

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de
l'Univers
Département de Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

BENAISSA Djahida et BENSABRI Chahinez

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En sciences biologiques,

Option : **Infectiologie**

Thème

Evaluation de quelques activités biologiques de *Myrtus communus*

Soutenu le 21/06/2022, devant le jury composé de :

Président	BOUALI W.	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	MEDJDOUB H.	MCB	Université de Tlemcen
Examineur	MKEDDER I.	MCA	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

ملخص

ينتج الجسم الجذور الحرة باستمرار من الأوكسجين الموجود في الخلية على مستوى الميتوكوندريا. هم مواد تفاعلية وسامة للغاية. من المعروف أن العديد من النباتات تمتلك قوة مضادة للأكسدة وقادرة على حبس هذه الجزيئات السامة. *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) هو نبات نموذجي لسواحل منطقة البحر الأبيض المتوسط ، والذي ينمو تلقائيًا مثل الشجيرة. الثمرة والأوراق والبذور والزيوت الأساسية هي مصادر طبيعية للعديد من العناصر الغذائية والمركبات النشطة بيولوجيًا ذات الفوائد الصحية.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القوة المضادة للأكسدة للزيت العطري من نبات *Myrtus communis*. من أجل تحقيق هذا الهدف، استخدمنا طريقتين: الأولى هي ارجاع الحديد (FRAP) والثانية هي إزالة جذور DPPH (طريقة ارجاع الجذور الحرة).

أظهرت النتائج نشاطًا مضادًا للأكسدة مع التركيز الفعال 50 حوالي 6.45 مجم / مل لتقنية FRAP و IC50 يساوي 70.73 مجم / مل عند ارجاع DPPH.

لقد استنتجنا بالفعل من عملنا أن للريحان نشاطًا مضادًا للأكسدة مما يفسر استخدامه لعلاج العديد من الأمراض الشائعة، بما في ذلك أمراض الجهاز الهضمي والبولي والجلد. يستخدم زيتته في الصناعات الغذائية ومستحضرات التجميل والأدوية.

الكلمات الأساسية: الجذور الحرة، المادة التفاعلية، القوة المضادة للأكسدة، الزيوت الأساسية للريحان، المركبات النشطة بيولوجيًا ، FRAP ، DPPH ، EC50 ، IC50.

Résumé

Les radicaux libres sont produits en permanence par l'organisme, à partir d'oxygène dans la cellule, au niveau de la mitochondrie. Ce sont des substances réactives et très toxiques. Plusieurs plantes sont connues avoir un pouvoir antioxydant et capables de piéger ces molécules toxiques. *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) est une plante typique des côtes de la région méditerranéenne, qui pousse spontanément comme un arbuste. Les baies, les feuilles, les graines et les huiles essentielles de myrte sont des sources naturelles de plusieurs nutriments et composés bioactifs ayant des effets bénéfiques sur la santé.

Le but de cette étude est d'évaluer le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Myrtus communis*. Afin de réaliser cet objectif, nous avons utilisé deux méthodes : La première est la réduction du Fer (FRAP) et la deuxième technique est le piégeage du radical DPPH (méthode de réduction du radical libre).

Les résultats montrent une activité antioxydante avec une EC50 pour la technique de FRAP et une IC50 pour la réduction du DPPH.

Effectivement d'après notre travail nous avons conclu que le myrte a une activité antioxydante ce qui explique son usage pour traiter plusieurs maladies courantes, notamment gastro intestinal, urinaire et maladie cutanée. Son huile est utilisée dans l'industrie alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

Mots clés : radicaux libre, substance réactive, pouvoir antioxydant, les huiles essentielles de myrte, composés bioactifs, FRAP, DPPH, EC50, IC50.

Abstract

Free radicals are constantly produced by the body from oxygen in the body cell at the level of the mitochondria. They are reactive and very toxic substances. Several plants are known to have antioxidant power and are able to trap these toxic molecules. *Myrtus communis* L. (Myrtaceae) is a plant typical of the coasts of the Mediterranean region, which grows spontaneously like a shrub. Myrtle berries, leaves, seeds, and essential oils are natural sources of several nutrients and bioactive compounds with health benefits.

The aim of this study is to evaluate the antioxidant power of the essential oil of *Myrtus communis*. In order to achieve this objective, we used two methods: The first is ferrous reduction (FRAP) and the second technique is DPPH radical scavenging (free radical reduction method).

The results show an antioxidant activity with an EC₅₀ of around 6.45mg/ml for the FRAP technique and an IC₅₀ equal to 70.73 mg/ml for the reduction of DPPH.

Indeed from our work we have concluded that myrtle has antioxidant activity which explains its use to treat several common diseases, including gastrointestinal, urinary and skin disease. Its oil is used in the food, cosmetics and pharmaceutical industries.

Key words: free radicals, reactive substance, antioxidant power, myrtle essential oils, bioactive compounds, FRAP, DPPH, EC₅₀, IC₅₀.

REMERCIEMENT

En préambule de cette mémoire de fin étude, je remercie ALLAH qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

*Nous adressons nos sincère remerciements à notre encadreur **Mme MEDJDOUB H.** «maitre de conférences B» au Département de biologie, Faculté des sciences de la nature et de la vie et Sciences de la terre et de l'univers, université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, à qui nous exprimons toute notre reconnaissance, de nous avoir encadré et encouragé tout le long de ce travail. Merci pour sa bonne volonté, sa patience et ses précieux conseils ainsi que la pertinence de ses remarques.*

*Nous exprimons aussi notre vif remerciement aux membres de jury, Professeurs **Mme Bouali W** « Maître de Conférences A », et **Mme Mkader I** « Maitre de conférence A » Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs remarques.*

Nous ne saurons jamais assez remercier la lumière de notre vie, nos parents, qui par leurs prières et leurs encouragements, nous avons pu surmonter tous les obstacles.

Pour conclure, nous adressons nos remerciements à l'ensemble du personnel du département de la Biologie, aussi à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverai jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme que j'aime et que je respecte beaucoup, à qui je dois ma vie et ma réussite mon père chéri : Mohammed.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère : Houria.

A mes chers frères : Abdelmadjid, Abdeljalil, Hicham, Ihab, sans oublier Hamza et sa petite famille Nawel et la petite : Maria, qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études .Que Dieu les protège et leur offre la chance et le bonheur.

A toutes les amies : Zineb, Amaria, Karima, Latifa, Rachida et à toute personne que j'ai connue jusqu'à ce jour.

Sans oublier ma collaboratrice : Chahinez pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce mémoire.

Sincères remerciement à tous.

Benaissa Djahida

DEDICACES

Après avoir rendu grâce au bon Dieu le tout puissant qui nous a donné la force de résister, la volonté de travailler et la puissance pour accomplir ce modeste travail que je dédie :

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère FATIMA ZOHRA qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'études, pour son sacrifice et soutien qui m'a donné confiance, courage et sécurité.

A mon père OMAR qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice, ses conseils et ses encouragements ; jamais il n'aurait vu le jour sans les conseils que vous avez consentis pour mon éducation. Que Dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

Aux bougies qui illuminent ma vie avec leurs beaux rires ; à ma chère sœur AYA et mes chers frères ANES, ZEID

Mon très cher Mari qui a toujours été là pour moi, qui m'a épaulé et soutenu durant tout mon cursus universitaire, et à ma chère fille ASSIL

A mes sœurs aussi SANAE, IMEN et toute sa famille

A ma collaboratrice, ma copine DJAHIDA

A toute ma famille, Belle famille et mes amis

Bensabri Chahinez

Liste des figures

Figure 01 : Schéma montrant le stress oxydant

Figure 02 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqué en biologie.

Figure 03 : *Myrtus Communus* . L

Figure 04 : La distributions géographique de la plante dans le monde .

Figure 05 : Distribution botanique de myrte .

Figure 06 : huile de myrte .

Figure07 : Les tubes de DPPH

Figure 08 : Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'huile essentielle du *Myrtus communus*

Figure 09 : pouvoir réducteur du fer par l'extrait d'A. *ascorbique*

Figure10 : Graphe représentatif de la variation des pourcentages de réductions de DPPH en fonction des concentrations de l'huile essentielle de *Myrtus communus*

Figure11 : Graphe représentatif de la variation de pourcentage des réductions de DPPH en fonctions de concentrations de l'acide ascorbique

Liste des tableaux

Tableau 01 : la famille botanique des Mytracés .

Tableau 02: Les différents tanins .

Tableau 03: Les différents Flavonoïdes et phloroglucinols

Tableau 04: les principaux composants chimiques de l'huile de myrte

Liste des abréviations

FRAP :Capacité réductrice ferrique antioxydant.	NADPH,H/ NADP ⁺ : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit /oxydé.
DPPH :2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl	TRX : Thioridoxine peroxydases
ROS : d'espèces réactives de l'oxygène	DHA : Acide déhydro-L-ascorbique
ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène	Q10 : ubiquinone,1-4benzoquinone
H ₂ O ₂ : Peroxyde d'hydrogène.	ZN :le zinc
OH: radical hydroxyle	SOD : Superoxydes dimustases
O ₂ : Oxygène singulet	SOD ₃ : Superoxydes dimustases 3
ADN: Acide désoxyribonucléique	C ₇ H ₆ O ₅ : Acide gallique
NO: monoxide d'azote	C ₁₄ H ₆ O ₈ : Acide ellagique
HOCl : Acide hypochloreux	C ₁₅ H ₁₀ O ₆ :kaempférol
ONOOH: Nitroperoxyde	C ₁₅ H ₁₀ O ₇ : Myricétol
AGPI: Acides gras poly insaturés	C ₁₅ H ₁₀ O ₈ : quercétine
MDA : Malondialdéhyde	C ₃₈ H ₅₂ O ₁₀ :Myrtucommulone A
TBARS : Acide thiobarbiturique	C ₂₄ H ₃₀ O ₇ : Myrtucommulone B
4-HNE : le 4-hydroxynonenal	C ₁₀ H ₁₈ O ₈ : Linalol
UCP : protéine découplante	C ₁₀ H ₁₆ O:Myrtinol
CU ²⁺ : cuivre oxydé	C ₁₀ H ₁₈ O ₂ : Acétate de myrtényle .
Fe ²⁺ : Fer ferreux .	C ₁₀ H ₁₈ O:alpha -terpiniol
ERN: Espèces réactives de l'azote	C ₁₀ H ₁₆ :Alpha –pinère
SOD: La superoxyde dismutase	K ₃ Fe(CN) ₆ : ferricyanure de potassium
Fe III: Fer ferrique, oxyde ferrique	TCA: Acide trichloroacétique.
GPX: Glutathions peroxydases	EC50: Concentration efficace pour réduire 50% la concentration initiale de DPPH, (Concentration médiane)
GR: Glutathion réductase	IC50: Concentration inhibitrice de 50% d'une activité
GSH: Glutathion réduit	

Table des matières

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
INTRODUCTION GENERALE	14
<i>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</i>	
CHAPITRE I : le stress oxydatif	3
1-Stress oxydatif.....	4
2-Espèces réactives de l’oxygène.....	4
2.1 Définition.....	4
2.2 Origines	5
3-Conséquences du stress oxydatif	6
3-1 peroxydations lipidiques	6
3-3 Dommage d’ADN	7
3-4 Le cancer	7
3-5 le diabète	7
3-6 les maladies neurodégénératives	8
4-Les Antioxydants	8
4-1 Antioxydant enzymatique	8
4-2Antioxydants non enzymatiques	9
Chapitre 2 : La plante médicinale <i>Myrtus communus</i>	
1-Historique	12
2-Les plantes médicinales :	13
3- Caractéristiques de la famille des myrtacées	13
3-1 Origine de la plante	13
4-Les types de myrte	15
5-Distribution géographique de la plante	15
5-1Dans le monde	15
5-2 En Algérie	16

6-Etude botanique du <i>Myrtus Communus</i>	17
6-1Composition biochimique	18
6-1-1Les huiles essentielles :	18
7-Les techniques d'extraction des huiles essentielles	18
7-1 La distillation.....	18
8- Huile de Myrte :	19
9-Constituants des feuilles de myrte	20
10-Les principaux composants chimiques de l'huile de myrte	21
11-Utilisation du myrte et son effet thérapeutique	22
11-1Utilisation traditionnelle.....	22
12 -Effet thérapeutique du myrte	22
13 -Activités biologiques de l'huile essentielle de myrte	23
13-1 Activité antimicrobienne :	23
13-2Activité antioxydantes :	23

Matériel et Méthodes

1. Objectif	24
2. Origine de l'huile essentielle de <i>Myrtus communus</i>	24
3. Evaluation du pouvoir antioxydant	24
3.1 Réduction du Fer (FRAP).....	24
3.1.1 Principe de FRAP :	24
3.1.2. Solutions à préparer :	25
3.1.3 Le mode opératoire	25
3.2 Piégeage du radical DPPH	25
3.2.1 Principe :	25
3.2.2. Mode opératoire :	26

Résultat et interprétation

1. Réduction du Fer (FRAP)	29
1.1 Réduction du Fer par l'huile	29
1.2-Réduction du Fer par l'acide ascorbique	30
2. Réduction du DPPH	30
2.1. Réduction du DPPH par l'huile	30
2.1. Réduction du DPPH par l'acide ascorbique :	32

<i>Discussion</i>	33
<i>Conclusion générale</i>	37
<i>Références bibliographiques</i>	39

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances. Elles utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'herbacées, comme médicaments (Tabuti *et al.*, 2003).

Le myrte commun, *Myrtus communus*, est un arbuste typique du pourtour méditerranéen qui est bien ancré dans la culture et les croyances des peuples qui bordent la grande bleue. En plus de ces croyances, on lui prête depuis longtemps des propriétés médicinales. Le myrte appartient à la famille des myrtacées, comme l'eucalyptus, le giroflier et l'arbre à thé. Ces espèces sont largement décrites comme possédant des propriétés pharmacologiques (Franceschini, 2016).

Radicaux libres, stress oxydatif, espèces oxygénées activées, antioxydants sont devenus des termes de plus en plus familiers aux professionnels de la santé et même au grand public. La communauté médicale se rend compte qu'une augmentation du stress oxydatif chez l'individu est potentiellement une cause de l'apparition de diverses pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, le cancer ou le diabète sucré. Pour se prémunir contre ces pathologies, il est important de disposer de défenses antioxydantes adéquates qui doivent nous être fournies par une alimentation saine, particulièrement riche en fruits et légumes (Pincemail *et al.*, 2007).

Nous avons travaillé sur l'huile essentielle de myrtus par deux méthodes la première est FRAP et la deuxième est DPPH. L'expérimentation est réalisée au niveau des laboratoires de biochimie de la faculté SNV-STU.

Notre travail est divisé en deux parties :

1/ étude bibliographique qui regroupe deux chapitres ; le stress oxydatif et la plante de myrte et sa classifications.

2/ le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail, les résultats obtenus et leurs discussions.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : le stress oxydatif

1-Stress oxydatif

Le stress oxydatif n'est pas une maladie mais un mécanisme physiopathologique, il est défini comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et le réseau antioxydant. Notre mode de vie (tabagisme, alcoolisme, obésité, ..), et aussi notre alimentation inadaptée, contribuent à augmenter la production d'ERO dans notre organisme. Ceci est potentiellement associé à un risque accru de développer des pathologies liées au vieillissement telles que les maladies cardiovasculaires et le cancer (Haleng, 2007).

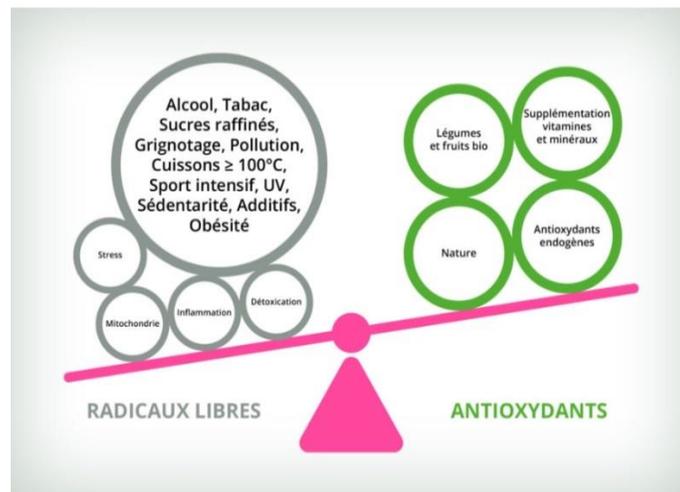


Figure 01 : Schéma montrant le stress oxydatif (Berdoulat, 2020)

2-Espèces réactives de l'oxygène

2.1 Définition

Les dysfonctionnements du métabolisme de l'oxygène génèrent un excès d'espèces chimiques très réactives appelées « espèces réactives de l'oxygène » (ERO), parmi lesquelles les radicaux libres (comme $\cdot\text{OH}$, O_2 , RO_2), et non radical Produits (comme H_2O_2 , RO_2H). Ces espèces, et particulièrement les espèces radicalaires, créent des dommages oxydatifs sur les macromolécules biologiques (ADN, lipides, protéines), qui peuvent considérablement perturber la machinerie cellulaire. (Monique *et al.*, 2003)

2.2 Origines

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques car ils sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais la production peut devenir excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants. On dit que la balance antioxydants/pro oxydants est en équilibre, si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant ». Cette rupture d'équilibre, lourde de conséquence, peut avoir de multiples origines. L'organisme peut avoir à faire face à une production beaucoup trop forte pour être maîtrisée, qui sera observée dans les intoxications aux métaux lourds, dans l'irradiation, dans les ischémies/repère fusions suivant des thromboses. La rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition. Enfin, la mauvaise adaptation peut résulter d'anomalies génétiques. Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et se produira dans un tissu et un type cellulaire bien précis, objet de la défaillance et non pas dans tout l'organisme (Favier, 2003).

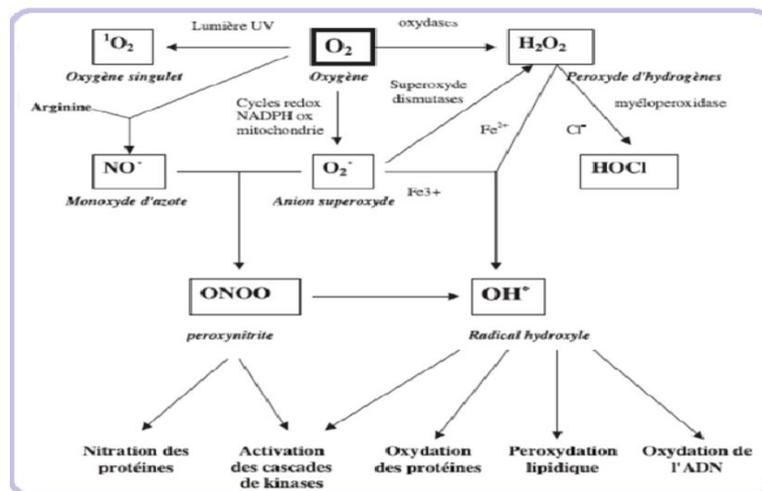


Figure 2 : Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliqués en biologie (Favier, 2003).

3-Conséquences du stress oxydatif

3-1 peroxydations lipidiques

Les premières cibles des ROS sont les lipides, notamment dans les membranes cellulaires et subcellulaires. Les membranes riches en acides gras poly insaturés (AGPI) sont très sensibles à l'oxydation à cause de leur degrés élevés d'insaturations (Hulbertl, 2005 ; Pamplona et al, 2000). L'oxydation des lipides génère des peroxydes lipidiques qui sont très réactifs. La peroxydation de lipides induit une modification de la fluidité, de la perméabilité et de l'excitabilité des membranes (Hong et al, 2004). Elle fournit une grande variété de produits qui peuvent réagir avec les protéines et l'ADN (Marnett, 1999). Parmi ces produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malondialdéhyde (MDA), l'acide thiobarbiturique (TBARS) et le 4-hydroxynonanal (4-HNE) sont édiés comme marqueurs de la peroxydation lipidique. Ce dernier peut activer le découplage mitochondrial par action directe sur les UCP et pourrait aussi réduire la production mitochondriale de ROS (Echtay *et al.*, 2003). Donc ce mécanisme pourrait être un moyen de réguler la production de ROS.

3-2-oxydation des protéines

Les protéines sont sujettes à l'oxydation par les ROS, cette oxydation provoque l'introduction d'un groupe carbonyle dans la protéine (Levine, 2002 ; Peng *et al.*, 2000). Ces réactions d'oxydation, souvent influencées par les cations métalliques comme le Cu^{2+} et le Fe^{2+} , peuvent être divisées en deux catégories :

- 1/ celles qui cassent les liaisons peptidiques et modifient la chaîne peptidique
- 2/ les modifications des peptides par ajout de produits issus de la peroxydation des lipides. Ces changements conduisent à des modifications structurales des protéines, dont les conséquences sont importantes (perte de fonction catalytique, augmentation de la sensibilité à la protéase... (Levine, 2002). L'oxydation des protéines peut être une protéine de signalisation du stress connue pour sa fonction cytoprotectrice (Levine, 2002).

3-3 Dommage d'ADN

Le stress oxydatif étant principalement d'origine mitochondriale, ces organites sont les premières cibles des ROS.

En effet, le génome mitochondrial est dix fois plus sensible au stress oxydatif que le génome nucléaire (**Richter *et al.*, 1988**). Les mécanismes explicatifs proposés sont :

- 1/l'absence d'histones protectrices autour de l'ADN mitochondrial
- 2/sa localisation près de la membrane interne
- 3/mécanismes de réparation frustrée
- 4/ une structure circulaire sans introns augmente statistiquement le risque de mutations pathogènes (Ames *et al* ,1993 ; Cann et Wilson, 1983 ; Cortopassi *et al* ; 1992 ; Richter *et al* ,1988).

Le déséquilibre des substances radicalaires provoque les pathologies suivantes : l'obésité, l'athérosclérose, le vieillissement, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire, l'Alzheimer, le rhumatisme et les maladies cardiovasculaires (Kehily et Saad, 2017).

3-4 Le cancer

Les espèces réactives jouent un rôle non négligeable dans la cancérogenèse, car elles peuvent être responsables de mutation dans l'ADN ce qui est le risque dans l'initiation et le développement du cancer (Migliore and Copped, 2002).

3-5 le diabète

L'hyperglycémie constitue un stress oxydant (Leverve ,2003) .Elle est responsable de l'augmentation de la glycolyse, et par conséquent une augmentation de la formation des radicaux.

3-6 les maladies neurodégénératives

Chez les patients qui ont la maladie d'Alzheimer, beaucoup de marqueur de stress oxydant étaient retrouvés, avec une augmentation de symptômes associés à la maladie (Rao *et al*, 2002)

4-Les Antioxydants

Les antioxydants sont des substances capables d'inhiber l'oxydation et de réduire la concentration de radicaux libres dans le corps, de sorte que le corps réagit constamment à cette production permanente de radicaux libres, et il existe deux lignes de défense inégales au niveau cellulaire (Favier, 2003).

4-1 Antioxydant enzymatique

Les antioxydants sont des molécules qui assurent l'équilibre physiologique entre la production et l'élimination des ERO et ERN (Beaudeau *et al* ; 2006). Ces antioxydants sont considérés comme la première ligne de défense, représentée principalement par : Le superoxyde dismutase (SOD) : métallo enzyme ubiquitaire, élimine l'anion superoxyde par une dismutation selon la réaction suivante :



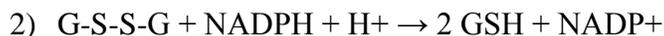
La conséquence de cette réaction est que la disponibilité en $\text{O}_2^{\circ-}$ est réduite et la cascade radicalaire (OH° , ONOO) est limitée. H_2O_2 est capté par des enzymes relais.

Catalase : Une enzyme héminique ubiquitaire présente dans les globules rouges qui élimine le H_2O_2 par disproportion se produit en deux étapes :

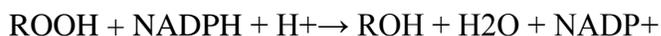
- 1) Catalase (Fe III) + $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow$ Catalase (Fe V) H_2O_2
- 2) Catalase (Fe V) $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow$ Catalase (Fe III) + $\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Système Glutathion peroxydase / Glutathion réductase (GPx/GR) : sélénoprotéine ubiquitaire (7 iso formes) élimine 70% des peroxydes organique et 94% de H_2O_2 par réduction selon les réactions suivantes :

- 1) $2 \text{GSH} + \text{ROOH} \rightarrow \text{G-S-S-G} + \text{ROH} + \text{H}_2\text{O}$



Thioridoxine peroxydases (Trx) : sélénoenzymes NADPH dépendantes éliminent H_2O_2 , ROOH , ONOO^- par réduction selon la réaction suivante :



4-2 Antioxydants non enzymatiques

- ❖ **Vitamine E** : sous forme **d' α -tocophérol (le plus actif et assimilable)**, principal antioxydant **des** structures lipidiques, **elle a** aussi une autre action, la neutralisation de 1O_2 .
- ❖ **Vitamine C** : acide ascorbique, c'est un réducteur et Agent chélatant sous forme d'acide déhydro-L-ascorbique (DHA), réagit directement aux radicaux libres et élimine H_2O_2 .
- ❖ **Provitamine A (caroténoïdes)** : β -carotène : précurseur de la vitamine A, interrompt le processus de peroxydation des lipides.

Autres vitamines : Vitamine P (flavonoïdes), Coenzyme Q10.

- ❖ **Oligo-éléments** : Se, Zn comme cofacteurs de GPx, SOD1 ou SOD3 Protéines de transport : par séquestration des métaux impliqués dans la formation des ERO, par exemple : transferrine et fer.

Glutathion : est un cofacteur de l'enzyme GPx C'est un tripeptide naturel, la *L*- γ -*glutamyl-L-cystéinyglycine* hydrosoluble (cytoplasme, noyau, mitochondries), dont le GSH représente 90% de sa teneur totale. Le glutathion est le cofacteur de nombreuses enzymes antioxydants (GPx) permet la réduction des protéines oxydées par conjugaison avec des espèces électrophiles selon les réactions suivantes :



Le glutathion permet l'élimination des espèces OH^\bullet , $^1\text{O}_2$ par interaction directe, l'interaction GSH 4HNE conduit à la formation d'adduits non toxiques.

**Chapitre 2 : La plante
médicinale *Myrtus
communus***

1-Historique

À travers les siècles, la connaissance des plantes médicinales et des remèdes végétaux n'a pas cessé de s'enrichir. Le XV^e siècle est ainsi appelé « le siècle des plantes ».

L'emploi des plantes dans les traitements médicaux a évolué au cours de ces dernières années (Richard, 1974) Il est d'abord intéressant de remarquer que 30% environ des médicaments prescrits par le médecin sont d'origine naturelle, alors que cette proportion est de 50% pour les médicaments. Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, cosmétologie et en dermatopharmacie.

Parmi ces plantes médicinales, le myrte commun qui est une plante annuelle appartenant à la famille des Myrtacées qui regroupe environ 5500 espèces classées en 144 genres et 17 tribus (Migliore *et al.*, 2012). Originaire d'Europe du sud, d'Afrique du nord et d'Asie occidentale, le myrte est très connu dans le bassin méditerranéen (Sumbul *et al.*, 2012).

Au cours de l'histoire plusieurs propriétés thérapeutiques ont été prêtées au myrte, Dioscoride et Pline indiquèrent les nombreuses applications médicales attribuées au myrte.

Les fruits, qu'ils soient verts ou desséchés, s'employaient contre les hémorragies. Le suc des baies était considéré comme stomachique et diurétique, et bouilli dans du vin, comme vulnéraire et astringent externe. Les feuilles écrasées, quant à elles, s'appliquaient sur les ulcères. De leur poudre était préparé un cérat contre les panaris et les maladies des ongles. Cette poudre était aussi administrée contre les pertes séminales et les sueurs cardiaques.

Au XVI^e siècle, les botanistes médecins du midi de l'Europe, comme Mathiolo en 1554, distinguent soigneusement le myrte du fragon et de la myrtille, avec lesquels le confondaient des apothicaires allemands. Après en avoir indiqué les usages économiques et culinaires, Mathiolo déclare l'emploi condimentaire du myrte fortifiant pour l'estomac, utile contre l'entérite et la dysenterie. (Fournier).

En Algérie, cet arbuste sauvage connu sous le nom de « Chelmoune » en Kabylie ou « Rihane » dans certaines régions, est commode pour abaisser la glycémie, utile pour améliorer la digestion ainsi que pour le traitement des problèmes respiratoires (Zougali, *et al.*, 2012).

2-Les plantes médicinales

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité afin d'assurer les soins de santé primaires et leurs subsistances. Elles utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'herbacées, comme médicaments. Une croyance bien répandue est que toute plante soigne.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, plus de 80% des populations africaines ont recours à la médecine et à la pharmacopée traditionnelle pour faire face aux problèmes de santé (Sofowora, 1993). Les plantes médicinales demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement en l'absence d'un système médical moderne (Tabuti *et al.*, 2003).

3- Caractéristiques de la famille des myrtacées

3-1 Origine de la plante

Les myrtacées sont une famille de plantes à fleurs qui regroupe environ 5500 espèces, classées en 144 genres et 17 tribus. La tribu Myrteae représente la moitié de la biodiversité de la famille avec 51 genres et environ 2500 espèces pour la plupart restreintes aux Néotropiques, bien que 15 genres et environ 450 espèces se trouvent dans d'autres continents (Migliore *et al.*, 2012).

Ce 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 et Santa, 1963).

Chapitre II : La plante Médicinale *Myrtus communus*

Les myrtacées sont classées au sein des clades suivants : les Angiospermes, les Eudicotyledoneae, les Rosidae, les Malvidae et enfin l'ordre des Myrtales.

Elles sont largement utilisées en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (APG III, 2009 ; Soltis, 2011).



Figure 03 : *Myrtus communus* . L (Barboni.,2006)

Selon (Grêté 1965), la famille des Myrtacées est définie du point de vue botanique selon les divisions suivantes :

Tableau 01 : la famille botanique des Mytracés

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

4-Les types de myrte

Il existe quatre types du myrte :

a) Myrte vert : C'est la seule espèce endémique de la famille des myrtacées, le myrte vert est un arbuste de 2 à 3 mètres de haut, ses feuilles sont de couleur vert, persistantes et aromatiques.

b) Myrte rouge : C'est un petit arbre dont les feuilles sont de couleur rouge, avec un fruit d'une couleur différente de celle du myrte vert, il se trouve généralement en Tunisie, Maroc, Espagne...

c) Myrte citronné : Originaire des forêts côtières de l'est de l'Australie, ses feuilles sont effectivement très odorantes et sentent le citron.

d) Myrte commun à pinènes : C'est une plante très aromatique qui contient des composés mono-terpéniques (α -pinène 55%), ce qui lui confère un très grand pouvoir aromatique. (Fourasté, 2014)

5-Distribution géographique de la plante

5-1 Dans le monde

La famille des myrtacées pousse spontanément et en abondance dans les régions méditerranéennes, commune dans le Tell et sur le littoral du centre (Mimica-Dukic, 2010 ; Baba Aissa, 1999), telles que la Macaronésie (Madère et les Açores), l'Iran et l'Afghanistan à 500 m d'altitude. Plus de 15 genres et 450 espèces environ se trouvent dans les régions suivantes : l'Asie du Sud-Est, l'Australie du Nord-Est, les îles du pacifique, la Nouvelle-Calédonie et enfin la Nouvelle-Zélande (Migliore *et al.*, 2012 ; Vasconcelos *et al.*, 2017).

Le myrte commun évolue dans des climats subhumides, humides et perhumides sur un substrat le plus souvent siliceux et calcaire, à variante chaude à tempérée. Il est la seule espèce de la famille des myrtacées qui existe à l'état naturel (Wahid, 2013).

Le myrte pousse généralement dans les zones situées entre 500 et 600 m au-dessus du niveau de la mer, en particulier dans les forêts de pins et les berges des montagnes du Taurus en Turquie (Aydin *et al.*, 2007).

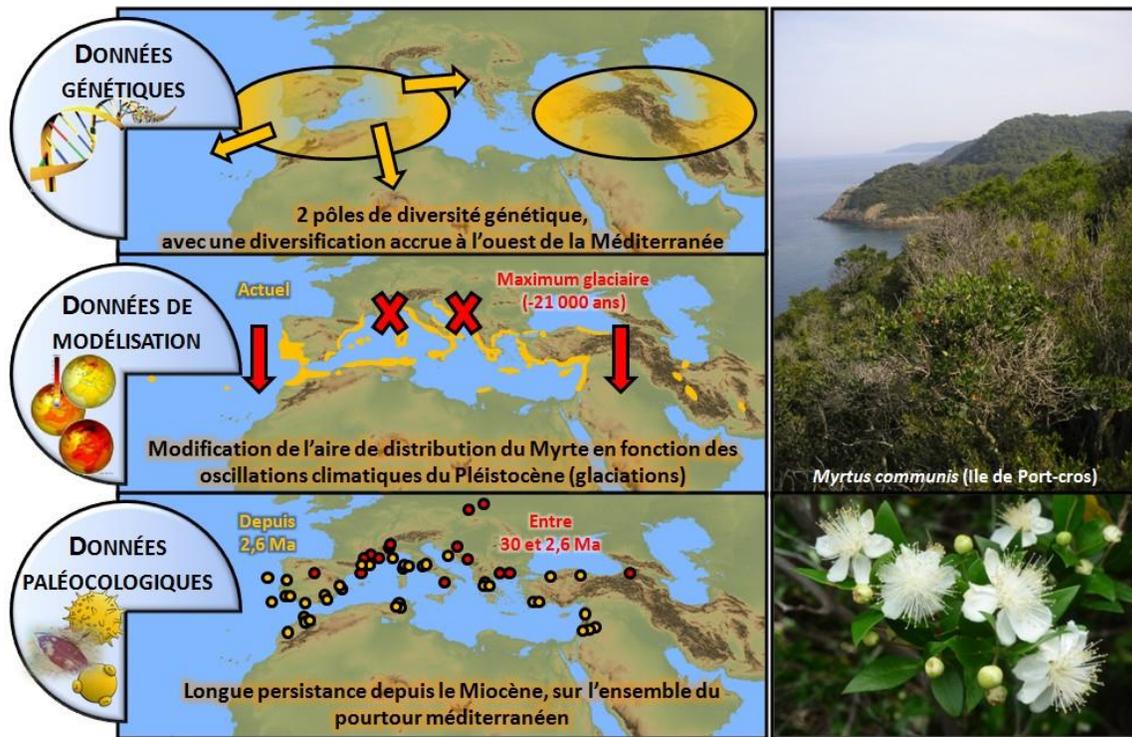


Figure 04 : La distribution géographique de la plante dans le monde. (Médail *et al.*, 2009)

5-2 En Algérie

Le Myrte commun s'accroît sur l'Atlas tellien et les régions côtières d'Alger et de Constantine (Quézel *et al.*, 1962) mais également dans les maquis et les forêts du littoral (Kaddem, 1990).

Le myrte nivelle (*Myrtus nivellei*) qui est une espèce qui pousse au désert (Sahara). On le retrouve dans le Hoggar et le Tassili (Tassili N'Ajjer, Tassili N'Immidir et Tefedest) ainsi et qu'au Tchad (Tibesti) en s'éloignant à 1000 km d'altitude des rives de la méditerranée (Migliore, 2011).

6-Etude botanique du *Myrtus Communus*

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 et Santa 1856).

Le myrte commun est un arbrisseau à tige ligneuse qui reste vert tout au long de l'année. Il mesure de un à trois mètres de hauteur. Sa croissance est lente, ces arbrisseaux peuvent atteindre une longévité de 300 ans.

Le rhytidome de cet arbrisseau est roux, mince, presque lisse, écailleux et caduc. Le myrte commun possède des feuilles persistantes, opposées et subsessiles et très odorantes. Ce sont des feuilles coriaces, luisantes, de forme ovale et lancéolée d'une couleur vert brillant. Elles mesurent entre 20 et 24 mm de long et 4 à 11mm de large. (Rameau *et al.*, 2008)

Chaque feuille possède un grand nombre de cavités sécrétoires, 400 à 1700 par feuille. Ces cavités sont situées sur l'épiderme des feuilles de *Myrtus communus*. Il se caractérise par des branches (des tiges) de couleur rouge qui sont très ramifiées.

La floraison commence en été en formant des fleurs blanches ou tachées de rose, très odorantes, solitaires, hermaphrodites et actinomorphes. Elles font jusqu'à 3 cm de diamètre et ont des senteurs sucrées (Migliore, 2011)

Les pédicelles sont longues, minces, avec deux petites bractéoles caduques. Le calice et la corolle sont pentamères. Les pétales sont concaves, plus longues que les sépales et blanches. Les étamines sont nombreuses. L'ovaire est inférieur, syncarpe, (Ciccarelli *et al.*, 2006) .



Figure 05 : Distribution botanique de myrte.(Migliore, 2011)

6-1 Composition biochimique

6-1-1 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles également appelées huiles volatiles ou étherées sont des liquides huileux aromatiques obtenus à partir de différentes parties de plantes et largement utilisés comme arômes alimentaires (Burt, 2004). Ce sont des mélanges complexes comprenant de nombreux composés uniques. Chimiquement, elles sont dérivées de terpènes et de leurs composés oxygénés (Prabuseenivasan *et al.*, 2006).

Les huiles essentielles, se rencontrent, dans tout le règne végétal ; cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles : les Conifères, les Rutacées, les Ombellifères, les Myrtacées et les Labiées (Paris et Moyses, 1965b).

Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance d'une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie (Sanon *et al.*, 2002).

Elles sont obtenues par divers procédés d'extraction, dont la distillation, en raison de leur très faible concentration dans le produit de base.

7- Les techniques d'extraction des huiles essentielles

7-1 La distillation

Elle convient aux huiles ayant une forte composante volatile. C'est la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arôme (Benjilali *et al.*, 2004), qui de base sur l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau.

Il existe plusieurs modes de distillation, parmi eux : (hydrodistillation, vapodistillation,) (Bruneton, *et al.*, 1999)

→ **7-1-a L'Hydrodistillation** : c'est la méthode la plus simple et la plus ancienne, dont le rôle est d'entraîner les composés volatils des produits naturels avec la vapeur d'eau.

→ **7-1-b Vapodistillation** : dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau, la vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques. (Franchomme *et al*, 1990).

→ **7-2 Extraction à froid** :

La pression à froid est le moyen le plus simple mais aussi le plus limité. Cette technique d'extraction est utilisée pour obtenir des essences d'agrumes contenues dans les zestes. (Bruniton ., 1999)

→ **7-3 Extraction par technique de pression** :

Peut-être la plus ancienne, cette méthode consistait à écraser les parties odorantes d'une plante fraîchement coupée puis à les enfermer dans un sac en lin. L'essence filtrait à travers la toile est recueillie dans un récipient placé en dessous (Franchomme *et al*, 1990).

8- Huile de Myrte

Le Myrte est une plante aromatique et médicinale, une source d'antioxydants naturels. Il contient des métabolites secondaires tels que les composés phénoliques et les huiles essentielles (Singer *et al.*, 2003).

Concernant la composition chimique de cette plante, des recherches précédentes ont révélé sur les différentes parties de la plante la présence de divers composés chimiques. Les feuilles contiennent des huiles essentielles, des tanins, des acides phénoliques et des flavonoïdes tels que la quercétine, la catéchine et des dérivés de myricétine (Romani *et al.*, 1999 ; Baytop., 1999).

Chapitre II : La plante Médicinale Myrtus communus

Les fleurs de *Myrtus communis* sont extrêmement riches en structures de sécrétion d'huile essentielle. Ces dernières sont réparties dans tous les organes floraux : sépales, pétales, étamines, réceptacle, ovaire et style.

En fait, l'huile essentielle accumulée dans la lumière de sécrétion ne peut être déchargée qu'après flexion mécanique de l'étamine par les pollinisateurs. (Ciccarelli *et al* 2006)

Une observation des feuilles par Microscope Electronique à Balayage (MEB) démontre la présence de substance sécrétée sous forme de gouttelettes sur la surface des feuilles. (Kalachanis, Psaras, 2005).



Figure 06 : huile de myrte.

9-Constituants des feuilles de myrte

Les tableaux ci-dessus représentent la composition chimique des feuilles de myrte (Fourasté, 2014).

Tableau 02: Les différents tanins

Nom	Description	Formule Brute
Acide gallique	Composé organique aromatique largement réparti dans les plantes	C₇H₆O₅
Acide ellagique	Polyphénol antioxydant présent dans de nombreux fruits et légumes	C₁₄H₆O₈

Chapitre II : La plante Médicinale Myrtus communus

Tableau 03: Les différents Flavonoïdes et phloroglucinols

Nom	Description	Formule Brute
Kaempférol	Flavonoïde, pigment jaune	C₁₅H₁₀O₆
Myricétol	Composé organique de la famille flavonols	C₁₅H₁₀O₇
Quercétine	C'est un flavonoïde présent dans les plantes comme métabolites secondaires	C₁₅H₁₀O₈
Myrtucommulone A	Phloroglucinol	C₃₈H₅₂O₁₀
Myrtucommulone B	Phloroglucinol	C₂₄H₃₀O₇

10-Les principaux composants chimiques de l'huile de myrte

L'huile essentielle de myrte produite tout autour de la méditerranée possède une odeur caractéristique malgré la grande variabilité chimique observée (Kafkas *et al.*, 2013)

Ses principaux composants sont regroupés dans le tableau 4.

Tableau 04: les principaux composants chimiques de l'huile de myrte

Nom	Description	Formule Brute
Linalol	Alcool mono-terpénique insaturé qui possède une odeur florale et fraîche	C ₁₀ H ₁₈ O
Myrtinol	Alcool mono-terpénique	C ₁₀ H ₁₆ O
Acétate de myrtényle	Acétate terpénique	C ₁₀ H ₁₈ O ₂
α -terpiniol	Alcool mono-terpénique Mono-cyclique instauré	C ₁₀ H ₁₈ O
Eucalyptol (1,8 cinéol)	Ester mono-terpénique	C ₁₀ H ₁₈ O
α -pinène	Mono- terpène bi-cyclique	C ₁₀ H ₁₆

11-Utilisation du myrte et son effet thérapeutique

11-1Utilisation traditionnelle

Le myrte occupe une place importante dans l'histoire. Dioscoride et Pline décrivaient de nombreuses applications médicinales basées sur l'action antiseptique du myrte, et par ses qualités d'expectorant, il était indiqué contre les affections du système respiratoire telles que l'emphysème ou la bronchite. Il était également prescrit dans le traitement d'ulcère et de douleurs gastriques (Montastier., 1997).

La poudre de feuilles est utilisée pour préparer, un cérat contre les panaris et les maladies des ongles, et administrée contre les pertes séminales et les sueurs cardiaques.

Les fleurs sont utilisées pour faire noircir les cheveux.

Les fruits verts ou desséchés s'employaient contre les hémorragies ; bouillis dans le vin comme vulnéraire et astringent externe.

Le suc des baies était utilisé comme stomachique et diurétique. Les graines sont employées contre les affections osseuses (Gryc, 1985)

12 -Effet thérapeutique du myrte

→ 12-1 Propriétés astringentes

Le myrte est riche en tanins ; il leur doit ses propriétés astringentes. Ce type d'extrait est utilisé dans le traitement de diverses affections cutanées, notamment le psoriasis.

→ 12-2 Propriété antiseptique

L'huile essentielle, par l'intermédiaire de l'eucalyptol et du myrténol, a une action spécifique sur les voies respiratoires. Les tanins participent également à cette action antiseptique.

→ 12-3 Propriété antibiotique

Les terpènes de l'huile essentielle que sont l'eucalyptol et le myrténol, ainsi que les myrtucommulones A et B ont une action antibiotique sur les bactéries Gram (+) et Gram (-). Elle a une action sur les germes Gram (+) aussi efficace que la pénicilline et la

streptomycine. Les tanins dérivés des acides galliques et ellagique joueraient un rôle dans l'activité antibactérienne. (Laurentis, *et al.*, 2005)

→ 12-4 Propriété parasiticide

L'huile essentielle de myrte est active sur le pou de tête (*pediculus humanus capitis*) et sur sa larve (lente). L'effet toxique est principalement dû au cinéole, à l'apinène et au linalol (Hellemont .,1986).

13 -Activités biologiques de l'huile essentielle de myrte

13-1 Activité antimicrobienne :

L'huile essentielle des feuilles de myrte a été décrite efficace aussi bien sur les bactéries que sur les champignons. Elle est variable selon la composition chimique, les méthodes utilisées et les souches étudiées.

13-2Activité antioxydantes :

Des rapports récents ont montré que les extraits de feuilles de myrte ont la plus forte activité antioxydante et la plus forte teneur en phénols par rapport à d'autres parties de la plante de myrte (Chryssavgi., *et al.*, 2008; Wannes.,*et al.*, 2010).

Avec plusieurs plantes médicinales et aromatiques, le myrte est une source riche d'antioxydants. En effet, les quantités élevées de composés bioactifs présents dans ses baies et ses feuilles contribuent de manière significative à une capacité antioxydante totale (TAC) élevée. Les polyphénols, en particulier, présentent une capacité antioxydante élevée car ils sont d'excellents donneurs d'hydrogène, agents réducteurs et désactivateurs d'oxygène singulet (Rice-Evans., *et al.*, 1997).

De même, il a été démontré que l'extrait de confiture de myrte réduisait la peroxydation des liposomes exposés au cuivre en piégeant les radicaux libres, en empêchant la dégradation des acides gras insaturés et en diminuant les niveaux de malondialdéhyde. Cependant, mais il n'a pas pu diminuer les niveaux d'espèces intracellulaires réactives de l'oxygène (EOA) (Rosa., *et al.*, 2015)

Matériel et Méthodes

1. Objectif

L'objectif de cette étude est l'évaluation du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle du *Myrtus communus*. Le travail qui fait l'objet de ce mémoire a été réalisé aux laboratoires pédagogiques de la faculté SNV-STU, Université de Tlemcen.

2. Origine de l'huile essentielle de *Myrtus communus*

L'huile étudiée dans ce travail est une huile commercialisée. Une bonne huile essentielle de Myrte doit avoir

- les caractéristiques physique suivantes :
 - Densité à 20°C : 0,905 à 0,920
 - Indice de réfraction à 20°C : 1,455 à 1,475
 - Pouvoir rotatoire à 20°C : +12° à 25°
 - Point éclair : +36°C
- Caractéristiques organoleptiques :

L'huile est jaune pâle à orange et dégage un parfum.
- Composé chimique principaux :
 - Monoterpène : (35 à 50%) (Pinéne , limonène)
 - Esters : (20 à 35%) (Acétate de myrtényle)
 - Oxydes ; (15 à 35%) (Cinéole)

Autres composés chimiques :

- Monoterpénols : (10 à 15 %) (Linalol)
- Sesquiterpènes (3 à 5 %)

3. Evaluation du pouvoir antioxydant

3.1 Réduction du Fer (FRAP)

3.1.1 Principe de FRAP :

La méthode de FRAP (ferric reducing antioxidant power) est fondée sur la réduction du fer (Fe^{3+}) (OYAIZ, 1986). C'est une réduction de l'ion ferrique (Fe^{+++}) en ion ferreux (Fe^{++}) par les antioxydants qui donnent la couleur bleu ou vert.

Coloration du jaune au bleu ou vert est proportionnel à l'activité antioxydant a faible ph.



3.1.2. Solutions à préparer :

- *Solution tampon phosphate 0,2M ; pH = 6,6.
- *Solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%.
- *Solution de l'acide trichloracétique TCA à 10%.
- *Solution aqueuse de chlorure ferrique $FeCl_3$ à 0,1%.

3.1.3 Le mode opératoire

Le protocole que nous avons utilisé pour la réalisation de la méthode de FRAP est le suivant :

Une solution mère de l'huile essentielle du Myrtus a été préparée à 1mg/ml, ensuite une série de dilution est faite.

1ml de l'extrait à différentes concentrations (0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1mg/ml) est mélangé avec 2,5ml de la solution tampon phosphate et 2,5ml de ferricyanure de potassium, ensuite incubé dans l'étuve à 50°C pendant 20min.

Après l'incubation 2,5ml d'acide trichloracétique sont ajoutés et on procède à une centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 minutes (cette dernière étape peut ne pas être nécessaire).

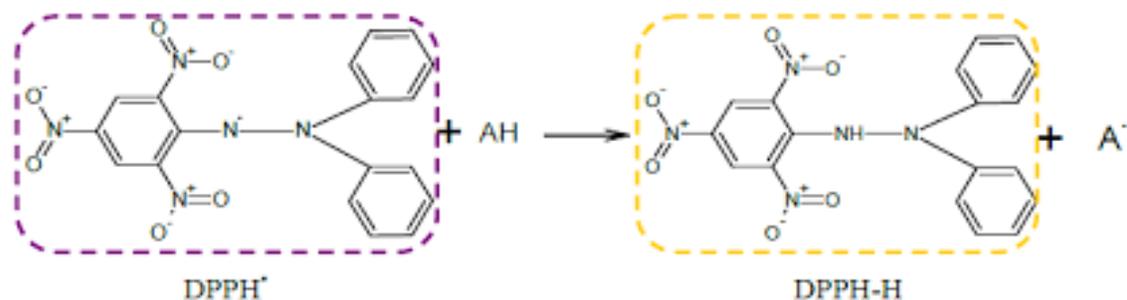
2,5ml de surnageant sont mélangés avec 2,5ml d'eau distillée et 0,5ml de Chlorure ferrique.

La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS. L'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif de la réaction.

3.2 Piégeage du radical DPPH

3.2.1 Principe :

Le 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH) est un radical libre, stable à température ambiante, qui produit une solution violette dans l'éthanol. Il est réduit en présence d'une molécule antioxydante, donnant lieu à des solutions jaunes dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu. L'utilisation de DPPH fournit un moyen facile et rapide d'évaluer les antioxydants



3.2.2. Mode opératoire :

a) Préparation de solution DPPH :

0,006g du DPPH (C₁₅H₁₂N₅O₆) est solubilisé dans 100 ml du méthanol

b) Préparation de la solution mère :

On mélange 0,5g d'huile essentielle avec 15 ml d'éthanol

L'expérience est effectuée sur 4 concentrations différentes d'échantillon de l'ordre décroissance dans l'éthanol

c) Test de DPPH

- ✓ On mélange 1 ml de la solution DPPH avec 1 ml de chaque extrait.
- ✓ Laisser à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 min
- ✓ On mesure l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre à 517nm contre un blanc contenant de l'éthanol

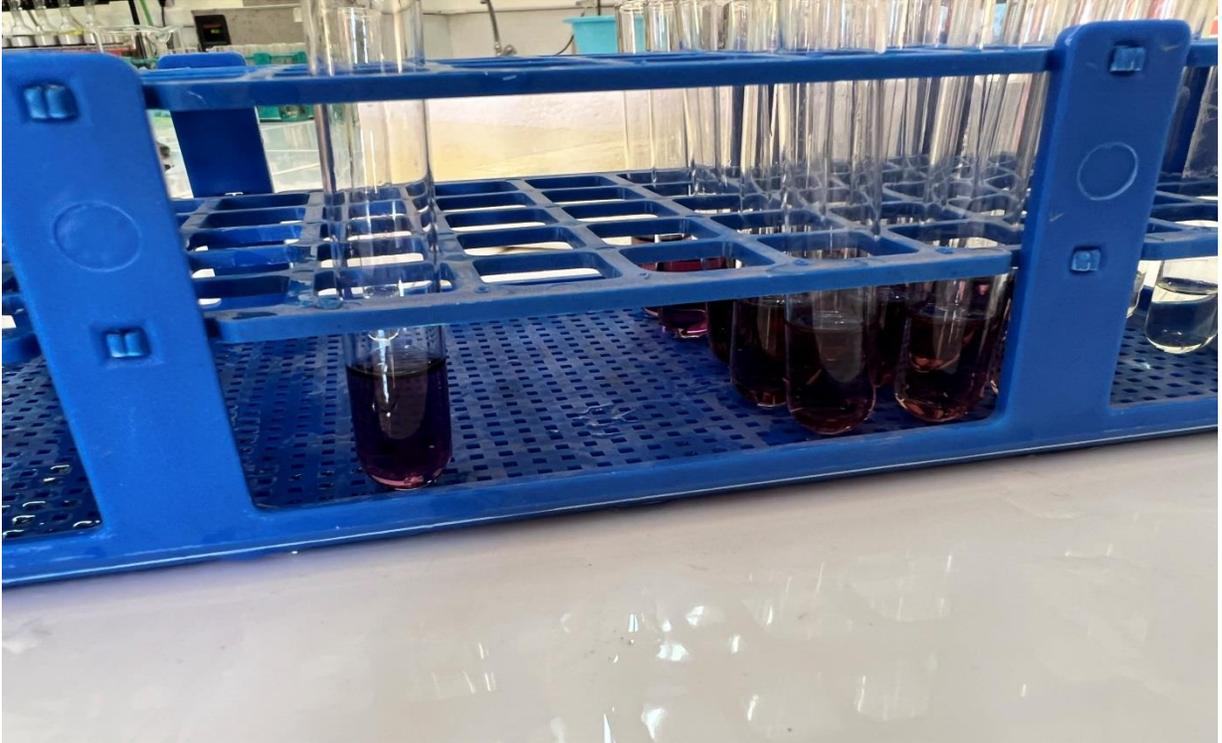


Figure07 : Les tubes de DPPH

Résultat et interprétation

1. Réduction du Fer (FRAP)

1.1 Réduction du Fer par l'huile

On observe que l'augmentation du pouvoir réducteur est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de l'huile.

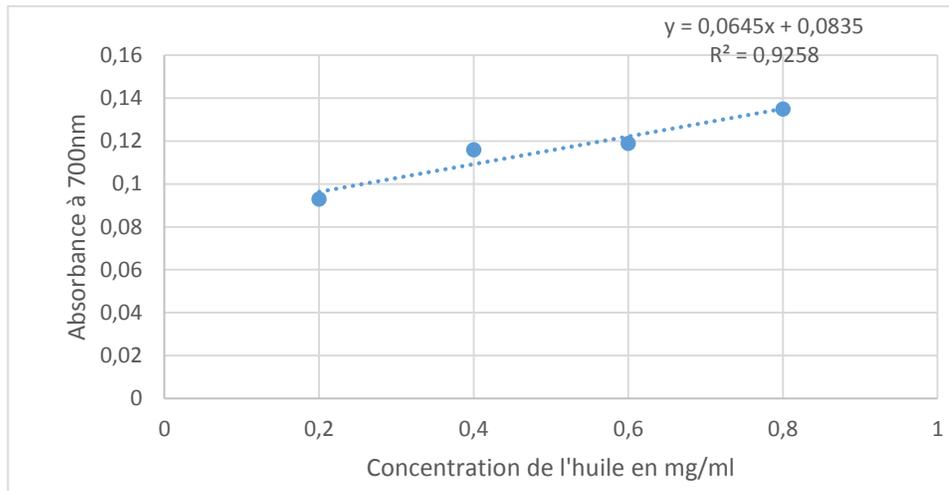


Figure 08 : Graphe représentatif de la variation des absorbances mesurées en fonction des concentrations de l'huile essentielle du *Myrtus communus*

Pour une concentration de 0,6mg/ml nous avons enregistré une absorbance de l'ordre de 0,12.

Ces résultats sont interprétés par les valeurs d'EC50 montrant la concentration correspondant à une absorbance de (0,5). Cette dernière est calculée de la régression linéaire illustrée sur la figure 08

Calcul de la concentration efficace 50 (EC50) :

La concentration efficace 50 (EC50) ou la concentration nécessaire pour obtenir une absorbance de 0,5 est un paramètre couramment utilisé dans la méthode FRAP pour exprimer la capacité antioxydante (Zheng *et al.*, 2013).

Nous avons trouvé une $EC_{50}=6,45\text{mg/ml}$.

1.2-Réduction du Fer par l'acide ascorbique

Ce graphe montre une augmentation remarquable de la concentration en mg/ml par rapport à l'absorbance.

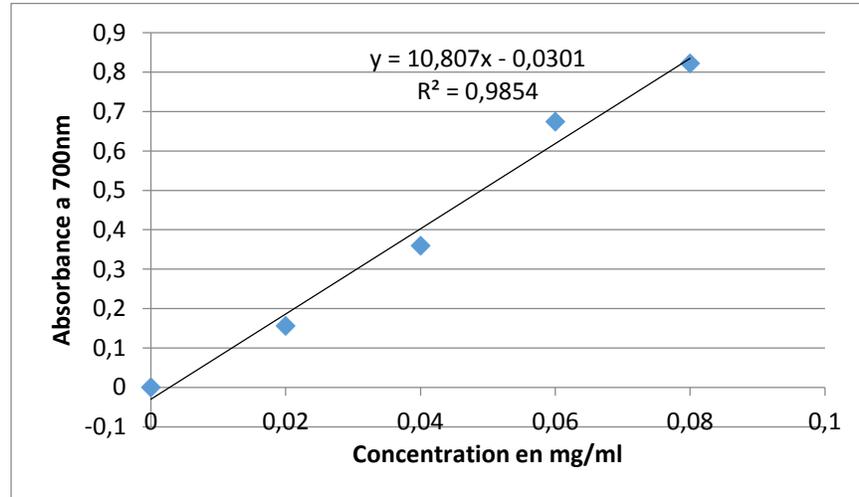


Figure 09 : pouvoir réducteur du fer par l'extrait d'*A. ascorbique*

Pour une concentration de 0,06 mg/ml nous avons enregistré une absorbance de l'ordre de 0,61. Nous avons calculé $EC_{50}=0,049$ mg/ml.

L'extrait de l'huile essentielle présente un pouvoir réducteur considérable $EC_{50}=6,45$ mg/ml. Cette valeur est supérieure à la valeur du pouvoir réducteur du fer par l'extrait d'*A. Ascorbique* $EC_{50}=0,049$ mg/ml

Donc nous pouvons déduire que l'acide ascorbique présente une faible concentration efficace 50 en comparant par rapport à l'huile essentielle

2. Réduction du DPPH

2.1. Réduction du DPPH par l'huile

Les résultats de la réduction de la DPPH par l'huile essentielle de *Myrtus communus* sont résumés sur la figure 10

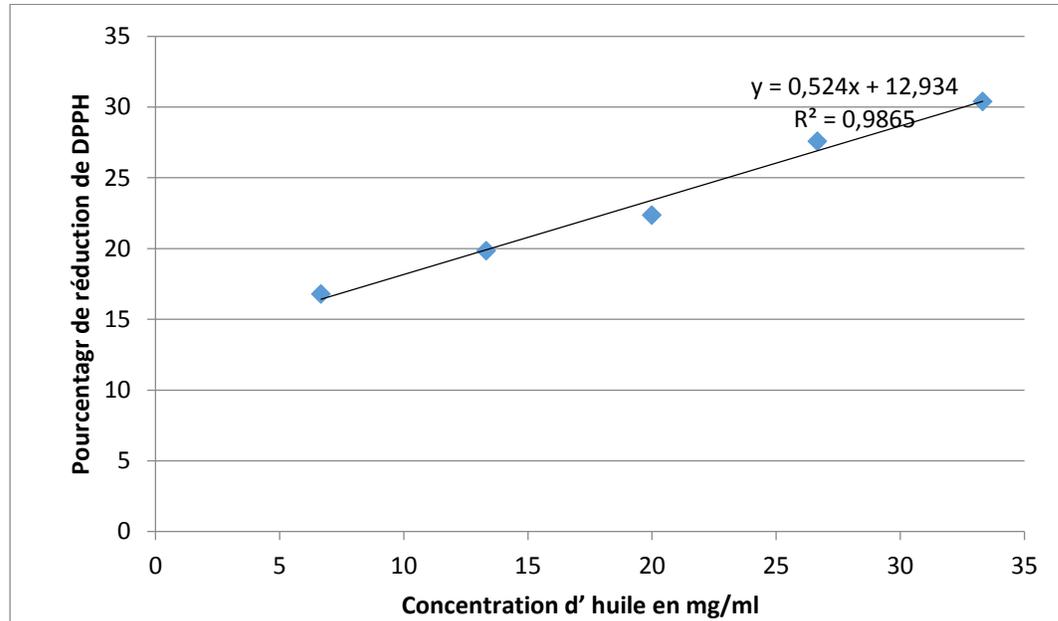


Figure10 : Graphe représentatif de la variation des pourcentages de réductions de DPPH en fonction des concentrations de l'huile essentielle de *Myrtus communus*

Nous pouvons remarquer que le pourcentage de réduction de DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration en huile. Pour une concentration de 14 mg/ml nous avons enregistré un pourcentage de l'ordre de 20%.

Ces résultats sont interprétés par les valeurs d'IC50 montrant la concentration qui réduit 50% de DPPH. Cette dernière est calculée graphiquement.

Nous avons calculé $IC_{50} = 70,73$ mg/ml

2.1. Réduction du DPPH par l'acide ascorbique :

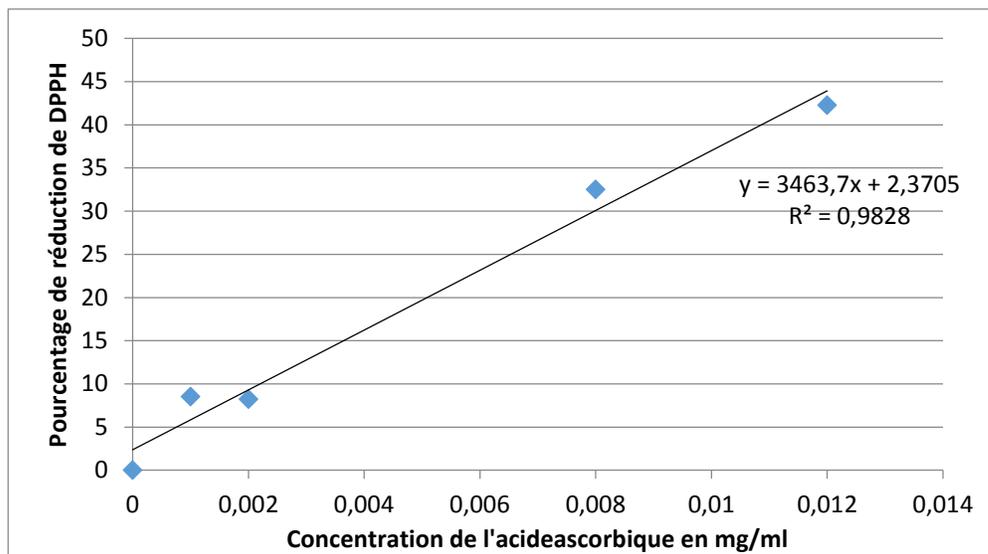


Figure11 : Graphe représentatif de la variation de pourcentage des réductions de DPPH en fonctions de concentrations de l'acide ascorbique.

Nous pouvons remarquer que le pourcentage de réduction de DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration en acide ascorbique. Pour une concentration de 0,002 mg/ml nous avons enregistré un pourcentage de l'ordre de 9%. Ces résultats sont interprétés par les valeurs d'IC50 montrant la concentration qui réduit 50% de DPPH. Cette dernière est calculée graphiquement et égale à 0,013 mg/ml. Nous avons remarqué une activité antioxydante de l'huile qui reste faible par rapport à l'acide ascorbique.

Discussion

La phytothérapie est très répandue dans la population algérienne où de nombreuses plantes et leurs extraits sont utilisés en thérapie traditionnelle pour leur efficacité réelle contre les maladies et la délimitation des vertus dont elles ont fait preuve. Du moins par notre étude qui recherche la présence de substances antioxydantes capables de réguler le processus de stress oxydatif. Nous nous sommes intéressés dans ce travail à la plante médicinale *Myrtus communis*.

L'objectif de cette étude est l'évaluation du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de cette plante. Pour cela, nous avons utilisé deux méthodes : la première est la technique de réduction du Fer (FRAP) et la deuxième piégeage du radical DPPH.

Dans cette étude l'extraction de l'huile a été faite en dehors des laboratoires de l'université de Tlemcen. Le traitement des résultats obtenus donne une l'IC 50 égale à 70,73 mg/ml et une EC50 de l'ordre de 6,45mg/ml.

Cheraitia *et al*, (2020) ont fait l'extraction des huiles essentielles (HE) des feuilles *Myrtus communis* L., récolté de différentes régions nord de l'Algérie et le rendement était variable en fonction de la région.

Benyaoun *et al*, (2019), ont évalué l'activité antioxydante des différents extraits de *Myrtus communis* par réduction du DPPH et du fer (FRAP). La méthode du DPPH de l'extrait acétate d'éthyle a montré une meilleure activité antioxydante par rapport à l'extrait butanolique avec une IC50 égale à 4,59 ±0,51 mg/ml, tandis que l'extrait butanolique a montré un IC50 égale à 3,167±0,17 mg/ml. D'autre part, le test de FRAP a révélé que l'extrait d'ACT a le meilleur pouvoir réducteur avec un EC50 de l'ordre de 1,67 mg/ml puis l'extrait butanolique avec un EC50 = 1,58 mg/ml.

En comparant ces résultats avec les nôtres, nous pouvons remarquer que l'huile essentielle de *Myrtus communis* est moins efficace que ces extraits testés par Benyaoun *et al*, (2019).

Cette constatation est confirmée en examinant le travail de Boumidouna, Kouar., (2019) qui ont enregistré une IC50 = 0,05 mg/ml de la fraction acétate d'éthyle sur en piégeant le radical DPPH.

Une faible activité antioxydante de l'HE du myrte d'Iran a été observée par Yadegarinia *et al.*, (2006) en terme de pouvoir de piégeage du radical libre DPPH- (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) à raison de 3,53% seulement. Par contre, cette activité a été estimée de 42.98% par le test d'inhibition de la peroxydation lipidique ou le test du β -carotène-acide linoléique. Selon ces chercheurs, cette différence dans les résultats est probablement due à la grande spécificité du second test aux composés lipophiles. L' α pinène (29,1%), le limonène (21,5%), le 1,8-cineole (17,9%) et le linalool (10,4%) étaient les majeurs composants de l'HE. Pour l'HE extraite des feuilles du myrte marocain, l'activité antioxydante a été aussi faible même pour le test du β -carotène-acide linoléique (8% à la dose maximale de 10 μ l/mL).

A cette même dose, la méthode du DPPH a donné une activité inférieure à 20%. L'HE contenait une forte proportion de composés monoterpéniques avec myrtényl acétate (49,27%), 1,8-cinéole (26,93%) et α -pinène (16,52%) comme composants majoritaires. Les HE des feuilles de myrte de Monténégro (les Balkans) ont été évaluées par Mimica-Dukiš *et al.* (2010) et leur pouvoir de réduire 50% le radical DPPH stable à la couleur jaune à des IC50 de 5,99 mg/mL et de 6,24 mg/mL, pour les deux sites de récolte respectifs.

Les effets antioxydants de l'HE extraite des feuilles du myrte de la Turquie sur les huiles comestibles du noyau de grenade, du pavot, du raisin et celle du lin ont été déterminés par Inan *et al.*,(2012). L'addition d'une dose de 0,05% a permis de prévenir l'augmentation des valeurs de la viscosité, du peroxyde et de l'acidité libre de toutes les huiles testées et conservées en contact d'oxygène à 60°C.

Ces résultats ont appuyé l'utilisation de l'HE comme conservateur alimentaire notamment des huiles comestibles afin de stabiliser l'oxydation de ces dernières durant la conservation.

Les activités antioxydantes de l'HE et de l'extrait méthanolique des parties aériennes du myrte tunisien (*M. communis* var. *italica* L.) collectées pendant la période de floraison ont été évaluées par Aidi *et al.* (2010) à l'aide des tests de piégeage des radicaux libres du DPPH, du blanchissement du β -carotène et pouvoirs chélatant et

réducteur du fer. Dans tous les tests, les extraits méthanoliques des différentes parties de myrte ont montré une meilleure activité antioxydante que les HE.

D'après Touaibia *et al* ; 2017 qui ont essayé de prouver le pouvoir antioxydant de *Myrtus communis* L, par deux techniques, FRAP et DPPH. Selon leur résultats enregistrés, ils ont trouvé que l'extrait de la plante *Myrtus communis* est doté d'un bon pouvoir antioxydant EC 50 = 0,69 mg/ml et un pourcentage d'inhibition de 77,52 % à la concentration de 0,69mg/ml. A titre comparatif on remarque que leur résultat a donné un bon effet par rapport a ce que nous avons enregistré EC50=6,45mg/ml pour la réduction du Fer. Par contre, l'huile a donné une capacité de piégeage de DPPH équivalente à 49% pour la concentration de 0,25 mg/ml, ce qui reste proche de celle trouvée par ces auteurs.

Les résultats de ce travail apportent un appui scientifique quant à l'utilisation traditionnelle de cette plante, ouvrant ainsi des perspectives pour leur intégration dans les industries pharmaceutiques et alimentaires.

Conclusion générale

Dans notre travail, nous nous sommes intéressées à l'étude de la plante *Myrtus communus* connue en Algérie sous le nom de « Rayhane » ou « Chelmoune » plus précisément en Kabylie.

L'huile de cette plante médicinale est considérée comme une source naturelle très importante de constituants phytopharmaceutiques utilisés pour éradiquer les radicaux libres responsables de nombreuses pathologies. Comme résultat nous avons trouvé que l'huile essentielle a une activité faible par rapport à l'acide ascorbique et montre une activité antioxydante avec une EC50 de l'ordre de 6,45mg/ml pour la technique de FRAP et une IC50 égale 48,46mg/ml pour la réduction du DPPH.

Ce travail est préliminaire et nécessite d'être reconduit par d'autres méthodes et techniques :

- Réaliser des études *in vivo* sur des animaux pour vérifier d'éventuelle toxicité et confirmer l'efficacité de l'huile de *Myrtus communus*
- Tester *in vivo* la capacité antioxydante de l'huile essentielle de *Myrtus communus* et plus particulièrement chez des patients avec un profil clinique de stress oxydatif pour suivre les effets préventifs et thérapeutiques.
- Réaliser d'autres tests d'évaluation du pouvoir antioxydant tel que le test de blanchiment du β -carotène, le test d'ABTS, test de crocine et la méthode par résonance et même la technique de TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity).

Références bibliographiques

1. Ames B, Shigenaga M, Hagen (1993).Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. Proc Natl Acad Sci USA 90.7915-7922.
2. APG III. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group
3. Aydın, C et Özcan, M.M. (2007).Determination of nutritional and physical properties of myrtle (*Myrtus communus* L.) fruits growing wild in Turkey. Journal of Food Engineering, 79,453–458
4. Benayoun Besma, Iligh Bouchra, Mosbah Camélia .Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante deux extraits des feuilles de *Myrtus* (Rayhane) de la région de Mila .Université Oum El Bouaghi, 2019.
5. Benjilali, B « Extraction des plantes aromatiques médicinales, cas particulier
« Entraînement a la vapeur d' eau et ses équipements », Thèse doctorat institut agronomique vétérinaire, Maroc 2004
6. Berdoulat Christine, Articles Longévité Médecine alternative Oxydation, Solutions, 2020
7. Berka- Zougali B., Ferhat M.A., Hassani A., Chemat F., Allaf K.S. (2012) Comparative Study of Essential Oils Extracted from Algerian *Myrtus communus* L. Leaves Using Microwaves and Hydrodistillation. International Journal of Molecular Sciences, 13, 4673-4695
8. Boumidouna Abdelkrim, Kouar Abdelouahab .Contribution à l'étude phytochimique (par chromatographie à couche mince : CCM), des activités antioxydantes et des activités antimicrobiennes de l'extrait des feuilles de *Myrtus*. Université Djelfa, (2019).
9. Bouzabata A.; Bazzali O.; Cabral, C.; Gonçalves, M.J.; Cruz, M.T.; Bighelli, A.; Cavaleiro, C.; Casanova, J.; Salgueiro, L.; Tomi F. New compounds, chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity of the essential oil from *Myrtus nivellei* Batt.et Trab., an endemic species of Central Sahara. J. Ethnopharmacol. 2013, 149, 613–620

10. Bruneton, J «Huiles essentielles, pharmacognosie phyto-chimie, plantes médicinales», 3^{ème} Edition Doc. Et Tech .Lavoisier, 1999
11. Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.*94, 223-253
12. Cann R., Wilson A (1983).Length mutation in human mitochondrial DNA, *Genetics*, 104.699-711
13. Cheraitia Roumaissa ; Djebli Zineb ; Bounar .Etude comparative de la composition chimique de l'huile essentiel de Myrte (*Myrtus communus*) de différentes régions d'Algérie. Université de Jijel, (2020).
14. Chryssavgi G, Vassiliki P, Athanasios M, Kibouris T, Michael K. 2008. Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chem* 107:1120–30
15. Ciccarelli D, Garbari F.Z, Pagni A-M, The flower of *Myrtus communus* (Myrtaceae): Secretory structures, unicellular papillae, and their ecological role. Department of Biology, University of Pisa, via Luca Ghini 5, I-56126 Pisa, Italy. Received 19 September 2006 ; accepted 25 January 2007
16. Cortopassi G, Shibata D, Soong N, Arnheim N (1992). A pattern of accumulation of a somatic deletion of mitochondrial DNA in aging human tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 89.7370-7374.
17. Echtay K, Esteves T, Pakay J, Jekabsons M, Lambert A, Portero-Otin M, Pamplona Vidal –Puig A, Wang S, Roebuck S and Brand M (2003). A signaling role for 4-hydroxy -2-nonenal in regulation of mitochondrial uncoupling .*Embo J* 22, 4103-4110
18. Favier Alain, Le stress oxydant, Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique ,2003
19. Franchomme P, Penoel D, « l'aromathérapie (encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles), Edition Jollois, Limoges 1990
20. Grêté, P. (1965). Précis de botanique, Systématique des angiospermes. Tome II ; 2^{ème} édition révisée, Faculté de Pharmacie de Paris – Masson : 429.

21. Gryc M.I., 1985. Contribution à l'étude botanique et chimique de *Myrtus communus* L. (Myrtacées). Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie, Faculté de Pharmacie, Université de Claude Bernard Lyon I
22. Haleng J. Pincemail J. , Defraigne J.O, Charlier C. , Chapelle J.P. , Le stress oxydant, 2007
23. Hellemont,J,V « Compendium de phytothérapie ». Edition APB, 1986, p260
24. Hong J ,Kim M ,Park M ,Kwag O ,Lee I ,Byun B, Lee S ,Lee K ,Rhee S (2004).Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin –induced diabetic rats . Clin Chim Acta 340,107-115.
25. Hulberlt A (2005) .on the importance of fatty acid composition of membranes for aging .J Theor Biol 234,277-288.
26. Kaddem, S-E. (1990). Les plantes médicinales en Algérie. Paris : Le monde pharmaciens. 113 p.
27. Kalachanis D, Psaras GK... Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communus* leaves. *Biologia Plantarum* 49, 2005, p105-110
28. Kalachanis,D GK. Psaras. Structure and development of the secretory cavities of *Myrtus communus* leaves. *Biologia Plantarum* 49, 2005, p105-110
29. Leverve X (2003). Hyperglycemia and oxidative stress: complex relationships with attractive prospects .Intensive Care Med 29,511-514.
30. Levine R (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging and disease. Free Radic Biol Med 32, 790-796.
31. M. Kafkas, S. Guney, H. Sadi ghazadi , L. Dirim and S. Kefayat, «Volatile compounds of selected white and black myrtle (*Myrtus Communis*), type from Mediterranean region of Turkey», Journal of Medicinal Plants Research, 2013, p 1244. 1248
32. Marnette L, (1999).Lipid peroxydation –DNA damage by malondihaldehyde. Mutas Res 424, 83-95
33. Migliore J.; Baumel A.; Juin M.; Médail, F. From Mediterranean shores to central Saharan mountains: Key phylogeographical insights from the genus *Myrtus*. J. Biogeogr. 2012, 39, 942–956.

34. Migliore L Copped F (2002). Genetic and environmental factors in cancer and neurodegenerative diseases *Mutate. Res*, 512(2-3): 135-53.
35. Migliore, J. (2011). Empreintes des changements environnementaux sur la phytogéographie du genre *Myrtus* en méditerranée et au Sahara. Thèse de doctorat, Université Paul Cézanne d'Aix-Marseille III. Pp.66-117
36. Montastier F « Le Myrte - *Myrtus communus* L. (Myrtaceae) ». Thèse de doctorat en Pharmacie, UPS Toulouse III, n° 2018,1997
37. Padrini, F .Lucheroni, M ,T « Le grand livre des huiles essentielles », Edition Vecchi, New York, 1996
38. Pamplona R, Portero –Otin M ,Ruiz C ,Gredilla R ,Herrero A ,Barja G (2000). Double bond content of phospholipids and lipid peroxidation negatively correlate with maximum longevity in the heart of mammals .*Mech aging Dev.* 112, 1437-1446
39. Paris R. R. Moyse H. 1965b : Matière Médicale, Tome III, Collection de Précis de Pharmacie, édition Masson & Cie, 264 p
40. Peng J, Jones G, Watson K (2000). Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: effects of antioxidant supplements. *Free Radic Biol Med* 28, 1598-1606.
41. Pyun M.S., Shin S., 2006. Antifungal effects of the volatile oils from *Allium* plants against *Trichophyton* species and synergism of the oils with ketoconazole. *Phytomedicine* 13, 394–400
42. Quézel P. et Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed CNRS, Paris, France, p. 636.
43. Rameau, J. C., Mansion, D., Dume G. et Gauberville, C. (2008). Flore forestière française. Guide écologique illustré. Région méditerranéenne (Vol. 3) Paris : Institut pour le développement forestier. 771 p
44. Rao A, Balachandran B (2002). Role of oxidative stress and antioxidants in neurodegenerative diseases *Nutr. Neurosci*, 5(5):291-309.
45. Rice-Evans,C.,Miller,N.J.,& Paganga,G.(1997).Antioxidant properties of phenolic compounds .*Trends in Plant Science*,2,152–159.

46. Richard H. : 1974 : Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles. Série synthèses bibliographiques. BNIST, CDIUPA, ENSIA. Ing. D. Davis, California. pp. 1-4.
47. Richter C, Park J and Ames B (1988). Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. Proc Natl Acad Sci USA 85, 6465-6467
48. Romani A, Pinelli P, Mulinacci N, Vincieri FF, Tattini M. (1999) Identification and quantification of polyphenols in leaves of *Myrtus communis*. Chromatographia, 49, 17-20
49. Rosa, A., Atzeri, A., Deiana, M., Scano, P., Incani, A., Piras, C., & Marincola, F. C. (2015). Comparative antioxidant activity and ¹H NMR profiling of Mediterranean fruit products. Food Research International, 69, 322–330.
50. Singer, A.C., Crowley, D., Thompson, I.P., 2003. Secondary plant metabolites in phytoremediation and biotransformation. Trends Biotechnology. 21, 123-130
51. Sofowora A. —1993— Medicinal plants and traditional medicine in Africa, 2 — Spectrum Books Limited, Ibadan, Nigeria, 289.
52. Sumbul S., Aftab Ahmed M., Asif M., and Akhtar M., 2011. *Myrtus communis* Linn. A review. Indian Journal of Natural Products and Resources 2, 395–402
53. Sumbul S.; Ahmad M A.; Asif M.; Akhtar, M.; Saud, I .Physicochemical and phytochemical standardization of berries of *Myrtus communis* Linn. J. Pharm. Bio all. Sci. 2012, 4, 322–326.
54. Tabuti J.R.S., Lye, K.A. et Dhillion, S.S. -2003- Traditional herbal drugs of Bulamogi, Uganda: plants, use and administration - J. Ethnopharmacol. 88: 19-44
55. Touabia M. et Chaouch F.Z .Propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de *Myrtus nivellei* Batt et Trab. Obtenus in situ et in vivo .Phytothérapie (2017) 15 :16-22.
56. Touaibia M., Chaouch F.Z., 2014. Composition de l'huile essentielle et des extraits alcooliques de l'espèce saharo-endémique *Myrtus nivellei* Batt. et Trab. Revue des Biosources 4(1), 13-20
57. Zheng, C., Riccardo, B., & Guglielmina, F. (2013). EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs.