

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة سعيدة د. مولاي الطاهر

Université de Saida Dr MOULAY Tahar



كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

N° d'Ordre

Mémoire de d'étude pour obtenir un diplôme de master

Spécialité : microbiologie appliquée

Thème

Composition chimique et propriétés thérapeutiques de la plante *Aloysia citriodora* d'Algérie

Présenté par :

- Melle : YELES Mokhtaria
- Melle : SIDI IKHLEF Asmaa

Soutenu le :

Présidente

Mme. Chaalane Fatiha

Pr Université UMTS

Examineur

Mme. Handi Amina

MAA Université UMTS

Encadreur

Mme. GHOUTI Dalila

MCA Université UMTS

Année universitaire 2025/2026

Remerciements

Avant toute chose, Nous remercions Allah le tout-puissant de nous avoir accordé la force, le courage, la patience et la santé et de nous avoir guidées pour atteindre ce stade pour achever ce travail.

Tout d'abord, nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et notre gratitude aux membres du jury :

À Mme. **Chaalane Fatiha** Professeur à l'Université Moulay Tahar Saida pour avoir accepté de présider jury de ce mémoire.

À Mme **Handi Amina** Maître assistante classe A à l'Université Moulay Tahar Saida, pour l'honneur qu'elle nous a fait d'examiner cet humble travail.

Nos plus vifs remerciements et appréciation vont tout particulièrement à notre directrice de mémoire Mme **Ghaouti Dalila** maître de conférence classe A à l'université Moulay Tahar Saida, pour nous avoir donné cette opportunité de réaliser ce travail nous la remercions de tout cœur pour sa confiance, son aide, ses précieux conseils et remarques, pour l'orientation et la patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon part.

Nos sincères remerciements au personnel des laboratoires d'université Moulay Tahar Saida, en particulier Mme **Hadjira**,

Nos remerciements s'étendent également à tous nos enseignants durant les années des études et nos collègues d'études, particulièrement notre promo.

Merci à tous.

Dédicaces

Du fond du cœur, je dédie cet humble travail à tous ceux qui me sont les plus chers. À la personne la plus précieuse qui n'ait jamais existé dans ma vie, à mon cher papa **Mohammed** :
Je ne peux pas vous mettre en mots, parce que vous êtes la partie la plus essentielle de mon monde, je vous suis très reconnaissante de m'avoir fourni l'amour, les conseils, confort, force et soutien dont j'avais besoin dans la vie, j'ai pu gérer n'importe quel conflit parce que vous avez été là pour moi depuis le premier jour. Pour chaque goutte de ta sueur tombée pour moi
j'espère pouvoir te rendre fier de moi

À ma plus belle, adorable et douce maman que j'aime le plus :

La source de ma force la personne qui illumine mon monde je suis reconnaissante pour tous les sacrifices que tu as fait pour me voir réaliser mes rêves, pour toutes les fois où tu traversé des hauts et des bas pour moi, malgré toutes les larmes que vous avez versées en me regardant grandir, je ne peux jamais imaginer atteindre ce stade sans vos encouragements et vos prières,
je travaillerai plus dur pour vous rendre encore plus fier.

À mon autre moitié, mon Mari **Mohamed**, en signe de gratitude et d'affection pour le soutien et la confiance que vous m'accordez pour aller au-delà pour me voir atteindre ce stade, je suis tellement reconnaissante de votre existence dans ma vie.

À mon cher fils **Youcef**, la prunelle de mes yeux, Puisse Dieu le Tout-Puissant faire de toi un homme de science et de savoir. Que la réussite t'accompagne tout au long de ta vie et que tes efforts soient toujours couronnés de succès. Je te souhaite un avenir radieux, riche en bonheur, en santé et en accomplissements avec toute mon affection et mon amour.

À mon frère **Yacine** et mes sœurs **Naima, Karima, Fatna, soumia** et **Chaimaa** qui ont été là pour moi tout le temps, A mes nièces et mes neveux **Nour Eddine, Lodjaine, Majzaa, Moetasséme, fatima, Assil** et Céline je souhaite que le succès vous suive tous tout au long de votre vie.

À ma famille « **Yeles** » et « **Nouari** »

À mon beau-père **Youcef** et à ma belle-mère, en témoignage de mon profond respect et de ma sincère gratitude.

À mes beaux-frères et belles-sœurs **Bouzouira, Khaled, Fatna, Hadjar** et **Kaoutar**

À mes amies les plus chères **Djamila Toubal, Aissa fatima, Mahdia, Zoulikha** et mon binôme **Asmaa** merci beaucoup pour le bonheur que vous m'avez apporté je prie pour votre bien-être et votre réussite.

À mes chers enfants, qui occupent la place la plus profonde dans mon cœur, ainsi qu'à mes collègues de l'établissement des Enfants Assistés, avec toute mon affection et ma reconnaissance.

Les mots ne peuvent décrire la quantité d'amour sincère et profond que j'ai dans mon cœur pour vous, vos paroles m'ont aidé, j'ai beaucoup appris de vous c'est comme ça que je suis devenu qui je suis aujourd'hui, vos paroles réconfortantes m'ont fait tenir si longtemps, vous m'inspirez, vous êtes mes pilules du bonheur nous rions et nous pleurons ensemble, à chaque pas créons nos propres souvenirs.

Merci de m'avoir permis de nager dans l'océan qui est vous, pour la jeunesse où vous et moi avons passé ensemble, tenons-nous la main et restons jeunes pour toujours



Mokhtaria

Dédicace

Tout d'abord, je rends grâce à Dieu Tout-Puissant, qui m'a donné la force, la patience et la volonté pour accomplir ce travail.

À ma chère maman **Mokhtaria**,

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et la reconnaissance que j'ai pour toi. Merci pour tes sacrifices, ton soutien, tes prières et tes encouragements qui m'ont toujours accompagnée. Que Dieu te protège et t'accorde santé et bonheur.

À mes chers frères **Khaoula et Ahmed**,

Merci pour votre amour, votre présence et votre soutien tout au long de mon parcours. Je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur.

À mon binôme **Mokhtaria**,

Merci pour ta collaboration, ta patience et tous les efforts partagés durant la réalisation de ce travail. Je te souhaite plein de succès pour la suite.

À mon encadrante **Mme Dalila Ghouti**,

Je vous adresse mes sincères remerciements pour votre accompagnement, vos conseils et votre disponibilité qui ont contribué à la réussite de ce travail.

À toute ma famille et à toutes les personnes qui m'ont soutenue de près ou de loin,

Je vous dédie ce travail avec toute ma gratitude et mon affection



Liste des abréviations

ATB : Antibiotique

CHCl₃: Chloroforme

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DO : Densité Optique

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

FeCl₃: trichlorure de fer

FRAP : FerricReducingAntioxidant Power

g : gramme

H₂ SO₄: Acide sulfurique

HCl: Acide chlorhydrique

IC₅₀ : Inhibitory Concentration 50%

KOH: Hydroxyde de potassium

M : mole

Med: médicament

MeOH: Méthanol

Mg: Magnésium.

ml : Millilitre

Na₂ SO₄ : picrate de sodium

PDA : Potato Dextrose Agar

µl : Microlitre

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification classique d' <i>Aloysia citriodora</i> L	7
Tableau 2: Classification phylogénétique (ou position taxonomique) de la Verveine odorante (<i>Aloysia citriodora</i> L)	8
Tableau 3: Principaux composés de l'huile essentielle d' <i>Aloysia citriodora</i> analysée par CG/MS	13
Tableau 4: Principaux groupes de composés phénoliques et leurs structures de base	15
Tableau 5: Caractéristiques et références des souches bactériennes utilisées.....	36
Tableau 6: Résultats des tests phytochimiques sur les feuilles d' <i>Aloysia citrodora</i> L.....	39
Tableau 7: Photos des Résultats des tests de screening phytochimique des extraits.	40
Tableau 8: Rendement d'huile essentielle d' <i>Aloysia citrodora</i> L.	42
Tableau 9: Résultat de l'activité antimicrobienne des différents extraits et les 04 souches bactériennes.....	52
Tableau 10: Résultat d'antibiogramme des 04 souches bactériennes.	52
Tableau 11: Résultat de l'activité antifongique des différents extraits et l'huile essentielle avec les 06 souches fongiques.	55
Tableau 12: Les différentes concentrations minimales inhibitrice des différents extraits et huile essentielle en mg/ml contre les souches bactériennes.....	58
Tableau 13: CMI des différents extraits et huile essentielle en mg/ml des souches fongiques, (-) pas d'inhibition.	59

Liste des figures

Figure 1: tige d ' <i>Aloysia citrodora</i> L.	9
Figure 2 : Les feuilles d' <i>Aloysia citriodora</i> L.	9
Figure 3: Fleurs d' <i>Aloysia citriodora</i> L.....	9
Figure 4: Structure de l'isoprène	11
Figure 5: Acides hydroxycinnamiques (C6-C3)	16
Figure 6: Acides hydroxy benzoïques (C6-C1)	16
Figure 7: Biosynthèse des flavonoïdes	17
Figure 8: Structures de quelques classes des flavonoïdes	17
Figure 9: Structure des tanins hydrolysables et leur monomère	18
Figure 10: Structure de tanins condensés	18
Figure 11: Structure de coumarine	20
Figure 12: Structures chimiques de quelques alcaloïdes	21
Figure 13: mécanisme réactionnelle du test DPPH.....	34
Figure 18: Activité antioxydant DPPH (pourcentage d'inhibition) d'extrait éthanolique.	43
Figure 19: Activité antioxydant DPPH (pourcentage d'inhibition) d'huile essentielle.	44
Figure 20: Activité antioxydant DPPH (pourcentage d'inhibition) d'acide ascorbique.....	44
Figure 21: L'activité antiradicalaire des extraits et huile essentielle d' <i>Aloysia citrodora</i> L et l'acide ascorbique.	46
Figure 22: Pouvoir réducteur d'extrait éthanolique.....	48
Figure 23: Pouvoir réducteur d'huile essentielle.....	48
Figure 24: Pouvoir réducteur d'Acide ascorbique.....	48
Figure 26: Activité anti-inflammatoire des différents extraits, d'huile essentielle	50

Liste des photos

Photo 1: Lieu de prélèvement de la plante.	28
Photo 2: Récolte de la plante	28
Photo 3: Séchage de la partie aérienne.	28
Photo 4: Séparation les feuilles des tiges.	28
Photo 5: Broyage des feuilles.	28
Photo 6: Montage d'extraction des extrais.	29
Photo 7: Les trois extraits préparés après filtration	29
Photo 8: Dispositif d'hydrodistillation	32
Photo 9: Extraction d'huile essentielle	42
Photo 10: L'huile essentielle d'Aloysia citrodora L	42
Photo 11: Résultat de teste de DPPH d'huile essentielle.	43
Photo 12: Résultat de teste de DPPH d'extrait éthanolique	43
Photo 13: Résultat de teste de FRAP d'huile essentielle.	47
Photo 14: Résultat de teste de FRAP d'extrait éthanolique.	47
Photo 15: Le test anti-inflammatoire.	49
Photo 16: Quelques résultats positifs d'effet antibactérien.	53
Photo 17: Quelques résultats d'effet antifongique.	56
Photo 18: Les résultats de CMI des souches bactériennes	59
Photo 19: Les résultats de CMI contre les Aspergillus	60
Photo 20: Les résultats de CMI contre les Pénicillium.	60
Photo 21: Quelques résultats de CMB.	62

Résumé

Dans le cadre de la valorisation des ressources végétales utilisées en médecine traditionnelle, le présent travail a porté sur l'étude phytochimique et l'évaluation des activités biologiques de différents extraits d'*Aloysia citrodora* L. (verveine odorante), à savoir l'huile essentielle, l'extrait aqueux, l'extrait éthanolique et l'infusion.

Le criblage phytochimique a mis en évidence la présence de plusieurs familles de métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les anthocyanes, les composés réducteurs, les stérols et stéroïdes, les alcaloïdes ainsi que les saponines, confirmant la richesse phytochimique de cette espèce.

L'évaluation de l'activité antioxydant par les tests DPPH et du pouvoir réducteur a révélé une capacité remarquable des extraits à neutraliser les espèces réactives. L'huile essentielle a présenté la meilleure activité antiradicalaire avec une IC_{50} de 0,015 mg/ml, tandis que l'extrait aqueux a affiché l'activité la plus faible (IC_{50} = 0,780 mg/ml). Concernant le pouvoir réducteur, l'extrait éthanolique s'est distingué par la plus faible valeur d' EC_{50} (0,148 mg/ml), traduisant une forte capacité de transfert d'électrons, alors que l'infusion a présenté l'activité la moins importante (EC_{50} = 0,77 mg/ml).

L'activité anti-inflammatoire, évaluée par la stabilisation de la membrane érythrocytaire, a montré une efficacité élevée de l'huile essentielle avec un taux de protection de 78,14 %, proche de celui du témoin positif (92,85 %). À l'inverse, l'infusion a enregistré l'effet protecteur le plus faible (3,57 %).

L'étude de l'activité antimicrobienne a mis en évidence la supériorité de l'huile essentielle, qui a exercé une activité antibactérienne marquée, notamment contre *B.subtilis* avec un diamètre d'inhibition maximal de 46 mm. Les extraits aqueux et éthanolique se sont révélés inactifs dans les conditions expérimentales appliquées. Sur le plan antifongique, l'huile essentielle a également montré la meilleure efficacité, particulièrement contre *A.fumigatus* (50 mm) et *P.expansum* (46 mm), alors que les autres extraits ont présenté une activité faible ou absente selon les souches étudiées.

Les essais de concentration minimale inhibitrice (CMI) ont confirmé ces observations en révélant les plus faibles valeurs pour l'huile essentielle, notamment vis-à-vis d'*Escherichia coli* et de *B.cereus* (CMI = 1,56 mg/ml). En revanche, les extraits aqueux ont généralement présenté les valeurs de CMI les plus élevées, traduisant une activité antimicrobienne plus limitée. Les résultats des concentrations minimales bactéricides (CMB) ont montré que les extraits étudiés exercent principalement un effet bactériostatique sur les souches bactériennes testées.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus démontrent qu'*Aloysia citrodora* L. constitue une source prometteuse de composés bioactifs à fort potentiel biologique. Parmi les fractions étudiées, l'huile essentielle apparaît comme la plus performante, présentant les meilleures activités antioxydant, anti-inflammatoire, antibactérienne et antifongique. Ces résultats soutiennent la valorisation de cette plante dans les domaines pharmaceutique, agroalimentaire et biotechnologique comme source naturelle d'agents bioactifs.

Mots-clés : *Aloysia citrodora* L., huile essentielle, extraits végétaux, activité antioxydant, activité anti-inflammatoire, activité antibactérienne, activité antifongique, CMI, CMB.

Abstract

As part of the valorization of medicinal plants used in traditional medicine, the present study focused on the phytochemical investigation and biological activities of different extracts of *Aloysia citrodora* L. (lemon verbena), including the essential oil, aqueous extract, ethanolic extract, and infusion.

Phytochemical screening revealed the presence of several classes of secondary metabolites, namely flavonoids, tannins, coumarins, anthocyanins, reducing compounds, sterols and steroids, alkaloids, and saponins, confirming the phytochemical richness of this species.

The antioxidant activity was evaluated using DPPH radical scavenging and ferric reducing power assays. The essential oil exhibited the strongest free radical scavenging activity with an IC_{50} value of 0.015 mg/ml, whereas the aqueous extract showed the lowest activity (IC_{50} = 0.780 mg/ml). Regarding ferric reducing power, the ethanolic extract displayed the highest reducing capacity with an EC_{50} value of 0.148 mg/ml, while the infusion showed the weakest activity (EC_{50} = 0.77 mg/ml).

The anti-inflammatory activity, assessed by the erythrocyte membrane stabilization method, demonstrated a high protective effect of the essential oil (78.14%), approaching that of the positive control (92.85%). In contrast, the infusion exhibited the lowest protective activity (3.57%).

The antimicrobial study highlighted the superiority of the essential oil, which showed remarkable antibacterial activity, particularly against *B.subtilis* with a maximum inhibition zone of 46 mm. The aqueous and ethanolic extracts were inactive under the experimental conditions. Similarly, the essential oil displayed the highest antifungal activity, especially against *A.fumigatus* (50 mm) and *P.expansum* (46 mm), whereas the other extracts showed weak or no activity depending on the fungal strain tested.

The minimum inhibitory concentration (MIC) assays confirmed these findings, with the essential oil exhibiting the lowest MIC values, particularly against *E.coli* and *B.cereus* (MIC = 1.56 mg/ml). Conversely, the aqueous extracts generally showed the highest MIC values, indicating lower antimicrobial effectiveness. Minimum bactericidal concentration (MBC) results revealed that the tested extracts mainly exerted a bacteriostatic effect against the bacterial strains.

Overall, the obtained results demonstrate that *Aloysia citrodora* L. represents a promising natural source of bioactive compounds with significant antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, and antifungal properties. Among the tested fractions, the essential oil proved to be the most active, highlighting its potential for future pharmaceutical, food, and biotechnological applications.

Keywords: *Aloysia citrodora* L., essential oil, aqueous extract, ethanolic extract, infusion, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, antibacterial activity, antifungal activity, MIC, MBC.

ملخص

في إطار تامين النباتات الطبية المستعملة في الطب التقليدي، هدفت هذه الدراسة إلى إجراء فحص كيميائي نباتي وتقييم الأنشطة البيولوجية لمختلف مستخلصات نبات اللوزة العطرية (*Aloysia citrodora* L.)، والمتمثلة في الزيت العطري، والمستخلص المائي، والمستخلص الإيثانولي، والمنقوع.

أظهر التحري الكيميائي النباتي وجود عدة مجموعات من المستقلبات الثانوية، أهمها الفلافونويدات، والتانينات، والأنثوسيانينات، والكومارينات، والمركبات المختزلة، والستيرولات والستيريديتات، والقلويدات، والصابونينات، مما يؤكد الغنى الكيميائي لهذا النوع النباتي.

تم تقييم النشاط المضاد للأوكسدة باستعمال اختباري اصطياد الجذر الحر DPPH والقدرة الاختزالية للحديد. وقد أظهر الزيت العطري أفضل نشاط مضاد للجذور الحرة بقيمة IC_{50} بلغت 0.015 ملغ/مل، في حين سجل المستخلص المائي أضعف نشاط بقيمة IC_{50} بلغت 0.780 ملغ/مل. أما بالنسبة للقدرة الاختزالية، فقد أظهر المستخلص الإيثانولي أعلى فعالية بقيمة EC_{50} بلغت 0.148 ملغ/مل، بينما سجل المنقوع أضعف نشاط بقيمة EC_{50} بلغت 0.77 ملغ/مل.

أظهر تقييم النشاط المضاد للالتهاب، باستعمال اختبار تثبيت غشاء كريات الدم الحمراء، فعالية مرتفعة للزيت العطري بنسبة حماية بلغت 78.14%، وهي قريبة من نسبة الحماية المسجلة للشاهد الموجب (92.85%). في المقابل، سجل المنقوع أضعف نشاط وقائي بنسبة 3.57%.

أبرزت دراسة النشاط المضاد للميكروبات تفوق الزيت العطري، حيث أظهر نشاطاً مضاداً للبكتيريا خاصة تجاه *B.subtilis* بقطر تثبيط بلغ 46 مم. بينما لم يظهر المستخلصان المائي والإيثانولي أي نشاط مضاد للبكتيريا في الظروف التجريبية المعتمدة. كما أظهر الزيت العطري أفضل نشاط مضاد للفطريات، لا سيما ضد *A.fumigatus* (50 مم) و *P.expansum* (46 مم)، في حين كانت فعالية المستخلصات الأخرى ضعيفة أو منعدمة تبعاً للسلالة الفطرية المختبرة.

وأكدت اختبارات التركيز المثبط الأدنى (CMI) هذه النتائج، حيث سجل الزيت العطري أدنى قيم تجاه *E.coli* و *B.cereus* (1,56 ملغ/مل). في المقابل أظهرت المستخلصات المائية أعلى قيم للتركيز المثبط الأدنى، مما يدل على فعالية مضادة للميكروبات أقل. كما بينت نتائج التركيز القاتل الأدنى للبكتيريا (CMB) أن المستخلصات المدروسة تمارس أساساً تأثيراً مثبطاً لنمو البكتيريا. (Bactériostatique).

بصفة عامة، تؤكد النتائج المتحصل عليها أن نبات اللوزة العطرية (*Aloysia citrodora* L.) يمثل مصدراً طبيعياً واعدداً للمركبات الحيوية الفعالة ذات الخصائص المضادة للأوكسدة والمضادة للالتهاب والمضادة للبكتيريا والفطريات. وقد تبين أن الزيت العطري هو الجزء الأكثر فعالية بين مختلف المستخلصات المدروسة، مما يبرز إمكاناته الواعدة في المجالات الصيدلانية والغذائية والتكنولوجية الحيوية.

الكلمات المفتاحية: اللوزة العطرية، الزيت العطري، المستخلص المائي، المستخلص الإيثانولي، المنقوع، النشاط المضاد للأوكسدة، النشاط المضاد للالتهاب، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، التركيز المثبط الأدنى، التركيز القاتل الأدنى للبكتيريا.

Table des matières

INTRODUCTION	1
I.1. Les plantes médicinales.....	4
I.1.1. Généralité :	4
I.1.2. Définition des plantes médicinales :	5
I.1.3. Types des plantes médicinales :	5
I.1.3.1. Les plantes spontanées :	5
I.1.3.2. Les plantes cultivées :	5
I.1.4. Préparations et formes d'utilisation des plantes médicinales :	6
I.1.4.1. Mode de préparation :	6
I.1.5. Présentation botanique et Classification de <i>Les Verbenaceae</i>	7
I.1.5.1. La famille des <i>Verbenaceae</i>	7
I.1.5.2. Le genre <i>Aloysia</i>	7
I.1.5.1. Classification classique d' <i>Aloysia citriodora</i>	7
I.1.5.2. Classification moderne d' <i>Aloysia citriodora</i>	8
I.1.6. Caractéristiques générales et Morphologie	8
I.1.6.1. Description de la plante	8
I.1.6.2. Dénominations vernaculaires	9
I.1.7. Origine et Histoire	9
I.1.8. Conditions de culture	10
I.1.9. Répartition d' <i>Aloysia citriodora</i> en Algérie :	10
I.1.9.1. Répartition dans le Tell algérien (Mitidja):	10
I.1.10. Présence dans le Nord-Est algérien	10
I.1.11. Expansion vers les zones semi-arides	10
I.1.12. Culture et disponibilité sur le marché local :	10
I.2. Composition chimique	11
I.2.1. Huiles essentielles	11
I.2.2. Les Métabolites secondaires :	13
I.2.2.1. Définition :	13
I.2.2.2. Fonction des métabolites secondaires	14
I.2.2.3. Classification des métabolites secondaires :	14
I.2.2.4. Les composés phénoliques :	14

I.2.2.4.1. Acide phénolique.....	15
I.2.2.5. Les flavonoïdes :	16
I.2.2.6. Tanins :.....	17
I.2.2.6.1. Définition :	17
I.2.2.6.2. Les classe des tanins.....	17
I.2.2.6.3. Les quinones :.....	18
I.2.2.6.3.1. Les anthraquinones:	19
I.2.2.6.4. Les anthocyanes :	19
I.2.2.7. Les coumarines :	19
I.2.2.8. Stéroïdes	20
I.2.2.9. Stérols :.....	20
I.2.2.10. Les terpènes.....	20
I.2.2.11. Saponosides :	20
I.2.2.12. Les alcaloïdes :	21
I.3. Les activités biologiques et propriété thérapeutique	22
I.3.1. L'activité antioxydante.....	22
I.3.1.1. Le stress oxydant.....	22
I.3.1.2. Les antioxydants.....	23
I.3.1.2.1. Antioxydants endogènes	23
I.3.1.2.2. Antioxydants exogènes	23
I.3.1.3 Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant.....	24
I.3.1.3.1 Le test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-pikrylhydrazyl (DPPH). 24	
I.3.1.3.2 Le test de la réduction de fer FRAP	25
I.3.2. Activité Antibactérienne et Antifongique	25
I.3.3. L'activité anti-inflammatoire	25
I.3.4. Propriétés anxiolytiques et neuroprotectrices d' <i>Aloysia citrodora L.</i>	25
I.3.4.1. Propriétés Anti-diabétique d' <i>Aloysia citrodora L.</i>	27
I.3.4.2. Propriétés Anti-cancéreuse (Cytotoxique) d' <i>Aloysia citrodora L.</i>	27
I.3.4.2.1. Propriété antispasmodique :	27
II. Matériels et méthodes :	27
II.1. Introduction :	27
II.2. Matériel végétal :	27
II.3. Screening phytochimique :	28

II.4. Préparation des extraits :.....	29
II.5. Infusion aqueuse :	29
II.6. Décoction aqueuse :	29
II.7. Décoction éthanolique :	29
II.8. Différentes classes recherchées :	30
II.8.1. Les flavonoïdes :.....	30
II.8.2. Les coumarines :	30
II.8.3. Les tannins :	30
II.8.4. L'amidon :.....	30
II.8.5. Les alcaloïdes :.....	30
II.8.6. Les saponosides :	31
II.8.7. Les composés réducteurs :	31
II.8.8. Les anthocyanes :.....	31
II.8.9. Les stérols et les triterpènes :.....	31
II.9. Extraction d'huile essentielle d' <i>Aloysia citrodora</i> L :.....	32
II.10. Conservation de l'huile essentielle obtenue :.....	32
II.11. Détermination du rendement d'huile essentielle :	33
II.12. Evaluation de l'activité antioxydant :	33
II.12.1. Teste de piégeage du radical libre DPPH. (2,2-diphenyl 1-1picrylhydrazyl) :	33
II.12.2. Calcul de l'activité anti radicalaire :	34
II.12.3. Réduction de fer (FRAP):	35
II.13. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :	35
II.13.1. Test de stabilisation de la membrane des globules rouges (érythrocytes) :....	35
II.14. Evaluation de l'activité antimicrobienne :	36
II.14.1. Les souches bactériennes :.....	36
II.15. Repiquage des souches bactériennes :	37
II.15.1. Les souches fongiques :	37
II.15.2. Préparation de l'inoculum :.....	37
II.16. Méthode de vlieseline :	37
II.17. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) :	38
Partie III : Résultats et discussions	27

Conclusion	64
Références bibliographiques.....	67

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION

Depuis des siècles, les plantes médicinales occupent une place importante dans la prévention et le traitement de nombreuses maladies. Grâce à leur richesse en substances naturelles bioactives, elles constituent une source précieuse de molécules thérapeutiques utilisées aussi bien dans la médecine traditionnelle que dans l'industrie pharmaceutique moderne. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS**), une grande partie de la population mondiale continue à recourir aux plantes médicinales pour satisfaire ses besoins en soins de santé primaires. L'intérêt porté à ces ressources naturelles s'explique notamment par leur diversité chimique et leurs nombreuses activités biologiques, telles que les propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (**OMS, 2003 ; Sanogo, 2006**).

Les progrès réalisés dans les domaines de la phytochimie et de la pharmacologie ont permis de mettre en évidence l'existence de nombreux métabolites secondaires synthétisés par les végétaux, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes, les coumarines et les terpènes. Ces composés jouent un rôle essentiel dans les mécanismes de défense des plantes contre les agressions environnementales et présentent un intérêt considérable pour la santé humaine en raison de leurs diverses activités biologiques (**Wichtl et Anton, 1999 ; Ameenah, 2006**).

Le stress oxydatif constitue également un problème majeur de santé publique. Il résulte d'un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les mécanismes de défense antioxydants de l'organisme. Ce phénomène est impliqué dans le développement de nombreuses pathologies chroniques telles que les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives, inflammatoires et certains cancers. Dans ce contexte, l'identification de nouvelles sources naturelles d'antioxydants capables de neutraliser les radicaux libres suscite un intérêt croissant, notamment parmi les plantes médicinales riches en composés phénoliques et flavonoïques (Lobo et al., 2010 ; Halliwell et Gutteridge, 2015).

Parallèlement, la sécurité sanitaire des aliments et la lutte contre les maladies infectieuses constituent aujourd'hui des enjeux majeurs de santé

publique. De nombreuses bactéries pathogènes telles que **Escherichia coli**, **Staphylococcus aureus**, **Bacillus subtilis** et **Bacillus cereus**, ainsi que plusieurs espèces fongiques appartenant aux genres **Aspergillus** et **Penicillium**, sont fréquemment impliquées dans les toxi-infections alimentaires et l'altération des denrées alimentaires (Walker, 1988 ; Deak et Beuchat, 1996 ; Pitt et Hocking, 1997 ; Betts *et al.*, 1999). À cela s'ajoute l'émergence croissante de souches microbiennes résistantes aux antibiotiques conventionnels, phénomène qui constitue aujourd'hui l'une des principales préoccupations de la communauté scientifique. Cette situation a conduit les chercheurs à s'orienter vers l'exploration de nouvelles sources naturelles de molécules bioactives capables d'offrir des alternatives efficaces, moins toxiques et plus respectueuses de l'environnement que certains produits de synthèse (El-Lakany *et al.*, 1997).

Dans ce contexte, les plantes aromatiques et médicinales représentent une source prometteuse de composés d'intérêt thérapeutique. Parmi celles-ci notre choix s'est porté sur **Aloysia citrodora** Paláu, communément appelée verveine odorante ou « Louiza » en Algérie. Cette espèce appartient à la famille des Verbenaceae et est largement appréciée pour son arôme caractéristique ainsi que pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. Elle est traditionnellement utilisée sous forme d'infusion pour soulager les troubles digestifs, les spasmes gastro-intestinaux, l'insomnie, l'anxiété et certaines affections inflammatoires (Beloued, 2005).

Plusieurs études phytochimiques ont montré qu'**A. citrodora** est riche en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, les acides phénoliques et le verbascoside, ainsi qu'en constituants volatils présents dans son huile essentielle. Ces métabolites sont largement reconnus pour leurs activités biologiques et expliquent l'intérêt croissant porté à cette plante dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et cosmétique (Bahramsoltani *et al.*, 2018).

L'objectif principal de ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation d'**A. citrodora** L. à travers l'étude de sa composition phytochimique et l'évaluation de ses activités biologiques. À cet effet, différents extraits ont été préparés, notamment l'huile essentielle, l'extrait aqueux, l'extrait éthanolique et l'infusion. Les activités antioxydants, anti-inflammatoires, antibactériennes et

antifongiques de ces extraits ont été évaluées afin d'identifier les fractions les plus actives.

Notre travail est divisé en trois parties principales. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique portant sur les généralités relatives à **A. citrodora** L., sa classification botanique, sa composition phytochimique, ses utilisations traditionnelles ainsi que ses principales activités biologiques. La deuxième partie présente le matériel végétal étudié ainsi que les différentes méthodes expérimentales utilisées. Elle décrit les procédés d'extraction, le criblage phytochimique et les protocoles employés pour l'évaluation des activités antioxydants (DPPH et pouvoir réducteur du fer), anti-inflammatoires, antibactériennes et antifongiques, ainsi que la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides minimales (CMB). La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats obtenus, suivie de leur discussion à la lumière des données bibliographiques disponibles, avant d'aboutir à une conclusion générale et à des perspectives de recherche.

PARTIE I : SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Les plantes médicinales

I.1.1. Généralité :

Depuis l'antiquité, l'homme a fait connaissance avec les plantes qui l'entourent et les utilise comme vêtements et nourriture, et à la recherche d'un remède pour soulager la maladie, il a eu recours à des plantes considérées comme le seul traitement disponible.

Grâce à l'expérience et à l'application, les connaissances d'une humaine sur ces plantes, leur utilisation se sont développées. Cette information a été transmise de génération à l'autre, car la formation des civilisations et la disponibilité des installations ont contribué au développement progressif des connaissances humaines. **(F. Jamshidi-Kia et al, 2018).**

Les plantes médicinales représentent une ressource thérapeutique essentielle dans de nombreuses sociétés traditionnelles, notamment en Afrique, où elles sont utilisées pour traiter une grande variété d'affections (Sofowora, 1993 ; WHO, 2002).

Du point de vue écologique, le bassin méditerranéen est considéré comme un point chaud, par sa diversité biologique très importante, les espèces végétales endémiques comprises, la richesse végétale estimée à 25 000 espèces **(Quézel et al., 1999 ; Barbero et al., 2001 ; Quézel & Médail, 2003).**

Cette diversité végétale variée d'un pays à l'autre selon la position géographique. L'Afrique du nord, par sa richesse végétale estimée de 5000 à 5300 espèces représente 15 % de celle du bassin méditerranéen **(Quézel, 2000).**

L'Algérie, le plus grand pays d'Afrique possède une grande diversité d'écosystèmes (Région côtière, le tell, les steppes, le Sahara, zones humides...). Cette diversité végétale s'estime à environ 3193 espèces selon **Quézel (1962)**, 3744 taxons selon **Véla et Benhouhou (2007)**, 3150 espèces dont 700 endémiques selon **Médail (1997)**. 454 espèces, dont 75 orchidées sont protégées en vertu du décret ministériel n° 12/03 de la république Algérienne **(Dobignard & Chatelain, 2010-2013).**

I.1.2. Définition des plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des utilisations thérapeutiques **(Bubulka.P, 2007)**, grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain.

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses **(Benadji.H et Khoukhi.N, 2012)**.

C'est une source importante pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque leurs constituants sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse des médicaments. **(H. Laama, 2015)**

I.1.3. Types des plantes médicinales :

Les plantes médicinales se répartissent selon deux origines principales : d'une part, les plantes spontanées, dites sauvages ou de cueillette, et d'autre part, les plantes cultivées **(Bellakhdar, 1997)**.

I.1.3.1. Les plantes spontanées :

Les plantes spontanées sont des végétaux qui se développent naturellement dans une région donnée sans intervention humaine, c'est-à-dire qu'elles ne sont ni semées ni cultivées par l'homme **(Bézanger-Beauquesne et al., 1975)**. Ces espèces jouent un rôle écologique important, notamment dans la protection des sols contre l'érosion éolienne et hydrique, ainsi que dans la stabilisation des dunes. Par ailleurs, elles constituent un habitat naturel pour de nombreuses espèces animales **(Ould El Hadj et al., 2001)**. La valorisation de ces bioressources végétales spontanées, que ce soit à des fins alimentaires, médicinales ou cosmétiques, représente également une opportunité de développement économique **(Belagoune, 2012)**.

I.1.3.2. Les plantes cultivées :

Les plantes cultivées correspondent à des espèces végétales produites par l'exploitation agricole. Elles ont subi un processus de domestication ayant conduit à des modifications par rapport à leurs ancêtres sauvages, afin de répondre aux

besoins humains. Une culture végétale se définit comme un ensemble de plantes appartenant à une même espèce et à une même variété, cultivées dans le but d'obtenir un produit spécifique (**Belagoune, 2012**).

I.1.4. Préparations et formes d'utilisation des plantes médicinales :

I.1.4.1. Mode de préparation :

Il existe de nombreuses méthodes d'utilisation des plantes en phytothérapie. On retrouve :

a. L'infusion :

L'infusion est de recouvrir la plante sèche d'eau bouillante pendant un temps déterminé, de 5 à 15 minutes (**Christophe, 2014**).

b. La décoction :

La décoction est consistée de recouvrir la plante d'eau froide et porter le tout à ébullition pendant 15 à 30 minutes.

La décoction est privilégiée lorsqu'il s'agit d'extraire les principes actifs de parties de la plante plus fibreuses où l'eau a du mal à pénétrer : racines, écorces, tige, graines ou baies (**Christophe, 2014**).

c. La macération :

La macération consiste à faire recouvrir la drogue d'eau froide et laisser en contact à température ambiante pendant 30 minutes à 4 heures (**Christophe, 2014**).

d. La digestion :

Recouvrir la plante d'eau froide et porter le tout à une température supérieure à la température ambiante, mais sans attendre l'ébullition, et ce pendant 1 à 5 minutes (**Christophe, 2014**).

e. Le cataplasme :

C'est le même principe que pour les compresses, à la différence que ce sont ici les herbes qui sont directement utilisées, et non pas une infusion. Les plantes sont hachées grossièrement, puis mise sa chauffer dans une casserole, recouvertes d'un peu d'eau, puis laissez frémir deux à trois minutes, pressez les herbes, puis placez-les sur l'endroit soigner. Couvrez d'une bande ou d'un morceau de gaze. Un cataplasme se garde pendant trois ou quatre heures, en changeant les herbes toutes les heures. (**Fatmi et al., 2021**).

f. Poudre :

Les poudres végétales sont utilisées dans le traitement des plaies, en plaçant la plante sur une surface bien propre et l'écrasera fond avec un couteau émoussé, appliquer la masse obtenue sur la plaie. (Flück, 1942).

I.1.5. Présentation botanique et Classification de *Les Verbenaceae***I.1.5.1. La famille des *Verbenaceae***

Les *Verbenaceae* sont une famille de dicotylédones comprenant des arbres, des arbustes, des herbes et des vignes. Producteurs d'huiles essentielles, ils sont largement répandus dans le monde, particulièrement dans les régions tropicales et tempérées. Bien qu'ils supportent des environnements arides, ils sont absents du nord et du centre de l'Eurasie. Principalement ligneuses, les *Verbenaceae* sont apparentées aux Lamiacées, bien que ces dernières présentent une constance pollinique alors que les *Verbenaceae* montrent une grande variation (Klaus Kubitzki, 2004).

I.1.5.2. Le genre *Aloysia*

Le genre *Aloysia* regroupe près de 40 espèces de plantes à fleurs originaires d'Amérique. La plus connue est l'*Aloysia citriodora*, ou verveine citronnée (Christenhusz et Byng, 2016).

I.1.5.3. Classification classique d'*Aloysia citriodora*

Tableau 1 : Classification classique d'*Aloysia citriodora* L (Taleb-Toudert et al., 2002).

Rang taxonomique	Classification
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Verbenaceae</i>
Genre	<i>Aloysia</i>
Espèce	<i>Aloysia citrodora</i> L.

I.1.5.4. Classification moderne d'*Aloysia citriodora*

Tableau 2: Classification phylogénétique (ou position taxonomique) de la Verveine odorante (*Aloysia citriodora* L) (Christenhusz et Byng, 2016).

Rang	Catégorie Classification moderne
Règne	Plantae
Clade	Angiospermes
Clade	Eudicotylédones
Clade	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Verbenaceae
Genre	<i>Aloysia</i>
Espèce	<i>Aloysia citrodora palau</i>

Synonymes : *Aloysia sleumeri* Moldenke, *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton, *Lippia citriodora* (Palau) Kunth, *Zappania citriodora* (Palau) Lam, *Verbena citriodora* (Palau) Cav.

I.1.6. Caractéristiques générales et Morphologie

I.1.6.1. Description de la plante

Aloysia citrodora, La verveine odorante, *Lippia citrodora* ou *Aloysia triphylla* est un sous arbrisseau vivace de la famille des Verbénacée mesurant 2 à 3 m de hauteur (De Figueiredo et al., 2002). 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. Les fleurs longues, disposées en épis, possèdent quatre pétales soudées à la base en un tube et étalés en quatre lobes bicolores : blancs sur la face externe et bleu violacé sur la face interne ,(Loaec. M..H, 2000) (Ghédira et Goetz, 2017) Les tiges sont anguleuses, cannelées à branches droites et ramifiées, Elles dégagent une odeur caractéristique de citron lorsqu'elles sont froissées (Hadni D, 1982).



Figure 1: tige d '*Aloysia citrodora* L.



Figure 2 : Les feuilles d'*Aloysia citrodora* L.



Figure 3: Fleurs d'*Aloysia citrodora* L.

Feuilles : *Lancéolées*, rugueuses et verticillées par trois le long des tiges. Elles sont courtement pétiolées.

Fleurs : Minuscules fleurs blanches (parfois bleu violacé sur la face interne), disposées en épis ou gerbes par groupes de trois au sommet des tiges (Bruneton, 2009 ; Slimani & Dahmane, 2013).

I.1.6.2. Dénominations vernaculaires

- Français : *Verveine vraie*, *verveine citronnée*, *verveine du Pérou*.
- Anglais : *Lemon verbena*, *lemon beebrush*.
- Arabe : *Louiza laymunia* (الليمونية).
- Espagnol : *Cedrón*, *hierba luisa*.
- Autres : *Lúcia-lima* (Portugais), *Remonbābena* (Japonais).
- Histoire, Culture et Récolte

I.1.7. Origine et Histoire

Originaire d'Amérique du Sud (Pérou, Bolivie, Chili, Argentine), elle fut introduite en Europe à la fin du XVIII^{ème} siècle par des explorateurs espagnols. Elle connut un grand succès dans l'Angleterre victorienne pour la création de pots-pourris. Au début du XX^{ème} siècle, on la retrouvait naturalisée en Inde, aux Antilles, à la Réunion, en Italie et en Afrique du Nord (Tunisie, Algérie) (Obolskiy, D *et al.*, 2011).

I.1.8. Conditions de culture

La culture nécessite un sol au pH neutre, fertile, bien drainé et ensoleillé. Le semis se fait au printemps sous châssis. La multiplication peut se faire par éclats de pieds à l'automne, par marcottage ou par bouturage (recommandé au printemps ou en fin d'été). La plante craint le gel : elle survit quelques heures à -5°C, mais doit être rentrée en pot d'octobre à mai dans les régions froides (**Bonjean et al., 2001**).

I.1.9. Répartition d'*Aloysia citriodora* en Algérie :

I.1.9.1. Répartition dans le Tell algérien (Mitidja):

La zone de culture la plus représentative se situe dans la plaine de la Mitidja, notamment dans la wilaya de Blida. Cette région offre des conditions édaphiques (sols fertiles) et climatiques (températures clémentes et humidité) idéales pour la croissance de la plante et l'accumulation de ses métabolites secondaires, notamment le citral. (**Oukil, 2011**)

I.1.9.2. Présence dans le Nord-Est algérien

Dans les régions côtières du Nord-Est, telles que les wilayas de Jijel et de Béjaïa, l'espèce bénéficie d'une pluviométrie élevée et d'une forte hygrométrie atmosphérique. Ces conditions favorisent un développement foliaire important, rendant ces zones propices à une exploitation artisanale et à des études sur le pouvoir antioxydant de ses extraits aqueux (**Bahri, 2015**)

I.1.9.3. Expansion vers les zones semi-arides

L'utilisation et la culture de la plante s'étendent également vers l'intérieur du pays, comme dans la région du Hodna. Dans ces zones plus sèches, la plante est systématiquement cultivée dans les jardins familiaux et les oasis, dépendant strictement de l'irrigation pour compenser le déficit hydrique estival (**Boudjelal, A., et al., 2013**)

I.1.9.4. Culture et disponibilité sur le marché local :

Bien que la plante ne soit pas recensée à l'état sauvage (elle reste une plante de culture), elle occupe une place prépondérante dans le commerce des herboristes algériens. On la retrouve sur l'ensemble des marchés locaux, de

l'Oranie à l'Est, témoignant d'une distribution humaine active pour répondre à la forte demande en phytothérapie traditionnelle (Meddour *et al.*, 2012).

I.2. Composition chimique

I.2.1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des végétaux d'odeur et de saveur généralement forte (Wichtl et Anton, 1993). Elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. La pharmacopée française (1965) définit les huiles essentielles comme des produits de composition généralement assez complexe renfermant les molécules volatiles contenues dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. La norme AFNOR NET 75-006 (1987) a donné la définition suivante : « produit obtenu à partir d'une matière première végétale soit par entraînement à la vapeur 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. a. Caractères chimiques des HEs L'huile essentielle est constituée de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle. Ces molécules sont différentes selon la nature de la plante, le sol, le temps de récolte, la partie de la plante, la préparation de l'échantillon, ainsi que la méthode d'extraction.

Les composés sont principalement des Mono terpènes et des sesquiterpènes de formule $(C_5H_8)_n$. Du strict point de vue chimique, les terpènes apparaissent comme des polymères d'un carbure d'hydrogène diéthylénique, l'isoprène. (Pibiri, 2006).

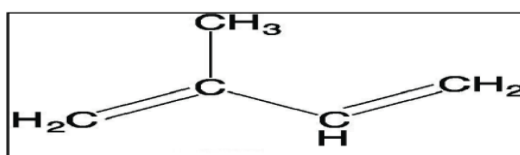


Figure 4: Structure de l'isoprène (Pibiri, 2006).

b. Principaux constituants des huiles essentielles *d'Aloysia citriodora*

Selon **Slimani.N (2014)**, les résultats obtenus dans l'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle *d'Aloysia citriodora* sont présentés dans le tableau 01 (**Slimani.N et Dahmane.M, 2013**)

Tableau 3: Principaux composés de l'huile essentielle *d'Aloysia citriodora* analysée par CG/MS (**Slimani.N et Dahmane.M ; 2013**)

Composants	Aire(%)	Temps de rétention (min)
Citral	11.3	6.25
Limonène	10.6	7.46
-4Phényl undécan-4-ol	7.7	9.24
Curcumène	6.5	10.15
Cédrol	4.5	12.68
Carvéol	3.7	14.00
Linalool	3.5	14.97
Caryophyllène	2.8	16.22
Acétate de géranyle	1.8	19.98

I.2.2. Les Métabolites secondaires :

I.2.2.1. Définition :

Ces substances constituent essentiellement des composés organiques de faible poids moléculaire synthétisés par les bactéries, les champignons ainsi que les plantes, se distinguant par une grande diversité chimique et une aptitude à provoquer des réactions biologiques (**Khade et al., 2023**).

Bien que les métabolites secondaires des plantes ne participent pas directement aux processus métaboliques fondamentaux comme la croissance, ils s'avèrent cruciaux pour la survie du végétal. Ils interviennent comme des leviers de défense face aux microbes et aux insectes ravageurs, soutiennent l'adaptation de la plante aux diverses contraintes environnementales et participent à la communication ainsi qu'à l'ajustement avec les organismes de leur écosystème (**Singh et Pal, 2024**)

I.2.2.2. Fonction des métabolites secondaires

Beaucoup de métabolites se comportent comme des signaux chimiques que la plante utilise pour s'adapter aux changements défavorables de l'environnement (**Chadhary et al., 1985**). D'autres ont pour rôle la défense de la plante contre les herbivores, les pathogènes, les parasites ou l'inhibition de la germination et la croissance des plantes concurrentes (**Baskin et al., 1967 ; Hale et al., 2004**), et dans les relations entre les plantes et leur environnement : plusieurs composés phénoliques participent à la filtration des UV, les pigments floraux sont essentiels aux processus de pollinisation (**Bruneton, J., (1999)**).

I.2.2.3. Classification des métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont produits en très faible quantité, il existe plus de 200 000 métabolites secondaires classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les alcaloïdes, les composés acétyléniques, les cires, et les composés phénoliques (**Cuendet, 1999 ; Vermerris, 2006**).

Ils sont divisés principalement en trois grandes familles :

- Les polyphénols
- Les terpènes
- Les alcaloïdes (**Lutge et al., 2002 ; Abderrazak et Joël., 2007**).

I.2.2.4. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont en effet des éléments importants, de qualités sensorielles (Couleur ; astringence) et nutritionnels des végétaux que consomme l'homme et leur intervention dans la santé est maintenant reconnue dans des domaines variés (**Manchado et Cheynier, 2006**). Les composés phénoliques (ou polyphénols) regroupent plusieurs milliers de molécules caractérisées chez les végétaux (**Albrecht et al., 1999 ; Clé et al., 2008**). Ils possèdent tous un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles (OH-) (**Macheix et al., 2005 ; Benhamou, 2009**)

Tableau 4: Principaux groupes de composés phénoliques et leurs structures de base (Guignard *et al*, 1985).

Squelette carboné	Nom du groupe
C6	Phénols simples
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques
C6-C3	Acides phénoliques
C6-C4	Naphtoquinones
C6-C2-C6	Stilbènes
C6-C3-C6	Flavonoïdes
(C6-C3)2	Lignanes
(C6-C3) n	Lignines
(C15) n	Tannins

a. Localisation

Les polyphénols sont probablement, les composés naturels les plus répandus dans la nature on les trouve essentiellement dans les cellules épidermiques des fruits et légumes ainsi que dans les fleurs de plusieurs plantes L'ensemble des propriétés physico-chimiques des polyphénols végétaux fait des substances des écrans efficaces contre les rayons ultraviolets du soleil (Guignard *et al*, 1985).

I.2.2.4.1. Acide phénolique

Les acides phénoliques constituent un groupe important de composés organiques naturels avec un large spectre d'activités pharmacologiques, ils possèdent des propriétés non seulement antioxydantes, mais également des propriétés antivirales et antibactériennes. L'activité antioxydant phénolique est généralement combinée avec des groupes hydroxyles trouvé dans leurs molécules (Cazes, 2005). Sont les principaux polyphénols alimentaires (Watson *et al*. 2013), ils sont présents dans tous les fruits et les légumes et représentent environ un tiers de la teneur totale de l'alimentation en polyphénols (Sharma *et al*., 2015).

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts que sont les acides hydroxycinnamiques (C6-C3) et les acides hydroxy benzoïques (C6-C1) (Arimboor ; Kumar *et al*., 2008).

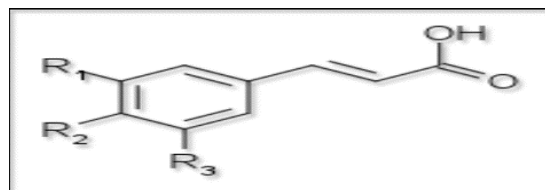
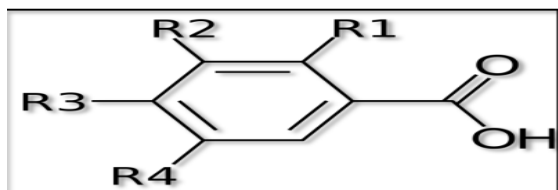


Figure 5: **Acides hydroxycinnamiques (C6-C3)** (Han *et al.*, 2007 ; Chira *et al.*, 2008) **Figure 6: Acides hydroxy benzoïques (C6-C1)** (Bruneton, 2008).

I.2.2.5. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols (Seyoum *et al.*, 2006), ils sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux, souvent responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. À l'état naturel les flavonoïdes se trouvent le plus souvent sous forme d'hétérosides (Ghestem *et al.*, 2001 ; Bruneton, 1999).

Largement répandus dans le règne végétal avec plus de 4000 composés ayant des propriétés pharmaceutiques diverses. Ils sont toujours hydrosolubles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de co-pigment (Guignard *et al.*, 1985).

a. Localisation

Les flavonoïdes sont présents d'une manière générale dans toutes les plantes supérieures (Angiospermes). Ils sont localisés dans les divers organes, racines, tiges, feuilles, bois, pollens, Fleur et fruits. Se trouvent généralement dans les vacuoles, parfois dans le cytoplasme (Hadjadj et Labe, 1993). Ils se rencontrent parfois dans la cuticule foliaire (Bruneton, 1993).

b. Structure chimique

Les flavonoïdes possèdent un squelette de base à 15 atomes de carbone constitués de deux cycles benzéniques en C6 (A et B) reliés par un hétérocycle de 3 atomes de carbone (C) (Nutra, 1996).

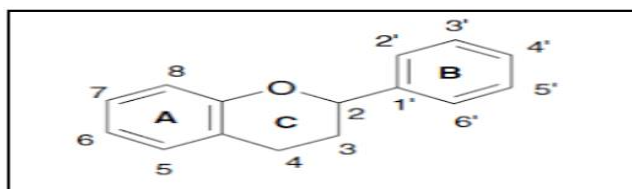


Figure 7: Biosynthèse des flavonoïdes

De façon générale les flavonoïdes se trouvent soit à l'état libre, dans ce cas ils sont dits aglycones, soit sous forme de C- ou O-glycosides, et dans ce cas ils sont liés à des sucres tels que le glucose, le rhamnose, l'arabinose, ils peuvent en outre être des monomères ou des oligomères (**Dacosta, 2003**).

C. Classification des flavonoïdes

Selon les modifications de l'hétérocycle, ces composés sont regroupés en divers sousgroupes incluant les anthocyanidines, les flavonols, les flavones, les flavanols, les flavanones, les chalcones, les isoflavonoïdes (**Treutter, 2006**).

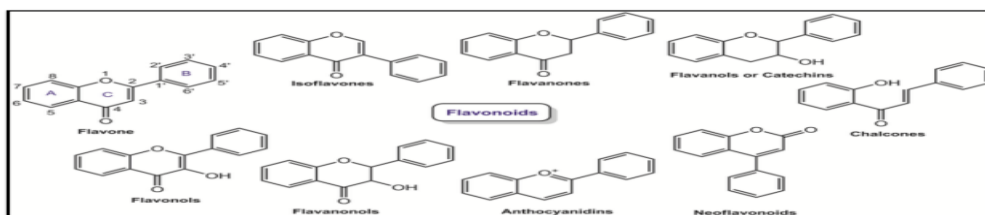


Figure 8: Structures de quelques classes des flavonoïdes (**Gamet-Payraastre et al., 1999**).

I.2.2.6. Tanins :

I.2.2.6.1. Définition :

Les tanins naturels sont des molécules poly-phénoliques hydrosolubles, de masse moléculaire comprise en 500 et 3000 et, qui outre les réactions habituelles des phénols, provoquent la précipitation des protéines (ou autres polymères) et les tanins, ou acides tanniques, sont des composés organiques complexes présents dans pratiquement toutes les plantes à des concentrations diverses. Ils sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles, ce qui leur donne un goût piquant désagréable et les rend immangeable pour le bétail (**Roux, 2007**).

I.2.2.6.2. Les classe des tanins

a) Les tannins hydrolysables :

Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols, ils sont facilement scindés par les enzymes de tannases en oses et en acide phénol,

selon la nature de celui-ci on distingue : les tanins galliques (Ils donnent par l'hydrolyse des oses et de l'acide gallique), et les tanins ellagiques (Ils sont scindés par les enzymes en oses et en acide ellagique) (**Paris et Hurabielle, 1981**).

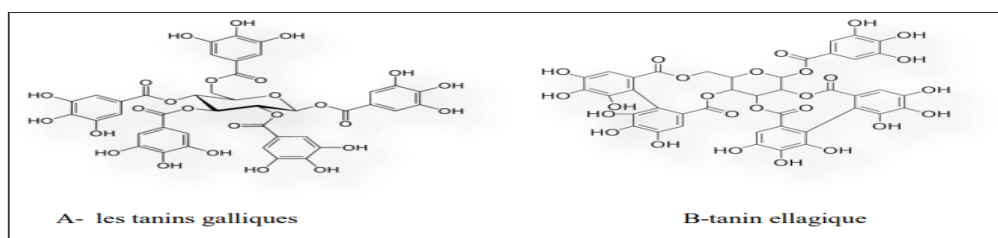


Figure 9: Structure des tanins hydrolysables et leur monomère (**Bruneton, 1999**).

b) Les tanins condensés (tanins vrais ou tannoïdes) :

Résultent de la condensation de molécules élémentaires de type flavane 3 ol (catéchines) ou flavane 3-4 diols (leuco-anthocyanidines). Les liaisons formées sont de type carbone-carbone ce qui rend ces molécules difficilement hydrolysables. Les tannins condensés sont également appelés pro-anthocyanidines ; en effet leur oxydation en milieu alcool-acide à chaud entraîne la fonction de pigments anthocyaniques tels que cyanidine et delphinidine. C'est certainement ce type de molécules qui est dotée de propriétés remarquables chez les plantes qui en sont pourvues (**Weinman et al., 2004 , Dykes et al., 2006**).

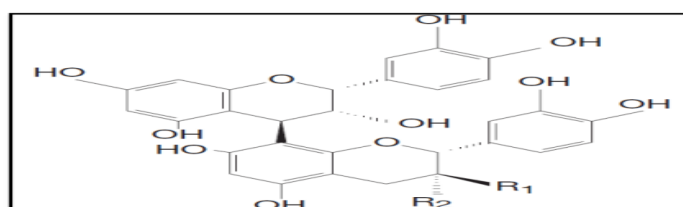


Figure 10: Structure de tanins condensés (**Cowan, 1999**).

I.2.2.6.3. Les quinones :

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange et possédant deux fonctions cétones. On trouve les quinones dans les végétaux, les champignons, les bactéries. Les organismes animaux contiennent également des quinones, comme par exemple la vitamine K, qui est impliquée dans la coagulation du sang. Les quinones sont utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides (**Kansole, 2009**).

I.2.2.6.3.1. Les anthraquinones:

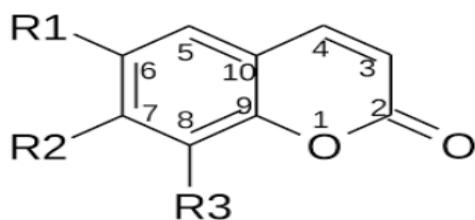
Sont des composés aromatiques qui provoquent des contractions des parois du gros intestin et ont ainsi une action extrêmement laxative. **(Hans et Kothe ; 2007)**

I.2.2.6.4. Les anthocyanes :

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

I.2.2.7. Les coumarines :

Les coumarines sont parmi les composés phénoliques les plus connus. Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle. La 7-hydroxycoumarine, connue sous le nom d'ombelliférone, est le précurseur des coumarines 6, 7-di- et 6, 7,8-trihydroxylées. Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, super oxydes et peroxydes, **(Igor, 2002)**, Les coumarines sont connues par leurs activités cytotoxiques, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées **(Gonzalez et Estevez-Braun, 1997)**.



Composée	R1	R2	R3
Ombelliférone	H	OH	H
Herniarine	H	OCH3	H
Esculélot	OH	OH	H
Scopolélot	OCH3	OH	H
Fraxétol	OCH3	OH	OH

Figure 11: Structure de coumarine (Bruneton, 2009).

I.2.2.8. Stéroïdes

On trouve parmi les sous classes que regroupe les triterpènes des substances naturelles qui sont particulièrement abondante dans les végétaux et les animaux, ces substances appelés stéroïdes sont un ensemble de molécules dérivés du cholestérol ou de ses homologues possèdent un squelette qui comprend des radicaux méthyles et une chaîne (Bruneton, J. 2016).

I.2.2.9. Stérols :

Alcools à noyaux cyclo-pento-perhydro-phénanthréniques. On les trouve chez les végétaux, sous forme d'esters : les stérides, ou combinés à des sucres sous forme d'hétérosides : Stérols libres : comme ergostérol de l'Ergot de seigle et de la levure de bière. Hétérosides : Digitales, Scilles (à l'activité cardiotonique ++). Stéroïdes : Dioscoréa, (Agave Wichtl, M., & Anton, R. 2003).

I.2.2.10. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbonés naturels de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte. Leur formule brute est $(C_5H_X)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs de 1 à 8 sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 . Sont particulièrement actifs Les triterpènes entrent dans la production de médicaments stéroïdiques ayant Des propriétés : contraceptives, anabolisantes, anti-inflammatoires (D. dehak k avril 2013).

I.2.2.11. Saponosides :

Parmi les substances très répandues dans la flore on trouve les saponines qui doivent leurs noms à leur solution aqueuse a mousse, sur le plan chimique, ces

substances sont des glucides avec une structure soit stéroïdienne, soit triterpénique (**bruylant et al., 1962**).

I.2.2.12. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes forment un grand nombre des familles très hétérogènes des métabolites secondaires représentant un intérêt de par leurs propriétés pharmacologiques et leur application en médecine (**Vican, 2001**).

Leurs caractéristiques communes sont : -la solubilité dans l'eau. -la présence d'au moins un atome d'azote qui accepte souvent un proton, ce qui leur confère un caractère légèrement basique en solution. Dans leur majorité, les alcaloïdes soient, hétérocycliques, bien que quelques composés azotés aliphatiques, comme la colchicine soit parfois classée dans les alcaloïdes (**Hopkins, 2003**).

Les alcaloïdes sont d'origine naturelle, le plus souvent végétale. Ce sont des substances organiques azotés et basiques, doués, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées A l'état naturel, ils sont généralement salifiés par les acides organiques (tartrates, malates ...) ou combinés à des tanins (**Bruneton, 2009**).



Figure 12: Structures chimiques de quelques alcaloïdes (**Bruneton, 2009**).

I.3. Les activités biologiques et propriété thérapeutique

Les feuilles d'*Aloysia citriodora* constituent une source majeure de composés bioactifs, notamment les polyphénols (verbascoside), les flavonoïdes (lutéoline, apigénine) et les terpénoïdes présents dans son huile essentielle. Cette richesse phytochimique lui confère un large éventail d'activités biologiques. En effet, plusieurs études récentes ont mis en évidence que les extraits de cette plante présentent des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, sédatives, anti-inflammatoires ainsi qu'antispasmodiques. De ce fait, l'infusion et l'huile essentielle de verveine citronnée sont actuellement considérées comme des ressources naturelles prometteuses dans le développement de nouvelles approches thérapeutiques et agroalimentaires à base de substances d'origine végétale (**Pascual et al., 2001 ; Bahri et al., 2015**)

I.3.1. L'activité antioxydante

L'activité antioxydante d'*Aloysia citriodora* (Verveine odorante) cultivée en Algérie est particulièrement puissante. Évaluée par les tests DPPH et FRAP, cette capacité à piéger les radicaux libres est directement liée à sa richesse en composés phénoliques, notamment le verbascoside et les flavonoïdes. Les études montrent que les extraits de la plante (infusions et extraits méthanoliques) protègent efficacement les cellules contre le stress oxydatif. En Algérie, les conditions bioclimatiques locales favorisent une concentration élevée de ces principes actifs dans les feuilles (**Cheurfa & Allem, 2016**).

I.3.1.1. Le stress oxydant

Le stress oxydant correspond à une perturbation de l'équilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les mécanismes de défense antioxydants de l'organisme. Lorsque la génération des ROS dépasse les capacités neutralisantes des systèmes antioxydants, ces espèces hautement réactives peuvent induire des altérations au niveau des constituants cellulaires, notamment les lipides membranaires, les protéines et le matériel génétique (ADN). Ce déséquilibre est impliqué dans la physiopathologie de diverses affections, telles que les maladies cardiovasculaires, les troubles neurodégénératifs, les cancers ainsi que le processus de vieillissement prématuré. De ce fait, le stress oxydant constitue aujourd'hui un axe central dans de nombreuses recherches en biomédecine (**Sies, 2020**).

I.3.1.2. Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules capables d'inhiber ou de neutraliser les radicaux libres, limitant ainsi les altérations qu'ils peuvent induire au sein des cellules. Ils jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre redox en régulant les concentrations intracellulaires des espèces réactives de l'oxygène (ROS) à des niveaux compatibles avec le fonctionnement physiologique. Face à la production continue de ces espèces réactives, l'organisme développe un système de défense adaptatif reposant sur deux grandes lignes de protection cellulaire, de capacités différentes, assurant à la fois la détoxification des ROS et la préservation de l'intégrité cellulaire contre les effets du stress oxydatif (**Favier, 2003**).

I.3.1.2.1. Antioxydants endogènes

Les antioxydants endogènes correspondent à un ensemble de molécules synthétisées naturellement par l'organisme afin de limiter l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de prévenir l'apparition du stress oxydatif. Ces systèmes de défense jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie cellulaire en assurant la neutralisation continue des radicaux libres (**Singh et al., 2021**).

Ils se divisent principalement en deux catégories :

Antioxydants enzymatiques :

- Superoxyde dismutase (SOD)
- Catalase (CAT)
- Glutathion peroxydase (GPx)
- Antioxydants non enzymatiques :
- Glutathion (GSH)
- Acide urique
- Coenzyme Q10
- Bilirubine

I.3.1.2.2. Antioxydants exogènes

Les antioxydants exogènes sont des composés qui ne sont pas synthétisés par l'organisme et qui sont apportés principalement par l'alimentation. Ils proviennent en grande partie des végétaux, notamment des plantes médicinales riches en métabolites

secondaires. Ces substances jouent un rôle important dans la protection cellulaire en complétant l'action des systèmes antioxydants endogènes (**Ali et al., 2023**).

Ils regroupent plusieurs familles de composés bioactifs, dont :

- Polyphénols : flavonoïdes, acides phénoliques
- Caroténoïdes : β -carotène, lycopène
- Vitamines antioxydantes : vitamine C et vitamine E
- Autres composés végétaux : alcaloïdes, tanins et lignanes

I.3.1.3. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydant

L'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydant constitue une étape essentielle dans l'étude des extraits naturels, notamment d'origine végétale. Ces méthodes reposent sur des principes physico-chimiques permettant de quantifier la capacité des composés à piéger les radicaux libres ou à réduire des agents oxydants. Parmi les tests les plus utilisés figurent les méthodes colorimétriques comme le DPPH, le FRAP, l'ABTS ou encore l'ORAC. Ces techniques sont appréciées pour leur simplicité, leur faible coût et leur efficacité dans le criblage rapide de l'activité antioxydante des extraits bruts ou des composés isolés (**Prior et al., 2005**)

I.3.1.3.1. Le test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, agissent comme piègeurs efficaces de radicaux libres grâce à leur capacité à donner un électron ou un atome d'hydrogène, stabilisant ainsi les espèces réactives. En neutralisant ces radicaux par transfert direct d'électron, ils génèrent des radicaux phénoxyles ou flavonoïdes beaucoup plus stables et moins réactifs, limitant les dommages oxydatifs aux structures cellulaires (**Mishra et al., 2020**).

Principe

Le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est une méthode couramment utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des composés naturels ou synthétiques. Il repose sur la réduction du radical libre DPPH $\bullet$, de couleur violette intense, par un donneur d'hydrogène (antioxydant). Lorsqu'un antioxydant est présent, il cède un électron ou un atome d'hydrogène au radical DPPH $\bullet$, qui est alors converti en sa forme réduite, DPPH-H, de couleur jaune pâle. Cette réduction est mesurée par la diminution de l'absorbance à 517

nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'intensité de cette diminution est proportionnelle à la capacité antioxydante de l'échantillon testé (**Kadaré et al., 2021**).

I.3.1.3.2. Le test de la réduction de fer FRAP

Le test FRAP (Ferrique Reducing Antioxydant Power) est utilisé pour mesurer la capacité antioxydante globale d'un extrait à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) en milieu acide. Ce test repose sur la réduction du complexe ferrique-TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine), incolore, en complexe ferreux-TPTZ, de couleur bleue, mesurable par spectrophotométrie à 593 nm. (**Mphahlele et al., 2020**)

I.3.2. Activité Antibactérienne et Antifongique

L'huile essentielle d'*Aloysia citriodora* possède des propriétés antimicrobiennes remarquables dues à sa richesse en composés terpéniques. Elle agit en perturbant l'intégrité de la membrane cellulaire des pathogènes, provoquant une fuite de l'ATP et des ions intracellulaires. Son efficacité a été démontrée contre des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et des champignons responsables de pathologies cutanées ou agricoles (**Oukerrou, M. A., et al., 2017**).

I.3.3. L'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire est principalement portée par le *verbascoside*, un phénylpropanoïde capable d'inhiber la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que l'oxyde nitrique (NO) et les prostaglandines. Des études cliniques indiquent que l'extrait de verveine citronnelle réduit significativement les douleurs articulaires et les marqueurs du stress oxydatif chez les patients souffrant de troubles inflammatoires chroniques (**López-Roig, R., et al., 2021**).

I.3.4. Propriétés anxiolytiques et neuroprotectrices d'*Aloysia citrodora* L.

Sur le plan neurologique, la plante agit comme un modulateur des récepteurs GABA-A, ce qui lui confère des propriétés sédatives et anxiolytiques sans toxicité apparente. Parallèlement, ses antioxydants protègent les neurones contre l'apoptose induite par le glutamate, suggérant un rôle protecteur contre le déclin cognitif et les pathologies neuro dégénératives. (**Bahramsoltani, R., et al., 2018**).

I.3.4.1. Propriétés Anti-diabétique d'*Aloysia citrodora* L.

L'effet hypoglycémiant de l'*Aloysia citrodora* est lié à l'inhibition de l'enzyme alpha-glucosidase, ce qui ralentit l'absorption des glucides au niveau intestinal. De plus, les extraits de la plante améliorent la sensibilité à l'insuline et protègent les cellules bêta du pancréas contre les dommages oxydatifs liés à l'hyperglycémie chronique (Sabra, A. S., *et al.*, 2021).

I.3.4.2. Propriétés Anti-cancéreuse (Cytotoxique) d'*Aloysia citrodora* L.

Les recherches *in vitro* révèlent que les extraits de verveine citronnelle exercent une action antiproliférative sur diverses lignées cellulaires cancéreuses. Le mécanisme implique l'induction de la mort cellulaire programmée (apoptose) et l'arrêt du cycle cellulaire. Le citral, constituant majeur de l'huile essentielle, semble jouer un rôle clé dans cette cytotoxicité sélective.

I.3.4.2.1. Propriété antispasmodique :

Sur le plan pharmacologique, *Aloysia citrodora* Paláu se distingue par une remarquable propriété antispasmodique au niveau de la sphère gastro-intestinale, venant corroborer son utilisation traditionnelle empirique dans le traitement des coliques, des douleurs gastriques et des digestions difficiles (Sprea *et al.*, 2023). Des investigations mécanistiques menées *in vitro* ont démontré que cette action spasmolytique repose majoritairement sur une synergie entre ses composés volatils, tels que le citral, et sa fraction phénolique (Consolini *et al.*, 2007 ; Ragone *et al.*, 2010). Ces métabolites secondaires agissent en induisant une relaxation directe des muscles lisses intestinaux, principalement par le blocage des canaux calciques voltage-dépendants ou par l'inhibition des récepteurs muscariniques à l'acétylcholine (Ragone *et al.*, 2010). Parmi les composés isolés, la vitexine — un hétéroside de flavone majeur chez la verveine odorante — a été identifiée comme l'un des principaux agents responsables de cette activité de relaxation musculaire (Consolini *et al.*, 2007).

Partie II :

Matériels et Méthodes

II. Matériels et méthodes :

II.1. Introduction :

Grâce à sa situation géographique, l'Algérie bénéficie d'une flore riche et diversifiée, favorisant le développement spontané de nombreuses plantes médicinales aromatiques. L'intérêt porté à ces dernières a connu une croissance notable au cours des dernières années.

A cet effet, on s'est intéressé à étudier la plante *Aloysia Citrodora* L, on a effectué les études screening phytochimique et activités biologiques d'huile essentielle et les extraits phénoliques à savoir (décoction, infusion et extrait éthanolique).

L'objectif de ce travail est screening phytochimique, l'extraction d'huile essentielle par la méthode d'hydrodistillation, l'étude de l'activité antioxydant des extraits de la plante et d'huile essentielle par la méthode de piégeage des radicaux libre (DPPH) et le test de la réduction de fer (FRAP), Evaluation de teste anti-inflammatoire. l'étude de l'activité antibactérienne des extraits et d'huile essentielle sur certaines espèces pathogènes (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis*) et fongiques *Aspergillus Niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium* (*P.Expansum*, *P.Zacinthae*, *P.Corylophilum*) et à la fin l'évaluation la concentration minimale inhibitrice CMI et concentration minimale bactéricide CMB.

II.2. Matériel végétal :

Notre étude est portée sur une espèce de la famille des Verbenaceae qui est *Aloysia Citrodora* L. la plante a été récoltée au mois de décembre 2026 dans la région d'Ain El Hdjar wilaya de Saida, loin de tout impact de pollution, dans la zone de « 34°48'43.3"Nord et 0°03'00.0 »West, la partie aérienne de la plante a été séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 21 jours, on sépare les feuilles des tiges, une partie des feuilles été broyées à l'aide d'un mortier pour obtenir une poudre fine pour qu'elle soit prête à l'utilisation pour être soumise à des tests phytochimiques et également à différentes extractions et l'autre pour l'extraction d'huile essentielle.

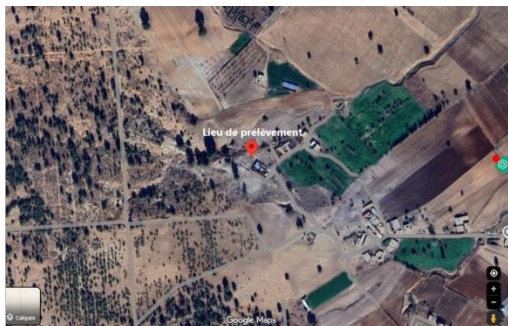


Photo 1: Lieu de prélèvement de la plante.



Photo 2: Récolte de la plante



Photo 3: Séchage de la partie aérienne.



Photo 4: Séparation les feuilles des tiges.



Photo 5: Broyage des feuilles.

II.3. Screening phytochimique :

Dans le cadre de la recherche de nouvelles biomolécules d'origine végétale, la composition chimique du matériel végétal a été étudiée à travers un criblage phytochimique. Cette analyse a permis de mettre en évidence différents groupes de composés chimiques, notamment les tanins, flavonoïdes, anthocyanes, coumarines, composés réducteurs, stérols et stéroïdes, amidon, alcaloïdes ainsi que les saponines.

L'identification de ces métabolites secondaires repose sur des essais de solubilité, des réactions de coloration et de précipitation, ainsi que sur des observations sous lumière ultraviolette.

II.4. Préparation des extraits :

Les extraction solide / liquide de ces plantes ont été réalisées selon trois modes de préparation : infusion aqueuse, décoction aqueuse et décoction éthanolique, décrits par **Paris *et al.*, (1969)**.

II.5. Infusion aqueuse :

Verser 100 ml d'eau distillée bouillante sur 5 g de la poudre des feuilles d'*Aloysia Citrodora L.* laisser le mélange 15 à 20 minutes puis filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

II.6. Décoction aqueuse :

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant et porter sur une chauffe ballon, mélanger 5 g de la poudre avec 100 ml de l'eau distillée, laisser le chauffer à une température minimum pendant 1 heure puis filtrer le mélange et récupérer le filtrat.

II.7. Décoction éthanolique :

Cet extrait est préparé de la même manière que l'extrait aqueux en utilisant l'éthanol à la place du l'eau distillée, mélanger 5 g de matière végétal dans 100 ml de l'éthanol après le chauffage à une température de 100° C pendant 1 heure on filtre le mélange et on récupérait le filtrat.

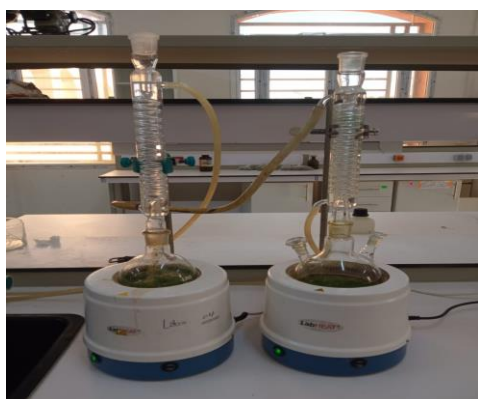


Photo 6: Montage d'extraction des extraits.

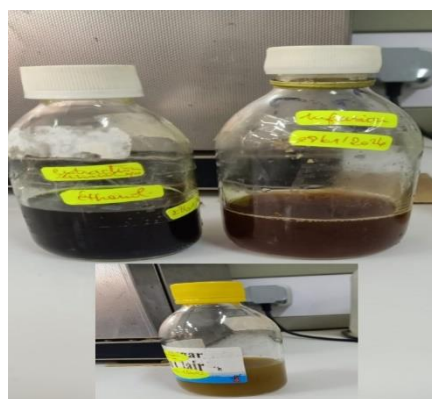


Photo 7: Les trois extraits préparés après filtration

II.8. Différentes classes recherchées :

II.8.1. Les flavonoïdes :

À 5 ml de l'extrait éthanolique, on ajoute 1 ml d'acide chlorhydrique concentré ainsi que 0,5 g de tournures de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge ou rose indique la présence des flavonoïdes (+), tandis que l'absence de changement de couleur traduit leur absence (-) (**Karumi et al., 2004**).

II.8.2. Les coumarines :

Une quantité de 1 g de poudre végétale est dissoute dans quelques gouttes d'eau distillée chaude. La solution obtenue est ensuite recouverte d'un papier imbibé d'une solution saturée de NaOH, puis portée à ébullition.

L'observation sous lumière ultraviolette permet de mettre en évidence la présence des coumarines par l'apparition d'une fluorescence intense (**Benmehdi, 2000**).

II.8.3. Les tannins :

Un volume de 1 ml de l'extrait éthanolique est additionné de 2 à 3 gouttes d'une solution de FeCl_3 à 1 %. Après quelques minutes d'incubation, l'apparition d'une coloration verdâtre indique la présence de tanins catéchiques, tandis qu'une coloration bleu-noirâtre révèle la présence de tanins galliques (**Karumi et al., 2004**).

II.8.4. L'amidon :

Cinq millilitres d'extrait aqueux sont traités par 10 ml de NaOH ainsi que le réactif spécifique de l'amidon. L'apparition d'une coloration bleu violacé révèle la présence d'amidon (**Benmehdi, 2000**).

II.8.5. Les alcaloïdes :

Deux grammes de poudre végétale sont macérés pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange d'acide sulfurique dilué et d'eau distillée. Après filtration et ajustement du volume à 50 ml, 1 ml du macérât est réparti dans deux tubes. On ajoute 5 gouttes du réactif de Mayer dans le premier tube et 5 gouttes du réactif de

Wagner dans le second. L'apparition d'un trouble ou d'un précipité après 15 minutes confirme la présence d'alcaloïdes (**Paris et al., 1969**).

II.8.6. Les saponosides :

Un mélange de 2 ml d'infusion aqueuse et 2 ml d'eau distillée est agité vigoureusement pendant 2 minutes. L'apparition d'une mousse persistante après 15 minutes confirme la présence de saponosides (**Karumi et al., 2004**)

II.8.7. Les composés réducteurs :

La détection repose sur le traitement de 1 ml d'extrait éthanolique avec de l'eau distillée, suivi de l'ajout d'environ 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffage.

La formation d'un précipité rouge brique indique un test positif (**Trease et Evans, 1987**).

II.8.8. Les anthocyanes :

À 2 ml d'infusé aqueux, on ajoute 2 ml d'acide chlorhydrique (HCl 2N). L'apparition d'une coloration rose-rouge, virant au bleu violacé après addition d'ammoniac, indique la présence d'anthocyanes (**Benzeggouta, 2015**).

II.8.9. Les stérols et les triterpènes :

Deux essais sont réalisés (**Trease et Evans, 1987**) :

Essai 1 stérols et stéroïdes :

10 ml d'extrait éthanolique sont évaporés à sec, puis le résidu est dissous dans 10 ml de chloroforme anhydre. À 5 ml de cette solution, on ajoute 5 ml d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Après agitation et repos, l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (intensité maximale après 30 minutes à 21 °C) indique un test positif.

Essai 2 (hétérosides stéroïdiques et triterpéniques) :

L'extrait éthanolique (10 ml) est évaporé à sec, puis le résidu est dissous dans un mélange anhydride acétique/chloroforme (5/5, V/V). Après filtration, le filtrat est traité par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (réaction de

Liebermann-Burchard). L'apparition de colorations vert-bleu et vert-violet indique respectivement la présence d'hétérosides stéroïdiques et triterpéniques.

II.9. Extraction d'huile essentielle d'*Aloysia citrodora* L :

L'extraction de l'huile essentielle d'*Aloysia citrodora* L a été effectuée par la méthode d'extraction de la méthode d'hydrodistillation afin de calculer le pourcentage du rendement.

Dans un ballon en verre d'une capacité de 1 litre, on introduit 40g de matière végétale (feuilles), puis on ajoute un volume d'eau 700 ml qui correspond à 2/3 de la capacité du ballon pour éviter le débordement lors de l'ébullition. A l'aide d'une chauffe ballon, on chauffe le mélange pendant 3 heures. Pendant l'ébullition, les cellules végétales s'éclatent et libèrent leurs contenus, qui par la suite sont transportés par les vapeurs d'eau générés dans le ballon vers le réfrigérant où ils se condensent. Les gouttelettes ainsi chutent dans une ampoule à décanter et forment deux phases qui se séparent par différence de densité, l'huile essentielle flotte à la surface de l'eau.

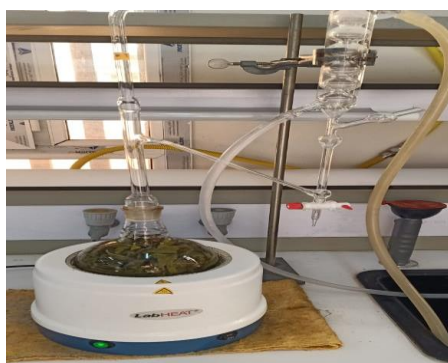


Photo 8: Dispositif d'hydrodistillation

II.10. Conservation de l'huile essentielle obtenue :

Afin de préserver la stabilité des composés constituant l'huile essentielle, celle-ci a été conservée dans un flacon en verre stérile hermétiquement fermé, à l'abri de l'air et de la lumière. Le flacon a été enveloppé dans du papier aluminium puis maintenu à une température d'environ 6 °C jusqu'à son utilisation, afin d'éviter toute éventuelle dégradation des constituants de l'huile essentielle.

II.11. Détermination du rendement d'huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle est déterminé par le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale sèche utilisée initialement. Ce rendement, exprimé en pourcentage, permet d'évaluer l'efficacité du procédé d'extraction (AFNOR, 2000).

La formule utilisée est la suivante :

$$\text{Rdt}_{\text{HE}} = \text{M}_{\text{HE}} / \text{M}_{\text{S}} \times 100$$

Rdt_{HE} : rendement extraits fixes en g /100g de matière sèche.

M_{HE} : masse d'huile essentielle récupérée exprimée en g.

M_S : quantité de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

II.12. Evaluation de l'activité antioxydant :

II.12.1. Teste de piégeage du radical libre DPPH. (2,2-diphenyl 1-picrylhydrazyl) :

L'activité antioxydant des extraits a été déterminée par le test de piégeage du radical libre DPPH.

Une solution mère de chaque extrait a été préparée à la concentration de 8 mg/ml dans le méthanol. Des dilutions successives ont ensuite été réalisées dans six tubes contenant chacun 1 ml de méthanol, par transfert sériel de 1 ml d'un tube à l'autre afin d'obtenir une gamme de concentrations décroissantes. Chaque série de dilution a été effectuée en triple pour garantir la reproductibilité.

Par la suite, 50 µL de chaque dilution ont été ajoutés à 1950 µL d'une solution de DPPH (DO_{DPPH}= 0,8) dans des tubes propres. Les mélanges ont été incubés pendant 1 heure à température ambiante, à l'obscurité. L'absorbance a été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, en utilisant comme blanc une solution de DPPH dans le méthanol et comme contrôle négatif le méthanol seul. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon la formule

standard, permettant ainsi de déterminer la valeur d'IC₅₀ pour chaque extrait analysé (Clarke *et al.*, 2013).

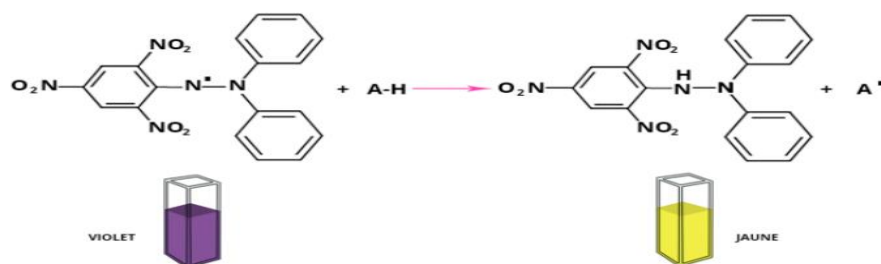


Figure 13: mécanisme réactionnelle du test DPPH.

L'équation ci-dessous a été utilisée pour calculer l'activité de piégeage :

$$\text{Activité de piégeage (\%)} = (\text{AC} - \text{AS}) / \text{AC} \times 100 \%$$

AC : Absorbance de contrôle.

AS : Absorbance de l'échantillon.

= !! Calcul des concentrations efficaces IC₅₀ :

Le IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC₅₀ pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH.

Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

II.12.2. Calcul de l'activité anti radicalaire :

APR ou activité anti radicalaire qui est inversement proportionnel à l'EC₅₀ (concentration d'inhibition) (Prakash *et al.*, 2007).

$$\text{APR} = 1/\text{EC}_{50}$$

II.12.3. Réduction de fer (FRAP):

Le pouvoir antioxydant ferrique des extraits a été évalué par la méthode de réduction du ferricyanure de potassium en présence de chlorure ferrique (essai FRAP). Une aliquote de 0,5 ml d'extrait a été mélangée à 1,25 ml de tampon phosphate (0,2 M ; pH 6,6) et à 1,25 ml de $K_3Fe(CN)_6$ à 1 %. Après homogénéisation, les mélanges ont été incubés à 50 °C pendant 20 minutes. Ensuite, 1,25 ml d'acide trichloroacétique à 10 % a été ajouté afin d'arrêter la réaction, suivi d'une centrifugation à 3000 rpm pendant 10 minutes.

Le surnageant (1,25 ml) a été récupéré puis mélangé à 1,25 ml d'eau distillée et à 0,5 ml de $FeCl_3$ à 0,1 %. L'absorbance a été mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le témoin est traité avec le même protocole sauf l'extrait est remplacé à l'eau distillé.

L'acide ascorbique a servi de standard de référence, et l'activité antioxydant totale a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière sèche (mg EAA/g MS).

II.13. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

II.13.1. Test de stabilisation de la membrane des globules rouges (érythrocytes) :

Ce test repose sur le fait que la membrane érythrocytaire présente une analogie structurale avec la membrane lysosomale ; ainsi, les substances à activité anti-inflammatoire sont capables de stabiliser ces membranes et de prévenir leur lyse en conditions de stress hypotonique (**Nurtamin *et al.*, 2018**).

L'objectif de ce test est d'évaluer la capacité des extraits à inhiber l'hémolyse des globules rouges. Pour cela, du sang total humain frais est prélevé chez un volontaire sain n'ayant pas consommé d'anti-inflammatoires durant les deux semaines précédentes, puis immédiatement mélangé à volume égal avec la solution d'Alsever. Après centrifugation à 3000 tr/min pendant 10 minutes, le surnageant est éliminé et le culot érythrocytaire est lavé trois fois avec une solution saline isotonique, avant d'être remis en suspension pour obtenir une suspension de globules rouges à 10 % (v/v). Le mélange réactionnel, d'un volume total de 4,5 ml, est constitué de 1 ml de tampon phosphate, 2 ml de solution

hyposaline, 0,5 ml de suspension érythrocytaire et 1 ml d'extrait à tester, tandis que le témoin contient de l'eau distillée à la place de l'extrait.

Les tubes sont ensuite incubés à 37 °C pendant 30 minutes, puis centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 minutes. Enfin, l'absorbance du surnageant est mesurée à 560 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible afin d'évaluer le degré d'hémolyse.

▪ **Calcul du pourcentage de protection :**

$$\text{Protection (\%)} = 100 - (\text{DO échantillon} / \text{DO contrôle} \times 100)$$

II.14. Evaluation de l'activité antimicrobienne :

Il s'agit d'une méthode *in vitro* utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne et antifongique de certains composés. Dans cette étude, la technique des disques de vliesline a été employée, une méthode de référence couramment utilisée pour apprécier l'activité antimicrobienne d'une substance (Balouiri *et al.*, 2016).

II.14.1. Les souches bactériennes :

Les différentes souches utilisées sont motionnées dans ce tableau :

Tableau 5: Caractéristiques et références des souches bactériennes utilisées

Les bactéries	Références	Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	MRSA ATCC 33591	+
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 11778	+
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	+

II.15. Repiquage des souches bactériennes :

Des colonies bien isolées, issues de cultures pures, ont été ensemencées dans un bouillon nutritif, puis incubées à 37 °C pendant 72 heures.

II.15.1. Les souches fongiques :

Les souches fongiques sont fournis par l'encadreur, *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*), *Penicillium* (*P. expansum*, *P. zacinthae*, *P. corylophilum*).

II.15.2. Préparation de l'inoculum :

Chaque souche est d'abord ensemencée sur une gélose nutritive afin d'obtenir une culture fraîche de 18 à 24 heures. Ensuite, 3 à 4 colonies bactériennes bien isolées sont prélevées et mises en suspension dans un bouillon nutritif ou dans une solution physiologique stérile (Na Cl 0,9 %). La suspension obtenue est ensuite ajustée au standard de Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 625 nm, soit une concentration d'environ 10⁸ UFC/ml (**CA-SFM, 2010**).

II.16. Méthode de vlieseline :

L'activité antimicrobienne est évaluée selon les standards d'EUCAST (**EUCAST, 2018**) et par la méthode conventionnelle de diffusion des disques contre les germes-cibles.

L'utilisation de papier de vlieseline à plusieurs couches repassé pour les rendre épaisses et stérilisé. Les suspensions des germes sont calibrées à l'étalon 0,5 de la gamme de Mc Ferland.

Les milieux de culture utilisés sont la gélose Mueller-Hinton pour les bactéries et PDA acidifié pour les souches fongiques, coulée dans des boîtes de Pétri. Après solidification à température ambiante, les boîtes sont ensemencées par écouvillonnage des suspensions des germes cibles. Des disques de 6 mm de diamètre imbibé par 10 µl des extraits à tester à différentes concentrations sont ensuite placés aseptiquement sur la gélose à l'aide d'une pince.

Les boîtes sont maintenues pendant 2 heures à 4 °C afin de favoriser la diffusion des composés actifs et de ralentir temporairement la croissance microbienne (**Tortorano et al., 1979**). Par la suite, l'incubation est effectuée à 37

°C pendant 18 à 24 heures pour les bactéries et à 28 °C pendant 5 jours pour les champignons. La présence d'une zone d'inhibition autour des puits est considérée comme un résultat positif, et son diamètre est mesuré à l'aide d'une règle graduée.

II.17. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) :

Le test a été réalisé dans des microplaques stériles à 96 puits. Chaque puits a reçu 50 µl de bouillon Mueller-Hinton stérile (MHB), puis 50 µl de l'extrait concentré (éthanolique, aqueux ou infusion) ont été ajoutés uniquement dans le premier puits de chaque ligne. Des dilutions en série au 1/2 ont ensuite été effectuées par transfert successif de 50 µl d'un puits au suivant, avec homogénéisation à chaque étape, puis élimination de 50 µl du dernier puits afin de maintenir un volume constant. Après dilution, 50 µl d'une suspension bactérienne standardisée (équivalente à 0,5 McFarland) ont été ajoutés dans chaque puits, portant le volume final à 100 µl, pour les fongiques le même protocole sauf que le milieu utilisé est le PDA acidifié (bouillon et gélose).

Des contrôles ont été inclus pour valider l'essai : un contrôle négatif (milieu + souche bactérienne, sans extrait) et un contrôle positif (milieu + souche bactérienne + antibiotique). Les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures, puis 10 µL de bleu de bromothymol ont été ajoutés à chaque puits, suivis d'une seconde incubation de 2 heures à 37 °C.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été définie comme la plus faible concentration d'extrait ne présentant aucune croissance bactérienne visible, traduite par l'absence de turbidité. La concentration minimale bactéricide (CMB) a été déterminée en repiquant 10 µL des puits sans croissance sur des boîtes de gélose Mueller-Hinton, par ensemencement en râteau. Après incubation à 37 °C pendant 24 heures, la CMB correspond à la plus faible concentration ne donnant lieu à aucune croissance bactérienne.

Partie III : Résultats et discussions

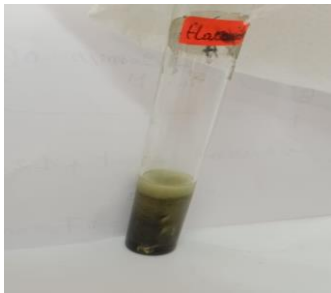
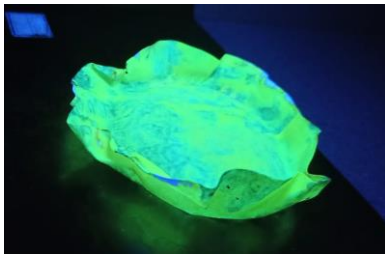
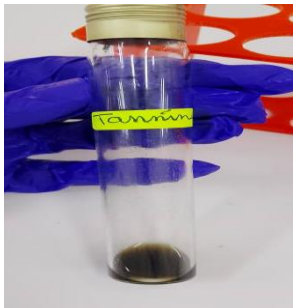
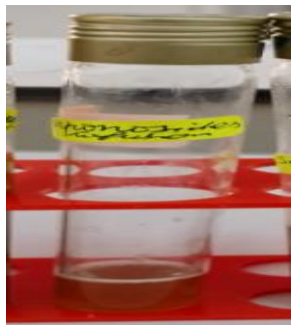
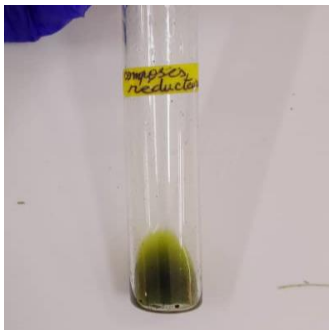
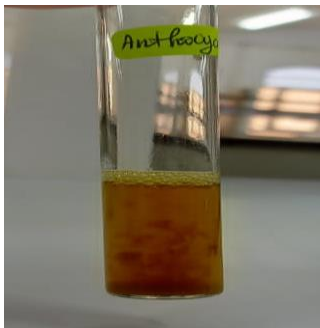
III. Les tests phytochimiques :

Les résultats des tests phytochimique pour les feuilles d' *Aloysia citrodora* sont résumé dans ce tableau :

Tableau 6: Résultats des tests phytochimiques sur les feuilles d'*Aloysia citrodora* L.

Les composées phytochimiques		Les feuilles d' <i>Aloysia citrodora</i> .
Les flavonoïdes		–
Les coumarines		++
Les tannins		+++
L'amidon		–
Les alcaloïdes	R. Mayer	++
	R. Wagner	++
Les saponosides		–
Les composés réducteurs		–
Les anthocyanes		–
Les stérols et stéroïdes		+++
Les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques		+++

Tableau 7: Photos des Résultats des tests de screening phytochimique des extraits.

Les flavonoïdes		Les coumarines	
Les tannins		L' amidon	
Les saponosides		Les composés réducteurs	
Les anthocyanes		Les stérols et stéroïdes	

Notre analyses phytochimique des feuilles d' *Aloysia citrodora* L a révélé la présence du divers composés phytochimiques indiqués dans le tableau n°, on remarque que les feuilles de cette plante sont riches en tanins, stérols et stéroïdes, hétérosides stéroïdiques et tritèrpéniques, tandis que on note une moyenne quantité des coumarines, les alcaloïdes, Les tests ont confirmé l'absence de l'amidon, des saponosides, les flavonoïdes, anthocyanes et les composés réducteurs dans cette plante.

Des travaux phytochimiques sur La plante d'*Aloysia citrodora* faites par **(Bennour et al., 2022)** et de **(Ramoul et al., 2021)**, ont montrés une concordance pour la teneur en tanins, fortement présents dans les trois études, confirmant leur abondance dans cette espèce. De même, la présence des alcaloïdes et l'absence de l'amidon et les composés réducteurs sont globalement confirmée, En revanche, une divergence importante concernant (les flavonoïdes, les anthocyanes, les saponosides) fortement présents dans les résultats des précédentes travaux alors qu'ils sont absents dans notre cas. La présence des coumarines dans notre étude présente également une différence notable. Enfin, notre travail se distingue par la mise en évidence des stérols, stéroïdes et hétérosides tritèrpéniques, non rapportés dans les études précédentes.

Plusieurs études phytochimiques portant sur la famille des Verbenaceae, notamment le genre ***Aloysia citrodora***, ont mis en évidence la présence de composés polyphénoliques ainsi que des tanins **(Carnat et al., 1999 ; Adimi, 2018 ; Belgaid et al., 2013)**, Par ailleurs la présence d'alcaloïdes, la richesse notable en flavonoïdes, ainsi que des glycosides au sein de cette famille. L'ensemble de ces données concorde globalement avec nos résultats, confirmant la richesse phytochimique de cette espèce.

La teneur en composés polyphénoliques varie généralement en fonction de plusieurs facteurs, notamment les conditions géographiques et climatiques (telles qu'une forte exposition solaire, des températures élevées ou la salinité), ainsi que les facteurs génétiques, la période de récolte et le stade de développement de la plante **(Ofosu et al., 2020 ; Kabtni et al., 2020)**.

III.1. Extraction d'huile essentielle :

L'extraction de l'huile essentielle d'*Aloysia citrodora* L a été effectuée par la méthode d'extraction de la méthode de hydrodistillation afin de calculer le pourcentage du rendement.



Photo 9: Extraction d'huile essentielle

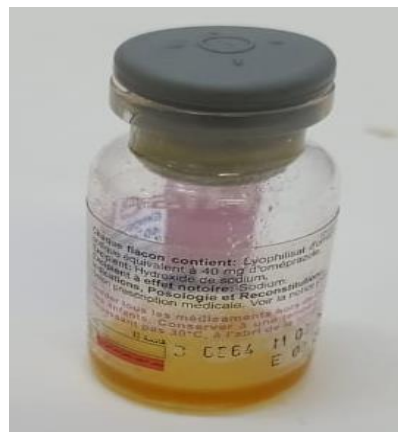


Photo 10: L'huile essentielle d'*Aloysia citrodora* L

III.1.1. Calcule de rendement d'huile essentielle :

Le tableau suivant montre le rendement d'huile essentielle.

Tableau 8: Rendement d'huile essentielle d'*Aloysia citrodora* L.

	Huile essentielle d' <i>Aloysia citrodora</i> L
Rendement %	0,36

Le résultat relatif au rendement d'huile essentielle obtenue montre que le rendement est très faible. Ce rendement est comparable à ce obtenus par d'autre travail sur *Aloysia citrodora* L, notre résultat 0,36% est s'approche à ce obtenu 0,41 % par (Achour *et al.*, 2025).

Ces différences des teneurs en huile essentielle peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment le matériel et la technique d'extraction utilisée et la nature de la plante elle-

même et son environnement (espèce, période de récolte, température, humidité, climat, type de sol) (Oukerrou, 2017).

III.2. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) :



Photo 11: Résultat de teste de DPPH d'huile essentielle.

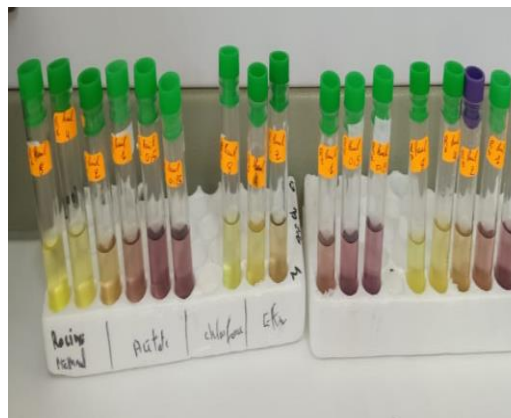


Photo 12: Résultat de teste de DPPH d'extrait éthanolique

Dans notre travail nous avons étudié l'activité antioxydant des différents extraits et d'huile essentielle, les résultats sont montrés dans les photos et figures suivantes :

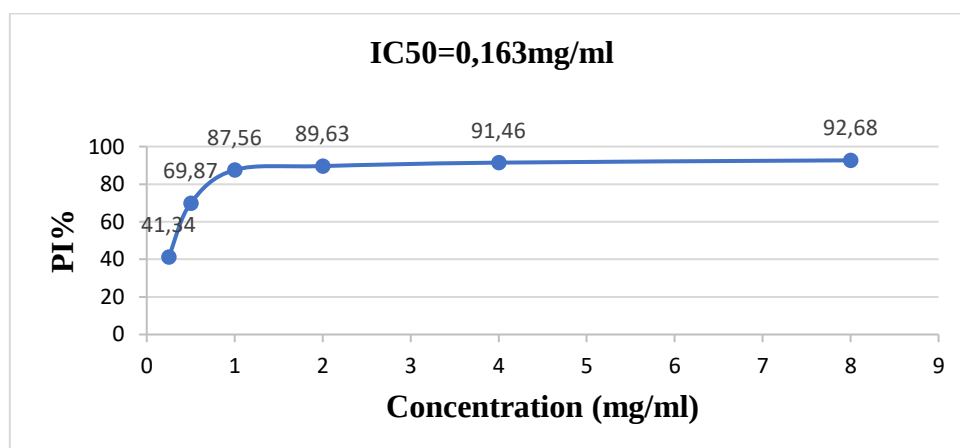


Figure 14: Activité antioxydant DPPH (pourcentage d'inhibition) d'extrait éthanolique.

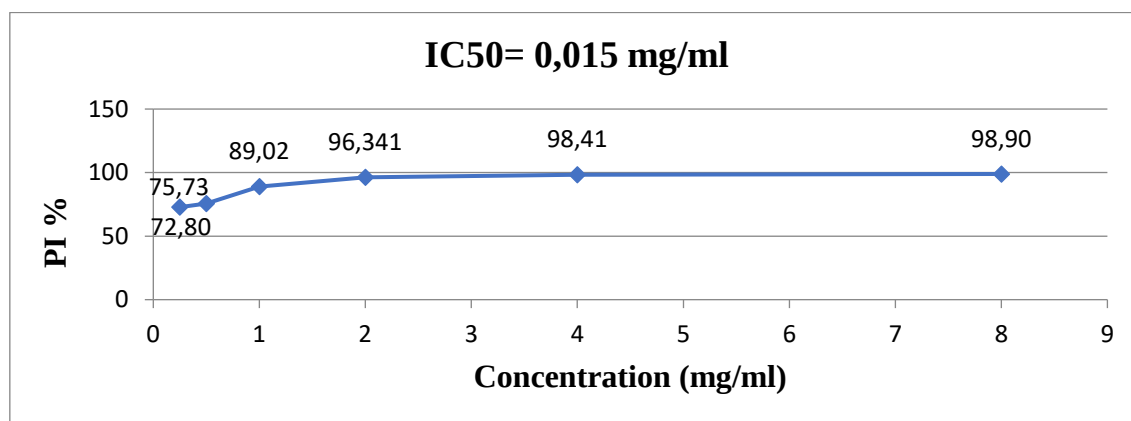


Figure 15: Activité antioxydant DPPH (pourcentage d'inhibition) d'huile essentielle.

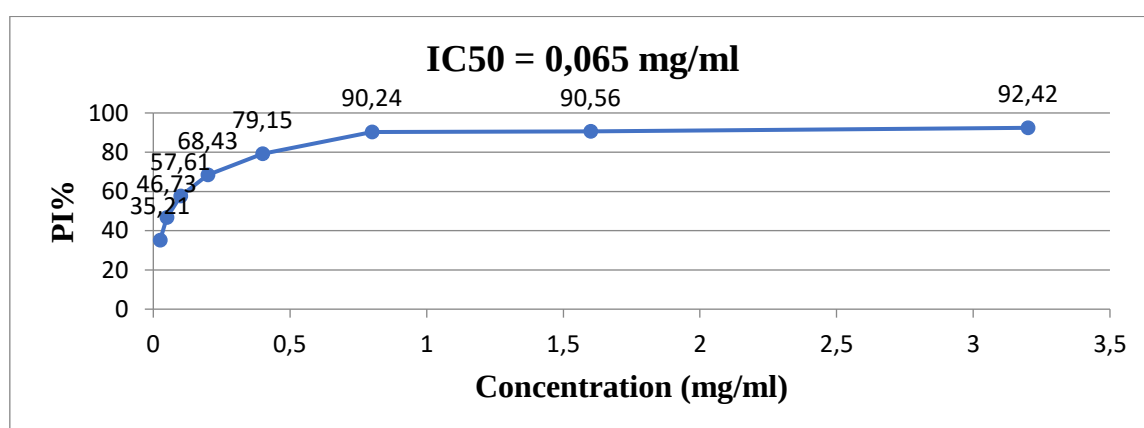


Figure 16: Activité antioxydant DPPH (pourcentage d'inhibition) d'acide ascorbique.

L'activité antioxydant des différents extraits a été évaluée par le test du DPPH en mesurant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration. Les résultats montrent une activité antioxydant pour tous les extraits et celle du standard (acide ascorbique).

L'efficacité est comparée à l'aide de l'**IC₅₀** (la concentration nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux DPPH). Plus cette valeur est faible, plus le pouvoir antioxydant est puissant. L'extrait éthanolique présente la meilleure activité parmi les extraits avec une $IC_{50} = 0,162$, l'Infusion montre une efficacité similaire à l'extrait éthanolique avec une $IC_{50} = 0,163$ mg/ml, l'extrait aqueux présente une activité plus faible avec une $IC_{50} = 0,780$ mg/ml et l'huile essentielle montre également un profil atteignant un plateau d'inhibition $IC_{50} = 0,015$ mg/ml, l'acide ascorbique montre un résultat d' $IC_{50} = 0,065$ mg/ml.

Les résultats montrent une supériorité de l'extrait éthanolique et l'infusion à l'extrait aqueux, conformément aux travaux de (**Nurtamin et al. 2018**), cela suggère que les solvants utilisés (éthanol ou eau à température d'infusion) permettent une meilleure extraction des molécules actives (comme les polyphénols hydrosolubles ou semi-polaires) (**Mojzer et al., 2016**).

Par ailleurs, l'activité antioxydant très proche observée pour l'infusion suggère que l'eau chaude a permis l'extraction d'une quantité importante de composés phénoliques hydrosolubles. Plusieurs travaux ont rapporté que les infusions présentent une activité antioxydant remarquable grâce à leur richesse en composés phénoliques tels que les flavonoïdes et les dérivés de l'acide caféique, notamment le verbascoside (**Carnat et al., 1999 ; Quirantes-Piné et al., 2009**).

La faible activité antioxydant de l'extrait aqueux ($IC_{50} = 0,780$ mg/ml) pourrait être liée à une moindre extraction des composés phénoliques actifs et/ou à l'altération de certaines molécules thermosensibles lors du chauffage prolongé. L'influence de la température sur la teneur en composés phénoliques et sur l'activité antioxydant a déjà été rapportée chez *Aloysia citriodora* L (**Garnica-Romo et al., 2024**).

La forte activité antioxydant observée chez les extraits pourrait être liée à leur richesse en composés phénoliques. Ces derniers sont reconnus pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres grâce au transfert d'un atome d'hydrogène ou d'un électron à ces espèces réactives, conduisant à leur stabilisation et à l'interruption des réactions d'oxydation en chaîne (**Dai et Mumper, 2010**).

De nombreux travaux notamment ceux de (**Shahhoseini et al., 2013**), ont montré que l'huile essentielle d'*Aloysia citrodora* est principalement composée de citral (géraniol et néral ainsi que de limonène). Ces composés terpéniques sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et leur capacité à neutraliser les radicaux libres, grâce à leur aptitude à interrompre les réactions d'oxydation et à limiter la formation d'espèces réactives de l'oxygène (**Miguel, 2010**).

Dans notre étude, l'huile essentielle a présenté la meilleure activité antioxydant ($IC_{50} = 0,015$ mg/ml) parmi les échantillons analysés. Cette activité pourrait être liée à sa richesse en composés volatils bioactifs, notamment les

monoterpènes oxygénés, connus pour leurs propriétés antioxydants. Contrairement à l'acide ascorbique ($IC_{50} = 0,065 \text{ mg/ml}$), qui agit comme une molécule antioxydant unique, l'huile essentielle constitue un mélange complexe de nombreux composés bioactifs dont les interactions peuvent contribuer à l'activité antioxydant globale observée. Cette activité résulterait non seulement des effets individuels des constituants majoritaires, mais également d'interactions synergiques ou additives entre les différents composés présents dans l'huile essentielle (Bakkali *et al.*, 2008 ; Miguel, 2010).

III.2.1. Calcul de l'activité anti radicalaire :

APR ou activité anti radicalaire qui est inversement proportionnel à l'IC 50 (concentration d'inhibition) (Prakash *et al.*, 2007).

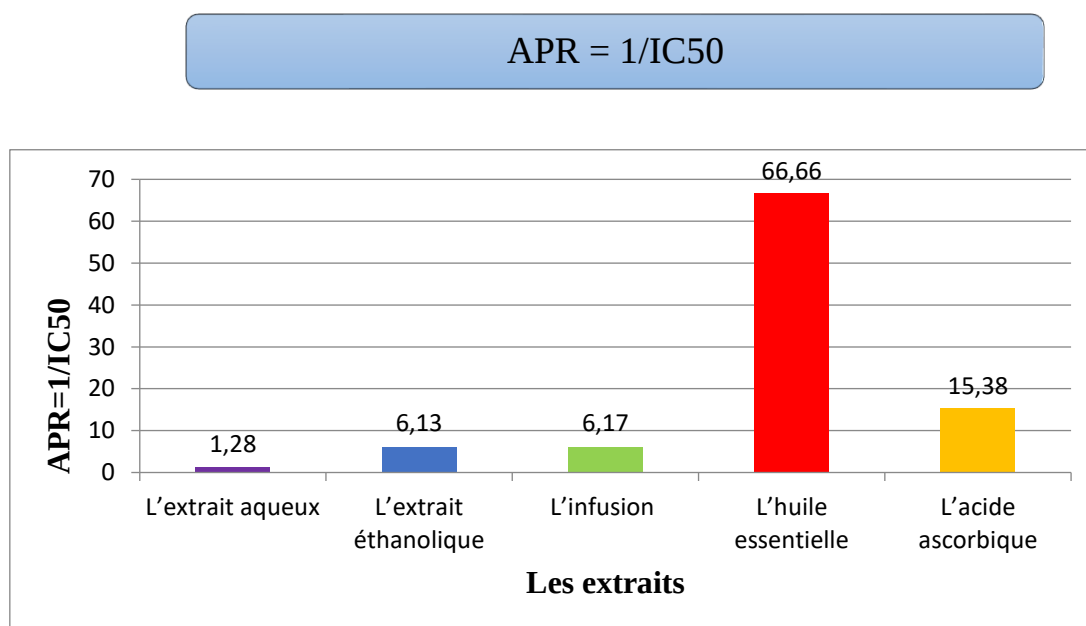


Figure 17: L'activité antiradicalaire des extraits et huile essentielle d'Aloysia citrodora L et l'acide ascorbique.

Les résultats montrent que l'activité antiradicalaire varie selon le procédé d'extraction. L'huile essentielle a présenté le pouvoir antioxydant le plus élevé ($APR = 66,66 \text{ (mg/ml)}^{-1}$), dépassant même celui de l'acide ascorbique utilisé comme témoin positif ($APR = 15,38 \text{ (mg/ml)}^{-1}$). Cette activité pourrait être liée à sa richesse en composés volatils bioactifs, notamment le citral et le limonène, ainsi qu'à un éventuel effet synergique entre ses constituants (Miguel, 2010 ; Bakkali *et al.*, 2008).

L'infusion aqueuse ($APR = 6,17 \text{ (mg/ml)}^{-1}$) et l'extrait éthanolique ($APR = 6,13 \text{ (mg/ml)}^{-1}$) ont présenté des activités antioxydants comparables, mais inférieures à celle de l'acide ascorbique. Cette activité est probablement due à leur teneur en composés phénoliques et flavonoïdiques connus pour leur capacité à piéger les radicaux libres (**Dai et Mumper, 2010**).

La décoction aqueuse a montré l'activité la plus faible ($APR = 1,28 \text{ (mg/ml)}^{-1}$), ce qui pourrait s'expliquer par une dégradation partielle de certains composés bioactifs thermosensibles lors du chauffage prolongé (**Garnica-Romo et al., 2024**).

Activité antioxydante réductrice ferrique (FRAP) :

L'activité antioxydant a été évaluée par le test du pouvoir réducteur du fer selon la méthode décrite par (**Oyaizu, 1986**) et adaptée par (**Berker et al., 2007**). Cette méthode repose sur la réduction des ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) par les composés antioxydants présents dans les extraits. La formation du complexe réduit est mesurée par spectrophotomètre à 700 nm, une absorbance élevée traduisant un pouvoir réducteur important. L'acide ascorbique a été utilisé comme témoin positif en raison de son activité antioxydant reconnue.

Pour l'ensemble des extraits ainsi que pour le témoin, des dilutions binaires successives comprises entre 2 et 0,125 mg/ml ont été préparées.

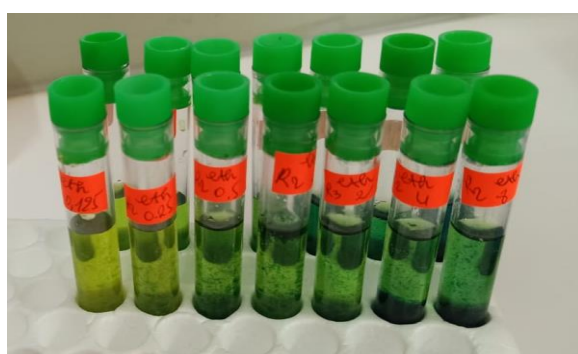


Photo 13: Résultat de teste de FRAP d'huile essentielle.

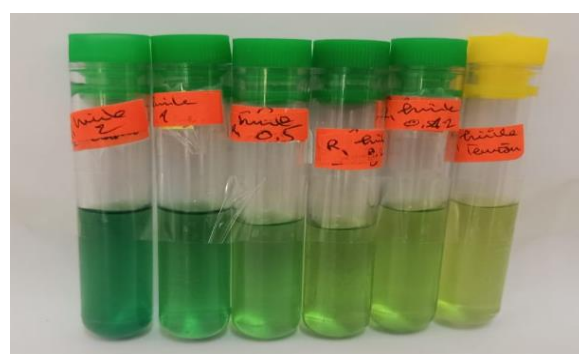


Photo 14: Résultat de teste de FRAP d'extrait éthanolique.

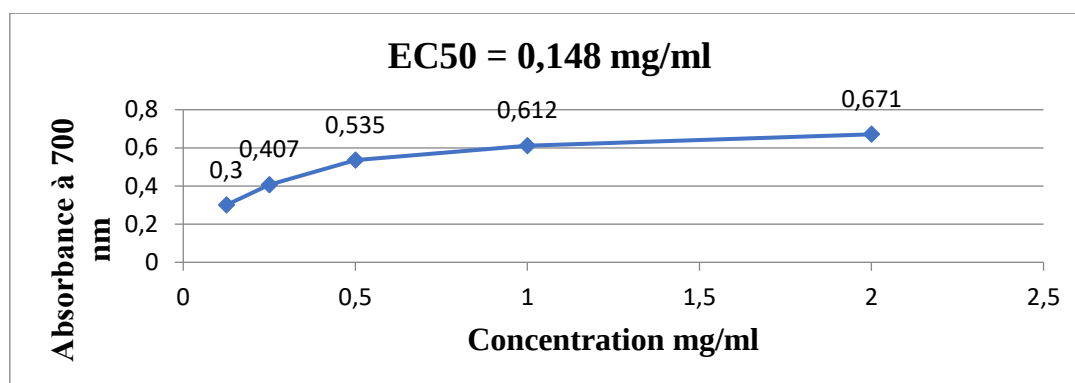


Figure 18: Pouvoir réducteur d'extrait éthanolique.

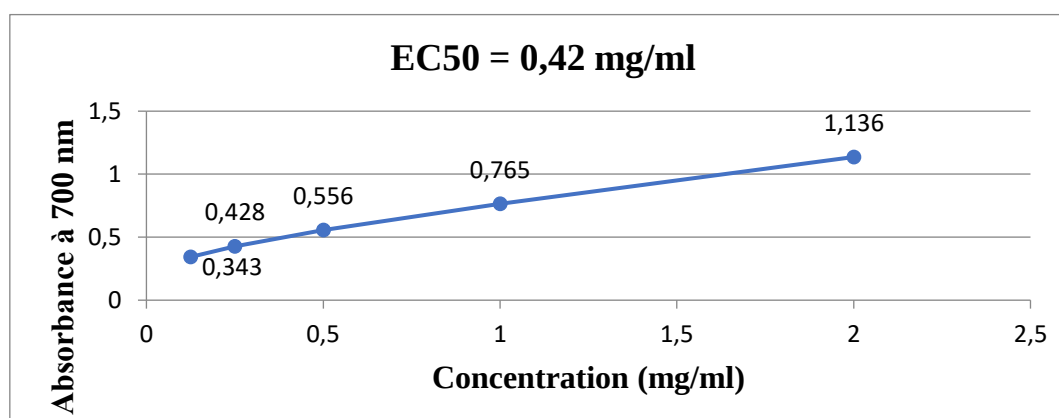


Figure 19: Pouvoir réducteur d'huile essentielle.

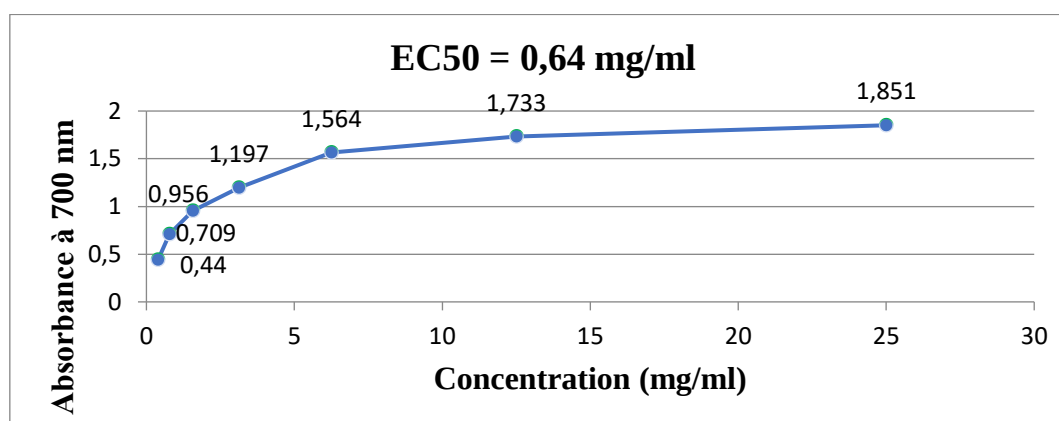


Figure 20: Pouvoir réducteur d'Acide ascorbique.

L'efficacité des échantillons a été comparée à partir de leur EC_{50} , correspondant à la concentration nécessaire pour atteindre une absorbance de 0,5 à 700 nm. Une faible valeur d' EC_{50} traduit un pouvoir réducteur élevé. Les résultats montrent que l'extrait éthanolique présente la meilleure activité réductrice ($EC_{50} = 0,148$ mg/ml), suivi de l'huile essentielle ($EC_{50} = 0,42$ mg/ml). Ces deux extraits ont montré une activité supérieure à celle de l'acide ascorbique

utilisé comme témoin positif ($EC_{50} = 0,64$ mg/ml). En revanche, l'extrait aqueux ($EC_{50} = 0,74$ mg/ml) et l'infusion ($EC_{50} = 0,77$ mg/ml) ont présenté des activités plus faibles que le témoin.

L'augmentation de l'absorbance avec la concentration indique que le pouvoir réducteur des extraits est dose-dépendant et reflète leur capacité à transférer des électrons pour réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). La supériorité de l'extrait éthanolique pourrait être attribuée à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdiques à fort potentiel rédox (**Dai et Mumper, 2010**). Quant à l'huile essentielle, son activité importante pourrait être liée à la présence de monoterpènes oxygénés, notamment le citral et le limonène (**Shahhoseini et al., 2013**).

Ces résultats suggèrent qu'*Aloysia citrodora* constitue une source prometteuse de composés antioxydants naturels, certains extraits présentant même un pouvoir réducteur supérieur à celui de l'acide ascorbique dans les conditions de l'essai.

Activité anti-inflammatoire :

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des différents extraits montre des variations significatives du pourcentage de protection, pour le témoin positif on utilise Ibuprofène 200 mg.

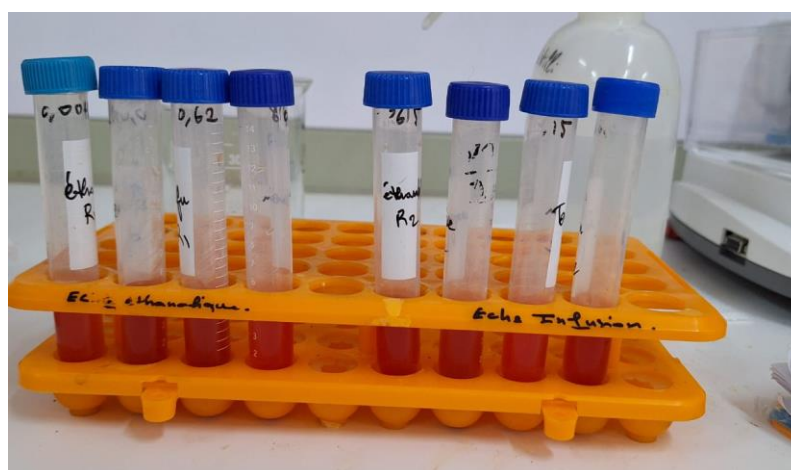


Photo 15: Le test anti-inflammatoire.

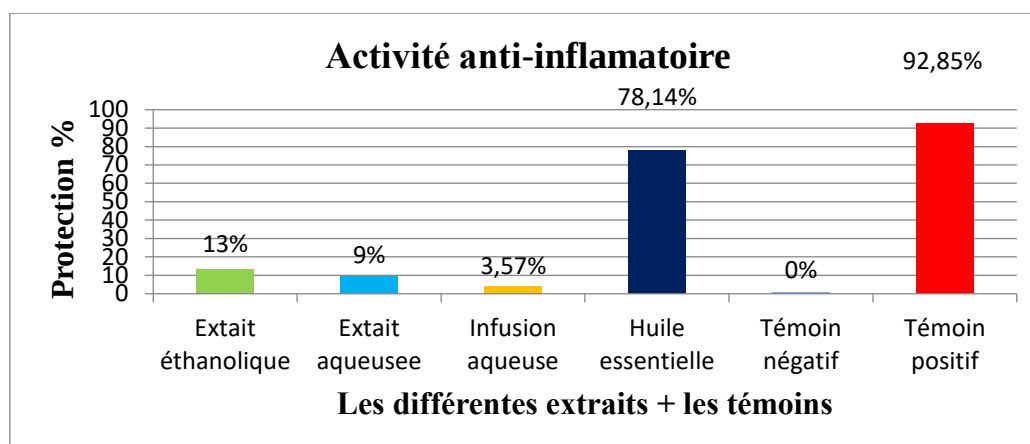


Figure 21: Activité anti-inflammatoire des différents extraits, d'huile essentielle

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le test de stabilisation de la membrane érythrocytaire, fondé sur l'analogie entre la membrane des érythrocytes et la membrane lysosomale. La stabilisation de ces membranes limite la libération d'enzymes et de médiateurs impliqués dans la réponse inflammatoire (Nurtamin *et al.*, 2018).

Les résultats obtenus montrent que le témoin positif a présenté le taux de protection le plus élevé (92,85 %), suivi de l'huile essentielle (78,14 %), de l'extrait éthanolique (13 %), de la décoction aqueuse (9 %) et de l'infusion aqueuse (3,57 %).

L'importante activité protectrice de l'huile essentielle pourrait être liée à sa richesse en composés terpéniques, notamment le citral (géraniol et néral) et le limonène, reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires et leur capacité à stabiliser les membranes biologiques (Peana *et al.*, 2002). La nature lipophile de ces composés favoriserait leur interaction avec la bicouche lipidique des érythrocytes, augmentant ainsi leur résistance à l'hémolyse (Chili *et al.*, 2021).

Les extraits éthanolique et aqueux ont montré des activités plus faibles. Cette différence pourrait s'expliquer par une moindre teneur en composés capables d'interagir directement avec les membranes cellulaires, malgré la présence de polyphénols et de flavonoïdes connus pour leurs propriétés biologiques. La faible activité des extraits aqueux pourrait également être liée à une extraction moins efficace de certains composés anti-inflammatoires ou à l'altération de molécules sensibles à la chaleur lors de la préparation (Oukerrou *et al.*, 2017).

La forte activité de l'huile essentielle, atteignant près de 80 % de protection sans purification préalable, suggère qu'*Aloysia citrodora* constitue une source prometteuse de composés naturels capables de contribuer à la stabilisation membranaire et à la limitation des phénomènes inflammatoires.

Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne des extraits de feuilles d'*Aloysia citrodora* L. a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (test des disques). Le potentiel inhibiteur a été quantifié par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (exprimés en millimètres) formées autour des disques imprégnés des différents extraits.

Ce test a été réalisé vis-à-vis de quatre souches bactériennes de référence, sélectionnées pour leur intérêt médical et leur représentativité des deux groupes taxonomiques majeurs :

Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*.

Bactérie à Gram négatif : *Escherichia coli*.

La détermination du diamètre de ces zones d'inhibition permet d'estimer le degré de sensibilité ou de résistance de chaque souche bactérienne face aux extraits testés, conformément aux standards de lecture microbiologique.

Les résultats de cette évaluation sont consignés dans les tableaux ci-après :

Tableau 9: Résultat de l'activité antimicrobienne des différents extraits et les 04 souches bactériennes.

		Les zones d'inhibitions en mm				
	Les concentrations Les souches bactériennes	50 mg/ml	30 mg/ml	20 mg/ml	10 mg/ml	DMSO
Huile essentielle	<i>E.coli</i>	06	06	06	06	06
	<i>S.aureus</i>	16	12	10	07	06
	<i>B.cereus</i>	20	14	08	07	06
	<i>B.subtilis</i>	46	46	30	10	06
Extrait aqueux	<i>E.coli</i>	06	06	06	06	06
	<i>S.aureus</i>	06	06	06	06	06
	<i>B.cereus</i>	06	06	06	06	06
	<i>B.subtilis</i>	06	06	06	06	06
Extrait éthanolique	<i>E.coli</i>	06	06	06	06	06
	<i>S.aureus</i>	06	06	06	06	06
	<i>B.cereus</i>	06	06	06	06	06
	<i>B.subtilis</i>	06	06	06	06	06
Infusion	<i>E.coli</i>	06	06	06	06	06
	<i>S.aureus</i>	12	06	06	06	06
	<i>B.cereus</i>	06	06	06	06	06
	<i>B.subtilis</i>	06	06	06	06	06

Tableau 10: Résultat d'antibiogramme des 04 souches bactériennes.

Les zones d'inhibitions en mm.						
Les antibiotiques Les souches bactériennes	Gentamicine 200 µg	Erythromycine 60 µg	Amoxicilline 30 µg	Vancomycine 05 µg	Rifampicine 30 µg	Pénicilline 10 µg
<i>E.coli</i>	26	12	28	06	12	08
<i>S.aureus</i>	30	40	45	16	38	46
<i>B.cereus</i>	28	22	10	14	15	06
<i>B.subtilis</i>	28	22	10	12	18	06

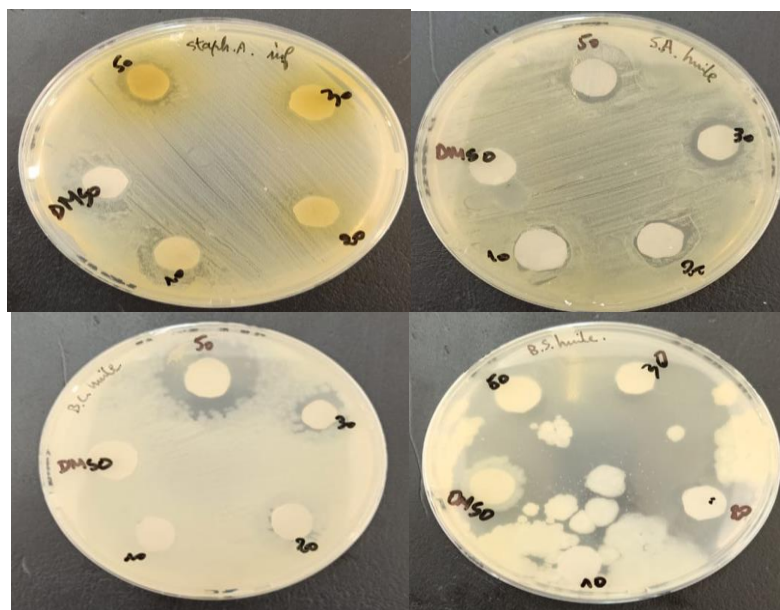


Photo 16: Quelques résultats positifs d'effet antibactérien.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits a révélé une nette différence selon la méthode d'extraction et la souche bactérienne testée. L'huile essentielle est la seule fraction ayant présenté une activité antibactérienne significative et dose-dépendante. Les plus fortes zones d'inhibition ont été observées contre *B.subtilis* avec des diamètres de 46 mm aux concentrations de 50 et 30 mg/ml, suivie de *B.cereus* (20 mm à 50 mg/ml) et de *S.aureus* (16 mm à 50 mg/ml). En revanche, aucune activité n'a été observée contre *Escherichia coli* dont les diamètres enregistrés étaient identiques à celui du témoin négatif.

L'importante activité de l'huile essentielle pourrait être liée à sa richesse en composés terpéniques, notamment le citral (néral et géraniol) et le limonène, connus pour leur capacité à perturber l'intégrité de la membrane bactérienne et à altérer les fonctions cellulaires essentielles. Ces observations sont en accord avec plusieurs études ayant rapporté une activité antibactérienne notable de l'huile essentielle contre les bactéries à Gram positif (Belhattab, 2011 ; Oukerrou, 2017).

Les extraits aqueux et éthanolique n'ont montré aucune activité antibactérienne détectable contre les souches testées. De même, l'infusion n'a présenté qu'une faible inhibition vis-à-vis de *S.aureus* (12 mm à 50 mg/ml). Ces résultats suggèrent que les composés extraits par les solvants polaires, bien qu'ils présentent souvent une activité antioxydant importante liée à leur richesse en polyphénols, exercent une activité antibactérienne plus faible que celle de l'huile

essentielle dans les conditions de diffusion sur gélose. Cette différence pourrait être attribuée à la meilleure diffusibilité et à l'action membranaire des composés volatils présents dans l'huile essentielle, notamment les monoterpènes et les aldéhydes terpéniques (Burt, 2004 ; Oukerrou *et al.*, 2017).

Evaluation de l'activité antifongique :

L'activité antifongique des extraits de feuilles d'*Aloysia citrodora* L. a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (test des disques). Le potentiel inhibiteur a été quantifié par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (exprimés en millimètres) formées autour des disques imprégnés des différents extraits.

Ce test a été réalisé vis-à-vis de six souches fongiques, sélectionnées pour leur intérêt médical et leur représentativité des deux groupes taxonomiques majeurs :

- ***Aspergillus*** : *A. flavus*, *A. fumigatus* et *A. niger*.
- ***Pénicillium*** : *P. zacinthae*, *P. expansum* et *P. corylophilum*.

La détermination du diamètre de ces zones d'inhibition permet d'estimer le degré de sensibilité ou de résistance de chaque souche face aux extraits testés.

Les résultats de cette évaluation sont consignés dans les tableaux ci-après :

Tableau 11: Résultat de l'activité antifongique des différents extraits et l'huile essentielle avec les 06 souches fongiques.

			Les zones d'inhibitions en mm				
	Les concentrations Les souches fongiques		50 mg/ml	30 mg/ml	20mg/ml	10 mg/ml	DMSO
Huile essentielle	Aspergillus	<i>A. flavus</i>	06	06	06	06	06
		<i>A. fumigatus</i>	50	44	12	09	06
		<i>A. niger</i>	08	07	06	06	06
	Pénicillium	<i>P.zacinthae</i>	16	12	06	06	06
		<i>P.expansum</i>	46	42	26	12	06
		<i>P.corylophilum</i>	12	07	07	06	06
L' extrait aqueux	Aspergillus	<i>A. flavus</i>	06	06	06	06	06
		<i>A. fumigatus</i>	06	06	06	06	06
		<i>A. niger</i>	06	06	06	06	06
	Pénicillium	<i>P.zacinthae</i>	10	06	06	06	06
		<i>P.expansum</i>	08	07	07	07	06
		<i>P.corylophilum</i>	06	06	06	06	06
L' extrait éthanolique	Aspergillus	<i>A. flavus</i>	06	06	06	06	06
		<i>A. fumigatus</i>	06	06	06	06	06
		<i>A. niger</i>	06	06	06	06	06
	Pénicillium	<i>P.zacinthae</i>	06	06	06	06	06
		<i>P.expansum</i>	06	06	06	06	06
		<i>P.corylophilum</i>	07	06	06	06	06
L' infusion	Aspergillus	<i>A. flavus</i>	06	06	06	06	06
		<i>A. fumigatus</i>	26	16	06	06	06
		<i>A. niger</i>	06	06	06	06	06
	Pénicillium	<i>P.zacinthae</i>	06	06	08	06	06
		<i>P.expansum</i>	30	22	08	07	06
		<i>P.corylophilum</i>	06	06	06	06	06

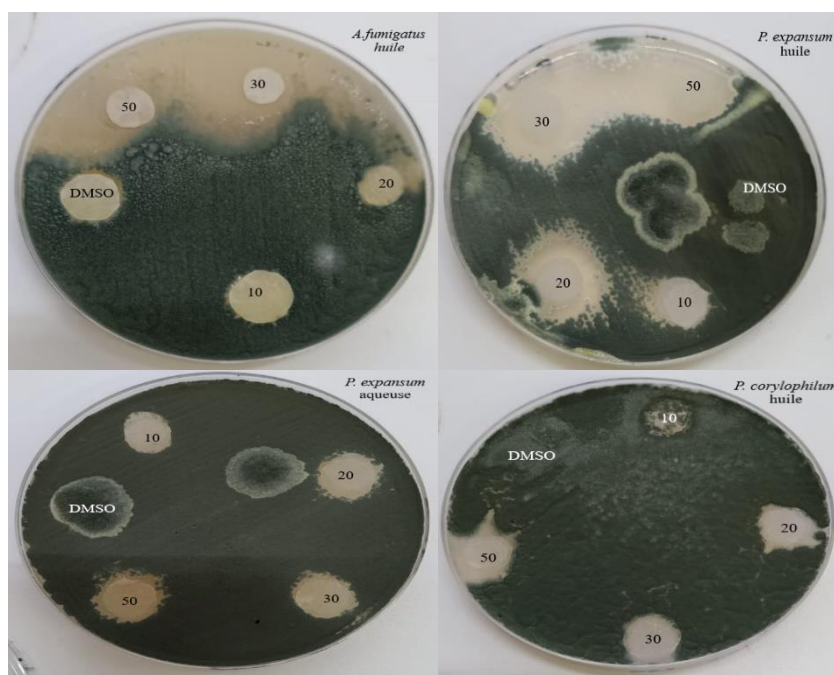


Photo 17: Quelques résultats d'effet antifongique.

L'évaluation de l'activité antifongique des différents extraits a révélé une sensibilité variable selon l'espèce fongique et le procédé d'extraction utilisé. L'huile essentielle a présenté l'activité la plus importante avec des zones d'inhibition atteignant 40 mm contre *P.zacinthae*, 22 mm contre *A.fumigatus* et 20 mm contre *P.expansum* à la concentration de 50 mg/ml. En revanche, *A.flavus* s'est montré totalement résistant, tandis qu'*A.niger* et *P.corylophilum* n'ont présenté qu'une faible sensibilité.

Cette activité élevée de l'huile essentielle pourrait être attribuée à sa richesse en monoterpènes oxygénés, notamment le citral (géraniol et néral et le limonène), composés reconnus pour leurs propriétés antifongiques. Ces molécules sont capables d'altérer la perméabilité membranaire, de perturber l'organisation des constituants cellulaires et d'inhiber la croissance fongique (**Oukerrou et al., 2017 ; Zekri, 2018**). Les différences de sensibilité observées entre les espèces testées pourraient être liées aux particularités structurales de leur paroi cellulaire ainsi qu'à leurs mécanismes de tolérance aux agents antifongiques.

Les extraits aqueux et éthanolique ont montré une activité très faible ou nulle sur la majorité des souches. Cette observation suggère que les composés responsables de l'activité antifongique sont principalement concentrés dans la fraction volatile plutôt que dans les fractions riches en composés phénoliques

hydrosolubles. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Boukhris (2014)**, qui rapportent une activité antifongique généralement plus marquée pour l'huile essentielle que pour les extraits polaires.

La forte inhibition observée pour *A.fumigatus* avec l'extrait aqueux à 50 mg/ml constitue toutefois une exception intéressante. Ce résultat pourrait traduire l'extraction de certains composés hydrosolubles bioactifs ou résulter d'une sensibilité particulière de cette espèce aux constituants présents dans l'extrait. Des analyses complémentaires seraient néanmoins nécessaires pour identifier précisément les molécules impliquées.

Dans l'ensemble, les résultats montrent que l'huile essentielle représente la fraction la plus efficace contre les champignons étudiés. Les espèces les plus sensibles ont été *P.zacinthae*, *A.fumigatus* et *P.expansum*, alors qu'*A.flavus* s'est révélée totalement résistante.

Détermination de la (CMI) et (CMB) :

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits (éthanolique, aqueux, infusion) et l'huile essentielle vis-à-vis les souches bactériennes et fongiques étudiés sont mentionnés dans les tableaux suivant :

Témoin négative (bactérien): suspension bactérienne + milieu du culture (MH beillant).

Témoin positive (bactérien): antibiotique Amoclan (Amoxicilline et acide clavulanique 1g/125 mg) + suspension bactérienne + milieu de la culture.

Témoin négative (fongique): suspension fongique + milieu du culture (PDA acidifié beillant).

Tableau 12: Les différentes concentrations minimales inhibitrice des différents extraits et huile essentielle en mg/ml contre les souches bactériennes

CMI mg/ml Les extraits	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>B.cereus</i>
Huile essentielle	1,56	12,5	25	1,56
L'extrait aqueuse	12,5	6,25	25	12,5
L'extrait éthanolique	6,25	1,56	12,5	6,25
Infusion	12,5	1,56	25	6,25

L'évaluation de la concentration minimale inhibitrice (CMI) a révélé une activité antibactérienne plus importante que celle observée par la méthode de diffusion sur gélose. L'huile essentielle a présenté les plus faibles valeurs de CMI contre *E.coli* et *B.cereus* (1,56 mg/ml), indiquant une forte activité inhibitrice. Une activité plus modérée a été observée contre *S.aureus* (12,5 mg/ml) et *B.subtilis* (25 mg/ml).

L'extrait éthanolique s'est distingué par la plus faible CMI contre *Staphylococcus aureus* (1,56 mg/ml), tandis que les décoctions aqueuses et les infusions ont présenté des valeurs plus élevées, traduisant une activité plus faible.

La différence observée entre les résultats de diffusion sur gélose et ceux de la CMI pourrait s'expliquer par la faible diffusibilité de certains composés, notamment les constituants hydrophobes de l'huile essentielle, dans le milieu gélosé. Ainsi, l'absence ou la faiblesse des zones d'inhibition ne reflète pas nécessairement l'absence d'activité antibactérienne, laquelle apparaît plus clairement dans les essais de dilution en milieu liquide (**Burt, 2004 ; Bakkali et al., 2008**).

Selon le critère de la CMI, l'huile essentielle constitue l'échantillon le plus actif contre *E.coli* et *B.cereus*, alors que l'extrait éthanolique se montre particulièrement efficace contre *S.aureus*. Ces résultats confirment que l'activité

antibactérienne dépend à la fois de la nature des composés extraits et de la méthode d'évaluation utilisée (Burt, 2004 ; Bakkali *et al.*, 2008).

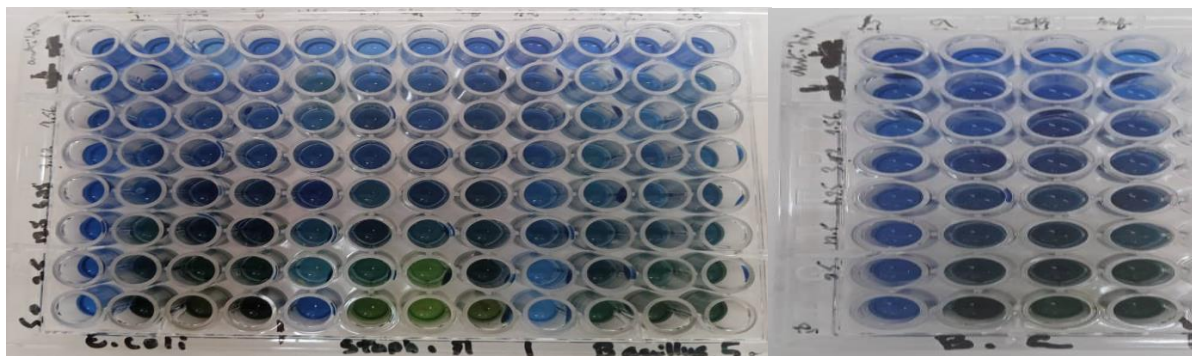


Photo 18: Les résultats de CMI des souches bactériennes

Tableau 13: CMI des différents extraits et huile essentielle en mg/ml des

	<i>Aspergillus</i>			<i>Pénicillium</i>		
CMI mg/ml	<i>A.flavus</i>	<i>A.fumigatus</i>	<i>A.niger</i>	<i>P.zacinthae</i>	<i>P.expansum</i>	<i>P.corylophilus</i>
Les extraits						
Huile essentielle	50	50	25	-	-	-
L'extrait aqueuse	-	-	-	-	50	-
L'extrait éthanolique	-	-	-	-	-	-
Infusion	-	-	-	-	-	-

souches fongiques, (-) pas d'inhibition.

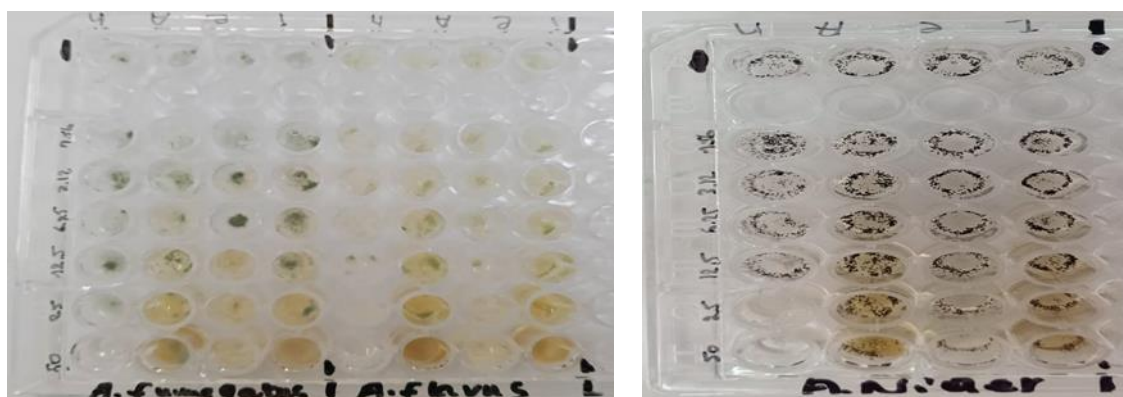


Photo 19: Les résultats de CMI contre les Aspergillus

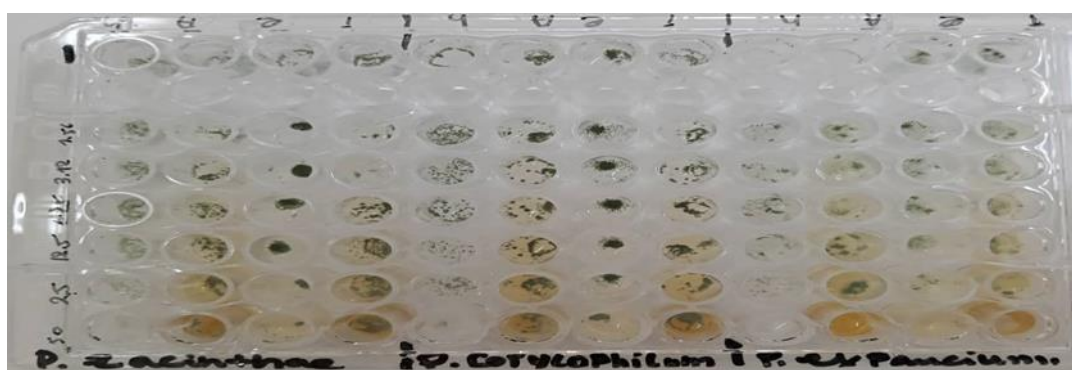


Photo 20: Les résultats de CMI contre les Pénicillium.

L'évaluation de l'activité antifongique des différents extraits a révélé une sensibilité variable selon l'espèce fongique et la méthode d'extraction utilisée. Globalement, l'huile essentielle a présenté l'activité la plus importante, tandis que les extraits aqueux et éthanolique ont montré une efficacité limitée ou nulle.

L'huile essentielle a exercé une activité antifongique particulièrement marquée contre *A. fumigatus* et *P. expansum*, avec des zones d'inhibition atteignant respectivement 50 mm et 46 mm à la concentration de 50 mg/ml. Une activité modérée a également été observée contre *P. zacinthae* (16 mm) et *P. corylophilum* (12 mm), alors que *A. flavus* s'est révélé totalement résistant et que *A. niger* n'a montré qu'une faible sensibilité. La diminution progressive des diamètres d'inhibition avec la baisse de la concentration traduit un effet dose-dépendant de l'huile essentielle.

Cette activité pourrait être attribuée à la présence de composés volatils bioactifs, notamment le citral (géraniol et néral), le limonène et d'autres monoterpènes oxygénés, connus pour leur capacité à altérer la perméabilité

membranaire, perturber l'intégrité cellulaire et inhiber la croissance fongique (Bakkali *et al.*, 2008 ; Oukerrou *et al.*, 2017).

Parmi les extraits polaires, l'infusion a montré une activité intéressante contre *A. fumigatus* (26 mm) et *P. expansum* (30 mm) à 50 mg/ml, alors que l'extrait aqueux n'a présenté qu'une faible activité contre *P. zacinthae* (10 mm) et *P. expansum* (8 mm). L'extrait éthanolique s'est révélé pratiquement inactif contre l'ensemble des souches étudiées. Ces résultats suggèrent que certains composés hydrosolubles possèdent une activité antifongique, mais à un niveau nettement inférieur à celui des constituants volatils de l'huile essentielle.

La meilleure activité observée pour l'infusion par rapport à la décoction pourrait s'expliquer par une meilleure préservation de certains composés thermosensibles lors de la préparation. À l'inverse, un chauffage prolongé pendant la décoction pourrait entraîner une diminution partielle de certaines molécules bioactives responsables de l'activité antifongique.

L'absence totale d'activité contre *A. flavus* pour tous les extraits testés indique une forte résistance de cette espèce. Cette résistance pourrait être liée à la composition de sa paroi cellulaire ainsi qu'à ses mécanismes de défense lui permettant de limiter l'action des substances antifongiques naturelles.

Dans l'ensemble, les résultats démontrent que l'huile essentielle constitue la fraction la plus active contre les champignons étudiés. Les espèces les plus sensibles ont été *A. fumigatus* et *P. expansum*, tandis que *A. flavus* s'est montrée totalement résistante. Ces observations confirment que l'activité antifongique de la plante est principalement associée à ses composés volatils, dont l'efficacité est supérieure à celle des composés extraits par des solvants polaires.

Concentration minimale bactéricide (CMB) :

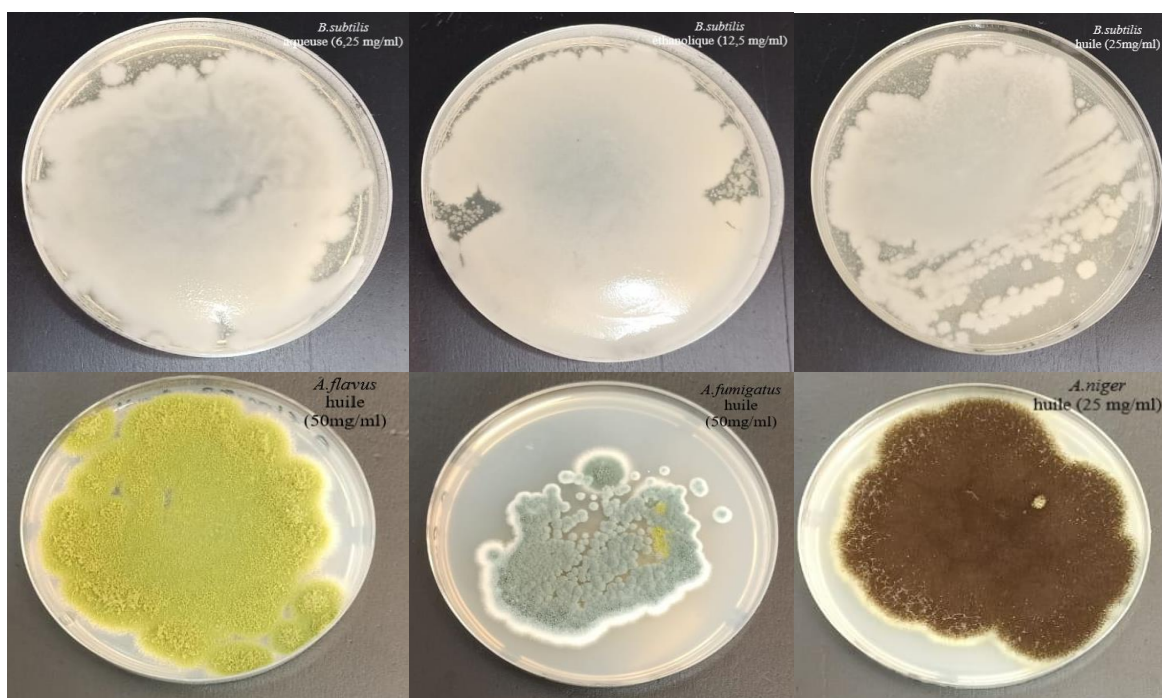


Photo 21: Quelques résultats de CMB.

Nos résultats ont montré un effet bactériostatique dans l'ensemble.

En conclusion, cette étude a permis de mettre en évidence le potentiel biologique important des feuilles d'*Aloysia citrodora* L. Les analyses phytochimiques ont révélé la présence de plusieurs métabolites secondaires d'intérêt, notamment les tanins, les stérols, les stéroïdes, les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques, susceptibles de contribuer aux activités biologiques observées.

Les résultats ont montré que l'huile essentielle constitue la fraction la plus active, présentant une forte activité antioxydant, anti-inflammatoire, antibactérienne et antifongique. Elle a démontré une efficacité remarquable contre plusieurs souches bactériennes et fongiques, ainsi qu'un pouvoir antiradicalaire supérieur à celui de l'acide ascorbique. Par ailleurs, l'extrait éthanolique s'est distingué par un excellent pouvoir réducteur dans le test FRAP, tandis que l'infusion a présenté une activité antioxydant appréciable.

Ces résultats confirment qu'*Aloysia citrodora* L. représente une source naturelle prometteuse de composés bioactifs pouvant trouver des applications dans les domaines pharmaceutique, médical, agroalimentaire et cosmétique,

notamment comme agent antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobien naturel. Des études complémentaires visant à identifier les molécules responsables de ces activités et à évaluer leur innocuité in vivo permettraient de mieux valoriser cette plante d'intérêt thérapeutique.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

L'étude des plantes médicinales constitue aujourd'hui un axe de recherche majeur en raison de leur richesse en composés bioactifs et de leur potentiel thérapeutique. Parmi ces plantes, ***Aloysia citrodora*** L. (verveine odorante) occupe une place importante dans la pharmacopée traditionnelle algérienne grâce à ses nombreuses vertus médicinales. Dans ce contexte, le présent travail a été consacré à l'étude phytochimique ainsi qu'à l'évaluation des activités biologiques de différents extraits de cette espèce, à savoir l'huile essentielle, l'extrait aqueux, l'extrait éthanolique et l'infusion.

Le criblage phytochimique a révélé la présence de plusieurs familles de métabolites secondaires, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les composés réducteurs, les stérols et stéroïdes, les alcaloïdes et les saponines, confirmant ainsi la richesse chimique de cette plante.

L'évaluation de l'activité antioxydant par les méthodes DPPH et du pouvoir réducteur a montré que tous les extraits possèdent un potentiel antioxydant variable. L'huile essentielle a présenté l'activité antiradicalaire la plus élevée avec une IC_{50} de 0,015 mg/ml, suivie de l'extrait éthanolique ($IC_{50} = 0,162$ mg/ml) et de l'infusion ($IC_{50} = 0,163$ mg/ml), tandis que l'extrait aqueux a montré l'activité la plus faible ($IC_{50} = 0,780$ mg/ml). Le test du pouvoir réducteur a également confirmé la supériorité de l'extrait éthanolique ($EC_{50} = 0,148$ mg/ml) par rapport aux autres extraits.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire par la méthode de stabilisation de la membrane érythrocytaire a mis en évidence une forte activité protectrice de l'huile essentielle (78,14 %), bien que restant inférieure à celle du témoin positif (92,85 %). Les extraits aqueux, éthanolique et l'infusion ont présenté des effets plus modestes.

Concernant l'activité antimicrobienne, l'huile essentielle s'est distinguée par une activité antibactérienne et antifongique importante. Elle a montré une forte inhibition vis-à-vis de certaines souches bactériennes, notamment ***Bacillus subtilis*** (46 mm) et ***Bacillus cereus*** (20 mm), ainsi qu'une activité antifongique remarquable contre ***Aspergillus fumigatus***, ***Penicillium expansum*** et ***P.***

zacinthae. Les extraits polaires ont présenté une activité plus faible par la méthode de diffusion, mais les essais de concentration minimale inhibitrice (CMI) ont révélé une activité inhibitrice intéressante, particulièrement pour l'extrait éthanolique vis-à-vis de **Staphylococcus aureus** (CMI = 1,56 mg/ml) et Enfin, les tests de concentration minimale bactéricide (CMB) ont démontré que l'ensemble des extraits étudiés exercent principalement un effet bactériostatique sur les souches testées.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus démontrent qu'*Aloysia citrodora* L. constitue une source naturelle prometteuse de composés bioactifs possédant des propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. L'huile essentielle apparaît comme la fraction la plus active, tandis que l'extrait éthanolique présente également un potentiel biologique intéressant. Ces résultats contribuent à la valorisation scientifique de cette plante médicinale et soutiennent son utilisation potentielle dans les domaines pharmaceutique, agroalimentaire et biotechnologique.

Perspectives :

On vu des résultats prometteurs obtenus lors de ce travail, plusieurs pistes de recherche méritent d'être explorées afin de valoriser pleinement le potentiel thérapeutique d'*Aloysia Citrodora*.

Tout d'abord, passer d'un simple criblage qualitatif (détection de famille) à un isolement des molécules actives par des méthodes de chromatographie (CCM, HPLC, CPG-SM), cela permettrait d'identifier le principe actif au sein de l'huile essentielle ou l'extrait qui est responsable des fortes activités biologique.

Par ailleurs, bien que les tests in vitro aient mise en évidence de remarquables activités antioxydantes et anti-inflammatoires, il conviendrait de valider ses résultats par des études in vivo sur des modèles animaux. Une telle démarche permettrait de mieux comprendre les mécanismes d'action physiologique et confirme l'efficacité protectrice de l'huile essentielle .en En parallèle, face au excellentes performances antimicrobiennes observé contre des souches comme *Bacillus subtilus* ou *Aspergillus fumigatus*, des essais de synergie combinés nos extraits avec des antibiotiques ou des antifongiques

commerciaux pourraient ouvrir la voie à de nouvelles stratégies pour lutter contre le phénomène de résistance globale.

Enfin, toute perspective d'application biomédicale ou industrielle exige de garantir la sécurité d'utilisation de cette ressource naturelle. Il est donc indispensable de mener des études toxicologiques approfondies incluant des tests de cytotoxicité cellulaire et de toxicité aiguë pour que cette plante puisse être valorisée de manière pratique et sécurisée en médecine traditionnelle ou moderne.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Achour, S., Benkaid, A. & Meddah, B. (2025). Évaluation des rendements d'extraction des huiles essentielles de Verbenaceae en Algérie occidentale. *Journal de Phytothérapie Appliquée*, 12(1), 45-52.
- Bennour, H., Karas, A. & Bouzidi, N. (2022). Criblage phytochimique et potentiel antioxydant de quelques plantes médicinales de la région de Saïda. *Revue Algérienne des Sciences Environnementales*, 8(2), 112-120.
- Chaachouay, N., Benkhniue, O., El Idrissi, M. & Zidane, L. (2020). Ethnobotanical study of medicinal plants commercialized in the markets of Medina of Rabat (Morocco). *Ethnobotany Research and Applications*, 20, 1-18.
- Cheurfa, M., & Allem, R. (2016). Evaluation of antioxidant activity of different extracts of *Aloysia citriodora* Palau leaves from Algeria. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7(8), 2918-2924.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Bani-ameur, F. & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
- Gortzi, O., Lala, S., Chinou, I. & Tsaknis, J. (2007). Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of *Origanum dictamnus* extracts before and after encapsulation in liposomes. *Journal of Food Protection*, 70(12), 2796-2803.
- Hayouni, E. A., Chraief, I., Abedrabba, M., Bouzouita, M., Leveau, J. Y., Mohammed, H. & Hamdi, M. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of Tunisian *Juniperus phoenicea* L. and *Mentha pulegium* L. *Food Chemistry*, 105(2), 598-610.
- Mori, A. (1987). Antibacterial activity of plant flavonoids: Structure-activity relationship. *Letters in Applied Microbiology*, 5(3), 55-58.
- Ramoul, M. & Bouchoucha, S. (2021). Étude comparative des métabolites secondaires d'*Aloysia citrodora* L. cultivés sous différentes conditions bioclimatiques. *PhytoChem Journal*, 4(2), 89-97.

• Turkmen, N., Velioglu, Y. S., Sari, F. & Polat, G. (2007). Effect of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols. *Food Chemistry*, 105(3), 1156-1161.

• Ultee, A., Bennik, M. H. & Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1561-1568.

Abderrahim EL HAIB(2011), valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. thèse du doctorat, Université de Toulouse.

Achour Tani Nabila et Abbou Riheb Radjaa (2025), [Etude de l'effet synergique entre l'huile essentielle de l'*Aloysia citrodora* et un antibiotique contre des souches bactériennes, et évaluation de ses activités antioxydante, et anti-inflammatoire](#), university of Tlemcen 2024-2025.

Adimi,A.(2018) .Contribution à l'étude des effets antimicrobiens et antioxydants d'une plante médicinale : la Mélisse (*Melissa officinalis*).Mémoire Doctorat en science : Université Ferhat Abbas Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie,51.63.69.90p.

AFNOR (2000). « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris ; 2000 :661-3

Ameenah, G. F. (2006). Recherche pharmacologique et élaboration des médicaments à partir des plantes.

Angiosperm Phylogeny Group (APG IV). (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification.

Bajetto, A., Bonavia, R., Barbero, S., Florio, T., & Schettini, G. (2001). Chemokines and their receptors in the central nervous system. *Frontiers in neuroendocrinology*, 22(3), 147-184.

Bakkali Fouad, Aeverbeck, S., Aeverbeck, D., & Idaomar, M. (2008). *Biological effects of essential oils – A review*. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475.

Balouiri M, Sadiki M, ilbnsouda SK (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis 6 (2016):71–79.

Bekhechi et Abd-Elouahid, D. (2010). les huiles essentielles. (pp. 14-16). Ben-Aknoun-ALGER: office des publications universitaire.

Belagoune, F. (2012). Etude et modélisation des crues des cours d’eaux en milieu semi aride «cas des grands bassins versants 05, 06 et 07» (Thèse de doctorat non publiée).

Belgaid,S.,Chikhoub,L.(2013). Etude de l’activité antimicrobienne et antifongique des extraits du phlomis boveli de noe -preparation d’une forme pharmaceutique. Mémoire Master Recherche : Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou Faculté des sciences, 29p.

Belhattab, R. (2011). Étude de la composition chimique et des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de la région d'Est algérien (Lamiacées et Verbenacées). Thèse de Doctorat en Sciences, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie.

Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle : Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Thèse de Doctorat / Ouvrage de référence, Éditions Ibis Press. (Source majeure pour l'usage et la phytochimie d'Aloysia citrodora L).

Beloued, A. (2005). Plantes médicinales d'Algérie.

Benadji, H., & Khoukhi, N. (2012). Propriétés médicamenteuses des drogues végétales.

Benadji.H et Khoukhi.N ; « L'extraction et la caractérisation de l'huile essentielle de Thym (Thymus vulgaris) de Miliana et l'étude de l'activité antibactérienne » ; thèse de magister ; université de Khemis -Miliana ; 2012.

Benmehdi, H: (2000). Valorisation des plantes médicinales à activité hypoglycémiantes comme la coloquinte. Thèse de Magister. Chimie organique appliquée. Université Tlemcen

Bennour H et Merzouk M et Rezaiki I, (2022). .Mémoire Master, Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila, Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne de quelques extraits d'une plante médicinale (*Aloysia citrodora* L.) 53-58 p

Benouali Djillali, (2015). Extraction et identification des huiles essentielles,

Benzeggouta Naïrouz. (2015) Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées [en ligne]. Thèse del Doctorat. Constantine: Université Mentouri de Constantine, 118 p Disponible sur: <http://www.umc.edu.dz/buc/theses/chimie/BEN4319.pdf> (consulté le 29.11.2015)

Berker K.I., Güçlü K., Tor I., & Apak R. (2007). *Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents.* Talanta, 72(3), 1157–1165. DOI: 10.1016/j.talanta.2007.01.01

Besombes, C. (2008) Thèse de Doctorat : Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques, Applications généralisées. Université de La Rochelle. France.

Betts, G. D., et al. (1999). Microbiological safety and quality of food.

Bézanger-Beauquesne, L., Pinkas, M., & Torck, M. (1975). Les plantes dans la thérapeutique moderne. Maloine.

Bezzaz N. (2014). Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*. Mémoire de magister en chimie. Université de M'sila. P-26, 27, 35, 41.

BINET P. ET, BRUNEL J. P. (2000) - Physiologie Végétale. Tome II. Edit., Doin. p54.

Boukhris, M. (2014). Phytochimie et activités biologiques des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de Tunisie : Valorisation d'*Aloysia citrodora* Palau. Thèse de Doctorat, Université de Sfax, Tunisie.

Brigitte C, Florence H.L, Harlay A, Huard, Lionel R, Serge C. (2008). Guide du préparateur en pharmacie. p-1098

Bruneton J., (1999) : Pharmacognosie – phytochimie, plantes médicinales, 2e édition. Ed. Tec et Doc Lavoisier.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. 4e éd, revue et augmentée, Paris, Tec & Doc, Éditions médicales internationales, 1288p. Dibong SD, MpondoMpondo E, Ngoye A, Kwin NF, Betti JL. 2011a.

Bubulka, P. (2007). Définition et activité pharmacologique des plantes médicinales.

Bubulka.P ; « Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales ; la médecine traditionnelle à la phytothérapie » ; 2007 ; pp 137-145.

Burt S. (2004). *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review.* Food Microbiology, 94, 223–253.

Carnat A., Carnat A.P., Fraisse D., Lamaison J.L. (1999) : The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. Fitoterapia.70 :44-49.

CA-SFM: Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. (2010). <http://www.sfm-microbiologie.org>.

Chaker El Kalamounni. (2010) - Thèse sur: Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, l'Institut National.

Chemdoodle, et al. (2016). Structure générale des dérivés des stérols.

Chili, A. et Daoud, N. (2021). État de l'art de l'analyse phytochimique et les activités biologiques de Syzygium Aromaticum. Mémoire de Master en Biochimie Appliquée, Université Frères Mentouri Constantine 1, Algérie

Christenhusz, M. J. M., & Byng, J. W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase.

Christophe, A. (2014). Limites et risques de la phytothérapie (Doctoral dissertation, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lumogés, 212p).

Christophe, B. (2014). Modes de préparation en phytothérapie (Infusion, Décoction, Macération, Digestion).

Clarke, G., Ting, K.N., Wiart, C., Fry, J. (2013). High correlation of DPPH radical scavenging, ferric reducing activity potential and total phenolics content indicates redundancy in use of all three assays to screen for antioxidant activity of extracts of plants from the Malaysian rainforest. *Antioxidants* (Basel), 2(1), 1–10.

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). *Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties*. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.

De Billerbeck VG, Roques CG, Vanière P, Marquier P (2002) Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiènes* (revue officielle de la Société française d'hygiène hospitalière) 10: 248-51

Deak, T., & Beuchat, L. R. (1996). Contamination des aliments frais et transformés.

Dobignard, A. & C. Chatelain. (2010-2013). Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord: Pteridophyta, Gymnospermae, Monocotyledoneae, Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève (éd), 5 vol, 2236p.

Dorosso Sonate J. (2002) ; Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Université Ouagadougou.

El-Lakany, A. M., et al. (1997). Recherche de nouvelles substances antimicrobiennes naturelles.

EUCAST/ CASFM : Société Française de Microbiologie Ed ; 2018.

Fakhita Touhami (2021) ; cours des huiles essentielles, filière de plantes médicinales et aromatique, master des sciences Agroalimentaire, Faculté des sciences et techniques de Tanger, Université de Abdelmalek Essaadi (2020-2021) P 3.

Fatmi K, Boulanouar N. (2021) ; Etude entobotanique des plantes médicinales poussant dans les hautes plaines de wilaya d'El Bayadh. Mémoire master, centre universitaire NB d'El Bayadh

Fatmi, S., et al. (2021). Utilisation des cataplasmes en médecine traditionnelle.

Fekih N. (2015) Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie [thèse].Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid.

Fillip. (2014). Extracteur huiles essentielles. smaksimov.ru/extracteur-huiles-essentielles/. visite au 23/05/2018.

Flück H, (1942): nos plantes médicinales. Edition Libraire Payot, Lausanne

Flück, H. (1942). Utilisation des poudres végétales.

Frasca, G., et al. (2012). Structure typique des saponosides.

Funes, L., Fernández-Arroyo, S., Lappak, O., García-Vicente, I., Boix-Castejón, M., Micol, V., ... & Segura-Carretero, A. (2009). Correlation between plasma antioxidant capacity and verbascoside levels, a phenylethanoid glycoside from Lemon Verbena (*Aloysia citrodora*.L) leaves. Food Chemistry, 117(4), 589-598.

Gamet-Payraastre, L., et al. (1999). Structures de quelques classes des flavonoïdes.

Garnica-Romo, M. G., Sánchez Pahua, C. I., & Martinez-Flores, H. E. (2024). *Influence of temperature, solvent and extraction procedure on the content of phenolic compounds and antioxidant activity of Aloysia citrodora Palau leaves.* Functional Foods in Health and Disease, 14(11).

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine* (5th ed.). Oxford University Press, Oxford, United Kingdom.

Hernandez-Ochoa L.R.,(2005). Substitution de solvants et de matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse

Ibrahimi, A., Belaïche, T., et Tantaoui-Elaraki, A. (1995). Application of a two levels factorial design to the study of the antimicrobial activity of three terpenes [1,8-cineol, linalool, eugenol]. 15, pp. 569-578. Sciences Des Aliments.

Kabtani, S., et al. (2020). Influence of climate variation on phenolic composition... Scientific Reports, 10, 8293.

Kaloustian J, Hadji-Minaglo F. (2012) La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie. Paris. Edition Springer.

Karamat, S. (2013). Structure de base des coumarines.

karumi Onyeyili, P.A; Ogugb uaja, V.0; (2004). Identification of active principales of balsamina (Balsam apple) leaf extract. J. Med. Scien. 4: 179-182.
Paris R, Moyse H. Précis de matière médicale. Paris: Masson. 1969

Kew Royal Botanic Gardens. (2023). Plants of the World Online (POWO).
Consolini, G. R., Ragone, M. I., Migliori, G. N., Conforti, P., & Volonté, M. G. (2007). The spasmolytic effect of Aloysia citriodora, Palau (South American cedron) is partially due to its vitexin but not isovitexin on rat duodenum. Journal of Ethnopharmacology, 113(2), 258-266.

Klaus Kubitzki. (2004). The Families and Genera of Vascular Plants: Verbenaceae.

Komalasari, I., et al. (2018). Structure de la molécule de tanin.

Laama H, (2015) étude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de petroselinum sativum de la région d'ain defla, mémoire de master, université djilali bounaama khemis miliana.

Laama, H. (2015). Plantes médicinales et synthèse des médicaments.

Labbé, S. (2008). Structure des principaux anthocyanes.

Lakhdar L. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur Aggregatibacter actinomycetemcomitans : étude in vitro. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V de Rabat. P-27.

Lenoir, J. (2011). Infusion de verveine odorante : Propriétés et composition.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126.

Lucchesi M. E., (2005) . Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences, Faculté des Sciences et Technologies.

Lucchesi, M.E., F. Chemat, and J. Smadja, (2004) An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices. *Flavour and Fragrance Journal*,. 19 (2): p. 134-138.

Ma, X., et al. (1997). Accès à la médecine moderne et médecine traditionnelle.

Marie Elisabeth Lucchesi (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. these doc. Universite de la reunion.

Médail, F. (1997). Hawaiian biogeography. Evolution on a hot spot archipelago. *Écologie*, 28(1), 99.

Miguel Maria G. (2010). *Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review.* *Molecules*, 15(12), 9252–9287.

Mojzer, E. B., Hrnčič, M. K., Škerget, M., Knez, Ž., & Bren, U. (2016). *Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects.* *Molecules*, 21(7), 901.

Musial, C., et al. (2021). Structure chimique des hormones stéroïdes.

Nurtamin,T., Rahim, A. H., &Yusuf, M. (2018). Evaluation of anti-inflammatory activity by human red blood cell membrane stabilization method. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(5), 176– 179.

Nutr, J. (1996). Structure chimique de base des flavonoïdes.

Obame-Engonga, L. C. (2009). Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Médicinales Africaines.These de doctorat unique. (p. 16). OUAGADOUGOU: CRSBAN.

Oforu, F. K., et al. (2020). *New insights on the use of polyphenols as natural preservatives...* Frontiers in Sustainable Food Systems

Organisation Mondiale de la Santé (OMS). (2003). Rapport sur la médecine traditionnelle.

Oukerrou M, (2017). Étude de la composition chimique et des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales du Maroc. Thèse de Doctorat, Université Moulay Ismaïl, Meknès, Maroc. (Concerne les variations d'activité selon le mode d'extraction et des périodes de récolte).

Ould El Hadj, M. D., Hadj-Mahammad, M., & Zabeirou, H. (2001). Inventaire et recherche de l'usage des plantes spontanées médicinales de la pharmacopée traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est Algérienne). In Annales de l'institut national agronomique el Harrach (Vol. 22, pp. 97–123).

Oyaizu M. (1986). *Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine.* Japanese Journal of Nutrition, 44, 307–315.

Paris R., Moyse H. (1969). Précis de matière médicinale. Paris : Masson.

PEANA, A. T., D'AQUILA, P. S., PANIN, F., SERRA, G., PIPPIA, P. et MORETTI, M. D. (2002). Anti-inflammatory and antinociceptive activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 9(8), 721-726. (Explique l'activité des constituants de l'huile essentielle).

Pibiri MC (2005) Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, thèse de doctorat, EPFL, Lausanne, Suisse

Pibiri, G. (2006). Structure de l'isoprène.

Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1997). Fungi and food spoilage.

Prakash, D., Suri, S., Upadhyay, G., & Singh, B.N. (2007). *Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants.*

International Journal of Food Sciences and Nutrition, 58(1), 18–28. DOI: 10.1080/09637480601093269

Quézel, P. (2000). Réflexions sur l'évolution de la flore et de la végétation au Maghreb méditerranéen (Vol. 1, pp. 1-10). Paris: Ibis press.

Quézel, P. I. E. R. R. E. (1999). Les grandes structures de végétation en région méditerranéenne: facteurs déterminants dans leur mise en place post-glaciaire. *Geobios*, 32(1), 19-32.

Quézel, P., & Médail, F. (2003). Que faut-il entendre par" forêts méditerranéennes"? *Forêt méditerranéenne*, 24(1), 11-31.

Quirantes-Piné, R., Arráez-Román, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2009). *High-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight and ion-trap tandem mass spectrometry to identify phenolic compounds from a lemon verbena extract.* *Journal of Chromatography A*, 1216(28), 5391–5397.

Ragone, M. I., Conforti, P., Pastore, A., Volonté, M. G., & Consolini, G. R. (2010). Blocker calcium effect of *Aloysia citriodora* Palau (Cedron) on rat isolated ileum. *Journal of Smooth Muscle Research*, 46(1), 55-67.

RAGONE, M. I., CONSOLINI, A. E. et VOLONTÉ, M. G. (2007). Pharmacological effects of *Aloysia citriodora* Palau (Verbenaceae) on rat isolated tissues. *Latin American Journal of Pharmacy*, 26(2), 220-230. (Preuve scientifique de l'activité sur les tissus).

Rakotomalala H (2004). « Etude des huiles essentielles de *Cedrelopsis grevei*. Caractérisation–identification des constituants, activités biologiques ». Thèse de Doctorat université d'Antananarivo.

Ramoul,B., Bouchouha,A .(2021). Etude phytochimique et évaluation des activités antioxydante, antidiabétique et anti-inflammatoire de l'espèce : *Aloysia citrodora* L .Mémoire Master Recherche : Université des Frères Mentouri Constantine, 43-47 p

Remmal, A., et al. (1993). Exploitation des espèces végétales en phytochimie.

Sanago, R. (2006). Utilisation des plantes dans la nature pour traiter et soigner des maladies.

Shahhoseini, R., Behbahani, B. A., & Mohammed, S. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Aloysia citrodora* Paláu from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(3), 380-385. (Référence clé pour l'activité antioxydante de l'huile essentielle de cette plante).

Slimani, N., & Dahmane, M. (2013). Principaux composés de l'huile essentielle d'*Aloysia citrodora* analysée par CG/MS.

Sofowora, A. (1993). *Medicinal Plants and Traditional Medicine in Africa*. Spectrum Books.

Spree, R. M., Fernandes, L. H., Pires, T. C., Calhelha, R. C., Rodrigues, P. J., & Amaral, J. S. (2023). Volatile Compounds and Biological Activity of the Essential Oil of *Aloysia citrodora* Paláu: Comparison of Hydrodistillation and Microwave-Assisted Hydrodistillation. *Molecules*, 28(11), 4528.

Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.

Tonneau M (2007) Infections nosocomiales : des huiles essentielles en prévention. *Santé magazine* (375): 92-3

Tortorano, A. M., Cabrini, E., & Viviani, M. A. (1979).Sensibilité in vitro de levures à cinq antifongiques: comparaison de deux méthodes (CMI en gélose et diffusion en disque). *Bulletin de la Société Française de Mycologie Médicale*, 8(1), 69–73.

Trease, E; et Evans, W.C .(1987). Pharmacognosie, Billiaire Tindall. London 13 th Edition.P 61-62. In Karumi Y, Onyeyili PA et Ogugduaja VO, 2004. Identification des principes actifs de l'extrait de feuilles de *M. balsamia* (Baume du pommier). *Journal of Medicine and Science*. 4(3), 179-182. Nigeria. ISSN 1682- 4474.

VÉLA, E. & BENHOUEH, S. (2007). Évaluation d'un nouveau point chaud de biodiversité végétale dans le bassin méditerranéen (Afrique du Nord). *C.R. Biologies*, 330: 589-605.

Walker, H. W. (1988). Micro-organismes pathogènes et maladies d'origine alimentaire.

WHO (World Health Organization). (2002). Traditional Medicine Strategy 2002–2005, Geneva: WHO.

Wichtl, M., & Anton, R. (1999). Plantes thérapeutiques : Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.

Willem JP (2002) La diffusion atmosphérique. In : Les Huiles essentielles : médecine d'avenir. Ed. Le Dauphin, Paris, pp. 265-73

Zekri, N. (2018). Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques des huiles essentielles et extraits de plantes médicinales du Maroc : *Aloysia citrodora* et *Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc.

- De Figueiredo, R. O., et al. (2002). *Morphologie de l'Aloysia citrodora*.
- Loaec, M. H. (2000).** *Description botanique des fleurs de Verbenaceae*.
- Ghédira, K., & Goetz, P. (2017).** *Aloysia citriodora Palau (Verbenaceae)*.
- Hadni, D. (1982).** *Caractéristiques des tiges et odeur de la verveine*.
- Bruneton, J. (2009).** *Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales*.
- Obolskiy, D., et al. (2011). *History and distribution of Lemon Verbena*.
- Bonjean, K., et al. (2001). *Conditions de culture et résistance au gel d'Aloysia citriodora*.
- Oukil, N. (2011).** *Répartition d'Aloysia citriodora dans la Mitidja*.
- Bahri, F. (2015).** *Étude du pouvoir antioxydant d'Aloysia citriodora dans le Nord-Est algérien*.
- Boudjelal, A., et al. (2013). *Culture de plantes médicinales dans les zones semi-arides (Hodna)*.
- Meddour, R., et al. (2012). *Disponibilité des plantes médicinales sur le marché herboriste algérien*.
- Khade, A., et al. (2023). *Définition et diversité des métabolites secondaires*.
- Singh, P., & Pal, R. (2024).** *Fonctions écologiques des métabolites secondaires*.
- Rashid, H. M., et al. (2022).** *Antioxidant and Antiproliferation Activities of Lemon Verbena (Aloysia citrodora): An In Vitro and In Vivo Study*.
- Mauriz, J. L., et al. (2015).** *Lemon verbena (Aloysia citrodora): Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties*.

ANNEXES

Milieu Gélose nutritive (GN)

Composants	Quantité
Peptone	5 g
Extrait de viande	1 g
Extrait de levure	2,5 g
NaCl	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH	6,8

Milieu Müller-Hinton Agar (MHA)

Composants	Quantité
Müller-Hinton agar en poudre	38 g
Eau distillée	1000 ml
pH	7,3 ± 0,1

Milieu Müller-Hinton Bouillon (MHB)

Composants	Quantité
Müller-Hinton bouillon en poudre	21 g
Eau distillée	1000 ml

pH	7,3 ± 0,1
----	-----------

Milieu Potato Dextrose Agar (PDA acidifié)

Composants	Quantité
Glucose	20 g
Pommes de terre	200 g
Agar	15 g
Acide lactique	10 ml
Eau distillée	1000 ml
pH	6,8

Milieu Potato Dextrose Bouillon (PDB acidifié)

Composants	Quantité
Glucose	20 g
Pommes de terre	200 g
Acide lactique	10 ml
Eau distillée	1000 ml
pH	6,8

préparation des réactifs :

réactif de Wagner: Dissoudre 2g de KI et 1,27g d'I₂ dans 75 ml d'eau.

Ajuster le volume total à 100ml d'eau.

Réactif de Mayer: Dissoudre 1,358 g de HgCl₂ dans 60ml d'eau et également 5 g de KI dans 10 ml d'eau. Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100ml d'eau.

Réactif d'amidon: Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5g d'iodure de potassium. Chauffer dans un bain marie 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée jusqu'à ébullition.

Composition des milieux de culture :

Eau physiologique :

Na Cl 9g

Eau distillée 1000 ml qsp