

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**Université Mohamed Seddik BEN-YAHIA-JIJEL
Faculté de Sciences Exactes et Informatique
Département de Chimie**



Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme
De Master en Chimie organique

Présenté par :

Boumize Meryem & Hamouda Imane

Thème

**Extraction des huiles essentielles, détermination de
la composition chimique et réalisation des tests
d'activité biologique à partir d'une plante
médicinale de la wilaya de Jijel**

Soutenu le : 03/07/2022

Devant les membres du jury :

Mm. BOUCHAIR Nabila	MCB	Président
Dr. BOUDJERDA Azzedine	Pr	Encadreur
Mm. KEMEL Meriem	MAA	Examineur

Année universitaire 2021/2022



Remerciement

Nous remercions Allah, le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la patience et la santé durant toutes ces longues années d'études et de terminer ce mémoire

Premièrement, nous remercions notre cher professeur, Monsieur Boudjerda Azzedine pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, Nous tenons particulièrement à remercier Mm. Bounar Haníya pour leur aide et pour sa compréhension, ses Encouragements, ses conseil effectifs, pour ce travail

Un grand merci à tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'autres, de près Ou de loin à la réalisation de ce mémoire de fin d'étude, Sans oublier nos collègues d'études et particulièrement notre promotion

(Promo de 2022).

Merci à tous

Dédicaces

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

Ce projet de fin d'étude est dédié à :

A ma famille spécialement aux personnes les plus

Chères au monde :

*Mon père **Moad** et ma mère **Souad***

Pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect des sacrifices.

A mon frère et ma sœur

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

A mon binôme : Meryem

Enfin, à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

Imane

Dédicaces

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 Foudil, que Dieu lui fasse miséricorde ... J'espère que son âme repose en paix et qu'il me regarde avec fierté je te dois le meilleur de moi-même.

A ma mère Malika, 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 ma Sœur, tous mes frères mais beaucoup plus Moussab, Hamza 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 Mme 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 Imane

A mes belles amies Rayane, Madjeda, Sara qui m'a toujours encouragé durant mes études merci d'avoir toujours été là.

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....

Meryem

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I: LA PHYTOTHERAPIE ET LES PLANTES MEDICINALES.....	3
I.1 DEVELOPPEMENT DE LA PHYTOTHERAPIE.....	3
I.1.1 Introduction.....	3
I.1.2 Définition.....	3
I.1.3 Différent type de la phytothérapie.....	4
I.1.3.1 Aromathérapie.....	4
I.1.3.2 Gemmothérapie.....	4
I.1.3.3 Herboristerie.....	4
I.1.3.4 Homéopathie.....	4
I.1.3.5 Phytothérapie pharmaceutique.....	4
I.1.4 Les avantages de la phytothérapie.....	4
I.2 LES PLANTES MEDICINALES.....	5
I.2.1 Introduction.....	5
I.2.2 Généralité.....	5
I.2.3 Domaine d'application des plantes médicinales.....	6
I.2.3.1 Utilisation en cosmétique.....	6
I.2.3.2 Utilisation en alimentation.....	6
I.2.3.3 Utilisation en médecine.....	6
CHAPITRE II: LES METABOLITES SECONDAIRE.....	7
II.1 INTRODUCTION.....	7
II.2 LES HUILES ESSENTIELLES.....	7
II.2.1 Historique.....	7
II.2.2 Définition.....	8
II.2.3 Localisation des huiles essentielles.....	8
II.2.4 Composition chimique des huiles essentielles.....	8
II.2.5 Propriétés physico-chimique des huiles essentielles.....	9
II.2.6 Domaine d'utilisation des huiles essentielles.....	9
II.2.6.1 Cosmétologie et parfumerie.....	9
II.2.6.2 Pharmacie.....	10
II.2.6.3 Alimentation.....	10

II.2.7 Toxicité des huiles essentielles	10
II.2.8 Conservation des huiles essentielles	11
II.2.9 Extraction des huiles essentielles.....	11
II.2.9.1 Introduction.....	11
II.2.9.2 Méthodes d'extraction des huiles essentielles	11
• Hydrodiffusion.....	11
• Expression à froid.....	11
• Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	12
• Extraction par hydrodistillation	12
• Extraction assistée par micro-onde	13
• Extraction par fluide supercritique	14
II.3 STRUCTURE CHIMIQUE DE QUELQUES METABOLITES SECONDAIRES	15
II.3.1 Les terpènes	15
➤ Définition	
➤ Classification.....	15
II.3.1.1 Les monoterpènes.....	16
II.3.1.2 Les sesquiterpènes.....	17
II.3.1.3 Les diterpènes.....	17
II.3.1.4 Les triterpènes et les stéroïdes.....	18
II.3.1.5 Les tétraterpènes	18
II.3.1.6 Les plyterpènes	19
➤ Le rôle bioactif des terpènes.....	19
II.3.2 Les flavonoïdes	19
➤ Définition	
➤ Classification.....	20
II.3.2.1 Flavones et flavonols.....	21
II.3.2.2 Chalcones.....	23
II.3.2.3 Anthocyanines et anthocyanidines.....	23
➤ Le rôle des anthocyanidines	23
➤ Le rôle bioactif des flavonoïdes	24
➤ Pharmacocinétique des flavonoïdes	24
➤ Activités biologique des flavonoïdes	25
II.3.3 Les alcaloïdes.....	26

II.3.3.1 Effet pharmacologique des alcaloïdes.....	27
II.3.4 Les tanins	27
II.3.4.1 Définition.....	27
II.3.4.2 Classification des tanins.....	28
➤ Les tanins condensés	28
➤ Les tanins hydrolysables	28
II.3.4.3 Le rôle des tanins.....	29
CHAPITRE III: PRESENTATION DE LA FAMILLE VERBENACEE	30
III.1 PRESENTATION DE LA FAMILLE VERBENACEE	30
III.1.1 Généralité	30
III.1.2 Quelques espèces de la famille Verbénacée	30
III.1.3 Variétés et espèces.....	32
III.1.4 Principaux pays producteur et exportateurs de la <i>Verbena officinalis</i>	33
III.2 <i>VERBENA OFFICINALIS</i>	33
III.2.1 Description butanique.....	33
III.2.2 Quelques espèces de <i>Verbena officinalis</i>	33
III.2.3 Systématique de <i>Verbena officinalis</i>	34
III.2.4 Utilisation traditionnelle	34
III.2.5 Mode préparation de l'infusé.....	34
CHAPITRE IV: ACTIVITE BIOLOGIQUE.....	35
IV.1 ACTIVITE ANTIOXYDANT	35
IV.1.1 Introduction	35
IV.1.2 Définition	35
IV.1.3 Le stress oxydant	35
IV.1.4 Radicaux libre	35
IV.1.5 Les antioxydants.....	35
IV.1.5.1 Définition.....	36
IV.1.5.2 Mécanisme d'action des antioxydants	36
➤ ANTIOXYDANT PRIMAIRE OU PIEGEURS DES RADICAUX LIBRES	36
➤ ANTIOXYDANT SECONDAIRES OU PREVENTIFS.....	36
IV.1.5.3 Utilisation des antioxydants.....	36
IV.2 METHODES D'EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANT	37

IV.2.1 Test au DPPH	37
IV.2.2 Test de la réduction du fer (FRAP)	38
IV.2.3 Test ABTS	38
CHAPITRE V: PARTIE EXPERIMENTALE	40
INTRODUCTION	40
V.1 ETUDE PHYTOCHIMIQUE DES METABOLITES SECONDAIRES	40
V.1.1 Matière végétale	40
V.1.1.1 Récolte de la plante	40
V.1.1.2 Extraction	40
V.1.1.3 Extraction liquide - liquide	40
V.1.1.4 Protocole d'extraction	40
V.2 METHODES CHROMATOGRAPHIQUE DE SEPARATION ET PURIFICATION	44
V.2.1 Chromatographie sur couche mince	44
V.2.1.1 Principe	44
V.2.1.2 Protocole de CCM sur gel de silice	44
V.2.1.3 Les essais de caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM) ..	44
V.3 L'ANALYSE DES EXTRAITS	44
V.3.1 L'analyse quantitative	44
V.3.1.1 Dosage des polyphénols totaux	44
➤ PRINCIPE	45
➤ MODE OPERATOIRE	45
➤ EXPRESSION DES RESULTATS	45
V.3.1.2 Dosage des flavonoïdes totaux	46
➤ PRINCIPE	46
➤ MODE OPERATOIRE	46
➤ EXPRESSION DES RESULTATS	46
V.3.2 L'analyse qualitative	47
V.3.2.1 Screening photochimiques	47
V.4 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE	48
V.4.1 Test de piégeage du radicale DPPH	48
V.4.1.1 Principe	48
V.4.1.2 Mode opératoire	48
V.4.2 Test de réduction de fer (FRAP)	50

V.4.2.1 Principe.....	50
V.4.2.2 Mode opératoire.....	50
V.4.3 Test de piégeage du radical ABTS ^{•+}	51
V.4.3.1 Principe.....	51
V.4.3.2 Mode opératoire.....	51
V.5 ETUDE CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES.....	52
V.5.1 Procédé d'extraction des huiles essentielles.....	52
V.5.2 Calcul du rendement.....	52
V.5.3 Analyse chromatographique de la composition chimique des huiles essentielles..	53
V.5.3.1 Principe.....	53
V.5.3.2 Condition opératoire.....	53
CHAPITRE VI: RESULTATS ET DISCUSSION	54
VI.1 EXTRACTION LIQUIDE- LIQUIDE.....	54
VI.1.1 Le rendement des extraits des trois phases.....	54
VI.1.2 Résultats de la CCM de l'extrait CHCl ₃ et d'AcOEt et n-butanol.....	55
VI.2 L'ANALYSE DES EXTRAITS.....	56
VI.2.1 L'analyse quantitative.....	56
VI.2.1.1 Teneur en polyphénols.....	56
VI.2.1.2 Teneur en flavonoïdes.....	58
VI.2.2 L'analyse qualitative.....	59
VI.2.2.1 Screening phytochimique.....	59
VI.2.3 L'activité antioxydant.....	61
VI.2.3.1 Evaluation de l'activité antioxydante par le test de piégeage du DPPH.....	61
VI.2.3.2 Evaluation de l'activité antioxydant au test de piégeage du FRAP.....	63
VI.2.3.3 Evaluation de l'activité antioxydant au test de piégeage d'ABTS ^{•+}	65
VI.3 LES HUILES ESSENTIELLES.....	67
VI.3.1 Rendement des huiles essentielles.....	67
VI.3.2 Evaluation des composants chimiques des huiles essentielles de l'espèce <i>Verbena officinalis</i> par CG-MS.....	68
CONCLUSION GENERALE.....	77
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE :.....	78

LISTE DES ABREVIATIONS

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

AcOEt : Acétate d'éthyle

ABTS : 2,2-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

CHCl₃: Chloroforme

CCM : Chromatographie sur couche mince

CG-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse

CPG ou CG : Chromatographie en phase gazeuse

CO₂ : Dioxyde de carbone

°C : Degré celcius

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EXS : Extrait sec

EQ : Equivalent de quercetine

EAG : Equivalant d'acide gallique

HE : Huile essentielle

EAG : Extrait acide gallique

EQ : Extrait quercitrine

EOA : Espèces Oxygénées activées

FeCl₃: Chlorure ferrique

FRAP : Ferricreducing-antioxidant power

HgCl₂ : Dichlorure de mercure

HCl : Acide chlorhydrique

Ir : Indice de rétention

IC₅₀ : Concentration nécessaire pour l'obtention de 50% de forme réduite du radical

g : Gramme

K₃Fe(CN)₆ : Ferricyanure de potassium

K₂S₂O₈ : Persulfate de potassium

KI : Iode de potassium

MeOH : Méthanol

m : Mètre

nm : Nanomètre

MeOH : Méthanol

ml : Millilitre

mg : Milligramme

n-BuOH : n-Butanol

NaCO₃ : Carbonate de sodium

Na₂CO₃ : Bicarbonates de sodium

NaOH : Hydroxyde de sodium

NH₄OH : Ammoniaque

OMS : Organisation mondiale de la santé

PI : Pourcentage d'inhibition

R : Rendement

SM : Spectrométrie de masse

μl : Microlitre

UV : Ultra-violet

μg: Microgramme

% : Pourcentage

λ : Longueur d'onde

LISTE DES FIGURES

Figure II.1 : Structure de β -caryophyllene	17
Figure II.2 : Quelques exemples des tétraterpènes	18
Figure II.3 : Quelques exemples des polyterpènes	19
Figure II.4 : Structure générale des flavonoïdes.....	20
Figure II.5 : Classification des flavonoïdes	20
Figure II.6 : Structure des flavanes.....	21
Figure II.7 : Structure des flavanones.....	21
Figure II.8 : Structure des flavonols	21
Figure II.9 : Structure des isoflavanes	22
Figure II.10 : Structure des isoflavanol	22
Figure II.11 : Structure des isoflavanone	22
Figure II.12 : Structure des isoflavone	22
Figure II.13 : Structure de Chalcones	23
Figure II.14 : Structure des anthocyanidines	23
Figure II.15 : Structure des tanins condensés	28
Figure II.16 : Structure de l'acide gallique.....	29
Figure II.17 : Structure de l'acide ellagique	29
Figure III.1 : Photographie des fleurs et feuilles de <i>Verbena officinalis</i>	33
Figure IV.1 : Structure chimique du radical DPPH [•] et de sa forme réduite.....	38
Figure IV.2 : Formation du radical cation ABTS ^{•+} à partir de l'ABTS.	39
Figure V.1 : Macération de plante	41
Figure V.2 : La filtration à l'aide du papier filtre.....	41
Figure V.3 : Evaporation des trois phases	42
Figure V.4 : Extraction par solvant (décantation)	42
Figure V.5 : Protocole d'extraction des métabolites secondaires.....	43
Figure V.6 : Protocole de dosage des composés phénoliques	45
Figure V.7 : Protocole de dosage des composés des flavonoïdes	46
Figure V.8 : Forme réduite du radical DPPH	48
Figure V.9 : Protocole d'étude de l'activité antiradicalaire	49
Figure V.10 : Test d'activité antioxydant par la réduction du radical DPPH.....	50
Figure V.11 : Coloration bleu cyanée de la réduction de fer.....	50
Figure V.12 : Coloration bleu-vert d'ABTS.....	51

Figure V.13 : Protocole d'étude de l'activité antiradicalaire.....	52
Figure VI.1 : Histogramme représentatif du rendement des trois extraits.....	55
Figure VI.2 : Résultats de la CCM des trois phases	56
Figure VI.3 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	57
Figure VI.4: Teneur en polyphénols des extraits ; CHCl ₃ ; AcOEt et n-BuOH.....	57
Figure VI.5 : Courbe d'étalonnage de la quercétine	58
Figure VI.6 : Teneur en flavonoïdes des extraits	59
Figure VI.7 : Représentations graphique des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH en fonction des concentrations	62
Figure VI.8 : Représentations graphiques des absorbances du radical FRAP en fonction des concentrations.....	64
Figure VI.9 : Absorbance des extraits à concentration 10µg/ml	65
Figure VI.10 : Représentations graphiques des pourcentages d'inhibitions du radical ABTS ^{•+} en fonction des concentrations	66
Figure VI.11 : Chromatogramme de CPG des HE de l'espèce <i>Verbena officinalis</i>	68
Figure VI.12 : Familles des composés identifiés de l'espèce <i>Verbena officinalis</i>	76
Figure VI.13 : Représentation graphique des composés les plus majoritaires des HE de l'espèce <i>Verbena officinalis</i>	76

LISTE DES TABLEAUX

Tableau II-1 : Classification des terpènes	15
Tableau II-2 : Quelques exemples des monoterpènes	16
Tableau II-3 : Quelques exemples des diterpènes	17
Tableau II-4:Quelques exemples des triterpènes et les stéroïdes	18
Tableau II-5 : Quelques exemples des alcaloïdes	27
Tableau III-1 : Quelques espèces de la famille Verbénacées	30
Tableau III-2 : Variétés de <i>Verbena officinalis</i>	32
Tableau III-3 : Position systématique de l'espèce <i>Verbena officinalis</i>	34
Tableau VI-1 : Résultats obtenus des extraits	54
Tableau VI-2 : Résultats de la quantification spectrophotométrique des polyphénols totaux ...	57
Tableau VI-3 : Résultats de la quantification spectrophotométrique des flavonoïdes totaux	59
Tableau VI-4 : Criblage photochimique de <i>Verbena officinalis</i>	60
Tableau VI-5 : Activité antioxydante exprimée en IC ₅₀ des extraits de l'espèce <i>Verbena officinalis</i> et celui de l'acide ascorbique	62
Tableau VI-6 : Absorbance des composés à 10µg/ml	64
Tableau VI-7 : Activité antioxydant exprimée en IC ₅₀ des extraits de l'espèce <i>Verbena officinalis</i>	66
Tableau VI.8 : Composition chimique des huiles essentielles de l'espèce <i>Verbena officinalis</i> .	68

INTRODUCTION GENERALE

Bien que de nos jours la médecine moderne soit bien développée presque partout dans le monde, une proportion non négligeable de la population dans les pays en développement compte encore sur la médecine traditionnelle et les remèdes à base de plantes pour leurs soins de base. De même, l'intérêt du grand public dans les pays industrialisés pour les thérapies naturelles, notamment la phytothérapie, a considérablement augmenté [1].

Selon l'OMS, 80% de la population mondiale se soigne exclusivement avec des plantes médicinales, et leurs formes d'utilisation : poudre, extrait sec aqueux, teintures.....) [2].

Les plantes médicinales sont des plantes dont un des organes (écorce, feuille) plante possède des vertus curatives et parfois toxiques selon son dosage. Les plantes médicinales sont les plantes utilisées en phytothérapie pour leurs principes actifs .elles peuvent être vendues en herboristerie, en pharmacie, avec ou sans prescription selon la réglementation du pays [3].

En Algérie, La phytothérapie est très populaire. Elle gagne, de plus en plus, d'adeptes, comme partout dans le monde. Nombreux sont ceux qui croient à la grâce de la nature, pour guérir. En réalité la phytothérapie a toujours existé en Algérie [4].

Le but de notre travail consiste extraire les huiles essentielles de l'espèce verveine officinale ainsi que l'évaluation de la quantité de ces différents métabolites secondaires, et la réalisation des tests d'activité antioxydant sur les trois extraits obtenus (extrait chloroformique, acétate d'éthyle et n-butanolique). Notre travail est divisé en deux parties :

La première partie regroupe une recherche bibliographique, et quatre chapitres :

- Chapitre I : La phytothérapie et les plantes médicinales
- Chapitre II : Métabolites secondaires
- Chapitre III : Aperçus botanique sur le genre verveine officinale
- Chapitre IV : Activité antioxydant

La deuxième partie est réservée à la partie expérimentale, qui décrit la matière végétale, ensuite la séparation des métabolites secondaires, puis l'extraction des huiles essentielles, et enfin la réalisation des tests d'activité antioxydant. Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés, le manuscrit est achevé par une conclusion générale.

CHAPITRE I: LA PHYTOTHÉRAPIE ET LES PLANTES MÉDICINALES

I.1 Développement de la phytothérapie

I.1.1 Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme utilisé les plantes trouvées dans la nature pour traiter et soigner des maladies [5]. Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. C'est pour cela que l'industrie pharmaceutique se tourne vers la nature et a entrepris une vaste étude sur le terrain pour répertorier les plantes les plus prometteuses parce qu'il est nécessaire aujourd'hui, de valider l'usage traditionnel de ces plantes et d'évaluer scientifiquement leurs activités pharmacologiques retenues [6].

L'Algérie est reconnue par sa diversité en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané, ainsi que par l'utilisation populaire dans l'ensemble des terroirs du pays. Cependant, la flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% d'endémiques, reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique. Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique fondamental dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique appliqué dans le domaine de la valorisation des substances naturelles [7].

I.1.2 Définition

Étymologiquement, du grec « phyton » qui signifie plante et « therapein » qui signifie soigner. La phytothérapie est l'utilisation de plantes à des fins thérapeutiques. Ayant conjointement évoluée avec le développement scientifique et industriel, la phytothérapie revêt désormais des pratiques variées [8]. La phytothérapie correspond à l'utilisation des plantes dans le but de traiter ou prévenir les maladies. Sont utilisées les feuilles, fleurs et sommités fleuries, racines ou plantes entières. Peuvent être utilisées des plantes spontanées ou cultivées mais les conditions réglementaires de culture propre doivent être exigées [9].

I.1.3 Différent type de la phytothérapie

I.1.3.1 Aromathérapie

Est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes

I.1.3.2 Gemmothérapie

Se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules

I.1.3.3 Herboristerie

Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération.

I.1.3.4 Homéopathie

A recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale

I.1.3.5 Phytothérapie pharmaceutique

Utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats [10].

I.1.4 Les avantages de la phytothérapie

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes (toux...) ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves), décroît :

les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus [11].

- Expérimentalement, les plantes et leurs extraits peuvent améliorer la glycémie en agissant sur la vidange gastrique, l'absorption du glucose, l'insulino-sensibilité, et même l'insulino-sécrétion [12].

- Les maladies les plus graves, le cancer, la sclérose qui sont soignées de façon très difficile, mais grâce la phytothérapie qui est une alternative importante peut amener un confort dans le traitement classique de ces maladies graves [13].

I.2 Les plantes médicinales

I.2.1 Introduction

Une plante médicinale désigne une plante ou une partie d'une plante possédant des propriétés médicamenteuses par l'action synergique de ses composés actifs sans avoir des effets nocifs aux doses recommandées. Les médicaments à base de plantes sont précisément définis par un nom scientifique selon le système binominal (genre, espèce variété et auteur. L'approche scientifique des plantes médicinales, avec les études pharmacologiques et toxicologiques, a permis de décrypter leur composition chimique, de mettre en évidence les effets thérapeutiques ou encore de déterminer les doses thérapeutiques ou toxiques de certaines plantes. A la différence d'un médicament chimique dont l'action est ciblée par la molécule de synthèse sur un site récepteur, les propriétés thérapeutiques d'une plante médicinale viennent de l'action synergique de l'ensemble de ses différents éléments, l'action de la phytothérapie dépend donc de la composition de la plante. Les plantes médicinales ont des effets curatifs et préventifs [14]. L'emploi de ces plantes est très valorisé dans toutes les traditions médicales, il y a deux cents ans encore les moyens thérapeutiques naturels étaient les seuls remèdes dont disposait l'humanité. Leur utilisation et leurs effets ont donc été minutieusement étudiés, documentés et développés [15].

I.2.2 Généralité

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine ; feuille, fleur [16]. Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des

propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents [17].

I.2.3 Domaine d'application des plantes médicinales

I.2.3.1 Utilisation en cosmétique

Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène... [18].

I.2.3.2 Utilisation en alimentation

Assaisonnement des boissons, des colorants et des composés aromatiques, les épices et les herbes aromatiques utilisés dans l'alimentation sont considérés comme condimentes et aromates [19].

I.2.3.3 Utilisation en médecine

Les plantes médicinales constituent le moyen le plus utilisé surtout en milieu rural pour résoudre les problèmes de santé publique. Selon l'OMS (2002), plus de 80 % de la population africaine à recours aux plantes pour ses besoins en soins de santé. En médecine vétérinaire aussi, la phytothérapie est largement sollicitée par les éleveurs traditionnels dans les zones de savanes [20].

CHAPITRE II: LES METABOLITES SECONDAIRE

II.1 Introduction

Les produits naturels sont les composés chimiques ou les substances qui sont isolés d'un organisme vivant. Il peut être sous forme de métabolites primaires ou secondaires [21].

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes autotrophes, [22] Ils représentent une variété très large de composés organiques sans fonctionner directement dans la croissance et développement des plantes [23]. Ils sont divisés principalement en deux catégories qui sont les substances non volatiles : alcaloïdes, anthocyanes, flavonoïdes, tannins connus pour leurs activités pharmacologiques ou leurs propriétés pigmentaires, et les substances volatiles : terpènes et composés aromatiques, qui constituent les huiles essentielles utilisées en parfumerie, aromathérapie, pharmacopée traditionnelle, pharmacie ou comme arômes alimentaires [24].

II.2 Les huiles essentielles

II.2.1 Historique

Les huiles essentielles sont extraites des plantes aromatiques et essentielles et utilisées depuis des millénaires pour plusieurs applications. Elles sont réputées pour leurs propriétés thérapeutiques, en particulier anti-infectieuses, souvent sous forme de produits non médicamenteux [25]. La première distillation des huiles essentielles est apparue en Orient (Inde et Perse) il y a plus de 2000 ans et a été améliorée au IX^e siècle par les Arabes. Néanmoins, le premier récit écrit authentique de la distillation d'huile essentielle est attribué à Villanova (vers 1235–1311), un médecin catalan, et seulement au 13^{ème} siècle, les huiles essentielles (HE) étaient fabriquées par des pharmacies et leurs effets pharmacologiques ont été décrits dans les pharmacopées. En revanche, leur utilisation ne semble avoir été ré en Europe qu'au XVI^e siècle, le terme « huile essentielle » a été utilisé pour la première fois par Paracelsus von Hohenheim, qui a nommé le composant efficace d'un médicament, « Quinta essential ». Au milieu du XX^e siècle, le rôle des huiles essentielles avait été réduit presque entièrement pour être utilisé dans les parfums, les cosmétiques et les arômes alimentaires: plutôt dans les préparations pharmaceutiques [26]. Depuis la neuvième édition (1972), la Pharmacopée n'utilise plus que le terme d'"huile essentielle". En octobre 1987, l'AFNOR

(Association Française de la Normalisation) propose une autre définition "Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, Soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques [27].

II.2.2 Définition

Les huiles essentielles (HE) sont des huiles tirées à base de plantes, avec un arôme propre à chacune d'elles. Ce sont des mélanges de substances aromatiques volatiles et odoriférantes qui sont présentes en faible quantité dans le végétal. Très aromatiques, très volatiles, elles passent instantanément de l'état liquide à l'état gazeux, aérien. Depuis fort longtemps, les HE sont connues et utilisées pour leurs parfums, leurs vertus cosmétiques et pour leurs propriétés thérapeutiques. Chaque huile possède des propriétés spécifiques liées aux différents composants qu'elle contient. Leur composition chimique est d'une grande complexité, ce qui les rend inimitables car chaque HE regroupe en réalité plusieurs substances aromatiques très élaborées et très différentes. On peut les recueillir dans toutes les parties de la plante (fleurs, fruits, graines, écorces, tiges, ou parfois dans la plante entière) [28]. Leur composition varie souvent selon les conditions climatiques et l'environnement. Ces huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison d'une part, de leurs activités anti-oxydantes, antibactériennes et antifongiques [29.30].

II.2.3 Localisation des huiles essentielles

A priori, toutes les plantes possèdent la faculté de produire des composés volatils mais seulement à l'état de traces le plus souvent. Parmi les espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques» [31]. Les HE sont des sécrétions naturelles élaborées par le végétal et contenues dans les cellules ou écorces (cannelier), racines (iris), fruits (vanillier), bulbes (ail), rhizomes (gingembre) ou graines (muscade). Pour certaines HE comme celles de lavande ou de sauge, c'est la plante entière qui est utilisée .parties de la plante comme celles des fleurs (rose), sommités fleuries (lavande), feuilles (citronnelle) [32.33].

II.2.4 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des plantes. Ce sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe de

Terpénoïdes (les plus volatils c'est-à-dire à masse moléculaire peu élevée), spécialement monoterpènes : (C10) cinéol, menthol... qui constituent parfois plus de 90 % de l'huile essentielle et sesquiterpènes : (C15) caryophyllène, humulène... bien que des diterpènes (C20) peuvent aussi être présents. Le groupe des composés aromatiques : des dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquent, comme le safrol, l'apiol, l'anisaldéhyde, l'eugénol, la vanilline et le cinnamaldéhyde. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (qui contribuent souvent aux arômes des fruits) [34].

II.2.5 Propriétés physico-chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent certain nombre de propriétés malgré leurs différences de constituant :

- Elles forment un groupe très homogène [35].
- À température ambiante, les huiles essentielles sont liquides sauf la Myrrhe et le Santal qui peuvent être visqueuses ainsi que la Rose et le Camphrier qui peuvent être cristallisées.
- Les huiles essentielles sont volatiles et entraînaient à la vapeur d'eau.
- À basse température, certaines se cristallisent comme par exemple les huiles essentielles d'Anis, de Menthe des champs ou de Thym stéroïde [36].
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle.
- Elles sont peu solubles dans l'eau, elles sont solubles dans les alcools de titres élevés, solubles dans les huiles fixes et la plupart des solvants organiques apolaires.
- Leur densité est généralement < 1 sauf (HE de saffras, de girofle ou de cannelle).
- Leur indice de réfraction est souvent élevé et elles sont dotées de pouvoir rotatoire [37].
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité [38].

II.2.6 Domaine d'utilisation des huiles essentielles

II.2.6.1 Cosmétologie et parfumerie

Les HE sont recherchés dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes. L'industrie de la parfumerie consomme d'importants tonnages

d'essences (60%) en particulier celles de rose, de jasmin, de violette, de verveine,... . Les huiles essentielles sont aussi consommées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les dentifrices, les shampoings, savons... [39].

II.2.6.2 Pharmacie

Plus de 40% médicaments sont à base de composants actifs de plantes. Les essences issues des plantes sont utilisées en grande partie dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe,...) et sous la forme de préparations galéniques. De même, elles permettent par leurs propriétés aromatisants de masquer l'odeur désagréable de médicaments absorbés par voie orale. Aussi beaucoup de médicaments vendus en pharmacie sont à base d'HE comme les crèmes, les élixirs, les collyres... [39].

II.2.6.3 Alimentation

Les huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie) [40.41]. Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les progrès constants des différentes techniques de séparation et d'identification demeure toujours une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre simultanée ou successive de diverses techniques [42].

II.2.7 Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels : "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme" [43]. Par leur composition chimique riche, les huiles essentielles doivent être utilisée avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation aléatoire autonome, surtout que le consommateur est attiré par la facilité d'emploi de ces essences en absorption interne ou en application externe, en ignorant que certaines sont plus rapidement dangereuses que les autres. D'autres sont à éviter durant la grossesse, l'hypertension ou l'affections dermatologique.

L'automédication est dangereuse, souvent favorisée par le fait que bon nombre de ces produits sont distribués en dehors du secteur pharmaceutique [44].

II.2.8 Conservation des huiles essentielles

A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement. Une essence bien distillée se conserve trois ans au moins [45.46].

II.2.9 Extraction des huiles essentielles

II.2.9.1 Introduction

L'extraction d'une l'huile essentielles (HE) est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, en effet, de capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et les plus fragiles qu'élabore le végétal, et cela sans en altérer la qualité [47].

II.2.9.2 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

- **Hydrodiffusion**

L'hydrodiffusion est une co-distillation descendante. Dans ce procédé, le végétal est disposé dans un parallélépipède métallique grillagé. On soumet donc le végétal à une pulsion de vapeur d'eau, saturée et humide, mais jamais surchauffée de haut en bas. La forme de l'appareillage permet une meilleure répartition des charges. La vapeur d'eau emporte avec elle toutes les substances volatiles. L'huile essentielle est recueillie grâce à un collecteur qui permet un équilibre avec la pression atmosphérique. On peut aussi préciser qu'il y a un procédé de cohobation qui renvoie dans la chaudière toutes les eaux qui sont séparées des huiles [48].

- **Expression à froid**

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification. La mécanisation et l'industrialisation de la technique d'expression à froid ne s'étant effectuées qu'au début du XX^e siècle, afin de diminuer les coûts de production et d'améliorer les rendements pour faire face à l'augmentation de la demande. Les systèmes récents, comme la « *Food Machinery Corporation-in-line* » (FMC), permettent d'extraire le jus de fruit et l'essence de manière quasi-simultanée sans contact des deux. C'est pourquoi l'expression à froid est la méthode de choix pour extraire ces essences, d'autant que la distillation n'est plus une

technique très appropriée. En effet, la distillation produit des huiles aromatiques de moindre qualité principalement due à une présence importante d'aldéhydes, composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur [49.50].

- **Extraction par entraînement à la vapeur d'eau**

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE [51]. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'HE obtenue est plus délicat et la distillation, régulière et plus rapide, fait que les notes de tête sont riches en esters [52]. Les fractions dites « de tête », fragrances très volatiles dues à des molécules légères, apparaissent en premier. Le plus souvent, une demi-heure permet de recueillir 95 % des molécules volatiles, ce qui suffit aux besoins de l'industrie et de la parfumerie, comme pour la lavande. L'emploi en aromathérapie impose de prolonger l'opération aussi longtemps qu'il est nécessaire afin de récupérer la totalité des composants aromatiques volatils [53.54.55].

- **Extraction par hydrodistillation**

Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans colompage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation. Ce procédé présente des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition, 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 [56].

Cependant, le contact direct des constituants de l'HE avec l'eau occasionne des réactions chimiques conduisant à des changements dans la composition finale de l'extrait [52.57]. Les conditions opératoires et notamment la durée de distillation ont une influence considérable sur le rendement et la composition de l'HE. C'est pourquoi sont développés, aujourd'hui, des modèles mathématiques qui permettent d'optimiser, au mieux, ces conditions afin de produire des HE de manière reproductible. La labilité des constituants des HE explique que la composition du produit obtenu par HD soit, le plus souvent, différente de celle du mélange

initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal [58.59]. 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 mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations et/ou des oxydations [60]. On comprend mieux les variations importantes de composition que fait ressortir l'analyse de la bibliographie sur l'HE.

• **Extraction assistée par micro-onde**

L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et incrémenter le rendement. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées [61.62]. L'emploi des micro-ondes constitue, par ailleurs, une méthode d'extraction à part entière en plein développement. A titre d'exemple, La SFME (Solvent Free Microwave Extraction) est une combinaison originale des techniques de chauffage par micro-ondes et de distillation sèche. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant. Le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante permet d'en dilater ses cellules et conduit à la rupture des glandes et des réceptacles oléifères. L'HE ainsi libérée est évaporée avec l'eau de la plante [63]. Comparée à l'hydrodistillation traditionnelle.

La SFME se caractérise par une diminution de la consommation énergétique et des rejets en CO₂ mais, surtout, par un temps d'extraction de l'ordre de 9 fois plus rapide. Les HE issues de ce procédé sont composées d'un taux plus important en composés oxygénés, de valeurs odorantes plus significatives, alors que les monoterpènes sont présents en moindre quantité [64.65]. Le protocole expérimental de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME) s'articule autour de trois points importants :

- La quantité de matière végétale a été fixée de manière à obtenir une quantité d'HE suffisante pour une séparation par simple décantation. Le but de ce protocole étant d'éviter l'usage de solvant organique afin d'obtenir un produit le plus « propre » possible ;
- La puissance micro-ondes appliquée (300-450 Watts) lors de l'extraction SFME est obligatoirement fonction de la quantité de matière végétale à traiter. Cette grandeur représente la quantité de puissance appliquée en Watts par kilogramme de matériel végétal traité.

- Le temps total de l'extraction est composé du temps de chauffage (première étape = 10 mn) et du temps d'extraction (seconde étape = 10 mn). La capacité de chauffage des micro-ondes étant nettement supérieure à un chauffage traditionnel. La durée de l'extraction sous micro-ondes sera considérablement réduite par rapport à une hydrodistillation classique [56.66].

Contrairement à une extraction classique de type « hydrodistillation », il n'était pas nécessaire de chauffer pendant de longues périodes pour obtenir des rendements intéressants. La micro-onde agit sur certaines molécules, telles que l'eau, qui absorbent l'onde, et convertissent son énergie en chaleur. Contrairement au chauffage classique par conduction ou convection, le dégagement de chaleur a lieu dans la masse. Ainsi dans une plante, les micro-ondes sont absorbées par les parties les plus riches en eau (les vacuoles, véritables réservoirs liquides des cellules), puis converties en chaleur. Il en résulte une soudaine augmentation de la température à l'intérieur du matériel, jusqu'à ce que la pression interne dépasse la capacité d'expansion des parois cellulaires. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, et les substances situées à l'intérieur des cellules peuvent alors s'écouler librement à l'extérieur du tissu biologique, et l'HE est alors entraîné par la vapeur d'eau [56].

Lucchesi et al [58] ont extrait des HE par SFME de trois herbes aromatiques: basilic, menthe et thym. Avec cette technique, ils ont isolé et concentré les composés volatiles en une seule étape, sans ajout de solvant ou d'eau. Les HE extraites sont plus riches en composés oxygénés, comparativement à la méthode conventionnelle. En fait, l'abondance des composés oxygénés dans l'HE est liée au chauffage rapide des substances polaires avec les micro-ondes et à la faible quantité d'eau dans le milieu, ce qui empêche la dégradation des composés par réactions thermiques et hydrolytiques. Cette technique offre plusieurs avantages comme un temps d'extraction plus courts, une réduction de la quantité de solvant, une très bonne reproductibilité avec de bons rendements. Les HE obtenues par distillation ne représentent jamais exactement l'arôme et le parfum existants naturellement dans la plante. L'extraction assistée aux micro-ondes, une nouvelle technique innovante et écologique, peut permettre de résoudre certains problèmes de la distillation.

• **Extraction par fluide supercritique**

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un

pouvoir de solvatation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO₂ est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait [67]. La SFE est une technique dite « verte » utilisant pas ou peu de solvant organique et présentant l'avantage d'être bien plus rapide que les méthodes traditionnelles. Les compositions chimiques des HE ainsi obtenues peuvent présenter des différences, qualitatives et quantitatives, avec celles issues de l'hydrodistillation [68.69.70].

II.3 Structure chimique de quelques métabolites secondaires

II.3.1 Les terpènes

➤ Définition

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont des métabolites secondaires [71]. Les terpénoïdes, également appelés isoprénoïdes, sont des composés chimiques de type terpène qui sont de nature hydrophobe. Ce sont essentiellement des hydrocarbures synthétisés à partir de sous-unités d'isoprène par des réactions de condensation et de cyclisation [72]. De nombreux terpénoïdes végétaux ont des qualités aromatiques.

Les terpènes sont des hydrocarbures produits à partir de la combinaison de plusieurs unités isoprène. Les terpènes sont synthétisés dans le cytoplasme des cellules végétales. Les terpènes ont un squelette hydrocarboné qui peut être réarrangé en structures cycliques par des cyclases, formant ainsi des structures monocycliques ou bicycliques [73].

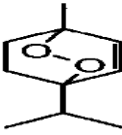
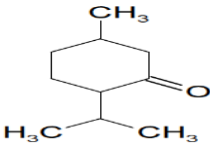
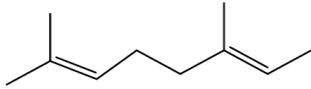
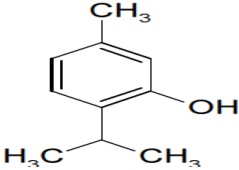
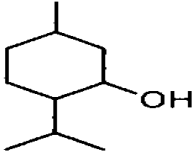
➤ Classification

Tableau II-1 : Classification des terpènes

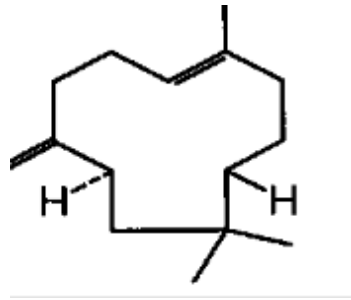
Mono n=2	Sesqui n=3	Di n=4	SES n=5	Tri n=6	Tetra n=8	Poly n=n
C ₁₀ H ₁₆	C ₁₅ H ₂₄	C ₂₀ H ₃₂	C ₂₅ H ₄₀	C ₃₀ H ₄₈	C ₄₀ H ₆₄	(C ₅ H ₈) _n

II.3.1.1 Les monoterpènes

Tableau II-2 : Quelques exemples des monoterpènes [74]

Ascaridol	
Menthone	
Citronellol	
Thymol	
Menthol	

II.3.1.2 Les sesquiterpènes

Figure II.1 : Structure de β -caryophyllene [74]

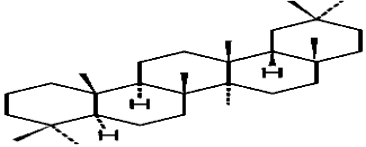
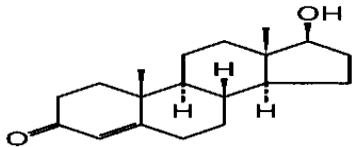
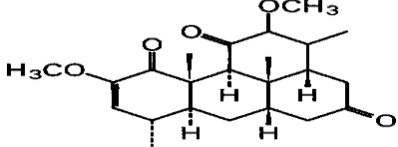
II.3.1.3 Les diterpènes

Tableau II-3 : Quelques exemples des diterpènes [74.75]

Taxol	
Phytol	
Vitamine A	

II.3.1.4 Les triterpènes et les stéroïdes

Tableau II-4: Quelques exemples des triterpènes et les stéroïdes [74]

Oleanane	
Testosterone	
Quassin	

II.3.1.5 Les tétraterpènes

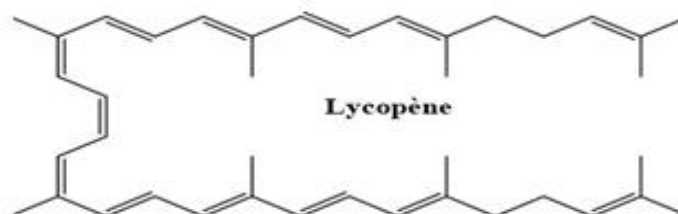
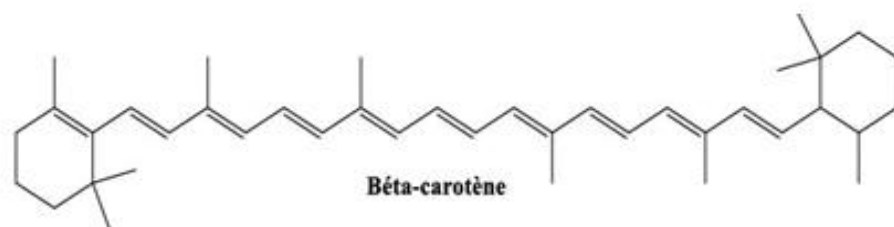


Figure II.2 : Quelques exemples des tétraterpènes [76]

II.3.1.6 Les polyterpènes

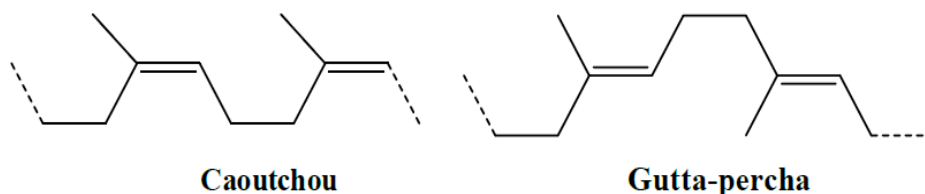


Figure II.3 : Quelques exemples des polyterpènes [77]

➤ Le rôle bioactif des terpènes

Les terpénoïdes sont connus comme doués de propriétés antifongiques et antibactériennes. Le mécanisme des terpénoïdes n'est pas bien connu mais, il pourrait induire une destruction de la membrane du microorganisme par une action lipophile. Les terpénoïdes sont les plus représentés dans la constitution chimique des huiles essentielles. Des investigations concernant les activités biologiques des mono- et des sesquiterpènes ont prouvé l'existence des effets suivants : anesthésique, antihistaminique (allergies), antirhumatismal, diurétique (β -eudesmol), insecticide, analgésique, toxique (sesquiterpènes) quelquefois, antibiotique, anti-inflammatoire, anti-cancéreux, irritant et calmant (mono et sesquiterpènes) [78].

II.3.2 Les flavonoïdes

➤ Définition

Les flavonoïdes sont les composés responsables de la couleur des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Certains, comme les chalcones et les flavonols, sont jaunes. Le nom fait référence au mot latin « flavus », qui signifie jaune. Certains peuvent contribuer à la couleur en agissant comme co-pigment. Les flavonoïdes protègent la plante des effets néfastes des UV et jouent un rôle dans la pollinisation en attirant les animaux par leurs couleurs. La structure de base des flavonoïdes est le squelette 2-phénylchromaneoranAr-C3-Ar. Biosynthétiquement, ils sont dérivés d'une combinaison des voies de l'acide shikimique et de l'acétate. De petites différences dans les modèles de substitution de base donnent lieu à plusieurs sous-groupes; dans la plante, les flavonoïdes peuvent se présenter soit sous forme d'aglycones, soit sous forme de glycosides O ou C. Voir la figure 8 pour les structures de base. Récemment, les flavonoïdes ont suscité l'intérêt en raison de la découverte de leurs activités pharmacologiques

en tant qu'anti-inflammatoire, analgésique, antitumoral, anti-VIH, antidiarrhéique, antihépatotoxique, antifongique, antilipolytique, anti-oxydant, vasodilatateur, immunostimulant et anti-ulcérogène. Des exemples de flavonoïdes biologiquement actifs sont l'hespéridine et la rutine pour diminuer la fragilité capillaire, et quercétine comme antidiarrhéique [74].

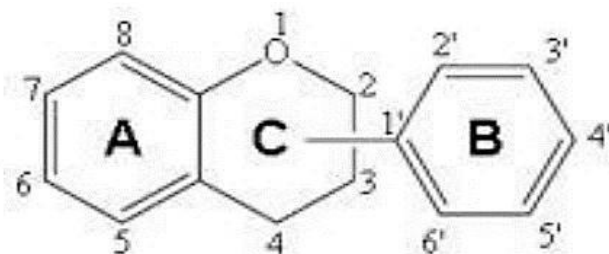


Figure II.4 : Structure générale des flavonoïdes

➤ Classification

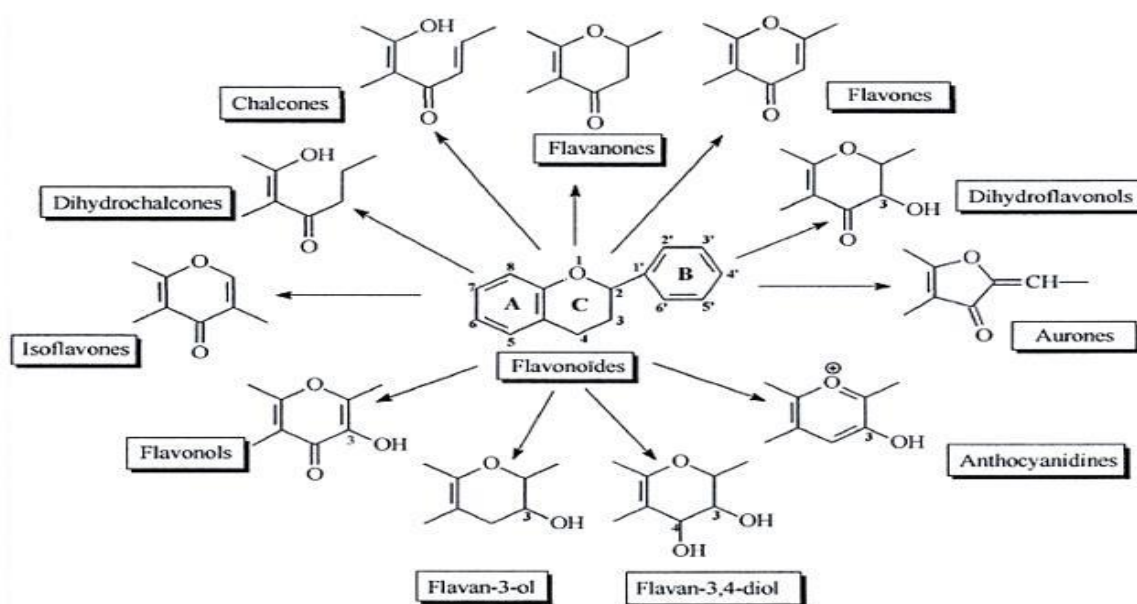


Figure II.5 : Classification des flavonoïdes

II.3.2.1 Flavones et flavonols

Les flavones sont caractérisées par la présence d'une double liaison entre les carbones 2 et 3 du squelette flavane, et un groupement carbonyle en position 4 (4-oxo). Le cycle aromatique B est attaché à la position 2. Les flavonols se distinguent des flavones par la présence d'un groupement hydroxyle en position C3. Les principaux flavones sont l'apigénine et la lutéoline. Elles ont dans la majorité des cas la forme de glycosides. Les flavonols sont beaucoup plus abondants dans le règne végétal que les flavones et leurs concentrations sont plus élevées. Les principaux sont la quercétine, kaempférol et myricétine [79].

- Dans la position 2, le flavonoïde est appelé **flavane**.

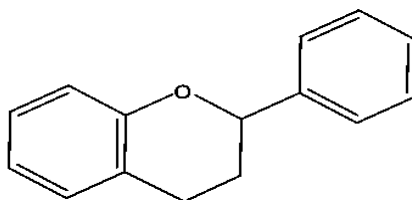


Figure II.6 : Structure des flavanes

- Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle, le composé est appelé **flavanone**.

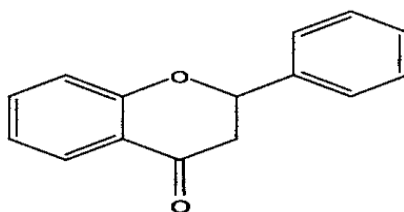


Figure II.7 : Structure des flavanones

- Si le flavone est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle, il est désigné par le nom de **flavonol**.

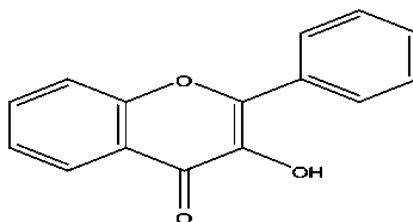


Figure II.8 : Structure des flavonols

- Dans la position 3, le flavonoïde est désigné par le terme **isoflavane**.

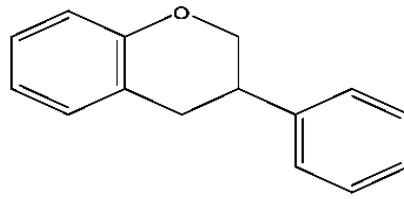


Figure II.9 : Structure des isoflavanes

- Si la position 4 de l'isoflavane porte un groupement hydroxyle, le composé est désigné par le nom **isoflavanol**.

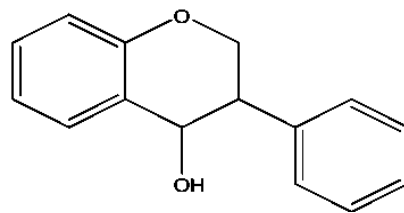


Figure II.10 : Structure des isoflavanol

- Si la position 4 de l'isoflavane porte un groupement carbonyle, le composé est appelé **isoflavanone**.

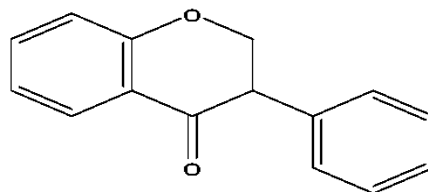


Figure II.11 : Structure des isoflavanone

- Si la liaison C2-C3 dans le squelette de l'isoflavanone est insaturée le composé est nommé **isoflavone**.

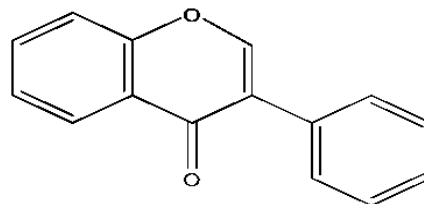


Figure II.12 : Structure des isoflavone

II.3.2.2 Chalcones

Les Chalcones, ou 1,3-diaryl-2-propen-1-one, représentent une des classes majeures des produits naturels appartenant à la famille des flavonoïdes. Chimiquement, ils sont dépourvus du cycle C central et constituées par deux unités aromatiques A et B, reliées par une chaîne tricarbonée cétonique insaturée. Les cycles A et B sont équivalents aux cycles A et B des autres flavonoïdes mais leurs numérotations sont inversées. Les plus abondants sont : butéine et phlorétine [79].

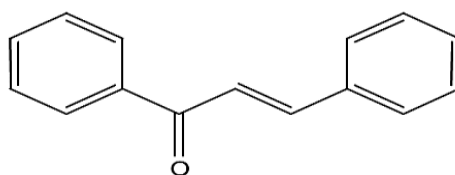


Figure II.13 : Structure de Chalcones

II.3.2.3 Anthocyanines et anthocyanidines

Les anthocyanines désignent un vaste groupe des flavonoïdes, ce sont les glucosides des polyhydroxy et polyméthoxy des dérivés de 2-phénylbenzopyrylium ou les sels de flavylium. Les différences de structures entre les anthocyanines sont reliées au nombre de groupes hydroxyles, la nature et le nombre de sucres attachés à la molécule, la position de cette liaison, la nature et le nombre des acides aliphatiques ou aromatiques attachés au sucre dans la molécule. Les plus importants sont : pélargonidine, cyanidine et péonidine [80.81].

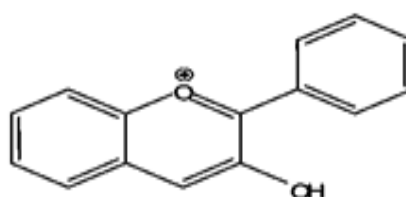


Figure II.14 : Structure des anthocyanidines

➤ Le rôle des anthocyanidines

Les anthocyanes sont les composés responsables des couleurs rouge, rose, mauve, violet, bleu ou violet de la plupart des fleurs et des fruits. Ces pigments hydrosolubles se présentent sous forme de glycosides (anthocyanes sensu stricto) et de leur aglycone (anthocyanidines). Ils sont dérivés du cation 2-phényl benzopyrylium, plus communément appelé cation flavylium. La

cyanine est un exemple d'anthocyanine. L'anthocyane se trouve dans tous les Angiospermes, sauf pour la plupart des espèces de l'ordre Caryophyllales : seules les espèces des familles Caryophyllaceae et Molluginaceae en contiennent ; dans d'autres familles (ex : Chenopodiaceae, Cactaceae), la pigmentation est due aux bêtaïnes. L'application des anthocyanes est en tant qu'additif alimentaire, par exemple dans les boissons, les confitures et les produits de confiserie. Les activités pharmacologiques sont similaires aux flavonoïdes par exemple pour diminuer la perméabilité capillaire et la fragilité, et comme anti-œdème [74].

➤ **Le rôle bioactif des flavonoïdes**

Les flavonoïdes (ou bioflavonoïdes) sont un groupe d'environ 4000 composés naturels qui sont omniprésents dans toutes les plantes vasculaires [82]. Ce sont des pigments responsables de l'éclat automnal des teintes et des nombreuses nuances de jaune, d'orange et de rouge des fleurs [83]. Ils sont également importants pour la croissance, le développement et la défense normale des plantes [84]. Les flavonoïdes, constituants importants de l'alimentation humaine, se trouvent dans les fruits (dans les agrumes, ils peuvent représenter jusqu'à 1% de la matière fraîche) et les légumes. Les boissons comme le vin rouge, le thé, le café et la bière contiennent également de grandes quantités de flavonoïdes : en moyenne, l'alimentation quotidienne contient environ 1 g de flavonoïdes par jour. Les flavonoïdes sont également présents dans plusieurs plantes médicinales, et des remèdes à base de plantes contenant des flavonoïdes ont été utilisés dans la médecine traditionnelle du monde entier. Il semble donc que ces composés soient importants non seulement pour les plantes, mais aussi pour les animaux, y compris les humains. Les flavonoïdes existent probablement dans le règne végétal depuis plus d'un milliard d'années. Cette longue interaction entre les flavonoïdes végétaux et les humains a stimulé beaucoup d'intérêt pour les activités biochimiques et physiologiques de ces produits chimiques [85].

➤ **Pharmacocinétique des flavonoïdes**

L'étendue de l'absorption des flavonoïdes est un problème important non résolu en raison des données limitées disponibles à leur sujet, en particulier chez l'homme. Etudes animales, montrent que les flavonoïdes présents dans les aliments doivent être considérés comme non résorbables car ils sont liés aux sucres sous forme de P-glycosides (à l'exception des catéchines). En fait, seuls les flavonoïdes libres, sans molécule de sucre (appelés aglycones), seraient capables de traverser la paroi intestinale. L'hydrolyse des liaisons 13-glycosidiques ne

se produit que dans le côlon par des micro-organismes qui dégradent en même temps les flavonoïdes alimentaires. C'est parce qu'aucune enzyme capable de rompre la liaison n'est présente ou sécrétée dans l'intestin. Après absorption, le métabolisme ultérieur des flavonoïdes est assez bien connu des études animales, alors qu'aucune donnée pour l'homme n'est disponible. Le foie est en grande partie responsable du métabolisme des flavonoïdes absorbés [8]. La paroi intestinale et le rein sont les sites secondaires du métabolisme des flavonoïdes absorbés. Mais cela dépend des flavonoïdes : ceux que l'on trouve dans les agrumes sont mal métabolisés par la microflore intestinale, la quercétine n'est pas absorbée chez l'homme, la rutine est mal absorbée alors que les procyanidolignanes sont facilement absorbés chez la souris. Les flavonoïdes métabolisés par les bactéries intestinales sont convertis en composés de type hormonal avec de faibles activités œstrogéniques et antifécondatives. Les groupes hydroxy sont conjugués avec de l'acide glucuronique ou du sulfate et, en outre, une méthylation peut se produire. Les glucuronides et les sulfates sont excrétés dans la bile. La possibilité d'un cycle entérohépatique a été postulée : les micro-organismes du côlon peuvent hydrolyser les glucuronides et les sulfates, ce qui permet vraisemblablement l'absorption des aglycones libérés. Les flavonoïdes, une fois absorbés, influencent de nombreuses fonctions biologiques, notamment la synthèse des protéines, la différenciation de la prolifération cellulaire et l'angiogenèse, ce qui les rend bénéfiques dans une variété de troubles humains [86].

➤ Activités biologique des flavonoïdes

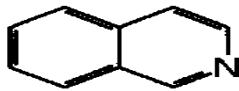
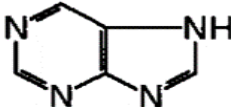
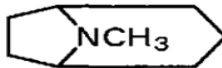
La grande prévalence des flavonoïdes et des anthocyanidines dans le règne végétal n'est pas fortuite ; ils agissent non seulement comme pigments colorés des fleurs mais aussi comme inhibiteurs d'enzymes, précurseurs de substances toxiques, défense contre l'exposition aux rayons ultraviolets, agents chélatants des métaux nocifs pour les plantes et agents réducteurs. De plus, les flavonoïdes sont impliqués dans la photosensibilisation et transfert d'énergie, morphogenèse et détermination du sexe, niveaux de respiration et de photosynthèse, action des hormones de croissance végétales et des régulateurs [87.88], expression et comportement des gènes. Tout au long de la chaîne alimentaire, les animaux et les humains ingèrent des flavonoïdes, et il existe de nombreuses données concernant un large éventail d'activités biologiques de ces composés chez l'homme. Par exemple, ils ont été utilisés en médecine comme protection de l'intégrité vasculaire [89]. Il a été démontré que certains flavonoïdes inhibent l'activité d'enzymes telles que l'aldosoréductase [90] et la xanthine-oxydase [91].

Enfin, certains flavonoïdes se sont révélés posséder une bonne activité anti-inflammatoire [91.92], ce qui était principalement lié à leur inhibition de la production de médiateurs inflammatoires tels que les prostaglandines, les leucotriènes [93] ou l'oxyde nitrique [94].

II.3.3 Les alcaloïdes

Il n'est pas facile de définir précisément le terme « alcaloïde », car il n'y a pas de frontière nette entre les alcaloïdes et les amines complexes naturelles. À l'heure actuelle, le terme est utilisé pour les composés d'origine végétale contenant un ou plusieurs atomes d'azote (généralement dans un cycle hétérocyclique) et ayant généralement une action physiologique marquée sur les humains ou les animaux. Le terme « proto-alcaloïdes » ou « pseudo-alcaloïdes » est parfois appliqué à des composés dépourvus d'une ou plusieurs des propriétés des alcaloïdes typiques, par ex. l'azote dans un système de cycle hétérocyclique; les exemples incluent la mescaline et l'éphédrine. Pour éviter les problèmes avec cette définition commune des alcaloïdes, certains auteurs proposent une définition plus étroite : un alcaloïde est un composé organique cyclique contenant de l'azote dans un état d'oxydation négatif, qui a une distribution limitée dans les organismes vivants. Sur la base de leurs structures chimiques, les alcaloïdes sont divisés en plusieurs sous-groupes : les alcaloïdes non hétérocycliques (pseudo) et les alcaloïdes hétérocycliques qui sont à nouveau divisés en 12 groupes principaux en fonction de leur structure cyclique de base. Les alcaloïdes libres sont solubles dans les solvants organiques tels que l'éther ou le chloroforme. Les alcaloïdes réagiront en outre avec les acides pour former des sels solubles dans l'eau. Il existe quelques exceptions à cette règle générale. Dans certains alcaloïdes, par exemple dans la ricinine, la seule paire d'électrons sur l'atome d'azote peut être protonée. Un autre exemple est la berbérine, un alcaloïde d'ammonium quaternaire ; la base libre est déjà soluble dans l'eau. Physiquement, la plupart des alcaloïdes existent sous forme solide, mais certains sont liquides, par ex. nicotine. On pense que les alcaloïdes des plantes sont des déchets et une source d'azote. On pense qu'ils jouent un rôle dans la protection et la germination des plantes et qu'ils sont des stimulants de la croissance des plantes [74].

Tableau II-5 : Quelques exemples des alcaloïdes [74]

Isoquinoline	
purine	
Tropane	

II.3.3.1 Effet pharmacologique des alcaloïdes

De nombreux alcaloïdes sont pharmaceutiquement significatifs, par ex. la morphine comme stupéfiant analgésique, la codéine dans le traitement de la toux, la colchicine dans le traitement de la goutte, la quinine comme antipaludéen, la quinidine comme anti-arythmique et la Lhyoscyamine (sous la forme de son mélange racémique appelé atropine) comme antispasmodique et pour la dilatation des pupilles [74].

II.3.4 Les tanins

II.3.4.1 Définition

La chimie des tanins est complexe. La distinction faite dans la littérature entre les tanins hydrolysables et les tanins condensés est basée sur le fait que des acides ou des enzymes peuvent hydrolyser les composants ou qu'ils condensent les composants en polymères. Bien que non étanche, cette distinction correspond largement aux groupes à base d'acide gallique et à ceux à base de composants apparentés aux flavanes. De nombreux tanins végétaux ont été découverts, mais seuls les principaux constituants tannants des groupes de tanins les plus importants sont répertoriés ici, à savoir le groupe des gallotanins et des ellagitanins, et le groupe des proanthocyanidines. Les gallotanins et les ellagitanins sont des esters d'acide

gallique ou de ses dimères d'acide digallique et d'acide ellagique avec du glucose et d'autres polyols. Les proanthocyanidines sont des oligomères de 3-flavanols (catéchines) et de 3,4 flavandiols (leucoanthocyanidines).

II.3.4.2 Classification des tanins

➤ Les tanins condensés

Les tanins condensés ou pro-anthocyanidines sont des polymères d'unités flavannique, le plus souvent liées entre elles par des liaisons C4-C8. Les précurseurs sont des flavan-3ol et flavan-3,4 diols. Cette classe de tanins est la plus représentée dans le monde végétale, aussi bien chez les angiospermes que les gymnospermes [95].

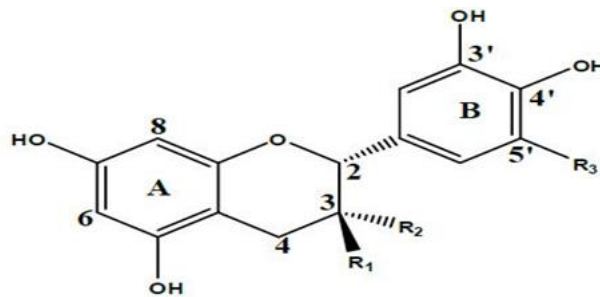


Figure II.15 : Structure des tanins condensés

➤ Les tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des esters de sucre simple (glucose ou xylose principalement) et d'acide phénolique. Par hydrolyse (acide, alcaline, ou enzymatique) les acides phénoliques libérés sont l'acide gallique ou l'acide ellagique ce qui divise ces tanin hydrolysables en deux sous classes : Les tanins gallique (gallotanins)) et les tanins ellagiques (ellagitanins). Contrairement aux tanins condensés, ils ne sont présents que chez les dicotylédones. Le plus connus est l'acide tannique, d'autres tanins hydrolysables sont extraits industriellement tels ceux de diverses galles ou Cœur du bois de variétés de chêne et de châtaignier. En milieu acide, alors que les tanins hydrolysables sont hydrolysés, les tanins condensés donnent des composés colorés, les anthocyanidine ; les produits d'hydrolyse tendant à se polymériser, il y a également apparition d'un précipité de polymères insolubles : les phlobaphènes.

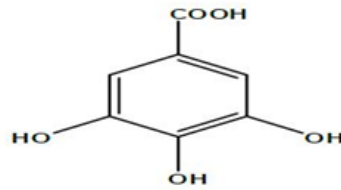


Figure II.16 : Structure de l'acide gallique

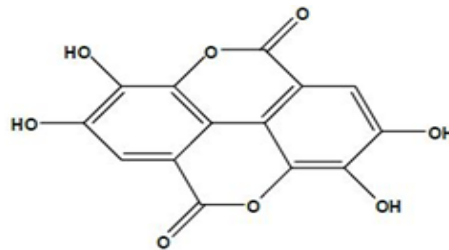


Figure II.17 : Structure de l'acide ellagique

II.3.4.3 Le rôle des tanins

Les tanins sont capables de réagir avec les protéines. Après avoir été traitée avec un tanin, une peau absorbe la tâche et est protégée contre la putréfaction, se transformant ainsi en cuir. Bien que les tanins soient répandus dans les plantes, leur rôle dans les plantes n'est toujours pas clair. Ils peuvent être une défense efficace contre les herbivores, mais il est probable que leur rôle majeur dans l'évolution a été de protéger les plantes contre les attaques fongiques et bactériennes. Les fortes concentrations de tanins dans les cellules non vivantes de nombreux arbres (bois de cœur, écorce), qui autrement succomberaient facilement aux saprophytes, ont été citées à l'appui de cette hypothèse. Certaines autorités considèrent les tanins comme des déchets, et il a également été suggéré que les tanins des feuilles sont des métabolites actifs utilisés dans les tissus en croissance. Cependant, les tanins des différentes espèces végétales ont probablement des fonctions différentes [74].

CHAPITRE III: PREENTATION DE LA FAMILLE VERBENACEE

III.1 Présentation de la famille Verbénacée

III.1.1 Généralité

La famille des Verbénacées comprend désormais environ 2600 espèces regroupées en 100 genres [96].

La famille de plantes Verbénacées, également connue sous le nom de famille de la verveine, se compose d'arbres, d'arbustes et d'herbes. Ce sont principalement des plantes à fleurs que l'on trouve dans les régions tropicales du monde. Les plantes de la famille des Verbénacées sont bien connues pour leurs utilisations dans les systèmes médicaux traditionnels de divers pays [97].


Les Verbénacées appartiennent à l'ordre des Lamiales qui sont réputés pour leurs compositions en huiles essentielles [98]. Ces plantes ont les caractères communs suivants :








- Un calice persistant gamosépale
- Une corolle gamopétale
- Des étamines à filets libres, insérées sur la corolle, à anthères introrses Un pistil unique [99].



Les feuilles sont opposées, simples ou composées palmées. Les stipules sont absentes. Les inflorescences sont généralement cymeuses, épiques, racémeuses ou cymes et plus formant corybose ou coniforme. Des bractées sont souvent présentes. Les fleurs sont bisexuées, zygomorphes ou actinomorphes [100].

III.1.2 Quelques espèces da la famille Verbénacée

Tableau III-1 : Quelques espèces de la famille Verbénacées [101]

Photo	Nom	Nom scientifique
	Vanillier de Cayenne	<i>Duranta erecta L.</i>

	Vanillier de Cayenne blanc	<i>Duranta serratifolia</i> (Griseb) Kuntze.
	Camara	Lantana camara L
	Thym espagnol	Lippia micromera Schauer
	Liane Saint-Jean.	Petrea volubilis L
	Épi bleu	Stachytarpheta jamaicensis (L) Vahl.
	Épi rose	Stachytarpheta mutabilis (Jacq.) Vahl.
	Herbe bleue	<i>Stachytarpheta</i> <i>urticifolia</i> (Salisb) Sims

	Verveine	<i>Verbena officinalis</i>
	Verveine hybride	<i>Verbena x hybrida</i>

III.1.3 Variétés et espèces

Il existe deux espèces de *Verbena officinalis* utilisées en herboristerie qui font aujourd'hui partie de deux genres différents :

- La verveine odorante (*Verbena triphylla* ou *Lippia citrodora*) encore appelée verveine
- La verveine commune (*Verbena officinalis*), plante à feuilles opposées par deux citronnelles.

Tableau III-2 : Variétés de *Verbena officinalis* [102]

Nom français	Nom latin	Principes actifs	Activités pharmacologiques	Partie concernée
Verveine	<i>Verbena officinalis</i>	Verbenalol	Eupeptique Antalgique Antispasmodique	Tiges + Feuilles
	<i>Verbena triphylla</i>	Citral Z	Anti-inflammatoire Antinévralgique Antidépresseive Sédative	Feuilles

III.1.4 Principaux pays producteur et exportateurs de la *Verbena officinalis*

- Les pays producteurs sont le Mexique, le Chili, le Brésil, le pourtour méditerranéen (Maroc, Algérie, Turquie et France...), l'Afrique du sud et l'Inde.
- Les pays exportateurs sont le Chili et le Maroc [103].

III.2 *Verbena officinalis*

III.2.1 Description butanique

La *Verbena officinalis* est un sous arbrisseau vivace de la famille des Verbénacées [104] mesurant 1,50 à 3,00 m de hauteur [105]. Les tiges sont anguleuses, cannelées à branches droites et ramifiées [106], portant des feuilles vertes pâles, allongées, celle-ci ont une longueur de 3 à 7 centimètres et une largeur de 1 à 2 centimètres, verticillées par trois ou quatre sur les tiges, à pétioles très courts, rudes au toucher [107].



Figure III.1 : Photographie des fleurs et feuilles de *Verbena officinalis* [107]

III.2.2 Quelques espèces de *Verbena officinalis*

- *Verbena bonariensis*, la verveine de Buenos-Aires
- *Verbena canadensis*, la verveine du Canada
- *Verbena hastata*, aux épis allongés
- *Verbena x hybrida*, la verveine des jardins
- *Verbena rigida*, la verveine rugueuse [108].

III.2.3 Systématique de *Verbena officinalis*

Tableau III-3 : Position systématique de l'espèce *Verbena officinalis* [107]

Règne	Plantae
Division	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Verbenaceae
Genre	verbena

III.2.4 Utilisation traditionnelle

Depuis les temps les plus reculés, la *Verbena officinalis* fut un remède universel en raison de ses propriétés importantes. La *Verbena officinalis* est une plante fortifiante et tonique, facilite la digestion et soulage le stress et l'anxiété, renferme également des vertus anti-inflammatoires or elle soulage certains rhumatismes et douleurs, De plus cette plante a des effets relaxants et favorise aussi l'appétit. En usage interne, elle est consommée en tisane favorisant le sommeil et calmant les affections de la peau dues aux piqûres d'insectes à titre d'exemple [109].

III.2.5 Mode préparation de l'infusé

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes actifs. En laissant reposer la mixture pendant 5 à 10 minutes. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes: feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles [110].

Pour conserver les infusions, il faut les embouteiller à chaud (à environ 80 °C ou 90- 100°C selon les plantes), elles sont stockées pour quelques jours au froid [111].

CHAPITRE IV: ACTIVITE BIOLOGIQUE

IV.1 Activité antioxydant

IV.1.1 Introduction

Pendant fort longtemps, les plantes médicinales furent le principal recours de l'homme pour la fabrication de remèdes pharmaceutiques.

En effet, les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans le système de soins traditionnels et dans les différentes industries : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés, on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui sont illustrés en thérapeutique [112].

IV.1.2 Définition

Le terme d'antioxydant désigne « toutes substances présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, qui possèdent des propriétés allant bien au-delà de leur capacité à piéger les ERO [113] et retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat » [114].

IV.1.3 Le stress oxydant

Le stress oxydatif, résultant d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et les défenses antioxydants, est associé à dommages à une large gamme d'espèces moléculaires, y compris les lipides avec une perturbation des membranes cellulaires, les protéines avec l'altération des récepteurs et des enzymes, les acides nucléiques avec un risque de mutation et de cancérisation [115].

IV.1.4 Radicaux libre

Les radicaux libres sont des entités chimiques (Espèces, atomes, molécules ou des fragments moléculaires) possédant un électron (ou plus) non apparié « Célibataire » sur la couche périphérique du squelette moléculaire [116].

IV.1.5 Les antioxydants

IV.1.5.1 Définition

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule [116].

IV.1.5.2 Mécanisme d'action des antioxydants

➤ Antioxydant primaire ou piègeurs des radicaux libres

Ce genre d'antioxydants peut inhiber la réaction d'initiation et la propagation de l'oxydation en participant au processus d'oxydation et en convertissant les radicaux libres vers leurs formes inactives. Les antioxydants primaires sont généralement des composés phénoliques capables de donner un atome d'hydrogène au radical libre et le convertir en un composé stable non radicalaire) [117].

➤ Antioxydant secondaires ou préventifs

Ils englobent une large gamme de différentes substances chimiques qui inhibent l'oxydation des lipides par différents mécanismes. Les antioxydants secondaires sont généralement reliés à l'inhibition de facteurs initiant l'oxydation. Ce sont des substances décomposant les hydroperoxydes en alcool, comme thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou les disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV, comme les carotènes, les chélatants des métaux pro-oxydatifs type fer et cuivre, comme l'acide citrique ou enfin de séquestrant d'oxygène comme l'acide ascorbique [118].

IV.1.5.3 Utilisation des antioxydants

- L'industrie des matières plastiques : des additifs sont utilisées pour protéger les polymères de l'oxygène de l'air.
- L'activité éventuelle de molécules médicamenteuses déjà connues, qui présentent les avantages d'une biodisponibilité et de paramètres pharmacocinétiques et toxicologiques déjà bien connus.
- Sont concernées par l'utilisation dans l'industrie alimentaire.

- L'industrie de lubrifiants : elle produit notamment les huiles pour moteurs et transmissions automobiles.
- L'industrie cosmétique : les molécules utilisées sont plus ou moins les mêmes que dans l'industrie alimentaire [119].

IV.2 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant

L'activité antioxydant est la capacité à piéger les radicaux libres, par rapport à un atome d'hydrogène ou à un électron et la stabilisation des espèces formées. Sur la base de cette activité, ils existent plusieurs méthodes pour mesurer l'activité antioxydant dans un système biologique in vitro, mais il reste très compliqué in vivo. Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes: soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron. Parmi ces techniques, nous mentionnons:

- La méthode d'ORAC (Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène).
- La méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants).
- La méthode du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).
- Le teste de piégeage du radical ABTS.
- La méthode TRAP (Paramètre du piégeage du radical total).
- Méthode DMPD (dichlorhydrate de N, N-diméthyl-p-phénylène diamine).
- Activité de chélation des métaux [120].

IV.2.1 Test au DPPH

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant. En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH[•] donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH[•] par un agent antioxydant entraîne un changement de couleur de la solution du violet au jaune [121].

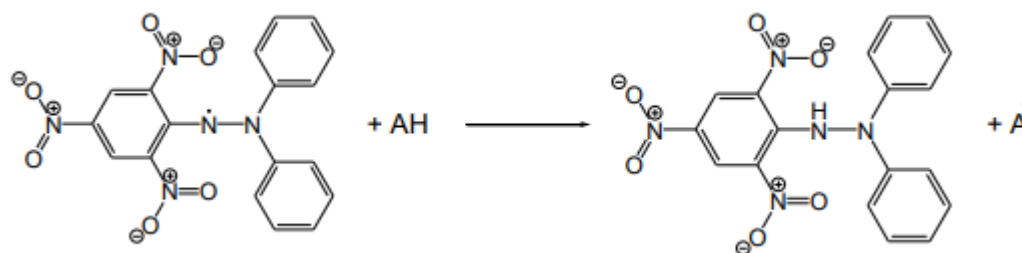


Figure IV.1 : Structure chimique du radical DPPH[•] et de sa forme réduite [122]

IV.2.2 Test de la réduction du fer (FRAP)

Cette méthode basée sur le changement de coloration lors de la réduction du fer après un transfert d'électrons, c'est un passage de l'ion ferrique (Fe^{3+}) à l'ion ferreux (Fe^{2+}). Les résultats sont obtenus lorsque l'absorbance augmente à 593 nm et peuvent être exprimés en équivalents micro molaires Fe^{2+} ou par rapport à un étalon antioxydant. La capacité de réduction mesurée ne reflète pas nécessairement l'activité antioxydant. Au lieu de cela, il fournit une concentration «totale» très bénéfique d'antioxydants, sans mesurer ni mettre en commun la concentration de tous les antioxydants impliqués. La méthode a été appliquée à l'origine au plasma mais a été étendue à d'autres fluides biologiques, aliments, extraits de plantes, jus, etc... [123].

IV.2.3 Test ABTS

Lors de la mise en œuvre de ce test, l'ABTS incolore est préalablement oxydé avec du persulfate de potassium pour former le radical cationique $\text{ABTS}^{+\bullet}$ de coloration bleu-vert. L'addition d'un composé antioxydant engendre la réduction du radical $\text{ABTS}^{+\bullet}$ en ABTS. L'activité antioxydant est déterminée par la décoloration de la solution et s'exprime par le pourcentage d'inhibition (PI) de l'absorbance à 734 nm, longueur d'onde à laquelle le radical $\text{ABTS}^{+\bullet}$ présente une bande d'absorption caractéristique [124].

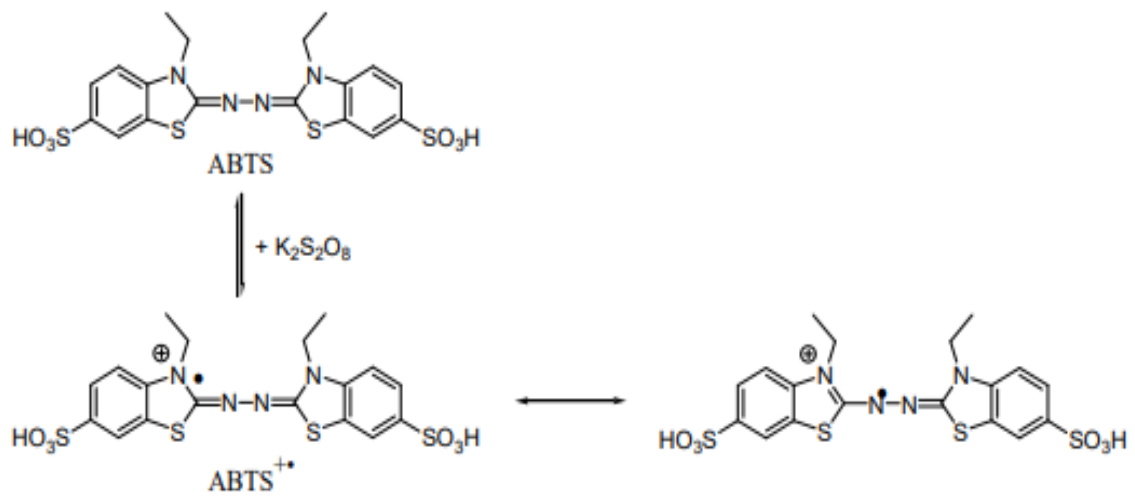


Figure IV.2 : Formation du radical cation $ABTS^{+\bullet}$ à partir de l'ABTS [125].

CHAPITRE V: PARTIE EXPERIMENTALE

Introduction

La partie expérimentale a été réalisée dans le laboratoire de chimie organique du département de chimie à l'université de Jijel, notre travail repose sur l'étude de la composition chimique des métabolites secondaires et des huiles essentielles obtenue à partir de l'espèce *Verbena officinalis* qui est une plante médicinale appartenant à la famille des verbénacées.

V.1 Etude phytochimique des métabolites secondaires

V.1.1 Matière végétale

V.1.1.1 Récolte de la plante

L'espèce *Verbena officinalis* a été récoltée de la région de Chekfa daïra de Chekfa, Wilaya de Jijel.

V.1.1.2 Extraction

Cette étape consiste à extraire le maximum de métabolites secondaires contenus dans les feuilles de la plante séchée, en utilisant des solvants organiques volatils adéquats, qui augmentent le rendement d'extraction.

V.1.1.3 Extraction liquide - liquide

Cette étape repose sur la spécificité, la différence de polarité et la densité, entre les solvants organiques utilisés et les métabolites secondaires extraits, ce qui permet la séparation des métabolites secondaires en trois types de familles de composés : composés apolaires, moyennement polaires et polaires.

V.1.1.4 Protocole d'extraction

Après séchage, les feuilles de l'espèce *Verbena officinalis* (100 g) ; ont été soumises à une macération à la température ambiante dans un milieu hydro-alcoolique (mélange Méthanol/Eau ; 70/ 30) pendant 24 heures cette opération est répétée 3 fois, par la suite on procède à une filtration. Le filtrat obtenu est concentré l'aide de rota vapeur sur pression réduite. Après la filtration on ajoute 250 ml de l'eau distillée et on procède à des extractions successives, dans une ampoule à décanter, en utilisant des solvants de polarité croissante : le chloroforme,

l'acétate d'éthyle et ensuite le n-butanol, en utilisant à chaque fois 250 ml de chaque solvant, l'opération est répétée deux fois.

- ❖ Extraction par le chloroforme (CHCl_3) : obtention de la phase chloroformique.
- ❖ Extraction par l'acétate d'éthyle (AcOEt) : obtention de la phase acétate d'éthyle.
- ❖ Extraction par le n-butanol: obtention de la phase n-butanolique.

Les 03 extraits sont évaporés à sec et pesés :



Figure V.1 : Macération de plante



Figure V.2 : La filtration à l'aide du papier filtre



Figure V.3 : Evaporation des trois phases

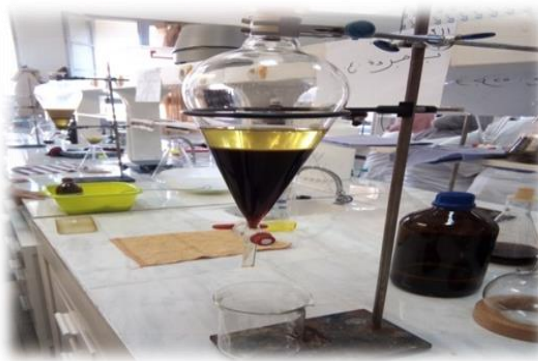


Figure V.4 : Extraction par solvant (décantation)

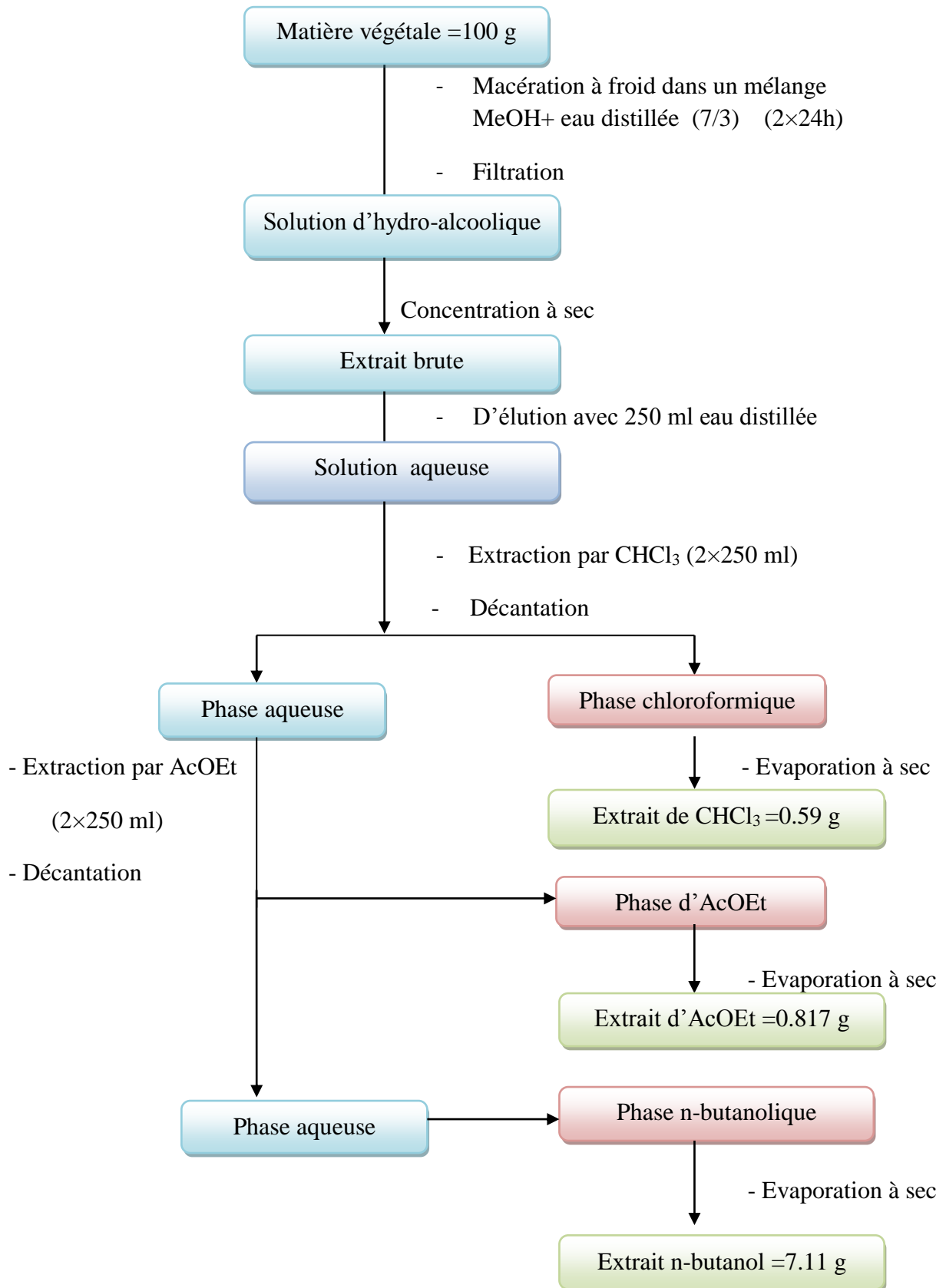


Figure V.5 : Protocole d'extraction des métabolites secondaires

V.2 Méthodes chromatographique de séparation et purification

V.2.1 Chromatographie sur couche mince

V.2.1.1 Principe

Il repose sur la séparation des substances chimiques par migration et adsorption sur un support ou phase stationnaire polaire, dans une phase mobile ou éluant, en fonction de leur nature, du pouvoir éluant de la phase mobile, du pouvoir adsorbant du support [126].

V.2.1.2 Protocole de CCM sur gel de silice

Phase stationnaire : Plaque en aluminium recouverte de gel de silice.

Phases mobiles : Chloroforme/ AcOEt à différents pourcentages.

Chloroforme/ MeOH à différents pourcentages.

Le but de cette opération est la recherche d'un bon système de séparation. Pour cela on a pris des petites plaques CCM sur lesquelles on a déposé de petites quantités des phases extraites préalablement dissoutes dans une petite quantité de solvant. Les plaques sont ensuite introduites dans une cuve contenant le système d'éluant. La visualisation des plaques est effectuée sous une lampe UV, en utilisant deux longueurs d'onde : 365nm et 254nm.

V.2.2 Les essais de caractérisation par chromatographie sur couche mince (CCM)

Les 3 phases obtenues à savoir la phase chloroformique, la phase acétate d'éthyle et la phase n-butanolique ont été soumises à l'analyse photochimique par chromatographie sur couche mince (CCM). Cette analyse nous a permis d'avoir une idée sur la richesse de chaque phase en métabolites secondaires.

V.3 L'analyse des extraits

V.3.1 L'analyse quantitative

V.3.2 Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

Le principe de dosage des phénols totaux repose sur les capacités réductrices des complexes ioniques polymériques formés à partir des acides phosphomolybdiques et phosphotungstique (réactif de Folin-Ciocalteu) par les composés phénoliques. Il en résulte la formation d'un complexe bleu qui accompagne l'oxydation des composés phénoliques et qui est stabilisé par l'addition de carbonate de sodium (Na_2CO_3). Le dosage des phénols totaux est effectué par la comparaison de l'absorbance observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue [127].

➤ Mode opératoire

Dans un tube à essai 1 ml de l'extrait méthanolique dilué ($5 \mu\text{g/ml}$) a été introduite, 1 ml de Folin - Ciocalteu (11%) a été ajouté, ainsi que 0.8 ml de bicarbonates de sodium (Na_2CO_3) (7.5%). Laisse Incuber pendant 30 minutes. Lire l'absorbance au spectrophotomètre UV ($\lambda = 760 \text{ nm}$).

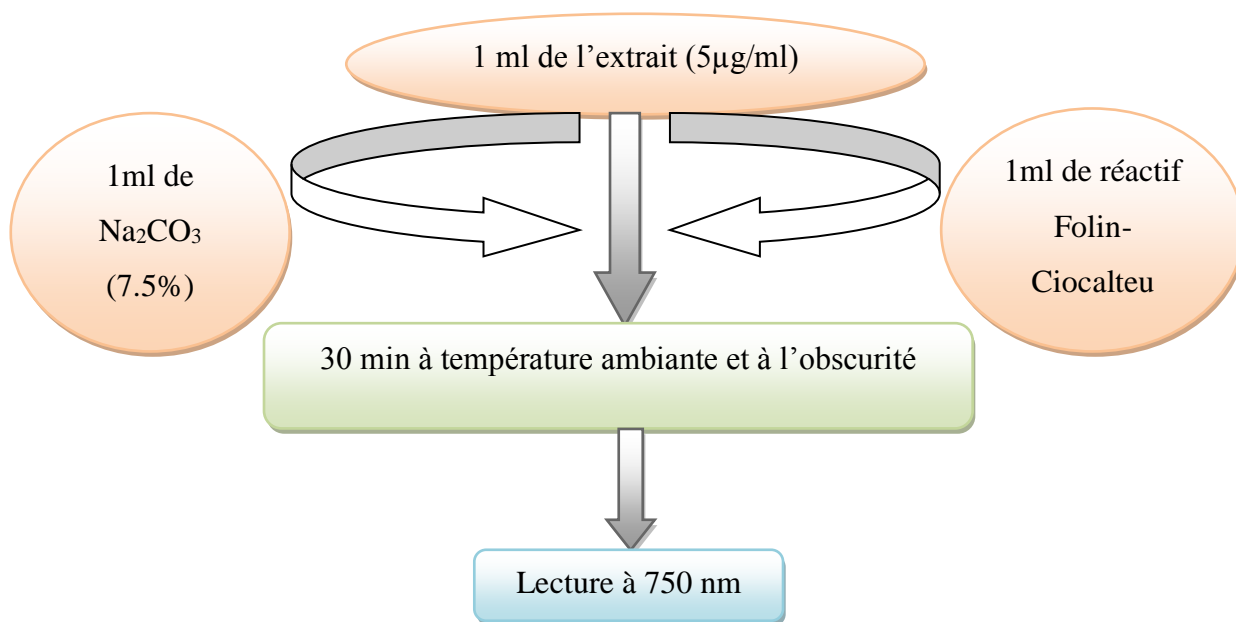


Figure V.6 : Protocole de dosage des composés phénoliques

➤ Expression des résultats

La concentration des polyphénols totaux a été déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à différentes concentrations en acide gallique (mg/g) suivant le même

protocole de dosage des polyphénols exprimé en mg équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait sec (mg EAG/g Extrait sec).

V.3.2.1 Dosage des flavonoïdes totaux

➤ Principe

La quantification du contenu flavonoïdes des différents organes de la plante est estimée par la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3). Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par ce réactif (AlCl_3), elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 510 nm [127].

➤ Mode opératoire

1ml de l'extrait été ajouté dans un tube à essai, avec 1ml de (AlCl_3) (1g dans 50ml de méthanol).

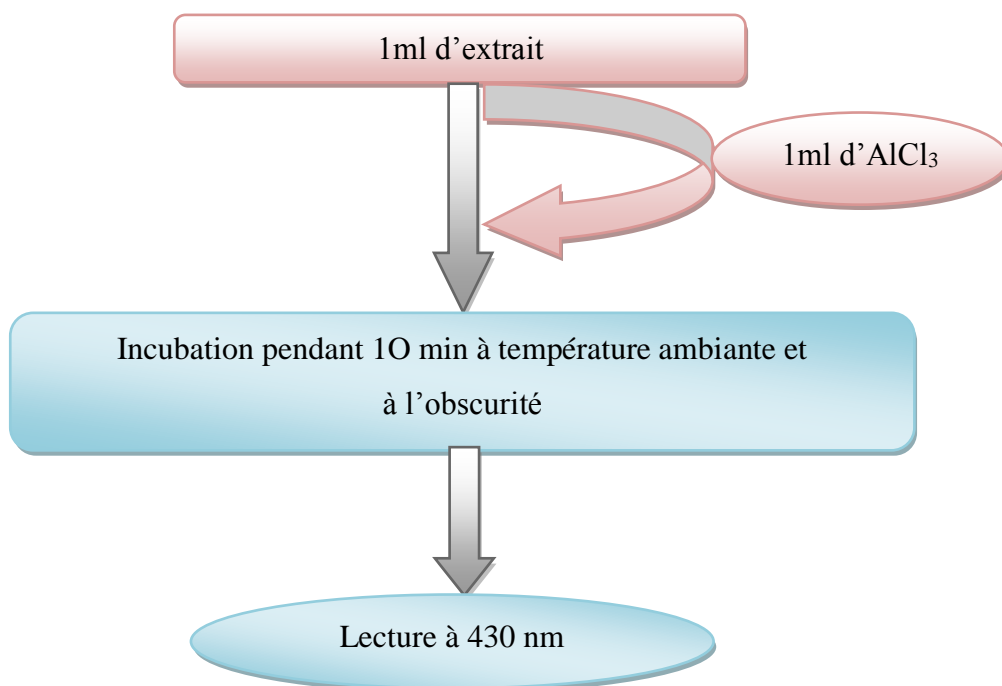


Figure V.7 : Protocole de dosage des composés des flavonoïdes

➤ Expression des résultats

La teneur en flavonoïdes est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage linéaire obtenue avec différentes concentrations (mg/g) de la quercétine utilisée comme standard.

Lateneur en flavonoïde est exprimée en milligramme d'équivalent de quercetine par gramme d'extrait (mg EQ/g Extrait sec).

V.3.3 L'analyse qualitative

V.3.3.1 Screening photochimiques

L'un des buts essentiels d'un test photochimique 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 [128].

Dans notre étude expérimentale nous avons utilisé les techniques standards décrites par Terease et Evans, Harborne, Bruneton [129.130.131].

a) Test pour la mise en évidence des flavonoïdes

Dans un tube à essai, introduire 1ml 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 1ml d'extrait à analyser, ajouter 0.5ml d'une solution aqueuse de 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 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 75ml de l'eau distillée 2g de KI et 1.27g de I_2 , le volume est ajusté à 100ml 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 l'extrait, on ajoute quelques gouttes de NaOH, l'apparition d'une 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 NH_4OH à 10%, mélanger et observer sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

V.4 Evaluation de l'activité antioxydante

V.4.1 Test de piégeage du radical DPPH

V.4.1.1 Principe

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution. Il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris à 517 nm. Sa couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine (jaune) par un composé à propriété antiradicalaire, entraînant ainsi une décoloration (Figure V.8). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [132].

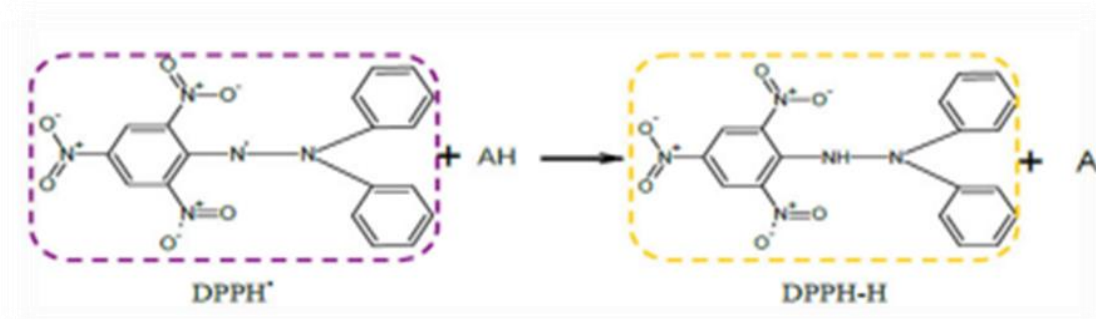


Figure V.8 : Forme réduite du radical DPPH [133]

V.4.1.2 Mode opératoire

Préparation d'une solution du DPPH à l'avance (1h) car la solubilisation est difficile. On dissout 2.32mg du DPPH dans 100ml de MeOH, puis on fait l'agitation pendant 1h à 4°C à l'obscurité. 50 μl de chaque solution éthanolique des différents extraits à différentes concentrations sont ajoutés à 1950 μl d'une solution éthanolique de DPPH, un blanc a été préparé en parallèle, en mélangeant 50 μl de l'éthanol avec 1950 μl d'une solution éthanolique de DPPH à la même concentration utilisée, en ce qui concerne le contrôle négatif.

Après incubation à l'obscurité pendant 30 minutes dans le bain à ultrasons, l'activité antiradicalaire des extraits vis-à-vis du radical DPPH^{*} a été évaluée par spectrophotométrie UV visible en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 515nm [134]. En calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant (PI%), qui est donné selon la formule suivante :

$$PI\% = [(A(\text{control négative}) - A(\text{extrait})) / A(\text{control négative})] \times 100$$

A (control négative) : Correspond à l'absorbance de la solution (DPPH) sans antioxydant après le temps de réaction.

A (extrait): Correspond à l'absorbance de la solution d'échantillon avec DPPH après le temps de réaction.

Puis on peut tracer la courbe, qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait. Cela permet de déterminer l'IC₅₀, la concentration de l'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de forme réduite du radical DPPH. Il faut rappeler que plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité antioxydant d'extrait est grande.

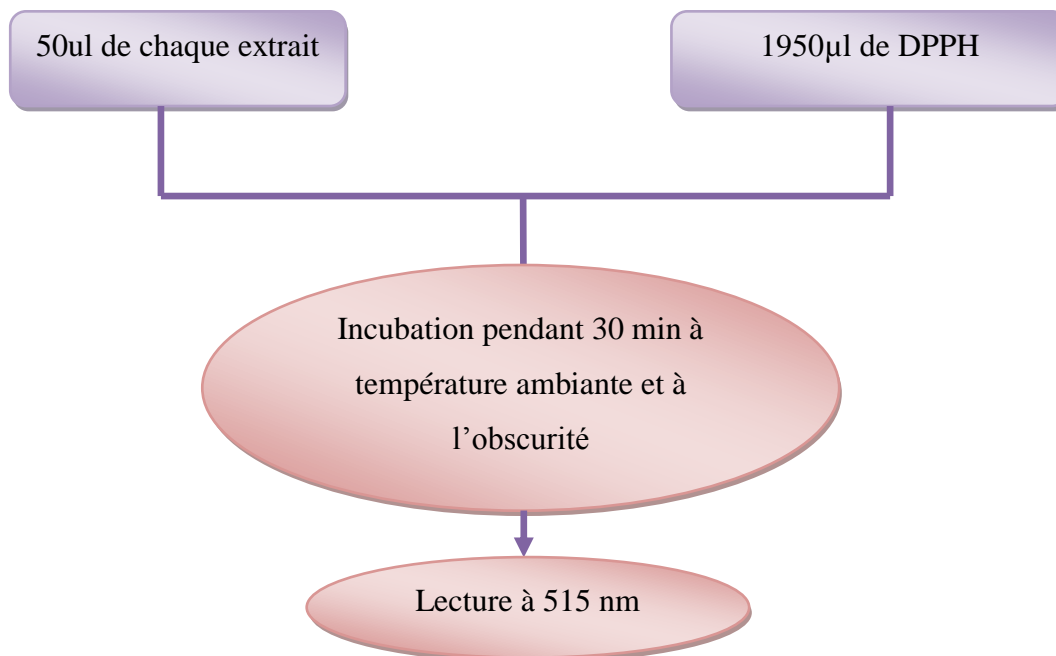


Figure V.9 : Protocole d'étude de l'activité antiradicalaire

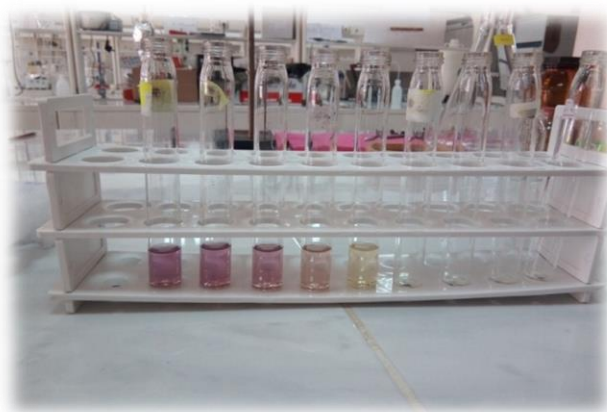


Figure V.10 : Test d'activité antioxydant par la réduction du radical DPPH

V.4.2 Test de réduction de fer (FRAP)

V.4.2.1 Principe

Cette méthode est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}), et permet d'évaluer le pouvoir réducteur des composés. La présence des réducteurs (AH) dans les composés à tester provoque la réduction du complexe Fe^{3+} ferricyanure à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm [135].

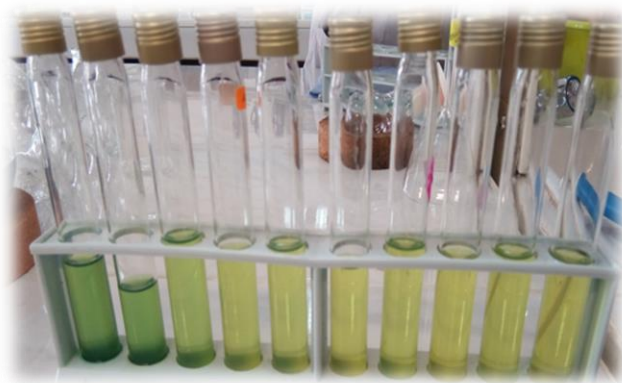


Figure V.11 : Coloration bleu cyanée de la réduction de fer

V.4.2.2 Mode opératoire

Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2.5ml d'une solution tampon phosphate 0.2 M (PH 6.6) et 2.5ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min. Ensuite 2.5ml

d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10min puis ajouté 2.5ml d'eau distillée et 0.5ml d'une solution aqueuse de FeCl_3 (Chlorure ferrique) à 0.1%. La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm [136].

V.4.3 Test de piégeage du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$

V.4.3.1 Principe

La méthode d'ABTS est basée sur la capacité d'une molécule à piéger le radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ de couleur bleu vert pour le convertir à la forme non radicalaire incolore [137]. L'ABTS est préalablement oxydé avec du persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) pour former le radical cationique $\text{ABTS}^{\bullet+}$ de coloration bleu-vert (Figure V.12). L'addition d'un composé antioxydant engendre la réduction, donc l'activité antioxydant est déterminée par la décoloration de la solution et s'exprime par le pourcentage d'inhibition (PI) de l'absorbance à 734 nm, longueur d'onde à laquelle le radical présente $\text{ABTS}^{\bullet+}$ une bande d'absorption caractéristique [138.139].

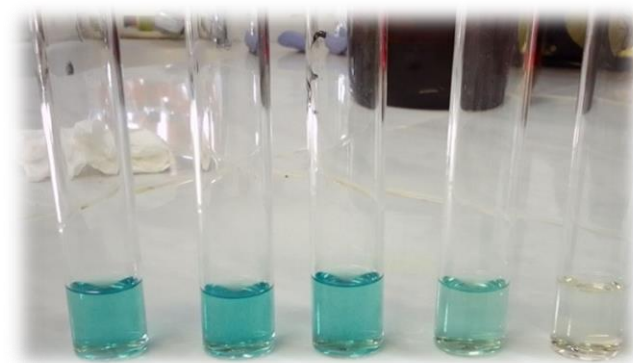


Figure V.12 : Coloration bleu-vert d'ABTS

V.4.3.2 Mode opératoire

50 μl de chaque solution a été ajouté à 1950 μl de solution $\text{ABTS}^{\bullet+}$ diluée dans l'éthanol. Parallèlement, un blanc a été préparé en parallèle, en mélangeant 50 μl de l'éthanol avec 1950 μl d'une solution éthanolique de ABTS, l'absorbance a été mesurée après 1 heure d'incubation à température ambiante à 734 nm [139].

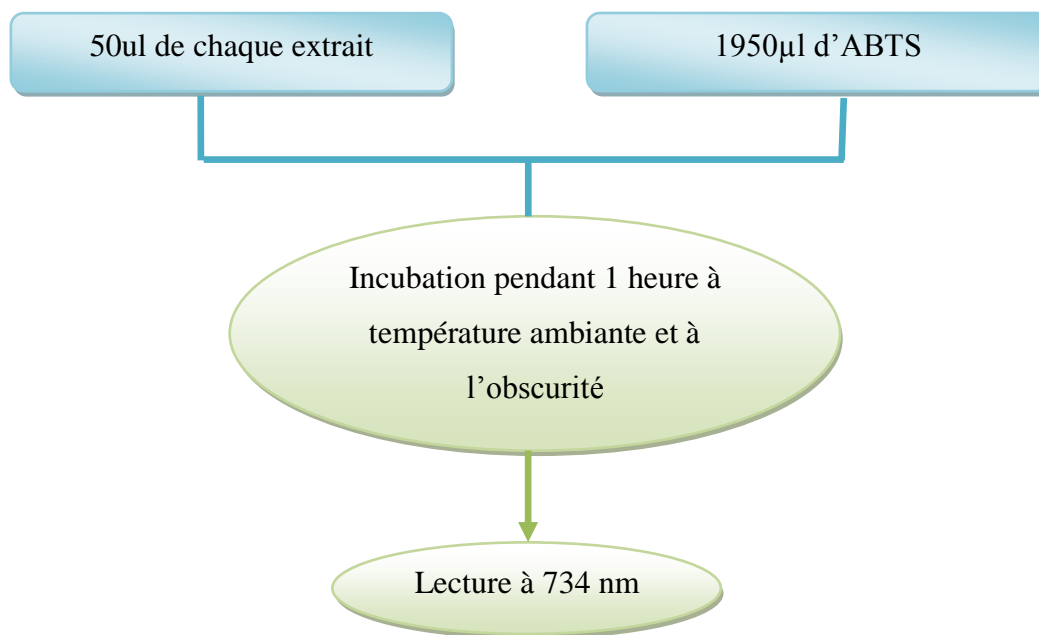


Figure V.13 : Protocole d'étude de l'activité antiradicalaire

V.5 Etude chimique des huiles essentielles

V.5.1 Procédé d'extraction des huiles essentielles

Dans un ballon de 2000ml, on introduit 100g de feuille de *Verbena officinalis* et l'eau distillée. Le mélange est chauffé à reflux pendant 4 à 5h à 100°C. Le ballon est reliée à l'aide d'un raccord à un réfrigérant. Ce, dernier permet de condenser les vapeurs provenant du mélange. La vapeur d'eau va entraîner les molécules odorantes et va passer dans le réfrigérant à eau où le mélange est rendu liquide. Les vapeurs chargées d'huiles se condensent en traversant le réfrigérant, et l'hydrodistillat obtenu est récupérée dans une ampoule à décanter, sachant que l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. Les huiles essentielles sont conservées dans un flacon en verre opaque à 4°C à l'abri de la lumière.

V.5.2 Calcule du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite et la masse de la plante sèche traitée. Le rendement en pourcentage (R%)est calculé par la formule suivante : $R\% = m_{HE}/m_p \times 100$

Où :

R: rendement d'huile essentielle en %.

m_{HE} : C'est la masse de l'huile essentielle extrait en g.

m_p : C'est la masse de la plante traitée en g.

V.5.3 Analyse chromatographique de la composition chimique des huiles essentielles

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles, extraites des plantes, a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-MS). Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse est une technique d'analyse qui possède plusieurs atouts : le chromatographe en phase gazeuse permet de séparer les constituants d'un mélange. Le spectromètre de masse associé permet d'obtenir le spectre de masse de chacun des constituants et bien souvent de les identifier [140].

V.5.3.1 Principe

L'identification des composés a été réalisée par comparaison de leurs spectres de masse ou se passe la fragmentation des molécules. Cette fragmentation se produit lors d'un bombardement sous vide par des électrons d'énergie contrôlée. La séparation des ions ainsi formés, faite selon leur rapport masse/charge dans un tube analyseur, constitue le principe de base de la spectrométrie de masse.

V.5.3.2 Condition opératoire

- Colonne : OV1701 (25m)
- Epaisseur de film 0,25 μ m
- Gaz vecteur : Hélium
- Energie d'ionisation : 70 Ev
- Température de l'injecteur : 230°C
- Température de détecteur : 280°C
- Programmation du four 70°C pendant 3 min, 130°C pendant 5min, 3 min à 240°C
- Injecteur mode split

CHAPITRE VI: RESULTATS ET DISCUSSION

VI.1 Extraction liquide- liquide

Cette étape repose sur la spécificité et la polarité des solvants organiques utilisés :

- Extraction par le chloroforme : qui est un solvant organique apolaire, entraîne souvent les composés apolaires.
- Extraction par l'acétate d'éthyle : qui est un solvant moyennement polaire, extrait généralement les molécules moyennement polaires.
- Extraction par le n-butanol : qui est un solvant polaire, entraîne essentiellement les composés polaires.

VI.1.1 Le rendement des extraits des trois phases

Les trois extraits récupérés après évaporation à sec, ont été pesés pour déterminer la masse sèche obtenue, les résultats sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau VI-1 : Résultats obtenus des extraits

Matière végétale	Extrait	Masse	Rendement
100g	Chloroforme	0.59 g	0.59 %
	Acétate d'éthyle	0.817 g	0.817 %
	n-butanol	7.11 g	7.11 %

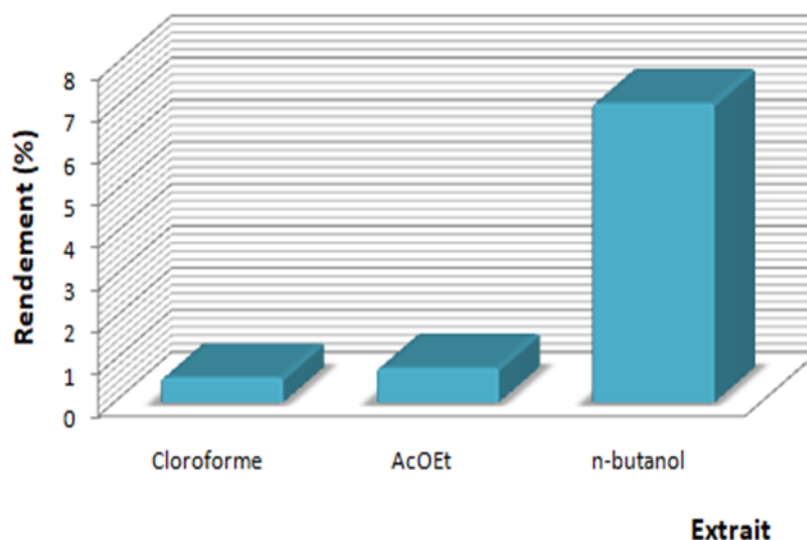


Figure VI.1 : Histogramme représentatif du rendement des trois extraits

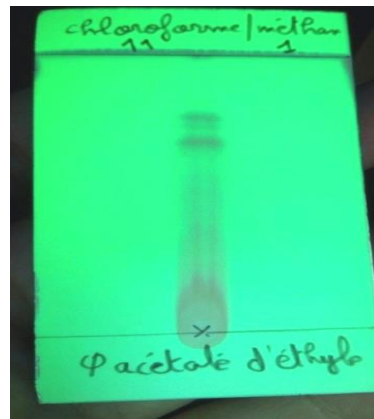
D'après les résultats obtenus, on constate que l'extrait n-butanolique présente le rendement le plus élevé, donc il est le plus riche en métabolites secondaires, puis l'extrait acétate d'éthyle et enfin l'extrait chloroformique qui est le moins riche.

VI.1.2 Résultats de la CCM de l'extrait CHCl_3 et d'AcOEt et n-butanol

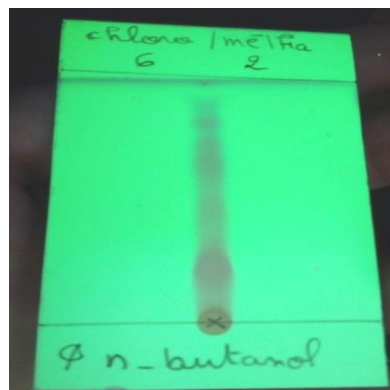
Après plusieurs essais des systèmes d'élution, on a trouvé la phase mobile adéquate pour la séparation des différents composants des extraits. Les plaques CCM révèlent une série de taches indiquant la richesse de chaque extrait en produits.



Système : (chloroforme/acétate d'éthyle : 2/1)



Système : (chloroforme/méthanol : 6 /2)



Système : (chloroforme/méthanol : 11/1)

Figure VI.2 : Résultats de la CCM des trois phases

VI.2 L'analyse des extraits

VI.2.1 L'analyse quantitative

VI.2.1.1 Teneur en polyphénols

La teneur en polyphénols totaux estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu pour chaque extrait à partir d'une gamme étalon établie avec différentes concentrations d'acide gallique qui est utilisé comme un référence (l'équation standard de courbe : $Y = 0.0578x - 0.0058$; $R^2 = 0.9981$) (figure VI.3). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait sec (mg EAG/1g EXS). En plus de sa sensibilité, cette méthode de dosage représente une reproductibilité puisque l'absorbance est proportionnellement liée à la concentration d'acide gallique utilisé dans la gamme d'étalonnage.

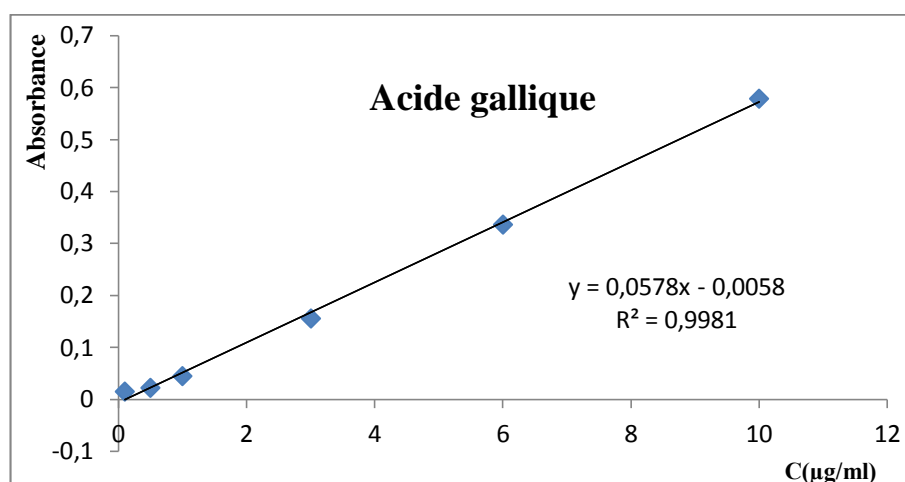


Figure VI.3 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats de l'analyse quantitative obtenus par spectrophotométrie UV-visible des trois extraits : chloroformique, acétate d'éthyle et n-butanolique, des parties aériennes de la plante sont représentés dans la figure (VI.4).

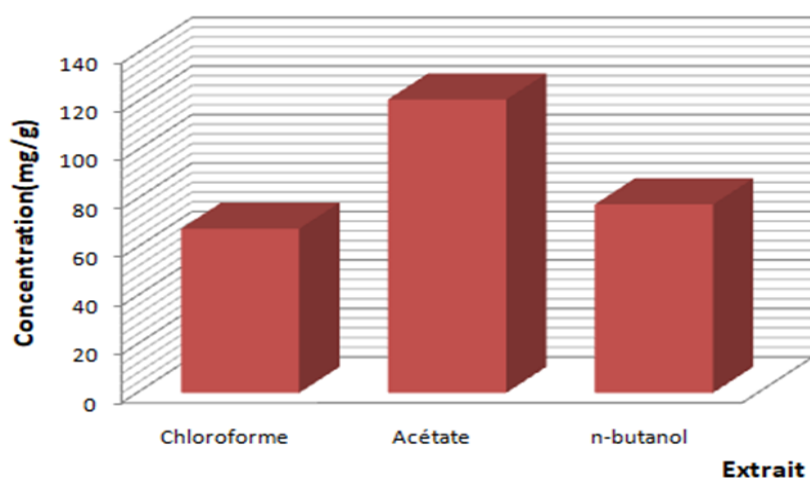


Figure VI.4: Teneur en polyphénols des extraits ; CHCl_3 ; AcOEt et n-BuOH

Tableau VI-2 : Résultats de la quantification spectrophotométrique des polyphénols totaux

Phase	Chloroforme	AcOEt	n-butanol
Teneur en mg EAG/g EXS	67.74	121.04	77.78

D'après les résultats, on constate que tous les extraits de la plante sont riches en polyphénols mais avec des pourcentages différents. Le tableau (VI.1) montre que le acétate d'éthyle représente la teneur la plus élevée (121.04 mg EAG /g EXS) suivi par n-butanol (77.78 mg EAG /g EXS) et l'extrait Chloroformique (67.74 mg EAG/g EXS).

VI.2.1.2 Teneur en flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes dans les extraits ont été estimées par la méthode utilisant AlCl_3 . Une couleur jaune est observée après l'ajout du trichlorure d'aluminium à la solution éthanolique de la quercétine, qui est un flavonoïde très connu de la famille des flavonols, ce dernier est utilisé comme une référence pour la réalisation de la courbe d'étalonnage dans la gamme de concentration (80 à 320 mg/g). Les résultats sont représentés sur l'histogramme de (figure VI.5). La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg EQ /g EXS).

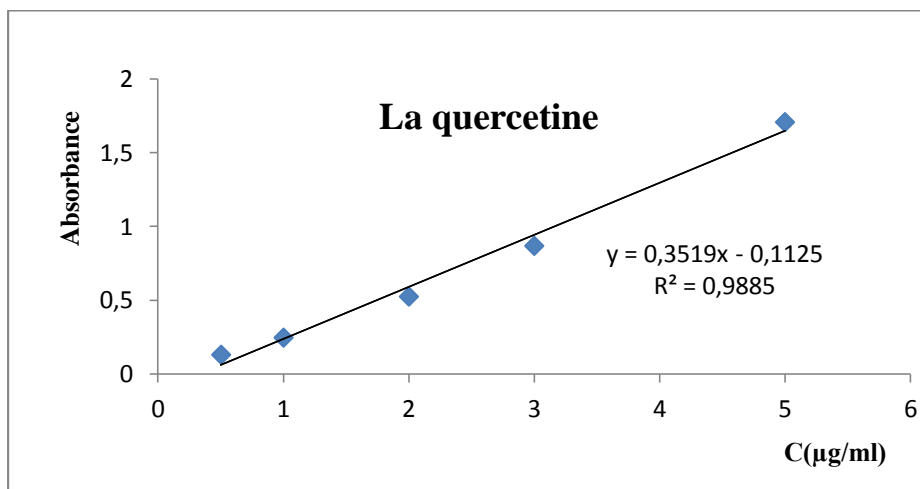


Figure VI.5 : Courbe d'étalonnage de la quercétine

L'histogramme en flavonoïdes des extraits CHCl_3 , AcOEt et n-BuOH sont présentées dans la figure suivante :

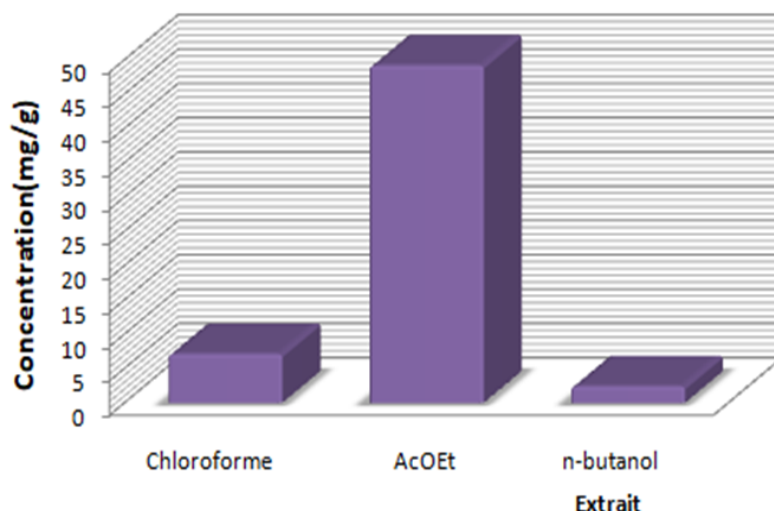


Figure VI.6 : Teneur en flavonoïdes des extraits

Tableau VI-3 : Résultats de la quantification spectrophotométrique des flavonoïdes totaux

Phase	Chloroforme	Acétate d'éthyle	n-butanol
Teneur en mg EQ /g EXS	7.12	49.19	2.41

La détermination quantitative des flavonoïdes par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que l'extrait acétate est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de 49.19 mg EQ /g EXS suivi par l'extrait chloroforme et en dernière position on retrouve l'extrait n-butanol (2.41 mg EQ /g EXS).

VI.2.2 L'analyse qualitative

VI.2.2.1 Screening phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plantes, obtenue sur différents extraits préparés à partir des feuilles l'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 (VI.4) regroupe les résultats des tests chimiques réalisés sur la plante *Verbena officinalis*.

Les résultats ont été évalués comme suit :

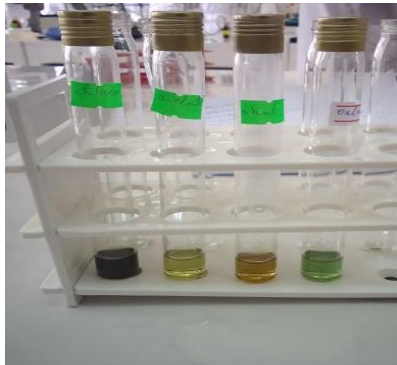
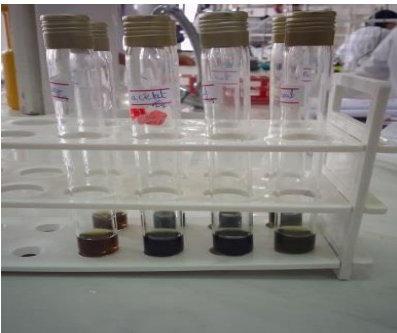
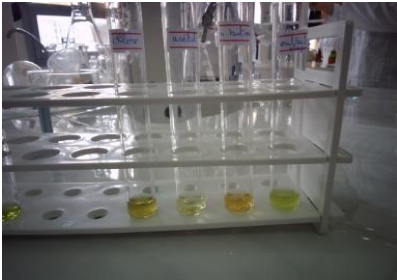
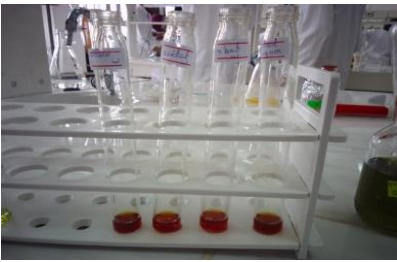
(+++): Abondant ;

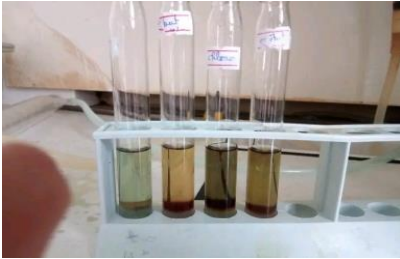
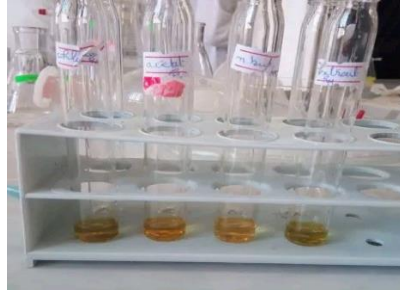
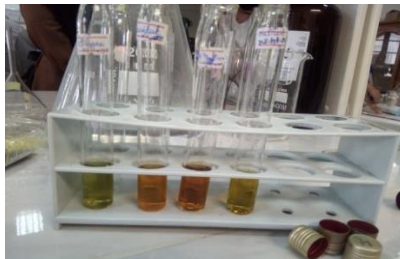
(++) : Moyennement abondant ;

(+) : Faiblement abondant ;

(-) : Absence ;

Tableau VI-4 : Criblage photochimique de *Verbena officinalis*

Métabolite Testé	Extrait	Couleur résulte	Résultats	Photographié des résultats
Flavonoïdes	Chloroformique	Coloration Bleu-noirâtre	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration Jaune	+	
	n-butanolique	Coloration Rouge	+	
Tanins	Chloroformique	Coloration Bleu-noirâtre	+++	
	Acétate d'éthyle	Coloration Bleu-noirâtre	+++	
	n-butanolique	Coloration Bleu-noirâtre	+++	
Alcaloïde traité par réactif de Mayer	Chloroformique	Coloration Jaune	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration Jaune clair	+	
	n-butanolique	Coloration Brun	++	
Alcaloïde traité par réactif de Wagner	Chloroformique	Coloration Rouge	-	
	Acétate d'éthyle	Coloration Rouge	-	
	n-butanolique	Coloration Rouge	-	

Terpénoïdes	Chloroformique	Formation de deux phases et un couleur marron	+++	
	Acétate d'éthyle		++	
	n-butanolique		+	
Quinones	Chloroformique	Marron	-	
	Acétate d'éthyle	Orange	+	
	n-butanolique	Orange	+	
Coumarines	Chloroformique	Fluorescence Vert	-	
	Acétate d'éthyle	Fluorescence jaune	+	
	n-butanolique	Fluorescence Jaune	++	

VI.2.3 L'activité antioxydant

VI.2.3.1 Evaluation de l'activité antioxydante par le test de piégeage du DPPH

L'activité anti radicalaire des extraits vis-à-vis le radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 515 nm. En calculant pour chaque concentration le pourcentage d'inhibition correspondant, pour cela on a tracé la courbe, qui représente la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'extrait. Cela permet de déterminer l'IC₅₀, la concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH.

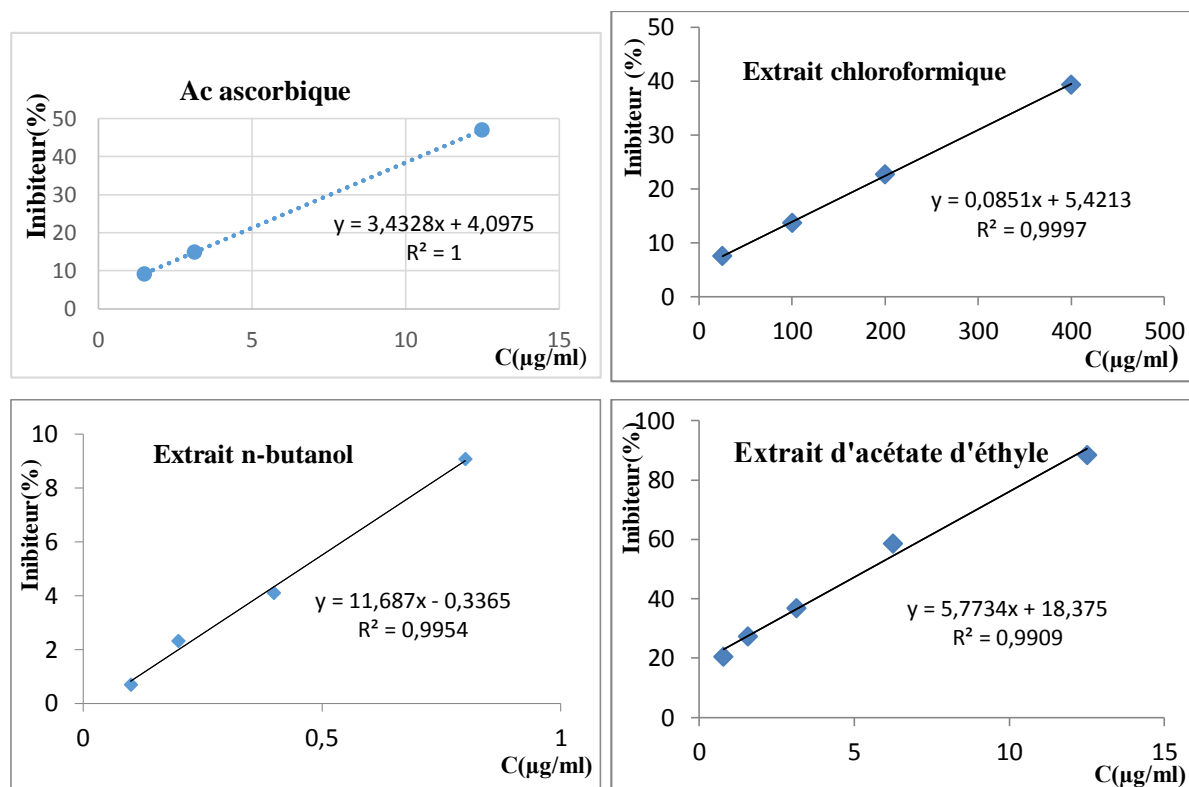


Figure VI.7 : Représentations graphique des pourcentages d'inhibitions du radical DPPH en fonction des concentrations

Tableau VI-5 : Activité antioxydante exprimée en IC_{50} des extraits de l'espèce *Verbena officinalis* et celui de l'acide ascorbique

Extrait	phases	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) \pm Ecart type
Les phases	Chloroformique	523.83 ± 41.28
	Acétate d'éthyle	5.47 ± 0.0056
	n-butanolique	4.3 ± 3.18
Acide ascorbique		13.37 ± 0.20

Les résultats obtenus montrent que l'ensemble des extraits étudiés de *Verbena officinalis* révèlent des propriétés antioxydants intéressantes ce qui se manifeste par des faibles valeurs

d'IC₅₀ notamment les extraits n-butanolique et acétate d'éthyle. L'extrait n-butanolique montre la meilleure activité antioxydant avec une IC₅₀ égale à 4.3µg/ml. Cependant, l'extrait chloroformique montre une activité antioxydant relativement faible avec une IC₅₀ égale à 523.83µg/ml. Il ressort donc que l'extrait n-butanolique constitue un bon piègeur des radicaux libres. De plus, il est clair que l'activité antioxydant des extraits varie proportionnellement avec la polarité des solvants utilisés. En effet, les extraits ayant la plus grande capacité de piégeage des radicaux sont les extraits obtenus par des solvants polaires et moyennement polaires ; n-butanol et acétate d'éthyle.

En comparant ces extraits avec le témoin positif antioxydant, l'acide ascorbique (IC₅₀ égale 13.37 µg/ml), nous constatons que l'extrait acétate d'éthyle et n-butanol est presque 3 fois plus actif que le témoin positif antioxydant, l'acide ascorbique (tableau VI.5).

VI.2.3.2 Evaluation de l'activité antioxydant au test de piégeage du FRAP

Le pouvoir réducteur d'un composé peut servir comme indicateur de son activité antioxydant, c'est l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) du complexe ferricyanure en fer ferreux (Fe²⁺). L'activité antioxydant totale a été mesurée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 700 nm. Une valeur élevée d'absorbance indique une activité antioxydant totale plus forte. Les graphes ci-dessous représentent la variation de l'absorbance en fonction des concentrations des extraits, cela permet de déterminer l'IC₅₀.

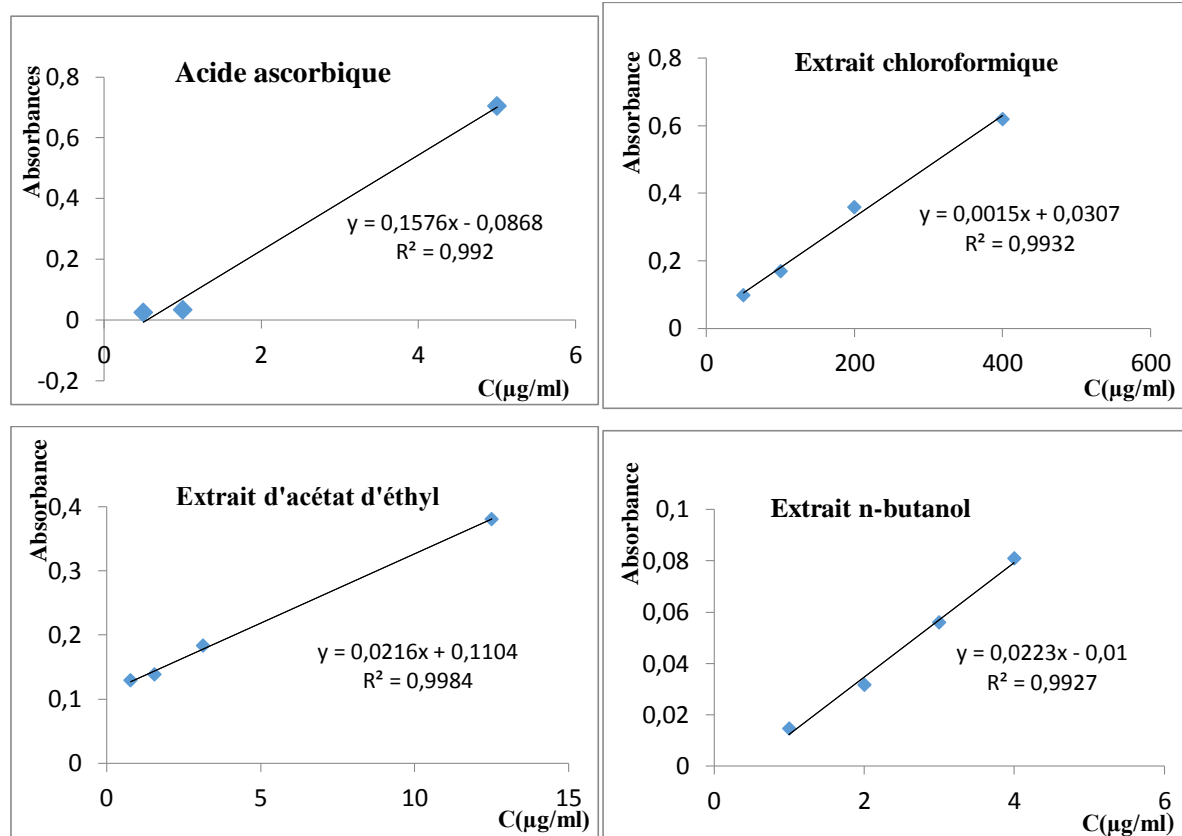


Figure VI.8 : Représentations graphiques des absorbances du radical FRAP en fonction des concentrations

Tableau VI-6 : Absorbance des composés à 10µg/ml

Extrait	phases	Absorbance
Les phases	Chloroformique	0.05
	Acétate d'éthyle	0.33
	n-butanolique	0.84
Acide ascorbique		0.34

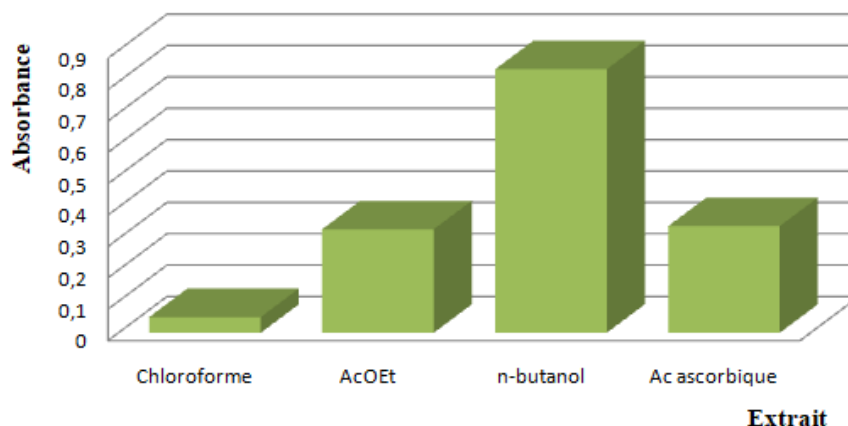


Figure VI.9 : Absorbance des extraits à concentration 10µg/ml

A une concentration de 10 µg/ml, les deux phases acétate d'éthyle et n-butanol présentent une absorbance importante. On remarque que l'acétate d'éthyle et l'acide ascorbique (produit de référence) ont la même activité. Cependant à cette concentration le n-butanol est plus actif par rapport à l'acide ascorbique.

VI.2.3.3 Evaluation de l'activité antioxydant au test de piégeage d'ABTS^{•+}

On fait rappel que la solution d'ABTS^{•+} a été produite par la réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium, conservée dans l'obscurité à la température ambiante pendant 12 à 16 h avant l'utilisation, différentes concentrations de solutions échantillons et témoin sont ajoutées à 1950 µl de la solution d'ABTS^{•+}, après incubation pendant 1h à l'obscurité et à température ambiante, les absorbances sont mesurées à 734 nm contre le blanc correspondant. Le pouvoir antioxydant est déterminé de façon à ce qu'une quantité de produit d'une concentration bien déterminée neutralise 50% du radical. Les graphes figure(VI.10) représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de chaque composé testé et de l'acide ascorbique utilisé comme référence.

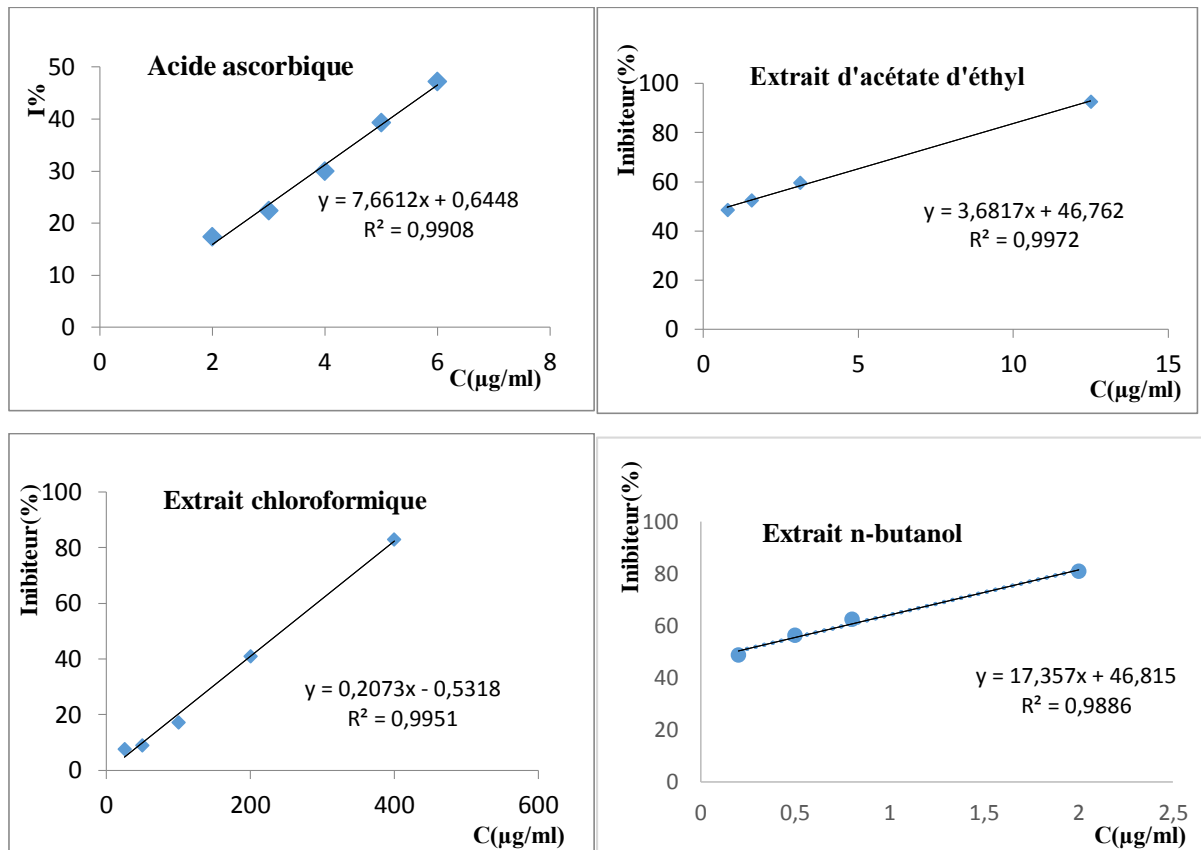


Figure VI.10 : Représentations graphiques des pourcentages d’inhibitions du radical ABTS⁺ en fonction des concentrations

Tableau VI-7 : Activité antioxydant exprimée en IC₅₀ des extraits de l’espèce *Verbena officinalis*

Extrait	Phases	IC ₅₀ (µg/ml)±Ecart type
Les phases	Chloroformique	243.76 ± 18.54
	Acétate d'éthyle	0.88 ± 0.45
	n-butanol	0.18 ± 0.09
Acide ascorbique		6.44±0.38

Les résultats obtenus montrent que l'ensemble des extraits étudiés de *Verbena officinalis* révèlent des propriétés antiradicalaires intéressantes ce qui se manifeste par des faibles valeurs d'IC₅₀ notamment les extraits n-butanolique et acétate d'éthyle. L'extrait n-butanolique montre la meilleure activité antioxydant avec une valeur IC₅₀ égale à 0.18 µg/ml qui est comparable à celle de l'acide ascorbique (IC₅₀ = 6.44 µg/ml). Cependant, l'extrait chloroformique avec IC₅₀ égale à 243.76 µg/ml qui montre une activité antioxydant relativement faible à celle du composé de référence. Il ressort donc que l'extrait n-butanolique constitue un bon piègeur des radicaux libres. De plus, il est clair que l'activité antioxydant des extraits varie proportionnellement avec la polarité des solvants utilisés (c'est-à-dire quand la polarité du solvant d'extraction augmente l'activité antioxydant aussi augmente). En effet, les extraits ayant la plus grande capacité de piégeage des radicaux sont les extraits obtenus par des solvants polaires et moyennement polaires ; n-butanol et acétate d'éthyle. Ces résultats peuvent être exprimés par la richesse de cette plante par des composés antioxydants polaires et moyennement polaires solubles dans le n-butanol et l'acétate d'éthyle, tel que les polyphénols.

VI.3 Les huiles essentielles

Dans cette partie on s'est intéressé à l'étude phytochimique de l'espèce *Verbena officinalis* ainsi que l'extraction des huiles essentielles et la détermination de la composition chimique de ces derniers, en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/MS.

VI.3.1 Rendement des huiles essentielles

- La masse de l'huile essentielle récupérée de l'espèce *Verbena officinalis* est de 1.12g
- La masse de la plante sèche est de 100g

Alors que :

Le rendement soit de (**R = 1.12%**), Ce qui confirme la richesse de notre huile essentielle de la plante *Verbena officinalis* en métabolites secondaires.

VI.3.2 Evaluation des composants chimiques des huiles essentielles de l'espèce *Verbena officinalis* par CG-MS

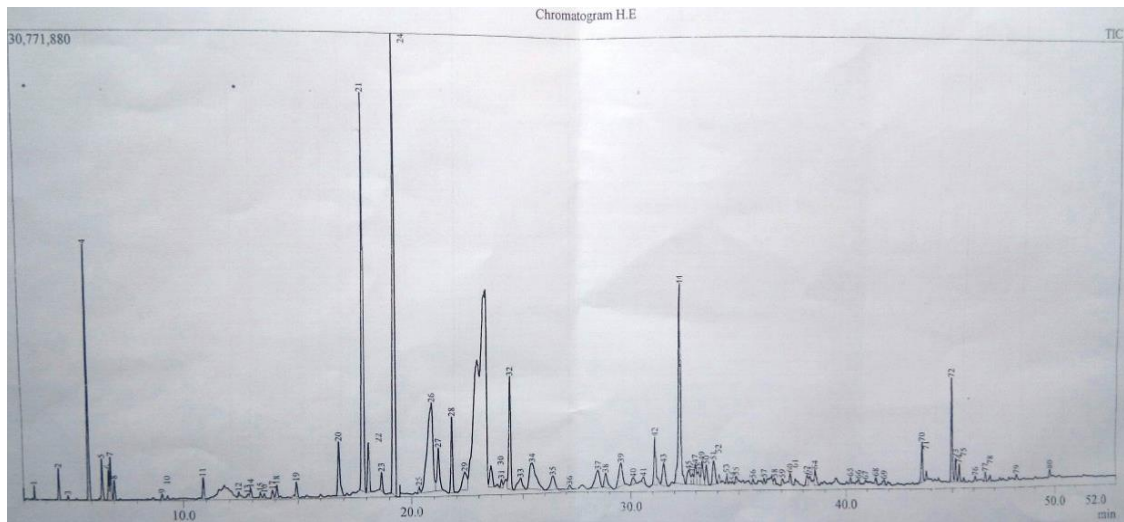


Figure VI.11 : Chromatogramme de CPG des HE de l'espèce *Verbena officinalis*

Tableau VI.8 : Composition chimique des huiles essentielles de l'espèce *Verbena officinalis*

N°	Aire%	Composé
1	0.21	α -Pinene
2	0.58	β -Phellandrene
3	0.08	β -Myrcene
4	5.10	D-Limonene
5	0.91	Eucalyptol

6	0.65	(Z)- β -Ocimene
7	0.90	Sulcatone
8	0.41	3-Octanol
9	0.13	D-Verbenone
10	0.08	Perillen
11	0.56	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-
12	0.10	Bicyclo[2.2.1]heptane,2-(3-methylbutyl)-
13	0.08	6-Octanal,3,7-dimethyl-, (R)
14	0.25	2,2-dimethylocta-3,4-dienal
15	0.15	Verbenol
16	0.12	(-)-Terpene-4-ol

17	0.22	Cyclopentanecarboxylic acid, 2-methyl-3-methylene-, methyl ester
18	0.36	3-Cyclohexene-1-carboxaldehyde, 1,3,4-trimethyl
19	0.39	α -Terpineol
20	1.90	Cis-Geraniol
21	13.18	Cis-Citral
22	1.50	Trans-Geraniol
23	0.55	Copaene
24	15.00	Trans-Citral
25	0.21	α -Cedrene
26	8.84	α -Nerolidol
27	1.87	Caryophyllene

28	2.20	Trans-Geranylacetate
29	1.44	Caryophylleneoxide
30	1.04	(-)-spathulenol
31	0.28	β -Cubebene
32	4.04	Curcumene
33	1.08	Nuciferol
34	3.22	Dihydrocurcumene
35	1.14	Cubinol
36	0.17	(+)-Longifolene
37	1.54	Tau-Cadinol
38	0.89	Cubenol

39	1.68	Spathulenol
40	0.37	(-)-Isosativene
41	0.22	Alpha cadinol
42	1.73	1,6,10-dodecatrien-3-ol-3,7,11-trimethyl-(E)
43	1.21	2-(4a,8-dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydro-naphtalene-2-en-1-ol
44	8.37	Spathulenol
45	0.82	Cedrol
46	0.42	6-(p-tolyl)-2-methyl-2-heptenol
47	0.79	Bis[3,4-dimethylbenzyl]sulfone
48	0.58	1-(2,4-diméthylphényl)-3(tétrahydrofuryl-2) propane
49	1	Caryophylleneoxide

50	0.8	1-heptatriacotanol
51	1.15	Spiro[4,5]dec-6-en-8-on-1,7-dimethyl-4-(1,methylethyl)
52	0.25	Naphthalene,1,2,3,4,4a,5,6,8aocahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-(1.α.,4a.α,8a.α)-
53	0.25	1H-cycloprop[e]azulène-7-ol, décahydro-1,1,7-triméthyl-4-méthylène-, [1ar-(1a.alpha,4a.alpha,7beta,7a.beta,7b.alpha)]-
54	0.16	Cyclohexane méthanol,4-ethenyl-alpha,alpha,4-trimethyl-3-(1-methylethyl),[1R-(1.alpha,3.alpha)]
55	0.23	1H-3a,7-methanoazulen-5-ol,octahydro-3,8,8-trimethyl-6-methylene
56	0.16	Alpha-santalol
57	0.17	Caryophylleneoxid
58	0.24	6-isopropenyl-4,8a-dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8,8a-octahydro-naphtalene-2-ol
59	0.21	tricyclo[4,4,0,0(2,7)dec-3-ene-3-methanol-1-methyl-8-(1-methylethyl)

60	0.3	2,6,11,15-tetramethyl-hexadeca- 2,6,8,10,14-pentaene
61	0.19	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene--2-ethanol,6,6- dimethyl
62	0.39	4,8,13-cyclotétradecatriene-1,3-diol- 1,5,9-trimethyl-1,2-(1-methylethyl)-
63	0.1	Aromadendrene oxide-(1)
64	0.6	2-pentadecanone-6,10,14-trimethyl-
65	0.18	Diepi-alpha-cedreneepoxide
66	0.12	Isoaromadendreneepoxide
67	0.08	Cyclopentanone, 3-[3,5-decadienyl]-, (E,E)-
68	0.21	Platambin
69	0.12	Aristoleneepoxide
70	1.1	n-Hexadecanoicacid

71	0.19	I-(+)-ascorbicacid 2,6-dihexadecanoate
72	2.27	Phytol
73	0.56	Phytol (iso)
74	0.47	2H-cyclopropa[g]benzofuranne, 4,5,5a,6,6a,6b-hexahydro-4,4,6b- triméthyl-2-(1-méthyléthényl)-
75	0.14	2,6,11,15-tétraméthyl-hexadéca- 2,6,8,10,14-pentaène
76	0.11	Cyclopentanone, 2-(5-oxohexyl)-
77	0.22	Nericacid
78	0.14	-Buten-1-on,1-(2,2,5a- trimethylperhydro-1-benzoxiren-1-yl)
79	0.17	3,7-nonadien-2-ol,4,8-dimethyl
80	0.21	Tétracosane

L'analyse par CG-MS des huiles essentielles de l'espèce *Verbena officinalis* obtenues par hydrodistillation de la matière végétale sèche, a permis d'identifier 80 constituants représentant (35%) des monoterpènes oxygénés, (7%) des monoterpènes, (35%) des

sésquiterpènes oxygénés, (11%) des sésquiterpènes, (12%) d'autres composés. Dont les composés les plus majoritaires sont : Trans-Citral (15%), Cis-Citral (13.18%), α -Nerolidol (8.84%), Spathulenol (8.37%), -Limonene (5.1%), Curcumene (4.04%). D'après les résultats obtenus, on conclut que le principe actif des huiles essentielles de l'espèce *Verbena officinalis* est le Trans-Citral à un pic très intense (Aire = 15%).

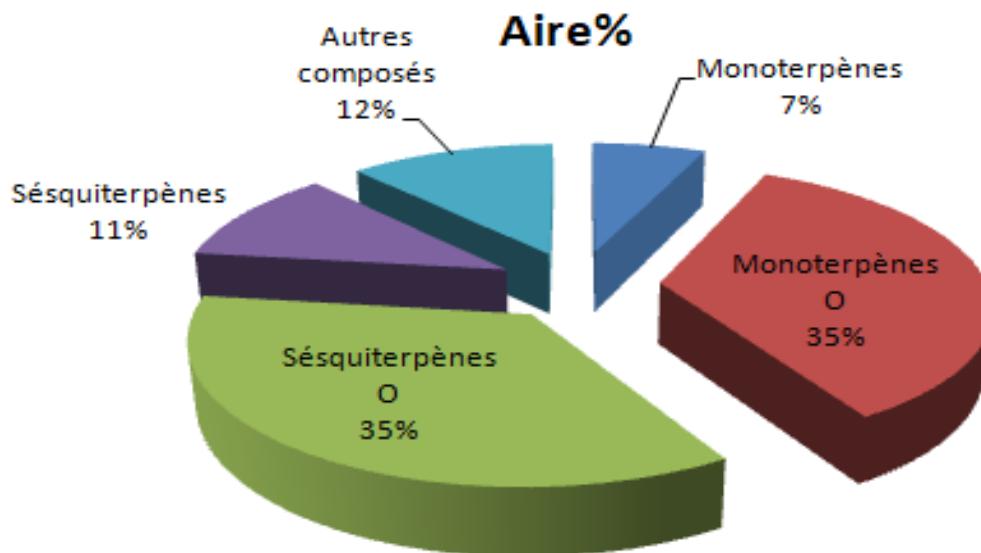


Figure VI.12 : Familles des composés identifiés de l'espèce *Verbena officinalis*

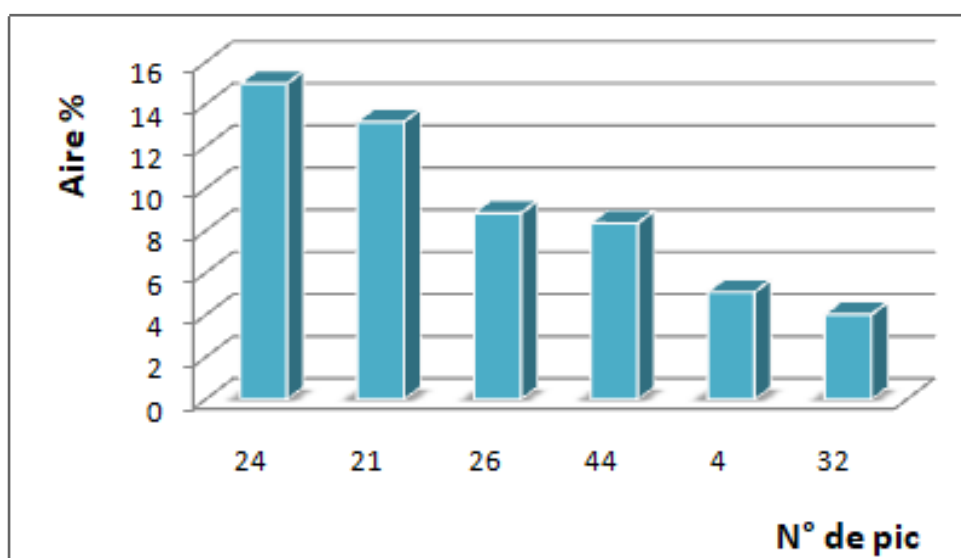


Figure VI.13 : Représentation graphique des composés les plus majoritaires des HE de l'espèce *Verbena officinalis*

CONCLUSION GENERALE

Ce travail a été pour nous une très bonne expérience, ainsi qu'une bonne initiation à la recherche scientifique et ceci grâce au travail de laboratoire et la recherche bibliographique réalisé sur La plante *Verbena officinalis*.

- Les résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant des extrait par la méthode de piégeage du radical-cation ABTS montre que l'extrait n-butanolique est doué d'un pouvoir antioxydant important ($IC_{50} = 0.18 \mu\text{g/ml}$) et qui est comparable à celui de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 6.44 \mu\text{g/ml}$), suivi de l'acétate d'éthyle ($IC_{50} = 0.88 \mu\text{g/ml}$). Bien que l'extrait Chloroformique ($IC_{50} = 243.76 \mu\text{g/ml}$) possède un effet faible par rapport à l'acide ascorbique.

- Ensuite nous avons évalué le pouvoir réducteur des extraits par la méthode de réduction de fer (FRAP), les résultats obtenus ont montré que la phase n-butanol présente une meilleure activité est plus actif que l'acide ascorbique (produit de référence), l'acétate d'éthyle et l'acide ascorbique ont la même activité.

- Les résultats de l'évaluation du pouvoir antioxydant des extrait par la méthode de piégeage du radical-cation DPPH montre que l'extrait n-butanolique est doué d'un pouvoir antioxydant important ($IC_{50} = 4.3 \mu\text{g/ml}$), qui est comparable à celui de l'acide ascorbique ($IC_{50} = 13.37 \mu\text{g/ml}$), suivi de l'acétate d'éthyle ($IC_{50} = 5.47 \mu\text{g/ml}$). Bien que l'extrait Chloroformique ($IC_{50} = 523.83 \mu\text{g/ml}$) possèdent un effet faible par rapport à l'acide ascorbique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE :

- [1] **Iserin, P. (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2 London : Larousse .
- [2] **Muthul, C., Muniappan, A., Nagappan, R., &Savarimuthu, I. (2006).** Medicinal plants used by traditional healers in Kancheepuram District of TamilNado. *J Ethnomed*, Vol 2, (N43).
- [3] **Ramli, I. (2013).** Etude, in vitro, de l'activité anti leishmanienne de certaines plantes médicinales locales : cas de la famille des lamiacées. Thèse du magister en Biologie appliquée, Université de Constantine.
- [4] **Mohammedi, S. (2013).** *Phytothérapie : la première médecine du monde*. Santé-MAG, 18 (18).
- [5] **Sanago, R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle.
- [6] **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris.
- [7] **Bouزيد, A., Chadli, R., & Bouزيد, K. (2017).** Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale. *Phytothérapie*, 15(6), 373-378.
- [8] **Jorite, S. (2015).** La phytothérapie, une discipline entre passé et futur: de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. *Sciences pharmaceutiques*.
- [9] **Létard, J. C., Canard, J. M., Costil, V., Dalbiès, P., Grunberg, B., & Lapuelle, J. (2015).** Phytothérapie–Principes généraux. *Hegel*, (1), 29-35.
- [10] **Strang, C. (2006).** Larousse médical : Ed Larousse, p.6-7.
- [11] **PAUL, I ET al, (2001),** Larousse des plantes médicinales : identification, préparation et soins, Larousse).
- [12] **Schlienger, J. L. (2014).** Diabète et phytothérapie: les faits. *Médecine des maladies Métaboliques*, 8(1), 101-106.
- [13] **Dilhuydy, J. (2005).** Les médecines complémentaires et alternatives en cancérologie : traitements inédits ou pratiques inapprouvées, 27e journées de la SFSPM, Deauville, France, 396-416p

- [14] **Simou Y. (2001).** Mills, Evidence for the clinician a pragmatic framework for phytotherapy, *The European Phytojournal - ESCOP*, Issue 2.
- [15] **Grunwald, J. Janick, C. (2006).** guide de la phytothérapie. 2^{ème} édition. Italie : marabout.
- [16] **Dutertre J. (2011).** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse. Doc. Univ. Bordeaux 2 - Victor Segalen. U.F.R des sciences médicales.120p.
- [17] **Sanago R. (2006).**Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.
- [18] **Bahorun, T. (1997).** *Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle.* AMAS. Food and agricultural rsearchcouncil. Reduit. Mauritius.
- [19] **Bahorun ,T.(1997).***Substances naturelles actives, la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle.* Food and Agricultural Research. Conseil Mauritius, Amas.
- [20] **Dro, B., Soro, D., Koné, M. W., Bakayoko, A., &Kamanzi, K. (2013).** Evaluation de l'abondance de plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle dans le Nord de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 17(3), 2631-2646.
- [21] **Anulika, NP., Ignatius, EO., Raymond, ES., Osasere, OI .,Abiola, AH. (2016).** *La chimie du produit naturel: les métabolites secondaires des plantes.* *Int. J. Technol. Enhanc. Emerg. Eng. Res* , 4 (8), 1-9.
- [22] **Lutge, U., Kluge, M., Bauer, G. (2002).**Technique et documentation. *Ed 3^{ème} Botanique Lavoisier* Paris. P 21.
- [23] **Amlan, K., Patra, J.S. (2010).** A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methano-genesis in the rumen, *phytochemistry*. 71. P 1198-1222.
- [24] **Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A. (2007).**Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*, 90. P 2580-2595
- [25] **Soualeh, N., Soulimani, R. (2016).** Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie*, 14(1), 44-57

- [26] **Bilia, A. R., Guccione, C., Isacchi, B., Righeschi, C., Firenzuoli, F., Bergonzi, M. C. (2014).** *Essential oils loaded in nano systems: a developing strategy for a successful therapeutic approach.* Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.
- [27] **Véronique, L. C. (1971).** Toxicité des huiles essentielles (Doctoral dissertation, Université Paul-Sabatier).
- [28] **Guenther, E. (1948).** The essential oils: history, origin in plants, production and analysis, Vol 1, RE. Krieger publishing Co, Malabar
- [29] **Alitonou, GA., Tchobo, FP., Sessou, P.,etal. (2013).** *Chemical composition, antiradical and anti-inflammatory activities of four annonaceae from Benin.* IJPCBS 3:914–23.
- [30] **Dung, NT., Kim, JM., Kanga, SC.(2008)** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb) Merr and Perry buds. Food Chem Toxicol 46 3632-9.
- [31] **Spichiger, R. E. (2002).** Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. PPUR Presses Polytechniques, Lausanne, Suisse.
- [32] **Serrato-Valenti, G., Bisio, A., Cornara, L., Ciarallo, G. (1997).** *Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of Salvia aurea L. leaves, and chemical analysis of the essential oil.* Annals of Botany, 79(3), 329-336.
- [33] **Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., Zachariah. T. J. (2008).** *Chemistry of spices.* Édition CABI, Londres, Royaume-Uni.
- [34] **Benzeggouta, N., (2004).** Etude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Infusées de Quatre Plantes Médicinales Connues Comme Aliments, Thèse de doctorat, Université Mentouri de Constantine, Algérie.
- [35] **Belkhiri, F.Z. (2015).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.*, Mémoire, Université Mohamed khider-Biskra, Algérie.
- [36] **Pierron, C. (2014).** Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie gérontologie et soins palliatifs, Thèse de doctorat, Université de Lorraine, France.
- [37] **Sahraoui, Dr. (2014).** Les Huiles Essentielles, UN1901. Laboratoire de pharmacognosie.

- [38] **ZABEIROU, HACHIMOU.** (2005). Etude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha Spicta L*) et de la Poivree (*Mentha Piperita L*) dans la région d'Ouargla, Mémoire, Université de KasdiMerbbah-Ouargla, Algérie.
- [39] **Seddik, M.** (2010). Analyse physico-chimique, chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle d'*Ammoides Verticillata* de la région d'Adrar. Etude de son activité biologique et anti-oxydante, Mémoire, Université d'Oran Es-Senia, Algérie,
- [40] **Cu, J. Q.** (1990). Extraction de compositions odorants végétales par divers solvants organiques. Thèse de l'Institut Nationale Polytechnique. Toulouse, France.
- [41] **Paris, M., Hurabielle. M.** (1980). Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie), Tome 1 Paris.
- [42] **Cavalli, J. F.** (2002). Caractérisation par CPG/IK, CPG/ SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar, Thèse université de Corse Pascal Paoli.
- [43] **Attou, A.** (2017). Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) Etude de Leurs Activités Antioxydante et Antimicrobienne [Thèse de Doctorat en Biologie], Algérie, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers,
- [44] **Atittallah, N.** (2013). Extraction et bioactivités des huiles essentielles de deux plantes aromatiques algériennes [Master académique], Algérie, Université de Msila, Faculté des sciences.
- [45] **Valnet, J.** (1984). Aromathérapie. *Traitement des maladies par les essences des plantes.* Maloine S.A. éditeur. Paris. **P 544**
- [46] **Salle, J.L., Pelletier, J.** (1991). *Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie.* Ed. Frison-Roche, **P 19-45**
- [47] **Lahlou, M.** (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435-448.
- [48] **Bousbia, N.** (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).

- [49] **Belsito, E. L., Carbone, C., Di Gioia, M. L., Leggio, A., Liguori, A., Perri, F., Viscomi, M. C. (2007).** Comparison of the volatile constituents in cold-pressed bergamot oil and a volatile oil isolated by vacuum distillation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7847-7851.
- [50] **Ferhat, M. A., Boukhatem, M. N., Hazzit, M., Chemat, F. (2016).** Rapid extraction of volatile compounds from Citrus fruits using a microwave dry distillation. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(3), 753-781.
- [51] **Pharmacopée Européenne. (2007).** Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM), Strasbourg, France.
- [52] **Raaman, N. (2006).** Phytochemical techniques. New India Publishing, New Delhi, Inde.
- [53] **Kaloustian, J., Hadji-Minaglou, F. (2012).** La connaissance des huiles essentielles: Qualitologie et aromathérapie: entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. *Collection Phytothérapie pratique*, Springer-Verlag, Paris, France.
- [54] **Masango, P. (2005).** Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, 13(8), 833-839.
- [55] **Gavahian, M., Chu, Y. H. (2018).** Ohmic accelerated steam distillation of essential oil from lavender in comparison with conventional steam distillation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 50, 34-41.
- [56] **Farhat, A. (2010).** Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).
- [57] **Walton, N. N. J., Brown, D. D. E. (1999).** *World Scientific*. Chemicals from plants: perspectives on plant secondary products.
- [58] **Lucchesi, M. E. (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, France.
- [59] **Boukhatem, M. N. (2018).** Plantes Aromatique et Médicinale : le Géranium Odorant. Description Botanique, Composition Chimique et Vertus Thérapeutiques. Editions Universitaires Européennes.

- [60] Bruneton, J. (1999). Huiles essentielles. 2^{ème} Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Edition Tec & Doc, 3^{édition}, Lavoisier, Paris, France.
- [61] Lucchesi, M. E., Chemat, F., Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2), 323-327.
- [62] Olivero-Verbel, J., González-Cervera, T., Güette-Fernandez, J., Jaramillo-Colorado, B., Stashenko, E. (2010). *Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(4), 568-574.
- [63] Wang, Z., Ding, L., Li, T., Zhou, X., Wang, L., Zhang, H., He, H. (2006). Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. And *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A*, 1102(1), 11-17.
- [64] Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Smadja, J., Chemat, F. (2006). An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*, 1112(1), 121-126.
- [65] Golmakani, M. T., Rezaei, K. (2008). Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydro-distillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*, 109(4), 925-930.
- [66] Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Visinoni, F., Vian, M. A., Chemat, F. (2008). Solvent free microwave extraction of essential oils. *Green chemistry in the teaching laboratory*. *Chimica Oggi*, 21-23.
- [67] Leszczynska, D. (2007). Management de l'innovation dans l'industrie aromatique: Cas des PME de la région de Grasse. Editions l'Harmattan, Paris, France.
- [68] Gomes, P. B., Mata, V. G., Rodrigues, A. E. (2007). Production of rose geranium oil using supercritical fluid extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, 41(1), 50-60.
- [69] Peterson, A., Machmudah, S., Roy, B. C., Goto, M., Sasaki, M., Hirose, T. (2006). Extraction of essential oil from geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical carbon dioxide. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 81(2), 167-172.

- [70] **Pereira, C. G., Meireles. M. A. A. (2010).** Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. *Food and Bioprocess Technology*, 3(3), 340-372.
- [71] **Guenther, E. (1948).** The essential oils: history, origin in plants, production and analysis, Vol 1, RE. Krieger publishing Co, Malabar
- [72] **EyeyeMveMba, C., Menut, C., Lamaty, G., et al. (1994)** Aromatic plants of tropical central Africa. Part XIX. Volatile components from leaves of two lamiaceae from Cameroon: leucas deflexa hook and Solenostemon monostachyus (P. Beauv) Briq Flav Fragr J 9:315.
- [73] **Ribereau-Gayou, J.B. (1968).** "The phenolic compounds of vegetals", Edition Dundo' Paris'.
- [74] **Ayoola, G.A., Ipav, S.S., Solidiya, M. O., Adepoju-Bello, A.A., Coker H. A. B. et Odugbemi, T. O. (2008).** Phytochemical screening and free radical scavenging activities of the fruits and leaves of *Allanblackia floribunda* Oliv (Guttiferae). *International journal of health research*, 1 (2): 81-93.
- [75] **Ruchika, J. N., Pandey, A. (2018).** Synthetic Metabolism and Its Significance in agriculture. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Synthetic Biology, Cell Engineering and Bioprocessing Technologies*, 365.
- [76] **Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, RL(2012).** Huiles essentielles dans la conservation des aliments: mode d'action, synergies et interactions avec les composants de la matrice alimentaire. *Frontiers in microbiology*.
- [77] **Padua de L.S. Bunyapraphatsara, N., Lemmens, R. H. M. J. (1999).** Plant Resources.
- [78] **Langenheim, J. H. (1990).** *Am.Scientist* .78, 16-2
- [79] **Britton, G. (1995).** *Structure and properties of carotenoids in relation to function.FASEB Journal*, P 1551–1558.
- [80] **Dubois, P. (1968).** *Plastiques modernes*, To meI, Massonet Cle Editeurs, Paris. P 421.
- [81] **Kahlouche-Riachi, F.(2014).** Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie.
- [82] **Khalili, A. M.(2005).** Extraction et effet antibactérien d'extraits polyphénoliques bruts de *Limonium pruinosum* (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

- [83] **Davies, A. J., Mazza, G. (1993).** Copigmentation of simple and acylated anthocyanins with colorless phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(5), 716-720.
- [84] **Kong, J. M., Chia, L. S., Goh. N. K., Chia. T. F., Brouillard, R. (2003).** *Analysis and biological activities of anthocyanins.* *Photochemistry*, 64(5), 923-933.
- [85] **HAVSTEEN, B. (1983).** *Biochem.Pharmacol.*32 141-148.
- [86] **TIMBERLAKE, C.F., HENRY, B.S., Endeavour.(1986).**10 31-36.
- [87] **CODY, V., MIDDLETON, E., J. B. HARBORNE. (1986).** *Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationship, New York, Alan. Liss.Inc.*
- [88] **KUHNAU, J., World, Rev., Nutr. Diet. (1976).**24 117-191.
- [89] **HACKETT, A. M. (1986).** *Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological and Structure-Activity Relationship.* V. Cody, E. Middleton and J.B. Harborne (Eds), 113-124, Alan R. Liss Inc. New York.
- [90] **DJORDJEVIC, M.A., REDMOND, J.W., BATLEY, M., B.C. ROLFE, the EMBO J. (1987).**1173-1179.
- [91] **ZAAAT, S. A., WIJFFELMAN, C. A., SPAINK, H. P., VAN BRUSSEL, A. A., OKKER, R.J. and LUGTENBERG, B.J.G., Bacterial.J.(1987).** 169 198-204
- [92] **BERE'IZ, A., CAZENAVE, J.P. (1988).** *Plant Flavonoids in Biology and Medicine II.* Progress in Clinical and Biological Research, V. Cody, E. Middleton and J.B. Harborne (Eds), 280 187-200 Alan R. Liss, New York.
- [93] **IWU, M.M., IGBOKO, O.A., OKUNJ, CO. ., TEMPESTA, M.S., Pham.Pharmacol,J. (1990).**42 290-292.
- [94] **PATHAK, D., PATHAK, K., SINGLA, A.K., (1991).** *Fitoterapia*, 62 371-385.
- [95] **Zimmer, N., Cordesse, R. (1996).** Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Productions animales*, 9(3), 167-179.
- [96] **Pérez Zamora, C. M., Torres, C. A., & Nuñez, M. B. (2018).** Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Verbenaceae species growing in South America. *Molecules*, 23(3), 544.

- [97] **Rahmatullah, M., Jahan, R., Azam, F. S., Hossan, S., Mollik, M. A. H., & Rahman, T. (2011).** Folk medicinal uses of Verbenaceae family plants in Bangladesh. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(5S).
- [98] **Nacoulma, O. G. (1996).** Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso : cas du plateau central. *Faculté des Sciences et Techniques, Université de Ouagadougou*, 320.
- [99] **Bocquillon, H. (1861).** *Revue du groupe des verbénacées.* Germer Baillière
- [100] **Xu, Z., Chang, L. (2017).** Verbenaceae. In *Identification and Control of Common Weeds: Volume 3* (pp. 163-179). Springer, Singapore.
- [101] **<https://www.mi-aime-a-ou.com/Verbenaceae.php>**
- [102] **Vigneau, C ;** « Plantes médicinales, thérapeutique- toxicité » ; Paris ; N°129 ; p 257.
- [103] **Eberhard, T., Robert, A., Annelise, L .1984;** « Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles »; Editions Tec & Doc; Lavoisier; Paris; pp488-489.
- [104] **Lenoir, L. 2011.** Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat: Université d'Auvergne-Clermont-Ferrand I.
- [105] **De Figueiredo, RO., Stefanini, MB, Ming, LC., Marques, M., Facanali, R. (2002).** Essential Oil Composition of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton Leaves Cultivated in Botucatu, São Paulo, Brazil, page 131-134
- [106] **Cheurfa, M., Allem, R, (2015).** Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla*. *Phytothérapie*, 14(3): 181-187.
- [107] **Ghédira, K., Goetz, P, (2017).** Verveine odorante *Aloysia citriodora* Paláu (*Lippia citriodora*). *Phytothérapie*, 15(1): 33-37.
- [108] **<https://www.aujardin.info/plantes/verbena-officinalis.php>**
- [109] **Arezki, S., D. Atoui., Bedjou, F.E. (2017).** Inhibition de la dénaturation de la sérumalbumine bovine par les huiles essentielles de Lavande et de Rue et les polyphénols de pépins de Pamplemousse.
- [110] **Kraft K., Hobbs C, (2004).** *Pocket guide to herbal medicine:* Georg Thieme Verlag.

- [111] **Chaboussou, AD., Chabauty, A. (2013).** Modes opératoires des extraits végétaux en viticulture biologique. *L'Agriculture Biologique en pays de la Loire*, 1-4.
- [112] **Hebi, M., Eddouks, M(2016).** Évaluation de l'activité antioxydante de *Stevia rebaudiana* . *Phytothérapie* **14**, 17–22.
- [113] **Delosière, M., Damon, M., & Durand, D. (2013).** Oxidative stress in farm animals: general aspects. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(5), 218-224.
- [114] **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., & Defraigne, J. O. (2002).** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 16(4), 233-239
- [115] **Favier ,A. (2006)** . Stress oxydant et pathologies humaines : annales pharmaceutiques française ; (64) : 6 :390-396.
- [116] **Favier ,A. (2003).** Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique . *L'actualité chimique*. 108-115.
- [117] **Frankel, E. N., Meyer, A. S. (2000).** The problems of using one- dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1925-1941.
- [118] **Rolland, Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 11(6), 419- 424.
- [119] **Hennebelle, T. (2006).** Investigation chimique, chimiotaxonomique et pharmacologique de Lamiales productrices d'antioxydants: *Marrubium peregrinum*, *Ballota larendana*, *Ballota pseudodictamnus* (Lamiacées) et *Lippia alba* (Verbénacées) (Doctoral dissertation, Lille 1).
- [120] **SEBTI, F. (2018).** Synthèse, Caractérisation et activités biologiques d'un ligand chélateur des ions métalliques. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Setif.
- [121] **Boligon et al, (2014).** Technical Evaluation of Antioxidant Activity, Department of Industrial Pharmacy, Federal University of Santa Maria, Build 26, room 1115, Santa Maria, CEP 97105- 900, Brazil, Department of Biochemical, Federal University of Pampa, Uruguaiana, Brazil Med chem, p : 50 .

- [122] **R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans ,1999.** Antioxidant activity applying an improvised ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, p : 26, 1231-1237.
- [123] **Antolovich.M., prenzler,P.D., Patsalides .E., McDonald. S., Robards. K. (2002).** Methods for testing antioxidant activity. *The royal society of Chemistry Journal*, p:127; 183-198
- [124] **Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N& Diop, Y. M. (2015).** Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263-1269
- [125] **Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., Diop, Y. M. (2015).** Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), 1263-1269.
- [126] **Jazy, M. A., Haïdara, M., Sanogo, R. (2018).** Chromatographie sur couche mince et activité antiradicalaire d'extraits de *Pupalia Lappacea* (L.) Juss. *Amaranthaceae. European Scientific Journal, ESJ*, 14(3), 140.
- [127] **Dif, M. M., Benchiha, H., Mehdadi, Z., Benali-Toumi, F., Benyahia, M., Bouterfas, K. (2015).** Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L. *Phytothérapie*, 13(5), 314-319.
- [128] **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.
- [129] **Trease, G.E., Evans, M.D. (1989).** *Pharmacognosy* E-book. 13ème édition. Builler Trindall et Canssel Londres. Pp 176-180.
- [130] **Harborne, A. J. (1998).** *Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis*. Springer Science & Business Media.
- [131] **Bruneton, J. (1999).** *Toxic plants dangerous to humans and animals*. Intercept Limited

- [132] **Sánchez-Moreno, C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.
- [133] **Haddouchi, F., Chaouche, T. M., Halla, N. (2016).** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.
- [134] **Benhammou, N., Bekkara, F. A., & Panovska, T. K. (2007).** Antiradical capacity of the phenolic compounds of Pistacia lentiscus L. AND Pistacia atlantica desf. *Advances in Food Sciences*, 29(3), 155-161.
- [135] **Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sei. Technol.*, Vol 26(2), 211-219.
- [136] **Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese journal of nutrition and dietetics*, 44(6), 307-315.
- [137] **Omar Sarr, S., Dior Fall, A., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., Ndilaye, B., Mbagniek Diop, Y. (2015).** Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de Vitex doniana (Verbenacea), *Int. J. Biol. Chem. Sei.*, Vol 9(3): p 1263-1269.
- [138] **Augusti Boligon, A., Mansur Machado, M., Linde Athayde, M. (2014).** Technical Evaluation of Antioxidant Activity. *Med Chem*, Vol.4, 7.
- [139] **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- [140] **Aissaoui, A. B., El Amrani, A., Zantar, S., & Toukour, L. (2018).** Activité Acaricide des huiles essentielles du MenthaPulegium, OriganumCompactum et Thymus Capitatus sur l'acarien phytophage Tetranychusurticae Koch (Acari:Tetranychidae). *Europe an Scientific Journal*, 14(3), 118.

تم إجراء هذه الدراسة للحصول على الأيضات الثانوية الأساسية وتحديد مركباتها لنبات *V. officinalis* المنتمية لعائلة *verbénacées*.

الدراسة الفيتوكيميائية للمستخلصات الثلاثة كشفت عن وجود الفلافونويدات والبوليفينولات.

تم تقييم النشاط المضاد للاكسدة بالطرق الثلاث: اختبار الكسح الجدي، ABTS و اختبار الكسح الجدي DPPH و اختبار ارجاع الحديد (FRAP)

اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان المستخلصات الثلاث لها تأثير جيد مضاد للجذور وبعضها أكبر فعالية من حمض الأسكوربيك المستخدم كمرجع، كما لوحظ وجود قوة اختزال جيدة بواسطة *n-butanol* و *l'acétate d'ethyl*.

سمح تحليل الزيوت الأساسية لهذا النوع بتحديد 80 مركب حيث يظهر تركيبة غنية بالمنتجات، والتي تنتمي أساسا الى فئة

التربينات الاحادية، حيث يمثل *Cis-Citral* (15.01%) المكون الاساسي للزيتليه *trans-Citral* (15.00%).

الكلمات المفتاحية : *V. officinalis*, الأيضات الثانوية, الزيتوت الأساسية, نشاط مضاد الأكسدة, الدراسة الفيتوكيميائية-GC,

Abstract.....

This study devoted and identified secondary metabolites and the extraction of essential oils of the specie «*Verbena officinalis*» belonging to the verbenaceae family.

The phytochemical study allowed to determine the presence of polyphenols and flavonoids.

The antioxidant activity was evaluated by the methods: ABTS radical scavenging test, DPPH radical scavenging test and the iron reduction test (FRAP).

The results obtained show that the three extracts have a significant anti-radical effect, some of which are more effective than ascorbic acid, used as a reference. A good reducing power was also observed by n-butanol and ethyl acetate. The analysis by GC-MS of the essential oil of this species led to the identification of 69 compounds belonging essentially to the class of the monoterpenes. From which the most important is the trans-Citral (15.00%) and Cis-Citral (15.01%).

Key words: *Verbena officinalis*, Secondary metabolites, essential oils, Antioxidant activity, GC-MS.

Résumé:

Notre étude a pour but de l'obtention et l'identification des métabolites secondaires, ainsi que l'extraction des huiles essentielles à partir de l'espèce : «*Verbena officinallis*» appartenant à la famille des verbénacées.

L'étude phytochimique a permis de déterminer la présence des polyphénols et flavonoïdes.

L'activité antioxydant a été évaluée par les méthodes : test de piégeage du radical ABTS, test du piégeage du radical DPPH et le test de réduction de fer (FRAP).

Les résultats obtenus montrent que les trois extraits possèdent un effet anti radicalaire important, dont celui de certains d'entre eux sont plus efficaces que l'acide ascorbique, utilisé comme référence. Un bon pouvoir réducteur a été aussi constaté par n-butanol et l'acétate d'éthyle.

L'analyse par GC-MS de l'huile essentielle de cette espèce a permis d'identifier 80 composés ce qui montrent une composition riche en produits, appartenant majoritairement à la classe des monoterpènes, dont le trans-Citral (15.00%) est le constituant principal suivi par le cis-Citral (15.01%).

Mots clés : *Verbina officinalis*, Métabolites secondaires, Huiles essentielles, Activité antioxydante, GC-MS.

