

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche**  
**Scientifique Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel**



**Faculté des Sciences**  
**Exactes et Informatique**  
**Département de Chimie**

**Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master**

Option

**Chimie Pharmaceutique**

Thème

**Etude chimique et biologique des huiles essentielles et des métabolites  
secondaires de deux plantes médicinales : *Myrtus communis* L. et  
*Mentha pulegium* L.**

Réalisé par : **BOULOUARET Wafa & BOUFROUA Rania**

Membres de jury :

<b>KHELILI</b>	<b>Smail</b>	<b>Professeur</b>	<b>PRESIDENT</b>
<b>CHIBANI</b>	<b>Akila</b>	<b>MAA</b>	<b>EXAMINATRICE</b>
<b>BOUNAR</b>	<b>Haniya</b>	<b>MCB</b>	<b>ENCADRANTE</b>

**Année universitaire 2020/2021**



## *Remerciements*

Avant tout nous remercions Dieu (**ALLAH**) tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

Tous d'abord, nous exprimons sincères remerciement et gratitude à notre encadrante **M<sup>me</sup>. Bounar Haniya**, pour son soutien et sa gentillesse, sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire. Nous aimerions aussi la remercier pour votre précieux conseils et recommandation qui nous permis de mener à bien ce travaille.

Nous adressons nos sincères remerciement aux membres de jury **M<sup>lle</sup>. Chibani Akila** d'accepter d'examiner notre travail.

Et le **M<sup>r</sup>. KHELILI Smail** pour l'honneur qu'il nos a fait d'accepter de présider de jury.

Un remerciement particulier va à **M<sup>me</sup> LAHOUAL Asma**.

Notre plus grand merci s'adresse à **M<sup>r</sup>. Boukrouche Oussama**, Directeur du laboratoire des analyses médicales, pour son modestie, générosité, pour ses conseils, pour son accueil au sein de laboratoire en nous mettant dans d'excellentes conditions de travail.

Nous n'oublions pas le support de l'ensemble des ingénieurs au laboratoire de chimie. Nous voulons remercier toutes les personnes qui nous ont aidés, soutenues, et encouragées pour la réalisation de ce modeste travail.

## *«Dédicace»*

*Tout d'abord, nous remercions le **Dieu** d'avoir donné le pouvoir de raisonner, la santé et le courage, pour terminer ce travail.*

*A mon père **Ammar**, que Dieu lui fasse miséricorde ... J'espère que son âme repose en paix et qu'il me regarde avec fierté.*

*A ma mère **Massouda**, pour l'amour et le soutien que vous me donne, qui fait que j'en suis là aujourd'hui, difficile de résumer en quelques mots ce que tu apportes à ma vie ...je te dois le meilleur de moi-même.*

*A mes sœurs **Aicha, Sara, Houda & Amira** pour l'amour qu'ils m'ont toujours donné, leur encouragement, sacrifice et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études.*

*A mes chers grands mères **Yamina & Aicha**, que dieu les garde et les protège.*

*A mes petits anges **AbdErrahmane, Razane et Ammar**.*

*A ma chère tante **Houria**, pour ses précieux conseils, ses encouragements et son aide inestimable.*

*A ma famille, un grand merci pour tous et en particulier, mon beau-frère **Fouad** tout le respect et l'appréciation.*

*A <sup>Mme</sup> **B, Haniya.**, pour sa gentillesse, ses conseils précieux et ses orientations qu'elle n'a cessé de nous apporter tout au long de ce travail.*

*A mon binôme **Rania**.*

*A ma belle amie et sœur **Nawel** qui m'a toujours encouragé durant mes études merci d'avoir toujours été là.*

*A tous mes amis, pour tous les moments que nous avons partagés, et qui feront autant de bons souvenirs à se remémorer.*

*A mes Amis de fac, j'ai passé des années en or grâce à vous tous.*

*A tous ceux que ma réussite leur tient à cœur.*

*Et enfin, A toutes les mains qui m'ont été tendue....*

**WAF**

## Dédicace

الحمد لله والصلاة على الحبيب المصطفى صلى الله عليه وسلم

Al'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail.

A celui qui a été mon soutien et mon aide, et m'a inspiré par l'amour de la recherche de la connaissance, "Mon cher père Douadi", et à la bien-aimée de mon cœur et la lumière de ma vie, "Ma chère mère Meriama".

A mes grands-parents "Salah et Moussa", et ma grand-mère, que Allah ait pitié de leurs âmes.

A ma grand-mère, qu' Allah la bénisse avec une bonne santé.

A ma tante que j'aime beaucoup ma chère "yaya".

A la plus proche amie et ma douce jumelle "ma sœur Fadia".

A ma sœur précieuse "Manel".

A mon cher frère et la lumière de mes yeux "Omar".

A toute ma famille; mes tantes et mes oncles, qui m'aimaient et m'encourageaient.

A ma chère binôme, Wafa.

A ma chère amie Nihad.

A tous mes professeurs qui m'ont apporté leur savoir du primaire à l'université.

*Rania*

## Liste des abréviations

<b>A</b>	Absorbance.
<b>AcOEt</b>	Acétate d'éthyle.
<b>Ac</b>	Acide.
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	Trichlorure d'aluminium.
<b>AFNOR</b>	Association Française de Normalisation.
<b>Afssaps</b>	Agence Française de Sécurité Sanitaire Produit de Santé.
<b>C</b>	Concentration.
<b>°C</b>	Degré Celsius.
<b>CHCl<sub>3</sub></b>	Chloroforme.
<b>Cm</b>	Centimètre.
<b>CPG</b>	Chromatographie en Phase Gazeuse.
<b>CPG-SM</b>	Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse.
<b>DMSO</b>	Diméthylsulfoxyde.
<b>DPPH</b>	1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl.
<b>EAG/ mg EXS</b>	Equivalence de l'acide gallique par milligramme d'extrait sec.
<b>EQ /mg EXS</b>	Equivalence de la quercétine par milligramme d'extrait sec.
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Chlorure ferrique / Chlorure de fer (III).
<b>EtOH</b>	Ethanol.
<b>Ep</b>	Ether de pétrole.
<b>H %</b>	Taux d'humidité exprimé en pourcentage.
<b>h</b>	Heure.
<b>He</b>	Helium.
<b>HE(s)</b>	Huile(s) essentielle(s).
<b>HCl</b>	Chlorure d'hydrogène.
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Eau.
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	Acide sulfurique.
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	Chlorure de mercure II.
<b>Ia</b>	Indice d'acide.
<b>I<sub>2</sub></b>	L'iode.
<b>IC<sub>50</sub></b>	Concentration inhibitrice 50.
<b>KI</b>	L'iodure du potassium.

<b>KOH</b>	Hydroxyde de potassium.
<b>K pa</b>	Kilopascal.
<b>M</b>	Masse.
<b>MeOH</b>	Méthanol.
<b>Min</b>	Minute.
<b>Ms</b>	Matière végétale sèche.
<b>MH</b>	Muller Hinton.
<b>ml</b>	Millilitre.
<b>µg/µl</b>	Microgramme par microlitre.
<b>MgSO<sub>4</sub></b>	Sulfate de magnésium.
<b>NaNO<sub>2</sub></b>	Nitrite de sodium.
<b>NaCl</b>	Chlorure de sodium.
<b>NaOH</b>	Hydroxyde de sodium.
<b>NH<sub>4</sub>OH</b>	Hydroxyde d'ammonium.
<b>nm</b>	Nanomètre.
<b>P</b>	Poids.
<b>PI%</b>	Pourcentage d'inhibition.
<b>Rdt</b>	Rendement en huile essentielle.
<b>SM</b>	Spectrométrie de masse.
<b>Sec</b>	Seconde.
<b>UV</b>	Ultra-violet.
<b>µl</b>	Microlitre.
<b>µg</b>	Microgramme.
<b>µm</b>	Micromètre.
<b>%</b>	Pourcentage.

## Liste des figures

<b>Figure I.1</b> : Structure de quelques classes des flavonoïdes.....	14
<b>Figure I.2</b> : Structure de l'isoprène.....	15
<b>Figure I.3</b> : Montage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile.....	19
<b>Figure I.4</b> : Obtention de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur dans un appareil industriel alambic.....	20
<b>Figure I.5</b> : Le déroulement du processus de macération.....	22
<b>Figure I.6</b> : Appareil de soxhlet.....	25
<b>Figure II.1</b> : Présentation des tribus de la famille des <i>Myrtaceae</i> .....	31
<b>Figure II.2</b> : <i>Myrtus communis</i> .....	32
<b>Figure II.3</b> : Aire de distribution de <i>Myrtus communis</i> L dans le monde.....	33
<b>Figure II.4</b> : Caractéristiques morphologiques de <i>Myrtus communis</i> L.....	35
<b>Figure II.5</b> : <i>Mentha pulegium</i> .....	41
<b>Figure II.6</b> : Caractéristiques morphologiques de <i>Mentha pulegium</i> L.....	43
<b>Figure III.1</b> : Carte géographique de la région Ouled Bounar et Kaous -Jijel.....	55
<b>Figure III.2</b> : Pouvoir antiradicalaire par la méthode de DPPH.....	67
<b>Figure IV.1</b> : Rendement d'extraction des deux huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation et soxhlet.....	77
<b>Figure IV.2</b> : Rendement d'extraction des deux huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation et soxhlet.....	78
<b>Figure IV.3</b> : Rendements d'extraction des quatre phases de l'espèce <i>Myrtus communis</i> et <i>Mentha pulegium</i> .....	84
<b>Figure IV.4</b> : Graphique représentatif du taux d'humidité et la matière sèche (MS) de <i>Myrtus communis</i> .....	85
<b>Figure IV.5</b> : Graphique représentatif du taux d'humidité et la matière sèche (MS) de <i>Mentha pulegium</i> .....	85
<b>Figure IV.6</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.....	90
<b>Figure IV.7</b> : Teneurs en polyphénols dans les extrais éther de pétrole, CHCl <sub>3</sub> , AcOEt et n-but de <i>Mentha pulegium</i> et <i>Myrtus communis</i> .....	91

<b>Figure IV.8 :</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.....	92
<b>Figure IV.9 :</b> Teneurs en flavonoïdes dans les extraits ; CHCl <sub>3</sub> , AcOEt et n-but de <i>Mentha pulegium</i> et <i>Myrtus communis</i> .....	92
<b>FigureIV.10 :</b> Représentation graphique des pourcentages d'inhibition de radical DPPH en présence des extraits CHCl <sub>3</sub> , AcOH, n-but, et Ac Ascorbique pour la partie arienne de la plante <i>Mentha pulegium</i> .....	94
<b>FigureIV.11 :</b> Représentation graphique des pourcentages d'inhibition de radical DPPH en présence des extraits AcOEt, n-but et Ac Ascorbique pour la partie arienne de la plante <i>Myrtus communis</i> .....	95
<b>Figure IV.12 :</b> Activité antiradicalaire des extraits phénolique de <i>Mentha pulegium</i> et <i>Myrtus communis</i> .....	97
<b>Figure IV.13 :</b> Corrélation entre l'activité antiradicalaire (DPPH) et teneur en polyphénols totaux des extraits de <i>Myrtus communis</i> L.....	97
<b>Figure IV.14 :</b> Corrélation entre l'activité antiradicalaire (DPPH) et teneur en polyphénols totaux des extraits de <i>Mentha pulegium</i> L.....	98
<b>Figure IV.15 :</b> Résultats du test antibactérienne des deux HEs <i>Myrtus communis</i> et <i>Mentha pulegium</i> .....	103
<b>Figure IV.16 :</b> Zone d'inhibition antibactérienne des deux HEs <i>Myrtus communis</i> et <i>Mentha pulegium</i> .....	104
<b>Figure IV.17 :</b> Activité antifongique des deux extraits phénoliques de <i>Myrtus communis</i> et <i>Mentha pulegium</i> .....	106



### Liste des schémas

<b>Schéma III.1:</b> Les étapes d'extraction de l'huile essentielle par l'hydrodistillation.....	57
<b>Schéma III.2:</b> Les étapes d'extraction de l'huile essentielle par soxhlet.....	58
<b>Schéma III.3:</b> Protocole d'extraction des métabolites secondaires.....	62
<b>Schéma III.4 :</b> Protocole expérimentale de dosage des polyphénols totaux.....	65
<b>Schéma III.5 :</b> Protocole expérimentale de dosage des flavonoïdes totaux.....	66
<b>Schéma III.6 :</b> Protocole de la mise en œuvre du test du radical DPPH.....	69
<b>Schéma III.7 :</b> Protocole d'aromatogramme.....	72
<b>Schéma III.8 :</b> Protocole expérimentale des étapes de l'activité antifongique.....	74

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1:</b> Activités biologiques des composés polyphénoliques.....	11
<b>Tableau I.2 :</b> Classification des composés phénoliques.....	12
<b>Tableau I.3 :</b> Classification des composés terpéniques.....	15
<b>Tableau I.4 :</b> Classification des alcaloïdes.....	17
<b>Tableau I.5 :</b> Résumé des différentes méthodes d'extraction des produits naturels.....	25
<b>Tableau II.1:</b> Caractéristiques botaniques des de la famille des Myrtacées.....	32
<b>Tableau II.2 :</b> Caractéristique systématique de <i>Myrtus communis</i> L.....	34
<b>Tableau II.3 :</b> Description botanique des deux plantes.....	34
<b>Tableau II.4 :</b> Composition majoritaire de certaines huiles essentielles de <i>M. communis</i> L.extraites par hydrodistillation selon différentes origines.....	37
<b>Tableau II.5 :</b> Caractéristiques botaniques de la famille de lamiacées.....	40
<b>Tableau II.6 :</b> Caractéristique systématique de la plante <i>Mentha pulegium</i> L.....	42
<b>Tableau II.7 :</b> Description botanique de la plante <i>Mentha pulegium</i> L.....	42
<b>Tableau II.8 :</b> Composition de l'huile essentielle de <i>M.pulegium</i> selon différences origines.....	45
<b>Tableau III.1:</b> Masses et rendements en extraits obtenus à partir des feuilles de chaque espèce.....	60
<b>Tableau III.2 :</b> Caractéristiques des souches utilisés.....	71
<b>Tableau IV.1 :</b> Rendement d'extraction des deux huiles essentielles.....	76
<b>Tableau II.2 :</b> Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de <i>M. communis</i> et <i>M. pulegium</i> .....	78
<b>Tableau IV.3 :</b> Composition chimique des huiles essentielles du <i>Mentha pulegium</i> obtenues par la méthode de soxhlet.....	79
<b>Tableau IV.4 :</b> Caractéristiques physiques des huiles essentielles de <i>Myrtus communis</i> et de <i>Mentha pulegium</i> .....	82
<b>Tableau IV.5 :</b> Couleur et rendements en % des extraits secs des deux plantes.....	83
<b>Tableau IV.6 :</b> Criblage phytochimique de <i>M. communis</i> .....	86
<b>Tableau IV.7 :</b> Criblage phytochimique de <i>M. pulegium</i> .....	88

<b>Tableau IV.8 :</b> Activité anti-radicalaire exprimée en IC <sub>50</sub> des extraits, AcOH, n-but de <i>Myrtus communis</i> .....	95
<b>Tableau IV.9 :</b> Activité anti-radicalaire exprimée en IC <sub>50</sub> des extraits, CHCl <sub>3</sub> , AcOEt, n-but de <i>Mentha pulegium</i> .....	96
<b>Tableau IV.10 :</b> Résultats du test antibactérien des quatre extraits et de l'HE de l'espèces <i>Myrtus communis</i> .....	100
<b>Tableau IV.11 :</b> Résultats du test anti bactérien des quatre extraits et de l'HE de l'espèces <i>Mentha pulegium</i> .....	101
<b>Tableau IV.12 :</b> Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentiel avec la méthode de l'aromatogramme.....	102
<b>Tableau IV.13 :</b> Résultats du test anti fongique d'huile essentielle de <i>Myrtus communis</i> et <i>Mentha pulegium</i> .....	105

# Sommaire

**Remerciements**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des schémas**

**Liste des tableaux**

**Introduction générale**..... 1

## **Première Partie : Recherche Bibliographique**

### **Chapitre I : Les Métabolites Secondaires**

Introduction.....	4
I. Généralités.....	4
II. Les huiles essentielles.....	4
II.1. Généralités sur les huiles essentielles.....	4
II.2. Historique .....	5
II.3. Définition.....	5
II.4. Localisation dans les plantes.....	6
II.5. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....	6
II.6. Composition chimique des HEs.....	7
II.7. Domaines d'utilisation des HEs.....	7
II.7.1. Dans les industries agro-alimentaires.....	7
II.7.2. L'industrie de la parfumerie et de la cosmétique.....	7
II.7.3. La médecine et l'industrie pharmaceutique.....	8
II.7.4. Dans diverses industries.....	8
II.8. Les activités biologiques des huiles essentielles.....	9
II.9. Méthodes d'analyses des huiles essentielles.....	9
II.9.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	9
II.9.2. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM).....	10
II.10. Contrôle des huiles essentielles.....	10
III. Principales structures chimiques.....	11
III.1. Les composés phénoliques.....	11
III.1.1. Structure chimique et classification.....	12

III.1.2. Les flavonoïdes.....	13
III.1.2.2. Structure chimique et classification.....	13
III.2. Les terpènes.....	14
III.2.1. Structure chimique et classification.....	15
III.3. Les composés azotés ou les alcaloïdes .....	16
III.3.1. Structure chimique et classification.....	16
III.3.2. L'activités pharmacologiques des alcaloïdes.....	17
IV. Les méthodes d'extraction de composés bioactifs.....	18
IV.1. Introduction.....	18
IV.2. Distillation.....	18
IV.2.1. L'hydrodistillation.....	18
IV.2.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	20
IV.2.3. Distillation à la vapeur directe.....	20
IV.3. Extractions par solvant.....	21
IV.3.1. Extraction par un solvant volatil.....	21
IV.3.2. Extraction par solvants fixes.....	21
IV.3.2.1. L'enflourage ou extraction par la graisse froide.....	21
IV.3.2.2. Extraction par macération dans la graisse chaude.....	22
IV.4. Expression.....	23
IV.5. Autres procédés d'extraction.....	23
IV.5.1. Percolation.....	23
IV.5.2. L'hydrodiffusion.....	23
IV.5.3. Extraction assistée par micro-ondes.....	24
IV.5.4. L'extraction au CO <sub>2</sub> supercritique.....	24
IV.5.5. Extractions au soxhlet (extraction solide-liquide).....	24
IV.5.7.1. Principe de la méthode.....	24
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>27</b>

## **Chapitre II : Présentation des deux Plantes Etudiées**

31

Introduction.....

I. Monographie de genre *Myrtus communis* L..... 31

    I.1. Présentation botanique et géographique de la famille des Myrtacées..... 31

I.2.	<i>Myrtus communis</i> L.....	32
I.2.1.	Dénominations internationales.....	32
I.2.2.	Distribution géographique de myrte.....	33
I.2.3.	Caractéristiques systématiques.....	33
I.2.4.	Description botanique.....	34
I.2.5.	Utilisation médicinale et traditionnelle.....	35
I.2.6.	Composition chimique.....	36
I.2.7.	Les activités biologiques.....	38
I.2.7.1.	L'activité antibactérienne.....	38
I.2.7.2.	L'activité antifongique.....	38
I.2.7.3.	L'activités antioxydante.....	39
I.2.7.4.	L'activité hypoglycémiant/antidiabétique.....	39
I.2.7.5.	L'activité anti-inflammatoire.....	39
I.2.7.6.	L'activité anti-ulcéreuse.....	40
II.	Monographie de genre <i>Mentha pulegium</i> L.....	40
II.1.	Présentation botanique et géographique de la famille des Lamiacées.....	40
II.2.	<i>Mentha pulegium</i> L.....	41
II.2.1.	Dénominations internationales.....	41
II.2.2.	Distribution géographique de myrte.....	41
II.2.3.	Caractéristiques systématiques.....	41
II.2.4.	Description botanique.....	42
II.2.5.	Utilisation médicinale et traditionnelle.....	43
II.2.6.	Composition chimique.....	44
II.2.7.	Les activité biologiques.....	46
II.2.7.1.	L'activité antibactérienne.....	46

II.2.7.2. L'activité antifongique.....	46
II.2.7.3. L'activités antioxydante.....	46
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>48</b>

## **Deuxième Partie: Partie Expérimentale**

### **Chapitre I : Matériels et Méthodes**

Introduction.....	54
Objectifs de travail.....	54
I.1. Matériels.....	55
I.1. Matériel végétal.....	55
I.1.1. Le moment de récolte.....	55
I.1.2. Séchage.....	55
II. Etude chimique.....	55
II.1. Extraction des huiles essentielles.....	55
II.1.1. Extraction par hydrodistillation.....	56
II.1.2. Extraction par soxhlet.....	57
II.1.3. Détermination des rendements en huiles essentielles.....	59
II.1.4. Contrôle de qualité des huiles essentielles.....	59
II.1.4.1. Caractère organoleptique .....	59
II.1.4.2. Caractère physicochimique .....	59
II.1.4.3. Analyse des huiles essentielles.....	59
II.2. Extraction des métabolites secondaires (extraction solide/ liquide).....	60
II. L'analyse des extraits .....	63
II.1. L'analyse qualitative.....	63
II.1.1. Screening phytochimiques.....	63
III.2. L'analyse quantitative .....	64
III.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....	64
III.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux .....	65
III.3. Les activités biologiques.....	66
III.3.1. L'activité antioxydante.....	66
III.3.2.1. L'activité antibactérienne.....	70

III.3.2.2. L'activité antifongique.....	72
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>75</b>

## **Chapitre II : Résultats et discussions**

I. Extraction des huiles essentielles .....	76
I.1. Rendement d'extraction .....	76
I.2. Contrôle de qualité des huiles essentielles .....	78
I.2.1. Détermination des paramètres organoleptiques des huiles essentielles ...	78
I.2.2. Identification chimique des huiles essentielles .....	79
I.2.3. Caractéristiques physiques.....	82
II. Extraction des métabolites secondaires.....	82
II.1. Les rendements des extraits secs .....	83
II.2. Détermination de la teneur en eau .....	84
III. L'analyse des extraits .....	86
III.1. L'analyse qualitative.....	86
III.2. L'analyse quantitative .....	90
III.2.1. Dosage des polyphénols totaux .....	90
III.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux .....	91
III.2.3. Les activités biologiques .....	93
III.2.3.1. L'activité antioxydante .....	93
III.2.3.2. L'activité antibactérienne .....	99
III.2.3.3. L'activité antifongique.....	104
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>108</b>
<b>Conclusion et Perspectives.....</b>	<b>110</b>
<b>Annexes</b>	



# **Introduction Générale**

### Introduction générale

Personne n'ignore aujourd'hui la richesse et la diversité des plantes médicinales utilisées par 80% des habitants de notre planète qui ne se soignent que par les médecines traditionnelles de leur pays, car ils n'ont pas accès à la médecine moderne <sup>[1]</sup>.

L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaire des millénaires. Les plantes médicinales et aromatiques commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites.

L'Algérie possède un patrimoine végétal très riche : méditerranéen, Saharien et une flore paléo tropicale, estimé avec 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques <sup>[2]</sup>, reste peu étudiée et très peu exploré sur le plan pharmacologique. La valorisation des plantes médicinales de la flore nationale sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique Algérienne et aura un impact économique certain.

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne on s'est intéressé à deux espèces : Myrte appartenant à la famille des Myrtacées, et la Menthe pouliot appartenant à la famille des lamiacées.

Notre choix pour ces deux espèces est justifié par le fait qu'elles sont endémiques et riches en huiles essentielles et composés phénoliques notamment les flavonoïdes connus pour leurs activités biologiques diverses.

Ce travail est consacré à l'extraction des métabolites secondaires (les composés phénoliques et les huiles essentielles), à l'analyse des extraits et à l'évaluation de l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante par la méthode de DPPH pour ces deux plantes.

La présentation de ce manuel peut être répartie comme suit :

- La première partie concerne l'étude bibliographique qui commence par une revue des huiles essentielles et des métabolites secondaires (terpènes et flavonoïdes), elle se poursuit par une description botanique des deux espèces *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*.
- La deuxième partie, nous avons envisagé les travaux personnels, qui se déroule en deux étapes. Dans le premier, nous nous sommes intéressés à l'extraction des huiles essentielles et

## **Introduction Générale**

des métabolites secondaires. Ensuite, notre travail a traité l'analyse de ces extraits par déterminer de leur composition phytochimique, teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en huiles essentielles, l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne et l'activité antifongique.

- Enfin, nous avons conclu ce travail et donneront des perspectives de recherche pour la suite afin d'approfondir dans cette étude.

### Références bibliographiques

- [1] **González, A.G., Rodriguez Pérez, E.M., Padrôn, C.H. and Bermejo, J.,** (1997). Phytochemical Investigation of Canary Island lichens. *Virtual activity and Pharmacology*.
- [2] **Quezel, P., Santa. S.,** (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome I, C.N.R.S, Paris.

**Première Partie**  
**Recherche Bibliographique**

recherche bibliographique

# **Chapitre I**

## **Les Métabolites Secondaires**

## Introduction

L'une des caractéristiques des plantes est qu'elles forment de nombreux composés, et on sait peu de choses sur leurs effets au niveau de la plante. Le fait que beaucoup de ces composés n'aient pas été trouvés chez toutes les espèces indique qu'ils ne sont pas entrés dans le processus métabolique général : ce sont des métabolites secondaires qui ne jouent pas un rôle direct dans le niveau d'activité de base de l'organisme végétale (croissance, développement, reproduction...).

Ces métabolites secondaires peuvent être divisés en trois familles principales : les composés phénoliques, les terpènes, et les alcaloïdes <sup>[1]</sup>.

Chacune de ces familles des composés bioactifs ayant des caractéristiques structurales particulières découlant de la manière dont ils sont construits dans la nature (biosynthèse).

### I. Généralités

Chez les plantes, il existe un métabolisme secondaire, c'est une exclusivité du monde végétale. Ces produits, à structure chimique souvent complexe, sont très dispersés et très différents selon les espèces <sup>[2]</sup>.

Les métabolites secondaires sont un groupe de molécules qui interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits <sup>[3]</sup>.

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, dont plus de 200000 molécules ont été identifiées. Elles sont classées selon leur appartenance chimique en : composés phénoliques, alcaloïdes et terpénoïdes <sup>[2,4]</sup>.

### II. Les huiles essentielles

#### II.1. Généralité sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits végétaux naturels très intéressants et possèdent entre autres qualités diverses propriétés biologiques. Le terme « biologique » comprend toutes les activités que ces mélanges de composés volatils (principalement les mono et sesquiterpénoïdes, les benzénoïdes, les phénylpropanoïdes, etc.) exercent sur les humains, les animaux et d'autres plantes <sup>[5,6]</sup>.

## II.2. Historique

En Chine (cannelle, anis, gingembre), en Inde, En Egypte, en Grèce, en Amérique et au Moyen-Orient de l'Afrique (pin, fenouil...), les huiles essentielles étaient oubliées au Moyen Âge. À l'heure actuelle, l'Europe connaît un retour barbare et les connaissances sont généralement en déclin. Jusqu'à l'arrivée des Arabes, ils ont été témoins de la nouvelle vague de la phytothérapie, puis ont occupé une place importante dans l'arsenal de guérison à cette époque <sup>[7]</sup>.

En médecine traditionnelle, les huiles essentielles permettent d'apporter des soins. Depuis le XIX<sup>ème</sup> siècle, les ingrédients efficaces de plusieurs huiles essentielles odorantes ont été séparés, ils ont donc leurs utilisations particulières. Dans les années 1930, le chimiste français René Maurice Gattefosse a utilisé le terme « aromathérapie » pour désigner la pratique médicale de l'utilisation des huiles essentielles. En étudiant le parfum, il a découvert après un accident de laboratoire qu'il avait découvert que l'huile essentielle de lavande avait des propriétés antiseptiques et cicatrisantes <sup>[6, 8]</sup>.

Au début du XX<sup>ème</sup> siècle, des chercheurs (Chamberland, Cardac, Martindale) à travers leurs expériences, le pouvoir bactéricide des huiles essentielles est prouvé. Mais le vrai père de l'aromathérapie, c'est Gattefossé, puis Valnet et ses disciples. R.M. Gattefossé est un pionnier du parfum moderne. Il a été brûlé dans une explosion de laboratoire. Il a mis sa main dans un récipient avec de l'huile essentielle de lavande et a montré une excellente réflexion <sup>[7]</sup>.

## II.3. Définition

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air <sup>[9]</sup>.

Selon AFNOR l'huile essentielle : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention, elle



peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [par exemple, redistillation, aération, ...] » <sup>[10]</sup>.

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ses composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante et au fait qu'elles soient inflammables <sup>[10]</sup>.

### II.4. Localisation dans les plantes

Les huiles essentielles se trouvent dans toutes les parties du végétal : dans les poils sécréteurs des feuilles ou pétales, les cellules du parenchyme les poches à essences, le bois, la teneur en huiles essentielles d'une plante est très faible, et sa composition peut être variée selon sa localisation <sup>[11]</sup>.

### II.5. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

Les essences et les huiles essentielles ont des propriétés physiques communes, qui peuvent cependant varier en fonction de leur composition chimique :

- Elles sont solubles dans la plupart des solvants organiques et dans les huiles fixes.
- Elles sont peu solubles dans l'eau mais lui communiquent leur odeur.
- Les HE sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites « fixes ». Pour autant quelques HE font exception cette règle. C'est le cas du saffran, du girofle et de la cannelle <sup>[12,13]</sup>.
- Leur densité est généralement inférieure à celles de l'eau.
- Les HE ont un indice de réfraction élevé elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sur la lumière polarisée.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle lorsqu'elles viennent d'être préparées.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation et donc de conservation limitée.

A partir de ces propriétés que l'on prend des précautions de conservation, dans des flacons de petites tailles, bien bouchés, colorés ou en aluminium et si possible à basse température <sup>[14, 15]</sup>.

### II.6. Composition chimique des HEs

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses variables. Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle <sup>[16]</sup>.

Les composés volatils ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses et par la même ont reçu empiriquement le nom d'huile. Le terme « huile » soulignant le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances, le terme « essentiel » se comprenant comme la caractéristique principale de la plante.

On regroupe l'huile essentielle en 11 familles de substances chimiques :

Les esters, Les phénols, Les lactones et coumarines, Les cétones, Les acides, Les aldéhydes aromatiques, Les oxydes, Les alcools, Les aldéhydes aliphatiques, Les sesquiterpènes et Les monoterpènes <sup>[17]</sup>.

### II.7. Domaines d'utilisation des HEs

Les huiles essentielles utilisées dans les parfums et les médicaments sont désormais omniprésentes dans notre vie quotidienne : dans les cosmétiques, les produits d'hygiène ou les parfums d'intérieur, dans les huiles aromatiques utilisées dans des massages bien conçus, et même vendues sous forme de complexes purifier notre air pollué. Ils ont également constaté un intérêt croissant pour l'industrie et l'industrie alimentaire.

#### II.7.1. Dans les industries agro-alimentaires

Les premières utilisations des plantes aromatiques par l'homme se sont faites pour enrichir la cuisine. Les Egyptiens diffusaient des odeurs par le chauffage de mélanges contenant des huiles essentielles dans le but d'augmenter l'appétit des personnes malades <sup>[12]</sup>.

Les huiles essentielles sont finalement devenues des arômes naturels et des condiments dans de nombreux domaines de l'agroalimentaire : liqueurs, boissons, confiseries, plats cuisinés ; c'est le cas des essences de gingembre, de girofle, de vanille, de basilic, de poivre, de citrus. Les huiles essentielles extraites de citrus, par exemple, trouvent leur utilisation dans la confiserie, les sirops, les biscuiteries. On note leur intégration aussi dans les boissons, les produits laitiers, les soupes, les sauces, les snacks, les boulangeries ainsi que la nutrition animale <sup>[12, 18]</sup>.

#### II.7.2. L'industrie de la parfumerie et de la cosmétique

Les huiles essentielles sont largement utilisées dans le domaine de l'industrie cosmétique et de la parfumerie.

## Chapitre I : Les Métabolites Secondaires

La cosmétique est le secteur des produits d'hygiène naturels et synthétiques pour consommateurs ; l'utilisation des HEs consiste à l'intégrer dans les analgésiques pour la peau, les produits solaires. On les retrouve aussi dans les préparations pour bains. Intégrées aux huiles de massage, leur teneur ne doit pas dépasser 3 à 4%. Le menthol, par exemple, à trouver une utilisation variée dans les produits tels que les dentifrices, mousses, nettoyantes, aliments, et des préparations pharmaceutiques orales. L'huile de menthe poivrée a la troisième saveur mondiale, derrière les saveurs vanille et citron <sup>[19]</sup>.

Pour la parfumerie, qu'elle soit cosmétologique ou technique, la qualité d'une huile essentielle se jugera principalement à son odeur. Ce n'est pas le cas lorsque l'on parle de la cosmétologie en général pour laquelle les huiles essentielles présentent l'avantage d'être à la fois des produits actifs, odorants et naturels <sup>[12]</sup>.

Les huiles essentielles sont également à l'origine de nombreuses études en raison de leurs propriétés antibactériennes et antifongiques en cosmétique. Leur intérêt auprès des industriels est de pouvoir communiquer sur leur activité biologique ou leur capacité parfumant sans avoir à les traiter comme des « conservateurs » <sup>[12]</sup>.

### II.7.3. La médecine et l'industrie pharmaceutique

Pendant des milliers d'années, les humains ont utilisé des huiles essentielles et plus communément des plantes aromatiques pour le traitement. De nos jours, les médecines dites naturelles rencontrent de plus en plus de succès auprès du public. L'industrie pharmaceutique utilise également l'huile essentielle sous un nombre grandissant de formes, (complexes à vaporiser, pastilles, gélules, dentifrices, etc...). Ces préparations contenant des huiles essentielles sont conformes à la réglementation phytothérapeutique. Ces produits sont de plus en plus enregistrés sous le statut de compléments alimentaires, et il y a moins de restrictions à ce sujet <sup>[12]</sup>.

Les médicaments contenant des huiles essentielles sont utilisés dans la nature, notamment pour la préparation d'infusions (menthe, mélisse, verveine, fleur d'oranger...) et de formes galéniques simples, voire pour l'aromatisation de formes médicamenteuses orales <sup>[20]</sup>.

### II.7.4. Dans diverses industries

Au vu des quantités utilisées et des exigences des personnes qui les utilisent (comme le besoin de matières premières stables et connues), chacun des domaines ci-dessus est déjà dans une certaine mesure une application industrielle.

Les huiles essentielles entrent dans la composition de nombreux produits industriels. Cela s'applique à l'industrie des détergents (la majeure partie de la production mondiale d'huile essentielle de lavande est utilisée dans les détergents et les assouplissants <sup>[12]</sup>).

Il s'agit aussi dans l'industrie chimique, qui utilise des isolats (substances pures séparées des HEs) comme matières premières pour la synthèse de principes actifs pharmaceutiques, vitamines, odorants, etc... <sup>[21]</sup>.

### **II.8. Les activités biologiques des huiles essentielles**

L'activité biologique des huiles essentielles est liée à sa composition chimique, notamment liée aux groupements fonctionnels de la plupart des composés : phénols (thymol, carvacrol, eugénol), alcool ( $\alpha$ -terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes et les composés terpéniques et cétoniques. Il est connu depuis l'antiquité que les huiles essentielles présentent des propriétés médicinales nombreuses et variées telles que, les propriétés antiseptiques, antimicrobiennes, antitoxiques, antivenimeuses, antioxydantes, antiparasitaires, diurétiques, propriétés anticancéreuses <sup>[22]</sup>.

### **II.9. Méthodes d'analyses des huiles essentielles**

L'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles utilise une variété de techniques et de méthodes. Parmi ces méthodes, nous parlons de méthodes d'analyse microscopique, qui peuvent même identifier et déterminer des traces de produits. Ces méthodes comprennent l'utilisation de techniques de séparation et l'analyse de la structure chimique.

#### **II.9.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

La chromatographie en phase gazeuse (GC) est une méthode analytique convient pour la séparation de composés gazeux ou potentiellement vaporisés ne se décompose pas en chauffant. CPG est une technique couramment utilisée analyse des huiles essentielles. Il permet la séparation des composés analyse quantitative des volatiles et résultats de mélanges très complexes réduire le volume d'injection <sup>[23]</sup>.

Pour chaque composé, deux des indices de rétention polaires et non polaires peuvent être obtenus. Leur formule de calcul est temps de rétention des alcanes ou des esters plus rares dans la gamme standard méthyle linéaire, à température constante (indice de Kovats) <sup>[24]</sup> ou dans le programme de température (indice de rétention) <sup>[25]</sup>.

### II.9.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)

Couplage CPG/MS en mode choc électronique (SM-IE) le plus couramment utilisé dans le domaine des huiles essentielles. Il permet de savoir, en dans la plupart des cas, le poids moléculaire du composé et les informations structurales liées aux fragments moléculaires. Dans la source d'ionisation, les molécules sont bombardées Les électrons, conduisant à la formation d'ions en phase gazeuse. L'ion est dirigé vers la partie analyse de l'appareil. Faisceau d'ions traversant vérifiez ensuite l'analyseur de masse et convertissez-le en un signal utilisable. Enfin, l'ordinateur enregistre les données du spectromètre de masse et convertissez-les en la valeur de la masse et de l'intensité du pic et du courant ionique tout. Il permet de vérifier les données enregistrées et ses opérations : Masse, un chromatogramme reconstruit à partir d'un spectre en ajoutant à un autre spectre, calcul d'une moyenne sur plusieurs spectres, etc. Les spectres de masse ainsi obtenus, sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles [26].

### II.10. Contrôle des huiles essentielles

Selon les recommandations de l'Afssaps, mais également selon la Pharmacopée Européenne et française, ainsi que selon les normes ISO et NF, les contrôles physicochimiques des huiles essentielles sont nécessaires pour évaluer leur qualité (qualitologie).

L'évaluation de la qualité des HEs est réalisée par la mesure d'un certain nombre d'indices et des analyses chromatographiques simples :

- Indices physiques : densité relative, indice de réfraction, angle de rotation optique, point de solidification, résidu d'évaporation, miscibilité dans l'éthanol, éventuellement recherche d'huiles grasses ...
- Indices chimiques : indice d'acide, indice d'esters, indice de peroxyde, indice de Carbonyle... [6].

Ainsi que les analyses chromatographiques ; La chromatographie en phase gazeuse (CPG), couplée ou non à la spectrométrie de masse (MS), permet de séparer et de

quantifier les différentes molécules contenues dans ce mélange complexe. Ce type d'analyse reste la méthode la mieux adaptée pour connaître la composition exacte de l'HE <sup>[6]</sup>.

### III. Principales structures chimiques

#### III.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins <sup>[21]</sup>.

Ils forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un noyau benzénique, liée au moins avec un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside <sup>[27]</sup>.

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant <sup>[28]</sup>.

**Tableau I.1:** Activités biologiques des composés polyphénoliques <sup>[29]</sup>.

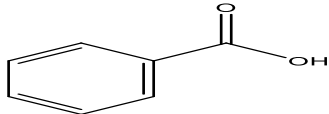
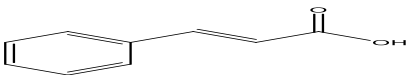
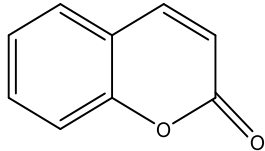
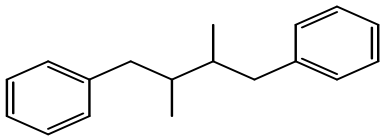

<b>Polyphénols</b>	<b>Activités</b>
<b>Acide phénols (cinnamiques et benzoïques)</b>	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
<b>Coumarines</b>	Protectrices vasculaires Antioedémateuses
<b>Flavonoïde</b>	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoire Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
<b>Anthocyanes</b>	Protectrices capillaro- veineux

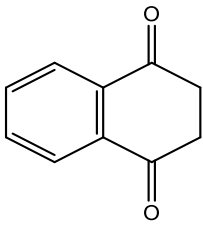
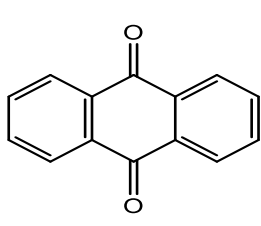
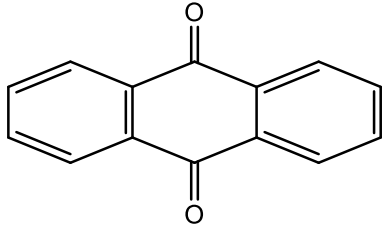
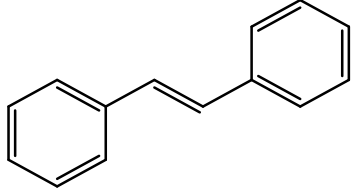
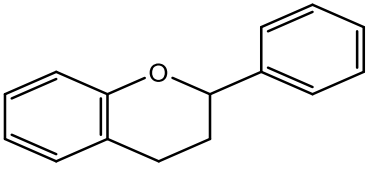
<b>Proanthocyanidines</b>	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
<b>Tanins galliques et catéchiques</b>	Antioxydantes

### III.1.1. Structure chimique et classification

Dans cette catégorie, on trouve de nombreuses substances mentionnées dans le tableau ci-dessus :

**Tableau I.2 :** Classification des composés phénoliques <sup>[27]</sup>

Squelette carboné	Classe	Structure de base
<b>C6-C1</b>	Acides phénols	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dérivés de l'acide benzoïque.</li> <li>• Dérivés de l'acide cinnamique.</li> </ul>  <p>Acide benzoïque</p>  <p>Acide cinnamique</p>
<b>C6-C3</b>	Coumarines	
<b>(C6-C3)<sub>2</sub></b> <b>(C6-C3) n</b>	Lignanes	 

<p><b>C6-C4</b> <b>C6-C4- C6</b></p>	<p>Quinones</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>Naphtoqui</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>Anthraquinone</p> </div> </div>
<p><b>C6-C1-C6</b></p>	<p>Xanthomes</p>	<div style="text-align: center;">  </div>
<p><b>C6-C2-C6</b></p>	<p>Stilbènes</p>	<div style="text-align: center;">  </div>
<p><b>C6-C3-C6</b> <b>(C6-C3-C6) n</b></p>	<p>Flavonoïdes Tannins condensés</p>	<div style="text-align: center;">  </div>

### III.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes *lato sensu* sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont, entre autres et pour certains, responsables de la coloration des fleurs dont le pouvoir attracteur conditionne la pollinisation entomophile.

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, antitumorales, antiinflammatoires, antiallergiques, antioxydants et anticancéreuses <sup>[30]</sup>.

#### III.1.2.2. Structure chimique et classification

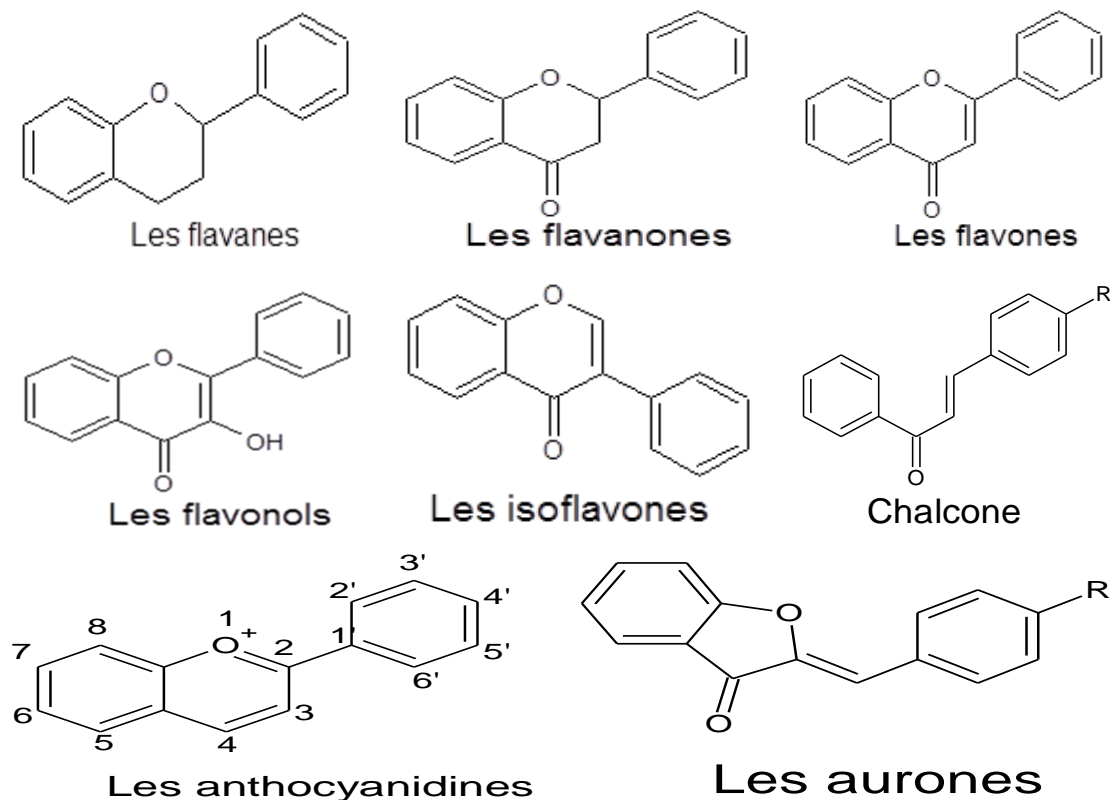
Tous les flavonoïdes – plusieurs milliers ont été décrits – ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement 2 – phénylchromane. Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, lequel peut être ouverte et recyclisé en un motif furanique (dihydrofuranone) <sup>[27]</sup> :



## Chapitre I : Les Métabolites Secondaires

- 2-phénylbenzopyriliums, *alias* anthocyanes ;
- 2-phénylchromones ;
  - Flavones, flavanols et leurs diamètres,
  - Flavonones et dihydroflavonols (dérivés 2,3-dihydrogénés) ;
- 2- phénylchromanes ;
  - Flavanes ;
  - Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols ;
- Chalcones et dihydrochalcones (le cycle pyranique est ouvert) ;
- 2-benzylidène-coumaranones (aurones).

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques : flavanols, flavones, flavanols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Figure I.1) <sup>[31]</sup>.



**Figure I. 1** : Structure de quelques classes des flavonoïdes.

### III.2. Les terpènes

Les terpènes forment une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Les terpènes sont considérés comme l'un des éléments de construction préférés de la nature.

## Chapitre I : Les Métabolites Secondaires

Tous les terpènes et les stéroïdes peuvent être considérés comme formés par l'assemblage d'un nombre entier d'unités pentacarbonées ramifiées du 2-méthylbutadiène.

En 1887, Wallach envisagerait que les terpènes devaient être construits à partir d'unités isoprénique et quelques dizaines, d'années plus tard (1953) Ruzika, transformait cette hypothèse en une règle générale dont le principe a été, de puis, confirmé expérimentalement [27].

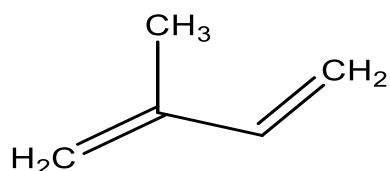


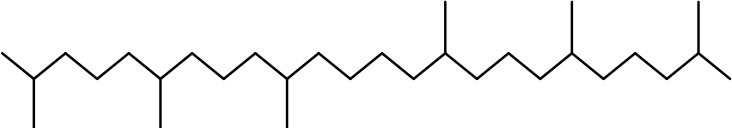
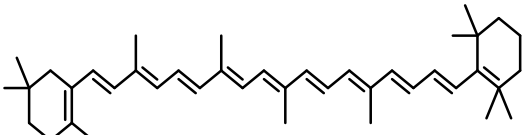
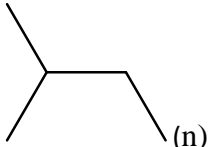
Figure I.2 : Structure de l'isoprène.

### III.2.1. Structure chimique et classification

Le nombre d'unités isoprénique engagées dans la formation d'un terpène permet la classification de ces substances naturelles :

Tableau I.3 : Classification des composés terpéniques [27].

La classe	Le nombre de carbone	Squelette de base des structures acycliques
Hémiterpènes	(C5)	 2-Méthyl-1,3-butadiène
Monoterpènes	(C10)	 2,6-diméthyl-octane
Sesquiterpènes	(C15)	 2,6,10-triméthyl-dodécane
Diterpènes	(C20)	 Hexadécane,2,6,10,14-tétraméthyl
Sesterterpènes	(C25)	 2,6,10,14,18-pentaméthyl-icosane

<b>Triterpènes</b>	(C <sub>30</sub> )	 2,6,10,15,19,23-hexamethyltetracosane
<b>Tétraterpènes</b>	(C <sub>40</sub> )	
<b>Polyterpènes</b>	(C <sub>5n</sub> )	

Les trois séquences réactionnelles fondamentales qui justifient l'existence de tous les terpènes et stéroïdes sont :

- La formation des unités réactives en C<sub>5</sub> à partir de l'acétate, via le mévalonate ;
- Le couplage *tête-à-queue* des unités isoprénique impliquées dans la formation des mono-, sesqui-, di-, sester-, et polyterpènes ;
- Le couplage *queue-à-queue* des unités en C<sub>15</sub> et en C<sub>20</sub> permettant l'élaboration des précurseurs des triterpènes et des polyterpènes <sup>[27]</sup>.

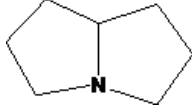
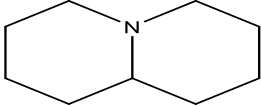
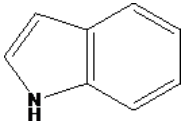
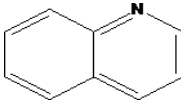
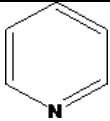
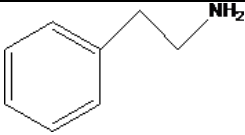
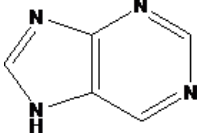
### III.3. Les composés azotés ou les alcaloïdes

Un alcaloïde est une substance organique naturelle (le plus souvent d'origine végétale), ayant dans sa composition au moins un atome d'azote, de structure moléculaire complexe réagissant comme des bases, comme des alcalis (de l'arabe al kaly, la soude et du grec eidos, l'aspect). Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative et sont souvent toxiques ; de nombreux poisons dangereux comme l'atropine, extrait de la belladone mortellement toxique et qui peut cependant être utilisée à faibles doses dans une optique thérapeutique, font partie de la famille des alcaloïdes. Ils existent à l'état de sels et ils sont biosynthétique formés à partir d'un acide aminé <sup>[27, 32, 33]</sup>.

#### III.3.1. Structure chimique et classification

Ces composés peuvent être classés comme alcaloïdes vrais, les pseudo-alcaloïdes, et les proto-alcaloïdes.

Tableau I.4 : Classification des alcaloïdes [27].

Type des alcaloïdes	Groupe des alcaloïdes	Structure des alcaloïdes
Alcaloïdes vrais	Pyrrolidine	
	Quinolizidin	
	Indole	
	Quinoléine	
	Pyridine	
Proto-alcaloïdes	Phényléthylamines	
	Tropolones	
Pseudo-alcaloïdes	Alcaloïdes terpéniques	
	Purine	

### III.3.2. L'activités pharmacologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés :

- Au niveau de système nerveux centrale, qu'ils soient dépresseurs (morphine) ou stimulantes (caféines).

- Au niveau de système nerveux autonomes, sympathomimétiques (éphédrines) ou sympatholytiques, parasympathomimétiques inhibiteurs des cholinestérasés anti-cholinergiques.
- Anesthésiques locaux, antitumoraux <sup>[27]</sup>.

### IV. Les méthodes d'extraction de composés bioactifs

#### IV.1. Introduction

Plusieurs méthodes d'extraction d'essences aromatiques de plantes sont connues. La principale méthode d'extraction est basée sur l'entraînement de la vapeur, l'expression, Solubilité et volatilité. Chacun d'eux a donné un diagramme de composition différent huile essentielle du produit.

Le choix de la méthode la plus appropriée pour extraire les huiles essentielles des plantes est selon la nature, les propriétés physiques et chimiques de la matière végétale à traiter essence extraite et utilisation de l'extrait <sup>[11]</sup>.

#### IV.2. Distillation

La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'obtention des composés d'arôme du fait qu'elle produit des substances volatiles facilement analysable par chromatographie en phase gazeuse et exigeant une technologie relativement simple, donc un coût plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable.

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile et elle se fonde sur la caractérisation que possèdent ces composantes qui peuvent être facilement transportées par des particules de vapeur d'eau en mouvement <sup>[34]</sup>.

La plus des huiles essentielles sont obtenues par distillation, à l'exception des huiles essentielles d'hespéridés (citron, orange, etc.) et l'huile de cade.

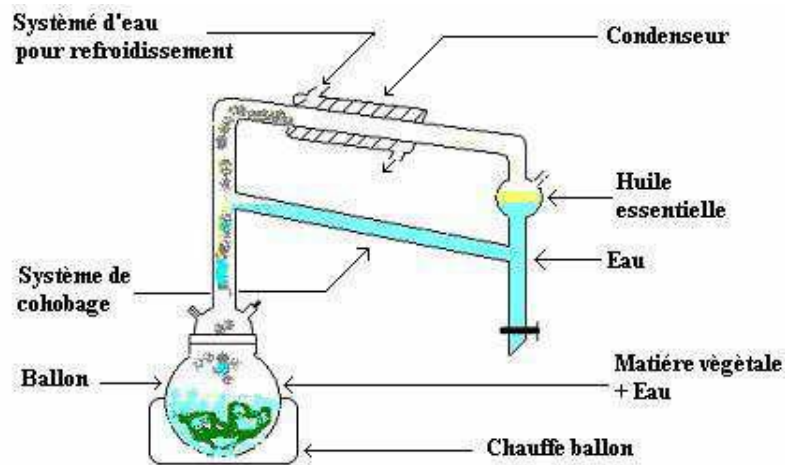
La vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles, une quantité suffisante de vapeur permet largement l'isolement des essences de plante. Il existe trois grands modes de distillation <sup>[15]</sup>.

##### VI.2.1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation ou entraînement par la vapeur est la technique la plus ancienne, elle est généralement mise en œuvre sur des parties de plante fraîche (fleurs et feuilles) mais peut aussi traiter des racines pulvérisées (iris, costus) <sup>[35]</sup>. Elle permet d'isoler les huiles essentielles à l'état pur.

Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé [turbodistillation]) dans un alambic rempli d'eau distillée qui est

ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différences de densité [15, 20, 36].



**Figure I.3 :** Montage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile [35].

Cette technique présente plusieurs avantages :

- Les températures nécessaires à la mise en œuvre de cette technique se situent autour de 100 °C.
- Le solvant utilisé est l'eau (technique économique).
- Le temps de manipulation est minimal par rapport aux autres méthodes d'extraction.
- L'alambic utilisé permet un mouvement suffisamment libre de la plante dans l'eau, ceci contribue à augmenter la surface de contact entre l'eau et la plante.
- La simplicité de l'alambic utilisé et le faible coût et aussi la facilité de l'installation.

Les inconvénients de cette méthode sont les suivants :

- Le risque de pertes des composés thermolabiles (certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation). L'hydrodistillation possède des limites. Le chauffage prolongé et puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques. L'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters, Aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations et/ou des oxydations [3,6].

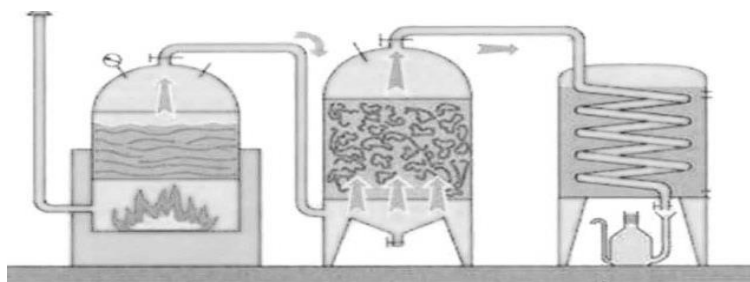
### IV.2.2. Entraînement à la vapeur d'eau

La matière végétale, dans ce cas se trouve supportée par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic. La partie inférieure de celui-ci est remplie d'eau. Le niveau de cette dernière doit permettre d'éviter tout contact entre l'eau et la plante. Les particules de la vapeur d'eau, se dirigeant vers le haut, font éclater les cellules contenant l'essence et entraînent avec elles les molécules odorantes. La vapeur passe ensuite à travers un récipient réfrigérant où la température diminue, provoquant le détachement des molécules huileuses des particules de vapeur, qui se condensent en eau. L'huile et l'eau se séparent du fait de leur poids spécifique différent : l'huile flottera sur l'eau car elle est plus légère. A travers un robinet, on fait couler le distillat qui contiendra les composants hydrosolubles de l'essence aromatique et l'on obtient ainsi l'huile essentielle pure <sup>[15]</sup>.

L'absence de contact direct entre l'eau et les matières végétales, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évitant certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, l'arôme d'HE obtenu est plus délicat, la distillation est régulière, et la vitesse est plus rapide, ce qui signifie que la note de tête est riche en esters.

Les fractions dites « de tête », fragrances très volatiles dues à des molécules légères. Cependant, le contact direct des composants de l'HE avec l'eau peut provoquer des réactions chimiques, qui peuvent conduire à des modifications de la composition finale de l'extrait.

Les conditions opératoires, notamment le temps de distillation, ont une influence considérable sur le rendement et la composition de l'HE <sup>[37]</sup>.



**Figure I.4 :** Obtention de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur dans un appareil industriel alambic <sup>[6]</sup>.

### IV.2.3. Distillation à la vapeur directe

Cette méthode ressemble à celle décrite précédemment sauf que cette fois il n'y a pas d'eau au fond de l'alambic. La vapeur saturée ou surchauffée à pression généralement supérieure à la

pression atmosphérique est introduite au fond de l'alambic par un système de conduite et travers la masse végétale de bas en haut. La vapeur provient d'une chaudière indépendante <sup>[15]</sup>.

Les huiles essentielles obtenues par distillation ne représentent jamais exactement l'arôme et le parfum existants naturellement dans la plante.

### IV.3. Extractions par solvant

La technique générale a été développée précédemment où la plante est utilisée sous la forme divisée : contusée, hachée, concassée ou réduite en copeaux, ou en poudre dans le cas de plantes séchées. Le choix du solvant dépend des paramètres techniques et économiques ainsi que de sa toxicité <sup>[6]</sup>.

#### IV.3.1. Extraction par un solvant volatil

Ce mode d'obtention qui conduit aux concret et absolus est à proscrire pour les HEs à destination thérapeutique. Cette technique est actuellement appliquée dans le monde entier, soit pour obtenir des produits que l'on ne peut extraire par un autre procédé, soit en vue de rendements bien supérieurs.

Quant à l'extraction par solvants volatils, elle a l'inconvénient d'entraîner une récupération plus difficile des huiles essentielles, mais par ailleurs, elle a l'avantage de pouvoir traiter des végétaux présentant un pourcentage infime de principe odorants <sup>[15]</sup>.

Les solvants les plus utilisés, sous réserve de législations restrictives particulières, sont les hydrocarbures aliphatiques : hexane, éther de pétrole, mais aussi propane ou butane liquide (sous pression). Si le benzène est un bon solvant, sa toxicité limite de plus en plus son utilisation, ainsi les solvants halogènes (dérivés chlorés et fluorés du méthane et de l'éthane) et à l'éthanol <sup>[20]</sup>.

#### IV.3.2. Extraction par solvants fixes

##### IV.3.2.1. L'enfleurement ou extraction par la graisse froide

Cette technique a d'abord été utilisée par les Égyptiens puis développée à Grasse au XIXe siècle. Il semble que l'application principale soit en parfumerie, qui ne concerne que les fleurs fragiles, qui conservent encore l'odeur après la cueillette, mais sa distillation à l'eau risque de dégrader les molécules odorantes existantes. Cette technique consiste à mettre en contact des fleurs avec des corps gras inodores. Le mélange est ensuite essoré avec un solvant organique, puis le solvant organique est évaporé. La concentration de la substance ainsi obtenue est très élevée, qui est ensuite diluée et traitée avec d'autres solvants dissolvant les graisses <sup>[6]</sup>.



### IV.3.2.2. Extraction par macération dans la graisse chaude

Lorsque les fleurs sont peu sensibles à la chaleur (par exemple, fleur d'oranger, acacia, mimosa), soufflez-les à l'air chaud vers 60-70°C en les injectant dans de la graisse ou de l'huile fondue. Cette méthode est plus rapide qu'à température ambiante. Le traitement ultérieur est le même que précédemment, tout comme la demande. Extraire avec des solvants organiques pour produire du béton et de l'huile pure, qui peut être toxique pour l'homme, il n'est donc pas recommandé pour un usage médical. S'il y a des traces de ces solvants résiduels dans le produit fini, les solvants courants, tels que l'hexane, le benzène, le toluène, le méthanol, l'éthanol et l'acétone, peuvent provoquer une intoxication chronique, voire aiguës, si des traces de ces solvants résiduels sont présentes dans les produits finis <sup>[6]</sup>.

La technique dite de « digestion » est réalisée en immergeant des organes végétaux dans de la matière grasse en fusion. Le produit obtenu est une pommade florale. Lavage de la pommade avec de l'alcool fort produira un extrait d'alcool. L'alcool est éliminé, tout comme dans le cas d'une concentration sous vide à basse température <sup>[6]</sup>.

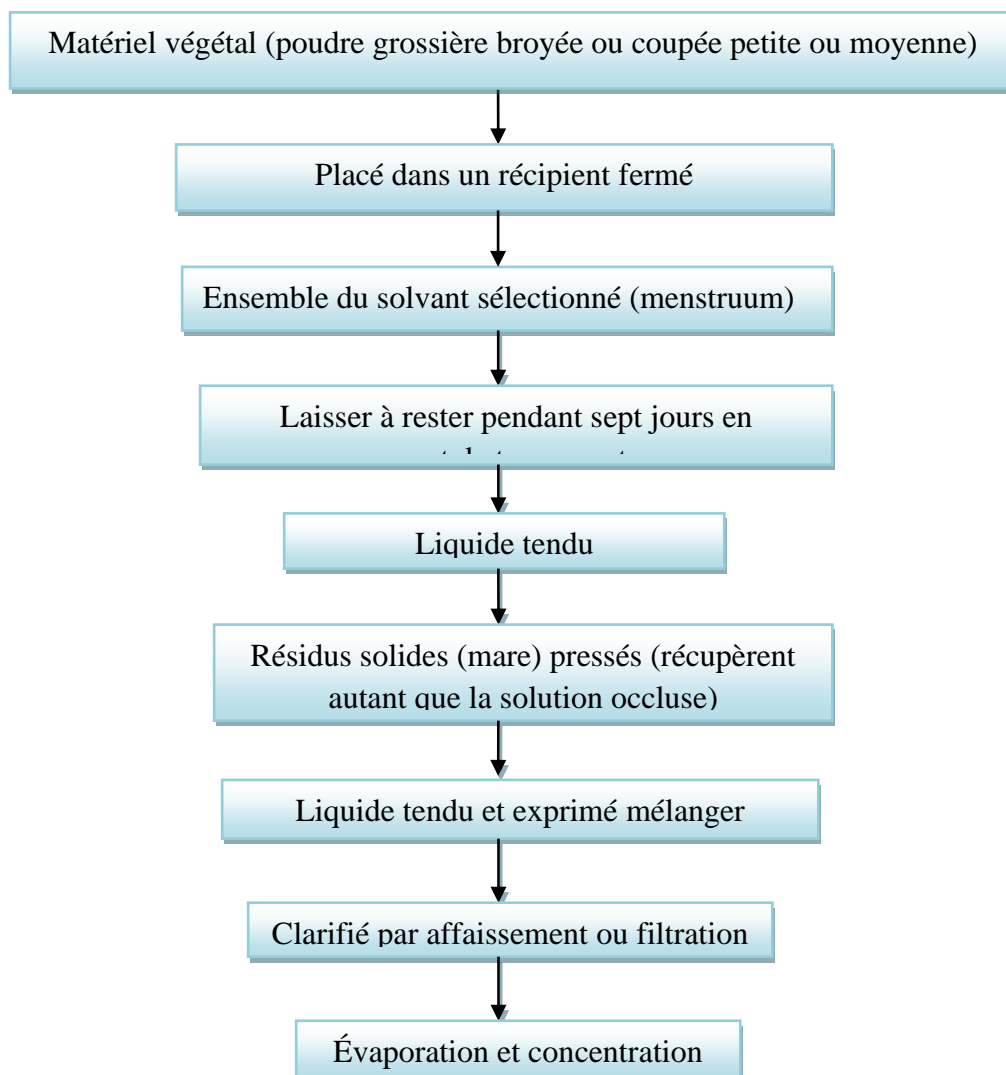


Figure I.5 : Le déroulement du processus de macération <sup>[38]</sup>.

### IV.4. Expression

L'expression, aussi appelée « pression à froid » ou « grattage », est un procédé d'extraction très simple. Il est principalement utilisé pour les écorces d'agrumes (citron, pamplemousse, bergamote, orange douce, orange amère, mandarine), qui renferment une quantité importante d'huile essentielle. Cette opération mécanique vise à casser les molécules qui contiennent l'essence dans les zestes des agrumes frais. Dans ce cas, on utilise le terme « essence » plutôt que « huile essentielle »<sup>[19]</sup>.

#### IV.4.1 Principe de la méthode

Le fruit est lavé au début et la peau est broyée avec un broyeur ou des micro-épinges métalliques (épinges) pour décomposer les cellules contenant les huiles essentielles. Pâte recyclée ; elle est composée de déchets solides et d'un liquide hétérogène constitué d'une phase aqueuse (jus, qui servira plus tard d'emballage de boissons dans l'industrie alimentaire) et d'une phase hydrophobe non miscible (huile essentielle). Après centrifugation, les déchets solides sont éliminés et la phase liquide est récupérée. Les huiles essentielles sont séparées du jus par un processus mécanique de décantation à froid. Les fabricants de produits alimentaires ont recyclé des jus de fruits et des huiles essentielles pour différentes applications<sup>[6]</sup>.

### IV.5. Autres procédés d'extraction

#### IV.5.1. Percolation

Il s'agit d'un déplacement continu vers le bas du solvant à travers le lit et le matériau médicamenteux brut pour obtenir l'extrait. Il est le plus souvent utilisé pour extraire des principes actifs dans la préparation de teintures et d'extraits liquide. C'est une méthode de macérations successives courtes ou procédé des déplacements. Un percolateur (un récipient étroit en forme de cône ouvert aux deux extrémités) est généralement utilisé<sup>[38]</sup>.

#### IV.5.2 L'hydrodiffusion

Le principe de l'hydrodiffusion consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas à travers le végétal disposé sur une grille à l'intérieur d'un parallélépipède métallique, ce qui permet une meilleure répartition de la charge. L'huile essentielle s'écoule vers un collecteur permettant un équilibrage de pression.

La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle des produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie<sup>[15]</sup>.

### IV.5.3 Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM) est une nouvelle technique d'extraction mise au point au sein du Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments de l'Université de La Réunion. Ce procédé est une combinaison entre une technique d'extraction traditionnelle et une technologie innovante. En effet, si les systèmes de cohobation et de piégeage du mélange vapeur d'eau-huile essentielle sont proches d'une Hydrodistillation (HD), le chauffage par micro-ondes a permis de réduire de façon considérable les temps d'extraction sans ajout d'eau ni de solvant <sup>[39]</sup>.

De façon caractéristique, les micro-ondes génèrent un chauffage rapide et intense des substances polaires avec une réduction importante dans le temps de réduction, et dans la plupart des cas des rendements élevés <sup>[15]</sup>. L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et incrémenter le rendement <sup>[37]</sup>.

### IV.5.4 L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

L'extraction de fluide supercritique représente une technique alternative à l'extraction conventionnelle des liquides solides avec une consommation de solvant plus faible et une température de travail plus basse. C'est une forme d'extraction liquide où la phase solvant liquide habituelle a été remplacée par un fluide supercritique - une substance qui est au-dessus de son point critique. Parmi une grande variété de fluides supercritiques, le dioxyde de carbone est essentiellement le seul solvant d'extraction supercritique pratique utiliser en raison de son degré critique relativement faible température (31.1OC) et pression (73.8 bar /7.38MPa) <sup>[38]</sup>.

Il s'agit d'une technique moderne, très coûteuse : du dioxyde de carbone à haute pression est employée pour faire les poches végétales contenant l'essence, qu'il est alors possible de récupérer <sup>[19]</sup>.

### IV.5.5. Extractions au Soxhlet (extraction solide-liquide)

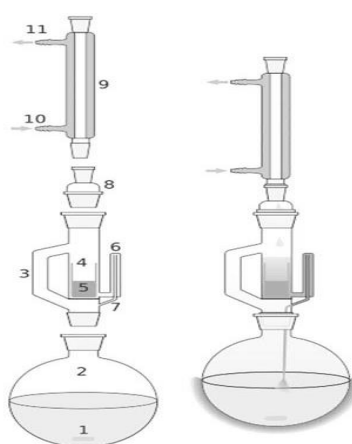
La méthode d'extraction en discontinu consiste à mettre l'échantillon solide, sous une forme très finement divisée, en présence du solvant à température ambiante ou à la température d'ébullition du solvant, pendant un temps plus ou moins long, et sous agitation <sup>[6]</sup>.

#### IV.5.7.1. Principe de la méthode

Dans un système conventionnel de soxhlet, la matière végétale est placée dans une cartouche, et remplie de solvant frais condensé à partir d'un ballon à distiller. Quand le

liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire la solution de la cartouche et la décharge de nouveau dans le ballon à distiller, portant les corps dissous extraits dans le liquide en bloc. Dans le ballon, le corps dissous (soluté) est séparé du solvant par distillation. Le soluté reste dans le flacon et le solvant frais passe de nouveau dans le lit du solide. Cette manipulation est menée en continu pendant suffisamment de temps pour que tous les composés à extraire se retrouvent dans le ballon. Il suffit, alors, de récupérer le contenu du ballon, puis d'évaporer le solvant, soit dans un Rotavapor, soit dans une capsule anti grimpante (ou capsule d'évaporation) en verre Pyrex placée sur un épiradiateur ou sur un bain-marie bouillant, et sous une hotte ventilée.

L'extraction par soxhlet dépend fortement des caractéristiques de la matrice solide et de la dimension des particules vu que la diffusion interne est souvent l'étape limitante pendant l'extraction [6].



**Figure I.6 :** Appareil de Soxhlet [6].

Le tableau suivant résume les différentes méthodes d'extraction naturelle :

**Tableau I.5 :** Résumé des différentes méthodes d'extraction des produits naturels. [38,40].

Méthode	Solvant	Température	Pression	Temps	Volume de solvant organique consommé	Polarité des produits naturels extraits
<b>Hydrodistillation et distillation à la vapeur</b>	L'eau	Sous la chaleur	Atmosphérique	Long	Aucun	HE généralement non polaire

## Chapitre I : Les Métabolites Secondaires

<b>Macération</b>	Eau, solvants aqueux et non aqueux	ambiante	Atmosphérique	Long	Large	Dépend de l'extraction du solvant
<b>Expression</b>	L'eau	ambiante	Atmosphérique	long	Aucun	Huiles
<b>Extraction au Soxhlet</b>	Solvants organiques	Sous la chaleur	Atmosphérique	Long	Modérer	Dépend de l'extraction du solvant
<b>L'hydrodiffusion</b>	L'eau	Sous la chaleur	Très faible	Long	Large	Huiles essentielles
<b>Extraction assistée par micro-ondes</b>	Eau, solvant aqueux et non aqueux	ambiante	Atmosphérique	court	Aucun ou modérer	Dépend de l'extraction du solvant
<b>L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique</b>	Fluide supercritique (généralement S-CO <sub>2</sub> ), parfois avec modificateur	Température ambiante proche	Haut	Court	Aucun ou petit	Composés polaires non polaires à modérés
<b>Percolation</b>	Eau, solvant aqueux et non aqueux	Température ambiante, parfois sous chaleur	Atmosphérique	Long	Large	Dépend de l'extraction du solvant

### Références bibliographiques

- [1] **Guignard, J.L., Cosson, L., & Henry, M.,** (1985). Abrégé de phytochimie. Edition : Masson, Paris.
- [2] **Cuendet, M.,** (1999). Recherche de nouveaux composés capteur de radicaux libres et antioxydants à partir d'une plante d'Indonésie : *Fragraea blumei* (*Loganiaceae*) et de trois plantes d'altitude : *Bartsia alpina* (*Scrophulariaceae*), *Loiseleuria procumbens* (*Ericaceae*) et *Campanula*. Thèse de Doctorat. Université de Lausanne, Faculté des sciences, p : 24.
- [3] **Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.,** (2002). Botanique systématique. Une perspective phylogénétique. Edition : De Boeck Université. Paris, Bruxelles, p : 282.
- [4] **Vermerris, W., & Ralph, N.,** (2006). Phenolic compound biochemistry. Edition: Springer, Dordrecht.
- [5] **Buchbauer, G., & Başer, K.H.C.,** (2009). Handbook of Essential oils. Science, Technology and Applications. Edition.: CRC Press, Boca Raton, Taylor & Francis.
- [6] **Kaloustian, J., Hadji-Minaglou, F.,** (2012). La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie, Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Edition : Springer, p : 1,18-30,44.
- [7] **Zhiri, A., Baudoux, D.,** (2004). Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Editions : Inspir *Development*.
- [8] **René, M.,** (1937). Aromathérapie : Les Huiles Essentielles hormones végétales, compagnie. Edition : Librairie des sciences, Girardot & cie, Paris, France, p : 187.
- [9] **Padrini, F., & Lucheroni, M. T.,** (2003). Le grand livre des huiles essentielles. Editions : De Vecchi.
- [10] **Bruneton, J.,** (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3<sup>éme</sup> édition, Tec et Doc, Paris.
- [11] **Charpentier, B., & Hamon-Lorleac'h, F.,** (2008). Guide du préparateur en pharmacie. Edition : Elsevier Masson.

- [12] **Roubin., D.,** (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat, Université d'Aix-Marseille, Faculté de Pharmacie, p :12-23.
- [13] **Bruneton, J.,** (2016). Pharmacognosie et Phytochimie des plantes médicinales, 5<sup>ème</sup> édition, Lavoisier, Tec & Doc, Paris.
- [14] **Roux, D., & Catier, O.,** (2007). Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, 3ème édition. Rueil-Malmaison : Wolters Kluwer France.
- [15] **Bekhechi, C., & Abdelouahid, D.,** (2014). Les huiles essentielles. Office des publications universitaires, p : 17,39-42.
- [16] **Couic-Marinier, F., & Lobstein, A.,** (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525) : 22-25.
- [17] **Loit, A., & Goris, A.,** (1942). Pharmacie galénique. Masson.
- [18] **El Kalamouni, C.,** (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, Faculté des Sciences des Agroressources.
- [19] **Alessandra Moro, B.,** grande guide des huiles essentielles santé beauté bien-être, p : 22-36-65-74-75.
- [20] **Bruneton, J.,** (1996). Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition : Lavoisier, Tec & Doc, paris.
- [21] **Boizot, N., & Charpentier, J. P.,** (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.
- [22] **Boussaid, M., Ben Fadhel, N., Chemli, R., & Ben M'hamed, M.,** (1999). Structure of vegetation in Northern and Central Tunisia and protective measures. *Cahiers Options Méditerranéennes (Montpellier)*, 38: 295-302.
- [23] **Arpino, P.J., & Haas, P.,** (1995). Recent developments in supercritical fluid chromatography-mass spectrometry coupling. *Journal of Chromatography A*, 703 :(1-2), 479-488.
- [24] **Kovàts, E.,** (1965). Gas chromatography characterization of organic substances in the retention index system. *Advances in chromatography. Chap. 7:* 229-247.
- [25] **Van Den Dool, H., Dec Kratz, P.,** (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, 11 : 463-471.

- [26] **Constantin, E.**, (1996). Spectrométrie de masse. Edition : Lavoisier, Tec. & Doc., Paris, 1-14.
- [27] **Bruneton, J.**, (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4<sup>ème</sup> édition, Lavoisier, Tec & Doc, Paris, p : 261-276, 550-552, 238, 953.
- [28] **Lebham A.**, (2005). Thèse au Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).
- [29] **Bahorun, T.**, (1997). Substances Naturelles actives : La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle, *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*, p: 83-94.
- [30] **Middleton, E.M., & Teramura, A.H.**, (1993). The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage. *Plant physiologie*, 103(3) : 741-752.
- [31] **Medic Sanic, M., Jasprica, I., Smolcic Bubalo, A., & Mornar, A.**, (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids, *Croatica Chemica Acta*, p: 361-366 .
- [32] **Kothe, H. W.**, (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Edition : In Texte, Paris, p : 11.
- [33] **Laszlo, P.**, (2000). Le savoir des plantes. Edition : Ellipses, Paris, p : 111.
- [34] **Padrini, F., & Lucheroni, M. T.**, (1996). Le grand livre des huiles essentielles. Édition : de Vecchi.
- [35] **Hernandez Ochoa, L.R.**, (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.
- [36] **Brunton, J.**, (1993). Pharmacogenosie phytochimie plante médicinales. 3<sup>ème</sup> édition, Tec & Docet EM inter, 1120
- [37] **BOUKHATEM, M.N., FERHAT, A., & KAMELI, A.**, (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Revue Agrobiologia*, 9 (2): 16531659.
- [38] **Patel, K., Panchal, N., Ingle, P.**, (2019). Techniques Adopted for Extraction of Natural Products, Extraction Methods: Maceration, Percolation, Soxhlet Extraction, Turbo distillation, Supercritical Fluid Extraction. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science (IJARCS)*, 6(4): 1-12.



[39] **Lucchesi, M.E.**, (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat. Université de la Réunion.

[40] **Zhang, Q.W., Lin, L.G., & Ye W.C.**, (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese medicine*,13(1): 1–26.

**Chapitre II**  
**Présentation des deux Plantes Etudiées**

### Introduction

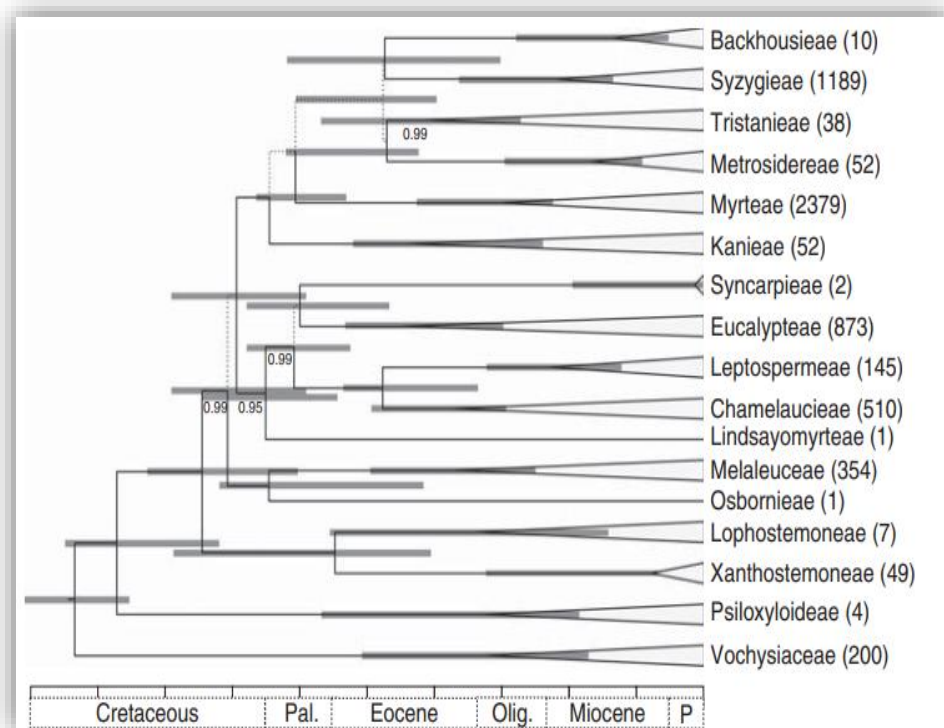
Dans ce chapitre nous allons élaborer la présentation de nos deux plantes *Myrtus communis* L. et *Mentha pulegium* L. Cette étude portera sur l'aspect agronomique, biologique, pharmaceutique et chimique.

### I. Monographie de genre *Myrtus communis* L.

#### I.1. Présentation botanique et géographique de la famille des Myrtacées

Les Myrtacées est la huitième plus grande famille des plantes à fleurs, elle contient 140 genres et environ 5600 espèces des plantes ligneuses, arbustes et plus souvent des grands arbres, classent la famille des *Myrtaceae* au sein des clades suivants : les *Angiospermes*, les *Eudicotyledoneae*, les *Rosidae*, les *Malvidae* et enfin l'ordre des *Myrtales*. Un grand nombre des genres de cette famille parmi celles-ci nous pouvons citer : *Eucalyptus globulus*, *Eugenia*, *Syzygium*, *Myrcia*, *Calyptranthes* et *Psidium*. Les espèces de cette famille sont principalement pantropicales, très présentes en Australie et d'Amérique tropicale [1,2,3,4].

La famille doit son nom au genre *Myrtus*, avec deux espèces des régions Méditerranéennes et d'Afrique du Nord, et représenté dans notre flore par *Myrtus communis* L. ou Myrte [4].



**Figure II.1 :** Présentation des tribus de la famille des *Myrtaceae*.

Le nombre d'espèces pour chaque tribu est montré entre parenthèse, quelques genres sont illustrés [4].

## Chapitre II : Présentation des deux Plantes Étudiées

Le tableau II.1 représente les caractéristiques botaniques de la famille de l'espèce *M. communis* L.

**Tableau II.1:** Caractéristiques botaniques des de la famille des Myrtacées.

	Myrtacées	Références
<b>Feuilles</b>	Opposées, coriaces et non stipulées, entières, à nervation pennée.	[1, 5]
<b>Inflorescence</b>	Elle est en cyme ou en grappe, terminale ou axillaire, parfois réduite à une seule fleur.	[1]
<b>Fleur</b>	Odorante, régulière, hermaphrodites, tétramère ( <i>Eucalyptus</i> ) ou pentamère ( <i>Myrtus</i> ).	[1]
<b>Fruit</b>	Soit une baie, soit une capsule loculicide et plus rarement, c'est une drupe ou un akène. Les graines toujours exalbuminée, varie selon la nature de l'ovule.	[1, 5]

### I.2. *Myrtus communis* L.



**Figure II.2 :** *Myrtus communis* <sup>[9]</sup>.

Le *Myrtus communis* (Rihane en kabyle) forme le genre *Myrtus* de la famille des myrtacées. Il a pour nom latin *Myrtus communis* deux variétés sont utilisées : l'une donnant une HE rouge et l'autre une HE verte. Les feuilles donnent une huile jaune-orangée au parfum frais et doux <sup>[6,7]</sup>. Elle est l'une des principales espèces aromatiques et médicinales appartenant à la famille des Myrtacées <sup>[8]</sup>.

#### I.2.1. Dénominations internationales

Le myrte commun est connu sous différentes dénominations selon les pays <sup>[10,11]</sup>.

**Français :** Herbe du lagui, myrte commun ;

**Anglais :** Common myrtle, Greek myrtle, myrtle, sweet myrtle;

**Allemand :** Braut-Myrte, Brautmyrte, Gewöhnliche Myrte ;

**Néerlandais :** Mirt ;

**Berbère :** Tarihant, tchilmoun ;

## Chapitre II : Présentation des deux Plantes Etudiées

**Espagnol** : Arrayán, mirto, murta, murt ;

**Italien** : Mirtella, mirto, mortella, mortin ;

**Arabe** : Arrayhan, mersin, A'as, rihan آس., الریحان

### I.2.2. Distribution géographique de myrte

Le myrte est rencontré dans les bois, les garrigues, les maquis. Il est également spontané autour de la Méditerranée, y compris le Moyen-Orient et de nombreux autres pays en l'Europe du Sud, en Afrique Septentrionale et en Asie Occidentale, en Nouvelle-Zélande, en Amérique, dans le sud de la Russie et en Australie <sup>[10,12]</sup>. Il se développe sur un substrat le plus souvent siliceux dans les climats semi-humide, humide <sup>[13]</sup>.

La distribution horizontale très large de cette espèce peut être expliquée par le résultat de l'interaction des variations de différents facteurs du milieu, incluant les effets de l'altitude et la latitude, et la variabilité génétique au sein des populations de l'espèce en pleine évolution <sup>[14]</sup>.

En Algérie, la plante sauvage connue sous le nom de « Al-Rihan » ou « Halmouche » pousse très bien dans de nombreuses régions, sur des monticules ou des collines, dans des zones côtières ou dans des zones plus reculées. Dans certaines régions, son utilisation est recommandée pour abaisser la glycémie ainsi que pour améliorer la digestion. Cependant, son utilisation principale est conseillée pour le traitement des problèmes respiratoires <sup>[12]</sup>.



**Figure II.3** : Aire de distribution de *Myrtus communis* L. dans le monde <sup>[15]</sup>.

● = Présence naturelle ; ○ = Cultivé seulement.

### I.2.3. Caractéristiques systématiques

Le tableau II.2 représente la classification systématique de l'espèce *Myrtus*

*communis* L.

**Tableau II.2 :** Caractéristique systématique de *Myrtus communis* L.

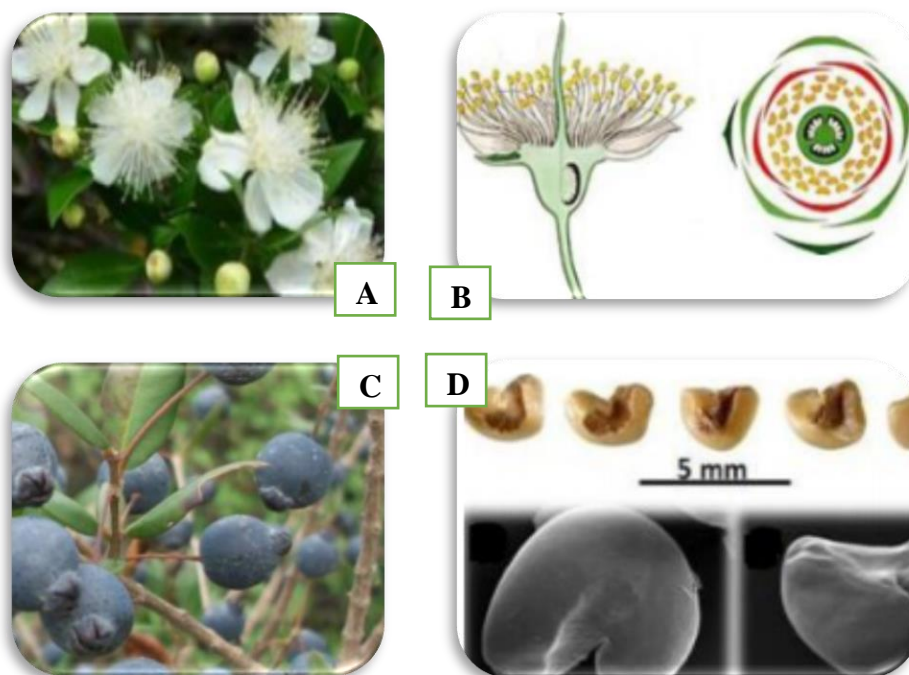
<i>Myrtus communis</i> L.	
Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Sous classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Myrtus</i>
Espèce	<i>Myrtus communis</i> L.
Références	[2]

### I.2.4. Description botanique

Le tableau II.3 représente la description botanique de l'espèce *Myrtus communis* L.

**Tableau II.3 :** Description botanique de *Myrtus communis* L.

<i>Myrtus communis</i> L.	Références
Arbuste de 2 à 3 m.	[10, 11, 16]
Feuilles opposées, très rapprochées, subsessiles à très court pétiole ovales-lancéolées aiguës, sont entières, luisantes, fermes et persistantes.	[10, 11, 16]
Fleurs, blanches, axillaires, solitaires sont longuement pédonculées et odorantes.	[10, 11, 16]
Fruits sont une baie ovoïde de couleur foncée ressemblant à une olive. D'une odeur agréable, sa saveur est aromatique et amère.	[11, 16]
Calice à tube sodé à l'ovaire, à 5 lobes étalés, 5 pétales.	[11]



**Figure II.4 :** Caractéristiques morphologiques de *Myrtus communis* L.  
A : fleurs, B : digramme floral, C : fruits type bleu foncé, D : graines <sup>[17]</sup>.

### I.2.5. Utilisation médicinale et traditionnelle

Le myrte est utilisé comme épice pour la préparation des aliments et la médecine depuis l'Antiquité. Bien que le myrte ait une odeur agréable, il n'a pas trouvé d'application à grande échelle comme épice. Le goût est très fort, très désagréable et très amer. Son application culinaire est limitée au pays d'origine, comme l'Italie <sup>[18]</sup>.

Les feuilles de myrte ont des effets astringents, nourrissants et antiseptiques. L'infusion de feuilles s'utilise en externe pour soigner les plaies et les ulcères, les infections purulentes, les abcès et les furoncles, les otites chez l'enfant, en cas de bronchite chez l'adulte ainsi que d'autres affections cutanées, ou en interne pour traiter les maladies du système digestif et du système urinaire et comme anti-infectieux dans le traitement des affections pulmonaires et dans les affections ORL (laryngite aiguë). L'HE de myrte a des effets bactéricides et expectorants et peut être utilisé pour les maladies respiratoires <sup>[10,11,19,20]</sup>.

En Algérie, le myrte est utilisé comme remède contre les affections des voies respiratoires et des voies urinaires. Les préparations à base de cette plante sont préconisées contre les bronchites, les sinusites, les otites, les diarrhées et les hémorroïdes. Les fruits constituent un remède contre la dysenterie, l'entérite et les hémorragies <sup>[10, 21]</sup>. Il est connu en Algérie pour ses propriétés anti-inflammatoires et hypoglycémiantes <sup>[22]</sup>.

### I.2.6. Composition chimique

Les composés majoritaires des huiles essentielles des feuilles de myrte sont le 1,8-cinéole, l' $\alpha$ -pinène, le limonène, le linalol et parfois l'acétate de myrtényle. Ces huiles essentielles d'origines diverses ont été classées en deux groupes en fonction de leur teneur en  $\alpha$ -pinène supérieure à 50% (Corse et Tunisie), inférieure à 35% (Maroc, Liban, Yougoslavie) [23].

L'huile essentielle obtenue à partir de diverses parties du myrte est composée principalement de trois catégories : les terpènes (monoterpènes hydrocarbonés (MH) et sesquiterpènes hydrocarbonés (SH)), les terpénoïdes (monoterpènes oxygénés (MO) et sesquiterpènes oxygénés (SO)) et les phénypropanoïdes [24].

Dans l'huile essentielle de Grèce, ont trouvé la fraction monoterpénique se composait principalement de monoterpènes oxygénés (70,1-73,2 %) dont les constituants majoritaires étaient : le myrtényl acétate (39%), 1,8-cinéol (13.5%),  $\alpha$ -pinène (10.9%) et linalool (7.7%) avec des variations saisonnières significatives [25].

L'huile essentielle françaises étaient l' $\alpha$ -pinène (45,3-48,2%), le 1,8-cinéol (25,0-27,3%), le limonène (4,7-5,5 %) et le para-cymène (1,9-3,1 %) [26]. Tandis que l'huile Tunisienne dans différentes parties de la plante (feuille, tige, fleur) variait et la fleur était caractérisé par des niveaux élevés de monoterpènes hydrocarbonés (41,56 %) et monoterpènes oxygénés (33,16%) avec un pourcentage appréciable en phénypropanoïdes. Le constituant majoritaire était l' $\alpha$ -pinène pour les feuilles et les fleurs et « 1,8 cinéole » pour la tige [8].

Les huiles essentielles de feuilles du myrte d'Algérie (Chelef) extraites en pleine floraison ont été analysées par Hennia et dont les principaux composés étaient le limonène (23,4%), le linalol (15,4%), l'acétate de géranyle (10,9%), l' $\alpha$ -pinène (10,7%), l'acétate de linalyle (8,2%) et le 1,8-cinéole (6,6%) [27]. Par contre Bekhechi, en travaillant sur les huiles essentielles de feuilles du myrte de Tlemcen ont trouvé les constituants majoritaires suivant : le 1,8-cinéol (36.8%), l' $\alpha$ -pinène (31.3%) et le limonène (11.1%) [28].

La composition chimique de certaines huiles essentielles du myrte est donnée dans le tableau II.4.



## Chapitre II : Présentation des deux Plantes Étudiées

**Tableau II.4 :** Composition majoritaire de certaines huiles essentielles de *M. communis* L. extraites par hydrodistillation selon différentes origines.

Origine, période d'échantillonnage, méthode de séchage et organes étudiés		Chémotype et composés majoritaires (> 5 %)	Terpènes majeurs	Références
Grèce (Zakynthos) (Avant floraison, floraison et fructification) Séchage à l'air libre (1 mois)	Février (avant floraison)	Myrtényl acétate (39%) 1,8-cinéol (13.5%) $\alpha$ -pinène (10.9%) Linalool (7.7%)	MO (71.8%)	[25]
	Mai (floraison)	Myrtényl acétate (38.7%) 1,8-cinéol (12.7%) $\alpha$ -pinène (10.1%) Linalool (7%)	MO (70.1%)	
	Out (fructification)	Myrtényl acétate (23.7%) 1,8-cinéol (19.6%) Linalool (15.8%) $\alpha$ -pinène (11.6%) Linalyl acetate (6%)	MO (73.2%)	
France (dix localités de Corse) fructification (Novembre)	Baies	$\alpha$ - pinène (45.3-48.2%) 1.8-cinéol (25-27.3%) Limonene (4.7-5.5%)	MO (31.3-35.5%) MH (59.2-64 %)	[26]
Tunisie (Jbal Stara/ Haouaria) Floraison (Juillet) Séchage à l'air libre	Feuille	$\alpha$ -pinène (58.05%) 1,8-cinéol (21.67%) $\beta$ -pinène (6.45%)	MH (66.45%)	[8]
	Tige	1,8-cinéol (32.84%) $\alpha$ -pinène(10.53%) (E)- $\beta$ -ocimène (9.48%) Linalool (6.88%)	MO (52.43%) MH (30.81%)	

	Fleurs	$\alpha$ -pinène (17.53%) 1,8-cinéol (12.70%) Limonene (10.11%)	MO (33.16%) MH (41.56%)	
<b>Algérie (Chlef) Floraison (Juin)séchage à l'air libre</b>	Feuille	Limonene (23.4%) Linalool (15.4%) Géranyle acétate (10.9%) $\alpha$ -pinène (10.7%) Linalyle acétate (8.2%) 1,8-cinéol (6.6%)	MO (50,5%)	[27]
<b>Algérie (Tlemcen) avant floraison (Février-mars)</b>	Feuille	1,8-cinéol (36.8%) $\alpha$ -pinène (31.3%) limonène (11.1%)	MO (51.1%) MH (45.1%)	[28]

### I.2.7. Les activités biologiques

#### I.2.7.1. L'activité antibactérienne

L'activité de l'huile essentielle de myrte sur les bactéries à gram positif et négatif a été décrite dans divers travaux de Owlia et ses collaborateurs ont évalué les bactéries à gram positif se sont révélées plus sensibles que les bactéries à gram négatif [29].

Dans les travaux de Akin., Rosato ont montré que l'HE de *M. communis* a une activité inhibitrice contre huit bactéries pathogènes gram positives et gram négatives (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus durans*, *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*) [30,31]. L'efficacité de *M. communis* a été confirmée par la méthode de dilution en milieu gélosé rapportent aussi un effet inhibiteur appréciable de l'HE sur *P. aeruginosa*, bactérie pathogène réputée pour sa résistance, avec une CMI (concentration minimale inhibitrice) et une CMB (concentration minimale bactéricide) de 64 $\mu$ g/mL et une réduction significative des facteurs de virulence testés (production d'alginates, formation de biofilm, mobilité et adhérence) aux 1/2 et 1/4 de cette concentration effective [29].

#### I.2.7.2. L'activité antifongique

L'huile essentielle de myrte présente un effet anti fongique synergique en combinaison avec l'amphotéricine B vis-à-vis d'isolats clinique de *candida albicans*. Des études effectuées ont montré que cette huile présente une activité contre, *Aspergillusniger*, *pénicillium*, *candida*

*albicans*<sup>[10]</sup>.

Les HEs extraites des parties feuilles et fleurs du myrte Algérien récolté durant la période de floraison ont montré divers degrés d'inhibition contre tous les champignons testés (levures : *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Candida guilliermondii* et *Candida krusei* ; champignons : *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus* et dermatophytes : *Epidermophyton floccosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes var. interdigitale* et *Trichophyton verrucosum*). Pour la plupart des dermatophytes testés, Y. compris, M. canis, T. rubrum et E. floccosum, la CMI était équivalente à la CML ou concentration minimale létale (0,64 mg/mL), ce qui indique un effet fongicide pour l'HE de myrte<sup>[32]</sup>.

### I.2.7.3. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de myrte est limitée car il s'agit d'une huile essentielle riche en monoterpènes ( $\alpha$ -pinène, 1,8-cinole,  $\beta$ -pinène, linalol, etc.), qui sont des composés connus pour avoir un faible pouvoir antioxydant, contrairement aux dérivés du phénol tels que le thymol et le carvacol<sup>[8]</sup>. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par les résultats des travaux de Yadegarinia et ses collaborateurs<sup>[33]</sup>, relatifs à une huile essentielle de myrte d'Iran et avec ceux rapportés par les résultats des travaux de Sirajudheen<sup>[34]</sup> qui avancent que l'huile essentielle des feuilles de *Myrtus communis* récoltées au Yémen a présenté un pouvoir réducteur faible de radical de DPPH, avec une valeur de CI<sub>50</sub> de l'ordre de 4,1 mg/ml.

L'étude de l'activité antioxydante de l'huile essentielle des feuilles de myrte par Mimica-Dukić et ses collaborateurs provenant de deux stations très éloignées (sud et nord) du littoral de Monténégro. Les résultats du test DPPH ont montré une faible activité, avec une CI<sub>50</sub> de l'ordre de 6,24 mg/ml et de 5,99 mg/ml, respectivement. La capacité de piégeage des radicaux libres des HEs de myrte étaient significativement plus faibles que celle du contrôle positif utilisé dans cette étude (BHT, CI<sub>50</sub> = 8,62  $\mu$ g/ml ; BHA, CI<sub>50</sub> = 3,09  $\mu$ g/ml)<sup>[35]</sup>.

### I.2.7.4. L'activité hypoglycémiant/antidiabétique

Une activité hypoglycémiant chez le lapin (normal et rendu diabétique à l'alloxane) due à l'huile essentielle de myrte a été mise en évidence<sup>[10]</sup>.

### I.2.7.5. L'activité anti-inflammatoire

Les propriétés anti-inflammatoires de l'huile essentielle de *Myrtus communis* ont été évaluées «*in vivo*»<sup>[10]</sup>.

### I.2.7.6. L'activité anti-ulcéreuse

L'effet d'ulcérogènes des extraits aqueux et méthanoliques de *Myrtus communis* ont été évaluées «*in vivo*», réduisent significativement l'index d'ulcère <sup>[10]</sup>.

## II. Monographie de genre *Mentha pulegium* L.

### II.1. Présentation botanique et géographique de la famille des Lamiacées

La famille des lamiacées aussi nommés *Labiatae* est l'une des plus grandes et distinctives familles de plantes à fleurs <sup>[1,11]</sup>, composée de 258 genres et 6900 espèces d'herbes, d'arbustes et d'hyptis, Elle a une classification (*Ajugoideae*, *Chloanthoideae*, *Lamioideae*, *Nepetoideae*, *Pogostemoideae*, *Scutellarioideae*, *Teucroideae* et *Viticoideae*). Les principaux genres sont *Salvia*, *Chlerodendrum*, *Thymus*, *Lamium* ...ect. Elle est présente dans le Bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale <sup>[1]</sup>. Ce sont des plantes à essence dont l'odeur se dégage par simple attouchement <sup>[36]</sup>. Cette famille contient une variété des métabolites secondaires tels que les terpénoïdes, les huiles essentielles et d'autres composants, Iridoïdes, composés phénoliques et flavonoides. Certains des terpénoïdes à chaîne courte dans les huiles essentielles sont responsables de l'odeur et goût dans ces plantes <sup>[37]</sup>.

Le tableau II.5 représente les caractéristiques botaniques de la famille de lamiacées par les botanistes.

**Tableau II.5 :** Caractéristiques botaniques de la famille de lamiacées.

	<b>Lamiacées</b>	<b>Références</b>
<b>Tige</b>	Quadrangulaires	[36]
<b>Feuilles</b>	Simple, opposées-décussées, exstipulées, parfois verticillées, éventuellement amplexicaules, simples ou quelquefois lobées ou découpées.	[1, 5, 36]
<b>Inflorescence</b>	Verticillées	[1]
<b>Fleur</b>	Zygomorphe généralement bilabiées, hermaphrodites.	[1, 36]
<b>Fruit</b>	Tétrakène, schizocarpe. La graine est exalbuminée.	[1, 36]

### II.2. *Mentha pulegium* L.

Le genre *Mentha*, de la famille des *Labiatae*, comprend 20 espèces qui sont répartis dans le monde entier. *Mentha pulegium* L., est l'une des espèces de *Mentha* communément appelée pennyroyal [38]. Elle se distingue des autres espèces de la menthe par son inflorescence, qui est constituée de verticillastres éloignés mais n'est pas feuillue à l'apex [39]. Elle est représentée par deux sous espèces : *Mentha pulegium* ssp. *Vulgaris* et *Mentha pulegium* ssp. *Pulegium* [40].



**Figure II.5 :** *Mentha pulegium* [9].

Ces plantes portent le nom de « pouliot » vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex* : la puce ; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces [41, 42].

#### II.2.1. Dénominations internationales

**Nom Roumanie :** Busuicoul cerbilor, menta franțuzească, izma proastă ou menta puricilor [43] ;

**Nom français :** Menthe pouliot [44] ;

**Nom targui ou berbère :** Felgou, afiglou, moussal, tem [11] ;

**Nom arabe :** Feliou [11].

#### II.2.2. Distribution géographique de la menthe

Pennyroyal est une herbe aromatique et pérenne tomenteuse indigène d'Europe, d'Afrique du Nord et d'Asie et du Moyen-Orient, qui pousse dans les plaines alluviales, les habitats riverains et les zones humides d'eau douce [43, 45].

C'est une espèce trouvée dans les zones humides et marécageuses, près des routes et elle est plus abondante dans les pâturages de montagnes [46].

En Algérie, *Mentha pulegium* est très abondante et pousse spontanément [47].

#### II.2.3. Caractéristiques systématiques

Le tableau II.6 représente la classification systématique de la *Mentha pulegium* L.

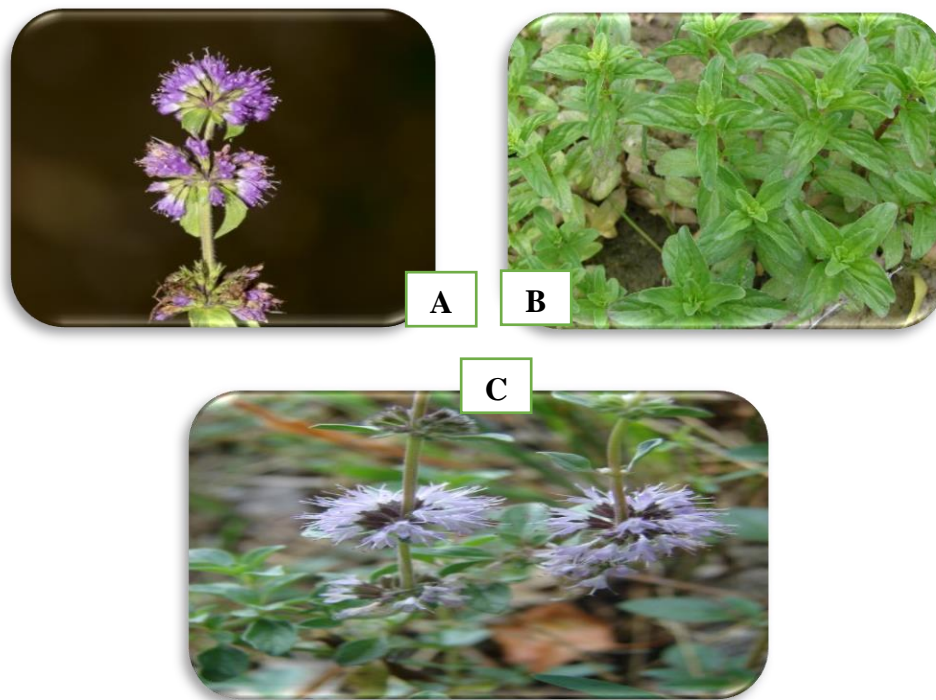
**Tableau II.6 :** Caractéristique systématique de la plante *Mentha pulegium* L.

<i>Mentha pulegium</i> L.	
Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Sous classe	Astéridées
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Labiaceae</i>
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>Mentha pulegium</i> L.
Références	[47, 48]

### I.2.4. Description botanique

**Tableau II.7 :** Description botanique de la plante *Mentha pulegium* L.

<i>Mentha pulegium</i> L.	Références
Plante labiée vivace herbacée aromatique à forte odeur.	[9, 11, 16, 18]
Tige quadrangulaire, rameuses, pubescentes, rougeâtres, atteignant environ 15 cm.	[16]
Feuilles opposées, ovales dentées, petites, courtement pétiolées, longues de 15 à 25 mm crénelées sur les bords.	[11, 16, 18]
Fleurs, pédonculées, rosées ou violacées, blanches ou bleues et verticillées.	[16, 18]
Le fruit est constitué de 4 akènes.	[47]
Calice veinée à 5 dents inégaux, tubuleux, velu, à gorge formée par des poils connivents.	[11]



**Figure II.6 :** Caractéristiques morphologiques de *Mentha pulegium* L.

A : fruits, B : feuilles verte, C : fleurs <sup>[49]</sup>.

### II.2.5. Utilisation médicinale et traditionnelle

La menthe pouliot, connue sous le nom vernaculaire arabe de « Fliou », est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures <sup>[50,51]</sup>. Elles ont été traditionnellement utilisées en médecine pour leurs propriétés antispasmodiques, carminatives, antiseptiques, anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes dans le traitement des troubles, des rhumes, la gastronomie (herbe culinaire), l'aromathérapie et les cosmétiques <sup>[52]</sup>.

Depuis l'antiquité le *M. pulegium* est connu dans les cultures grec, romaine et médiévale, pour ses usages culinaires et ses propriétés médicinales, telles que ses effets emménagogues et abortifs, ainsi que pour le traitement des troubles gastro-intestinaux et de démangeaisons cutanées.

De nos jours, la *M. pulegium* est utilisé pour aromatiser les aliments et les boissons, les thés à base de pennyroyal pour soulager le rhume, la toux, les reins, etc. la toux, les problèmes rénaux et les maux de tête. Malgré ces applications, cette plante est bien connue pour sa toxicité pour l'homme, notamment en raison de son huile essentielle. Il est bien connu qu'une petite dose (<10 mL) d'HE de *M. pulegium* peut provoquer des nausées, des vomissements,

des douleurs abdominales et des vertiges, tandis qu'une défaillance de plusieurs organes, pouvant même conduire à la mort, peut se produire <sup>[45]</sup>.

### II.2.6. Composition chimique

Les recherches sur la composition chimique de ses huiles essentielles montrent que la composition varie d'une région à l'autre, et révèle que l'HE de *M. pulegium* contient du pulégone comme composant principal dont la teneur est de 42 %, 9 à 45,4 % de Bulgarie, et 73,4, % Uruguay et 41,8 % Tunisie. La teneur en pipéritone en Iran et en Autriche est respectivement de 38 % et 70 %.

Cette variabilité peut être liée aux différents stades nutritionnels des plantes, aux conditions environnementales, aux changements saisonniers et géographiques et à la composition du sol <sup>[53]</sup>.

Selon Beloued l'huile essentielle de *M. pulegium* c'est un liquide rouge jaunâtre, d'odeur très forte, soluble dans l'alcool, contient le principal constituant (75 à 80%) de pulégone liquide incolore d'odeur aromatique et de menthol, de limonène lévogyre de dipentène <sup>[11]</sup>.

Les principaux composants de l'huile essentielle extraite des feuilles de *M. communis* Algérienne sont le Pulégone (70,66 %) et le néo-menthol (11,21 %), tandis que l'huile essentielle marocaine se caractérise par le pulégone (40,98 %), le Menthone (21,164 %) et le  $\alpha$  -humulene (5,402%), la proportion de monoterpènes oxygénés (94,31) est très élevée%) <sup>[53,54]</sup>.

La caractéristique de l'huile Iranienne est que les monoterpènes contenant de l'oxygène (56,16 %) dominant, et ses composants majoritaires sont pulégone (48,88 %) et le (+) Spathulenol (6,99 %) <sup>[55]</sup>.

Le pétrole Tunisien est riche en menthone (5,82%), isomenthone (17,02%), pulégone (61,11%) et une grande quantité de monoterpènes oxygénés (90,38%) <sup>[56]</sup>.

L'huile essentielle Portugaise contient un mélange complexe de composés, tels que la menthone (35,9%), le pulégone (23,2%), le néo-menthol (9,2%) <sup>[57]</sup>.

L'huile essentielle de feuille de menthe poivrée Italienne extraite en fleur a été analysée. Les principaux composants sont le pulégone (50,6%), la pipéritone (27,8%) et la menthone (6,9%) <sup>[58]</sup>.



## Chapitre II : Présentation des deux Plantes Étudiées

L'huile essentielle obtenue à partir de la partie aérienne du myrte récolté dans différentes régions (Tunisie, Portugal, Iran, Algérie, Italie et Maroc) est composée principalement de monoterpènes oxygénés (56.16%-94.31%) (Tableau II.8).

**Tableau II.8 :** Composition de l'huile essentielle de *M. pulegium* selon différences origines.

<b>Origine et période d'échantillonnage</b>	<b>Matière végétale</b>	<b>Chémotype et composés majoritaires (&gt; 5%)</b>	<b>Terpènes majeurs</b>	<b>Référence</b>
<b>Algérie (Bouira) Avant floraison (Mars) Séchage à l'air libre</b>	Feuilles	Pulégone (70.66%) neo-menthol (11.21%)	MO (94.31%)	[53]
<b>Maroc (Ouezzane) Séchage à l'aire à température</b>	Partie aériennes	Pulégone (40.98%) Menthone (21.164%) $\alpha$ -humulene (5.402%)	MO (92.2%)	[54]
<b>Iran (Taftan au Baluchestan) Floraison (Juin)</b>	Partie aériennes	Pulégone (48.88%) (+) Spathulenol (6.99%)	MO (56.16%)	[55]
<b>Tunisie (Ksour Essef) Floraison</b>	Partie aériennes (feuilles, tiges et fleurs)	Pulégone (61.11%) Isomenthone (17.02%) Menthone (5.92%)	MO (90.38%)	[56]
<b>Portugal (Santarém) Floraison</b>	Partie aériennes	Menthone (35.9%) Pulégone (23.2%) Néo-menthol (9.2%)	MO (76.8%)	[57]
<b>Italie (Alcamo) Floraison (fin de juin)</b>	Partie aériennes	Pulégone (50.6%) Piperitenone (27.8%) Menthone (6.9%)	MO (92.2%)	[58]

### II.2.7. Les activités biologiques

#### II.2.7.1. L'activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été testée par l'essai de diffusion de disques réalisée par Boukhebti, H., sur l'espèce *M. pulegium*, ont signalé cette huile comme source d'agent antimicrobien, mais il existe souvent de grandes variations dans l'intensité des activités antimicrobiennes contre les bactéries gram négatives et gram positives [59].

Une concentration de 10 % n'a aucun effet sur les bactéries testées, et une concentration de 20 % ne montre qu'une faible activité contre *Streptococcus pneumoniae*. D'autres concentrations (50 % et 100 %) ont montré une faible activité, à l'exception de celles observées contre les espèces de *Streptococcus* testées.

De plus, *Pseudomonas aeruginosa* est résistant aux huiles essentielles, et l'huile essentielle de La menthe a montré un faible effet inhibiteur sur la plupart des bactéries testées.

En général, les bactéries gram négatives testées semblent être plus résistantes que les bactéries gram positives. Les bactéries connues sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à gram négatif [60].

#### II.2.7.2. L'activité antifongique

Selon l'expérience de Hajlaoui et ses collaborateurs, les résultats de l'inhibition de la croissance d'espèces fongiques poussant sur des milieux liquides avec différentes concentrations d'huile de *M. pulegium* (1, 10 et 100 µl/ml) indiquent la concentration de 1 µl/ml semble inefficace pour les huiles car le pourcentage d'inhibition de croissance ne dépasse pas 1%, sauf pour les souches de *Trichoderma* (1,33%). Ce pourcentage est important pour une concentration de 10 µl/ml, il est compris entre 34,13 et 57,87, mais il est plus important pour une concentration de 100 µl/ml. Une concentration de 100 µl/ml, où il se situe dans la fourchette de 74-90,6. Sur la base de ces résultats, il est possible de conclure que l'huile essentielle à un spectre d'activité antimicrobienne plus fort et plus large que l'extrait de méthanol [56].

#### II.2.7.3. L'activité antioxydante

Selon les études de Abdelli montrent que la capacité de balayage de tous les échantillons a montré un profil d'activité dépendant de la concentration, l'augmentation de la concentration d'huile essentielle a provoqué une augmentation du pourcentage d'inhibition de la DPPH. Une

## Chapitre II : Présentation des deux Plantes Etudiées

faible valeur de la  $CI_{50}$  indique un potentiel antioxydant significatif pour l'échantillon, la valeur de la  $CI_{50}$  de l'huile essentielle testée étant de  $69,60 \pm 1,72$  g/ml, ce qui est inférieur par rapport aux antioxydants synthétiques utilisés comme référence <sup>[53]</sup>.

D'après les travaux de Bouyahia l'huile essentielle était moins efficace que les agents antioxydants synthétiques <sup>[54]</sup>.

A partir de ces résultats, on peut donc déduire que l'activité antioxydante de *M. pulegium* est liée à différents facteurs tels que le solvant, stade phénologique de la plante, la concentration et la fraction végétale utilisée.

La composition chimique de l'HE est surtout de type monoterpène responsable des propriétés antifongiques, antibactériennes, insecticides et antioxydante <sup>[53]</sup>.

### Références bibliographiques

- [1] **Botineau, M.**, (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition: Lavoisier, Tec & doc, p: 476, 477,478,480,1021,1022, 1024, 1025.
- [2] **Angiosperm Phylogeny Group.**, (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161: 105-121
- [3] **Soltis, D. E., Smith, S. A., Cellinese, N., Wurdack, K. J., Tank, D. C., Brockington, S. F., ... & Soltis, P. S.**, (2011). Angiosperm phylogeny: 17 genes, 640 taxa. *American journal of Botany*, 98(4): 704-730.
- [4] **Biffin, E., Lucas, E. J., Craven, L. A., Ribeiro da Costa, I., Harrington, M. G., & Crisp, M. D.**, (2010). Evolution of exceptional species richness among lineages of fleshy-fruited Myrtaceae. *Annals of Botany*, 106: 79-93.
- [5] **Spichiger, R. E., Figeat-Hug, M., & Jeanmonod, D.**, (2002). Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. 3<sup>ème</sup> édition, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes. Francia, p : 288.
- [6] **Fournie, P.**, (1999). Plantes médicinales et vénéneuses de France, p :48.
- [7] **Callery E.**, (2000). Le grand Livre des herbes : le guide pratique de la culture, du séchage et des vertus de plus de 50 herbes, p :110-114.
- [8] **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.
- [9] **Kothe, H. W.**, (2007). 1000 Plantes aromatiques et médicinales. Terres édition, p : 210, 216.
- [10] **GOETZ, P & GHEDIRA, K.**, (2012). Phytothérapie anti infectieuse. Edition : springer, p : 313-318.
- [11] **Beloued, A.**, (2009). Plantes médicinales d'Algérie. *Offices des publications universitaires*. 5<sup>ème</sup> édition, p : 136, 140.
- [12] **Berka-Zougali, B., Ferhat, M.A., Hassani, A., Chemat, F., & Allaf K.S.**, (2012). Comparative Study of Essential Oils Extracted from Algerian *Myrtus communis* L. Leaves

Using Microwaves and Hydrodistillation. *International Journal of Molecular Sciences*, 13 : 4673-4695.

[13] **Satrani, B., Farah, A., & Talbi, M.**, (2006). Effet de la distillation fractionnée sur la composition chimique et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du Myrte (*Myrtus communis* L.) du Maroc. *Acta Botanica Gallica*, 153(2) : 235-242.

[14] **Wahid, N.**, (2013). Perspectives de la valorisation de l'usage et de la culture du *Myrtus communis* L. au Maroc. *Phytothérapie*, 11: 237–243.

[15] **Ahmed, M., & Vardar, Y.**, (1973). Distribution and Plasticity of *Myrtus communis*. *Phyton*, 15(1) : 145-150.

[16] **Delilles, L.**, (2007). Plantes médicinales d'Algérie. Berti édition, p : 167.

[17] **Bouzabata, A.**, (2015). Contribution à l'étude d'une plante médicinale et aromatique *Myrtus communis* L. Thèse de Doctorat. Université Badji-Mokhtar, Annaba, Algérie, p: 67.

[18] **Gortzi, O., Lalas, S., Chinou, I., & Tsaknis, J.**, (2008). Reevaluation of bioactivity and antioxidant activity of *Myrtus communis* extract before and after encapsulation in liposomes. *European food research and technology*, 226(3) : 583-590.

[19] **Larousse.**, (2001). Encyclopédie des plantes médicinales identification, préparation, soins. ISBN : 2-03-560252-1, p : 238.

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

[21] **Beloued, A.**, (1998). Plantes médicinales d'Algérie. *Office des publications universitaires*.

[22] **Bouzabata, A.**, (2013). Traditional Treatment of high blood pressure and diabetes in Souk Ahras District. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 5(1): 12–20.

[23] **Chalchat, J. C., Garry, R. P., & Michet, A.**, (1998). Essential oils of myrtle (*Myrtus communis* L.) of the Mediterranean littoral. *Journal of essential oil Research*, 10(6): 613-617.

[24] **Anwar, S., Ahmed, N., Awwad, N. A., Ansari, S. Y., & Wagih, M. E.**, (2016). Myrtle (*Myrtus communis* L.) Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 581–592.

- [25] 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.
- [26] 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.
- [27] Hennia, A., Brada, M., Nemmiche, S., Fauconnier, M. L., & Lognay, G., (2015). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of Algerian *Myrtus communis* L. *Journal of Essential Oil Research*, 27(4): 324-328.
- [28] Bekhechi, C., Watheq Malti, C. E., Boussaïd, M., Achouri, I., Belilet, K., Gibernau, M., ... & Tomi, F., (2019). Composition and chemical variability of *Myrtus communis* leaf oil from northwestern Algeria. *Natural Product Communications*, 14(5): 1934578X1985003.
- [29] Owlia, P., Saderia, H., Rasooli, I., & Sefidkon, F., (2009). Antimicrobial characteristics of some herbal Oils on *Pseudomonas aeruginosa* with special reference to their chemical compositions. Iranian. *Journal of Pharmaceutical Research*, 8(2): 107-114.
- [30] Akin, M., Aktumsek, A., & Nostro, A., (2010). Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *African Journal of Biotechnology*, 9(4): 531-535.
- [31] Rosato, A., Vitali, C., De Laurentis, N., Armenise, D., & Milillo, M. A., (2007). Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. *Phytomedicine*, 14: 727-732.
- [32] Bouzabata, A., Cabral, C., Gonçalves, M. J., Cruz, M. T., Bighelli, A., Cavaleiro, C., ... & Salgueiro, L., (2015). *Myrtus communis* L. as source of a bioactive and safe essential oil. *Food and Chemical Toxicology*, 75: 166-172.
- [33] Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I., (2006). Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67(12): 1249-1255.
- [34] Anwar, S., Crouch, R. A., Awadh Ali, N. A., Al-Fatimi, M. A., Setzer, W. N., & Wessjohann, L., (2017). Hierarchical cluster analysis and chemical characterisation of *Myrtus communis* L. essential oil from Yemen region and its antimicrobial, antioxidant and anti-colorectal adenocarcinoma properties. *Natural product research*, 31(18): 2158-2163.

- [35] 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.
- [36] Guignard, J.L., & Dupont, F., (2004). Botanique : Les familles de plante, 15<sup>ème</sup> édition. Masson, Paris, p : 237, 238.
- [37] Naghibi, F., Mosaddegh, M., Mohammadi, M. S., & Ghorbani, A.B., (2005). *Labiatae* Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2: 63-79
- [38] Mahboubi, M., & Haghi, G., (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, 119(2): 325– 327.
- [39] Kokkini, S., Karousou, R., & Hanlidou, E., (2003). Herbs of the *Labiatae*. encyclopedia of food sciences and nutrition, 3082–3090.
- [40] Quézel, P. & Santa, S., (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. CNRS. Edition : Paul Le chevalier, Paris.
- [41] Gamisans, J. et Jeanmonod D., (1993). Catalogue des plantes vasculaires de la Corse, secondes édition, conservatoires et jardins botaniques de la ville de Genève, Chambésy.
- [42] Sivropoulou, A., Kokkini, S., Lanaras, T., Arsenakis, M., (1995). Antimicrobial activity of mint essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(9): 2384-2388.
- [43] Stavrescu-Bedivan, M. M., Scătețeanu, G.V., & Madjar, R. M., (2019). Soil requirements and environmental considerations for pennyroyal (*Mentha pulegium* L.): A case study from Romania. *Agronomy Series of Scientific Research/Lucrari Stiintifice Seria Agronomie*, 61(2).
- [44] Lemordant, D., Boukef, K., & Bensalem, M., (1977). Plantes utiles et toxiques de Tunisie. *Fitoterapia*, 48(5): 191-214.
- [45] Caputo, L., Cornara, L., Raimondo, F. M., De Feo, V., Vanin, S., Denaro, M., ... & Smeriglio, A., (2021). *Mentha pulegium* L.: A Plant Underestimated for Its Toxicity to Be Recovered from the Perspective of the Circular Economy. *Molecules*, 26(8): 2154.
- [46] Chalchat, J. C., Gorunovic, M. S., Maksimovic, Z. A., & Petrovic, S. D., (2000). Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L. from Yugoslavia. *Journal of Essential Oil Research*, 12(5) : 598-600.

[47] **Quézel, P. & Santa, S.**, (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edition : Paul Le chevalier, Paris. Tome 2. CNRS.

[48] **Guignard, J.L., & Dupont, F.**, (2004). Botanique : Systématique moléculaire, 13<sup>ème</sup> édition, Masson. Paris, p: 237.

[49] **Web references:** <http://www.tela-botanica.org>.

[50] **Agnihotri, V.K., Agarwal, S.G., Dhar, P.L., Thappa Baleshwar, R.K., Kapahi, B.K., Saxena, R.K., ... & Qazi, G.N.**, (2005). Essential oil composition of *Mentha pulegium* L. growing wild in the north-western Himalayas India. *Flavour Frag. J*, 20: 607–610.

[51] **Diaz-Maroto, M.C., Castillo, N., Castro-Vazquez, L., Gonzalez-Vinas, M.A., PerezCoello, M.S.**, (2007). Volatile composition and olfactory profile of pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) plants. *Flavour Frag. J*. 22: 114-118.

[52] **Salhi, A., Bouyanzer, A., Chetouani, A., El Barkany, S., Amhamdi, H., Hamdani, I., ... & Costa, J.**, (2017). Chemical composition of essential oil and antioxidant and anti-corrosion activity of extract and essential oil of Pennyroyal Mint (*Mentha pulegium*, MP). *Moroccan Journal of Chemistry*, 5(1): 59-71

[53] **Abdelli, M., Moghrani, H., Aboun, A., & Maachi, R.**, (2016). Algerian *Mentha pulegium* L. leaves essential oil: Chemical composition, antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, 94: 197 205.

[54] **Bouyahya, A., Et-Touys, A., Bakri, Y., Talbau, A., Fella, H., Abrini, J., & Dakka, N.**, (2017). Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Microbial Pathogenesis*, 111: 41–49.

[55] **Sardashti, A., & Adhami, Y.**, (2013). Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Taftan Area by means of gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(40): 3003-3007.

[56] **Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., Ksouri, R., ... & Bakhrouf, A.**, (2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(12): 2227-2238



[57] Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I., Serrano, C., Matos, O., ... & Nunes, M. L., (2012). European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Industrial Crops and Products*, 36(1): 81–87.

[58] Casiglia, S., Bruno, M., Fontana, G., & Senatore, F., (2017). Chemical Composition of the Essential Oil of *Mentha pulegium* Growing Wild in Sicily and its Activity on Microorganisms Affecting Historical Art Crafts. *Natural Product Communications*, 12(8): 1934578X1701200.

[59] Stagos, D., Portesis, N., Spanou, C., Mossialos, D., Aligiannis, N., Chaita, E., ... & Kouretas, D., (2012). Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic *Lamiaceae* species. *Food and Chemical Toxicology*, 50: 4115-4124.

[60] Boukhebti, H., Chaker, A. N., Belhadj, H., Sahli, F., Ramdhani, M., Laouer, H., & Harzallah, D., (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharmacia Lettre*, 3(4) : 267-275.

**Deuxième Partie**  
**Partie Expérimentale**

TABLE DES MATIÈRES

# **Chapitre III**

## **Matériels et Méthodes**

TATSIGLIGIS GE TATGHIODIGS

### Introduction

De nombreuses études ont révélé que les parties aériennes des deux espèces *Myrtus communis* L. et *Mentha pulegium* L. sont riches en plusieurs constituants dont la teneur varie selon la variabilité des conditions géographiques, climatiques, de séchage, de stockage et des méthodes d'études (extraction et détection).

La grande partie de ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire de chimie analytique de la Faculté des Sciences Exactes et Informatique de l'Université Mohammed Seddik Ben Yahia-Jijel, pour la réalisation de l'extraction des HEs et métabolites secondaires à partir des feuilles des deux espèces, et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraites.

L'analyse des huiles essentielles par CPG a été réalisé dans le laboratoire de biologie Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Mohammed Seddik ben Yahia Jijel.

L'étude de l'activité antibactérienne et antifongique a été effectuée au niveau de laboratoire d'analyse médicale Dr. Boukrouche Oussama -Jijel.

### Objectifs de travail

Le présent travail contribue à la valorisation de deux plantes aromatiques et médicinales endémiques anciennement utilisées en médecine traditionnelle *Myrtus communis* L. et *Mentha pulegium* L.

Afin de réaliser cette étude, les objectifs suivants ont été fixés :

- Extraction des HEs et des métabolites secondaires.
- La caractérisation physicochimique de l'huile essentielle extraite de *Myrtus communis* L. et *Mentha pulegium* L.
- Etablir la composition chimique des HEs.
- L'évaluation des activités biologiques de l'huile essentielle et des extraits de *Myrtus communis* L. et de *Mentha pulegium* L. (activité antibactérienne, activité antifongique et pouvoir antioxydant).
- Contrôle de la qualité des HEs.

### I. Matériels

#### I.1. Matériel végétal

##### I.1.1. Le moment de récolte

Les feuilles des deux plantes ont été récoltées dans la wilaya de Jijel, le *Myrtus communis* a été récolté au mois de novembre de l'année 2020, à Ouled Bounar- Jijel et la *Mentha pulegium* a été récolté au mois de janvier de l'année 2021 à Kaous-Jijel.



Figure III.1 : Carte géographique de la région Ouled Bounar et Kaous -Jijel <sup>[1]</sup>.

##### I.1.2. Séchage

Après lavage des feuilles de deux plantes étudiées, afin de les débarrasser de la poussière et d'autres impuretés, elles sont aussitôt séchées à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité. Le matériel végétal (feuilles) a été découpé en petits morceaux avant son utilisation et broyé finement petite quantité à l'aide d'un broyeur jusqu'à l'obtention d'une poudre végétale, pour l'utilisation dans la partie de l'extraction des huiles.

### II. Etude chimique

#### II.1. Extraction des huiles essentielles

Dans cette étude nous avons extrait les huiles essentielles de *Myrtus communis* et *Mentha pulegium* en utilisant deux différentes techniques d'extraction : l'hydrodistillation et le soxhlet.

### II.1.1. Extraction par hydrodistillation

C'est l'une des méthodes les plus utilisées, elle permet d'isoler les huiles essentielles à l'état pur.

Il s'agit d'immerger les matières premières au bain-marie, le tout a été porté à bouillir. Ce processus présente les inconvénients qui sont principalement dus au vapeur d'eau bouillante, certains organes végétaux, notamment les fleurs qui sont trop fragiles <sup>[2]</sup>.

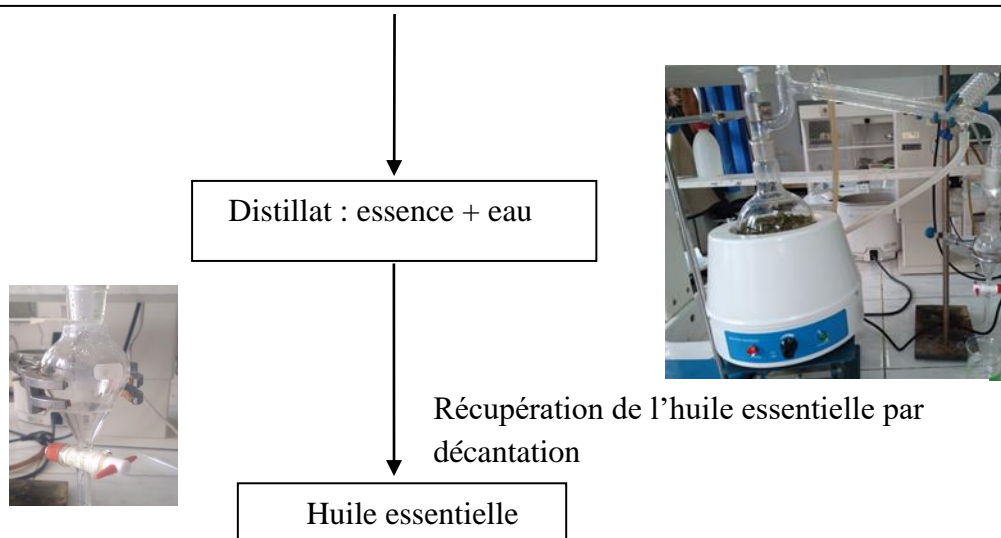
#### a) Mode opératoire

Pour une extraction par hydrodistillation, nous avons adopté le mode opératoire suivant :

Nous avons introduit 50g de la matière végétal (partie aérienne : feuilles) dans un ballon de 1 litres contiennent de l'eau distillée. Le volume de l'eau est environ les deux trières de volume du ballon pour éviter la pétillant du mélange. Ce dernier est porté à l'ébullition pendant 2h30, le chauffage permet l'éclatement des glandes contenant l'huile essentielle dans la structure végétale puis la libération des molécules volatiles. Les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide conduisant à une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'hydrolat par décantation qui se fait dans une ampoule à décanter par la différence de densité de la phase aqueuse (inférieure) et la phase huileuse (supérieure). L'essai a été répété avec 50g de la matière végétale restant.

La conservation de l'huile essentielle être à 4° C dans l'obscurité pour éviter la dégradation, due à l'action de l'air ou de la lumière.

La partie aérienne de chacune des deux plantes *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*



**Schéma III.1:** Les étapes d'extraction de l'huile essentielle par l'hydrodistillation.

### II.1.2. Extraction par soxhlet

L'extracteur de soxhlet est une pièce de verrerie permettant d'effectuer une extraction solide-liquide avec une grande efficacité. L'appareil porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet.

L'extraction par l'appareil soxhlet (nous allons l'appeler simplement soxhlet) est une méthode simple et convenable nous permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à épuisement complet du soluté dans la matière première, d'où vient son efficacité élevée.

Cependant, le soxhlet possède quelques désavantages comme, par exemple, le temps d'extraction relativement long, la possibilité de dégradation des composés à cause d'une surchauffe locale, le choix limité du solvant, les difficultés d'utilisation de mélanges de solvants, etc <sup>[3]</sup>.

#### a) Mode opératoire

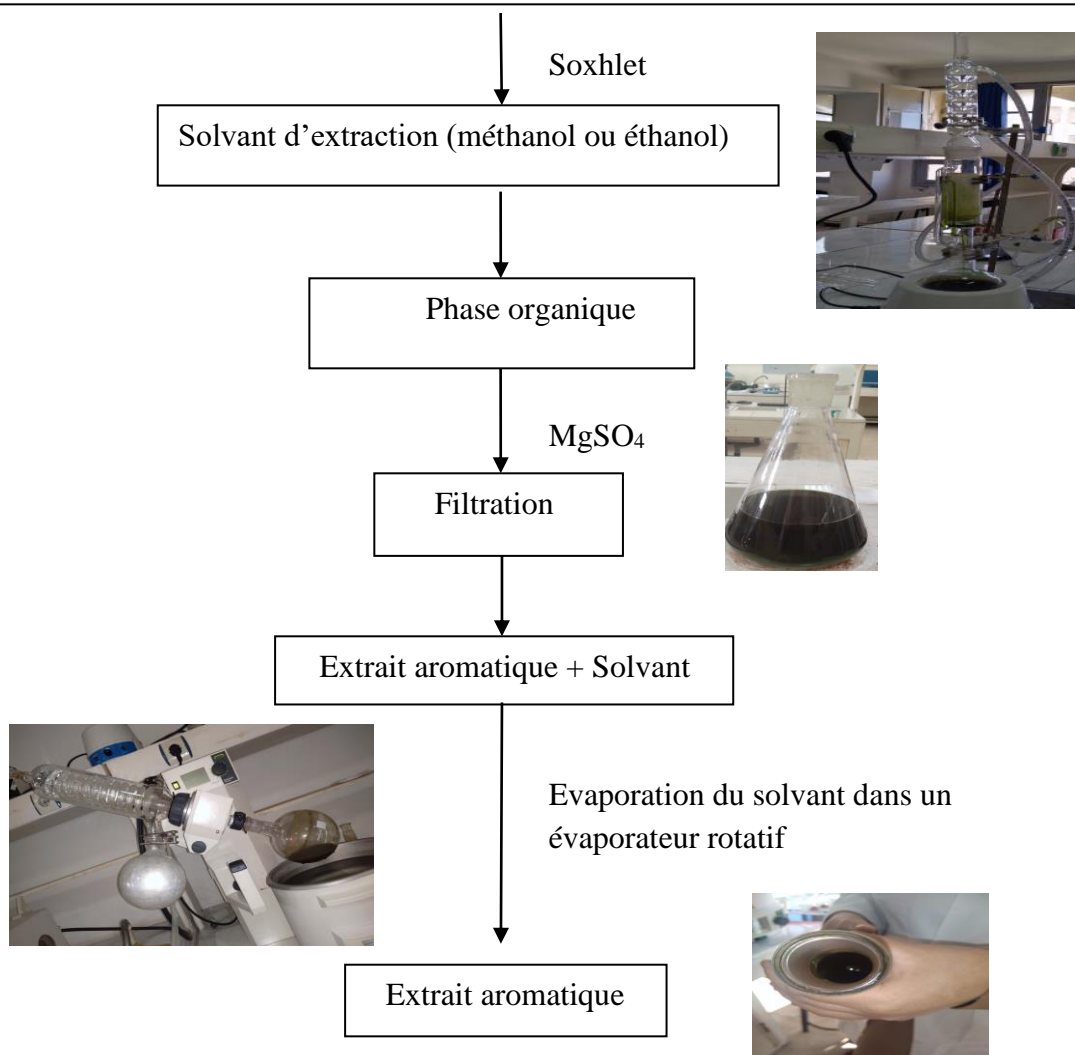
Dans un ballon de 500 ml nous avons introduit, 250 ml de solvant d'extraction (méthanol pour *Myrtus communis* et éthanol pour *Mentha pulegium*). D'autre part, nous avons pesé la matière végétale sèche dans une cartouche en cellulose (30g pour *Myrtus communis* et 40g pour *Mentha pulegium*), que l'on a mise dans l'extracteur. Une fois le système de réfrigération et de chauffage sont mis en marche, nous observons des vapeurs de solvant qui se condensent au niveau de réfrigèrent puis tombent goutte à goutte sur la cartouche. Au bout

### Chapitre III : Matériels et Méthodes

d'un certain temps, le solvant entame son extraction et forme un cycle fermé d'extraction que nous pouvons décomposer en plusieurs étapes : (ébullition, vaporisation, condensation, extraction). Lorsque le solvant d'extraction atteint le niveau supérieur du siphon, le siphon s'amorce et la solution retombe dans le ballon à travers le tube de siphonage et se concentre. Pour cela, nous avons réalisé plusieurs siphonages.

Après refroidissement, nous avons enlevé la cartouche et récupéré la concrète que nous avons mis dans le rotavapor pour la séparation du solvant de la concrète laquelle a été pesée.

La partie aérienne de chacune des deux plantes *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*.



**Schéma III.2:** Les étapes d'extraction de l'huile essentielle par soxhlet.



### II.1.3. Détermination des rendements en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu et la masse du matériel végétal à traiter. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt}\% = \text{M}/\text{M}_0 \times 100$$

**Rdt%** : Rendement en huile essentielle.

**M** : Masse d'huile essentielle récupéré (g).

**M<sub>0</sub>** : Masse de matière végétale à traiter (g).

### II.1.4. Contrôle de qualité des huiles essentielles

#### II.1.4.1. Caractère organoleptique

L'évaluation des propriétés organoleptiques constitue généralement une partie des études visant à analyser les facteurs qui affectent la qualité de l'huile essentielle. Dans cette étude, nous nous sommes basés sur trois paramètres essentiels qui sont l'aspect la couleur et l'odeur.

#### II.1.4.2. Caractères physicochimiques

Le paramètre physico-chimique étudié est : Indice de réfraction.

##### a) Mode opératoire

Le réfractomètre dispose d'une lame en verre sur laquelle l'échantillon est déposé. L'appareil a d'abord été ajusté avec de l'eau distillée, puis séché. On place ensuite une goutte d'huile essentielle sur le prisme du réfractomètre et on effectue la mesure <sup>[4]</sup>.

#### II.1.4.3. Analyse des huiles essentielles

Notre analyse est réalisé sur un chromatographe type GC-MS d'un détecteur relative et d'un injecteur split/splitless. La colonne utilisée est de type SE-30 de 25 cm long et de 0.25 mm de diamètre intérieur. La phase stationnaire à une granulométrie de 0.25m. Le gaz vecteur est l'Hélium (He) avec un débit de 0.77 ml/min, vitesse linéaire de 35,0 cm/sec et une pression de 24.4 Kpa et avec le rapport fondu 20.0. Le temps de coupe dissolvant est de 2 min et la vitesse de balayage est 625.

Les conditions d'analyse sont :

- Température de l'injecteur : 250.00°C.
- Température de four de la colonne : 55.00 °C.
- Température d'ion source 200.00 °C.
- Température d'interface 250.00 °C.

## Chapitre III : Matériels et Méthodes

- Gradient de température : 55 à 120 °C à 3 °C/min de 120.00°C à 180°C à 5°C.

### II.2. Extraction des métabolites secondaires (extraction solide/ liquide)

Après séchage dans un endroit sec et aéré, à l'abri des rayons solaires, les parties aériennes sont pesées M = 55.5 g de *Myrtus communis* et M = 229.66 de *Mentha pulegium*.

Le matériel végétal de masse M = 50 g de *Myrtus communis* (M = 100 g de *Mentha pulegium*) a subi une macération dans un mélange hydroalcoolique (MeOH/H<sub>2</sub>O) avec les proportions (80 : 20). La macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant et dure dans chaque cas de 24 à 48 heures.

Après filtration, concentration non à sec à une température n'excédant pas 37°C, on ajoute 100 ml d'eau distillée et le mélange est filtré. Le filtrat a subi une extraction liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par l'éther de pétrole après le chloroforme, puis l'acétate d'éthyle et en dernier le n-butanol. Les quatre phases organiques sont séparées et concentrées à sec.

#### ➤ Calcul des rendements des extraits secs

Nous pouvons déterminer le rendement de la plante en extrait sec en calculant le rapport suivant :

$$\text{Rdt (\%)} = ((P_1 - P_2) / P_3) \times 100$$

**P<sub>1</sub>** : poids du ballon après évaporation ;

**P<sub>2</sub>** : poids du ballon avant évaporation ;

**P<sub>3</sub>** : poids de la matière végétale de départ.

**Tableau III.1:** Masses et rendements en extraits obtenus à partir des feuilles de chaque espèce.

Matière végétale Extraits	<i>Myrtus communis</i> L		<i>Mentha pulegium</i> L	
	Masse (g)	Rendement%	Masse (g)	Rendement%
Éther de pétrole	0.06	0.12	0.41	0.41
Chloroforme	0.15	0.3	0.26	0.26
Acétate d'éthyle	0.32	0.64	0.26	0.26
n-butanol	6.26	12.51	1.74	1.74

### Chapitre III : Matériels et Méthodes

➤ Détermination de la teneur en eau

Une masse (P1) des feuilles de la plante fraîchement récoltée est portée au séchage à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Une masse (P2) la quantité des feuilles obtenue après le séchage.

Méthode de calcul : Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

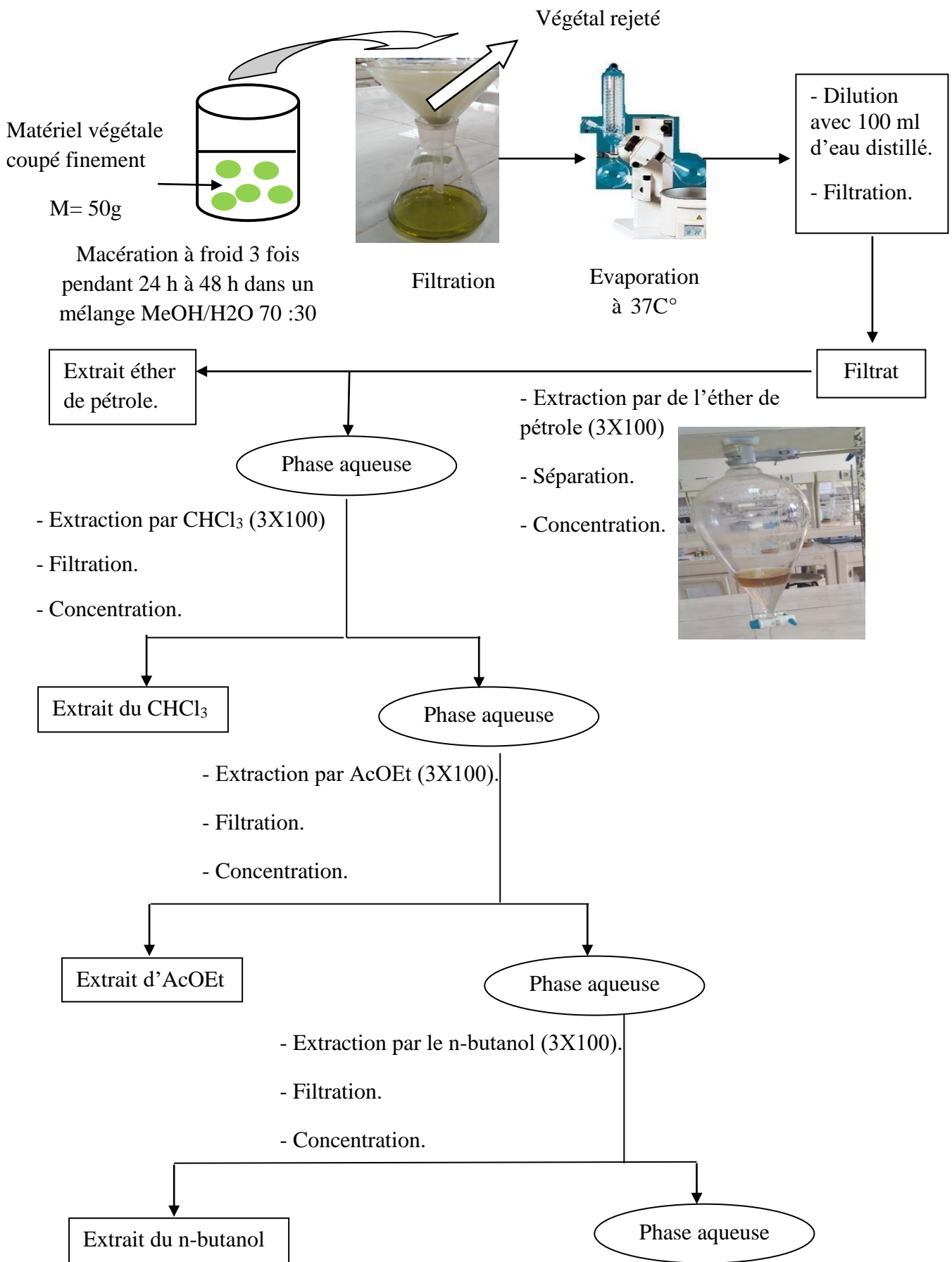
$$H \% = ((P_1 - P_2) / P_1) \times 100$$

**H%** : taux d'humidité exprimé en pourcentage ;

**P 1** : poids de la plante fraîche(g) ;

**P 2** : poids de la plante après séchage (g).

## Chapitre III : Matériels et Méthodes



**Schéma III.3:** Protocole d'extraction des métabolites secondaires.

### III. L'analyse des extraits

#### III.1. L'analyse qualitative

##### III.1.1. Screening phytochimiques

L'un des buts essentiels d'un test phytochimique consiste dans la détection des différentes familles de métabolites secondaires existant dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés ainsi que des examens en lumière ultraviolette [5].

Dans notre étude expérimentale nous avons utilisé les techniques standards décrites par Terease et Evans, Harborne, Bruneton [6,7,8].

##### a) Test pour la mise en évidence des flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml d'extrait à tester, ajouter 1ml d'acide chlorhydrique (HCl) et 3 copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge ou jaune révèle la présence des flavonoïdes.

##### b) Test pour la mise en évidence des tanins

A 1 ml d'extrait à analyser, ajouter 0,5 ml d'une solution aqueuse de  $\text{FeCl}_3$  à 1 %. La présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

##### c) Test pour la mise en évidence des alcaloïdes

Les tests sont réalisés par des réactions de précipitation avec les réactifs de Mayer et Wagner. 1ml de chaque extrait est divisé en deux volumes égaux. Un volume est traité par 0,5ml de réactif de Mayer, l'autre par 0,5ml de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence des alcaloïdes.

❖ **Réactif de Mayer** : on dissout 1.758g de  $\text{HgCl}_2$  dans 60 ml de l'eau distillée, puis 5g de KI dans 10 ml de l'eau distillée, et on mélange les deux solutions.

❖ **Réactif de Wagner** : on dissout dans 75 ml de l'eau distillée 2g de KI et 1.27g de  $\text{I}_2$ , le volume est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée.

##### d) Test pour la mise en évidence des terpénoïdes

5ml d'extrait est ajouté à 2ml de chloroforme et 3ml d'acide sulfurique concentré. La formation de deux phases et un couleur marron à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

### e) Test pour la mise en évidence des quinones

Sur un volume de chacune des extraits, on ajoute quelques gouttes de NaOH, l'apparition d'un couleur jaune, rouge ou violet confirme la présence des quinones.

### f) Test pour la mise en évidence des coumarines

Introduire 5ml d'extrait dans un tube, ajouter 0,5ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 10%, mélanger et observer sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

## III.2. L'analyse quantitative

### III.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en composés phénoliques des extraits des deux espèces est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique ( $\text{WO}_4^{2-}$ ) phosphomolybdique ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ) de réactif de Folin <sup>[9]</sup>.

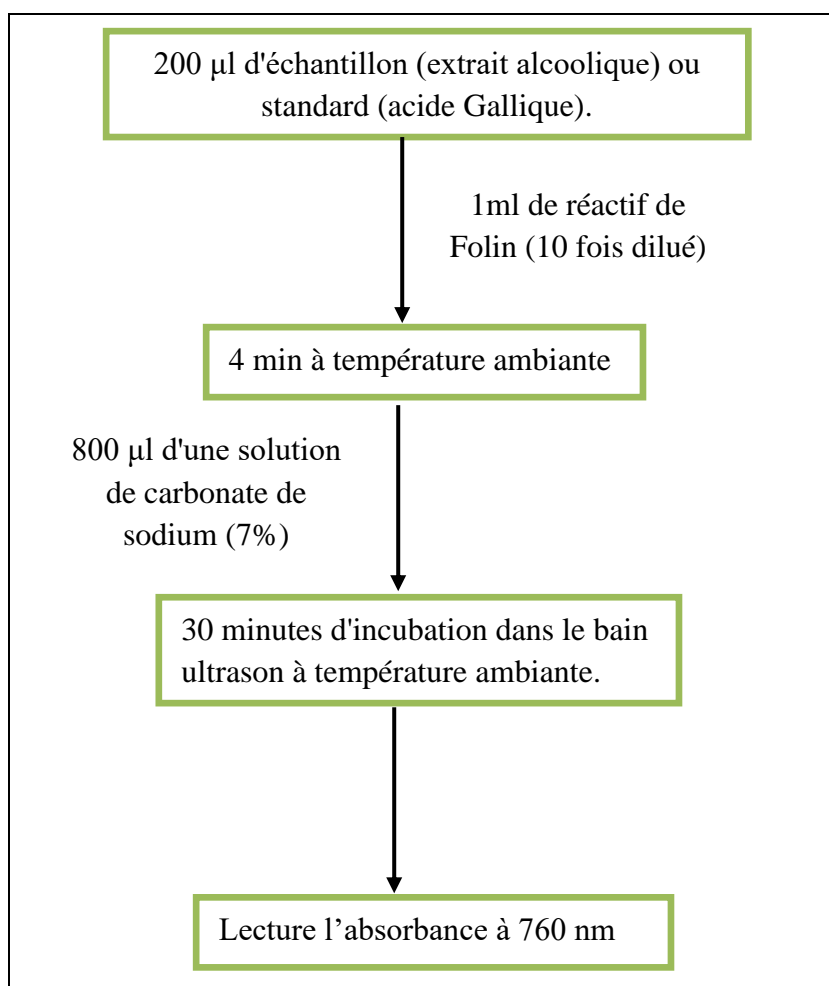
#### ❖ Préparation de la solution de référence d'acide Gallique

Préparation d'une solution mère de l'acide Gallique à concentration 0.1  $\mu\text{g}$  / ml cette solution d'acide Gallique a été diluée de manière à avoir les différentes concentrations (0.02, 0.04, 0.06 et 0.08)  $\mu\text{g}$  / ml.

#### ❖ Protocole

1ml de réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200  $\mu\text{l}$  d'échantillon (extrait alcoolique) ou standard (acide Gallique). Après 4 min, 800  $\mu\text{l}$  d'une solution de carbonate de sodium (7%) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 30 minutes d'incubation dans le bain ultrason à température ambiante l'absorbance est mesurée à 760 nm par un spectrophotomètre UV.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0,02-0.1 $\mu\text{g}$ /ml). Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique par milligramme de l'extrait sec ( $\mu\text{g}$  GAE/mg EXS).



**Schéma III.4 :** Protocole expérimentale de dosage des polyphénols totaux.

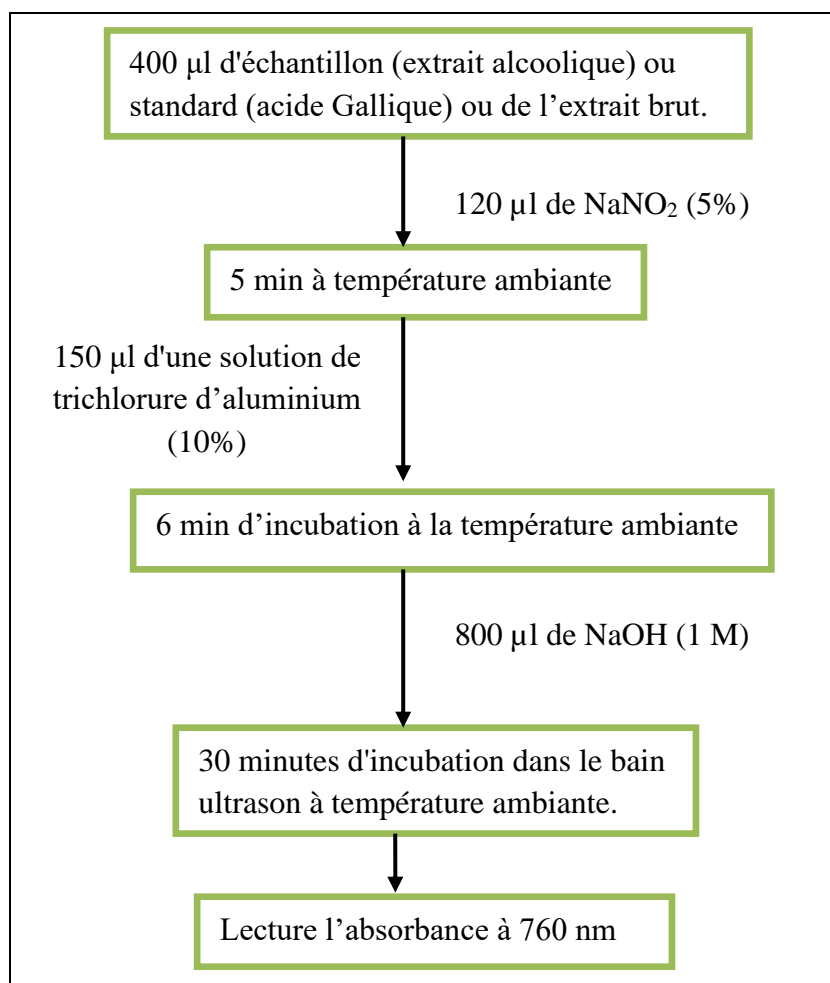
### III.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium<sup>[9]</sup>. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes.

#### ❖ Protocole

120 µl d'une solution de  $\text{NaNO}_2$  à 5% est ajouté à 400 µl d'échantillon (extrait alcoolique). Après 5 min, 150 µl de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10% est rajouté au mélange. Après 6 min d'incubation à la température ambiante, 800 µl d'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  (1 M) est additionné. Immédiatement, le mélange est complètement agité afin d'homogénéiser le contenu. Après 30 minutes d'incubation dans le bain ultrason à température ambiante l'absorbance est mesurée à 510 nm par un spectrophotomètre UV.

La concentration des flavonoïdes totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec la quercétine. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent de la quercétine par milligramme de l'extrait sec ( $\mu\text{g}$  GAE/mg EXS).



**Schéma III.5 :** Protocole expérimentale de dosage des flavonoïdes totaux.

### III.3. Les activités biologiques

#### III.3.1. L'activité antioxydante

Pour évaluer l'effet antioxydant d'une solution alcoolique (méthanol ou éthanol) des deux espèces, nous avons procédé au test de piégeage par le radical libre DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl).

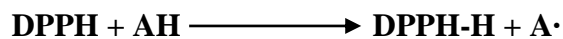
##### a) Estimation du pouvoir antiradicalaire par la méthode du DPPH

Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH), permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de l'IC<sub>50</sub> des substances antioxydantes contenues dans un extrait.



## Chapitre III : Matériels et Méthodes

Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton  $H^+$ , la décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 515 nm, et par conséquent une diminution de l'absorbance <sup>[10]</sup>.



Le degré de décoloration indique le potentiel d'élimination des radicaux libres de l'échantillon = antioxydant. Les antioxydants connus tels que la cystéine, le glutathion, l'acide ascorbique, le tocophérol et les composés aromatiques polyhydroxylés (hydroquinone, pyrogallol, etc.) réduisent et décolorent le 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl par leur capacité à donner de l'hydrogène <sup>[11]</sup>.

La capacité de céder des hydrogènes par les extraits est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution alcoolique (méthanol ou éthanol) contenant le radical libre DPPH• comme l'illustre la figure suivante où AH est un antioxydant (Figure III.2).

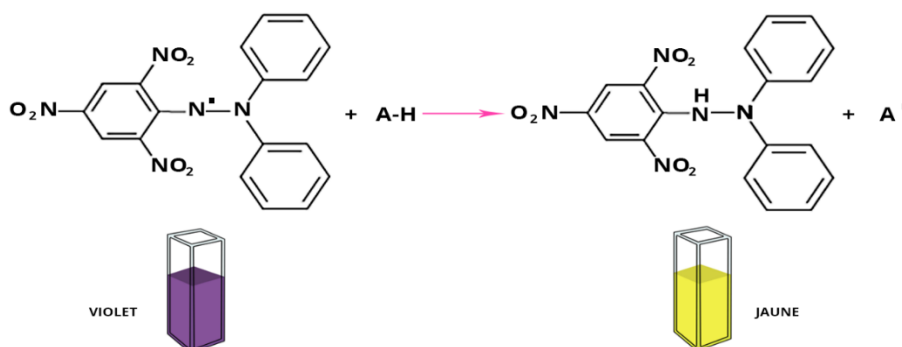


Figure III.2 : Pouvoir antiradicalaire par la méthode de DPPH.

### b) Préparation de la solution DPPH

Pour préparer la solution de DPPH de concentration de 60  $\mu M$ , on a dissout 0.0236g de DPPH dans 10 ml dans l'éthanol dans une fiole couverte d'aluminium. Cette fiole est mise dans un bain de glace sous agitation pendant une heure.

### c) Préparation des dilutions des extraits

Pour les quatre extraits, éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol de myrte et menthe pouliot, ont été diluées avec le méthanol (éthanol) pour préparer des solutions à différentes concentrations.

### d) Mode opératoire

Dans des tubes secs, Un volume de 50  $\mu$ l de différentes concentrations de chaque extrait ou de standard (acide ascorbique) est ajouté à 1950  $\mu$ l de la solution alcoolique du DPPH fraîchement préparée.

En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50  $\mu$ l de MtOH (ou EtOH) avec 1950  $\mu$ l de la solution alcoolique de DPPH, le test répété 3 fois pour chaque extrait ou de standard (acide ascorbique).

Le mélange réactionnel a agité quelques secondes et ensuite gardé à l'abri de la lumière à température ambiante. Après 30 minutes d'incubation dans le bain ultrason, l'absorbance est mesurée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

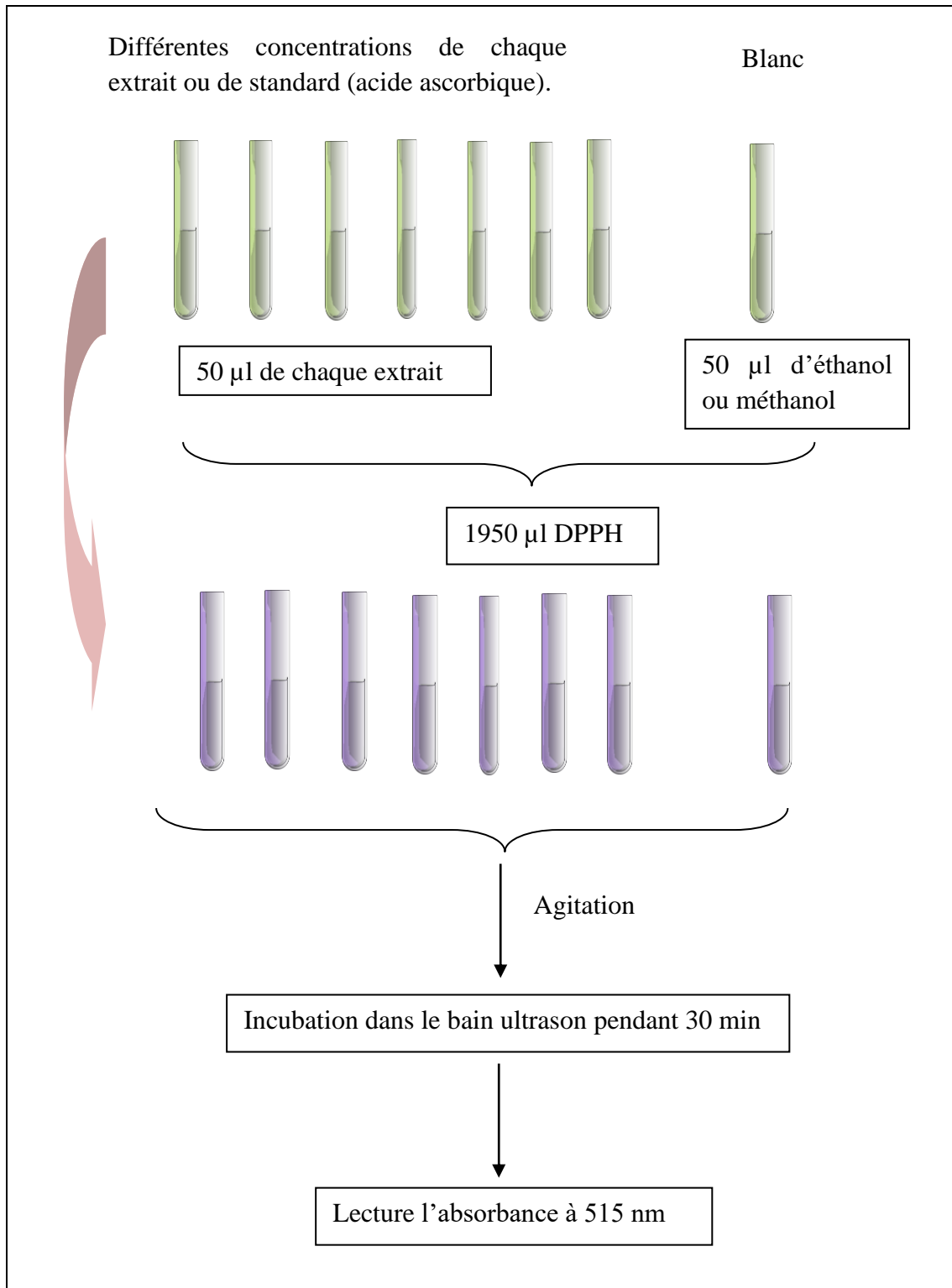


Schéma III.6 : Protocole de la mise en œuvre du test du radical DPPH.

## Chapitre III : Matériels et Méthodes

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de DPPH. Ce pourcentage est calculé selon la formule suivante :

$$I\% \text{ PI} = ((A_{\text{contrôle négatif}} - A_{\text{extrait}}) / A_{\text{contrôle négatif}}) \times 100$$

**A<sub>contrôle négatif</sub>** : correspond à l'absorbance du DPPH sans antioxydant après le temps de la réaction.

**A<sub>extrait</sub>** : correspond à l'absorbance de l'échantillon avec DPPH après le temps de la réaction.

### ➤ Calcul des IC<sub>50</sub>

IC<sub>50</sub> ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH<sup>•</sup>. Les IC<sub>50</sub> sont calculés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

### III.3.2. L'activité antimicrobienne

Cette partie consiste à mettre en évidence le pouvoir antimicrobien de nos échantillons d'huiles essentielles et des quatre extraits, éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol des deux espèces par la méthode de diffusion des disques (aromatogramme) en raison sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries. Ce test a été réalisé au niveau du laboratoire de Dr. Boukrouche Oussama (Jijel).

#### a) Souches bactériennes testées

Les souches bactériennes pour cette étude, sont des bactéries pathogènes, une bactérie à gram+ : *Staphylococcus aureus* et les autres à gram- : *Escherichia coli*, *Citrobacter Kozen*, *Acinotobacter baumannii* et *Klebsielle pneumoniae SPP*.

Le tableau III.2 représente les caractéristiques des souches bactériennes utilisées :

Tableau III.2 : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.

Bactéries	Gram	Famille
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	<i>Micrococcaceae</i>
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Citrobacter Kozen</i>	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Acinotobacter baumanii</i>	Négatif	<i>Moraxellaceae.</i>
<i>Klebsielle pneumoniae SPP</i>	Négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>

### b) Milieu de culture

Le milieu de culture gélose nutritive de Muller Hinton (MH) pour étudier la sensibilité des souches bactériennes.

### c) Préparation de suspension bactérienne

Chaque souche bactérienne a été ensemencée en traites sur des boites de pétri contenant la gélose nutritive et incubée pendant 18h afin d'obtenir une culture jeune des bactéries à partir de ces boites et à l'aide d'une pipette pasteur on prélève une colonie bien isolée dans un tube à vis stérile contenant 10ml de l'eau physiologique. On homogénéise tous les tubes de suspension bactérienne à l'aide le vortex (2-5 minutes).

### d) Technique d'aromatogramme

C'est une méthode de mesure in vitro qualitative permettant de tester la sensibilité ou la résistance des micro-organismes aux HEs et extraits par contact direct. Cet examen est équivalent d'un antibiogramme où les disques d'antibiotiques sont remplacés par des disques des extraits et des HEs, préalablement sélectionnées et reconnues.

### e) Principe

Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques du papier filtre imbibé par 200 µg/ml des extraits (éther de pétrole, chloroforme et n-butanol), 35 µg/ml de l'extrait d'acétate d'éthyle, par contre les HEs sont utilisées sans dilution de chaque plante sont disposés sur la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension bactérienne.

### f) Lecture

La lecture des diamètres d'inhibition se fait après 24-48 h d'incubation à l'étuve à 37°C, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelées zones d'inhibition.

Les étapes mentionnées ci-dessus sont résumées dans schéma suivante III.7.

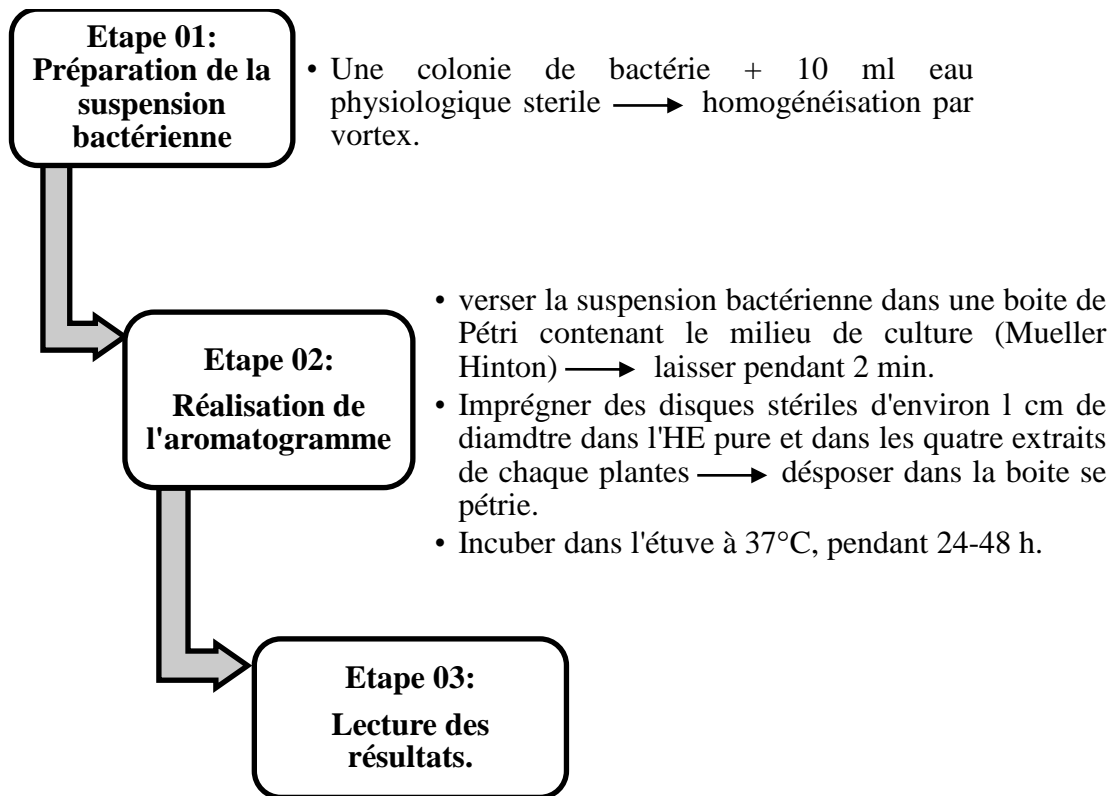


Schéma III.7 : Protocole d'aromatogramme.

#### III.3.2.2. L'activité antifongique

##### a) Souches de champignon testées

L'activité antifongique de l'HE étudiée des deux plantes a été testée sur une seule souche *Candida albicans*.

##### b) Milieu de culture

Le milieu de culture gélose nutritive de Muller Hinton (MH) et le milieu *Sabaurand* pour étudiée la sensibilité de la souche étudiée.

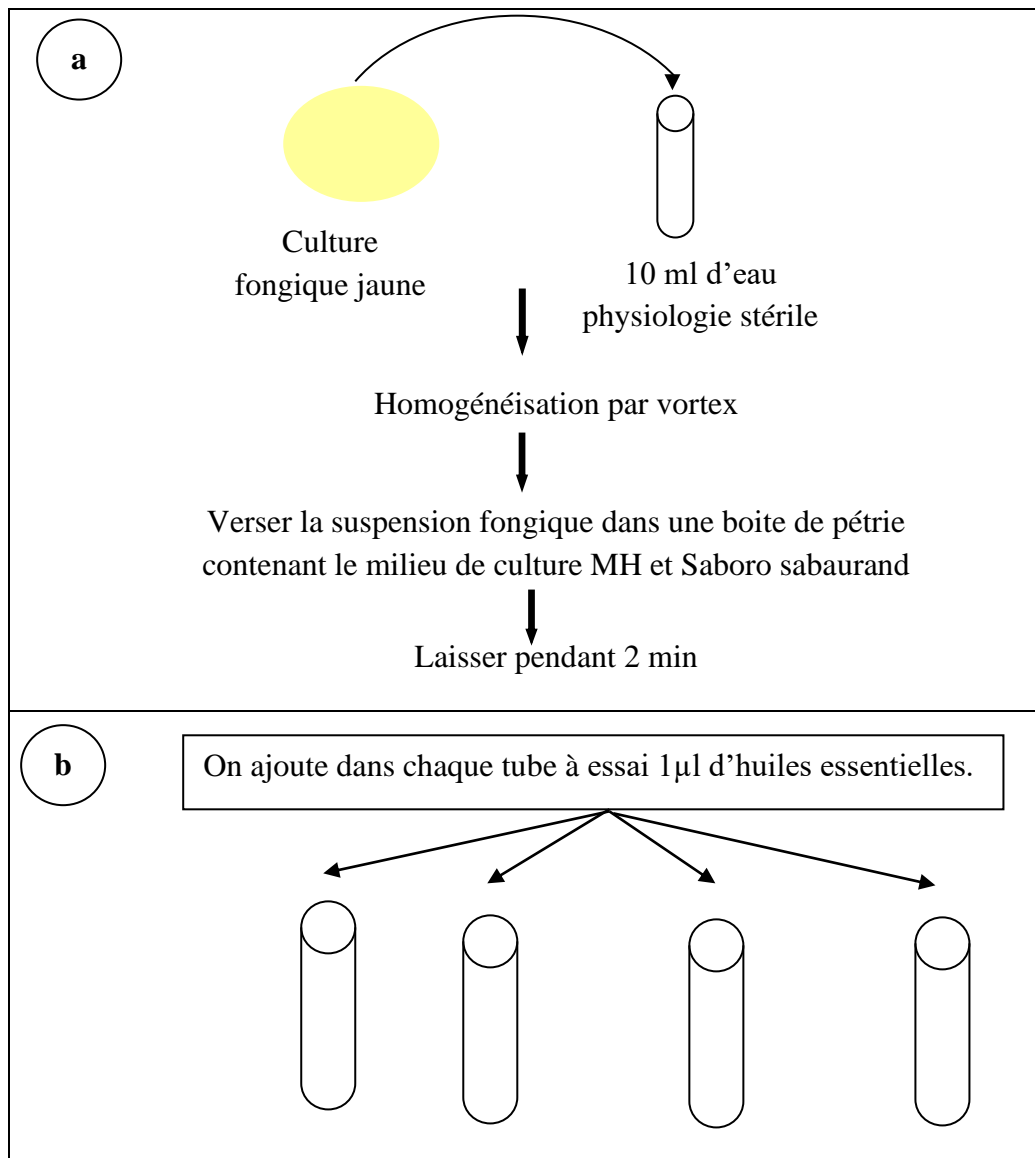
### c) Principe

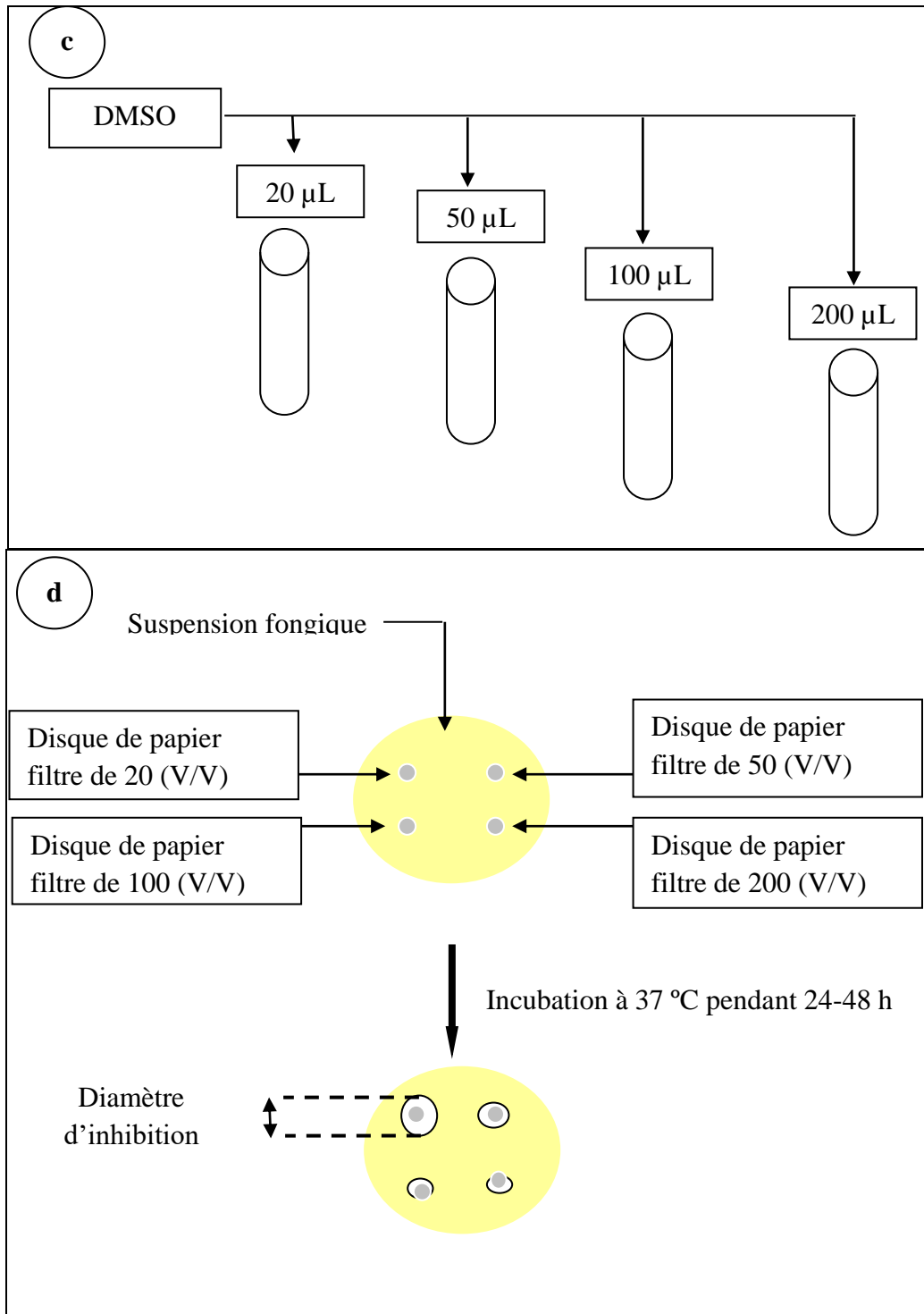
Dans des conditions aseptiques et à l'aide d'une pince stérile, des disques de papier filtre d'huile essentielle sont disposés sur la surface de la gélose et du *Sabourand* uniformément ensemencée avec une suspension fongique.

### d) Lecture

La lecture des diamètres d'inhibition se fait après 24-48 h d'incubation à l'étuve à 37°C, les colonies se développent à la surface du milieu de culture laissant des zones vierges autour des disques appelées zones d'inhibition.

Le schéma ci-dessous résume les étapes suivies pour la réalisation de l'activité antifongique





**Schéma III.8:** Protocole expérimentale des étapes de l'activité antifongique.



### Références bibliographiques

- [1] <https://www.google.com>.
- [2] **BOUKHATEM, M.N., FERHAT, A., & KAMELI, A.,** (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. *Revue de littérature*, 2(9) : 16531659.
- [3] **Petko Ivanov, P.,** (2017). Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plante par couplage de techniques séparative à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, Faculté de génie de procédés et de l'environnement, p : 37.
- [4] **Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F.,** (2012). La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie, Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Edition : springer, p: 30.
- [5] **Hagerman, F.C., Walsh, S.J., Staron, R.S., Hikida, R.S., Gilders, R.M., Murray, T.F., ... & Ragg, K.E.,** (2000). Effects of high-intensity resistance training on untrained older men. I. Strength, cardiovascular, and metabolic responses. *The journals of gerontology series A: Biological Sciences and medical sciences*, 55(7): B336-B346.
- [6] **Trease, G.E. & Evans, M.D.,** (1989). *Pharmacognosy E-book*. 13<sup>ème</sup> édition. Builler Trindall et Canssel Londres. Pp 176-180.
- [7] **Harborne, A. J.,** (1998). *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer Science & Business Media.
- [8] **Bruneton, J.,** (1999). *Toxic plants dangerous to humans and animals*. Intercept Limited.
- [9] **Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J., Hilali, A.,** (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Mater. Environ. Sci.* 6 (4): 1111-1117.
- [10] **Hossain, M.A., & Shah, M.D.,** (2015). A study on the total phenols content and antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of endemic plant *Merremia borneensis*. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(1): 66-71.
- [11] **Blois, M.S.,** (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617) : 1199-1200.

# **Chapitre IV**

## **Résultats et Discussion**

TECHNIQUE DE TROUPELLOTT

### I. Extraction des huiles essentielles

Actuellement, il existe de nombreuses méthodes d'extraction des composés volatils basées, les unes sur l'entraînement à la vapeur d'eau, les autres sur l'extraction par les solvants organiques. L'extraction des huiles essentielles de nos plantes étudiées a été effectuée par hydrodistillation et soxhlet.

#### I.1. Rendement d'extraction

Les huiles essentielles des feuilles de l'espèce végétale *Myrtus communis* L. et de *Mentha pulegium* L. sont obtenues par hydrodistillation et soxhlet. Les rendements sont calculés par rapport à la matière végétale sèche.

- Les rendements

Le tableau suivant représente le rendement exprimé en pourcentage des deux espèces en huile essentielles obtenues par les deux techniques : l'hydrodistillation et soxhlet.

**Tableau IV.1 :** Rendement d'extraction des deux huiles essentielles.

Méthodes	Matière végétale	Masse (g)	Rendement (%)
Hydrodistillation	<i>M. communis</i>	100	0.41
	<i>M. pulegium</i>	100	0.70
Soxhlet	<i>M. communis</i>	30	32.5
	<i>M. pulegium</i>	40	28.1

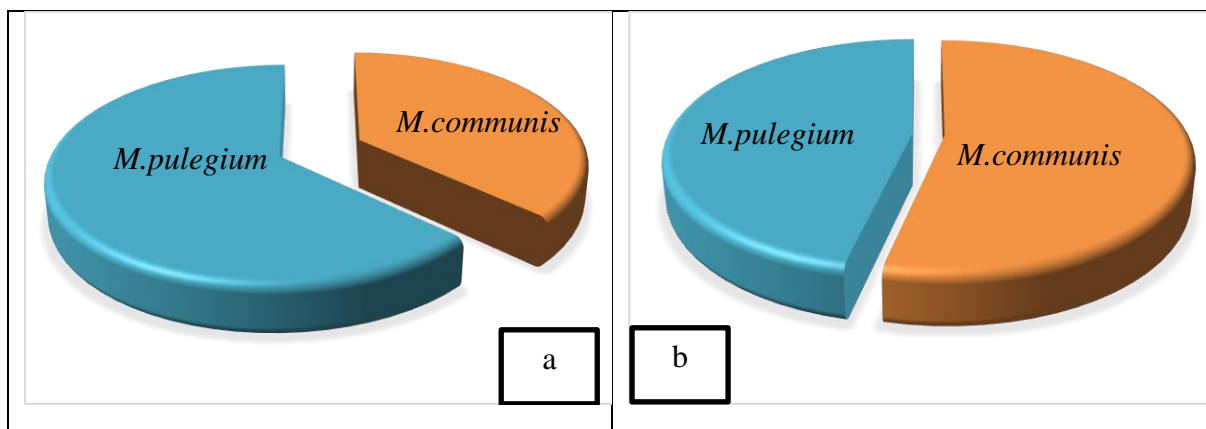
D'après les résultats, nous remarquons que le rendement d'extraction par la méthode d'hydrodistillation en HE du genre *Myrtus* est faible 0.41% par rapport à celui du *Mentha* qui est de l'ordre de 0.70%. Par contre, les rendements en HE par la méthode de soxhlet du genre de *Myrtus* et *Mentha* sont relativement élevés 32.5 % et 28.1% respectivement.

En comparant ces valeurs entre les deux méthodes, nous remarquons un grand écart entre les deux techniques cela est due à la méthode de soxhlet qui donne un mélange aromatique riche en chlorophylle et non pas des huiles essentielles pures.

Pour la méthode d'hydrodistillation

La plante de *Myrtus communis*, a un rendement proche à celui trouvé par Berka-Zougali <sup>[1]</sup> en travaillant sur la même espèce qui provenait de la région de Baïnem (Alger), qui est égale à 0.51% mais inférieur à celui signalé par Aidi-Wannes <sup>[2]</sup> pour la même espèce de la région de Jbal Stara Haouaria (Nord-est de la Tunisie) qui est égale à 0.61%. Cet écart est probablement attribué à la différence de provenance du matériel végétal ainsi qu'à la période de la récolte.

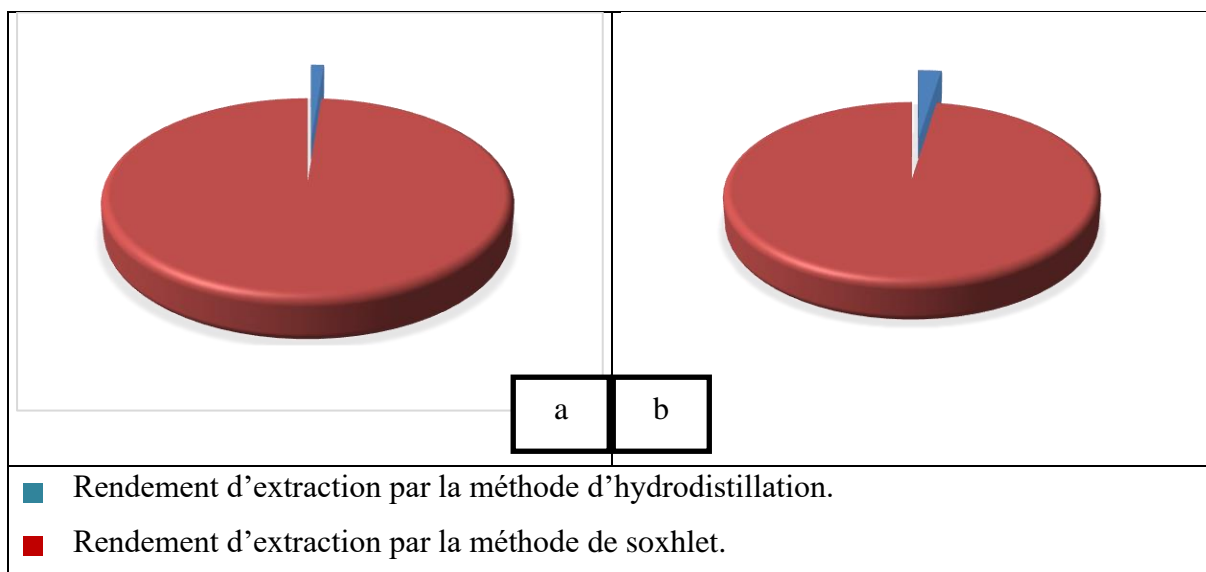
Pour la *Mentha pulegium*, en comparant les rendements cités dans la bibliographie, nous constatons que nos résultats sont nettement inférieurs à celui obtenu par Lahrech <sup>[3]</sup> qui est égale à 2.32% et proche à celui obtenu par Belghazi <sup>[4]</sup> qui est égale à 0.82%.



**Figure IV.1 :** Rendement d'extraction des deux huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation et soxhlet.

a : Rendement d'extraction par la méthode d'hydrodistillation.

b : Rendement d'extraction par la méthode soxhlet.



**Figure IV.2 :** Rendement d'extraction des deux huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation et soxhlet.

a : Rendement d'extraction de l'espèce *Myrtus communis* L.

b : Rendement d'extraction de l'espèce *Mentha pulegium* L.

En effet, l'hydrodistillation est la meilleure méthode d'extraction des huiles essentielles pour avoir des huiles de qualité.

### I.2. Contrôle de qualité des huiles essentielles

#### I.2.1. Détermination des paramètres organoleptiques des huiles essentielles

Les paramètres organoleptiques de nos huiles essentielles sont représentés dans le Tableau IV.2.

**Tableau IV.2 :** Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *M. communis* et *M. pulegium*.

Méthodes d'extraction	Huile essentielle	Couleur	Aspect	Odeur
Hydrodistillation	<i>M. communis</i>	Jaune foncé	Huileuse	Très aromatique
	<i>M. pulegium</i>	Jaune pâle	Huileuse	Fraiche et agréable

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

Soxhlet	<i>M. communis</i>	Jaune- vert	Pâteux Collant	Caractéristique de la plante
	<i>M. pulegium</i>			

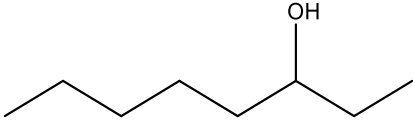
D'après le tableau IV.2, on remarque que la couleur, l'odeur et l'aspect sont différents, cette différence peut être expliquée par la différence de la composition chimique des deux huiles essentielles.

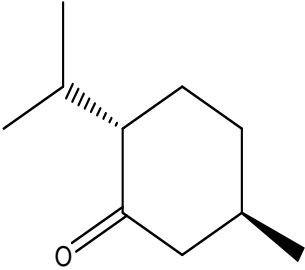
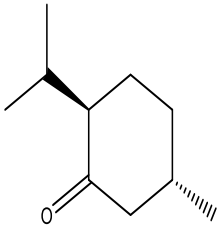
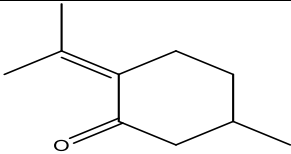
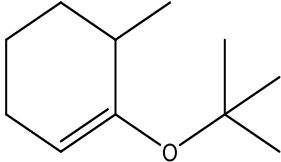
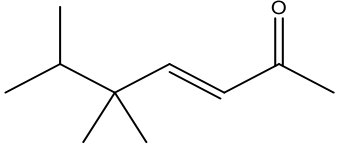
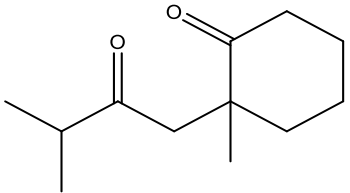
### I.2.2. L'identification chimique des huiles essentielles

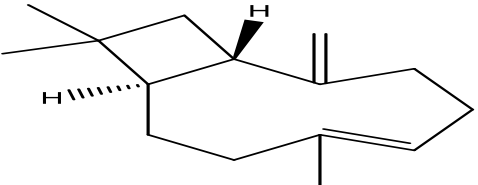
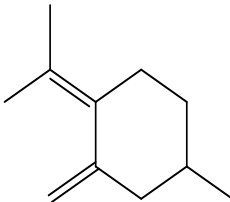
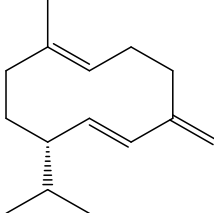

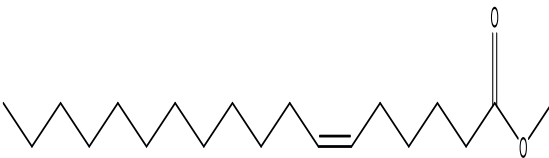
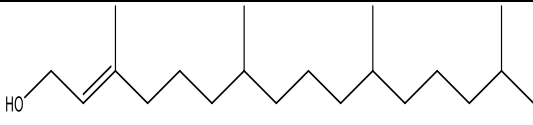
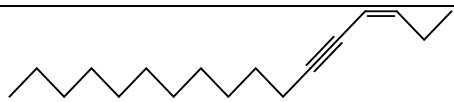
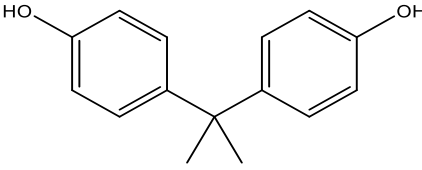
L'identification des produits a été faite en comparant leurs temps de rétention et spectres de masse avec ceux des composés de référence de la littérature emmagasinés dans la base de données de l'appareil. En effet, les analyses chromatographiques des huiles essentielles obtenues par soxhlet de la plante *Mentha pulegium* sont représentées dans le tableau IV.3.

Malheureusement, le chromatogramme des huiles récupérées par la méthode de soxhlet pour le *Myrtus communis* n'a pas donné de bon résultat cela est dû à ce que l'appareil de CPG est en un mauvais état.

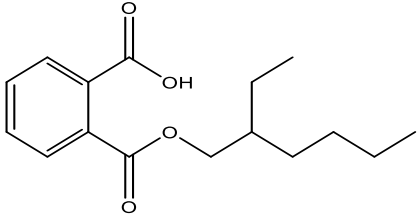
**Tableau IV.3 :** Composition chimique des huiles essentielles du *Mentha pulegium* obtenues par la méthode de soxhlet.

N° du pic	Temps de rétention (mn)	Pourcentages %	Hauteur du pic	Structures
1	3.071	1.18	1.75	 3-Octanol

2	6.173	1.68	1.92	 <p>5-méthyle-1-2-(1-méthyléthyle)-,trans-cyclohexanone</p>
3	6.317	4.54	5.32	 <p>Cyclohexanone, 5-méthyl-2-(1-méthyléthyle)-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)- Caution: Stereochemical terms discarded: 1alpha</p>
4	8.729	72.38	76.21	 <p>Pulegone</p>
5	10.028	1.32	1.34	 <p>Cyclohexene, 1-(1,1-diméthylethoxy)-6-méthyl-</p>
6	10.713	0.66	0.67	 <p>(E)-5,5,6-triméthylhept-3-en-2-one</p>
7	11.800	0.24	0.27	 <p>1-Cyclohexanone, 2-méthyl-2-(3-méthyl-2-oxobutyl)</p>

8	11.978	0.40	0.40	 <p>Caryophyllene</p>
9	13.233	1.43	0.89	 <p>Cyclohexane, 4-methyl-2-methylene-1-(1-methylethylidene)-</p>
10	14.315	0.74	0.66	 <p>1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]-</p>
11	16.967	0.31	0.33	 <p>1-Pentadecanol</p>
12	35.817	0.36	0.34	 <p>,6-octadecenoic acid, methyl ester, (Z)</p>
13	36.901	3.12	2.05	 <p>2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, (2E)-</p>
14	38.252	0.30	0.28	 <p>3-Heptadecen-5-yne, (Z)-</p>
15	47.352	0.62	0.48	 <p>Phenol, 4,4'-isopropylidenedi-</p>



16	49.970	10.71	7.09	 1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester
----	--------	-------	------	--

En analysant ces résultats obtenus, pour cette huile essentielle étudiée (tableau IV.3), nous remarquons que les constituants majeurs de *Mentha pulegium* sont le pulégone (76,21%); l'acide 1,2-Benzenedicarboxylique (7,09%) et le cyclohexanone,5-méthyl-2-(1-méthylethyl)-,(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.-cations : stereochemical terms discarded : l'alpha (5,32%).

### I.2.3. Caractéristiques physiques

L'un des paramètres essentiels concernant la qualité des huiles essentielles est bien évidemment les caractères physico-chimiques. Ceux-ci nous permettent de confirmer la qualité des huiles essentielles de *Myrtus communis* et de *Mentha pulegium* par l'analyse de leur indice de réfraction. Les valeurs obtenues sont représentées dans le tableau IV.4.

**Tableau IV.4 :** Caractéristiques physiques des huiles essentielles de *Myrtus communis* et de *Mentha pulegium*.

Huile essentielle	Indice de réfraction
<i>Myrtus communis</i>	1470
<i>Mentha pulegium</i>	1485

## II. Extraction des métabolites secondaires

L'extraction de la *Myrtus communis* L. et de la *Mentha pulegium* L. s'effectue en deux étapes, la première est une extraction par un mélange hydroalcoolique MeOH/H<sub>2</sub>O (ou EtOH/H<sub>2</sub>O) avec une proportion (80 :20) pour obtenir l'extrait aqueux. La deuxième étape de fractionnement a été réalisée par une série de solvants à polarité croissante (éther de pétrole → chloroforme → Acétate d'éthyle → n-

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

butanol) permettant de séparer les composés de l'extrait aqueux selon leur degré de solubilité dans les solvants d'extraction. De ce fait, quatre différents extraits ont été obtenus successivement : l'extrait de l'éther de pétrole, l'extrait du chloroforme, l'extrait d'acétate d'éthyle et l'extrait de n-butanol.

### II.1. Les rendements en extraits secs

Le rendement des extraits secs obtenus après évaporation du solvant est exprimé en pourcentage par rapport à 50g de matière sèche de *Myrtus communis* et 100g de matière sèche de *Mentha pulegium*. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau IV.5 :** Couleur et rendements en % des extraits secs des deux plantes.

Matière végétale	Extrait	Couleur	Rendement (%)
<i>Myrtus communis</i>	Ether de pétrole	Vert	0.06
	Chloroforme	Vert claire	0.3
	Acétate d'éthyle	Marron clair	0.64
	n-butanol	Marron foncé	12.51
<i>Mentha pulegium</i>	Ether de pétrole	Vert pâle	0.41
	Chloroforme	Vert foncé	0.26
	Acétate d'éthyle	Marron claire	0.26
	n-butanol	Marron foncé	1.74

Les résultats obtenus montrent que :

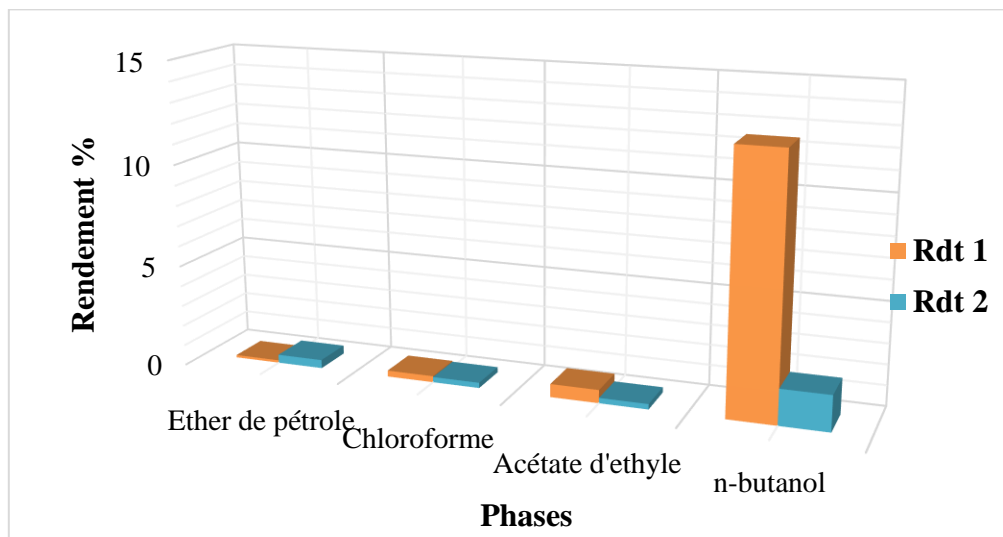
Pour *Myrtus communis*, l'extrait n-butanol représente aussi le rendement le plus élevé (12.51%) suivi par l'extrait acétate d'éthyle (0.64%) ; se poursuit par l'extrait chloroformique (0.3%) et enfin l'éther de pétrole (0.06%).

n-butanol>>> acétate d'éthyle> chloroforme >éther de pétrole.

Pour *Mentha pulegium*, l'extrait n-butanol représente le rendement le plus élevé (1.74%) suivi par l'extrait éther de pétrole (0.41%) et enfin l'extrait d'acétate d'éthyle (0.26 %) et l'extrait chloroformique (0.26%).

n-butanol>>> éther de pétrole > acétate d'éthyle et chloroforme.

Cependant nous avons remarqué que le rendement en fraction de n-butanolique des deux espèces est celui le plus élevé par rapport aux autres phases. Les différents rendements illustrés dans la figure IV.3.



**Figure IV.3 :** Rendements d'extraction des quatre phases de l'espèce *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*.

Rdt 1 : Rendement du *Myrtus communis*.

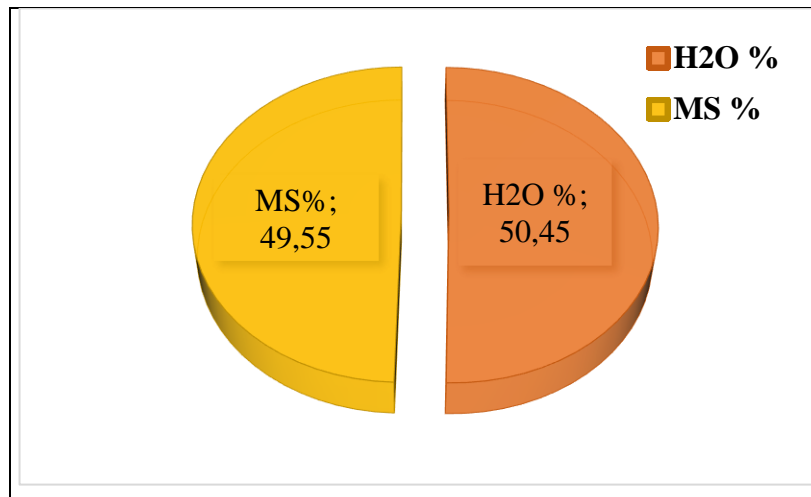
Rdt 2 : Rendement du *Mentha pulegium*.

Le rendement d'extraction n'est que relatif lié à différents facteurs intrinsèques tel que les propriétés génétiques des plantes et extrinsèques tels que l'origine géographique, le moment de la récolte et aussi les conditions et la durée de stockage du matériel végétal.

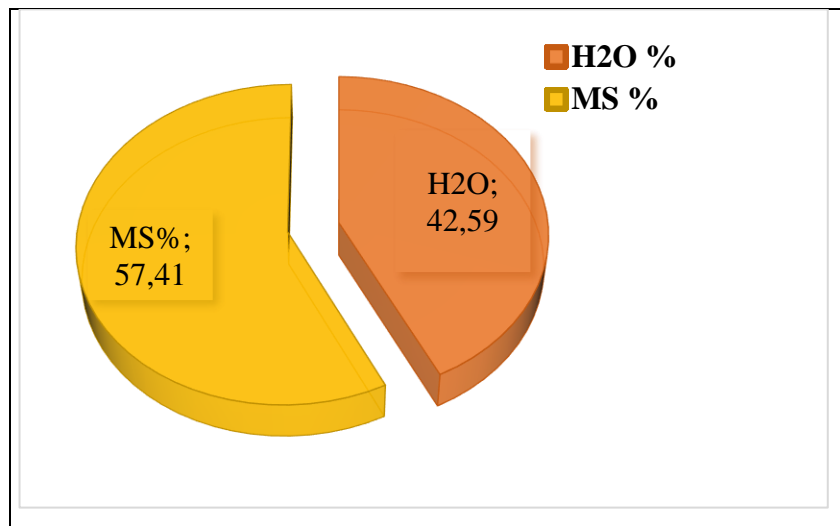
### II.2. Détermination de la teneur en eau

Les végétaux sont riches en eau, la détermination du taux d'humidité de la matière végétale a été obtenue par le séchage des feuilles fraîches des deux espèces étudiées.

Nos échantillons ont montré un taux d'humidité important correspond à environ 50.45 % pour le *Myrtus communis* et 42.59 % pour le *Mentha pulegium*. Cela signifie approximativement plus de la moitié du poids de la plante fraîche est constituée par l'eau et le reste du poids de la plante 49.55 % (*Myrtus communis*), 57.41% (*Mentha pulegium*) c'est la matière sèche. Les résultats sont représentés dans la figure IV.4 et la figure IV.5.



**Figure IV.4 :** Graphique représentatif du taux d'humidité et la matière sèche (MS) de *Myrtus communis*.



**Figure IV.5 :** Graphique représentatif du taux d'humidité et la matière sèche (MS) de *Mentha pulegium*.

La différence marquée entre les teneurs en eau peut être expliquée par l'âge de la plante, la saison de récolte, et la région d'où elle vient la plante.

## III. L'analyse des extraits



### III.1. L'analyse qualitative

#### a) Screening phytochimiques



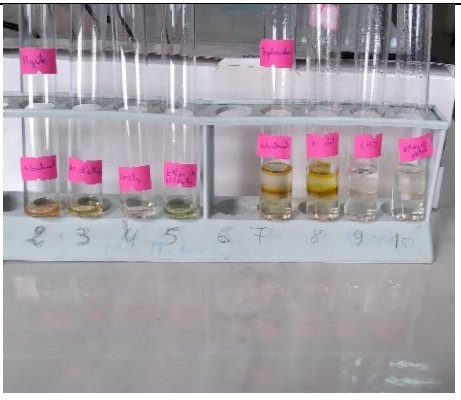
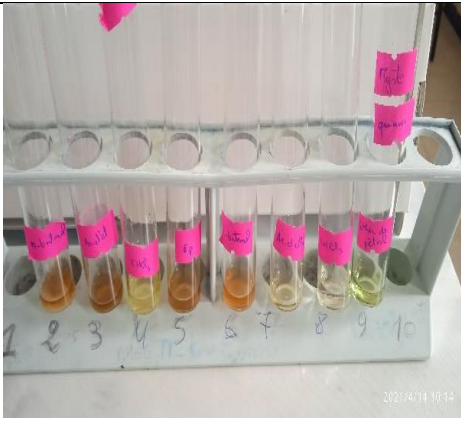
Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de nos plantes, réalisés sur différents extraits préparés à partir des feuilles de chaque espèce. La détection de ces composés chimiques en utilisant des réactifs spécifiques basée sur des réactions de précipitation et d'un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette. Le Tableau (IV.6) regroupe les résultats des tests chimiques réalisés sur la plante *Myrtus communis* et Le Tableau (IV.7) regroupe les résultats des tests chimiques réalisés sur la plante *Mentha pulegium*.

Les résultats ont été évalué comme suit : +++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : Faiblement positif ; - : Négatif.

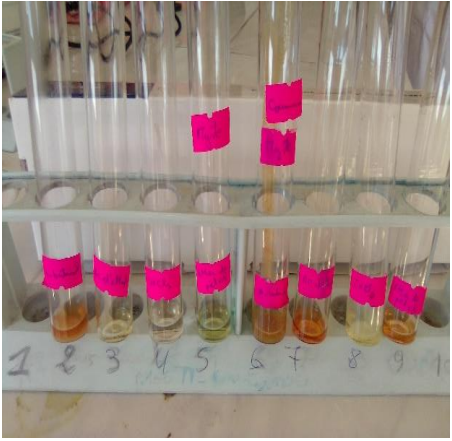
**Tableau IV.6 : Criblage phytochimique de *M. communis*.**

Métabolite testé	Extrait	Couleur résulte	Résultats	Photographié des résultats
<b>Flavonoïdes</b>	Ether de pétrole	Coloration vert clair	-	
	Chloroformique	Coloration blanc	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration rouge	+++	
	n-butanolique	Coloration rouge	+++	
<b>Tanins</b>	Ether de pétrole	Coloration bleu-noirâtre	+++	
	Chloroformique	Coloration jaune	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration bleu-noirâtre	+++	
	n-butanolique	Coloration bleu-noirâtre	+++	




## Chapitre IV : Résultats et Discussion

<b>Alcaloïde traité par réactif de Mayer</b>	Ether de pétrole	Coloration jaune	-	
	Chloroformique	Coloration jaune	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration jaune	-	
	N-butanolique	Coloration orange	-	
<b>Alcaloïde traité par réactif de Wagner</b>	Ether de pétrole	Coloration rouge	-	
	Chloroformique	Coloration rouge	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration rouge	-	
	N-butanolique	Coloration rouge	-	
<b>Terpénoïdes</b>	Ether de pétrole	Formation de deux phases et un couleur marron	+++	
	Chloroformique		+++	
	Acétate d'éthyle		+++	
	N-butanolique		+++	
<b>Quinones</b>	Ether de pétrole	Vert claire	-	
	Chloroformique	Blanc	-	
	Acétate d'éthyle	Blanc	-	
	N-butanolique	Orange	-	




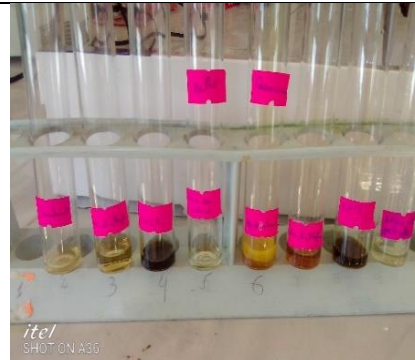
## Chapitre IV : Résultats et Discussion

<b>Coumarines</b>	Ether de pétrole	Fluorescence jaune	+	
	Chloroformique	Fluorescence jaune	+	
	Acétate d'éthyle	Fluorescence jaune	+	
	N-butanolique	Fluorescence jaune	+	

**Tableau IV.8 :** Criblage phytochimique de *M. pulegium*.

Métabolite testé	Extrait	Couleur résulte	Résultats	Photographié des résultats
<b>Flavonoïdes</b>	Ether de pétrole	Coloration vert pâle	-	
	Chloroformique	Coloration vert	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration rouge	++	
	N-butanolique	Coloration rouge	+++	
<b>Tanins</b>	Ether de pétrole	Coloration jaune	-	
	Chloroformique	Bleu noire	+++	
	Acétate d'éthyle	Bleu noire	+++	
	n-butanolique	Bleu noire	+++	
<b>Alcaloïde traité par réactif de Mayer</b>	Ether de pétrole	Coloration jaune clair	-	
	Chloroformique	Coloration vert foncé	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration orange	-	
	n-butanolique	Coloration marron	-	

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

<b>Alcaloïde traité par réactif de Wagner</b>	Ether de pétrole	Coloration rouge foncé	-	
	Chloroformique	Coloration marron	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration rouge foncé	-	
	n-butanolique	Coloration marron	-	
<b>Terpénoïdes</b>	Ether de pétrole	Formation de deux phases et un couleur marron	+++	
	Chloroformique		+++	
	Acétate d'éthyle		+++	
	n-butanolique		+++	
<b>Quinones</b>	Ether de pétrole	Coloration vert clair	-	
	Chloroformique	Coloration blanc	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration blanc	-	
	n-butanolique	Coloration orange	-	
<b>Coumarines</b>	Ether de pétrole	Coloration jaune clair	-	
	Chloroformique	Coloration marron	-	
	Acétate d'éthyle	Fluorescence jaune	+	
	N-butanolique	Fluorescence jaune	+++	

Cependant, la présence des flavonoïdes est confirmée par l'exhibition d'une coloration rouge.

Les tanins ont été détectés par l'apparition d'une coloration bleu verdâtre suite à l'addition d'une solution de chlorure ferrique. Cette réaction positive confirme la présence des tanins catéchiques.



L'apparition d'une fluorescence sous une lumière ultra-violet indique la présence des coumarines mais à une faible intensité.

D'une part, le test qualitatif des terpénoïdes nous a montré la présence de ces composés dans l'extraits des feuilles avec la formation de deux phases et un couleur marron.

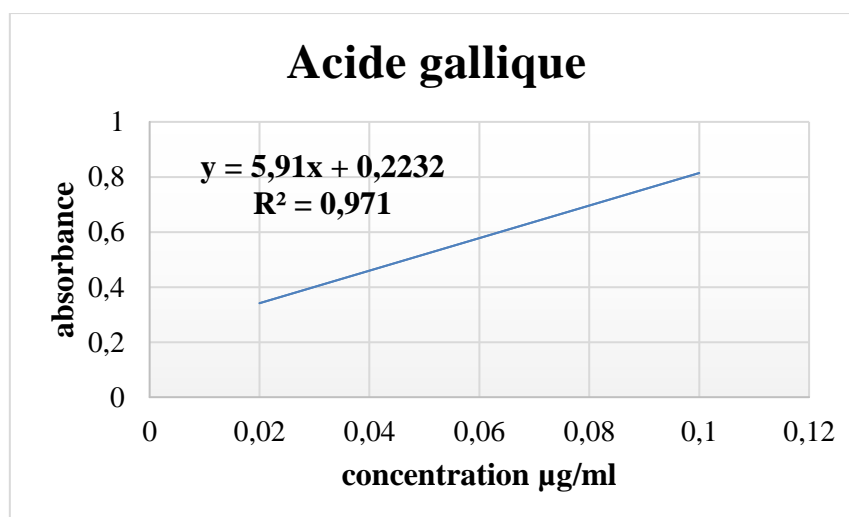
D'autre part, les tests des alcaloïdes et des quinones étaient négatifs ce qui indique l'absence de ces composés dans l'extrait des feuilles de nos plantes.

### III.2. L'analyse quantitative

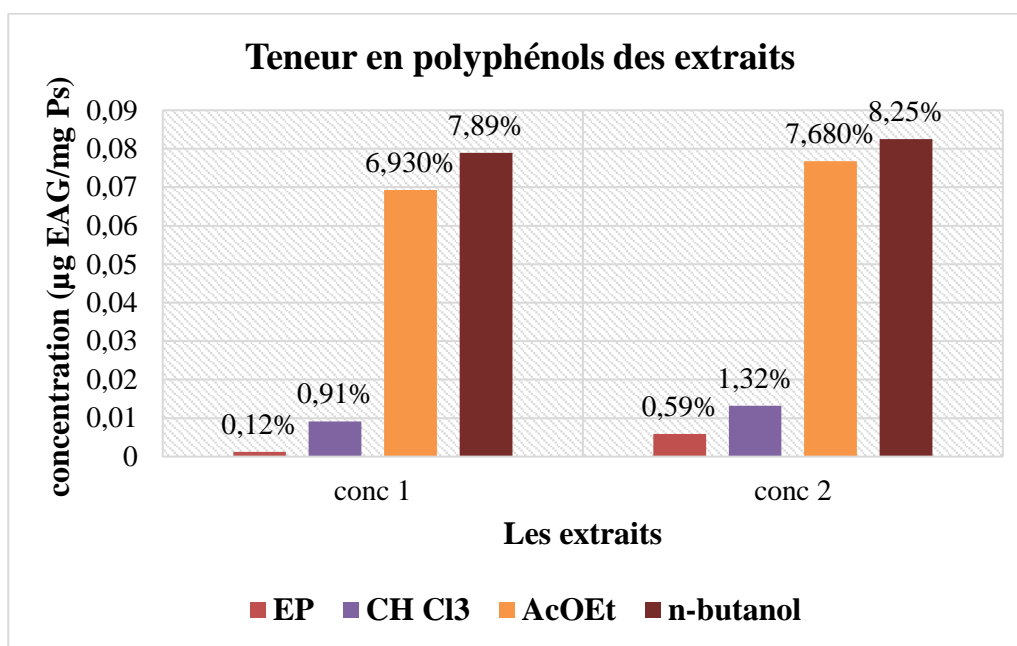
#### III.2.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique de Folin-Ciocalteu pour chaque extrait à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations d'acide gallique qui est utilisé comme une référence.

Les résultats obtenus sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent d'acide gallique par mg de l'extrait sec ( $\mu\text{g EAG/mg EXS}$ ), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (FigureIV.6.)



**Figure IV.6 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols.



**FigureIV.7 :** Teneurs en polyphénols dans les extrais éther de pétrole, CHCl<sub>3</sub>, AcOEt et n-but de *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*.

Conc 1 : Plante *Myrtus communis*.

Conc 2 : Plante *Mentha pulegium*.

D'après les résultats, on peut déduire que les deux extraits de la fraction n-butanol et de l'acétate d'éthyle de nos deux plantes étudiées, sont riches en polyphénols. La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait n-butanol (8.51µg EAG/mg EXS) de l'espèce *Myrtus communis* et (7.89µg EAG/mg EXS) de l'espèce *Mentha pulegium*, suivi par l'extrait acétate d'éthyle (7.680µg EAG/mg EXS) de l'espèce *Myrtus communis* et (6.930µg EAG/mg EXS) de l'espèce *Mentha pulegium*, tandis que le plus faible est celui de l'extrait chloroforme et l'extrait de l'éther de pétrole des deux espèces.

### III.2.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes totaux a été effectué par la méthode utilisant AlCl<sub>3</sub> pour chaque extrait à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations de la quercétine qui est utilisé comme une référence.

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

Les résultats obtenus sont exprimés en  $\mu\text{g}$  équivalent de la quercétine par milligramme de l'extrait sec ( $\mu\text{g EAQ}/\text{mg EXS}$ ), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de la quercétine (Figure IV.8)

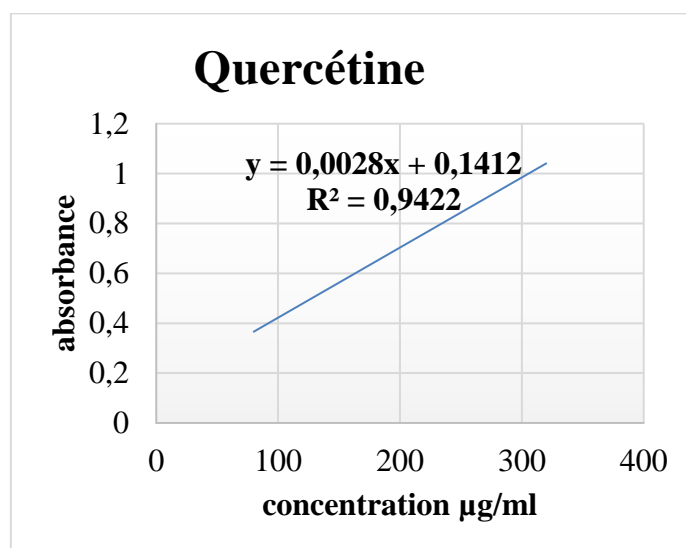


Figure IV.8 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

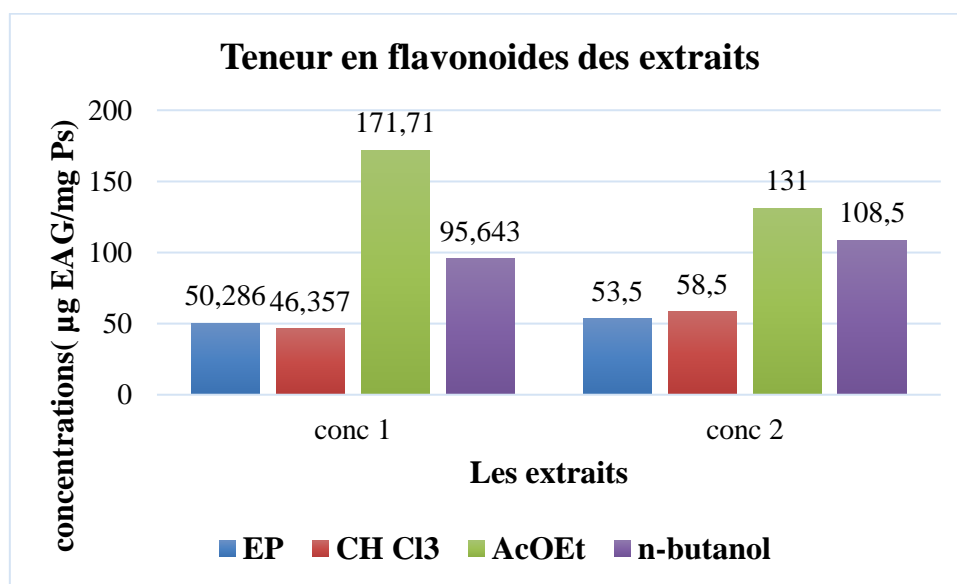


Figure IV.9 : Teneurs en flavonoïdes dans les extraits éther de pétrole,  $\text{CHCl}_3$ , AcOEt et n-but de *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*.

Conc 1 : Plante *Myrtus communis*.

Conc 2 : Plante *Mentha pulegium*.

D'après les résultats, on peut constater que tous les extraits de nos plante étudiés, sont riches en flavonoïdes mais avec des quantités différentes. La figure IV.9 montre que l'extrait de l'acétate d'éthyle possède la plus haute teneur en polyphénols (171.71 $\mu$ g EAG/mg EXS) de l'espèce *Myrtus communis* et (131 $\mu$ g EAG/mg EXS) de l'espèce *Mentha pulegium*, suivi par l'extrait n-butanol (95.643 $\mu$ g EAG/mg EXS) de l'espèce *Myrtus communis* et (108.5 $\mu$ g EAG/mg EXS) de l'espèce *Mentha pulegium*, tandis que le plus faible est celui de l'extrait chloroforme et l'extrait de l'éther de pétrole des deux espèces.

### III.2.3. Les activités biologiques

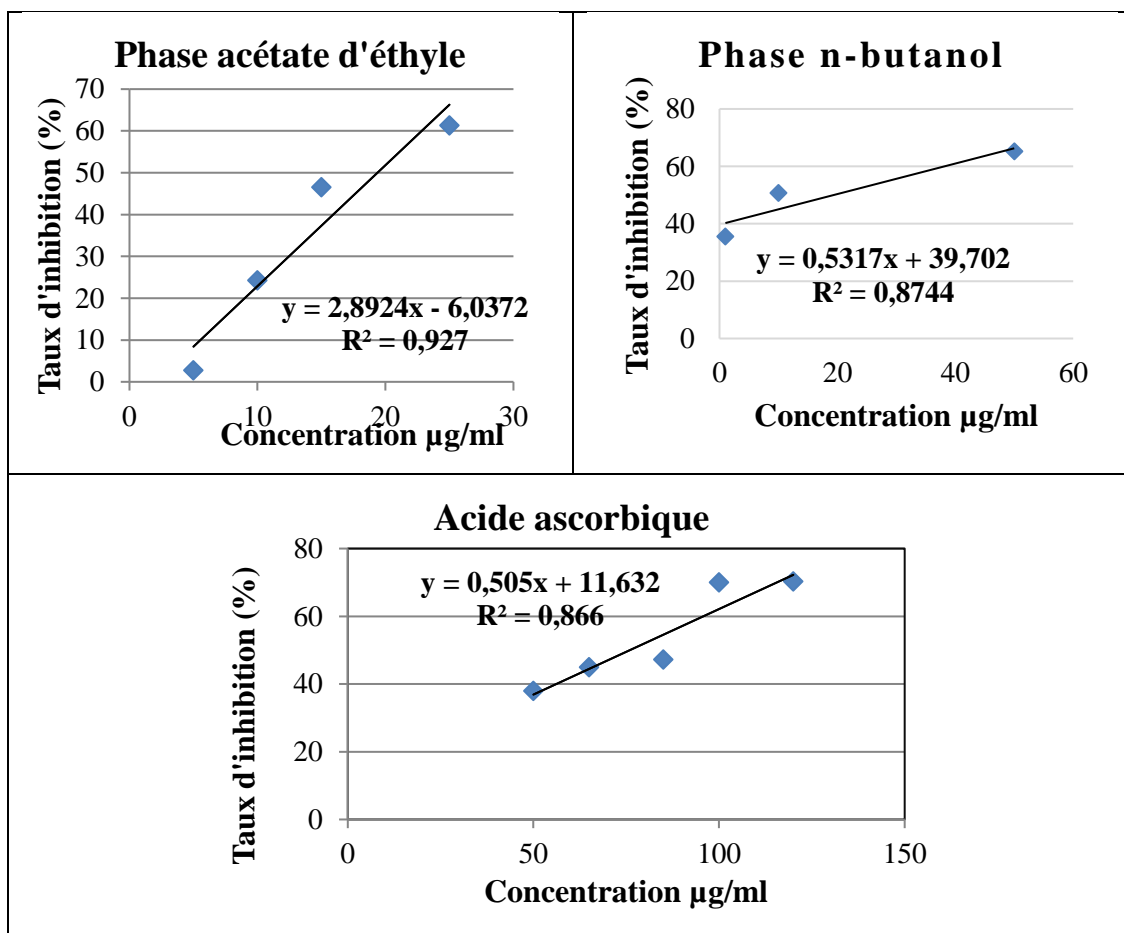
#### III.2.3.1. L'activité antioxydante

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antioxydante des quatre extraits (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle, n-butanol) est la méthode de DPPH.

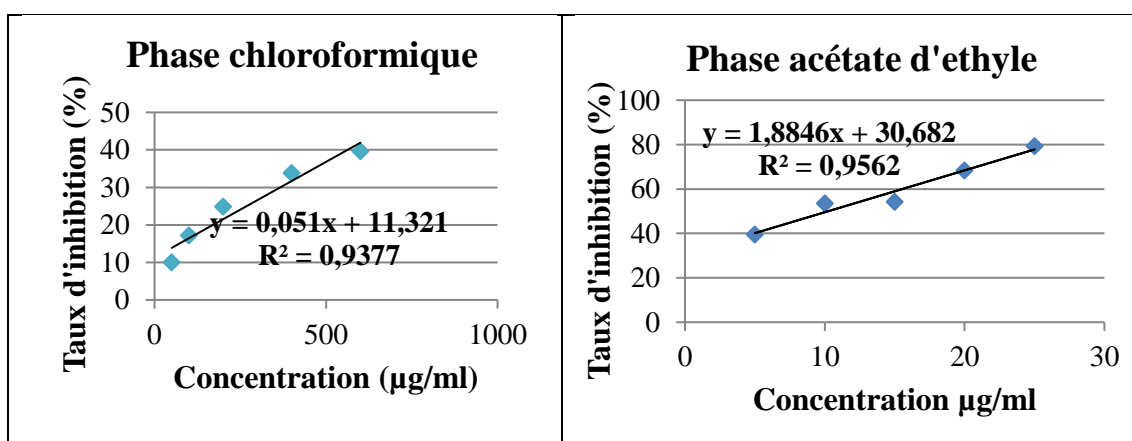
##### a) Test de DPPH

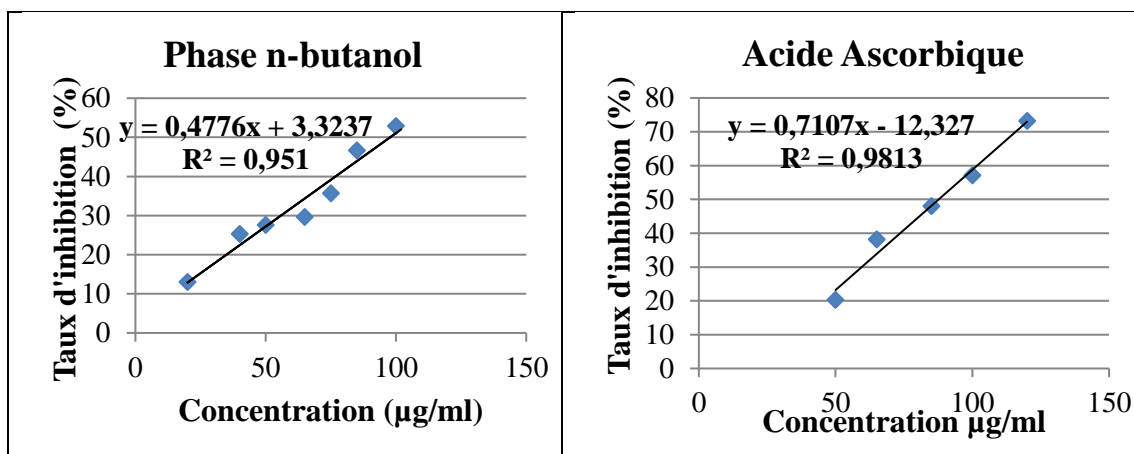
L'activité antioxydante des différents extraits des deux espèces a été évaluée par la méthode du radical libre DPPH pour chaque extrait à une gamme de concentration (10-2000  $\mu$ g/ml). Le changement de la couleur de la solution méthanolique et éthanolique de DPPH en présence de chacun des extraits à tester a été mesuré à 515 nm, le pouvoir antioxydant des extraits testés est estimé par comparaison avec un antioxydant standard (Ac. ascorbique), après les mesures spectrophotométriques, des absorbances ont permis de tracer les courbes des extraits et d'acide ascorbique.

Les résultats représentés dans la figure ci-après illustre la variation de la réduction de radical DPPH en fonction de la concentration des extraits testés. Cela permet de déterminer l'IC<sub>50</sub>, la concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50% du DPPH radicalaire (figure IV.10 et figure IV.11).



**Figure IV.10** : Représentation graphique des pourcentages d'inhibition de radical DPPH en présence des extraits  $\text{CHCl}_3$ , AcOH, n-but, et Ac Ascorbique pour la partie arienne de la plante *Myrtus communis*.





**Figure IV.11** : Représentation graphique des pourcentages d'inhibition de radical DPPH en présence des extraits  $\text{CHCl}_3$ , AcOH, n-but, et Ac. ascorbique pour la partie arienne de la plante *Mentha pulegium*.

La capacité antioxydante des différents extraits et d'un témoin positif antioxydant, l'acide ascorbique est rassemblée dans le tableau IV.8 et tableau IV.9. Il est à noter que l'activité antioxydante est inversement proportionnelle à l' $\text{IC}_{50}$ , une valeur faible d' $\text{IC}_{50}$  indique une activité antioxydante forte.

**Tableau IV.8** : Activité anti-radicalaire exprimée en  $\text{IC}_{50}$  des extraits, AcOH, n-but de *Myrtus communis*.

Extrait	Phases	$\text{IC}_{50}$ (µg/ml) ± Ecart type
Les phases	Acétate d'éthyle	$19.58 \pm 0.11$
	n-butanol	$19.55 \pm 0.08$
Acide ascorbique		75.78

**Tableau IV.9 :** Activité anti-radicalaire exprimée en IC<sub>50</sub> des extraits, CHCl<sub>3</sub>, AcOEt, n-but de *Mentha pulegium*.

Extrait	Phases	IC <sub>50</sub> (µg/ml) ± Ecart type
Les phases	Chloroforme	758.41 ± 3.35
	Acétate d'éthyle	10.25 ± 0.01
	n-butanol	97.73 ± 1
Acide ascorbique		75.78

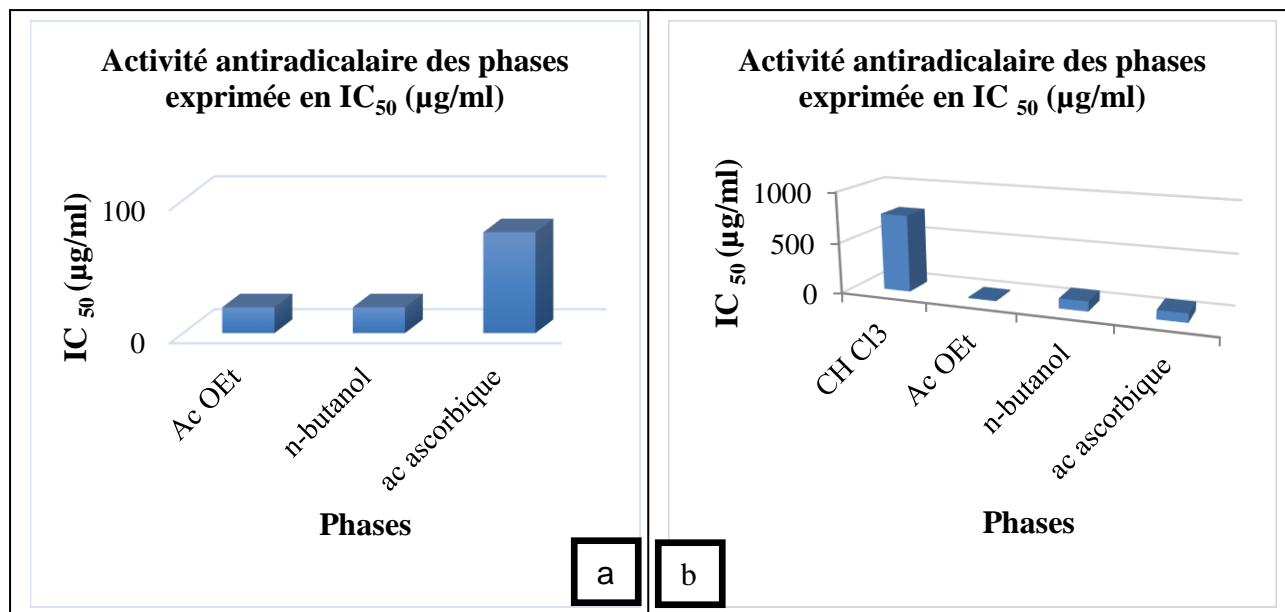
Pour l'espèce *Myrtus communis* les extraits acétate d'éthyle et n-butanolique montrent une capacité de piégeage des radicaux importante, avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'ordre (19.58 ± 0.11) µg.ml<sup>-1</sup> et (19.55 ± 0.08) µg.ml<sup>-1</sup> respectivement.

En comparant ces extraits avec le témoin positif antioxydant, l'acide ascorbique (IC<sub>50</sub> égale 75.78 µg.ml<sup>-1</sup>), nous constatons que l'extrait acétate d'éthyle et n-butanol est presque 4 fois plus actif que le témoin positif antioxydant, l'acide ascorbique (tableau IV.8).

Ainsi que pour l'espèce *Mentha pulegium* il est clair que l'activité antioxydante des extraits. En effet, les extraits avec la plus grande capacité de piégeage des radicaux sont les extraits phénoliques, acétate d'éthyle et n-butanolique, avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'ordre (10.25 ± 0.01) µg.ml<sup>-1</sup> et (97.73 ± 1) µg.ml<sup>-1</sup> respectivement suivi par l'extrait chloroformique qui montre une activité antioxydante relativement faible avec IC<sub>50</sub> égale (758.41 ± 3.35) µg.ml<sup>-1</sup>.

Parmi les trois phases de *Mentha pulegium* la phase d'acétate d'éthyle montre la meilleure activité antiradicalaire avec une valeur d'IC<sub>50</sub> égale (10.25 ± 0.01) µg.ml<sup>-1</sup>.

En comparant cet extrait avec le témoin positif antioxydant, l'acide ascorbique (IC<sub>50</sub> égale 75.78 µg.ml<sup>-1</sup>), nous constatons que l'extrait acétate d'éthyle est presque 7 fois plus actif (tableau IV.9).

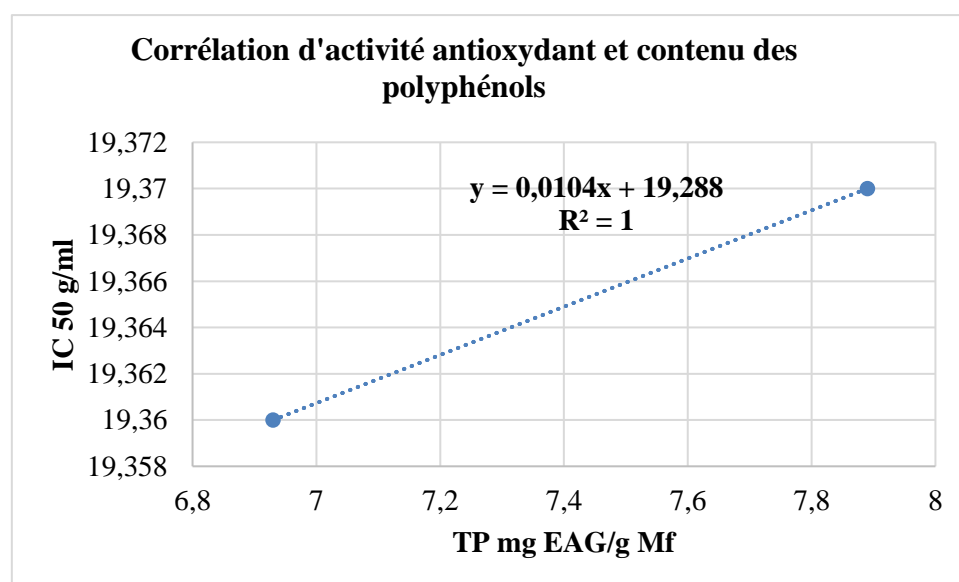


**Figure IV.12 :** Activité antiradicalaire des extraits phénolique de *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*.

a : *Myrtus communis*.

b : *Mentha pulegium*.

- Corrélation entre l'activité antiradicalaire (DPPH) et teneur en polyphénols totaux :



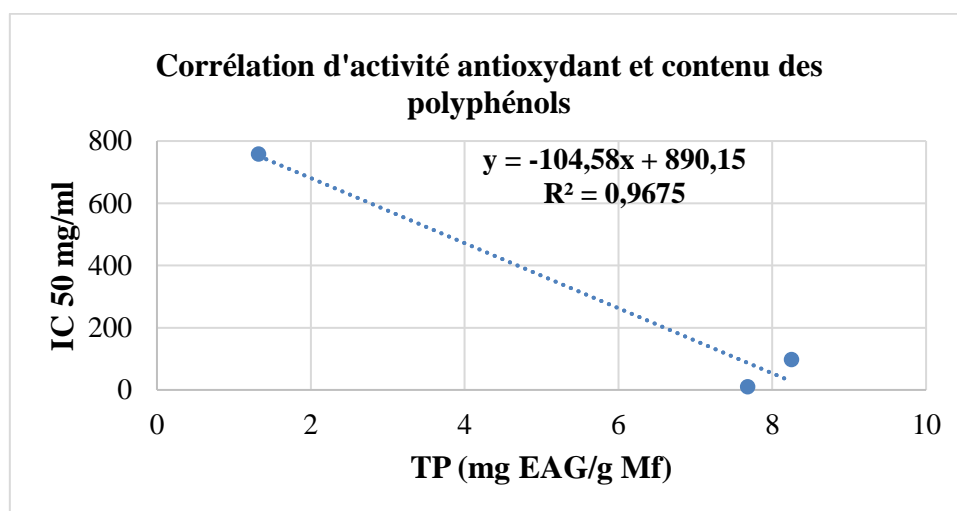
**Figure IV.13 :** Corrélation entre l'activité antiradicalaire (DPPH) et teneur en polyphénols totaux des extraits de *Myrtus communis* L.



## Chapitre IV : Résultats et Discussion

Les résultats obtenus montrent une bonne corrélation linéaire ( $R^2$ ) entre la teneur en phénols totaux et le pouvoir antiradicalaire des extraits des feuilles de *Myrtus communis* à raison de 1.

La richesse en phénols totaux de nos extraits serait donc à la base de leur activité antioxydante. Des résultats similaires ont été rapportés par N'Guessan [5] et Morel [6]. Selon ces auteurs, le pouvoir antioxydant d'un extrait de plante est lié à sa teneur en composés phénoliques. Ces activités antioxydantes pourraient également s'expliquer par la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques pouvant piéger les radicaux libres (Gulcin [7], Corrêa [8] Morel [6]). Toutefois, une meilleure synergie et la diversité des composés des extraits pourraient aussi contribuer à cette bonne activité antioxydante Eva [9].



**Figure IV.14 :** Corrélation entre l'activité antiradicalaire (DPPH) et teneur en polyphénols totaux des extraits de *Mentha pulegium* L.

Un coefficient de corrélation (Figure IV.14) a été établi entre la teneur des extraits de *Mentha pulegium* en polyphénols dont l'équation de droite est :  $y = -104.58 x + 890.15$  (avec  $R^2=0.9675$ ).

Le coefficient de corrélation (Figure IV.14) établi entre la teneur des extraits de *Mentha pulegium* en polyphénols et l'activité antioxydante est fortement significatif ( $R^2 = 0,9675$ ) indiquant que 96,7% de la capacité antioxydante des extraits, sont dus à la contribution des composés phénoliques qui sont les antioxydants dominants dans ces extraits. La teneur en phénols totaux des extraits de *Mentha pulegium* s'est corrélée significativement avec leurs activités antiradicalaires. Ces résultats

concordent avec ceux rapportés par d'autres auteurs qui ont démontré une corrélation positive entre la teneur totale des composés phénoliques et l'activité antioxydante (Djeridaneet ; Wong ; Turkmen ; Wojdylo) <sup>[10,11,12,13]</sup>.

Le niveau de corrélation entre le contenu phénolique et l'activité antioxydante est un aspect à ne pas négliger, car on doit considérer que les composés phénoliques répondent différemment dans l'analyse, selon le nombre de groupes phénoliques et que les composés phénoliques totaux n'incorporent pas nécessairement tous les antioxydants qui peuvent être présents dans un extrait.

### III.2.3.2. L'activité antibactérienne


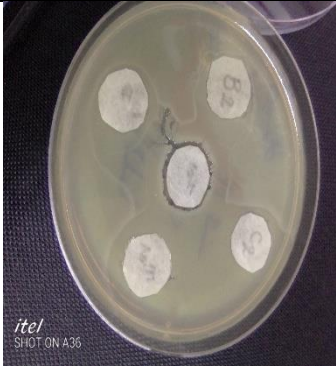
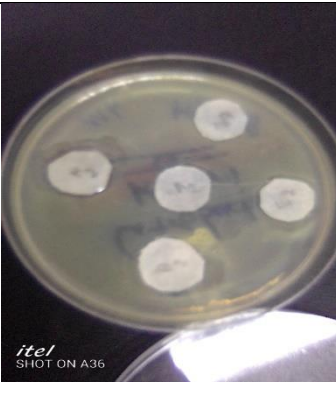
L'activité antibactérienne de l'HE et des extraits de *Myrtus communis* L. et *Mentha pulegium* L. ont été déterminées par la méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé sur des bactéries, prélevées de différentes personnes.

Le pouvoir antibactérien des HEs et des extraits de *Myrtus communis* L. et *Mentha pulegium* L. a été étudié *in vitro* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, (Mueller-Hinton).



L'activité antibactérienne des HEs et des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les échantillons à tester vis-à-vis de cinq (5) germes pathogènes ; un de gram + (*Staphylococcus aureus*) et quatre de gram - (*Escherichia coli*, *Citrobacter Kozen*, *Acinotobacter baumannii* et *Klebseille Pneumoniae SPP*). Chaque halo, une zone claire autour des disques, montre la destruction des germes pathogènes et donne une indication précise de l'activité antibactérienne des HEs.

Les résultats trouvés sont représentés dans les tableaux et les figures ci-dessous.


**Tableau IV.10 :** Résultats du test antibactérien des quatre extraits et de l'HE de l'espèce *Myrtus communis*.

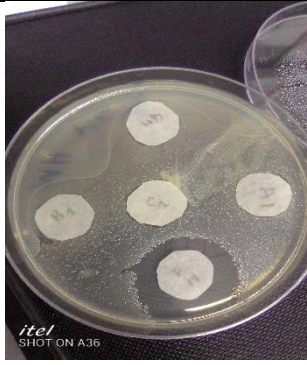
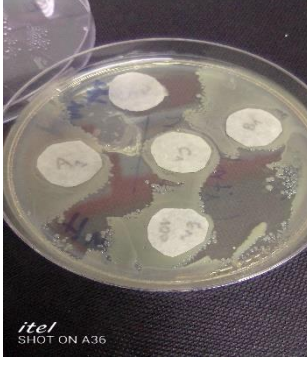
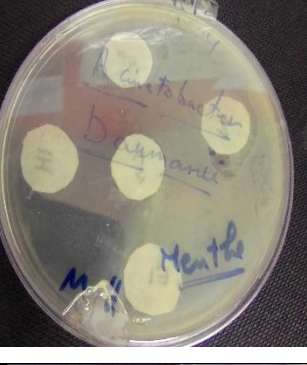

La souche	Extraits / huiles	La concentration (µl/disque)	Zone inhibition (mm)	Aromatogramme
<b>Staphylococcus aureus</b>	Ether de pétrole	200	Inactive	
	Chloroforme	200	Inactive	
	Acétate d'éthyle	35	Inactive	
	n-butanol	200	Inactive	
	Huiles		Inactive	
<b>Escherichia coli</b>	Ether de pétrole	200	Inactive	
	Chloroforme	200	Inactive	
	Acétate d'éthyle	35	Inactive	
	n-butanol	200	Inactive	
	Huiles		Inactive	
<b>Citrobacter Kozen</b>	Ether de pétrole	200	Inactive	
	Chloroforme	200	Inactive	
	Acétate d'éthyle	35	Inactive	
	n-butanol	200	Inactive	
	Huiles		18.61	

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

<b>Acinetobacter baumannii</b>	Ether de pétrole	200	Inactive	
	Chloroforme	200	Inactive	
	Acétate d'éthyle	35	Inactive	
	n-butanol	200	Inactive	
	Huiles	29.85		
<b>Klebsielle Pneumoniae SPP</b>	Ether de pétrole	200	Inactive	
	Chloroforme	200	Inactive	
	Acétate d'éthyle	35	Inactive	
	n-butanol	200	Inactive	
	Huiles	Inactive		

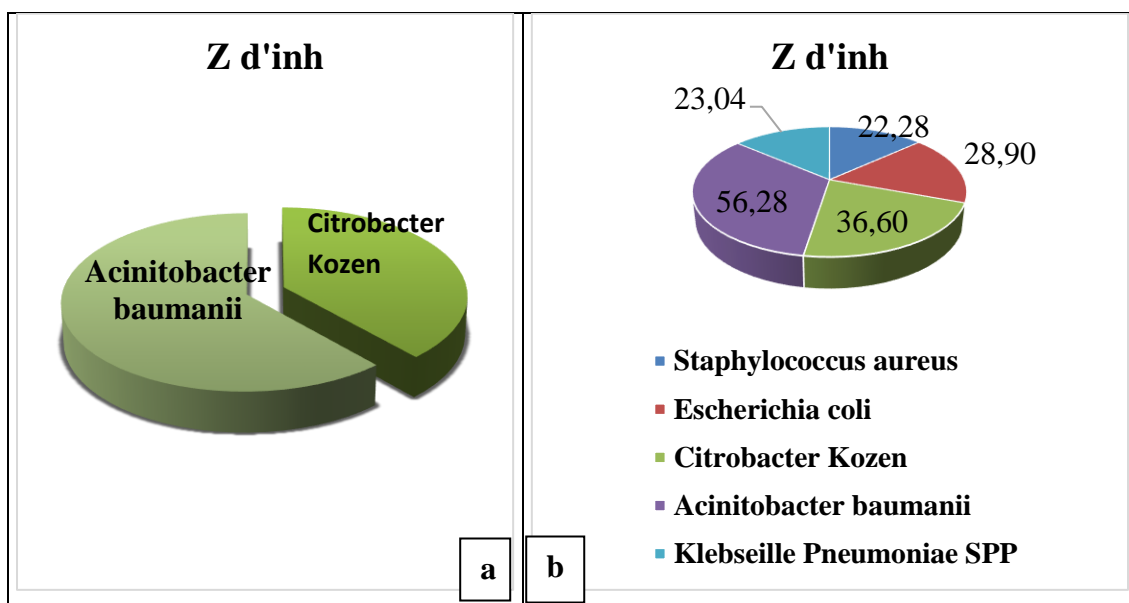
**Tableau IV.11** : Résultats du test anti bactérien des quatre extraits et de l'HE de l'espèce *Mentha pulegium*.

La souche	Extraits / huiles	La concentration (µl/disque)	Zone inhibition (mm)	Aromatogramme
<b>Staphylococcus aureus</b>	Ether de pétrole	200	Inactive	
	Chloroforme	200	Inactive	
	Acétate d'éthyle	35	Inactive	
	n-butanol	200	Inactive	
	Huiles	22.28		

<b>Escherichia coli</b>	Ether de pétrole	200	Inactive	
	Chloroforme	200	Inactive	
	Acétate d'éthyle	35	Inactive	
	n-butanol	200	Inactive	
	Huiles		28.90	
<b>Citrobacter Kozen</b>	Ether de pétrole	200	Inactive	
	Chloroforme	200	Inactive	
	Acétate d'éthyle	35	Inactive	
	n-butanol	200	Inactive	
	Huiles		36.60	
<b>Acinitobacter baumanii</b>	Ether de pétrole	200	Inactive	
	Chloroforme	200	Inactive	
	Acétate d'éthyle	35	Inactive	
	n-butanol	200	Inactive	
	Huiles		56.28	
<b>Klebseille Pneumoniae SPP</b>	Ether de pétrole	200	Inactive	
	Chloroforme	200	Inactive	
	Acétate d'éthyle	35	Inactive	
	n-butanol	200	Inactive	
	Huiles		23.04	

**Tableau IV.12 :** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentiel avec la méthode de l'aromatogramme <sup>[14]</sup>.

<b>Diamètre des zones d'inhibition</b>	< 8 mm	8 – 13 mm	> 14 mm
<b>Activité de l'HE</b>	Inactive	Activité intermédiaire	Activité supérieure



**Figure IV.15 :** Résultats du test antibactérien des deux HEs *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*.

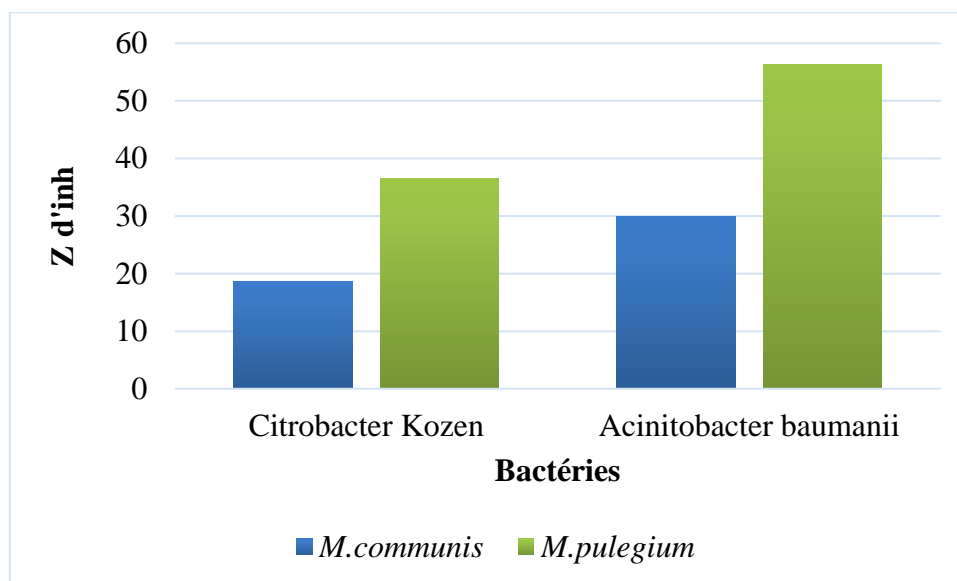
A : activité antibactérienne de l'HE *Myrtus communis*.

B : activité antibactérienne de l'HE *Mentha pulegium*.

D'après les résultats montrés dans le tableau IV.10, on constate que l'huile essentielle de *Myrtus communis* montre une activité antibactérienne supérieure contre *Citrobacter Kozen* et *Acinetobacter baumannii* avec une zone d'inhibition de 18.61 mm et 29.85mm respectivement, par contre aucune activité n'a été observée contre les souches *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsielle Pneumoniae SPP*.

Pareillement, on constate que l'huile essentielle de *Mentha pulegium* montre une activité antibactérienne supérieure contre toutes les souches bactériennes testées. Le diamètre des zones d'inhibition 22.28-28.90-36.60-56.28et23.04 mm respectivement vis-à-vis *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Citrobacter Kozen*, *Acinetobacter baumannii* et *Klebsielle Pneumoniae SPP* (tableau IV.11).

Les extraits éther de pétrole, chloroformique, n-butanol à des concentrations 200µg/ml et l'extrait acétate d'éthyle à une concentration de 35 µg/ml des deux espèces, ne montrent aucune activité anti bactérienne contre toutes les souches testées. On peut dire que les souches bactériennes possèdent un potentiel de résistance très élevé contre l'action anti bactérienne des quatre extraits.



**Figure IV.16 :** Zone d'inhibition antibactérienne des deux HEs *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*.



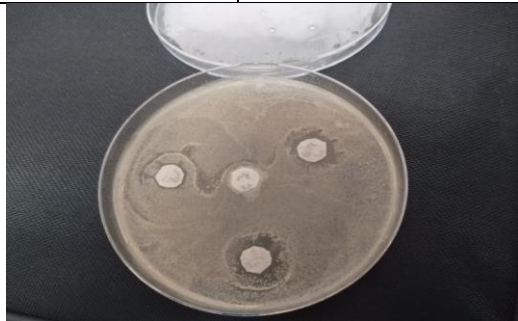

D'après les résultats de la figure IV.16 les deux HEs ont une sensibilité antibactérienne contre les deux bactéries *Citrobacter Kozen* et *Acinetobacter baumannii*, avec des zones d'inhibitions différentes 18.61 mm et 29.85 mm respectivement de *Myrtus communis*, et 36.60 et 56.28 mm respectivement de *Mentha pulegium*. Donc elle est claire que l'HE de *Mentha pulegium* a une activité anti bactérienne plus forte qu'HE de *Myrtus communis*.

### III.2.3.3. L'activité antifongique

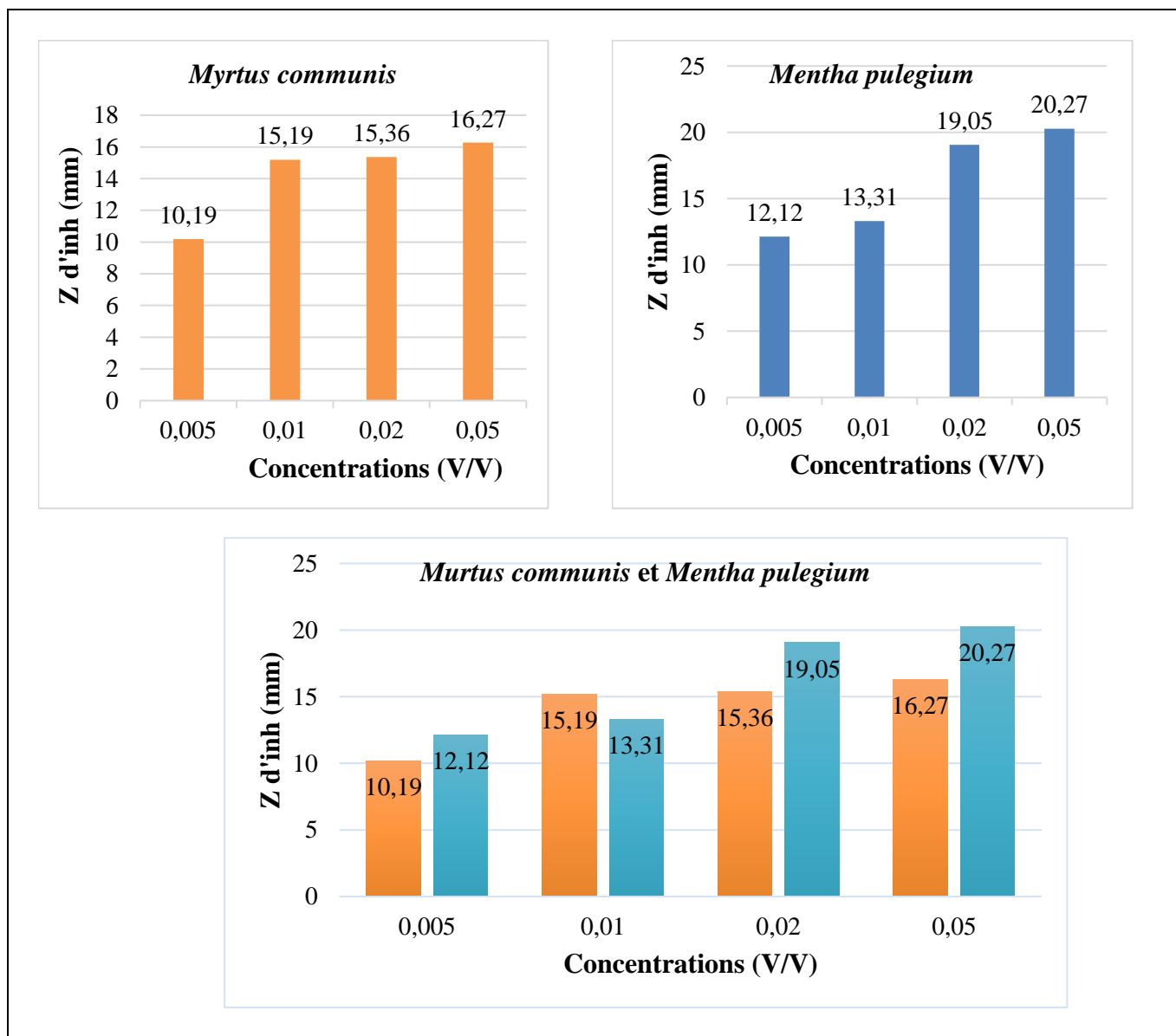
Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employé comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire.

L'activité antifongique des huiles essentielle étudiée a été déterminée par la méthode de diffusion sur disques, basée sur l'inhibition de la croissance mycélienne de disques de champignons déposés au centre des deux milieux gélosés (sabouraud) et (Mueller-Hinton) additionnés de différentes concentrations en huiles essentielles (20-50-100-200). Les résultats de l'activité antifongique de l'huile essentielle vis-à-vis la souche *candida albicans* sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV.13 : Résultats du test antifongique d'huile essentielle de *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*.

Milieu	HE	C (V/V)	Z d'inh	Aromatogramme
Sabouraud	<i>Myrtus communis</i>	0.05	Inactive	
		0.02		
0.01				
0.005				
	<i>Mentha Pulegium</i>	0.05	Inactive	
		0.02		
0.01				
0.005				
Mueller-Hinton	<i>Myrtus communis</i>	0.05	16.27	
		0.02	15.36	
0.01		15.16		
0.005		10.19		
	<i>Mentha pulegium</i>	0.05	20.27	
		0.02	19.05	
0.01		13.31		
0.005		12.12		





**Figure IV.17 :** Activité antifongique des deux extraits phénoliques de *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*.

Les résultats de l'activité antifongique de l'HE de *Myrtus communis* et *Mentha pulegium* présentent dans le tableau IV.13 ne montrent aucune activité anti fongique contre la souche *candida albicans* dans le milieu sabouraud testée. D'ailleurs, elles montrent cette activité contre la souche *candida albicans* dans le milieu Muller-Hinton.

Les diamètres d'inhibition de la souche champignon sont 10.19-15.19-15.36 et 16.27 mm de *Myrtus communis* et 12.12-13.31-19.05-20.27 mm pour *Mentha*

## Chapitre IV : Résultats et Discussion

*pulegium* respectivement vis-à-vis les concentrations 20-50-100-200  $\mu\text{L}/\mu\text{L}$ . On constate que l'activité antifongique de l'huile essentielle des deux espèces elle est plus forte avec les concentrations les plus élevée. Ces résultats elles sont représentées dans les figures a et b.

D'après les résultats dans la figure IV.17 elle est claire que l'huile essentielle de *Mentha pulegium* il a plus d'activité antifongique que l'huiles essentielles de *Myrtus communis*.

### Références bibliographiques

- [1] Berka-Zougali, B., Ferhat, M.A., Hassani, A., Chemat, F., & Allaf K.S., (2012). Comparative Study of Essential Oils Extracted from Algerian *Myrtus communis* L. Leaves Using Microwaves and Hydrodistillation. *International Journal of Molecular Sciences*, 13: 4673-4695.
- [2] 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.
- [3] Lahrech, N., (2006). PFE. Université de Djelfa, p: 111.
- [4] Belghazi, L., Lahlou, N., Alaoui, I. M., Aboussaouira, T., Habti, N., Tantaoui, I.A., ... & Fellat, K., (2002). Extraction et analyse par chromatographie en phases gazeuse de l'huile essentielle de la Menthe pouliot test antifongique. *Biochimie et Santé*, 40-38.
- [5] N'Guessan, J.D., Zirihi, G.N, Kra, A.K.M., Kouakou, K., Djaman, A.J., Guede-guina, F., (2007). Free radical scavenging activity, flavonoid and phenolic contents of selected Ivoirian plants. *International Journal of Natural and Applied Sciences*, 4: 425-429.
- [6] Morel, S., Arnould, S., Vitou, M., Boudard, F., Guzman, C., Poucheret, P., Fons, F., Rapior, S., (2018). Antiproliferative and antioxidant activities of wild Boletales mushrooms from France. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 20(1): 13-29.
- [7] Gulcin, I., Huyut, Z., Elmastas, M., Aboul-Enein, H.Y., (2010). Radical scavenging and antioxidant activity of tannic acid. *Arabian Journal of Chemistry*, 3: 43-53.
- [8] Corrêa, W.R, Serain, A.F, Aranha Netto, L., Marinko, J.V.N., Arena, A.C., Figueiredo de Santana Aquino, D., ...& Salvador, M.J., (2018). Antiinflammatory and antioxidant properties of the extract, tiliroside, and patuletin 3- O-β-D-Glucopyranoside from *Pfaffia townsendii* (*Amaranthaceae*). *Evidencebased Complementary and Alternative Medicine*, 6057579.

- [9] **Eva, B.M., Maša, K.H., Mojca, Š., Željko, K., Urban, B.,** (2016). Polyphenols: Extraction methods, Antioxidative action, Bioavailability and Anticarcinogenic effects. *Molecules*, 21: 901.
- [10] **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N.,** (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chem*, 97: 654-660.
- [11] **Wong, C.C., Li, H.B., Cheng, K.W., Chen, F.A.,** (2006). Systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chem*, 97: 705-711.
- [12] **Turkmen, N., Velioglu, Y.S., Sari, F., Polat, G.,** (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. *Molecules*, 12: 484-496.
- [13] **Wojdylo, A., Oszmianski, J., Czemerys, R.,** (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.*, 105: 940-949.
- [14] **Basaran, D., et Ahmet, G.,** (2004). Antimicrobial activity of certain plants used in Turkish traditional medicine. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3 (1) : 104-107.

## **Conclusion et Perspectives**

### Conclusion et perspectives

Dans ce travail, il est effectué une étude phytochimique sur les différentes familles des composés existants dans les extraits des feuilles de deux plantes : *Myrtus communis* et *Mentha pulegium*. En premier temps, ces deux plantes sont soumises, à une extraction des huiles essentielles par deux méthodes différentes : hydrodistillation et soxhlet. Deux buts ont été envisagés dans cette étape : observer l'impact du procédé d'extraction tant sur la quantité huiles essentielles présents dans les deux plantes que sur leur qualité de ces huiles. Cette étude a révélé l'importance du choix de la méthode d'extraction. En effet, l'hydrodistillation était, dans le présent travail, la meilleure méthode d'extraction des huiles essentielles pour avoir des huiles de qualité.

Dans un deuxième temps, cette étude est focalisée sur l'extraction et l'analyse des métabolites secondaires par la méthode de macération. D'abord, un screening phytochimique, en tant qu'analyse qualitative, a mis en évidence la richesse de ces plantes en métabolites secondaires. La détermination des grands groupes chimiques de ces extraits effectuée contribue à leurs valorisations dans le dessein d'une meilleure exploitation des plantes. Nous avons déterminé quantitativement, dans un premier temps, la teneur en phénols totaux et en flavonoïdes dans les extraits hydrométhanolique obtenus par une simple macération. Ensuite, l'étude de l'activité antioxydante des extraits issus des feuilles de ces plantes selon la méthode de DPPH montre que les extraits acétate d'éthyle et n-butanol de chaque plante possèdent des activités antioxydantes appréciables. Par ailleurs les activités antioxydantes de ces différents extraits sont en grande partie liées aux phénols totaux. et D'autre part, l'activité antibactérienne des extraits bruts et des huiles essentielles est évaluée par la méthode des disques contre les cinq souches bactériennes suivantes : *Klebseille Pneumoniae SPP*, *Acinitobacter baumanii*, *Citrobacter Kozen*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*. Les huiles essentielles de ces deux plantes ont montré une bonne activité antibactérienne contrairement aux extraits. Enfin l'activité antifongique a été évaluée en testant sur *candida albicans* que les HEs de ces plantes possèdent un pouvoir antifongique.

Les résultats obtenus sont très encourageants et prometteurs tant sur le plan d'activité antioxydante que sur le plan d'activité antibactérienne et antifongique.

Nous pouvons envisager, pour les extraits et les huiles essentielles, l'évaluation *in vivo* de ses activités et même d'autres activités biologiques.

## **Conclusion et Perspectives**

Des travaux complémentaires sont alors nécessaires pour isoler et identifier les substances bioactives responsables des activités testées.

## **Annexes**

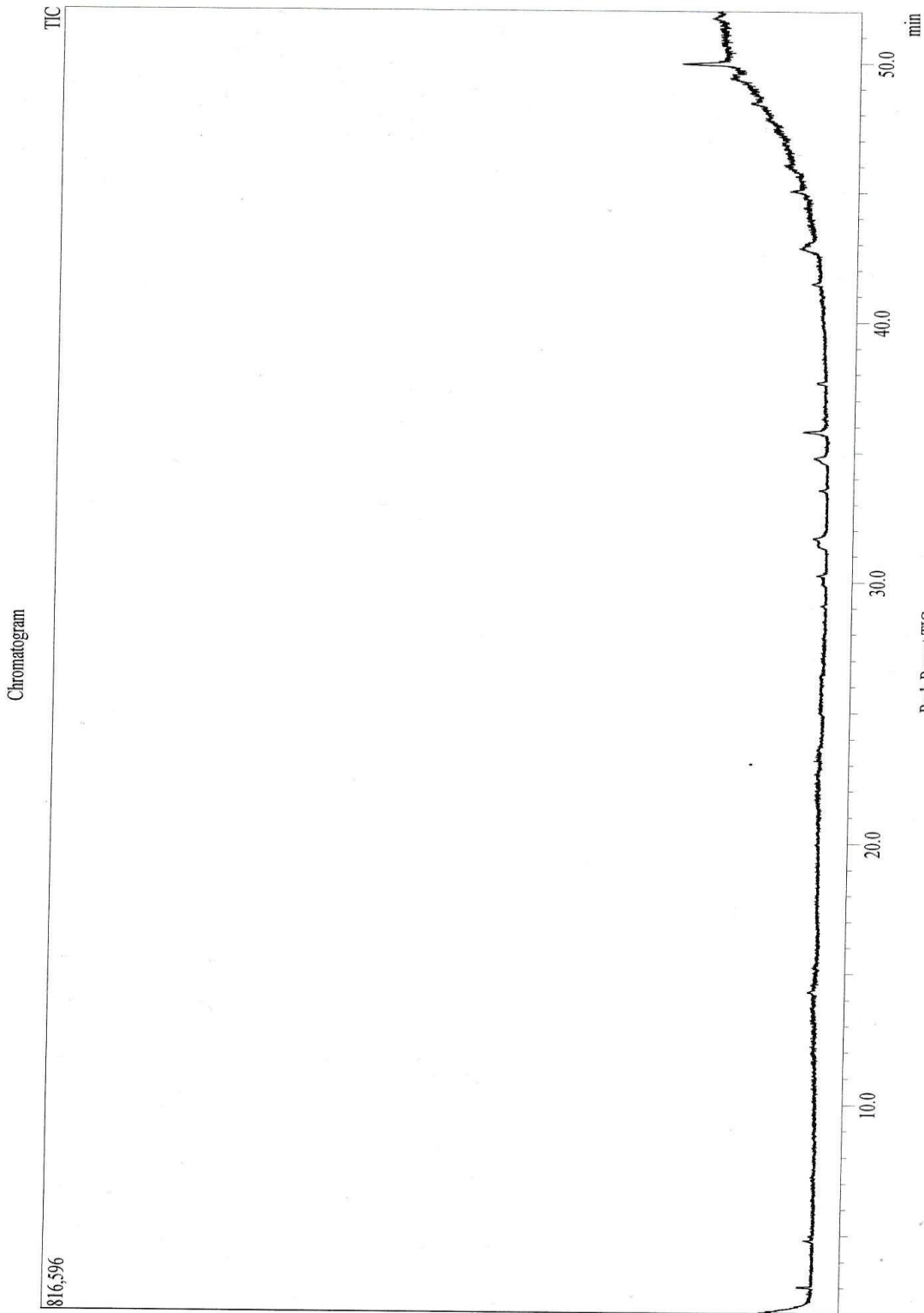


UNIV. JIJEL F.S.N.V Analysed by DESDOUS-R

D:\DATA\ITP 2021\PG Lahouel Asextr Myrt.qgd

17/05/2021

### Annexe 1



Peak Report TIC

Peak#	R. Time	Area	Area%	Height	Height%	Name	Base m/z
		0	0.00	0	0.00		

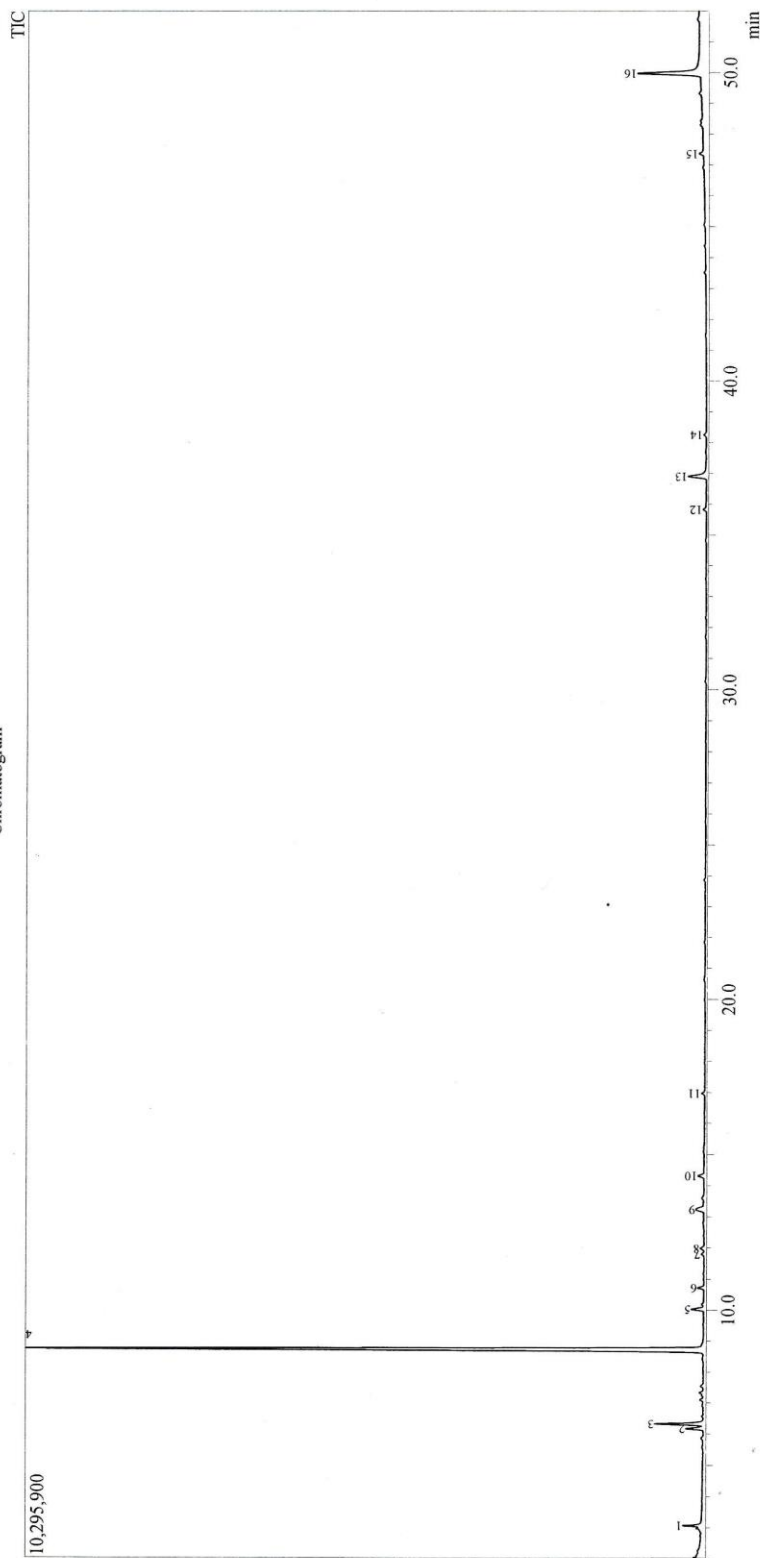
Annexe 2

UNIV. JIJEL F.S.N.V. Analysed by DESDOUS-R

D:\DATA\TP 2021\PG Lahouel Aslextr Menth P.qgd

25/05/2021

Chromatogram



Peak Report TIC

Peak#	R. Time	Area	Area%	Height	Height%	Name	Base m/z
1	3.071	713058	1.18	235367	1.75	3-Octanol	59.00
2	6.173	1012613	1.68	258236	1.92	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, trans-	112.00
3	6.317	2738644	4.34	714406	5.32	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)-	71.05
4	8.729	43656861	72.38	10232103	76.21	Pulegone	81.05
5	10.028	795859	1.32	179719	1.34	Cyclohexene, 1-(1,1-dimethylethoxy)-6-methyl-	112.05
6	10.713	399223	0.66	90361	0.67	5,5,6-Trimethylhept-3-en-2-one	112.05
7	11.800	143287	0.24	36381	0.27	1-Cyclohexanone, 2-methyl-2-(3-methyl-2-oxobutyl)	153.05
8	11.978	241355	0.40	53432	0.40	Caryophyllene	133.05
9	13.233	864675	1.43	120077	0.89	Cyclohexane, 4-methyl-2-methylene-1-(1-methylethylidene)-	150.05
10	14.315	447911	0.74	88372	0.66	1,6-Cyclodecadiene, 1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-, [s-(E,E)]-	161.05
11	16.967	187373	0.31	43876	0.33	1-Pentadecanol	55.00
12	35.817	215470	0.36	45213	0.34	6-Octadecenoic acid, methyl ester	55.00
13	36.901	1882835	3.12	275815	2.05	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	71.05
14	38.252	177968	0.30	37048	0.28	3-Hepadecen-5-yne, (Z)-	79.05
15	47.352	374266	0.62	63982	0.48	Phenol, 4,4'-isopropylidenedi-	212.90
16	49.970	6461702	10.71	952080	7.09	1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl) ester	148.95

UNIV. JIJEL F.S.N.V Analysed by DESDOUS-R

D:\DATA\TP 2021\PG Lahouel As\extr Menth P.qgd

25/05/2021

Peak#	R. Time	Area	Area%	Height	Height%	Name	Base m/z
		60313100	100.00	13426468	100.00		

## Abstract

### **Chemical and biological study of essential oils and secondary metabolites of two medicinal plants: *Myrtus communis* and *Mentha pulegium***

This work is a contribution to the enhancement of the two species: *Myrtus communis* L. and *Mentha pulegium* L. from the Jijel region. Those two plants were the subject study for determination of their phytochemical composition, content of total phenols, flavonoids and essential oils, antioxidant activity, antibacterial activity and antifungal activity. The phytochemical composition was carried out by colorimetric and precipitation reactions. The total phenol content was determined by Folin-Ciocalteu reagent and total flavonoids by  $AlCl_3$ . Antioxidant activity was evaluated by DPPH. Antibacterial activity was assessed by the disk diffusion method as well as antifungal activity. The results obtained showed that both plants contain large chemical groups, such as flavonoids, tannins and saponosides. The extracts have an appreciable antioxidant power and the essential oils have an important antibacterial and antifungal activity.

**Keywords:** *Mentha pulegium* L.; *Myrtus communis* L.; phytochemical composition; antioxidant activity; DPPH; total phenols, antibacterial activity, antifungal activity;

## RÉSUMÉ

### **Etude chimique et biologique des huiles essentielles et des métabolites secondaires de deux plantes médicinales : *Myrtus communis* et *Mentha pulegium***

Ce travail est une contribution à la valorisation des deux espèces : *Myrtus communis* L. et *Mentha pulegium* L. de la région de Jijel. L'objectif de ce travail est de déterminer de leur composition phytochimique, teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et d'évaluer leurs activités en huiles essentielles, l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne et l'activité antifongique. Le tri phytochimique a été réalisé grâce aux réactions de colorimétrie et précipitation. La teneur en phénols totaux a été déterminée grâce au réactif du Folin-Ciocalteu et celle des flavonoïdes par  $AlCl_3$ . L'activité antioxydante a été évaluée par les méthodes de DPPH. L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque ainsi que la l'activité antifongique. Les résultats obtenus ont montré que les deux plantes contiennent des grands groupes chimiques, tels que les flavonoïdes, tanins et saponosides. Les extraits ont un pouvoir antioxydant appréciable et les huiles essentielles ont une activité antibactérienne et antifongique importante.

**Mots clés :** *Mentha pulegium* L. ; *Myrtus communis* L. ; composition phytochimique ; activité antioxydante ; DPPH ; phénols totaux, activité antibactérienne, activité antifongique ;