dans la prévention des pathologies telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer par piégeage des radicaux libres, antioxydants et antimutagènes (**Lugasi, 2003**).

II.6- Autres activités de polyphénols

Les polyphénols ont d'autres activités biologiques sont forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes résumées dans le tableau IV (**Beta et al., 2005**).

Tableau IV: Activités biologiques des composés polyphénoliques (**Bahorun,1997**).

Polyphenols	Activites
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes, antifongiques, Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales, anticarcinogènes, anti-inflammatoires, antioxydantes, Hypotenseurs et diurétiques
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes, antitumorales, antifongiques, anti-inflammatoires
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydantes

II.7- Domaines d'application des polyphénols

Les polyphénols sont appliqués dans les domaines industriels : en cosmétique, en agroalimentaire et dans l'industrie pharmaceutique. Certains d'entre eux comme les flavanols et les tanins, sont utilisés en thérapies dans des nombreuses maladies infectieuses. D'ailleurs, certaines maladies sont traitées par l'effet des certains flavonoïdes, c'est le cas de control du virus de l'immunodéficience (**Sartori-Thiel, 2003**). Les composés phénoliques sont aussi utilisés comme des conservateurs alimentaires grâce à leurs propriétés antimicrobiennes (**Daglia, 2012**). L'activité antioxydante des polyphénols est utilisée dans l'alimentation pour permettre une meilleure stabilisation des denrées alimentaires et pour lutter contre la peroxydation des lipides, et pour l'amélioration et la stabilisation des pigments dans les jus colorés (**Moure et al., 2001**).

Chapitre III

Activité antioxydante

III.1- Définition de l'oxydation

L'oxydation est le phénomène qui fait rouiller les métaux, fait flétrir les fruits et les légumes (plantes), il modifie la couleur et le goût des aliments. Sur le plan chimique, l'oxydation est générée par des radicaux libres; espèces chimiques neutres ou chargées instables qui ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement pour retrouver un état stable. Ils ciblent tous les corps gras comme les lipoprotéines aussi les phospholipides des membranes cellulaires (**Rolland, 2004**).

III.2- Les antioxydants

Les antioxydants sont des composants qui interagissent avec les radicaux libres, en les neutralisant, en réduisant ou en prévenant leurs effets néfastes sur le corps humain (**Pereira et al., 2012**). L'oxydation des lipides est responsable de la détérioration des huiles et graisses en changeant la saveur, la valeur nutritive et la couleur (**Young et Woodside, 2001**).

La nature de système antioxydant diffère selon les types cellulaires, les tissus et selon qu'on le trouve dans le milieu extracellulaire ou intracellulaire (**Shahidi, 1997**). Les plantes aromatiques et médicinales comme *Myrtue*, sont une source naturelle des antioxydants en raison de l'activité de métabolisme secondaire (**Brut, 2004**).

III.3- Les radicaux libres dans le système biologique

Les radicaux libres sont appelés aussi des radicaux secondaires, qui sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaires aux mécanismes vitaux (**Bartosz, 2003**). Mais, ils deviennent nocifs s'ils sont en excès et ils provoquent certains dommages aux niveaux de structure des lipides, protéines, des acides nucléiques, en provoquant un stress oxydant qui contribue au développement des pathologies humaines telles que les cancers, les maladies cardiovasculaires, l'artériosclérose (**Favier, 2003; Pourrut, 2008**).

III.4- Stress oxydant

Le stress oxydatif est un état où des substances oxydantes interviennent sur la capacité de défense antioxydative des cellules (**Morelle, 2003**). Il peut s'ensuivre d'un déséquilibre induit par une production excessive de radicaux libres et aussi par une diminution des défenses antioxydantes, d'alors le stress oxydant à l'origine provoque des altérations moléculaires, source d'une physiopathologie incluant l'inflammation, la dégénérescence neuronale, la fibrose et l'artériosclérose (**Baudin, 2006**).

III.5- Mécanismes d'oxydation

L'oxydation des molécules peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs :

- L'auto-oxydation, catalysée par les ions métalliques, la température et les radicaux libres ;
- La photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs ;
- L'oxydation enzymatique, initiée par la lipooxygénase (**Eymrad, 2003**).

III.5.1- L'auto-oxydation

L'oxydation des molécules est une réaction auto catalytique, il s'agit d'enchaînement de réactions radicalaires qui se déroulent en trois étapes :

- Initiation et élimination d'un hydrogène de l'acide gras qui va produire un radical libre
- Propagation et enchaînement des réactions pour produire plusieurs radicaux libres
- Terminaison de la formation des composés non radicalaires (**Moll et Moll, 1998**).

III.5.2- La photo-oxydation

La photo-oxydation est la production d'hydroperoxydes en présence d'énergie lumineuse, d'oxygène et de photo-sensibilisateurs tels que la riboflavine ou les hémoprotéines (**Hultin, 1992**).

III.5.3- La voie enzymatique

D'après **Eymard (2003)**, la lipoxygénase catalyse l'insertion d'une molécule d'oxygène sur un acide gras insaturé qui aboutit à la formation d'hydro-peroxyde, elle agit sur les acides gras non estérifiés.

III.6- Classification des antioxydants

Les antioxydants sont classés selon leurs mécanismes d'action et selon leurs origines.

III.6.1- Selon le mécanisme d'action

III.6.1.1- Antioxydants de type I

Ce groupe est appelé antioxydants primaires. Ils piègent des radicaux libres et peuvent inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives.

Généralement ce type d'antioxydants correspond aux composés phénoliques capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire (Frankel *et al.*, 2000).

III.6.1.2- Antioxydants de type II

Les antioxydants secondaires permettent l'inhibition de la production des radicaux libres et empêchent la formation des espèces oxygénées réactives ou interceptent celles responsables de l'oxydation lipidiques (Laguerre *et al.*, 2007), généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Le type II inclut : des désactivateurs de l'oxygène singulet, des chélateurs de métaux pro-oxydatifs, des piègeurs de molécules d'oxygène, inhibiteurs des enzymes pro-oxydative, enzymes antioxydantes et destructeurs des hydroperoxides (Miller *et al.*, 1996).

III.6.1.3- Antioxydants de type III

D'après Eymard (2003), les antioxydants de types III regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une activité antioxydante en agissant sur le potentiel redox du milieu, parmi eux : la pression en oxygène, la lumière et la température. Ces facteurs permettent de limiter les réactions d'oxydation, donc prolonger la durée de vie des produits.

III.6.2- Selon l'origine

Selon leur origine, les antioxydants sont classés en deux groupes

III.6.2.1- Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques les plus utilisés sont trouvés dans certains aliments le Butuyl-Hydroxy-Anisole (BHA) et Butuyl-Hydroxy-Toluène (BHT) (Figure 11), mais ils présentent l'inconvénient d'avoir une odeur désagréable et de s'évaporer rapidement (Pibiri, 2006). La propriété antioxydante est déterminée par sa richesse en électron libre, qui implique une libération facile de cet électron suivie de la déprotonation de son groupe hydroxyle (Frankel *et al.*, 2000).

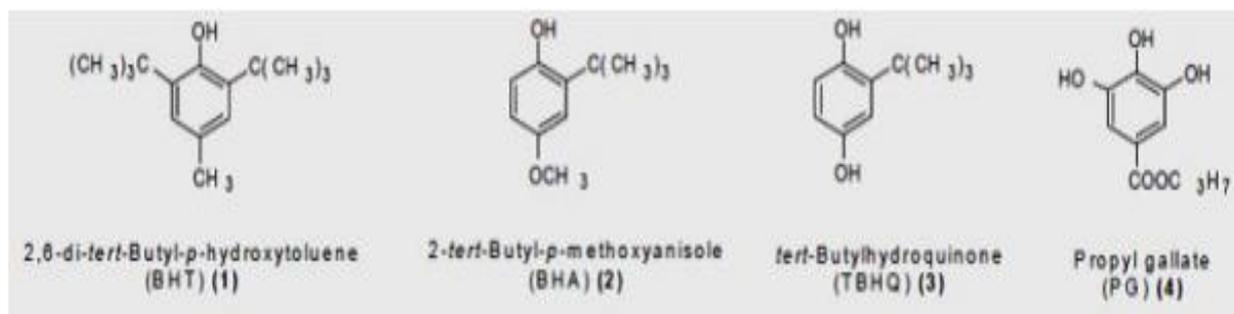


Figure 11: Structures chimiques de quatre antioxydants synthétiques (El Kalamouni, 2010).

III.6.2.2- Les antioxydants naturels

Ils sont de plus en plus préférés par rapport aux produits de synthèse. De nombreuses études portent sur la recherche de molécules, naturelles ayant des propriétés antioxydantes. Ainsi, les sources d'antioxydants naturels sont nombreuses et variées : l'extrait de plantes, concentrés de tocophénols, poudre de miel, extraits des fruits et légumes, huiles essentielles (Figure 12) (Pszczola, 2001).

L'utilisation des extraits des plantes est devenue très attractive pour préserver les aliments. Les antioxydants naturels ont des propriétés médicinales par exemple : anti-inflammatoires et anti-cancérogène (Madhavi *et al.*, 1995).

Parmi les plantes à activités antioxydants on cite *Eucalybtus globulus*. D'après les travaux de Batish *et al.* (2008), cette espèce possède une activité antioxydant très importante, à une IC_{50} très faible de $0,0189 \pm 0,0015$ mg/ml. Il est à signaler qu'*Eucalybtus globulus* et *M. communis* L. sont les deux de la famille de Myrtaceae.

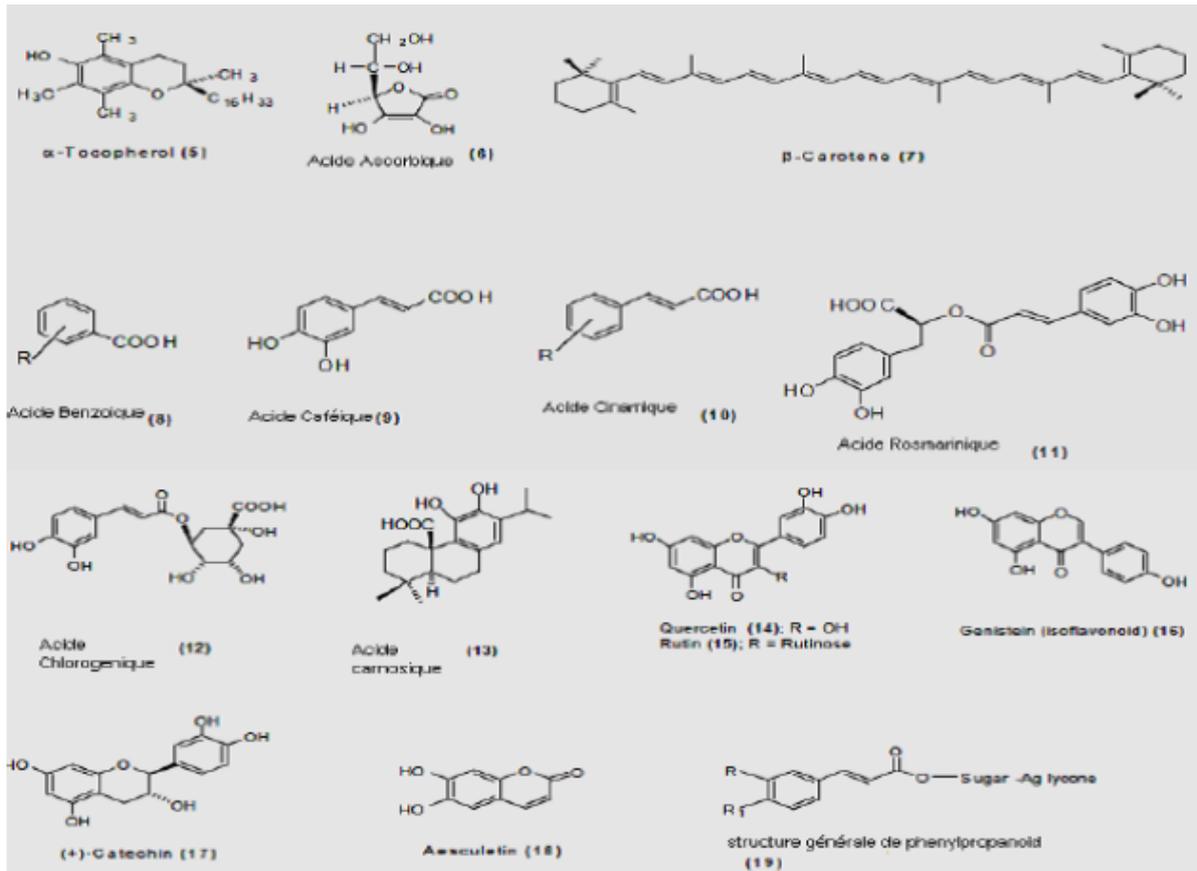


Figure 12: Structures chimiques des quelques antioxydants naturels (El Kalamouni, 2010).

Deuxième partie (partie pratique)

Chapitre I

Matériel et Méthodes

Le travail a été réalisé au niveau du laboratoire du Biochimie, du département de Biologie, Faculté des Sciences de l'Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira, durant la période allant de mois de Mai jusqu'au mois de Juin.

I.1-Récolte

La récolte des feuilles de *M. communis* L. sauvage a été faite le mois de Mai 2021 dans le village de Chnaianne, commune Djabahia, Wilaya de Bouira.



Figure 13: Carte géographique de wilaya de Bouira illustrant la région de collecte (Djabahia) (<https://dcw bouira.dz>).

I.2- Séchage

Pour assurer une bonne conservation de l'échantillon, un séchage a été effectué à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 20 j. L'échantillon est ensuite broyé pour avoir une poudre végétale, qui est conservée à une température ambiante dans des buccaux fumés et bien fermés.

I.3- Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques ont été réalisés selon les méthodes de **Trease et Evans (1987)**.

I.3.1- Préparation de l'infusion à 5%

On a mélangé 5g de poudre végétale avec 100ml de l'eau chaude, on a lissé en contact pendant 15 à 20 min, après filtration, on a ajouté 100ml de l'eau distillée. À partir de cette infusion, on a réalisé les tests suivants :

I.3.2- Identification des tannins totaux

Un volume de la solution FeCl_3 préparée à 5% est additionné à 5ml d'infusion 5%. L'apparition d'une coloration bleu-noire indique la présence des tannins totaux.

I.3.3- Identification des tannins galliques

Un mélange de 2g d'acétate de sodium et de 10 gouttes de chlorure de fer est additionné à 5ml d'infusion à 5%. L'apparition d'une coloration bleue foncée indique la présence des tannins galliques.

I.3.4- Identification des saponosides

2ml d'infusion à 5% sont ajoutés à 1ml d'eau distillée puis, la solution est fortement agitée. Après 20min, la présence des saponosides est évaluée comme suit :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif

Les autres tests phytochimiques ont été réalisés selon l'étude de **Boizot *et al.* (2006)**.

I.3.5- Identification des anthocyanes

Pour réaliser ce test, on a mélangé 5 gouttes d'HCl avec 5ml de l'infusion à 5%. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanes.

I.3.6- Identification des mucilages

Le test est fait par addition de 5ml d'éthanol à 1ml de l'infusion à 5%. Le mélange est laissé à une température ambiante pendant 15min. Un test positif est révélé par l'apparition d'un précipité floconneux.

I.3.7- Identification de l'amidon

2ml de l'infusion à 5% sont mélangés avec 2ml de réactif de Fehling. Le mélange est incubé dans un bain marin bouillant. L'apparition d'une coloration rouge brique indique la présence de l'amidon.

I.3.8- Identification des coumarines

Pour réaliser ce test, 2g de poudre végétal sont mélangés avec 20ml de l'éthanol, après homogénéisation pendant 15min puis filtration, 5ml de filtrat sont additionnés à 10 gouttes d'hydroxyde de potassium à 10% et de 4 gouttes d'HCl à 10%. L'apparition d'un trouble indique une réaction positive.

I.3.9- Identification des glucosides

Ce test est réalisé par l'ajout de 5 gouttes d'acide sulfurique H₂SO₄ à 2g de poudre végétale. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration rouge brique.

I.3.10- Identification des leuco-antocyanes

Nous avons mélangé 10ml de propanol avec 10ml de l'acide chlorydrique et 2g de poudre végétale après chauffage pendant 10min. La présence d'une coloration rouge indique l'existence des leuco-antocyanes.

I.3.11- Identification des flavonoïdes

On mélange 5ml d'infusion à 5%, 5ml d'HCl et 0,5mg de Mg. L'apparition d'une coloration rouge orangée indique la présence de flavonoïdes.

I.3.12- Identification d'iroïdes

On a mélangé 6 gouttes d'HCl avec 2ml d'infusion à 5%. Après un chauffage de 15min l'apparition d'une coloration bleue indique la présence des iroïdes.

I.4 -L'extraction des polyphénols

L'extraction des polyphénols est faite par la méthode de macération, dont le principe repose sur l'extraction solide - liquide qui est une opération de séparation qui consiste à extraire un constituant solide d'une matrice qui en comporte plusieurs, en le transférant sélectivement vers une phase liquide (**Djouahra, 2012**).

On a mélangé 30g de poudre de la plante ont été laissés macérer dans 200 ml d'éthanol absolu pendant 2 j sous agitation magnétique. Après une filtration sur coton, le résidu a été extrait une deuxième fois avec 100ml d'éthanol pendant 24 h.

Les deux solutions ont été ensuite combinées et filtrées à travers le papier Watman (N°1), puis conservé pendant 24 h à 4°C. L'extrait éthanolique a été ensuite soumis à une évaporation à basse pression à 40°C, puis récupéré dans un pilulier et enfin laissé dans l'étuve jusqu'à évaporation total d'éthanol.

Les mêmes étapes sont suivies pour la macération avec l'eau distillée, sauf qu'on a ajouté une étape de lavage avec l'hexane avant de passer à l'évaporation. Les étapes d'extraction des polyphénols par méthode de macération sont présentées dans la Figure 19.

I.4.1.1- Calcul de rendement de l'extrait sec

Le calcul de rendement de l'extrait a été fait selon la formule suivante :

$$R (\%) = M / M' \times 100$$

R: Rendement de chaque extrait

M: masse de l'extrait après séchage

M': masse de la matière sèche de la plante

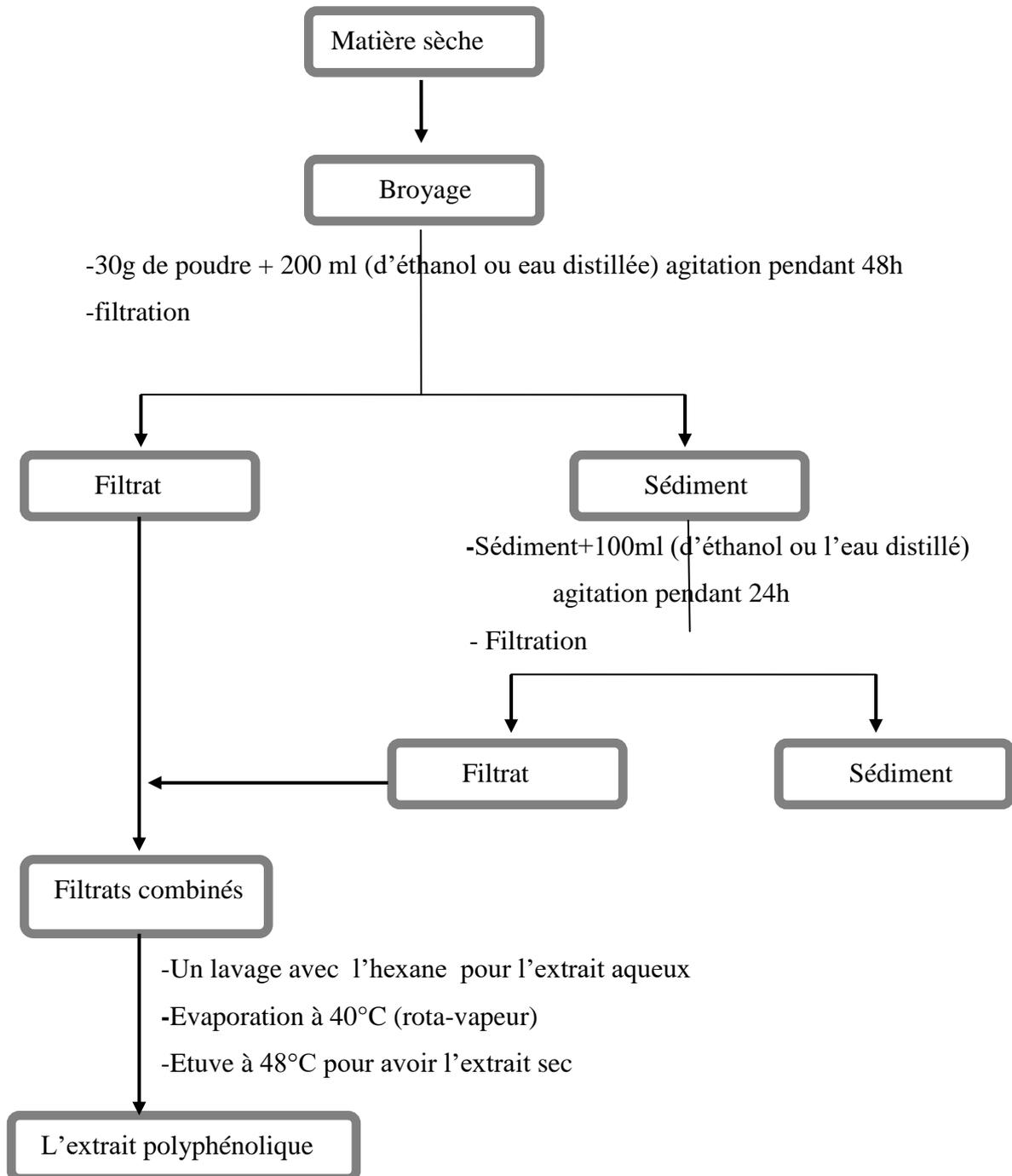


Figure 14 : Les étapes d'extraction des polyphénols des feuilles de *Myrtus communis* par la méthode de macération.

I.5- Dosage des polyphénols totaux

Pour réaliser ce dosage, on a utilisé le réactif de Folin-Ciocalteu, qui contient deux composants: un acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et le phosphomolybdène (H₃PMo₁₂O₄₀) de couleur jaune. Cette méthode est basée sur la formation de complexe molybdène-tungstène de couleur bleue après oxydation par les molécules phénoliques par le réactif qui absorbe à 765 nm (**Ribéreau-Gayon, 1968**).

➤ Mode opératoire

Une courbe d'étalonnage a été obtenue à partir d'une solution d'acide gallique de différentes concentrations préparées d'une solution mère de 0,2 mg d'acide gallique/ml d'éthanol. 200µl de chaque solution ont été introduits dans des tubes contenant 250µl du réactif de Folin-Ciocalteu (10 fois dilué dans l'eau). Après 3 min, 250 µl de carbonate de sodium Na₂CO₃ à 20% (m/v) ont été ajoutés. Par la suite, ces solutions ont été maintenues à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante.

La lecture de l'absorbance de chaque solution a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 765 nm contre un blanc qui contient de l'éthanol à la place d'acide gallique.

La concentration des polyphénols totaux de *M. communis* L. a été déduite à partir de courbe étalon. Le résultat a été exprimé en mg équivalents d'acide gallique par g de la matière sèche (mg EAG/g). Le dosage a été répété trois fois. Pour les deux extraits le même mode opératoire a été suivi. Sauf pour l'extrait aqueux, on a remplacé l'éthanol par l'eau distillée au niveau du blanc (**Singleton-Rossi, 1965**).

I.6- Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est basé sur la formation d'une réaction entre les flavonoïdes et le trichlorure d'aluminium (AlCl₃). Le complexe formé dans cette réaction est de couleur jaune, il absorbe dans l'UV visible à 430nm. Le dosage est réalisé par la méthode de (**Huang et al., 2004**).

➤ Mode opératoire

Le standard utilisé dans notre travail est la quercitrine. La courbe d'étalonnage est obtenue à partir d'une solution mère de 0,5 mg/ml, les dilutions sont faites dans l'éthanol (1/2, 1/3, 1/4, 1/5, 1/6) puis un volume de 50µl de chaque solution est mélangé avec 1ml d'AlCl₃ (2%). Enfin, les mélanges sont incubés à une température ambiante pendant 30min.

La lecture de l'absorbance est faite à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS à 430 nm. Pour le blanc, on a remplacé la quercétine par l'éthanol.

La concentration des flavonoïdes de *M. communis* L a été déduite à partir de courbe étalon. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de l'extrait sec (mg EQ/g). Le dosage a été répété trois fois. Pour les deux extraits le même mode opératoire a été suivi. Sauf pour l'extrait aqueux, l'éthanol a été remplacé par l'eau distillée.

I.7- Activité antioxydant

La molécule de DPPH est un radical libre stable caractérisé par une couleur violette qui absorbe dans UV-VIS à 517nm. Le changement de couleur vers le jaune indique la réduction de DPPH et la présence des substances antioxydants. La mesure de l'absorbance à 517nm à pour but de calculer le pourcentage d'inhibition du DPPH, ce qui indique le pouvoir antioxydant de l'extrait.

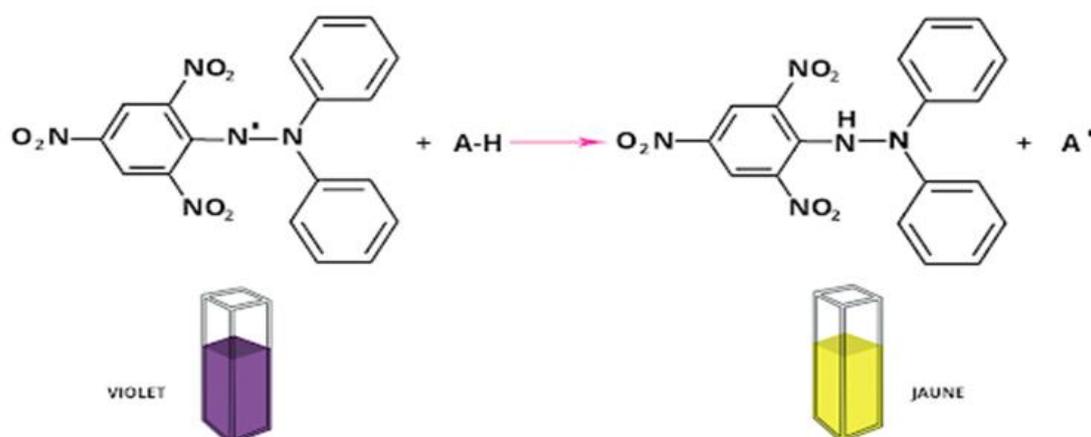


Figure 15 : Réduction du radical libre DPPH[•] (Boubekri, 2014).

Pour préparer le DPPH, on a mélangé 1,2 mg de DPPH dans 50ml de l'éthanol 96% suivi d'une agitation pendant 1h.

Une solution de 1mg/ml de l'acide ascorbique a été préparée à partir de laquelle des dilutions dans l'éthanol (1/2,1/3,1/4,1/5,1/6) ont été réalisées. Par la suite, un volume de 50µl de chaque dilution est mélangé avec 950µl de DPPH. Les mélanges sont incubés à une température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min. L'absorbance est mesurée à 515 nm. Les résultats obtenus ont été utilisés pour tracer la courbe témoin de pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH[•] par l'acide ascorbique.

Le même protocole a été réalisé avec des solutions des deux extraits de *M. communis* L. préparés dans les mêmes solvants d'extraction. Le dosage a été répété trois fois (**Boubekri, 2014**). L'activité antioxydant est calculée selon l'équation suivante:

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

Ac: absorbance du contrôle ;

At: absorbance du test effectué (**Boubekri, 2014**).

I.7- Calcul des IC₅₀

La IC₅₀ est la concentration d'extrait nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. L'IC₅₀ est calculée graphiquement (la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de différentes concentration des dilutions) par les régressions linéaires des graphes tracés; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraites testés (**Boubekri, 2014**).

Chapitre II

Résultat et Discussions

II.1- Screening phytochimique

Le screening phytochimique a pour but de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires dans les plantes par des méthodes qualitatives colorimétriques basées sur la capacité de la solubilisation des composants, des réactions de précipitation, l'apparition des troubles et le changement de couleurs. Les tests phytochimiques sont réalisés sur la poudre végétale des feuilles *Myrtus commun* et sur l'infusion à 5%. Les résultats sont résumés dans le tableau V.

Tableau V: Les principaux métabolites secondaires contenus dans les feuilles de *M. communis* L.

Métabolites secondaires	Réaction	Coloration
Les anthocynes	-	
Les tanins totaux	+++	Bleue noire
Les tanins galliques	-	
Les flavonoïdes	++	Rouge orange
Les saponosides	+	Mousse
Les mucilages	-	
Les iroïdes	-	
L'amidon	++	Rouge brique
Les glucosides	+	Rouge brique
coumarines	+	Trouble

(+) : réaction positive, (-) : réaction négative

Les résultats montrent que les tanins totaux sont présents en quantité importante dans l'infusion à 5 %, suite à l'apparition de couleur bleue noire après l'addition de chlorure de Fer. Les tests montrent aussi que l'infusion contient les flavonoïdes qui sont mis en évidence par le changement de couleur vers le rouge orange. L'apparition de la mousse à 1cm dans la recherche des saponosides montre que le taux de ces derniers est faible. Tandis que, la présence de couleur rouge brique après l'addition du réactif de Fehling indique la présence de l'amidon.

Pour les tests réalisés sur la poudre végétale, on constate que les glucosides et les coumarines sont présents. Alors que les mucilages, les tanins galliques, l'iroïde et les anthocyanes sont absents.

Par comparaison avec les autres travaux réalisés sur *M. communis* L. nous avons conclu que nos résultats sont plus ou moins identiques de ceux obtenus par **Hyder et al. (2004)**, qui

ont montré la présence des flavonoïdes, des tanins, des coumarines, des stérols, triterpènes et les anthocyanes. Tandis que les travaux de **Romanis et al. (1999)**, montrent que les feuilles de *M. communis* L. contiennent les tanins, les flavonoïdes et les huiles volatiles.

II.2- Le rendement d'extraction

Les résultats de rendement de macération de la poudre des feuilles de *M. communis* L. dans l'éthanol et dans l'eau distillée sont regroupés dans le tableau VI.

Tableau VI: Caractéristiques et rendement des différents extraits obtenus par macération des feuilles de *M. communis* L.

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement d'extraction (%)
Ethanolique	Pâteux lourd	Vert foncé	16,47
Aqueux	Pâteux	Marron foncé	23,19

La couleur verte de l'extrait éthanolique est due à la présence de chlorophylle, vue que l'extrait n'est pas été lavée avec l'hexane, car les deux solvants sont miscibles (la densité des deux solvants à 20°C: est 0,66 pour l'hexane et 0,789 pour l'éthanol).

Pour le rendement, on remarque que l'extrait aqueux a un rendement élevé que l'extrait éthanolique. Nos résultats sont similaires à ceux de **Belmimoun et al. (2016)**, qui ont trouvé un rendement de l'ordre de 24,65% pour l'extrait aqueux. Selon **Hayder et al. (2008)**, l'extraction au Soxhlet a donné un rendement de 28,75% qui est supérieurs par rapport à notre étude.

La variation de rendement est dépendante du type de solvant, la méthode utilisée, l'origine de la plante, ainsi que la présence de substances interférentes (**Gioti et al., 2005**). Donc la technique et le solvant d'extraction sont des paramètres très importants dans l'isolement et la récupération des composés phytochimiques existants dans le matériel végétal (**Diem Do et al., 2014**).

II.3- Teneur en polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des deux extraits a été fait par la méthode spectrophotométrique en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu et en se basant sur une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique (Figure 16).

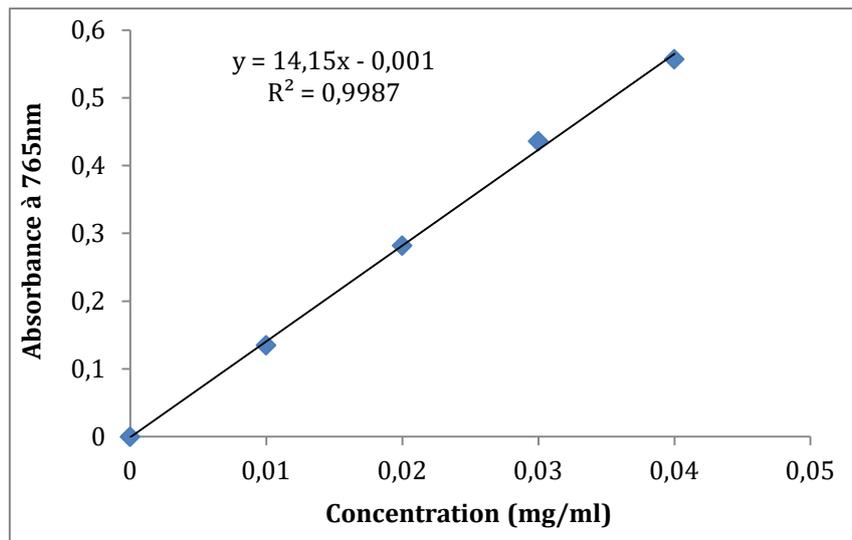


Figure 16: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0,2 mg/ml).

Nous avons observé des teneurs différentes en polyphénols totaux pour les deux extraits. On a remarqué que l'extrait éthanolique est plus riche que l'extrait aqueux avec des valeurs respectives de $270 \pm 3,78$ mg EAG/g MS et de $103,22 \pm 6,25$ mg EAG/g MS

L'étude de **Yangui et al. (2021)**, ciblant la différence de teneur en composés polyphénoliques des fruits de trois groupes de *M. communis* L. génétiquement différents, montre que la teneur des polyphénols la plus élevée est remarquée dans le groupe 1 avec un taux égale à $219,33 \pm 2,41$ mg EAG/g, un taux de $160,69 \pm 2,45$ mg EAG/g pour le groupe 2 et un taux de $189,33 \pm 2,63$ mg EAG/g pour le groupe 3. Il est à signaler que, l'extraction a été effectuée avec la méthode de macération pendant 24 h, en utilisant le méthanol à 70% comme solvant.

Tandis que les études de **Barboni et al. (2010)** ont révélé des teneurs en polyphénols totaux varient entre 19,89 mg/g de 81.27 mg/g. Ces résultats sont obtenus à partir de poudre des fruits, de 5 groupes de *M. communis* L. collectés dans différentes régions en France, en utilisant l'éther d'acétate comme solvant d'extraction.

Nos résultats sont très élevés par rapport à celui trouvé par **Belmimoun et al. (2016)** qui a obtenu une teneur de $121,23 \pm 0,77$ mg/g pour l'extrait aqueux des feuilles de la même plante. Donc, on conclut que nos résultats sont plus ou moins différents des résultats obtenus durant les travaux sus cités. Cela peut être due aux facteurs génétiques, mais aussi lié aux facteurs climatiques ou environnementaux (la zone géographique, la sécheresse, le sol et les maladies) (**Ebrahimi et al., 2008**).

II.4- Teneur en flavonoïdes

Le dosage de flavonoïdes totaux des deux extraits a été réalisé par la méthode colorimétrique, en utilisant l'AlCl₃ et en se basant sur une courbe d'étalonnage obtenue à partir de la quercétine avec des concentrations variantes entre 5 à 40 µg/ml (Figure 17).

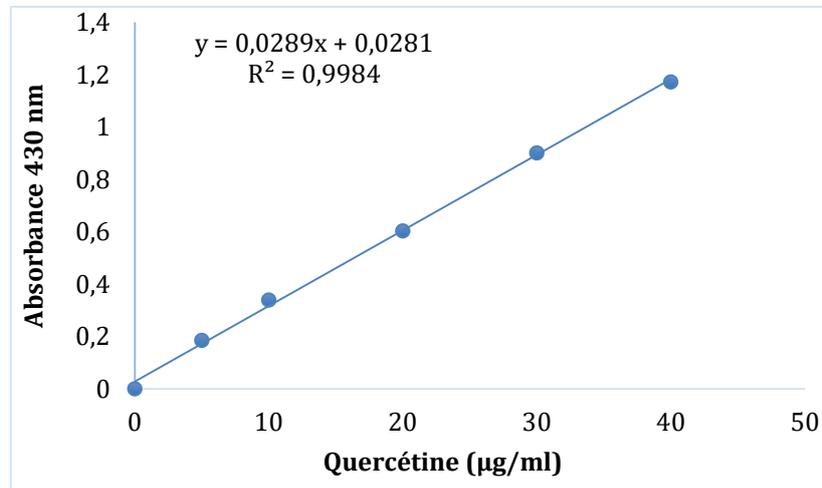


Figure 17: Courbe d'étalonnage de la quercétine (0,5 mg/ml).

La teneur en flavonoïdes des deux extraits éthanolique et aqueux sont assez différentes, nous avons obtenu une valeur de $117,47 \pm 9,71$ mg EQ/g dans l'extrait éthanolique contre seulement $41,23 \pm 3,54$ mg EQ/g dans l'extrait aqueux.

Par comparaison avec d'autres travaux, on constate les résultats obtenus sont différents de ceux de **Yangui et al. (2021)**. En réalisant une macération dans le méthanol à 70%, ces auteurs ont trouvé des teneurs en flavonoïdes de l'ordre de $63,41 \pm 2,69$ mg EQ/g pour le groupe 1, $41,01 \pm 0,14$ mg EQ/g pour le groupe 2 et $88,08 \pm 3,01$ mg EQ/g pour le groupe 3 (cette teneur est inférieure pour l'extrait éthanolique mais supérieure à celle trouvée dans notre étude pour l'extrait aqueux). Cependant les travaux de **Belmimoun et al. (2016)** montrent des valeurs très basses ($7,256 \pm 0,57$ mg EAG/g) et cela dans l'extrait aqueux de *M. communis* L.

Selon **Dugald et al. (2004)**, les facteurs environnementaux tels que : la température, la géographie, la durée du jour et les éléments nutritifs, ainsi que les solvants et les techniques d'extraction influencent fortement sur la biosynthèse et l'accumulation des métabolites secondaires de la plante.

II.5- L'activité antioxydante

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

Dans notre travail, nous avons étudié l'activité antioxydante des extraits éthanolique et aqueux de *M. communis* L. en se basant sur le test de DPPH. L'acide ascorbique à 1 mg/ml a été utilisée comme témoins, qui a été présenté (Figure 18). Des dilutions successives ont été réalisées à partir de chaque échantillon afin de tracer les courbes représentées dans la figure 19.

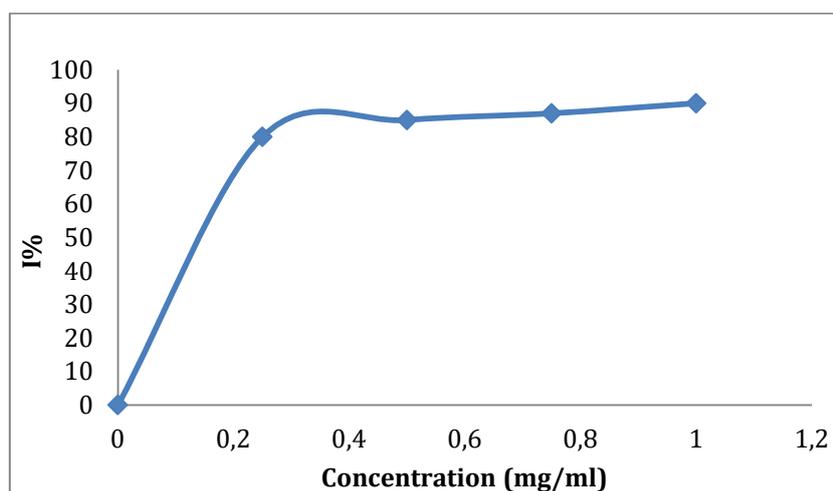


Figure 18: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH[•] par l'acide ascorbique.

Les valeurs obtenues ont permis de tracer de courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH en sa forme non radicalaire.

Tous les IC₅₀ sont calculées à partir de la partie linéaire des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'échantillons préparés (**Manallah, 2018**).

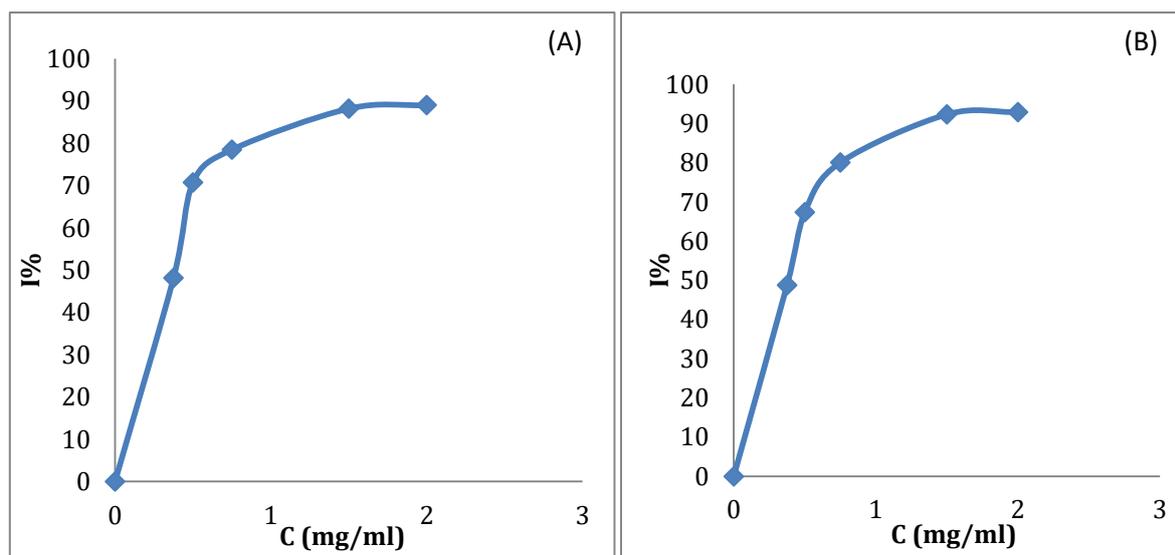


Figure 19: Pourcentage d'inhibition du DPPH• par l'extrait aqueux (A) et éthanolique (B).

II.5.1- La détermination d'IC₅₀

Toutes les IC₅₀ sont calculées à partir de la partie linéaire des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'échantillons préparés (**Manallah, 2018**). La valeur d'IC₅₀ est définie comme la concentration en extrait qui inhibe 50% du radical DPPH. Cette activité est mesurée comparativement à l'acide ascorbique (antioxydant standard).

Les polyphénols ont une activité antioxydante qui peut neutraliser les radicaux libres en donnant un électron ou atome d'hydrogène (**Boubekri, 2014**). Les résultats de ce test montrent que 50% des radicaux libres ont été éliminés par les polyphénols totaux de l'extrait éthanolique à partir de la concentration de $0,376 \pm 0,02$ mg/ml tandis que pour l'extrait aqueux, c'est à partir de la concentration $0,348 \pm 0,132$ mg/ml.

On constate que selon les résultats obtenus par **Yangui et al. (2021)**, l'extrait de méthanol à 70% de *M. communis* L. obtenu par macération de poudre des fruits, a une IC₅₀ de $3,81 \pm 0,25$ µg/ml.

Tandis que **Dahmoune et al. (2015)** rapportent que les IC₅₀ de *M. communis* sont l'ordre de $16,80 \pm 0,29$ µg/ml, $20,61 \pm 0,166$ µg/ml et $21,56 \pm 0,1$ µg/ml. Il est à signaler que ces valeurs sont obtenus avec différentes méthodes d'extraction: extraction par microonde, l'ultrason et conventionnelle par solvant (éthanol à 50%), respectivement.

D'après l'étude de **Belmimoun et al. (2016)**, l'IC₅₀ de l'extrait aqueux de *M. communis* est de $29 \pm 0,80$ µg/ml. Nos résultats sont inférieurs par rapport aux travaux sus cités, cela peut

être expliqué par la différence des méthodes d'extraction utilisées. En effet, les méthodes modernes présentent les teneurs les plus élevées en polyphénols et flavonoïdes (**Pietta, 2000**).

Cependant, les études d'**Enneb et al. (2015)** montrent que les différentes organes de la plante comportent des quantités variables de polyphénols. Alors que **Louaileche et al. (2008)** rapportent que la polarité de solvant, présente un effet sur la teneur des polyphénols et leur pouvoir antioxydant.

Donc, les polyphénols et les flavonoïdes sont des excellents antioxydants dont la propriété oxydo-réductrice permet d'agir comme agent réducteur, donateur d'hydrogène et inhibiteurs de l'oxygène.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales et aromatiques sont la source de la majorité des antioxydants naturels. Elles sont exploitées dans l'industrie pharmaceutique, dans le domaine médicale soit pour la prévention des maladies ou pour le développement des nouveaux médicaments.

Dans notre travail nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits éthanolique et aqueux des feuilles de *M. communis* L. collectés dans la région de Djabahia (Wilaya de Bouira).

Les testes phytochimiques ont mis en évidence une diversité de métabolites secondaires tels que: les tannins totaux, les flavonoïdes, les saponosides, l'amidon, les glucosides et les coumarines.

L'extraction des polyphénols a été faite par la méthode conventionnelle: la macération, qui a permis d'obtenir un rendement d'extraction de 16,47% pour l'extrait éthanolique et de 23,19% pour l'extrait aqueux.

Les analyses quantitatives exprimées par le dosage des polyphénols totaux des extraits aqueux et éthanoliques effectuées par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu montrent que les deux extraits se caractérisent par une richesse en polyphénols totaux, dont les teneurs sont de l'ordre de $103,22 \pm 2,25$ mg EAG/g MS et de $270 \pm 3,78$ mg EAG/gMS pour les extraits éthanoliques et aqueux respectivement.

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), où les résultats montrent que l'extrait éthanolique présente une teneur élevée de l'ordre de $117,47 \pm 9,71$ mg EQ/g MS, alors que celle de l'extrait aqueux, la teneur a été plus au moins moyenne ($41,23 \pm 3,54$ mg EQ/g MS).

L'activité antioxydante des deux extraits de *M. communis* L. a été évaluée par méthode de piégeage du radical libre DPPH[•]. Les résultats montrent que les deux extraits ont une activité antioxydante importante avec des IC_{50} de l'ordre de $0,376 \pm 0,02$ mg/ml pour l'extrait éthanolique et de $0,348 \pm 0,132$ mg/ml pour l'extrait aqueux.

En perspective, il est souhaité d'étudier les autres activités biologiques des extraits (activités antibactériennes et antifongiques), de rechercher d'éventuel effet toxique de la plante, et enfin, d'introduire ces extraits dans des produits alimentaires comme des compléments vu leur effet antioxydant important.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Aberkane, M. C. (2007). *Etude phytochimique de la plante Pulicaria laciniata* (Doctoral dissertation, Batna, Université El Hadj Lakhdar. Faculté des sciences).

Aidi Wannas, W., & Marzouk, B. (2013). Differences between Myrtle Fruit Parts (*Myrtus communis* var. *italica*) in Phenolics and Antioxidant Contents. *Journal of Food Biochemistry*, 37(5), 585-594.

Albuquerque, B. R., Prieto, M. A., Vázquez, J. A., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2018). Recovery of bioactive compounds from *Arbutus unedo* L. fruits: Comparative optimization study of maceration/microwave/ultrasound extraction techniques. *Food Research International*, 109, 455-471.

Alesic V & Knezevic P (2014). Antimicrobial and antioxidative activity of extract and essential oils of *Myrtus communis* L. *Microbiological Research*. 169, 240-254.

Aydın, C., & Özcan, M. M. (2007). Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communis* L.) fruits growing wild in Turkey. *Journal of food engineering*, 79(2), 453-458.

Baba Aissa, F. (1991). Les plantes médicinales en Algérie. *Coédition Bouchene et ad. Diwan*, Alger, 29

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

Bahorun, T. (1998, March). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* (Vol. 83).

Barboni, T. (2006). *Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie* (Doctoral dissertation, Université Pascal Paoli).

Barboni, T., Venturini, N., Paolini, J., Desjobert, J. M., Chiaramonti, N., & Costa, J. (2010). Characterisation of volatiles and polyphenols for quality assessment of alcoholic beverages prepared from Corsican *Myrtus communis* berries. *Food Chemistry*, 122(4), 1304-1312.

Batish, D., Pal Singh, H., Kumer Kohli, A., Shalinder, S., (2008). Huile essentielle d'eucalyptus en tant que pesticide naturel. *Ecologie et gestion des forets*. 256(12) : 2166-2174.

- Bellakhdar, J. (1997).** La pharmacopée traditionnelle marocaine. *Le Fennec & Ibis press (Eds.), France*, 764.
- Berka-Zougali, B., Hassani, A., Besombes, C., & Allaf, K. (2010).** Extraction of essential oils from Algerian myrtle leaves using instant controlled pressure drop technology. *Journal of Chromatography A*, 1217(40), 6134-6142.
- Bernard, T., Perineau, F., Bravo, R., Delmas, M., & Gaset, A. (1988).** Extraction des huiles essentielles: chimie et technologie. *Informations chimie (Paris)*, (298), 179-184
- Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.
- Bortolomeazzi, R., Sebastianutto, N., Toniolo, R., & Pizzariello, A. (2007).** Comparative evaluation of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. *Food Chemistry*, 100(4), 1481-1489.
- Boubekri, C. (2014).** *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).
- Bouzabata, A., Casanova, J., Bighelli, A., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., & Tomi, F. (2016).** The genus *Myrtus* L. in Algeria: composition and biological aspects of essential oils from *M. communis* and *M. nivellei*: a review. *Chemistry & biodiversity*, 13(6), 672-680.
- Burgot, G. & Pellerin, F., 2003.** Microextraction en phase solide (SPME). Techniques de l'ingénieur. Analyse et caractérisation, P2, n°P1430 :1430.1-1430.20.
- Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000).** Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24, 1250-1319.
- Dacosta, Y. (2003).** *Les phytonutriments bioactifs: 669 références bibliographiques*. Ed. Yves Dacosta.
- Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., & Madani, K. (2015).** Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. leaves. *Food chemistry*, 166, 585-595

- De Rijke, E., Out, P., Niessen, W. M., Ariese, F., Gooijer, C., & Udo, A. T. (2006).** Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of chromatography A*, 1112(1-2), 31-63.
- Djouahra, D. (2012).** *Alcaloïdes et polyphénols d'Haplophyllum tuberculatum (Forssk): effet antimicrobien* (Doctoral dissertation, Université de Boumerdès-M'hamed Bougara)
- Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y. H. (2014).** Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. *Journal of food and drug analysis*, 22(3), 296-302.
- Ebrahimi-Kahrizsangi, R., & Abbasi, M. H. (2008).** Evaluation of reliability of Coats-Redfern method for kinetic analysis of non-isothermal TGA. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 18(1), 217-221.
- El Gharras, H. (2009).** Polyphenols: food sources, properties and applications—a review. *International journal of food science & technology*, 44(12), 2512-2518.
- El Kalamouni, C. (2010).** *Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées* (Doctoral dissertation)
- Enneb, H., Belkadhi, A., Cheour, F., & Ferchichi, A. (2015).** Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.). *Journal of New Sciences*, 20.
- Eymard, S. (2003).** *Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (Trachurus trachurus): choix des procédés* (Doctoral dissertation, Université de Nantes).
- Fournier, P. A. U. L. (1948).** Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France. 3 tomes. Paul Lechevalier Éditeur, Paris
- Frankel, E. N. (2001).** Interfacial lipid oxidation and antioxidation. *Journal of Oleo Science*, 50(5), 387-391.
- Gana, S., Mendil, Y., & Benkhodja-Graba Zahra, Z. (2017).** *Élimination du bleu de méthylène par les feuilles de myrte* (Doctoral dissertation, Université Abderrahmane Mira).
- Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., & Komaitis, M. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food chemistry*, 107(3), 1120-1130.

- Gioti, E. M., Skalkos, D. C., Fiamegos, Y. C., & Stalikas, C. D. (2005).** Single-drop liquid-phase microextraction for the determination of hypericin, pseudohypericin and hyperforin in biological fluids by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1093(1-2), 1-10.
- Goetz, P., & Ghedira, K. (2012).** *Phytothérapie anti-infectieuse*. Springer Science & Business Media.
- Gravot, A. (2008).** Introduction au métabolisme secondaire chez les végétaux. *Equipe pédagogique Physiologie Végétale, UMR, 118*.
- Guignard, J. L. (1974).** Abrégé de biochimie végétale.
- Guimarães, R., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Queiroz, M. J. R., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2013).** Characterisation of phenolic compounds in wild fruits from Northeastern Portugal. *Food chemistry*, 141(4), 3721-3730.
- Harborne, J. B. (2013).** The flavonoids: advances in research since 1980.
- Hayder, N., Skandrani, I., Kilani, S., Bouhlel, I., Abdelwahed, A., Ammar, R. B., ... & Chekir-Ghedira, L. (2008).** Antimutagenic activity of *Myrtus communis* L. using the Salmonella microsome assay. *South african journal of botany*, 74(1), 121-125
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.
- Hostettmann, K., Potterat, O., & Wolfender, J. L. (1998).** The potential of higher plants as a source of new drugs. *Chimia International Journal for Chemistry*, 52(1-2), 10-17.
- Huang, D. J., Chun-Der, L. I. N., Hsien-Jung, C. H. E. N., & Yaw-Huei, L. I. N. (2004).** Antioxidant and antiproliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] LamTainong 57') constituents. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 45.
- Hultin, H. O. (1992).** Lipid oxidation in fish muscle. *Advances in seafood biochemistry composition and quality*, 99-122.
- Ibn, A., & Mostaganem, B.** Essai de conservation d'un yaourt brassé par l'extrait de myrte.
- Jardim, C., Macedo, D., Figueira, I., Dobson, G., McDougall, G. J., Stewart, D., ... & Santos, C. N. (2017).** (Poly) phenol metabolites from *Arbutus unedo* leaves protect yeast from oxidative injury by activation of antioxidant and protein clearance pathways. *Journal of Functional Foods*, 32, 333-346.

- Juergens, U. R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Reppes, R., & Vetter, H. (2003).** Anti-inflammatory activity of 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respiratory medicine*, 97(3), 250-256.
- Kachkoul, R., Housseini, T. S., Mohim, M., El Habbani, R., Miyah, Y., & Lahrichi, A. (2019).** Chemical compounds as well as antioxidant and litholytic activities of *Arbutus unedo* L. leaves against calcium oxalate stones. *Journal of integrative medicine*, 17(6), 430-437.
- Larbi, K. S., Meddah, B., Meddah, A. T. T., & Sonnet, P. (2016).** The antibacterial effect of two medicinal plants *Inula viscosa*, *Anacyclus valentinus* (Asteraceae) and their synergistic interaction with antibiotic drugs. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(2), 244-255.
- Louaileche, H., & Soufi, O. (2008).** Etude de l'effet du solvant d'extraction sur l'activité antioxydante.
- Lugasi, A. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, 47(1-4), 119-125.
- Manallah, A. (2018).** *Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive olea europaeaL* (Doctoral dissertation).
- Messaoud, C., Béjaoui, A., & Boussaid, M. (2011).** Fruit color, chemical and genetic diversity and structure of *Myrtus communis* L. var. *italica* Mill. morph populations. *Biochemical systematics and ecology*, 39(4-6), 570-580.
- Migliore, J. (2011).** *Empreintes des changements environnementaux sur la phylogéographie du genre Myrtus en Méditerranée et au Sahara* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 3).
- Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., & Rice-Evans, C. A. (1996).** Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS letters*, 384(3), 240-242.
- Mimica-Dukić, N., Bugarin, D., Grbović, S., Mitić-Ćulafić, D., Vuković-Gačić, B., Orčić, D., ... & Couladis, M. (2010).** Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molecules*, 15(4), 2759-2770.
- Moll, M. (1998).** Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques
- Montoro, P., Tuberoso, C. I., Piacente, S., Perrone, A., De Feo, V., Cabras, P., & Pizza, C. (2006).** Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5), 1614-1619.

Morelle J., 2003. L'oxydation des aliments et la santé. Ed Impression Libraire F-X. de Guibert, 257 p.

Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., ... & Parajó, J. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food chemistry*, 72(2), 145-171.

Pereira, P., Cebola, M. J., & Bernardo-Gil, M. G. (2012). Comparison of antioxidant activity in extracts of *Myrtus communis* L. obtained by SFE vs. solvent extraction. *Journal of Environmental Science and Engineering. A*, 1(1A).

Pibiri, M. C., Seigniez, C., & Roulet, C. A. (2001). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles et leurs effets sur le bien-être des occupants. *CISBAT 2001*.

Pietta P.G., 2000. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural products*, 63, 1035-1042

Pourrut, B. (2008). *Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, Vicia faba* (Doctoral dissertation).

Pszczola, D. E. (2001). Columns-Antioxidants: From Preserving Food Quality to Quality of Life Ingredients. *Food Technology-Chicago*, 55(6), 51-59.

Quezel, P., Santa, S., & Schotter, O. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales-v. 1-2.

Ribéreau-Gayon, P. (1968). *Les Composés phénoliques des végétaux: par Pascal Ribéreau-Gayon...* Dunod.

Roedig, Penman, A., & Gordon, M. H. (1998). Antioxidant properties of myricetin and quercetin in oil and emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 169-180

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(1-2), 17-20.

Sarni-Manchado P et Cheynier V.(2006). Les polyphénols en agroalimentaires. Ed Tec et Doc. Lavoisier, pp ; 02-11.

Sartori-Thiel, A. (2003, January). Activités antimicrobiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols. Avignon.

Shahidi, F. (Ed.). (1997). *Natural antioxidants: chemistry, health effects, and applications.* The American Oil Chemists Society.

Références bibliographiques

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

Tenuta, M. C., Deguin, B., Loizzo, M. R., Dugay, A., Acquaviva, R., Malfa, G. A., ... & Tundis, R. (2020). Contribution of flavonoids and iridoids to the hypoglycaemic, antioxidant, and nitric oxide (NO) inhibitory activities of *Arbutus unedo* L. *Antioxidants*, 9(2), 184.

Theron, M. M., & Lues, J. R. (2010). *Organic acids and food preservation*. CRC press

United Nations Fund for Population Activities, United Nations Population Fund, & Dugald Baird Centre for Research on Women's Health. (2004). *Maternal Mortality Update 2004: Delivering Into Good Hands*. United Nations Population Fund.

Wannes, W. A., Mhamdi, B., Sriti, J., Jemia, M. B., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., ... & 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(5), 1362-1370.

Yangui, I., Younsi, F., Ghali, W., Boussaid, M., & Messaoud, C. (2021). Phytochemicals, antioxidant and anti-proliferative activities of *Myrtus communis* L. genotypes from Tunisia. *South African Journal of Botany*, 137, 35-45.

Young, I. S., & Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.

Résumé

Ce travail vise l'étude phytochimique et l'activité antioxydante de *Myrtus communis*, plante appartenant à la famille de Myrtaceae et utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies pulmonaires, urinaires, les diarrhées et les hémorroïdes.

Les résultats de screening phytochimique montrent la présence des tannins totaux, des flavonoïdes, des saponosides, d'amidon, des glucosides et coumarines dans les feuilles de la plante.

Suite à l'extraction par macération éthanolique et aqueuse de la poudre de *Myrtus communis* L, les résultats montrent un rendement de 16,47% pour l'extrait éthanolique et 23,19% pour l'extrait aqueux.

Pour le dosage des polyphénols totaux, les résultats montrent des teneurs respectives de 103,22±6,25mg EAG/g MS et 270±3,78mg EAG/g MS pour l'extrait aqueux et éthanoliques, Concernant les flavonoïdes on a trouvé 117.47± 9.71 mg EQ/g MS dans l'extrait éthanolique et 41,23± 3,54 mg EQ/g MS l'extrait aqueux.

Myrtus commuins L présente une activité antioxydante intéressante (IC₅₀ de l'ordre de 0,376 ± 0,02 mg/ml pour l'extrait éthanolique et 0,348 ± 0,132 mg/ml pour l'extrait aqueux).

Mots clés : Les polyphénols, Flavonoïdes, Activité antioxydante, *Myrtus communis* L, DPPH.

Abstract

This work consists of the phytochemical study and the antioxidant activity of *Myrtus communis* L, plant belonging to the Myrtaceae family and used in traditional medicine for the treatment of pulmonary and urinary diseases, diarrhea and hemorrhoids.

The results obtained from the phytochemical study show the presence of total tannins, flavonoids, saponosides, starch, glucosides and coumarins.

The two extracts obtained by maceration have a yield of 16.47% for the ethanolic extract and 23.19% for the aqueous extract, these results relate to the total polyphenols.

For the flavonoids we found 117,47 ± 9,71 mg EQ / g PS of the ethanolic extract, while for the aqueous extract it was 41,23 ± 3,54 mg EQ / g PS. *Myrtus commuins* L exhibited interested antioxidant activity (IC₅₀ of 0,376 ± 0,02 mg / ml for the ethanolic extract and 0,348 ± 0,132 mg / ml estimated for the aqueous extract).

Keywords

Polyphenols, Flavonoids, Antioxidant activity, *Myrtus communis* L, DPPH.

يتكون هذا العمل من دراسة الكيمياء النباتية والنشاط المضاد للأكسدة في *Myrtus commuins* L أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من الدراسة الكيميائية النباتية وجود العفص الكلي والفلافونويد والسابونوزيدات والنشا والجلوكوزيدات والكومارين. المستخلصان اللذان تم الحصول عليهما بالنقع كان لهما عائد 16.47% للمستخلص الإيثانولي و 23.19% للمستخلص المائي ، وهذه النتائج تتعلق بإجمالي البوليفينول. بالنسبة لمركبات الفلافونويد ، وجدنا 117.47 ± 9.71 مجم EQ / جم PS من المستخلص الإيثانولي ، بينما كان للمستخلص المائي 41.23 ± 3.54 مجم EQ / جم PS. أظهر *Myrtus commuins* L نشاطاً مضاداً للأكسدة مهتماً (IC₅₀ بترتيب 0.376 ± 0.02 مجم / مل للمستخلص الإيثانولي و 0.348 ± 0.132 مجم / مل المقدر للمستخلص المائي).

الكلمات الدالة

البوليفينول ، الفلافونويد ، نشاط مضادات الأكسدة ، *Myrtus communis* L ، DPPH.