

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A.MIRA-BEJAIA



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologie

Réf :.....

# Mémoire

Présenté par

Mr DJEMMADI Abdelhak

Mr HADDAD Syphax

Pour l'obtention du diplôme de

**Master professionnel**

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et santé

Thème

**Comparaison des activités antioxydantes des fleurs d'*Aloysia triphylla*  
obtenus avec deux méthodes différentes : par macération et par  
microonde.**

Soutenu le : 01/07/2024

Devant le Jury composé de :

**Nom et Prénom**

**Grade**

**Qualité**

Mme MEZIANI Saida

MCA

Président

Mme NAIT CHABANE Zohra

MCB

Encadrant

Mme ARKOUB Louisa

MCB

Examinateur

Année Universitaire : 2023/2024

# **Remerciements**

*Nous commençons par remercier DIEU, le tout puissant de nous avoir donnée la force et la volonté pour mener ce travail à terme.*

*Tout d'abord, Nous tenons à témoigner notre reconnaissance à notre promotrice Mme TOUATI NAIT CHABANE Zohra, pour ses précieux conseils et son soutien tout au long de ce projet. Ses connaissances approfondies et son expertise nous ont été d'une aide inestimable.*

*Nous remercions Mme MEZIANI S. d'avoir accepté de présider notre soutenance.*

*Nous remercions également Mme ARKOUB L. d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements vont aussi aux ingénieurs de laboratoire du Bloc 09, pour leurs disponibilités et pour leur gentillesse.*

*A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail, nous leur disons merci.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce mémoire :*

*A ma très chère maman qui m'as soutenu et encouragé durant toutes les années de mes études. C'est grâce au bon Dieu et tes prières que je suis arrivé à cette grande réussite dans mes études. Que Dieu te donne, la santé, le bonheur et une longue vie à fin que je puisse te combler à mon tour.*

*A mon très cher père qui m'as toujours soutenu et encouragé tout au long de mes années d'études. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Que dieu te préserve et t'accorde santé, bonheur.*

*A mes très chers frères Mustapha, Rahim et Abdelhadi, Cette réussite, je vous la dois. Votre soutien m'a porté jusqu'ici. Je vous dédie ce mémoire, avec toute ma gratitude et mon affection, Que Dieu vous garde toujours pour moi et vous protège*

*A la mémoire de ma grand-mère, Que Dieu t'accueille dans son vaste paradis.*

*A toute personne que j'aime et tous ceux qui me souhaite du bien et de la réussite.*

*A tous mes camarades de la promotion Master II Biotechnologie et Santé  
2023/2024.*

*A mon binôme Syphax.*

*Abdelhak*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail :*

*À mon très cher père et à ma très chère mère, dont l'amour et le soutien inconditionnels ont illuminé mon chemin et m'ont tenu la main à chaque étape de mes années d'étude.*

*Que dieu me les garde précieusement*

*À mon très cher frère Aghilasse qui a été toujours à mes côtés, à m'encourager, à bien me conseiller et qui me souhaite le meilleur dans ma vie.*

*Avec toute ma gratitude à Djamel et Khier pour leurs soutiens indéfectibles.*

*À la mémoire de mes grands-parents, Que Dieu vous accueille dans son vaste paradis.*

*À la mémoire de mes oncles Mouloud et Achour, dont le souvenir demeure vivace et inspirant.*

*À tous mes amis, sans exception, qui ont partagé mes joies et mes peines.*

*À toute personne que j'aime et tous ceux qui me souhaitent du bien et la réussite.*

*À mon binôme Abdelhak.*

*Liste des abréviations*

**ERO** : espèces réactive oxygène.

**ERN** : espèces réactive de l'azote.

**AGPI** : acides gras polyinsaturés.

**O<sub>2</sub>** : l'oxygène.

**NO** : oxyde nitrique.

**CO<sub>2</sub>** : dioxyde de carbone.

**EFS** : extraction par fluide supercritique.

**EAM** : extraction assistée par microonde.

**EM** : extraction par macération.

**MHz** : Mégahertz.

**GHz** : Gigahertz.

**W** : Watt.

**ml** : millilitres.

**°C** : Celsius

**g** : gramme.

**mg** : milligrammes.

**nm** : nanomètres.

**v/v** : rapport volume par volume

**TPC** : composes phénolique totaux.

**µl** : microlitres.

**AG** : Acide gallique.

**EAG** : d'équivalents d'acide gallique.

**ES** : extrait sec.

**OH** : groupements hydroxyles

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : peroxyde d'hydrogène

**EQ** : équivalents de Quercétine.

**HCl** : chlorure d'hydrogène.

**ECat** : équivalent catéchine.

**KIO<sub>3</sub>** : iodate de potassium.

**EAT** : d'équivalent d'acide tannique.

**DPPH•** : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle.

**IC<sub>50</sub>** : concentration inhibitrice 50% des radicaux libres.

**ABTS•+** : 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

**NEDD**: N-(1-naphtyl) éthylènediamine, dichlorhydrate.

**FeSO<sub>4</sub>** : sulfate de fer.

**NH<sub>4</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>** : Sulfate d'ammonium.

**ANOVA** : analyse de la variance.

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau I</b> : Classification botanique d'Aloysia triphylla.....	5
<b>Tableau II</b> : Structures et activités biologiques des flavonoïdes prédominants chez Aloysia triphylla. ....	7
<b>Tableau III</b> : Structures chimiques et activités biologiques des iridoïdes présents chez Aloysia triphylla. ....	9
<b>Tableau IV</b> : Les phénylpropanoïdes présents chez Aloysia triphylla.....	10
<b>Tableau V</b> : Principaux dérivés des acides hydroxycinnamiques présents chez Aloysia triphylla. ....	11
<b>Tableau VI</b> : Liste des ERO et ERN produits au cours du métabolisme.....	13

## *Liste des figures*

<b>Figure 1 :</b> Feuilles d' <i>Aloysia triphylla</i> .....	4
<b>Figure 2 :</b> Sommités fleuries d' <i>Aloysia citriodora Paláu</i> .....	5
<b>Figure 3 :</b> Structure chimiques du verbascoside et ces dérivés .....	10
<b>Figure 4 :</b> Structure chimique des tanins <b>(a)</b> hydrolysables <b>(b)</b> condensés.....	12
<b>Figure 5 :</b> Les effets néfastes des radicaux libres dans l'organisme et les principales réactions entre ces radicaux et les biomolécules. <b>(a)</b> altération de l'ADN, <b>(b)</b> peroxydation des lipides, <b>(c)</b> modification des protéines. ....	15
<b>Figure 6 :</b> Le concept d'homéostasie <b>(A)</b> et de déséquilibre <b>(B)</b> entre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les antioxydants .....	16
<b>Figure 7 :</b> Maladies induites par le stress oxydatif.....	17
<b>Figure 8 :</b> Éléments d'un champ électromagnétique .....	19
<b>Figure 9 :</b> L'impact de l'extraction par microonde sur les cellules végétales .....	20
<b>Figure 10 :</b> Les étapes de préparation de la poudre de fleurs d' <i>Aloysia triphylla</i> .....	21
<b>Figure 11 :</b> Rendement d'extraction obtenue par EAM et EM .....	28
<b>Figure 12 :</b> <b>(a)</b> Teneur en TPC ; <b>(b)</b> Teneurs en flavonoïdes ; <b>(c)</b> Teneurs en tanins condensés ; <b>(d)</b> Teneurs en tanins hydrolysables des extraits obtenus par EAM et EM .....	29
<b>Figure 13 :</b> Activité de piégeage du radical DPPH des extraits obtenus par EAM, par EM et de l'AG <b>(a)</b> ; Activité de piégeage du radical ABTS•+ des extraits obtenus par EAM, par EM et de l'AG <b>(b)</b> .....	33
<b>Figure 14 :</b> Activité NO des extraits obtenus par EAM, EM et de l'AG <b>(a)</b> ; Activité H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> des extraits obtenus par EAM, EM et de l'AA <b>(b)</b> ; Activité OH des extraits obtenus par EAM, EM, de l'AA et de l'AG <b>(c)</b> .....	36

---

# *Table de matières*

---

## *Table des matières*

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

**Introduction** ..... 1

### *Synthèse bibliographique*

**I. Plantes aromatiques et médicinales et étude ethnobotanique d’*Aloysia triphylla*** ..... 3

I.1. Plantes aromatiques et médicinales ..... 3

I.2. Généralités sur *Aloysia triphylla* ..... 3

I.3. Noms communs ..... 3

I.4. Historique de la plante ..... 4

I.5. Description botanique et répartition géographique ..... 4

I.6. Classification ..... 5

I.7. Intérêts d’*Aloysia triphylla* ..... 6

**II. Phytochimie d’*Aloysia triphylla*** ..... 7

II.1. Les flavonoïdes ..... 7

II.2. Les iridoïdes ..... 9

II.3. Les phénylpropanoïdes ..... 10

II.4. Les acides hydroxycinnamiques ..... 11

II.5. Les tannins ..... 12

II.6. Les Huiles essentielle ..... 12

**III. Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants** ..... 13

III.1. Radicaux libres ..... 13

III.2. Cibles moléculaires des ERO/RNS ..... 14

III.2.1. Les protéines ..... 14

III.2.2. Les lipides membranaires ..... 14

III.2.3. Les acides nucléiques ..... 14

III.3. Origine des radicaux libres ..... 15

III.3.1 Radicaux libres endogènes ..... 15

III.3.2. Radicaux libres exogènes ..... 15

III.4. Stress oxydatif ..... 16

III.5. Les antioxydants ..... 16

III.5.1. Définition des antioxydants .....	16
III.5.2. Intérêts des antioxydants .....	17
<b>IV. Méthodes d'extraction</b> .....	18
IV.1. Définition de l'extraction .....	18
IV.1.1. Les méthodes d'extraction conventionnelles .....	18
IV.1.2. Les méthodes d'extraction non-conventionnelles .....	18
IV.2. Extraction assistée par microondes (EAM) .....	18
IV.2.1. Principe .....	18
IV.2.2. Principe de l'EAM dans la matrice végétale .....	19

## *Partie expérimentale*

### *Matériel et méthodes*

<b>I. Matériel</b> .....	21
I.1. Matériel végétal .....	21
I.2. Réactif et appareils .....	21
<b>II. Méthodes</b> .....	21
II.1. Préparation des extraits .....	21
II.1.1. Extraction assistée par microondes (EAM) .....	21
II.1.2. Extraction par macération (EM) .....	22
II.2. Rendement d'extraction .....	22
II.3. Dosages des composés phénoliques .....	22
II.3.1. Dosage des composés phénoliques totaux (TPC) .....	22
II.3.2. Dosage des flavonoïdes .....	23
II.3.3. Dosages des tanins condensés .....	23
II.3.4. Dosage des tanins hydrolysables .....	23
II.4. Détermination des activités antioxydantes .....	24
II.4.1. Activité de piégeage du radical DPPH .....	24
II.4.2. Activité de piégeage du radical ABTS•+ .....	24
II.4.3. Activité de piégeage du monoxyde d'azote (NO) .....	25
II.4.4. Activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	26
II.4.5. Activité de piégeage des radicaux hydroxyles (OH•) .....	26
II.5. Analyse statistique .....	26

***Résultats et discussion***

<b>I. Rendement de l'extraction</b> .....	28
<b>II. Dosages des composés phénoliques</b> .....	29
II.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC).....	29
II.2. Dosage des flavonoïdes.....	30
II.3. Dosage des tanins condensés .....	31
II.4. Dosage des tanins hydrolysables .....	31
<b>III. Détermination des activités antioxydantes</b> .....	32
III.1. Activité de piégeage du radical DPPH .....	32
III.2. Activité de piégeage du radical ABTS•+.....	34
III.3. Activité de piégeage du monoxyde d'azote (NO) .....	35
III.4. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	37
III.5. Activité de piégeage des radicaux hydroxyles (OH) .....	37
<b>Conclusion</b> .....	39
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	

---

# *Introduction*

---

### Introduction

Au cours des siècles, les connaissances et l'utilisation des plantes médicinales ont été développées par les traditions dans le but de soulager la souffrance et d'améliorer la santé humaine (**Ismaili et al., 2017**). De nos jours, il y a un intérêt croissant pour les approches naturelles et holistiques en matière de soins et de santé, ce qui a conduit à un regain d'intérêt pour l'utilisation des plantes médicinales comme thérapies alternatives (**Chaachouay et al., 2019**). Grâce aux avancées scientifiques, les substances bioactives de ces plantes ont été identifiées et analysées, ce qui a permis leurs intégrations dans la création de médicaments modernes (**Fitzgerald et al., 2020**).

Cet intérêt croissant pour les plantes médicinales et aromatiques est aussi dû à leurs efficacités prouvées dans le domaine agro-alimentaire et cosmétique (**Benabdallah et al., 2016**).

En effet, les plantes médicinales sont dotées de nombreuses activités biologiques (**Deepika et al., 2019**). C'est pour cela, que les deux tiers de la pharmacopée ont recours aux propriétés curatives des plantes, car en plus des systèmes de soins de santé qui deviennent de plus en plus coûteux, l'utilisation des molécules synthétiques décroît en raison de leurs effets nocifs sur la santé publique (**Chahmi et al., 2015**).

L'Algérie, de par sa situation géographique et ses milliers d'hectares de forêt et de pâturage, constitue un cadre naturel original offrant une biodiversité importante (**Boukhatem et al., 2017**). Dans notre pays, en dépit de l'évolution de la médecine moderne, la population reste en partie attachée à une médecine traditionnelle qui est un héritage culturel local et régional, transmis de père en fils (**Bouzabata et Yavuz, 2019**).

*Aloysia triphylla* est l'une des plantes aromatiques et médicinales qui constitue la flore de l'Algérie (**Cheurfa et al., 2022**), elle est couramment utilisée sous forme d'infusion et d'huile essentielle, pour ses diverses activités thérapeutiques. Cette plante est aussi utilisée en cosmétique pour l'odeur citronnée qu'elle dégage et dans le secteur agro-alimentaire pour ses diverses activités biologiques, (**Bahramsoltani et al., 2018 ; Dalbouha et al., 2021**).

Les activités biologiques d'*Aloysia triphylla* sont attribuées aux composés phénoliques qu'elle renferme (**Tammar et al., 2021**), tel que les terpénoïdes, les iridoïdes, les flavonoïdes, les phénylpropanoïdes, et les acides phénoliques (**Bahramsoltani et al., 2018**).

## *Introduction*

---

Dans le but d'assurer une meilleure extraction aussi bien qualitative que quantitative des composés phénoliques, plusieurs méthodes d'extraction conventionnelles et non conventionnelles, appelées aussi méthodes vertes sont utilisées (**Shams *et al.*, 2015**).

L'extraction assistée par micro-ondes est l'une des méthodes d'éco-extraction les plus efficaces des composés phénoliques. En effet, cette méthode est efficace, rapide, écologique et économique (**Touati *et al.*, 2021**).

### **Problématique**

Les extraits des plantes médicinales et aromatiques gagnent de plus en plus l'intérêt des scientifiques, pour leurs divers effets thérapeutiques, en effet la phytothérapie permet le traitement des maladies chroniques telles que les maladies inflammatoires, hépatiques, le cancer et le diabète, qui sont principalement dues à la présence de radicaux libres dans l'organisme. Outre le domaine médical, les composés phytochimiques sont utilisés dans les domaines cosmétique et agro-alimentaire pour leurs diverses activités biologiques. Ces composés sont peu toxiques et induisent moins d'effets secondaires. En effet, de nombreux effets secondaires graves chez l'Homme, tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, ont été rapportés comme étant causés par l'utilisation de molécules synthétiques.

Une extraction efficace et rapide des composés phytochimique reste un défi en raison des nombreux inconvénients des méthodes d'extraction conventionnelles, cela a motivé les scientifiques à explorer des techniques d'éco-extraction dont l'extraction assiste par microonde.

Notons que cette étude est réalisée pour la première fois sur les extraits de fleurs d'*Aloysia triphylla*. Elle vise à :

- Evaluer et comparer l'influence de deux méthodes d'extractions : La macération et l'extraction assistée par microondes, sur le rendement d'extraction et les teneurs en composés phénoliques (Polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins).
- Evaluer et comparer les activités antioxydantes des extraits obtenus avec les deux méthodes d'extraction.

---

*Synthèse  
bibliographique*

---

### I. Plantes aromatiques et médicinales et étude ethnobotanique d'*Aloysia triphylla*

#### I.1. Plantes aromatiques et médicinales

Les plantes médicinales et aromatiques peuvent être définies comme celles qui possèdent des propriétés thérapeutiques ou qui exercent un effet pharmacologique bénéfique sur le corps humain et animale (Namdeo, 2018), elles représentent une source importante de médicaments (Dar et al., 2017).

L'utilisation de plantes médicinales remonte à l'Antiquité, elles sont considérées comme l'origine de la médecine moderne (Salmerón-Manzano et al., 2020), elles contiennent de nombreux composés bioactifs, principalement des composés phénoliques aux divers propriétés biologiques (Giannenas et al., 2020). *Aloysia triphylla* est l'une des plantes aromatiques et médicinales présentant un important intérêt thérapeutique et nutritif (Bahramsoltani et al., 2018).

#### I.2. Généralités sur *Aloysia triphylla*

*Aloysia triphylla* appartient à la famille des Verbenacées qui renferme plus de 200 espèces (Terblanché et Kornelius, 1996). Son intérêt économique est principalement lié à l'extraction de l'huile essentielle (Duarte et al., 2007) et à sa consommation sous forme d'infusions (Cheurfa et Allem, 2016). Cette plante a une valeur marchande élevée en raison de son utilisation par diverses industries (Duarte et al., 2007). C'est l'une des plantes médicinales les plus connues pour ses activités biologiques (Bahramsoltani et al., 2018).

#### I.3. Noms communs

La première publication valide sur *Aloysia triphylla* appartenait à Palau (1784 ; 767-771). Cette plante possède plusieurs dénominations selon les langues utilisées dans chaque pays, (Ghedira et Goetz, 2017) :

- **Français** : verveine vraie, verveine citronnée ou verveine du Pérou.
- **Anglais** : lemon verbena, lemon beebrush.
- **Allemand** : Zitronenstrauch, Zitronenduftstrauch.
- **Italien** : Verbena odorosa
- **Espagnol** : Cedrón, hierba luisa, verbena de Indias.
- **Portugais** : Lúcia-lima, bela-lucia, erva-cidreira, cidró, cidrão
- **Guarani** : Cedrón
- **Japonais** : (Remonbābena)

- Arabe : (Louisa ; laymunia)

### I.4. Historique de la plante

*Aloysia triphylla* a été introduite d'Amérique du sud en Europe à la fin du XVII<sup>ème</sup> siècle, elle a été importée par des explorateurs espagnols. Elle est décrite en 1784 par le médecin et botaniste espagnol Antonio Palau (1734-1793). Le genre *Aloysia* (Luisa) a été nommé en l'honneur à Maria Luisa de Parme (1751-1819), épouse du roi Carlos IV d'Espagne (Hurrell, 2011), on l'appelle aussi "Yerba de la Princesa" (Armada et Barra, 1992). Elle est appelée *Aloysia citrodora* pour la fragrance de cédrat qu'elle dégage, le nom commun "Verveine odorante" trouve son origine dans le latin "verbena", qui signifiait "branche feuillue" (Armada et Barra, 1992).

### I.5. Description botanique et répartition géographique

*Aloysia triphylla* est un arbrisseau mesurant environ 1 à 3 mètres de hauteur, et peut atteindre jusqu'à 7 mètres (Hurrell, 2018). Il se caractérise par un parfum très agréable rappelant celui du citron, émis par ses feuilles et ses fleurs (O'Leary *et al.*, 2016).

Les feuilles (Figure 1), de forme lancéolée, sont disposées en rosette de trois le long des tiges, elles mesurent environ 2 à 8 cm de long et 1 à 2,5 cm de large, elles sont caractérisées par des extrémités pointues et leurs bords sont munis de petites dents. Le dessus de la feuille est rugueux, tandis que le dessous est lisse avec de petits poils (O'Leary *et al.*, 2016).



Figure 1 : Feuilles d'*Aloysia triphylla* (Belkamel *et al.*, 2018)

Les fleurs de cette plante poussent en épis (Figure 2) au bout des branches ou dans les espaces entre les feuilles, elles apparaissent de juillet à septembre (Bruneton et Popoun, 2016). Chaque fleur a un petit calice possédant quatre pétales soudés à la base en un tube et étalés en quatre lobes bicolores : blancs sur la face externe et bleu violacé sur la face interne (O'Leary *et al.*, 2016).



**Figure 2** : Sommités fleuries d'*Aloysia citriodora* Paláu (Bruneton et Popoun, 2016)

*Aloysia triphylla* est cultivée dans des climats tempérés tel que l'Amérique du Sud, l'Europe du Sud et l'Afrique du Nord (Aldeen *et al.*, 2015).

### I.6. Classification

La classification botanique d'*Aloysia triphylla* est résumée dans le **tableau I**.

**Tableau I** : Classification botanique d'*Aloysia triphylla* (Ghédira et Goetz, 2017).

Règne	Plantae
Super-division	Embryophyta
Division	Tracheophyta
Subdivision	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Superordre	Asteranae
Ordre	Lamiales
Famille	Verbénacées
Genre	<i>Aloysia</i> Juss
Espèce	<i>Aloysia triphylla</i> Palau

### I.7. Intérêts d'*Aloysia triphylla*

Cette plante trouve son application dans divers domaines. Dans le domaine médical, elle est utilisée pour ses différentes activités biologiques, à savoir l'activité anti-inflammatoire, hypocholestérolémiant (Cheurfa *et al.*, 2022), antimicrobienne, neuroprotective, cytotoxique, antioxydante (Rashid *et al.*, 2022) et insecticide (Abdoul-latif *et al.*, 2020), elle possède un effet anticancéreux (Mirzaie *et al.*, 2016). L'infusion de la plante est utilisée en médecine populaire pour le traitement de l'insomnie (Afrasiabian *et al.*, 2019), de la diarrhée, des coliques, de l'indigestion (Lenoir *et al.*, 2012) et de la branchite (Rashid *et al.*, 2022).

Dans le domaine alimentaire, l'huile essentiel d'*Aloysia triphylla* est utilisée comme enrobage actif de divers denrées alimentaires (Shirzad *et al.*, 2021). *Aloysia triphylla* est aussi consommée sous forme d'infusions (Dalbouha *et al.*, 2021), pour la préparation des confitures, des sorbets, d'édulcorants (Combrinck *et al.*, 2007), d'arômes alimentaires (De Almeida *et al.*, 2018) et d'épice (Sarrazin *et al.*, 2015). Mehrparvar *et al.* (2016), ont prouvé l'efficacité de la poudre d'*Aloysia triphylla* dans l'amélioration de la croissance et de la qualité de la viande des poulets de chair. Dans le domaine cosmétique, *Aloysia triphylla* est utilisée comme ingrédient dans une variété de produits cosmétiques et de parfums pour son agréable senteur citronnée (Dalbouha *et al.*, 2021).

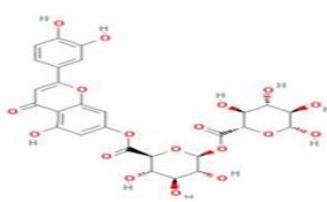
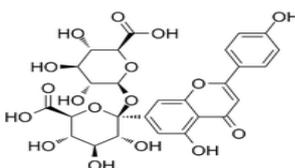
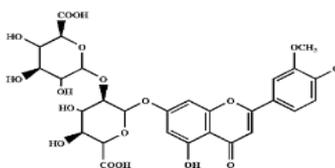
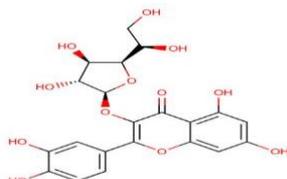
### II. Phytochimie d'*Aloysia triphylla*

Différents composés phytochimiques ont été identifiés chez *Aloysia triphylla*. (**Bahramsoltani et al., 2018**). Il est à noter que les composés phénoliques sont les métabolites secondaires les plus présents dans cette plante (**Carnat et al., 1999**).

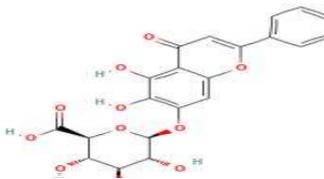
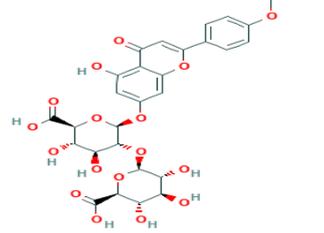
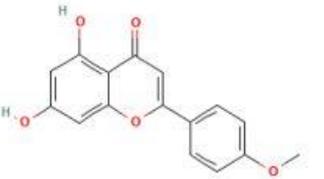
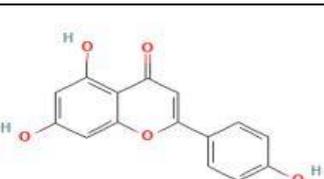
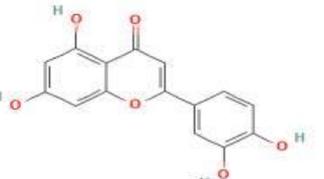
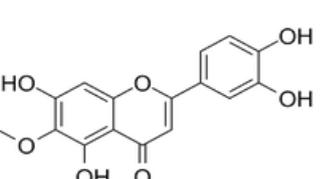
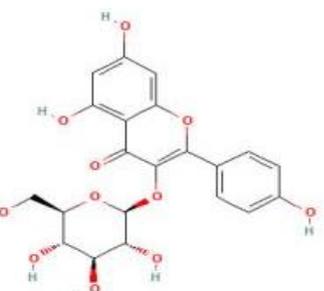
#### II.1. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, sont les polyphénols les plus présents dans notre régime alimentaire. Ces molécules jouent un rôle clé dans la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles (**Narbona et al., 2021**). Le **tableau II** illustre les structures chimiques et les activités biologiques des flavonoïdes les plus prédominants dans cette plante.

**Tableau II** : Structures et activités biologiques des flavonoïdes prédominants chez *Aloysia triphylla*.

Sous-classe	Composé	Références	Structure chimique	Activités biologiques
Flavones	Luteolin-7-diglucuronide (C <sub>27</sub> H <sub>26</sub> O <sub>18</sub> )	<b>Quirantes-Piné et al., 2009</b>		Antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne et anticancéreuse ( <b>Lopez-Lazaro, 2009</b> ).
	Apigenin-7-diglucuronide (C <sub>25</sub> H <sub>27</sub> O <sub>17</sub> )	<b>Quirantes-Piné et al., 2009</b>		Antioxydante et anti-inflammatoire ( <b>Bian et al., 2017</b> ).
	Chrysoeriol-7-diglucuronide (C <sub>28</sub> H <sub>28</sub> O <sub>18</sub> )	<b>Quirantes-Piné et al., 2009</b>		Antioxydante ( <b>Mishra et al., 2003</b> ).
	Quercetin 3-O-glucoside (C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>12</sub> )	<b>Touati et al., 2023</b>		Activité antioxydante et Antimicrobienne ( <b>Razavi et al., 2009</b> ).

## Synthèse bibliographique

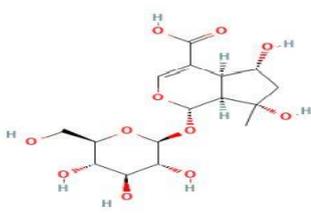
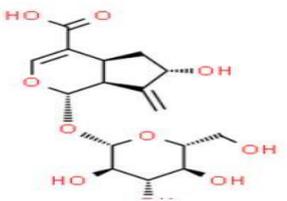
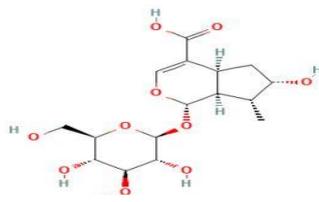
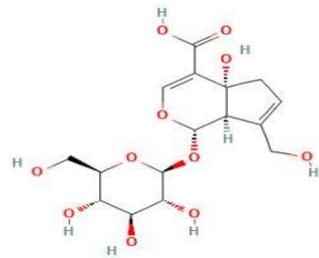
	Baicalin (C <sub>21</sub> H <sub>18</sub> O <sub>11</sub> )	Rashid <i>et al.</i> , 2022		Anxiolytique (Rashid <i>et al.</i> , 2022).
	Acacetin-7- diglucoronide (C <sub>28</sub> H <sub>28</sub> O <sub>17</sub> )	Quirantes- Pine' <i>et al.</i> , 2009		Anti-inflammatoire et antioxydante (Quirantes- Pine' <i>et al.</i> , 2009).
	Acacetin (C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>5</sub> )	Touati, 2023		Neuroprotectrice, cardioprotectrice, anticancéreuse, anti- inflammatoire, antidiabétique et antimicrobienne (Semwal <i>et al.</i> , 2019)
	Apigenin (C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> )	Tammar <i>et al.</i> , 2021		Prévient l'athérogenèse, l'hypertension et l'asthme (Zhou <i>et al.</i> , 2017)
Flavonols	Luteolin (C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub> )	Cádiz-Gurrea <i>et al.</i> , 2018		Antioxydante, anti- inflammatoire, antimicrobienne et anticancéreuse (Manzoor <i>et al.</i> , 2019).
	Neptin (C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub> )	Zhang <i>et al.</i> , 2015a		Antiproliférative (Zhang <i>et al.</i> , 2015b).
	Astragalin (C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>11</sub> )	Touati, 2023		Anti-inflammatoire, antioxydante, neuroprotectrice, cardioprotectrice, effet anti-obésité, anti- ostéoporose, anticancéreux, anti-ulcère et antidiabétique (Riaz <i>et al.</i> , 2018).

## Synthèse bibliographique

### II.2. Les iridoïdes

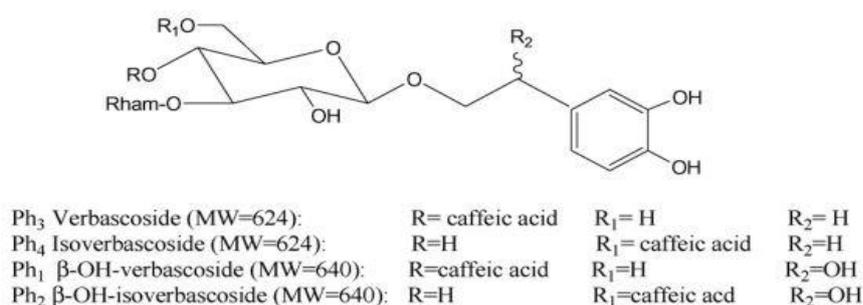
Les iridoïdes présents chez *Aloysia triphylla*, sont illustrés dans le **Tableau III**

**Tableau III** : Structures chimiques et activités biologiques des iridoïdes présents chez *Aloysia triphylla*.

Iridoïdes	Références	Structure	Activités biologiques
Shanzhiside (C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>11</sub> )	Quirantes-Pine´ <i>et al.</i> , 2009		Antioxydante (Ata <i>et al.</i> , 2009).
Gardoside (C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>10</sub> )	Quirantes-Pine´ <i>et al.</i> , 2009		Activité antioxydante (Sánchez-Marzo <i>et al.</i> , 2019).
Acide loganique (C <sub>16</sub> H <sub>24</sub> O <sub>10</sub> )	Quirantes-Pine´ <i>et al.</i> , 2009		Activité antioxydante (Abirami <i>et al.</i> , 2022).
Theveside (C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> )	Quirantes-Pine´ <i>et al.</i> , 2009		Activité antioxydante (Hennebelle <i>et al.</i> , 2008)

### II.3. Les phénylpropanoïdes

Les phénylpropanoïdes sont présents en quantités significatives chez *Aloysia triphylla*. Parmi les différents phénylpropanoïdes présents dans cette plante, le verbascoside (**Figure 3**) est le plus abondant. Il constitue jusqu'à 97% des phénylpropanoïdes totaux (**Martino et al., 2016**). En plus du verbascoside, d'autres dérivés ont été détectés chez cette plante, à savoir l'isoverbasoside, -OH-verbascoside et -OH-isoverbasoside (**Billia et al., 2008**).



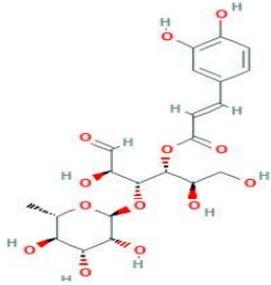
**Figure 3** : Structure chimiques du verbascoside et ces dérivés (**Billia et al., 2008**)

Les phénylpropanoïdes présents chez *Aloysia triphylla* sont réunis dans le **tableau IV**.

**Tableau IV** : Les phénylpropanoïdes présents chez *Aloysia triphylla*.

Phénylpropanoïdes	Références	Structure chimique	Activité biologique
Cistanoside (C <sub>21</sub> H <sub>28</sub> O <sub>13</sub> )	F <b>Sánchez-Marzo et al., 2019</b>		Antioxydante ( <b>Ado et al., 2016</b> )
Eukovoside (C <sub>31</sub> H <sub>38</sub> O <sub>16</sub> )	<b>Quirantes-Pine et al., 2009</b>		Antioxydante ( <b>Ado et al., 2016</b> ).

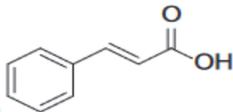
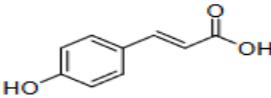
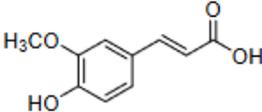
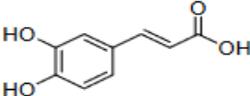
## Synthèse bibliographique

Cistanoside (C <sub>30</sub> H <sub>38</sub> O <sub>15</sub> )	C Touati., 2023		Antioxydante (Yan <i>et al.</i> , 2021)
---	--------------------	---	---

### II.4. Les acides hydroxycinnamiques

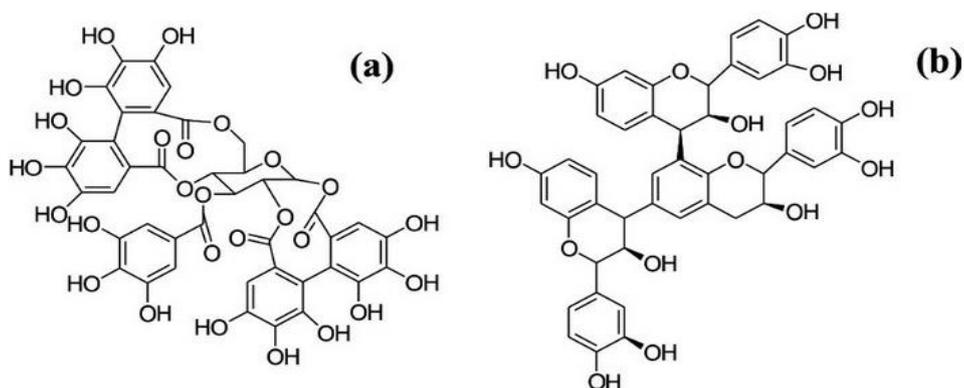
Les acides hydroxycinnamiques sont les composés bioactifs les plus omniprésentes dans les plantes (Macoy *et al.*, 2015) Ils sont sécrétés pour la protection contre les UV, la lutte concurrentielle contre les autres plantes, les insectes, virus et les bactéries, et sont également responsable de l'odeur, de la couleur et de la saveur des plantes (Heleno *et al.*, 2015). Dans le domaine de la cosmétique, ce composé est utilisé pour ses divers activités biologiques, dont l'activité antioxydante (Taofiq *et al.*, 2017). Comme le montre le **tableau V**, *Aloysia triphylla* possède différents dérivés d'acides hydroxycinnamiques.

**Tableau V** : Principaux dérivés des acides hydroxycinnamiques présents chez *Aloysia triphylla*.

Dérivé	Références	structure	Activités biologiques
Acide Cinnamique	Polumackanycz <i>et al.</i> , 2022		Antioxydante (Onofrejova <i>et al.</i> , 2010)
Acide P-Coumarique	Polumackanycz <i>et al.</i> , 2022		Antioxydante et antibactérienne (Halpani et Mishra, 2024)
Acide Férulique	Polumackanycz <i>et al.</i> , 2022		Antioxydante et anti-cancéreuse (Damasceno <i>et al.</i> , 2017)
Acide caféique	Cheurfa <i>et al.</i> , 2022		Antioxydante et anti-cancéreuse (Damasceno <i>et al.</i> , 2017)

### II.5. Les tannins

Les tanins sont divisés en tanins hydrolysables et condensés (**Figure 4**). Ces composés peuvent inhiber la production de radicaux libres et prévenir le stress oxydatif (**Peng et al., 2022**). En effet, les tanins ont la capacité de chélater les ions  $Fe^{2+}$  et  $Fe^{3+}$ , et prévenir les dommages causés par les radicaux hydroxyles sur l'organisme (**Yapo-Kicho et al., 2007**).



**Figure 4** : Structure chimique des tanins (a) hydrolysables (b) condensés (**Raja et al., 2014**)

### II.6. Les Huiles essentielle

Les huiles essentielles composants *Aloysia triphylla* sont les monoterpènes, tel que le géranium, le néral, le limonène (**Hudaib et al., 2013**), le 1,8-cinéole et l' $\alpha$ - curcumène, les sesquiterpènes qui sont présents en moindre quantités que les monoterpènes (**Meshkatalasadat et al., 2011**), les plus présents sont, le  $\beta$ -caryophyllène, le germacrène D, le turpinionoside D et le dihydrovomifoliol-O- $\beta$ -D-glucopyranoside (**Zhang et al., 2015a**).

### III. Radicaux libres, stress oxydatif et antioxydants

#### III.1. Radicaux libres

Les radicaux libres sont produits au cours du métabolisme, ils peuvent également être générés par des facteurs environnementaux tels que la pollution et les radiations. Ils jouent un double rôle, à la fois toxique et bénéfique pour l'organisme. À des faibles concentrations, ils ont des effets bénéfiques et participent à différents processus physiologiques tels que la régulation redox, les réponses mitogéniques, les voies de signalisation cellulaire et une fonction immunitaire. À des concentrations élevées, ils causent un stress oxydatif. Les radicaux libres, sont des atomes, des groupes d'atomes ou des molécules dont les orbitales atomiques contiennent des électrons de valence non appariés instables et réactifs. Ces molécules attirent les électrons d'autres atomes et molécules pour assurer leur stabilité (Halliwell et Gutteridge, 2015 ; Phaniendra *et al.*, 2015). Les radicaux les plus courants dans les systèmes biologiques proviennent principalement de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène, ERO) et de l'azote (espèces réactives de l'azote, ERN) (Tableau VI). Les ERO et ERN se forment lors des réactions de transfert d'électrons (Halliwell et Gutteridge, 2015).

**Tableau VI :** Liste des ERO et ERN produits au cours du métabolisme (Phaniendra *et al.*, 2015 ; Kiran *et al.*, 2023).

	Radicalaires	Réaction	Non radicalaires	Réaction
ERO	<b>Superoxyde <math>O_2^-</math> :</b> Le ERO le plus répandu, formé par processus enzymatique ou non enzymatique de transfert d'électrons ; dans laquelle un électron est transféré à l'oxygène moléculaire.	$O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$	<b>Peroxyde d'hydrogène <math>H_2O_2</math> :</b> Se forme dans une réaction de dismutation catalysée par l'enzyme superoxyde dismutase (SOD)	$2O_2^- \rightarrow H_2O_2 + O_2$
	<b>Hydroxyle (<math>OH^\bullet</math>) :</b> Forme par une réaction de Fenton (Eq 1) Et une réaction de Haber-Weiss (Eq 2)	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^\bullet$ (Eq 1)  $O_2^- + H_2O_2 \rightarrow OH^\bullet + OH^- + O_2$ (Eq 2)	<b>Oxygène singulet (<math>^1O_2</math>) :</b> Il s'agit d'un état électroniquement excité de l'oxygène réactive hautement toxique, produite par l'activation des neurophiles et des éosinophiles et par certaines réactions	$HOCl + H_2O_2 \rightarrow ^1O_2 + H_2O + Cl^-$

## *Synthèse bibliographique*

ERN	<p><b>Monoxyde d'azote (NO•) (Oxyde nitrique) :</b> Il s'agit d'une petite molécule générée dans les tissus par différentes synthèses d'oxyde nitrique qui convertissent la L-arginine et L-citrulline</p>	<p><math>L\text{-arginine} + O_2 + NADPH \rightarrow L\text{-citrulline} + NO^\bullet + NADPH^+</math></p>	<p><b>Peroxynitrite (OONO•) :</b> Il est hautement toxique et peut réagir directement avec le CO<sub>2</sub> pour former d'autres nitroso peroxy carboxylate (ONOOClO<sub>2</sub><sup>-</sup>) ou acide peroxy nitreux (NOOH) hautement réactif</p>	<p><math>NO^\bullet + O_2^- \rightarrow OONO^- (NO_3^-)</math></p>
-----	--	--	---	--

### III.2. Cibles moléculaires des ERO/RNS

Les radicaux libres causent des dommages importants à trois types cruciaux de molécules biologiques, les protéines, les lipides et les acides nucléiques (**Figure 6**).

#### III.2.1. Les protéines

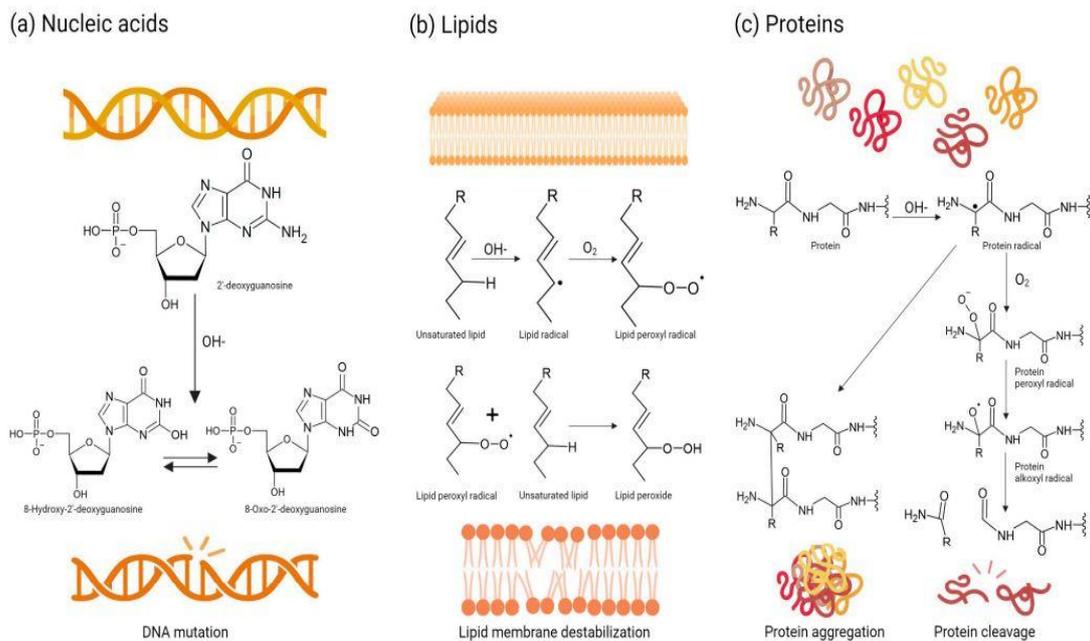
Lors d'une attaque radicalaire, les acides aminés s'oxydent, ce qui entraîne l'apparition de groupements carbonylés, la rupture des chaînes peptidiques et la formation de ponts bi-tyrosine. La plupart de ces dommages sont irréversibles et peuvent entraîner des altérations fonctionnelles significatives (**Haleng et al., 2007**).

#### III.2.2. Les lipides membranaires

La peroxydation lipidique, se produit lorsque les acides gras polyinsaturés réagissent avec l'oxygène. L'initiation commence lorsque les radicaux hydroxyles réactifs arrachent un hydrogène d'un acide gras polyinsaturé pour former des radicaux lipidiques qui sont capables de réagir facilement avec l'oxygène pour donner des radicaux peroxy. Ces derniers vont arracher à leurs tours des hydrogènes d'une autre molécule adjacente conduisant à la formation d'un hydroperoxyde lipidique, déclenchant ainsi une réaction en chaîne (propagation), qui entraîne une perte de fonctionnalité de la membrane plasmique (**Ito et al., 2019**).

#### III.2.3. Les acides nucléiques

Les radicaux libres tels que le radical hydroxyle et l'oxygène singulet, perturbent les fonctions cellulaires en modifiant de manière néfaste les protéines et d'autres molécules. Ils provoquent des modifications des bases de l'ADN, des ruptures de brins simples et doubles, des réticulations ADN-protéines et des dommages au système de réparation (**Pisoschi et al., 2021**).



**Figure 5 :** Les effets néfastes des radicaux libres dans l'organisme et les principales réactions entre ces radicaux et les biomolécules. **(a)** altération de l'ADN, **(b)** peroxydation des lipides, **(c)** modification des protéines (**Perez-Araluce et al., 2024**).

### III.3. Origine des radicaux libres

Les radicaux libres peuvent être de sources endogènes et exogènes.

#### III.3.1 Radicaux libres endogènes

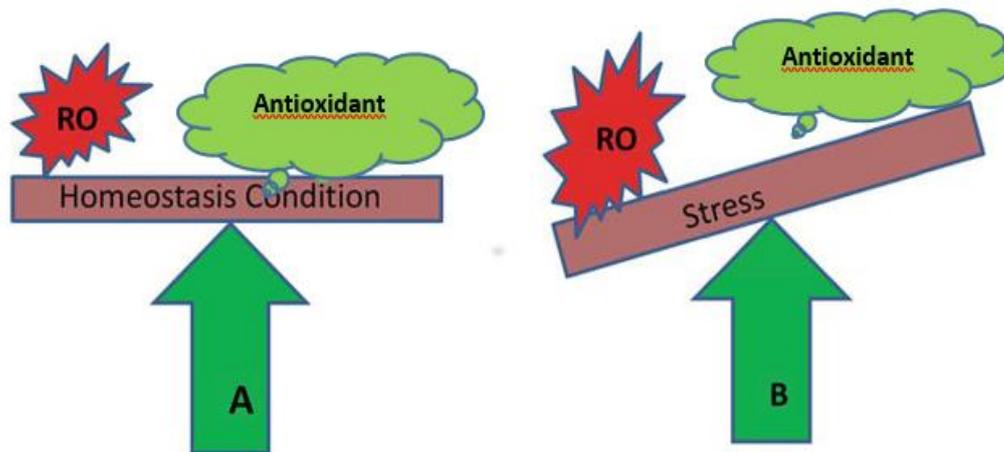
Les substrats de l'O<sub>2</sub> et du NO, qui comptent parmi les deux principales espèces pro-réactives dans les systèmes biologiques, sont respectivement l'O<sub>2</sub> et l'arginine. Ces radicaux, qui sont les précurseurs de nombreuses réactions, sont formés dans la membrane plasmique, les mitochondries, le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi. La production de radicaux libres est aussi induite par le stress, la fatigue et par le système immunitaire en réponse à des agents pathogènes (**Hotamisligil, 2010**).

#### III.3.2. Radicaux libres exogènes

Ces radicaux libres se forment lors d'une exposition à un environnement toxique comme les stupéfiants et les gaz anesthésiques, la pollution de l'air, les métaux lourds, les rayonnements gamma, les rayonnements non ionisants, les gaz d'échappement, la fumée de cigarette et les polluants industriels (**Phaniendra et al., 2015**).

### III.4. Stress oxydatif

Un stress nitrosatif et oxydatif est un déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants (**Figure 5**) (**Phaniendra et al., 2015**). Le stress oxydatif affecte particulièrement de manière néfaste les systèmes circulatoire, respiratoire et nerveux et induit plusieurs maladies dégénératives (**Jakubczyk et al., 2020**), il est donc essentiel de maintenir un équilibre adéquat (homéostasie) entre les oxydants et les antioxydants.



**Figure 6** : Le concept d'homéostasie (A) et de déséquilibre (B) entre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les antioxydants (**Berwal et Ram, 2018**).

### III.5. Les antioxydants

#### III.5.1. Définition des antioxydants

Les antioxydants sont des molécules naturelles ou synthétiques qui inhibent l'oxydation d'autres molécules (**Mitra, 2020**). L'oxydation est une réaction chimique au cours de laquelle un électron ou un atome d'hydrogène est transféré d'une substance à un oxydant. Les antioxydants sont des agents réducteurs capables d'empêcher ou de retarder de manière significative l'oxydation d'une substance facilement oxydable. Les antioxydants naturels sont des composants bioactifs essentiels qui ont attiré l'attention de plusieurs chercheurs dans le domaine médical, agro-alimentaire et cosmétique (**Girish et al., 2023**).

En raison de leur potentiel thérapeutique et de leur origine naturelle, les plantes médicinales sont considérées comme la principale source de phytoconstitués antioxydants. Certains phytoconstitués non enzymatiques tels que les flavonoïdes, les polyphénols et le

glutathion, ainsi que certaines vitamines, ont été reconnus comme possédant de fortes activités antioxydantes (Chaudhary *et al.*, 2023).

### III.5.2. Intérêts des antioxydants

Les antioxydants jouent un rôle crucial dans l'industrie alimentaire pour empêcher la détérioration des graisses et des huiles, conserver la couleur, la saveur et la valeur nutritionnelle des produits alimentaires, pour augmenter la durée de conservation des aliments transformés. Ces antioxydants sont également utilisés dans l'industrie pharmaceutique pour empêcher la dégradation des principes actifs et la prolongation de la durée de conservation des produits pharmaceutiques. Ils sont aussi utilisés dans diverses industries de polymères, ils améliorent la durée de vie des matériaux tels que les plastiques, le caoutchouc et les revêtements en prévenant la dégradation causée par l'exposition à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène. Les antioxydants jouent aussi un rôle dans la prévention ou le traitement de diverses maladies dégénératives (Figure 7) (Girish *et al.*, 2023).

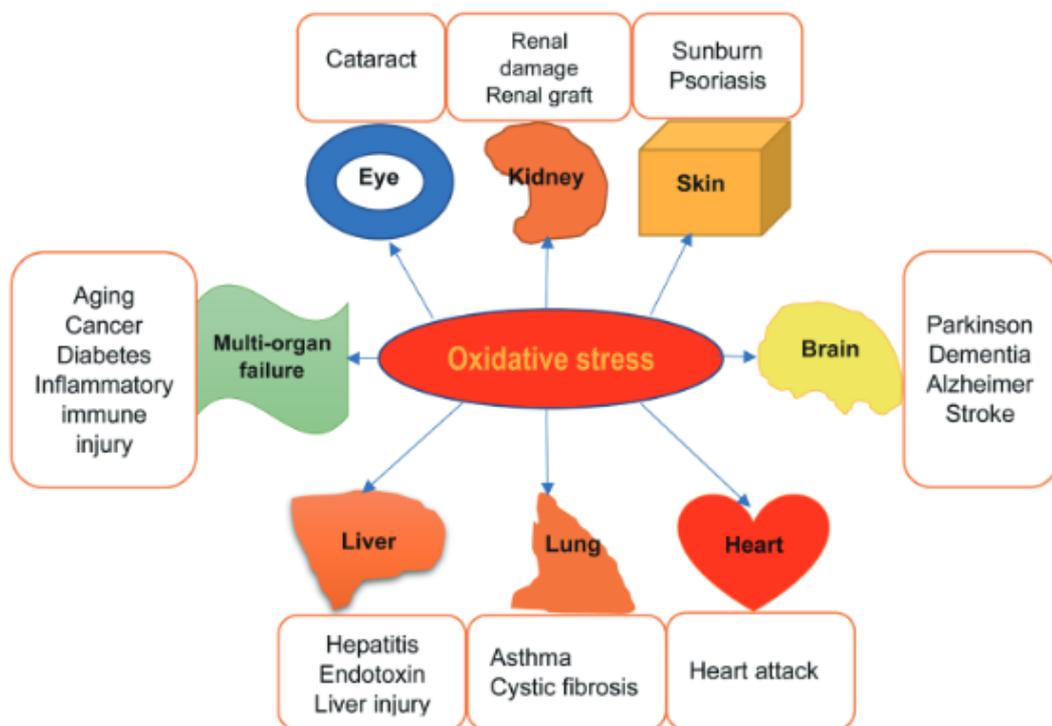


Figure 7 : Maladies induites par le stress oxydatif (Ayoka *et al.*, 2022)

### **IV. Méthodes d'extraction**

#### **IV.1. Définition de l'extraction**

L'extraction est une étape très importante qui consiste à la récupération des composés bioactifs de la plante à l'aide de solvants sélectifs selon des procédures bien définies (**Bohui et al., 2018**), les extraits obtenus sont composés de plusieurs métabolites.

L'extraction est influencée par divers facteurs notamment la méthode utilisée (**Bohui et al., 2018**). En effet, la qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction (**Nkhili et al., 2009**). Différentes méthodes d'extraction sont utilisées afin d'extraire les métabolites secondaires des plantes :

##### **IV.1.1. Les méthodes d'extraction conventionnelles**

Tel que par soxhlet, par macération, par infusion et par décoction. Ces méthodes nécessitent des volumes importants en solvants, un temps d'extraction lent. De plus, elles sont polluantes (**Calderón-Oliver et al., 2021**).

##### **IV.1.2. Les méthodes d'extraction non-conventionnelles**

Tel que l'extraction par fluide supercritique, l'extraction assistée par ultrasons et l'extraction assistée par microonde. Ces méthodes présentent plusieurs avantages, leurs manipulations est facile, elles sont rapides, sélectives et sont respectueuses de l'environnement. L'extraction assistée par micro-ondes est la technique la plus efficace pour l'extraction de composés phénoliques à partir de matières végétales et d'aliments (**Calderón-Oliver et al., 2021**).

Chaque méthode d'extraction est caractérisée par des avantages et des inconvénients (**tableau I, Annexe 1**).

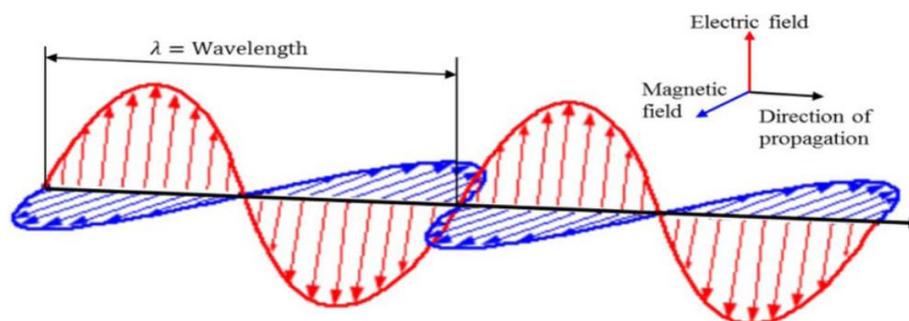
### **IV.2. Extraction assistée par microondes (EAM)**

Cette méthode utilise la technologie des microondes pour chauffer un mélange solide-liquide. C'est une technologie écologique, économique, rapide et efficace, qui nécessite peu d'équipements (**Calderón-Oliver et al., 2021**).

#### **IV.2.1. Principe**

Les fréquences des ondes microondes sont comprises entre 300 MHz et 300 GHz et les longueurs d'ondes comprises entre 1 mm et 1 mètre (**Camel, 2001**). Cette méthode utilise l'énergie des microondes pour provoquer les mouvements moléculaires et la rotation des

liquides ayant un dipôle permanent, par action d'un champ électromagnétique (**Figure 8**). Cela provoque un chauffage rapide de l'ensemble solvant-matrice, améliorant ainsi l'efficacité de l'extraction (**Feng et al., 2012**). Le champ électrique agit sur le chauffage grâce à la rotation dipolaire, aux propriétés diélectriques et à la conduction ionique (**Curet et al., 2008 ; Feng et al., 2012**).



**Figure 8** : Éléments d'un champ électromagnétique (**Tang, 2015**)

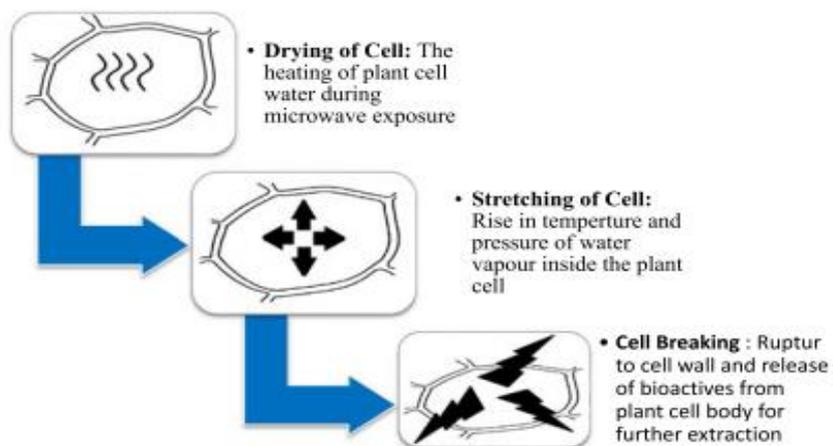
La rotation dipolaire dépend de la présence des molécules d'eau dans la matrice. Lors de l'application d'un champ électromagnétique, ces molécules se réalignent dans la direction du champ électrique. La haute fréquence de ce champ, induit des réalignements semi-circulaires de l'ordre de plusieurs millions de fois par secondes, ce qui génère des frottements entre les molécules et induit un chauffage rapide du mélange (**Chandrasekaran et Bahkali, 2013**).

Sous l'action d'un champ électromagnétique, les matériaux diélectriques (mauvais conducteurs d'électricité) chauffent les dipôles électriques de ces molécules s'orientent dans la direction du champ, l'orientation des dipôles change à chaque alternance de la direction du champ électrique (**Curet et al., 2008**).

Le chauffage du milieu est généré aussi par le mouvement oscillatoire des ions sous l'action d'un champ électrique de haute fréquence, ce qui provoque des collisions entre ces ions avec d'autres molécules. Il en résulte la conversion de l'énergie cinétique en énergie thermique (**Salazar- González et al., 2012**).

### IV.2.2. Principe de l'EAM dans la matrice végétale

Le chauffage de la matrice végétale provoque l'évaporation de l'eau présente dans les cellules, ce qui crée une pression interne qui fragilise et éclate les parois cellulaires (**figure 9**). Ce processus entraîne la pénétration du solvant dans la cellule et la libération des constituants, ce qui améliore le rendement d'extraction des métabolites cibles (**Ekezie et al., 2017**).



**Figure 9 :** L'impact de l'extraction par microonde sur les cellules végétales (**Bagade et Patil, 2021**).

---

*Partie  
expérimentale*

---

---

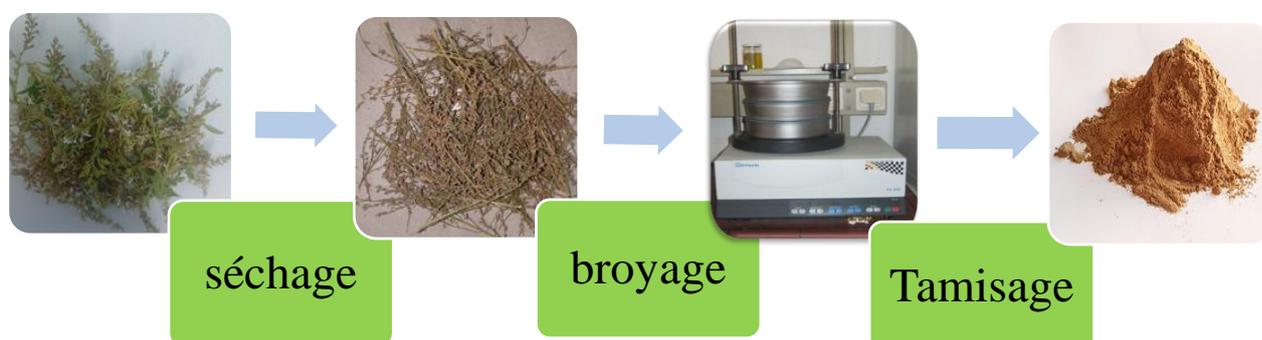
*Matériel et  
méthodes*

---

## I. Matériel

### I.1. Matériel végétal

Les fleurs d'*Aloysia triphylla* ont été collectées en septembre dans la région de Bejaia (Algérie), plus précisément dans la commune de Toudja (36° 45' 31" Nord et 4° 53' 36" Est). Elles ont été séchées à l'air libre jusqu'à stabilisation de leur poids, puis réduites en poudre à l'aide d'un broyeur. La poudre a été tamisée en utilisant un tamis ( $\leq 125 \mu\text{m}$ ) (**Figure 10**), puis stockée à l'abri de la lumière dans des bocaux hermétiques à 4 °C jusqu'à utilisation.



**Figure 10** : Les étapes de préparation de la poudre de fleurs d'*Aloysia triphylla*

### I.2. Réactif et appareils

Les réactifs et appareils utilisés pour réaliser cette étude sont mentionnés dans **tableau I (annexe 2)**.

## II. Méthodes

### II.1. Préparation des extraits

L'extraction des composés phénoliques a été effectuée suivant deux méthodes. Notons que, pour uniformiser les conditions d'extraction, les mêmes quantités de poudre, le même solvant d'extraction et les mêmes ratios ont été utilisés.

#### II.1.1. Extraction assistée par microondes (EAM)

L'extraction est réalisée à l'aide d'un four à microondes domestique de dimensions 28,1 cm × 48,3 cm × 38,7 cm et d'une fréquence de 2450 MHz. Un gramme de poudre de fleurs d'*Aloysia triphylla* est placé dans un ballon de 100 ml contenant 40 ml d'éthanol à 40% (v/v). Le contenu est soumis à une irradiation d'une puissance de 600 W pendant 188 secondes. L'extrait obtenu est filtré à travers du papier Whatman N°1 (**Touati et al., 2021**). Le filtrat est

séché à l'étuve à 40 °C jusqu'à stabilisation du poids. L'extrait sec est conservé à 4 °C dans un récipient hermétique.

### **II.1.2. Extraction par macération (EM)**

L'extraction par macération est réalisée selon le protocole modifié de **Cheurfa et Allem (2016)**. Un gramme de poudre est mélangé avec 40 ml d'éthanol (40% : v/v), le mélange est agité et laissé macérer pendant 3 jours à température ambiante. Le macérât obtenu est filtré avec du papier Whatman N° 1, puis séché à l'étuve à 40 °C. L'extrait sec, est conservé à 4 °C dans un récipient hermétique.

## **II.2. Rendement d'extraction**

Le rendement d'extraction de la poudre de fleurs d'*Aloysia triphylla* est calculé comme suit :

$$\text{Rendement (\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait}}{\text{Masse de la poudre}} \times 100$$

Masse de la poudre = 1g.

Ce paramètre renseigne sur l'effet de l'extraction sur le rendement (**Dhanani et al., 2017**).

## **II.3. Dosages des composés phénoliques**

### **II.3.1. Dosage des composés phénoliques totaux (TPC)**

La teneur des extraits en composés phénoliques est réalisée avec le test Folin ciocalteu. Ce test est basé sur la quantification de la concentration totale des groupes hydroxyle présents dans un extrait. Ce réactif est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique (**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>**) et d'acide phosphomolybdique (**H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>**). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et d'oxyde de molybdène (**Vermerris et Nicholson, 2006**). La réaction est réalisée dans un milieu alcalin grâce à la présence du carbonate de sodium.

La détermination de la teneur en TPC est réalisée selon la méthode de **Singleton et al. (1999)**. 1,25 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué (1/10) sont ajoutés à 200 µl d'extraits. Après 2 minutes d'incubation à température ambiante, 0,8 ml de solution de carbonate de sodium (7,5 %) sont rajouté. Le mélange est incubé pendant 15 minutes à 50 °C, puis refroidi dans un bain de glace. L'absorbance est mesurée à 765 nm. La teneur des extraits en TPC est déterminée à partir d'une courbe standard réalisée avec l'acide gallique (**Figure 1, annexe 3**). Les TPC sont

exprimé en mg équivalents d'acide gallique (EAG) par gramme d'extrait sec (ES) (mg EAG/g ES).

### **II.3.2. Dosage des flavonoïdes**

La teneur en flavonoïdes des extraits est déterminée selon la méthode décrite par **Djeridane *et al.* (2006)**. 1 ml d'extrait de chaque échantillon est mélangé avec un 1 ml d'une solution de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) à 2%. Après une agitation et une incubation à température ambiante pendant 15 minutes, l'absorbance du mélange est mesurée à 430 nm. La quantification des flavonoïdes est faite à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (**Figure 2, annexe 3**). Les résultats sont exprimés en mg équivalents de quercétine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES).

### **II.3.3. Dosages des tanins condensés**

La teneur des extraits en tanins condensés est évaluée selon le protocole de **Sun *et al.* (1998)**, qui repose sur la réaction colorimétrique des tanins condensés avec la vanilline en milieu acide. Les tanins réagissent avec la vanilline pour former un complexe coloré dont l'absorbance est mesurée à 500 nm. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en tanins condensés présents dans l'échantillon.

0.2 ml de chaque extrait est mélangé avec 0,5 ml de vanilline (4%) et 0,5 ml de HCl. Après agitation et incubation pendant 20 minutes à température ambiante, l'absorbance du mélange est mesurée à 500 nm. La teneur en tanins condensés est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la catéchine (**Figure 3, annexe 3**). Les résultats sont exprimés en mg équivalent de catéchine par gramme d'extrait sec (mg ECat/g ES).

### **II.3.4. Dosage des tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables ont différents effets nutritionnels et médicinaux, le dosage de ces métabolites secondaires est basé sur la réaction entre les tanins hydrolysables et le  $KIO_3$  qui produit un composé de couleur rouge (**Chehrit-Hacid *et al.*, 2021**).

La teneur en tanins hydrolysables est déterminée par la méthode de **Bossu *et al.* (2006)**. Un volume de 500  $\mu$ l d'extraits est ajouté à 2,5 ml d'une solution aqueuse de  $KIO_3$  (2,5%). Ce mélange est incubé pendant 2 min à 25 °C, et l'absorbance est mesurée à 550 nm. La teneur en tanins hydrolysables est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide tannique (**Figure 4, annexe 2**). La concentration des tannins hydrolysables est exprimée en milligramme équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait sec (mg EAT/g ES).

## II.4. Détermination des activités antioxydantes

### II.4.1. Activité de piégeage du radical DPPH

Le teste DPPH est simple, peu coûteux, reproductible, à faible consommation en réactifs et en échantillons (**Munteanu et Apetrei, 2021**). Le DPPH, 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle est un radical stable, de couleur violette ayant un maximum d'absorption à 517 nm (**Krishnaiah et al., 2011**). Ce test est basé sur le don d'électrons par les antioxydants afin de neutraliser ce radical. En effet, les antioxydants réduisent le 1-diphényl-picrylhydrazyle (violet) en 1-diphényl-picrylhydrazine (jaune), dont l'intensité de couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu réactionnel (**Mishra et al., 2012**).

L'évaluation de l'activité des extraits dans la réduction du radical DPPH a été réalisée suivant la méthode décrite par **Brand-Williams et al. (1995)**. 50 µl de différentes concentrations d'extraits hydro-alcooliques ou d'acide gallique sont ajoutées à 2 ml de solution méthanolique de DPPH d'une concentration de 0,004 %. Après agitation, le mélange est incubé à température ambiante et à l'abri de la lumière, pendant 30 minutes. L'absorbance du mélange est mesurée à 517 nm. L'activité antioxydante est calculée comme suit :

$$\text{Pourcentage d'inhibition du DPPH (\%)} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100$$

Où :

$A_0$  est l'absorbance de la solution DPPH /  $A_t$  est l'absorbance du test (extrait ou Acide gallique).

Les résultats sont exprimés en  $IC_{50}$ . Où l' $IC_{50}$  de l'activité de piégeage du DPPH est la concentration de l'échantillon ou de l'étalon qui inhibe 50 % des radicaux DPPH, plus la valeur  $IC_{50}$  est faible, plus l'activité antioxydante d'un composé est importante (**Saklani et al., 2017**) ; elle a été obtenue par analyse de régression linéaire de la courbe tracée entre le pourcentage d'inhibition (%) et la concentration.

### II.4.2. Activité de piégeage du radical ABTS•+

Le test ABTS repose sur la neutralisation d'un radical cation produit par l'oxydation d'un composé synthétique chromophore appelé acide 2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS•+) (**Re et al., 1999**).

Le test ABTS est réalisé conformément à la méthode décrite par (**Re et al., 1999**). Préalablement, une solution stock est préparée en dissolvant de l'ABTS dans de l'eau distillée à une concentration de 7 mM, à laquelle du persulfate de potassium ( $K_2S_2O_8$ ) est ajouté à une

concentration de 2,45 mM. Ce mélange est agité pendant une nuit complète (12-16 heures) dans l'obscurité et à température ambiante. Avant utilisation, cette solution stock est diluée dans de l'éthanol de manière à obtenir une absorbance de  $0,70 \pm 0,02$  à 734 nm.

20 µl de concentration croissante de chaque extrait et d'acide gallique sont mélangés à 2 ml de la solution diluée d'ABTS, l'absorbance est mesurée à 734 nm exactement 6 min après le mélange. La capacité de piégeage du radical cationique  $ABTS^{+\bullet}$  est quantifiée en concentration inhibant 50 % de radicaux libres ( $IC_{50}$ ), calculée selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition ABTS (\%)} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100$$

Où :

$A_0$  est l'absorbance du blanc (sans l'extrait) /  $A_t$  est l'absorbance du test (extrait ou standard).

#### **II.4.3. Activité de piégeage du monoxyde d'azote (NO)**

Le radical NO est généré dans les tissus biologiques par l'oxyde nitrique synthase, qui métabolise l'arginine en citrulline avec la formation de  $NO\cdot$  via une réaction d'oxydation (**Hosseini et al., 2022**).

Le nitroprussiate de sodium ( $Na_2(Fe(CN)_5NO)$ ) se décompose en solution aqueuse à pH physiologique (7,2) pour produire du NO. En conditions aérobies, le NO réagit avec l'oxygène pour former des produits stables (nitrate et nitrite) qui peuvent être dosés (**Alam et al., 2013**).

L'activité de piégeage du monoxyde d'azote est réalisée selon le protocole de **Marcocci et al. (1994)**. 500 µl d'extraits ou d'acide gallique sont mélangés avec 500 µl de nitroprussiate de sodium (5 mM). Le mélange est incubé 90 minutes à température ambiante, sous éclairage. 500 µl de sulfanilamide à 1% sont ajoutés au mélange, la mixture est de nouveau incubée pendant 10 minutes, à l'obscurité. Enfin, 500 µl de réactif NEDD (0,1%) sont incorporés et le mélange est incubé 20 minutes à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 543 nm. La capacité de piégeage du radical NO est exprimé en pourcentage (%) selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition NO (\%)} = [(A_0 - A_t) / A_0] \times 100$$

Où :

$A_0$  est l'absorbance du blanc /  $A_t$  est l'absorbance du test (extrait ou acide gallique).

**II.4.4. Activité de piégeage du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Le test est basé sur la réaction entre l'ion ferreux (Fe<sup>2+</sup>) et la 1,10-phénantroline, qui forme un complexe coloré rouge-orange détectable par spectrophotométrie. En présence de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), l'ion ferreux est oxydé en ion ferrique (Fe<sup>3+</sup>), empêchant la formation du complexe coloré. L'addition de l'antioxydant (piégeur), va neutraliser le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, et les ions ferreux pourront se complexer avec la 1,10-phénantroline, pour former le complexe coloré, détectable par mesure de l'absorbance.

La capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) est évaluée par la méthode de **Mukhopadhyay *et al.* (2016)**. 1,5 ml d'extraits ou d'acide ascorbique sont mélangés avec 0,25 ml d'une solution de NH<sub>4</sub>Fe (SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (1 mM). 62,5 µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (5 mM) fraîchement préparée sont ajoutés au mélange. Après agitation et incubation pendant 5 minutes à l'obscurité, 1,5 ml d'une solution de 1,10-phénantroline (1 mM) sont ajoutés. L'absorbance est mesurée à 510 nm après une incubation pendant 10 minutes à température ambiante. La capacité de piégeage du radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Capacité de piégeage de H}_2\text{O}_2 (\%) = [A_t / A_b] \times 100$$

Où :

A<sub>b</sub> est l'absorbance du blanc / A<sub>t</sub> est l'absorbance du test

**II.4.5. Activité de piégeage des radicaux hydroxyles (OH<sup>•</sup>)**

Ce test est réalisé suivant la méthode décrite par **Rajamanikandan *et al.*, (2012)**, 500 µl d'extrait, d'acide gallique et d'acide ascorbique sont mélangé avec 500 µl de FeSO<sub>4</sub> (1,5 mM), 350 µl de peroxyde d'hydrogène (6 mM) et 150 µl de salicylate de sodium (20 mM). Après 1 heure d'incubation à 37°C, l'absorbance est mesurée à 562 nm. La capacité de piégeage des radicaux hydroxyles est quantifiée en pourcentage (%), selon la formule suivante :

$$\text{Capacité de piégeage de OH}^\bullet (\%) = [A_c - A_t / A_c] \times 100$$

Où :

A<sub>c</sub> est l'absorbance du contrôle / A<sub>t</sub> est l'absorbance du test (extrait ou standard).

**II.5. Analyse statistique**

Les expériences ont été réalisées trois fois et toutes les données sont exprimées sous forme de moyennes ± écart type. L'efficacité des deux méthodes d'extraction réalisées, ont été

comparées sur la base du rendement d'extraction, de la teneur en composés phénoliques et de l'activité antioxydante. Les résultats ont été soumis à une analyse de variance (ANOVA), suivie du test post hoc de Tukey, à l'aide du logiciel GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc. La Jolla, USA),  $P < 0,05$  et  $P < 0,001$  ont été considérés comme des niveaux significatifs et hautement significatifs, respectivement. Les graphiques ont également été conçus à l'aide du logiciel GraphPad Prism 5.0.

---

# *Résultats et discussion*

---

## I. Rendement de l'extraction

Le choix d'une méthode d'extraction est lié aux différents avantages et inconvénients qu'elle présente, tels que le rendement de l'extraction, la complexité, le coût de production, le respect de l'environnement et la sécurité (Li *et al.*, 2010). Les rendements obtenus (Figure 11) à partir des extraits des fleurs d'*Aloysia triphylla* est de  $27,80 \pm 0,83$  % pour l'EAM réalisée à 600 w qui correspond à une température d'extraction entre 40 à 78 °C (Pan *et al.*, 2010). Cette valeur présente une différence hautement significative ( $P < 0,001$ ) comparé au rendement de l'EM ( $22,60 \pm 0,89$  %). Ces résultats corroborent avec ceux de (Jovanović *et al.*, 2022 (1)), en effet l'EAM a permis une meilleure extraction ( $36,8 \pm 1,2$  %) de la plante *Mellisa officinalis* L (Lamiacées), comparé à l'EM ( $12,6 \pm 1.0$  %). Selon les mêmes auteurs ces résultats pourraient être dues au mécanisme de l'EAM. L'eau contenue dans les cellules végétales absorbe l'énergie des micro-ondes, ce qui provoque une surchauffe intérieure et la dégradation des cellules, améliorant ainsi la libération de différents composés (composés phénoliques, sucres, lipides et protéines) dans le milieu d'extraction et le rendement de l'extraction (Jovanović *et al.*, 2022 (2)).

Selon Touati, (2023), le rendement d'extraction des feuilles d'*Aloysia triphylla* obtenus par EAM ( $27.3 \pm 0.015$  %) n'a pas présenté une différence significative avec le rendement obtenu par EM ( $26.6 \pm 0.007$  %). Cette différence dans les résultats pourrait être due à la différence entre la structure des feuilles et celles des fleurs.

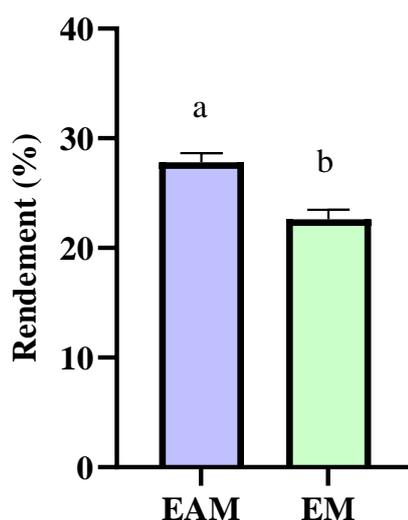
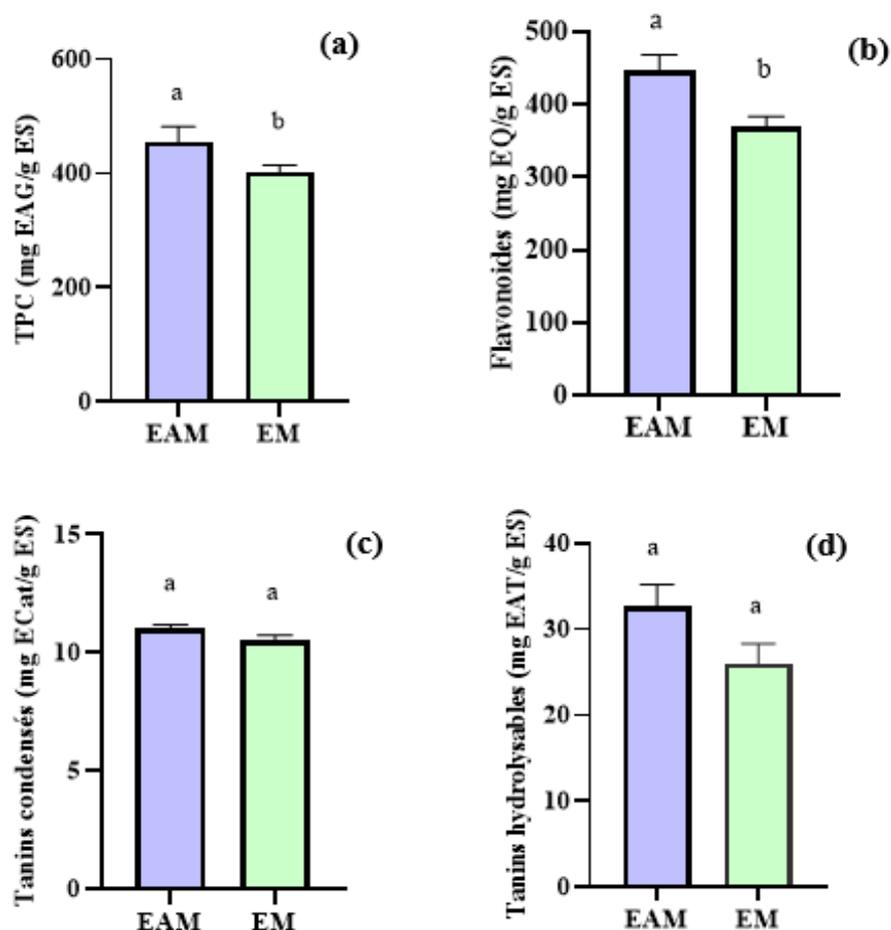


Figure 11 : Rendement d'extraction obtenue par EAM et EM

## II. Dosages des composés phénoliques

### II.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC)

La teneur en TPC des extraits étudiés sont illustrés dans la **Figure 12 (a)**, la teneur en TPC de l'extrait d'*Aloysia triphylla* obtenue par EAM ( $455,40 \pm 26,90^a$  mg EAG/g ES) est significativement plus importante ( $P < 0,05$ ) que celle obtenue par EM ( $402,06 \pm 12,18^b$  mg EAG/g ES).



**Figure 12 :** (a) Teneur en TPC ; (b) Teneurs en flavonoïdes ; (c) Teneurs en tanins condensés ; (d) Teneurs en tanins hydrolysables des extraits obtenus par EAM et EM

D'après la littérature, aucun travail n'a été réalisé pour déterminer le contenu phénolique des extraits de fleurs d'*Aloysia triphylla*. Les résultats obtenus corroborent avec ceux de (Touati *et al.*, 2021), qui ont trouvé que la teneur en TPC des extraits hydro-éthanoliques obtenu par EAM et EM des feuilles d'*Aloysia triphylla* sont de  $67,86 \pm 0,92$  mg EAG/g ES et  $34,55 \pm 0,90$  mg EAG/g ES respectivement, avec une différence significative ( $P < 0,05$ ). Cette

différence de teneur en TPC entre les feuilles et les fleurs pourrait s'expliquer par la différence de composition de ces parties de la plante. En effet, selon **Feduraev et al., (2019)**, il y a une répartition inégale des TPC entre les Feuilles et les fleurs.

**Peixoto et al., (2023)** ont obtenus un rendement en TPC pour l'infusion d'*Aloysia triphylla* qui varie entre  $59,72 \pm 4,97$  et  $269,44 \pm 8,89$   $\mu\text{g}$  EAG/ml, alors que **Jalal (2019)** ont obtenu 0,86 mg EAG/mg de matière sèche et 312,9 mg d'équivalent rutine pour 100 g de matière sèche à partir de l'extrait éthanolique de la plante. Les travaux de **Cheurfa et Allam, (2016)** ont montré que les extraits hydroéthanoliques d'*Aloysia triphylla* ont une teneur en TPC de  $61,13 \pm 0,0$  mg EAG/g de plante. Les différences observées dans ces résultats pourraient s'expliquer par la différence des méthodes et des conditions d'extraction employées, l'origine géographique de la plante, la nature du sol et du climat, le temps de la récolte, le traitement de la matière végétale ainsi que l'utilisation de matériel frais ou séché (**Ghosh et al., 2019**).

Les résultats obtenus démontrent l'efficacité de l'EAM, qui se caractérise par un meilleur rendement extraction des TPC. L'amélioration du rendement d'extraction observée dans l'EAM peut être attribuée à la capacité des microondes à pénétrer la matrice cellulaire et à interagir avec les molécules polaires, ce qui entraîne une augmentation de la température, suivie d'une augmentation de la pression à l'intérieur de la cellule végétale. La pression élevée entraîne la rupture des parois cellulaires et facilite la libération des analytes phénoliques (**Nayak et al., 2015**).

## II.2. Dosage des flavonoïdes

La **figure 12 (b)**, montre que la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait obtenu par EAM ( $447,19 \pm 21,39^{\text{a}}$  mg EQ/g ES) est significativement plus importante ( $P < 0,05$ ) que celle de l'extrait obtenue par macération ( $370,51 \pm 13,62^{\text{b}}$  mg EQ/g ES).

Les résultats obtenus corroborent avec ceux de **Touati, (2023)**, où la teneur en flavonoïdes des feuilles d'*Aloysia triphylla* obtenus par EAM ( $37,27 \pm 1,62$ ) est significativement plus importante ( $P < 0,001$ ) que celle obtenue par macération ( $23,25 \pm 1,47$  mg ECat/ g ES), ce qui démontre la meilleure efficacité de l'EAM. Selon **Tammar et al., (2021)**, la teneur en flavonoïdes des extraits méthanoliques des parties aériennes d'*Aloysia triphylla* macérés est de  $39,86 \pm 0,64$  mg ECat/g ES. Par ailleurs, des teneurs en flavonoïdes des infusions de la même plante provenant de divers pays (Espagne et trois régions du Portugal) varient entre  $55,42 \pm 0,00$  et  $254,72 \pm 21,40$   $\mu\text{g}$  ECat/ ml (**Peixoto et al., 2023**). **Maliki et al.,**

(2020) ont obtenus à partir de décoction d'*Aloysia triphylla* une teneur en flavonoïdes de 9,71 ± 1,25 mg EQ/ g ES.

### II.3. Dosage des tanins condensés

Les résultats illustrés dans la **figure 12 (c)**, montrent que la teneur en tanins condensés obtenue par microonde ( $11.04 \pm 0,14^a$  mg ECat/g ES) n'est pas significativement différente ( $P > 0,05$ ) de celle obtenue par macération ( $10,53 \pm 0,19^a$  mg ECat/g ES).

Les travaux de **Maliki et al. (2020)** ont montré que la teneur en tanins condensés des extraits aqueux de la partie aérienne d'*Aloysia triphylla* obtenu par décoction est de  $0,27 \pm 0,02$  mg ECat/ g ES. Selon **Tammar et al. (2021)**, la teneur en tanins condensés de l'extrait des parties aériennes de la même plante, obtenu par extraction par agitation est de  $0,04 \pm 0,01$  mg ECat/g ES. Les extraits hydro-acétoniques des feuilles de *Svensonia hyderabadensis* (Verbenacées) ont montré une teneur en tanins condensés de 0,318 mg d'équivalent leucocyanidine/g ES (**Rao et Savithramma, 2012**) et les feuilles de *Vitex megapotamica* (Verbenacées) macérées dans l'éthanol 70 %, ont montré une teneur en tanins condensés de  $3,86 \pm 0,53$  mg ECat /g ES.

Les travaux de **Rhazi et al. (2019)** sur l'écorce d'*Acacia mollissima* (Fabacées) ont montré des meilleurs rendements de 47,64 mg Cya/g d'écorce et 27,96 mg Cya/g d'écorce pour les extraits obtenus par EAM (5 min à 150 W, en utilisant de l'eau) et par macération (température ambiante pendant 2 h en utilisant 80% de méthanol) respectivement.

### II.4. Dosage des tanins hydrolysables

D'après la **figure 12 (d)**, la teneur en tanins hydrolysables obtenue par EAM est de  $32,67 \pm 2,50^a$  mg EAT/g ES. Cette valeur ne présente pas de différence significative ( $P > 0,05$ ) avec celle de l'extrait macéré ( $26,00 \pm 2,36^a$  mg EAT/g ES).

Selon **Rao et Savithramma, (2012)**, les racines de *Svensonia hyderabadensis* (Verbenacées) possèdent une teneur en tanins hydrolysables de 45,8 mg EAT/g. **Masengo et al. (2023)** ont trouvé que les extraits macérés hydro-méthanoliques de *Lippia multiflora* (Verbenacées) contiennent une teneur en tanins hydrolysables de  $0,093 \pm 0,03$  %.

Les travaux de **Rhazi et al. (2019)** sur l'écorce d'*Acacia mollissima* (Fabacées) ont montré que des meilleurs teneurs en tanins hydrolysables ont été obtenus par une EAM (0,221 mg TAE/g d'écorce), (5 min à 150 W, 80% d'éthanol) comparé à l'extrait macéré (0,202 mg TAE/g d'écorce) (température ambiante pendant 2 h, 80% de méthanol).

Concernant l'EAM (600 W ; 188 secondes d'extraction), la teneur en tanins condensés est beaucoup plus faible que celle des tanins hydrolysables. Selon **Rhazi et al. (2019)**, la teneur en tanins condensés diminue à partir d'une puissance 300 W (temps d'extraction de 3 minutes). La baisse de la teneur en tannins condensés est probablement due à la liquéfaction des tannins condensés, autrement dit à la dégradation des structures des tannins condensés pour produire des groupes galloyl à haute pression et à haute température. Cela explique l'augmentation du rendement en tanins hydrolysables à ces puissances.

### III. Détermination des activités antioxydantes

D'après la littérature, aucun travail n'est réalisé sur l'activité antioxydante des fleurs d'*Aloysia triphylla*. Des activités tel que le DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, HOSC ont été réalisées sur les huiles essentielles et les extraits de feuilles.

L'activité antioxydante des extraits d'*Aloysia triphylla* est liée à la teneur en composés phénoliques totaux et en flavonoïdes totaux, plus la concentration en composés phénoliques et en flavonoïdes est élevée, plus leurs capacité antioxydante est importante (**Chrysargyris et al., 2020**).

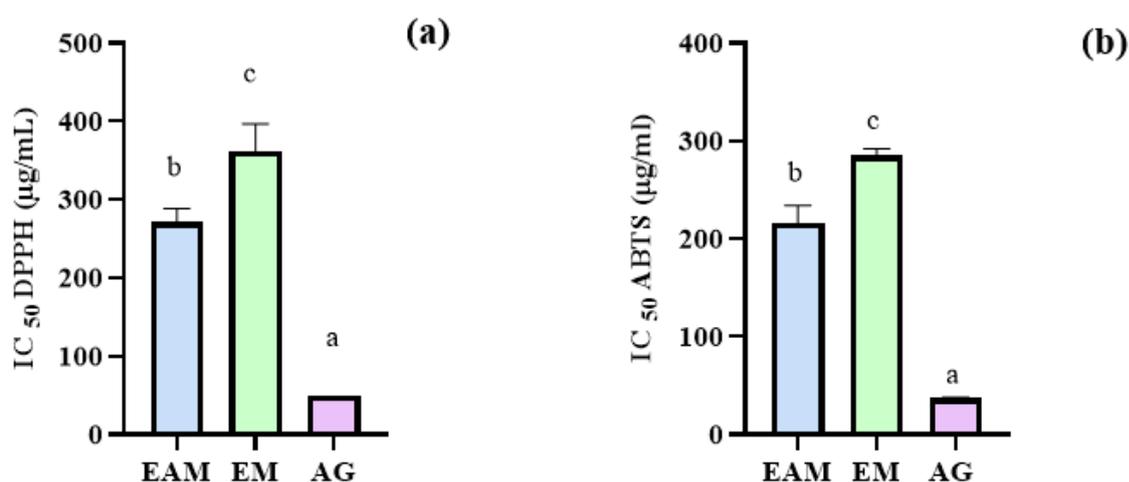
#### III.1. Activité de piégeage du radical DPPH

L'IC<sub>50</sub> est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé (**Cheurfa et Allem, 2016**).

La **figure 13 (a)** montre que l'activité de piégeage des échantillons est concentration dépendante et que l'activité DPPH de l'acide gallique ( $50,27 \pm 0,11^a$  µg/ml) est significativement inférieure ( $P < 0,001$ ) à celle des deux extraits d'*Aloysia triphylla*. Le test DPPH a montré que l'EAM est meilleure en raison de l'IC<sub>50</sub> significativement inférieure ( $P < 0,001$ ), qui est de  $271,18 \pm 17,50^b$  µg/ml, comparée à celle de l'EM ( $362,08 \pm 34,74^c$  µg/ml). Ces résultats corroborent avec ceux de **Touati. (2023)** réalisés sur les extraits hydroéthanoliques des feuilles d'*Aloysia triphylla*, où les extraits obtenus par EAM et par EM présentent des IC<sub>50</sub> de  $139.65 \pm 1.02$  µg/ml et de  $229.50 \pm 9.77$  µg/ml respectivement.

Ces résultats montrent que les extraits des fleurs d'*Aloysia triphylla* possèdent un effet piègeur important qui est en relation avec les composés phénoliques qu'ils renferment. En effet, Les TPC, notamment les flavonoïdes sont connus pour être des donneurs efficaces d'atomes d'hydrogène pour le radical DPPH. Et de ce fait, capables de piéger les radicaux libres (**Amessis-Ouchemoukh et al., 2014 ; Zhang et al., 2018**). D'ailleurs, il existe une corrélation directe entre le piégeage des radicaux DPPH et les TPC et le piégeage des radicaux DPPH et

les flavonoïdes (Uribe *et al.*, 2016). Les travaux de Cheurfa et Allem. (2016) ont montré que l'IC<sub>50</sub> de l'extrait hydroéthanolique d'*Aloysia triphylla* est de  $23,52 \pm 0,035$  mg/ml, comparé à celui du BHT qui est de  $6,96 \pm 0,1$  mg/ml. Rashid *et al.* (2022), ont montré que l'extrait éthanolique de feuilles fraîches d'*Aloysia triphylla* possède une IC<sub>50</sub> de 22,85 mg/ml, et selon Maliki *et al.* (2020), l'activité anti-radicalaire (IC<sub>50</sub>) de l'extrait de feuilles d'*Aloysia triphylla* est de 9,4 µg/ml. Les travaux de Tammar *et al.* (2021) ont montré que l'extrait méthanolique obtenu par macération de la même plante possède un IC<sub>50</sub> de  $14,90 \pm 0,83$  µg/ml. Ces différents résultats pourraient être due aux méthodes d'extraction et aux normes utilisées. De plus, la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes varie au cours des différentes étapes de croissance des plantes (Aldeen *et al.*, 2015).



**Figure 13 :** Activité de piégeage du radical DPPH des extraits obtenus par EAM, par EM et de l'AG (a) ; Activité de piégeage du radical ABTS•+ des extraits obtenus par EAM, par EM et de l'AG (b)

### III.2. Activité de piégeage du radical ABTS•+

Les résultats de l'activité de piégeage du radical ABTS•+ sont illustrés dans la **figure 13 (b)**. L'IC<sub>50</sub> de l'AG ( $37,16 \pm 0,94^a$  µg/ml) est significativement inférieur ( $P < 0,05$ ) comparé aux extraits testés. L'IC<sub>50</sub> de l'extrait obtenu par EAM ( $216,21 \pm 18,08^b$  µg/ml) est significativement plus faible ( $P < 0,05$ ) comparé à celle de l'EM ( $284,87 \pm 6,89^c$  µg/ml). Ce qui démontre une meilleure capacité de piégeages de l'extrait obtenu par EAM.

Ces résultats corroborent avec les travaux de **Touati, (2023)**, où l'IC<sub>50</sub> de l'extrait d'*Aloysia triphylla* obtenu par EAM ( $168.35$  et  $293.17 \pm 1.1$  µg/ml) est significativement inférieur ( $P < 0,05$ ), à celle obtenu par EM. Ces résultats indiquent que l'EAM pourraient être une méthode prometteuse pour extraire des antioxydants à partir de sources naturelles. Les travaux de **Tammar et al. (2021)**, ont montré que les extraits méthanoliques des feuilles d'*Aloysia triphylla* de différentes régions de Tunisie possèdent des valeurs d'IC<sub>50</sub> comprises entre  $4,54 \pm 1,13$  et  $8,10 \pm 1,12$  µg/ml.

Selon **Polumackanycz et al., (2022)**, les extraits hydrométhanoliques, les infusions et les décoctions des feuilles d'*Aloysia triphylla* ont donné des valeurs d'IC<sub>50</sub> (mg E Trolox/g MS) de  $48,88 \pm 1,19$  ;  $342,99 \pm 8,52$  et  $374,77 \pm 5,57$ , respectivement.

**Tiwari et Tripathi, (2007)**, ont montré que l'extrait éthanolique de *Vitex negundo* Linn. (Verbenacées) présente une IC<sub>50</sub> de 235 µg/ml. De même, **Chellappan et Pemiah (2014)** ont rapporté qu'à une concentration de 150 µg/mL, l'extrait éthanolique de *Gmelina arborea* (Verbenacées) présente une inhibition de 88,33%.

L'extraction par microondes des feuilles de *Vernonia amygdalina* (Asteracée) a permis d'obtenir une meilleure activité antioxydante contre le radical ABTS+ ( $95.93 \pm 0.99\%$ ) comparé à l'extrait obtenu avec une extraction par soxhlet ( $69.70 \pm 3.27\%$ ) (**Alara et al., 2018**).

**Gallo et al. (2010)**, ont montré que l'EAM de quatre épices, cannelle, coriandre, cumin, safran, a permis d'obtenir des extraits plus riches en composés phénoliques et avec une meilleure activité antioxydante ABTS, comparé à des extraits obtenus par ultrasons.

Les différences entre ces résultats peuvent s'expliquer par la méthode et les conditions d'extraction adoptés qui peuvent affecter l'activité antioxydant d'un extrait (**Chrysargyris et al., 2020**). Il est à noter que l'IC<sub>50</sub> des activités de piégeage du radical DPPH des extraits testés ont donné des résultats linéaires avec l'IC<sub>50</sub> des activités de piégeage du radical ABTS.

### III.3. Activité de piégeage du monoxyde d'azote (NO)

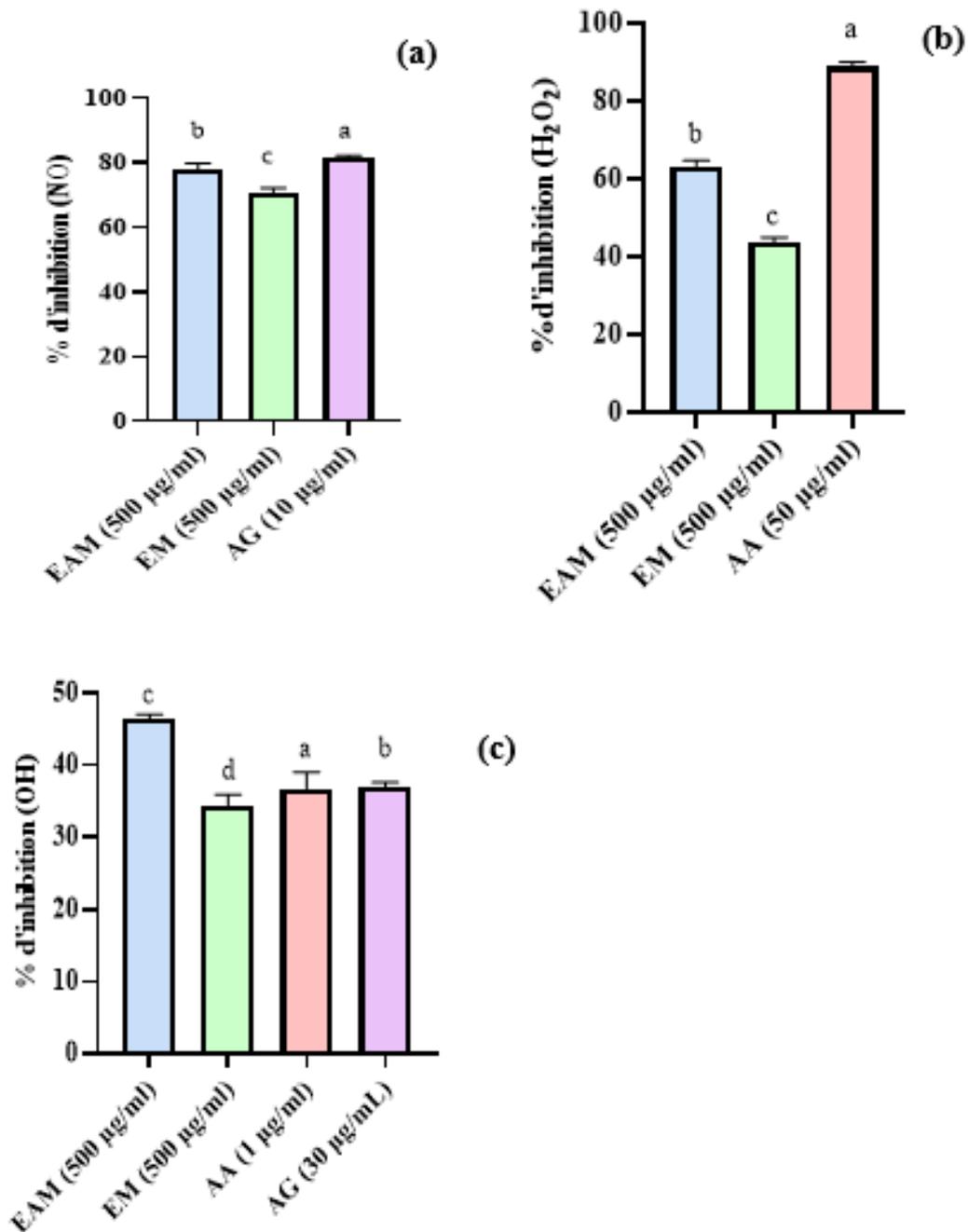
Le pourcentage d'inhibition de l'extrait à la concentration 500 µg/ml obtenu par EAM est de  $77,95 \pm 1,88^{b2}$  %, ce résultat est significativement plus important ( $P < 0,05$ ) que le pourcentage d'inhibition de l'extrait obtenu par EM ( $70,83 \pm 1,34^c$  %) (**Figure 14 (a)**) à la même concentration. Le pourcentage d'inhibition de l'acide gallique (10 µg/ml) est de  $81,63 \pm 0,44^a$  % ( $P < 0,05$ ).

Selon **Pinto et al. (2021)**, l'extrait aqueux de *Castanea sativa* Shells (Fagacées) obtenu par EAM, a montré un  $IC_{50}$  de  $1,43 \pm 0,01$  µg/ml comparé à l'AG ( $0,16 \pm 0,02$  µg/ml).

**Fraisse et al. (2018)** ont rapporté que l'infusion d'*Aloysia triphylla* exerce de puissants effets de piégeage du radical NO avec une valeur  $IC_{50}$  de  $231 \pm 17$  µg/ml. Selon les mêmes auteurs, cette activité pourrait être due à la présence du verbascoside, isoverbascoside ; luteolin-7-O-diglucuronide, diosmetin-7-O-diglucuronide et apigenin-7-O-glucoside qui s'avèrent posséder une puissante activité NO. En effet, ces fractions ont montré des valeurs  $IC_{50}$  de  $56 \pm 4$  ;  $51 \pm 3$  ;  $69 \pm 5$  µg/ml ; 200 µg/ml et 200 µg/ml respectivement.

L'activité NO est aussi due à la richesse des extraits en flavonoïdes, en effet les flavonoïdes sont des molécules efficaces pour neutraliser les radicaux libres (**Saeed et al., 2012**).

Les différences de l'activité antioxydante entre les deux extraits peuvent s'expliquer par la composition qualitative et quantitative en composés polyphénoliques. La corrélation entre la teneur en TPC et l'activité antioxydante a été largement étudiée et prouvée (**Bakchiche et al., 2018**).



**Figure 14 :** Activité NO des extraits obtenus par EAM, EM et de l'AG (a) ; Activité H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> des extraits obtenus par EAM, EM et de l'AA (b) ; Activité OH des extraits obtenus par EAM, EM, de l'AA et de l'AG (c).

### III.4. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Les résultats obtenus sont illustrés dans la **figure 14 (b)**. Le pourcentage d'inhibition de l'extrait à la concentration 500 µg/ml obtenu par EAM est de  $63,20 \pm 1,43^b$  %, ce résultat est significativement plus important ( $P < 0,001$ ) que le pourcentage d'inhibition de l'extrait obtenu par EM ( $43,51 \pm 1,33^c$  %) à la même concentration. Le pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique à 50 µg/mL est hautement significatif comparé à celui des extraits ( $88,7 \pm 1,27^a$  %) ( $P < 0,001$ ).

Très peu de travaux ont rapporté l'activité H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> d'*Aloysia triphylla*. Les infusions et les décoctions d'*Aloysia triphylla*, de concentration 250 µg/ml, ont montré des pourcentages d'inhibition de  $11.1 \pm 0.2$  % et  $12.7 \pm 0.9$  % respectivement (**Vitar et al., 2014**). Selon **Kamsu et al. (2019)** le pourcentage d'inhibition de l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Tectona grandis* (verbénacée) à une concentration de 200 µg/ml est de 79,39%. Les travaux de **Bener et al. (2016)**, ont montré que l'extrait de *Curcuma longa* L. (Zingiberacées) obtenu par EAM possède une meilleur IC<sub>50</sub> ( $2,28 \pm 0.11$  mg/ml), comparé à l'extrait macéré dont l'IC<sub>50</sub> est de  $2.48 \pm 0.05$  mg/mL.

**Ozyurek et al. (2014)**, ont montré que les extraits de *Terfezia boudieri* Chatin (Terfeziaceae), *Boletus edulis* (Boletaceae) et *Lactarius volemus* (Russulaceae), possèdent des IC<sub>50</sub> de  $11.4 \pm 0.6$  ;  $4.6 \pm 0.2$  et  $7,5 \pm 0,4$  respectivement.

### III.5. Activité de piégeage des radicaux hydroxyles (OH)

Le pourcentage d'inhibition de l'extrait à la concentration 500 µg/ml obtenu par EAM ( $46,53 \pm 0,57^c$  %), est significativement plus important ( $P < 0,001$ ) que le pourcentage d'inhibition de l'extrait obtenu par EM ( $34,48 \pm 1,47^d$  %) à la même concentration (**Figure 14 (c)**). Le pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique à 1 µg/ml et de l'acide gallique à 30 µg/ml sont de  $36,79 \pm 2,28^a$  % et  $36,9 \pm 0,76^b$  % respectivement.

Les travaux de **Pan et al. (2008)** confirment nos résultats. En effet l'extrait éthanolique de *Dimocarpus Longan* Lour, obtenu par EAM, a montré un IC<sub>50</sub> de 1,74 µg/mL, tandis que l'IC<sub>50</sub> de l'extrait obtenu par Soxhlet est de 2,27 µg/mL. Ces résultats Suggèrent que la méthode d'extraction assistée par microondes est meilleure comparé à l'extraction par soxhlet (conventionnelle).

De même, ces résultats corroborent avec ceux de **Bener et al. (2016)**. L'effet de piégeage du radical OH de l'extrait méthanolique de *Curcuma longa* L. augmente avec

l'augmentation de la concentration de l'échantillon. L'IC<sub>50</sub> de l'extrait obtenu par EAM est de  $1,16 \pm 0,03$  mg/mL, alors que l'IC<sub>50</sub> de l'extrait infusé est de  $1,40 \pm 0,02$  mg/mL, démontrant l'efficacité de l'EAM, comparé aux méthodes conventionnelles.

Selon **Abderrahim et al. (2011)**, l'infusion des feuilles d'*Aloysia triphylla* de concentration 250 mg /ml ont révélé un pourcentage d'inhibition des radicaux OH de 92%. Selon le même auteur, le verbascoside qui est le principal polyphénol présent dans la plante, peut piéger les radicaux OH et protéger l'ADN contre les dommages. Le radical hydroxyle a une durée in vivo très courte et une réactivité élevée, il est donc très dangereux pour l'organisme. Par conséquent, son élimination est importante dans les systèmes cellulaires ou alimentaires (**Jomova et al., 2023**).

Les travaux de **Kavitha et al. (2022)** réalisés sur l'extrait aqueux de *Stachytarpheta jamaicensis* (Verbenacées) ont montré qu'à une concentration de 500 µg/ml, l'extrait présente un pourcentage d'inhibition de  $145.36 \pm 0.37$  % et un IC<sub>50</sub> de 178.58 µg/ml.

Selon **Ali et al. (2023)**, l'extrait hydro-éthanolique de *Lippia alba* (Verbenacées) présente à une concentration 100 µg/ml un IC<sub>50</sub> de  $10,95 \pm 0,560$  µg/ml.

---

# *Conclusion*

---

### Conclusion

Les composés phénoliques sont reconnus pour leurs propriétés antioxydantes bénéfiques pour la santé humaine et leur potentiel d'application dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et cosmétique.

Les méthodes d'extraction conventionnelles des polyphénols, ont longtemps été privilégiées du fait de leur relative simplicité. Cependant, ces techniques présentent des inconvénients, à savoir une durée d'extraction prolongées et un faible rendement d'extraction. À l'opposé, les procédés "innovants" ou "verts", comme l'EAM, offrent des avantages significatifs. Ils permettent une extraction plus rapide et plus efficace des composés phénoliques, tout en réduisant la consommation des solvants organiques et du temps d'extraction. L'EAM est une approche écologique, elle permet de minimiser l'impact environnemental du procédé d'extraction. L'emploi de cette technologie pourrait représenter une voie prometteuse pour une valorisation optimale et durable des ressources végétales.

La présente étude a pour objectif d'évaluer et de comparer l'efficacité de deux méthodes d'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre des fleurs d'*Aloysia triphylla* : une méthode conventionnelle qui est la macération et une méthode innovante qui est l'EAM. Cette comparaison concerne le rendement d'extraction, la teneur en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes, en tannins et les activités antioxydantes.

Le rendement d'extraction obtenu avec EAM s'est avéré significativement plus élevé ( $27.80 \pm 0.83 \%$ ) comparée à celui obtenu par macération ( $22.60 \pm 0.89 \%$ ) avec une différence hautement significative ( $P < 0.001$ ).

L'extrait obtenu par EAM a montré une teneur significativement plus ( $P < 0,05$ ) élevée en TPC ( $455,40 \pm 26,90 \mu\text{g EAG/g ES}$ ), comparé à l'extrait par macération ( $402,06 \pm 12,18 \mu\text{g EAG/g ES}$ ).

De même, l'extrait obtenu par EAM s'est révélés plus riches en flavonoïdes ( $P < 0,05$ ), avec une teneur de  $447,19 \pm 21,39 \text{ mg EQ/g ES}$ , comparé à  $370,97 \pm 13,62 \text{ mg EQ/g ES}$  pour l'extrait macéré.

Les extraits obtenus par EAM et par EM n'ont pas montré une différence significative concernant leurs teneurs en tanins condensés ( $P > 0,05$ ). Elles sont de  $11,04 \pm 0,14 \text{ mg EAT/g ES}$  et  $10,53 \pm 0,19 \text{ mg EAT/g ES}$  pour l'extrait obtenu par EAM et par EM respectivement.

En ce qui concerne les tannins hydrolysables, l'extrait obtenu par micro-ondes n'a pas affiché une teneur significativement différente ( $P>0,05$ ) ( $32,67 \pm 2,50$  mg EAT/g ES), comparé à l'extrait conventionnel ( $26,00 \pm 2,36$  mg EAT/g ES).

L'évaluation des activités antioxydantes des extraits de fleurs d'*Aloysia triphylla* a montré une meilleure activité pour l'extrait obtenu par EAM comparé à l'extrait macéré pour l'ensemble des tests.

Le test de piégeage du radical DPPH a montré que l'extrait obtenu par EAM présente une meilleure activité ( $P<0,05$ ), avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de  $271,18 \pm 17,50$  µg/ml, comparé à l'extrait macéré ( $362,08 \pm 34,74$  µg/ml). Le test ABTS a confirmé ce résultat, en effet, les extraits obtenus par EAM et par macération ont montré des IC<sub>50</sub> de  $216,21 \pm 18,08$  µg/ml et de  $284,87 \pm 6,89$  µg/ml respectivement, avec une différence significative ( $P<0,05$ ).

Les tests NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH ont montré des pourcentages d'inhibition significativement plus élevés ( $p<0,05$  ;  $p<0,05$  ;  $p<0,001$  respectivement) pour les extraits obtenus par EAM comparé aux extraits macérés. En effet, le test de piégeage des radicaux NO a montré un pourcentage d'inhibition de  $77,95 \pm 1,88$  % et  $70,83 \pm 1,34$  %, le test H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de  $63,20 \pm 1,43$  % et de  $43,51 \pm 1,33$  % et le test OH de  $46,53 \pm 0,57$  % et  $34,48 \pm 1,47$  % pour les extraits obtenus par microonde et par macération respectivement.

Cette étude comparative a permis de démontrer l'efficacité de l'EAM comparé à l'EM pour l'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre de fleurs d'*Aloysia triphylla*.

D'après ces résultats, les extraits étudiés ont montré une teneur intéressante en TPC et en flavonoïdes, ainsi que des activités antioxydantes importantes. De ce fait, les extraits de fleurs d'*Aloysia triphylla* pourraient être exploités dans le domaine médicale, pour lutter contre le stress oxydatif associé à plusieurs maladies, dans le domaine agro-alimentaire afin d'enrichir diverses matrices alimentaires et aussi dans le domaine cosmétique pour formuler des produits de soins pour le corps.

---

*Références  
bibliographiques*

---

### Références bibliographiques

- Abderrahim, F., Estrella, S., Susín, C., Arribas, S. M., González, M. C., & Condezo-Hoyos, L. (2011). The Antioxidant Activity and Thermal Stability of Lemon Verbena (*Aloysia triphylla*) Infusion. *Journal of Medicinal Food*, 14(5): 517-527.
- Abdoul-Latif, F. M., Ainane, A., Abdoul-Latif, T. M., & Ainane, T. (2020). Chemical study and evaluation of insectical properties of african *lippia citriodora* essential oil. *Journal of Biopesticides*, 13(2): 119-126.
- Abirami, A., Sinsinwar, S., Rajalakshmi, P., Brindha, P., Rajesh, Y. B. R. D., & Vadivel, V. (2022). Antioxidant and cytoprotective properties of loganic acid isolated from seeds of *Strychnos potatorum* L. against heavy metal induced toxicity in PBMC model. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(1): 239-249.
- Ado, M. A., Abas, F., Leong, S. W., Shaari, K., Ismail, I. S., Ghazali, H. M., & Lajis, N. H. (2016). Chemical constituents and biological activities of *Callicarpa maingayi* leaves. *South African Journal of Botany*, 104: 98-104.
- Afrasiabian, F., Mirabzadeh Ardakani, M., Rahmani, K., Azadi, N. A., Alemohammad, Z. B., Bidaki, R., Karimi, M., Emtiazy, M., & Hashempur, M. H. (2019). *Aloysia citriodora* Palau (lemon verbena) for insomnia patients: A randomized, double blind, placebo controlled clinical trial of efficacy and safety. *Phytotherapy Research*, 33(2): 350-359.
- Aguado, M. I., Dudík, N. H., Zamora, C. M. P., Analía, C., & Nuñez, M. B. (2016). Antioxidant and antibacterial activities of hydroalcoholic extracts from *alloysia polystachya griseb moldenke* and *lippia turbinata griseb* (verbenaceae). 8(3): 325-338.
- Alam, Md. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, Md. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2): 143-152.

## *Références bibliographiques*

---

- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Olalere, O. A. (2018). Optimization of microwave-assisted extraction of flavonoids and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using response surface methodology. *Food and Bioproducts Processing*, 107: 36-48.
- Aldeen, M. G., Mansoor, R., & AlJoubbeh, M. (2015). Fluctuations of phenols and flavonoids in infusion of lemon verbena (*Lippia citriodora*) dried leaves during growth stages. *Nutrition & Food Science*, 45(5): 766-773.
- Ali, M. O., Khatune, N. A., Parvin, M. S., Alam, A. H. M. K., & Rahman, M. A. A. (2023). In vitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of *Lippia alba* (Verbenaceae). *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, 26(1): 7-14.
- Ameer, K., Shahbaz, H. M., & Kwon, J. (2017). Green Extraction Methods for Polyphenols from Plant Matrices and Their Byproducts: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2): 295-315.
- Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Falé, P. L. V., Serralheiro, M. L., & Araújo, M. E. M. (2014). Antioxidant capacity and phenolic contents of some Mediterranean medicinal plants and their potential role in the inhibition of cyclooxygenase-1 and acetylcholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*, 53: 6-15.
- Armada, J., & Barra, A. (1992). On *Aloysia Palau* (Verbenaceae). *Taxon*, 41(1): 88-90.
- Ata, A., Kalhari, K. S., & Samarasekera, R. (2009). Chemical constituents of *Barleria prionitis* and their enzyme inhibitory and free radical scavenging activities. *Phytochemistry Letters*, 2(1): 37-40.
- Ayoka, T. O., Ezema, B. O., Eze, C. N., & Nnadi, C. O. (2022). Antioxidants for the Prevention and Treatment of Non-communicable Diseases. *Journal of Exploratory Research in Pharmacology*, 7(3): 179-189

## Références bibliographiques

---

- Bagade, S. B., & Patil, M. (2021). Recent Advances in Microwave Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Complex Herbal Samples: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 51(2): 138-149.
- Bahramsoltani, R., Rostamiasrabadi, P., Shahpiri, Z., Marques, A. M., Rahimi, R., & Farzaei, M. H. (2018). *Aloysia citrodora Paláu (Lemon verbena)*: A review of phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 222: 34-51.
- Bakchiche, B., Habati, M., Benmebarek, A., & Gherib, A. (2018). Caractéristiques physico-chimiques, concentrations en composés phénoliques et pouvoir antioxydant de quatre variétés de miels locales (Algérie). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*. 6 (1): 118-123
- Belkamel, A., Bammi, J., Janneot, V., Belkamel, A., Dehbi, Y., & Douira, A. (2018). Contribution to the study of the chemical composition of Lemon Verbena: *Aloysia triphylla* (Hert). Britt. cultivated in Morocco. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 3(2): 321-331.
- Benabdallah, A., Rahmoune, C., Boumendjel, M., Aissi, O., & Messaoud, C. (2016). Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(9): 760-766.
- Bener, M., Özyürek, M., Güçlü, K., & Apak, R. (2016). Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Curcumin from *Curcuma longa L.* (Turmeric) and Evaluation of Antioxidant Activity in Multi-Test Systems. *Records of Natural Products*. 10(5): 542-554
- Berwal, M. K., & Ram, C. (2019). Superoxide Dismutase: A Stable Biochemical Marker for Abiotic Stress Tolerance in Higher Plants. In A. Bosco De Oliveira (Éd.), *Abiotic and Biotic Stress in Plants*. In book: Superoxide Dismutase Publisher: Intech OpenBian. 10p

## Références bibliographiques

---

- M., Zhang, Y., Du, X., Xu, J., Cui, J., Gu, J., Zhu, W., Zhang, T., & Chen, Y. (2017). Apigenin-7-diglucuronide protects retinas against bright light-induced photoreceptor degeneration through the inhibition of retinal oxidative stress and inflammation. *Brain Research*, 1663: 141-150.
- Bilia, A. R., Giomi, M., Innocenti, M., Gallori, S., & Vincieri, F. F. (2008). HPLC–DAD–ESI–MS analysis of the constituents of aqueous preparations of verbena and *lemon verbena* and evaluation of the antioxidant activity. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 46(3): 463-470.
- Bohui, P. S. G., Adima, A. A., Niamké, F. B., & N'Guessan, J. D. (2018). Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 46: 50-58
- Bossu, C. M., Ferreira, E. C., Chaves, F. S., Menezes, E. A., & Nogueira, A. R. A. (2006). Flow injection system for hydrolysable tannin determination. *Microchemical Journal*, 84(1-2): 88-92.
- Boukhatem, A., Benslama, M., & Abed-Belouahem, D. (2017). Biodiversity and Ecology of Mosses in Northeastern Algeria: Case of the Watershed Tonga. *Algerian Scientific Journal Platform*, 23(2) : 59-68
- Bouzabata, A., & Yavuz, M. (2019). Médecine traditionnelle et ethnopharmacologie en Algérie : De l'histoire à la modernité. *Ethnopharmacologia*, (62): 86-92
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Bruneton, J., & Poupon, E. (2016). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (5e éd). Lavoisier Tec & doc. *Ethnopharmacologia*, 1487
- Cádiz-Gurrea, M. D. L. L., Olivares-Vicente, M., Herranz-López, M., Arraez-Roman, D., Fernández-Arroyo, S., Micol, V., & Segura-Carretero, A. (2018). Bioassay-guided purification

## *Références bibliographiques*

---

of *Lippia citriodora* polyphenols with AMPK modulatory activity. *Journal of Functional Foods*, 46: 514-520.

Calderón-Oliver, M., & Ponce-Alquicira, E. (2021). Environmentally Friendly Techniques and Their Comparison in the Extraction of Natural Antioxidants from Green Tea, Rosemary, Clove, and Oregano. *Molecules*, 26(7): 1869.

Camel, V. (2001). Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: Their potential and pitfalls. *The Analyst*, 126(7): 1182-1193.

Carnat, A., Carnat, A. P., Fraisse, D., & Lamaison, J. L. (1999). The aromatic and polyphenolic composition of *lemon verbena* tea. *Fitoterapia*, 70(1): 44-49.

Chaachouay, N., Benkhniq, O., Fadli, M., El Ayadi, R., & Zidane, L. (2019). Ethnobotanical study of medicinal plants used to treat osteoarticular diseases in the Moroccan Rif, Morocco. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 7(1), 454-470.

Chahmi, N., Anissi, J., Jennan, S., Farah, A., Sendide, K., & Hassouni, M. E. (2015). Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(3): 228-233.

Chandrasekaran, M., & Bahkali, A. H. (2013). Valorization of date palm (*Phoenix dactylifera*) fruit processing by-products and wastes using bioprocess technology – Review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20(2): 105-120.

Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., Calina, D., & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative stress, free radicals and antioxidants: Potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. *Frontiers in Chemistry*, 11: 1158198.

Chehrit-Hacid, F., Gaceb-Terrak, R., Daoudi, H., Hannachi, L., Metna, B., Mati, A., Limam, F., & Mati-Moulti, F. (2021). Effect of environmental factors on variation of phenolic compounds in

## Références bibliographiques

---

leaves of *Pistacia lentiscus L. and Pistacia atlantica Desf.* *Analele Universității din Oradea Seria Geografie* 28(1): 109-116

Chellappan, D. R., & Pemiah, B. R. I. N. D. H. A. (2014). Pharmacognostical, phytochemical and in vivo gastro-protective investigation of *Gmelina arborea*. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(4): 153-7.

Cheurfa, M., & Allem, R. (2016). Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) d'Algérie in vitro. *Phytothérapie*, 14(3): 181-187.

Cheurfa, M., Allem, R., Sadeer, N. B., & Mahomoodally, M. F. (2022). In vivo hypocholesterolemic and anti-inflammatory effect of *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton and *Trigonella foenum-græcum L.* seeds. *South African Journal of Botany*, 145: 213-217.

Chrysargyris, A., Mikallou, M., Petropoulos, S., & Tzortzakis, N. (2020). Profiling of Essential Oils Components and Polyphenols for Their Antioxidant Activity of Medicinal and Aromatic Plants Grown in Different Environmental Conditions. *Agronomy*, 10(5): 727.

Combrinck, S., Du Plooy, G. W., McCrindle, R. I., & Botha, B. M. (2007). Morphology and Histochemistry of the Glandular Trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). *Annals of Botany*, 99(6): 1111-1119.

Curet, S., Rouaud, O., & Boillereaux, L. (2008). Microwave tempering and heating in a single-mode cavity: Numerical and experimental investigations. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 47(9-10): 1656-1665.

Dalbouha, A., Ettahiri, W., Taleb, M., & Rais, Z. (2021). Exploring the therapeutic potential of verbena (*Lippia Citriodora*): A comprehensive review of traditional uses, essential oil composition, and health benefits. *Journal of Applied Science and Environmental Studies*, Vol. 4, J. Appl. Sci. Envir. Stud. 4(4) (2021)511-531.

## *Références bibliographiques*

---

- Damasceno, S. S., Dantas, B. B., Ribeiro-Filho, J., Antônio M. Araújo, D., & Galberto M. Da Costa, J. (2017). Chemical Properties of Caffeic and Ferulic Acids in Biological System: Implications in Cancer Therapy. A Review. *Current Pharmaceutical Design*, 23(20): 3015-3023.
- Dar, R. A., Shahnawaz, M., & Qazi, P. H. (2017). General overview of medicinal plants: A review. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(6): 349-351.
- De Almeida, W. S., De Lima, S. G., Barreto, H. M., Andrade, L. M. D. S., Fonseca, L., Athayde Sobrinho, C., Santos, A. R. B., & Muratori, M. C. S. (2018). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia lasiocalycina* Cham. (Verbenaceae). *Industrial Crops and Products*, 125: 236-240.
- Deepika, M. S., Thangam, R., Sheena, T. S., Sasirekha, R., Sivasubramanian, S., Babu, M. D., Jeganathan, K., & Thirumurugan, R. (2019). A novel rutin-fucoidan complex based phytotherapy for cervical cancer through achieving enhanced bioavailability and cancer cell apoptosis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 109: 1181-1195.
- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1193-S1199.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4): 654-660.
- Duarte, M. C. T., Leme, E. E., Delarmelina, C., Soares, A. A., Figueira, G. M., & Sartoratto, A. (2007). Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2): 197-201.
- Ekezie, F.-G. C., Sun, D.-W., & Cheng, J.-H. (2017). Acceleration of microwave-assisted extraction processes of food components by integrating technologies and applying emerging solvents: A review of latest developments. *Trends in Food Science & Technology*, 67: 160-172.

## Références bibliographiques

---

- Feduraev, P., Chupakhina, G., Maslennikov, P., Tacenko, N., & Skrypnyk, L. (2019). Variation in Phenolic Compounds Content and Antioxidant Activity of Different Plant Organs from *Rumex crispus L.* and *Rumex obtusifolius L.* at Different Growth Stages. *Antioxidants*, 8(7): 237.
- Feng, H., Yin, Y., & Tang, J. (2012). Microwave Drying of Food and Agricultural Materials: Basics and Heat and Mass Transfer Modeling. *Food Engineering Reviews*, 4(2): 89-106.
- Fitzgerald, M., Heinrich, M., & Booker, A. (2020). Medicinal Plant Analysis: A Historical and Regional Discussion of Emergent Complex Techniques. *Frontiers in Pharmacology*, 10: 1480.
- Fraisse, D., Degerine-Roussel, A., Bred, A., Ndoye, S. F., Vivier, M., Felgines, C., & Senejoux, F. (2018). A Novel HPLC Method for Direct Detection of Nitric Oxide Scavengers from Complex Plant Matrices and Its Application to *Aloysia triphylla* Leaves. *Molecules*, 23(7): 1574.
- Gallo, M., Ferracane, R., Graziani, G., Ritieni, A., & Fogliano, V. (2010). Microwave Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Four Different Spices. *Molecules*, 15(9): 6365-6374.
- Ghédira, K., & Goetz, P. (2017). Verveine odorante *Aloysia citriodora* Paláu (*Lippia citriodora*). *Phytothérapie*, 15(1): 33-37.
- Ghosh, S., Chatterjee, J. K., Chalkroborty, B., & Hazra, A. K. (2019). Comparison of different aqueous extraction methods for optimum extraction of polyphenols and in-vitro anti-oxidant activity from pomegranate peel. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(3): 342-347
- Giannenas, I., Sidiropoulou, E., Bonos, E., Christaki, E., & Florou-Paneri, P. (2020). Chapter 1— The history of herbs, medicinal and aromatic plants, and their extracts: Past, current situation and future perspectives. In P. Florou-Paneri, E. Christaki, & I. Giannenas (Éds.), *Feed Additives* (p. 1-18). Academic Press.
- Girish, Y., Sharathkumar, K., Prashantha, K., Rangappa, S., & Sudhanva, M. (2023). Significance of Antioxidants and Methods to Evaluate their Potency. *Materials Chemistry Horizons, Online First*. 2(2): 93-112.

## *Références bibliographiques*

---

- Gunia-Krzyżak, A., Słoczyńska, K., Popiół, J., Koczurkiewicz, P., Marona, H., & Pękala, E. (2018). Cinnamic acid derivatives in cosmetics: Current use and future prospects. *International Journal of Cosmetic Science*, 40(4): 356-366.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Charlier, C., & Chapelle, J. P. (2007). [Oxidative stress]. *Revue Medicale De Liege*, 62(10): 628-638.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (Fifth edition). Oxford University Press.
- Halpani, C. G., & Mishra, S. (2024). Design, synthesis, characterization of ferulic acid and p-coumaric acid amide derivatives as an antibacterial/antioxidant agent. *Pharmaceutical Science Advances*, 2: 100023.
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food Chemistry*, 173: 501-513.
- Hennebelle, T., Sahpaz, S., Gressier, B., Joseph, H., & Bailleul, F. (2008). Antioxidant and neurosedative properties of polyphenols and iridoids from *Lippia alba*. *Phytotherapy Research*, 22(2): 256-258.
- Hosseini, N., Kouros-Arabi, M., Nadjafi, S., & Ashtari, B. (2022). Structure, Distribution, Regulation, and Function of Splice Variant Isoforms of Nitric Oxide Synthase Family in the Nervous System. *Current Protein & Peptide Science*, 23(8): 510-534.
- Hotamisligil, G. S. (2010). Endoplasmic Reticulum Stress and the Inflammatory Basis of Metabolic Disease. *Cell*, 140(6): 900-917.
- Hudaib, M., Tawaha, K., & Bustanji, Y. (2013). Chemical Profile of the Volatile Oil of Lemon verbena (*Aloysia citriodora* Paláu) Growing in Jordan. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(5) : 568-574.
- Hurrell, J. A. (2011). Plantas de herboristería: Plantas medicinales que se comercializan en herboristerías de la ciudad de Buenos Aires. Editorial LOLA, Literature of Latin America.

## *Références bibliographiques*

---

- Hurrell, J. A. (2018). *Aloysia citriodora* Palau. In U. P. Albuquerque, U. Patil, & Á. Máthé (Éds.), *Medicinal and Aromatic Plants of South America* (Vol. 5, p. 97-108). Springer Netherlands.
- Ismaili, A., Sohrabi, S. M., Azadpour, M., Heydari, R., & Rashidipour, M. (2017). Evaluation of the Antimicrobial Activity of Alkaloid Extracts of Four *Papaver* Species. *Herbal Medicines Journal*, 2(4): 146-152
- Ito, F., Sono, Y., & Ito, T. (2019). Measurement and Clinical Significance of *Lipid Peroxidation* as a Biomarker of Oxidative Stress: Oxidative Stress in Diabetes, Atherosclerosis, and Chronic Inflammation. *Antioxidants*, 8(3): 72.
- Jakubczyk, K., Druźga, A., Katarzyna, J., & Skonieczna-Żydecka, K. (2020). Antioxidant Potential of Curcumin—A Meta-Analysis of Randomized Clinical Trials. *Antioxidants*, 9(11): 1092.
- Jalal, Z. (2019). Phytochemical Screening and Antioxidant Activities No-volatile Extracts from *Lemon Balm* and *Alyosia Citriodora* from the Sefrou region. *RHAZES: Green and Applied Chemistry*, 7: 26-44.
- Jomova, K., Raptova, R., Alomar, S. Y., Alwasel, S. H., Nepovimova, E., Kuca, K., & Valko, M. (2023). Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: Chronic diseases and aging. *Archives of Toxicology*, 97(10): 2499-2574.
- Jovanović, A. A., Vajić, U.-J. V., Mijin, D. Z., Zdunić, G. M., Šavikin, K. P., Branković, S., Kitić, D., & Bugarski, B. M. (2022). Polyphenol extraction in microwave reactor using by-product of *Thymus serpyllum L.* and biological potential of the extract. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 31: 100417.
- Jovanović, A., Mosurović, M., Bugarski, B., Batinić, P., Čutović, N., Gordanić, S., & Marković, T. (2022). *Melissa officinalis* extracts obtained using maceration, ultrasound and microwave-assisted extractions: Chemical composition, antioxidant capacity, and physical characteristics. *Lekovite Sirovine*, 42: 51-59.

## Références bibliographiques

---

- Kamsu, G. T., Simo Tagne, R., P. C. Fodouop, S., Ndel Famen, L.-C., Kodjio, N., Endeguele Ekom, S., & Gatsing, D. (2019). In vitro Antisalmonellal and Antioxidant Activities of Leaves Extracts of *Tectona grandis* L. F. (Verbenaceae). *European Journal of Medicinal Plants*, 1-13.
- Kavitha, R., Chitrarasu, V., Sabaridas, M., & Pavithra, M. (2022). Phytochemical Composition and In vitro Antioxidant Activity of Aerial Part of Aqueous Extract of *Stachytarpheta jamaicensis* (Verbenaceae). *Indian Journal of Natural Sciences*, 13(73): 46377-46386.
- Kıran, T. R., Otlı, O., & Karabulut, A. B. (2023). Oxidative stress and antioxidants in health and disease. *Journal of Laboratory Medicine*, 47(1): 1-11.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R., & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food and Bioproducts Processing*, 89(3): 217-233.
- Lenoir, L., Joubert-Zakeyh, J., Texier, O., Lamaison, J.-L., Vasson, M.-P., & Felgines, C. (2012). *Aloysia triphylla* infusion protects rats against dextran sulfate sodium-induced colonic damage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(7): 1570-1572.
- Li, J., Zu, Y.-G., Fu, Y.-J., Yang, Y.-C., Li, S.-M., Li, Z.-N., & Wink, M. (2010). Optimization of microwave-assisted extraction of triterpene saponins from defatted residue of yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) kernel and evaluation of its antioxidant activity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(4): 637-643.
- Macoy, D. M., Kim, W.-Y., Lee, S. Y., & Kim, M. G. (2015). Biosynthesis, physiology, and functions of hydroxycinnamic acid amides in plants. *Plant Biotechnology Reports*, 9(5): 269-278.
- Maliki, I., Almehdi, A. M., Moussaoui, A. E., Abdel-Rahman, I., & Ouahbi, A. (2020). Phytochemical screening and the antioxidant, antibacterial and antifungal activities of aqueous extracts from the leaves of *Lippia triphylla* planted in Morocco. *Maroccan Journal of Chemistry*, 8(4): 943-956.

## Références bibliographiques

---

- Manzoor, M. F., Ahmad, N., Ahmed, Z., Siddique, R., Zeng, X., Rahaman, A., Muhammad Aadil, R., & Wahab, A. (2019). Novel extraction techniques and pharmaceutical activities of luteolin and its derivatives. *Journal of Food Biochemistry*, 43(9).
- Marcocci, L., Maguire, J. J., Droylefaix, M. T., & Packer, L. (1994). The Nitric Oxide-Scavenging Properties of *Ginkgo Biloba* Extract EGb 761. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 201(2): 748-755.
- Martino, N. A., Ariu, F., Bebbere, D., Uranio, M. F., Chirico, A., Marzano, G., Sardanelli, A. M., Cardinali, A., Minervini, F., Bogliolo, L., & Dell'Aquila, M. E. (2016). Supplementation with nanomolar concentrations of verbascoside during in vitro maturation improves embryo development by protecting the oocyte against oxidative stress: A large animal model study. *Reproductive Toxicology*, 65: 204-211.
- Masengo, C. A., Ngbolua, K. N., Omeonga, S. L., Nzuzi, N. P., Ilumbe, G. B., & Mpiana, P. T. (2023). Étude phytochimique et évaluation de l'activité anti-radicalaire, anti-inflammatoire, anti-drépanocytaire et cytotoxique des feuilles de *Lippia multiflora Moldenke* (Verbenaceae). *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*. 11(3): 303-312.
- Meshkatsadat, M. H., Papzan, A. H., & Abdollahi, A. (2011). Determination of bioactive volatile organic components of *Lippia citriodora* using Ultrasonic assisted with headspace solid phase microextraction coupled with GC-MS. *Digest Journal of Nonmaterials and Biostructures*, 6(1): 319.
- Mehrparvar, M., Mazhari, M., Esmailipour, O., & Sami, M. (2016). Effect of *Lippia citriodora* leaves powder on growth performance, carcass traits, blood metabolites and meat quality of broilers. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*. 10(4): 307-317.
- Mirzaie, A., Sadat Shandiz, S. A., Noorbazargan, H., & Ali Asgary, E. (2016). Evaluation of chemical composition, antioxidant, antibacterial, cytotoxic and apoptotic effects of *Aloysia citrodora* extract on colon cancer cell line. *Tehran-Univ-Med-J*, 74(3): 168-176.

## *Références bibliographiques*

---

- Mishra, B., Priyadarsini, K. I., Kumar, M. S., Unnikrishnan, M. K., & Mohan, H. (2003). Effect of O-glycosilation on the antioxidant activity and free radical reactions of a plant flavonoid, chrysoeriol. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *11*(13): 2677-2685.
- Mishra, K., Ojha, H., & Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*, *130*(4): 1036-1043.
- Mitra, A. K. (2020). Antioxidants: A Masterpiece of Mother Nature to Prevent Illness. *Journal of Chemical Reviews*, *2*(4): 243-256.
- Mukhopadhyay, D., Dasgupta, P., Sinha Roy, D., Palchoudhuri, S., Chatterjee, I., Ali, S., & Ghosh Dastidar, S. (2016). A Sensitive In vitro Spectrophotometric Hydrogen Peroxide Scavenging Assay using 1,10-Phenanthroline. *Free Radicals and Antioxidants*, *6*(1): 124-132.
- Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(7): 3380.
- Namdeo, A. G. (2018). Chapter 20—Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants. In S. C. Mandal, V. Mandal, & T. Konishi (Éds.), *Natural Products and Drug Discovery* (p. 525-553). Elsevier.
- Narbona, E., Del Valle, J. C., Arista, M., Buide, M. L., & Ortiz, P. L. (2021). Major Flower Pigments Originate Different Colour Signals to Pollinators. *Frontiers in Ecology and Evolution*, *9*: 743850.
- Nayak, B., Dahmoune, F., Moussi, K., Remini, H., Dairi, S., Aoun, O., & Khodir, M. (2015). Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from *Citrus sinensis* peels. *Food Chemistry*, *187*: 507-516.
- Ngoupayo, J., DaleuTcheuffa, M., NtsamaEssomba, C., Kasali, F. M., & Ndelo, J. (2016). Phytochemical screening and antibacterial activity of hydroalcoholic extracts from cloves of *Cola nitida* Schott & Endl. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry*, *5*(3), 314-321.

## *Références bibliographiques*

---

- Nkhili, E., Tomao, V., El Hajji, H., El Boustani, E., Chemat, F., & Dangles, O. (2009). Microwave-assisted water extraction of green tea polyphenols. *Phytochemical Analysis*, *20*(5): 408-415.
- O'Leary, N., Lu-Irving, P., Moroni, P., & Siedo, S. (2016). Taxonomic Revision of *Aloysia* (Verbenaceae, Lantaneae) In South America <sup>1</sup>. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, *101*(3): 568-609.
- Olivares-Vicente, M., Sánchez-Marzo, N., Encinar, J. A., Cádiz-Gurrea, M. D. L. L., Lozano-Sánchez, J., Segura-Carretero, A., Arraez-Roman, D., Riva, C., Barrajon-Catalán, E., Herranz-López, M., & Micol, V. (2019). The Potential Synergistic Modulation of AMPK by *Lippia citriodora* Compounds as a Target in Metabolic Disorders. *Nutrients*, *11*(12): 2961.
- Onofrejevová, L., Vašíčková, J., Klejdus, B., Stratil, P., Mišurcová, L., Kráčmar, S., Kopecký, J., & Vacek, J. (2010). Bioactive phenols in algae: The application of pressurized-liquid and solid-phase extraction techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *51*(2): 464-470.
- Özyürek, M., Bener, M., Güçlü, K., & Apak, R. (2014). Antioxidant/antiradical properties of microwave-assisted extracts of three wild edible mushrooms. *Food Chemistry*, *157*: 323-331.
- Pan, Y., He, C., Wang, H., Ji, X., Wang, K., & Liu, P. (2010). Antioxidant activity of microwave-assisted extract of *Buddleia officinalis* and its major active component. *Food Chemistry*, *121*(2): 497-502.
- Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J., & Huang, F. (2008). Antioxidant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel. *Food Chemistry*, *106*(3): 1264-1270.
- Peixoto, J. A. B., Álvarez-Rivera, G., Costa, A. S. G., Machado, S., Cifuentes, A., Ibáñez, E., Oliveira, M. B. P. P., & Alves, R. C. (2023). Contribution of Phenolics and Free Amino Acids on the Antioxidant Profile of Commercial Lemon Verbena Infusions. *Antioxidants*, *12*(2): 251.

## *Références bibliographiques*

---

- Peng, K., Lv, X., Zhao, H., Chen, B., Chen, X., & Huang, W. (2022). Antioxidant and intestinal recovery function of condensed tannins in *Lateolabrax maculatus* responded to in vivo and in vitro oxidative stress. *Aquaculture*, 547: 737399.
- Perez-Araluce, M., Jüngst, T., Sanmartin, C., Prosper, F., Plano, D., & Mazo, M. M. (2024). Biomaterials-Based Antioxidant Strategies for the Treatment of Oxidative Stress Diseases. *Biomimetics*, 9(1): 23.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1): 11-26.
- Pinto, D., Silva, A. M., Freitas, V., Vallverdú-Queralt, A., Delerue-Matos, C., & Rodrigues, F. (2021). Microwave-Assisted Extraction as a Green Technology Approach to Recover Polyphenols from *Castanea sativa* shells. *ACS Food Science & Technology*, 1: 229- 241
- Pisoschi, A. M., Pop, A., Iordache, F., Stanca, L., Predoi, G., & Serban, A. I. (2021). Oxidative stress mitigation by antioxidants—An overview on their chemistry and influences on health status. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 209: 112891.
- Polumackanycz, M., Petropoulos, S. A., Añibarro-Ortega, M., Pinela, J., Barros, L., Plenis, A., & Viapiana, A. (2022). Chemical Composition and Antioxidant Properties of Common and Lemon Verbena. *Antioxidants*, 11(11): 2247.
- Quirantes Piné, R., Arráez Román, D., Segura Carretero, A., & Fernández Gutiérrez, A. (2010). Characterization of phenolic and other polar compounds in a lemon verbena extract by capillary electrophoresis electrospray ionization-mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 33(17-18): 2818-2827.
- Quirantes-Piné, R., Funes, L., Micol, V., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2009). High-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray

## *Références bibliographiques*

---

- 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.
- Raja, P., Rahim, A., Qureshi, A., & Awang, K. (2014). Green synthesis of silver nanoparticles using tannins. *Materials Science-Poland*, 32(3): 408-413.
- Rajamanikandan, S., Sindhu, T., Durgapriya, D., Sophia, D., Ragavendran, P., & Gopalakrishnan, V. K. (2012). Protective effect of *Mollugo nudicaulis* Lam. On acute liver injury induced by perchloroethylene in experimental rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5(11): 862-867.
- Rao, M., & Savithramma, N. (2012). Quantitative analysis of some secondary metabolites of *Svensonia hyderabadensis* (Walp.) mould: A rare medicinal plant. *International Journal of Green Pharmacy*, 6(2): 130.
- Rashid, H. M., Mahmood, A. I., Afifi, F. U., & Talib, W. H. (2022). Antioxidant and Antiproliferation Activities of Lemon Verbena (*Aloysia citrodora*): An In Vitro and In Vivo Study. *Plants*, 11(6): 785.
- Razavi, S. M., Zahri, S., Zarrini, G., Nazemiyeh, H., & Mohammadi, S. (2009). Biological activity of quercetin-3-O-glucoside, a known plant flavonoid. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 35(3): 376-378.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10): 1231-1237.
- Rhazi, N., Hannache, H., Oumam, M., Sesbou, A., Charrier, B., Pizzi, A., & Charrier-El Bouhtoury, F. (2019). Green extraction process of tannins obtained from Moroccan *Acacia mollissima* barks by microwave: Modeling and optimization of the process using the response surface methodology RSM. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(8): 2668-2684.

## *Références bibliographiques*

---

- Riaz, A., Rasul, A., Hussain, G., Zahoor, M. K., Jabeen, F., Subhani, Z., Younis, T., Ali, M., Sarfraz, I., & Selamoglu, Z. (2018). Astragalin: A Bioactive Phytochemical with Potential Therapeutic Activities. *Advances in Pharmacological Sciences*, 2018: 1-15.
- Saeed, N., Khan, M. R., & Shabbir, M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1): 221.
- Saklani, S., Mishra, A., Chandra, H., Atanassova, M., Stankovic, M., Sati, B., Shariati, M., Nigam, M., Khan, M., Plygun, S., Elmsellem, H., & Suleria, H. (2017). Comparative Evaluation of Polyphenol Contents and Antioxidant Activities between Ethanol Extracts of *Vitex negundo* and *Vitex trifolia* L. Leaves by Different Methods. *Plants*, 6(4): 45.
- Salazar-González, C., San Martín-González, M. F., López-Malo, A., & Sosa-Morales, M. E. (2012). Recent Studies Related to Microwave Processing of Fluid Foods. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1): 31-46.
- Salmerón-Manzano, E., Garrido-Cardenas, J. A., & Manzano-Agugliaro, F. (2020). Worldwide Research Trends on Medicinal Plants. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(10): 3376.
- Sánchez-Marzo, N., Lozano-Sánchez, J., Cádiz-Gurrea, M. D. L. L., Herranz-López, M., Micol, V., & Segura-Carretero, A. (2019). Relationships Between Chemical Structure and Antioxidant Activity of Isolated Phytocompounds from Lemon Verbena. *Antioxidants*, 8(8): 324.
- Sarrazin, S. L. F., Da Silva, L. A., Oliveira, R. B., Raposo, J. D. A., Da Silva, J. K. R., Salimena, F. R. G., Maia, J. G. S., & Mourão, R. H. V. (2015). Antibacterial action against food-borne microorganisms and antioxidant activity of carvacrol-rich oil from *Lippia origanoides* Kunth. *Lipids in Health and Disease*, 14(1): 145.

## *Références bibliographiques*

---

- Semwal, R. B., Semwal, D. K., Combrinck, S., Trill, J., Gibbons, S., & Viljoen, A. (2019). Acacetin—A simple flavone exhibiting diverse pharmacological activities. *Phytochemistry Letters*, 32: 56-65.
- Shams, K. A., Abdel-Azim, N. S., Saleh, I. A., Hegazy, M.-E. F., El-Missiry, M. M., & Hammouda, F. M. (2015). *Green technology*: Economically and environmentally innovative methods for extraction of medicinal & aromatic plants (MAP) in Egypt. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(5): 1050-1074.
- Shirzad, H., Alirezalu, A., Alirezalu, K., Yaghoubi, M., Ghorbani, B., Pateiro, M., & Lorenzo, J. M. (2021). Effect of *Aloysia citrodora* Essential Oil on Biochemicals, Antioxidant Characteristics, and Shelf Life of Strawberry Fruit during Storage. *Metabolites*, 11(5): 256.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in Enzymology* (Vol. 299, p. 152-178). Elsevier.
- Sova, M., & Saso, L. (2020). Natural Sources, Pharmacokinetics, Biological Activities and Health Benefits of Hydroxycinnamic Acids and Their Metabolites. *Nutrients*, 12(8): 2190.
- Sun, B., Ricardo-da-Silva, J. M., & Spranger, I. (1998). Critical Factors of Vanillin Assay for Catechins and Proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10): 4267-4274.
- Tammar, S., Salem, N., Aidi Wannas, W., Limam, H., Bourgou, S., Fares, N., Dakhlaoui, S., Hammami, M., Khammassi, S., Re, G. D., Hessini, K., & Msaada, K. (2021). Chemometric Profiling and Bioactivity of Verbena (*Aloysia citrodora*) Methanolic Extract from Four Localities in Tunisia. *Foods*, 10(12): 2912.
- Tang, J. (2015). Unlocking Potentials of Microwaves for Food Safety and Quality. *Journal of Food Science*, 80(8): 1776-1793.

## *Références bibliographiques*

---

- Taofiq, O., González-Paramás, A., Barreiro, M., & Ferreira, I. (2017). Hydroxycinnamic Acids and Their Derivatives: Cosmeceutical Significance, Challenges and Future Perspectives, a Review. *Molecules*, 22(2): 281.
- Terblanché, F. C., & Kornelius, G. (1996). Essential Oil Constituents of the Genus *Lippia* (Verbenaceae)—A Literature Review. *Journal of Essential Oil Research*, 8(5): 471-485.
- Tiwari, O. P., & Tripathi, Y. B. (2007). Antioxidant properties of different fractions of *Vitex negundo* Linn. *Food Chemistry*, 100(3): 1170-1176.
- Touati, Z. (2023). Exploitation des feuilles d'*Aloysia triphylla* en vue d'une application alimentaire et pharmacologique. [Thèse de doctorat, *Université de A-Mira Bejaia*].
- Touati, Z., Guemghar, M., Bedjaoui, K., Djerrada, N. E., Djaoud, K., Adjeroud, N., Madani, K., & Boulekbache-Makhlouf, L. E. (2021). Optimization of the microwave assisted extraction and biological activities of polyphenols from lemon verbena leaves. *The Annals of the University Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI - Food Technology*, 45(1): 157-177.
- Uribe, E., Marín, D., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., & Rodríguez, A. (2016). Assessment of vacuum-dried peppermint (*Mentha piperita* L.) as a source of natural antioxidants. *Food Chemistry*, 190: 559-565.
- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). Biosynthesis of Phenolic Compounds. *Phenolic Compound Biochemistry*, 63-149
- Vitar, R. M. L., Reides, C. G., Ferreira, S. M., & Llesuy, S. F. (2014). The protective effect of *Aloysia triphylla* aqueous extracts against brain lipid-peroxidation. *Food & Function*, 5(3): 557.
- Yan, F., Dou, X., Zhu, G., Xia, M., Liu, Y., Liu, X., Wu, G., Wang, H., Zhang, B., Shao, Q., & Wang, Y. (2021). Cistanoside of Cistanche Herba ameliorates hypoxia-induced male reproductive damage via suppression of oxidative stress. *American Journal of Translational Research*, 13(5): 4342-4359.

## *Références bibliographiques*

---

- Yapo-Kicho, D., Lagant, P., & Vergoten, G. (2007). The SPASIBA Force Field for Studying Iron-Tannins Interactions: Application to Fe<sup>3+</sup> /Fe<sup>2+</sup> Catechol Complexes. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(3): 259-272.
- Zhang, H., Yang, Y., & Zhou, Z. (2018). Phenolic and flavonoid contents of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit tissues and their antioxidant capacity as evaluated by DPPH and ABTS methods. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(1): 256-263.
- Zhang, Y., Chen, Y., Wang, S., Dong, Y., Wang, T., Qu, L., Li, N., & Wang, T. (2015a). Bioactive constituents from the aerial parts of *Lippia triphylla*. *Molecules*, 20(12): 21946-21959.
- Zhang, Y.-J., Gan, R.-Y., Li, S., Zhou, Y., Li, A.-N., Xu, D.-P., & Li, H.-B. (2015b). Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and Treatment of Chronic Diseases. *Molecules*, 20(12): 21138-21156.
- Zhou, X., Wang, F., Zhou, R., Song, X., & Xie, M. (2017). Apigenin: A current review on its beneficial biological activities: Zhou et al. *Journal of Food Biochemistry*, 41(4): e12376.

---

# *Annexes*

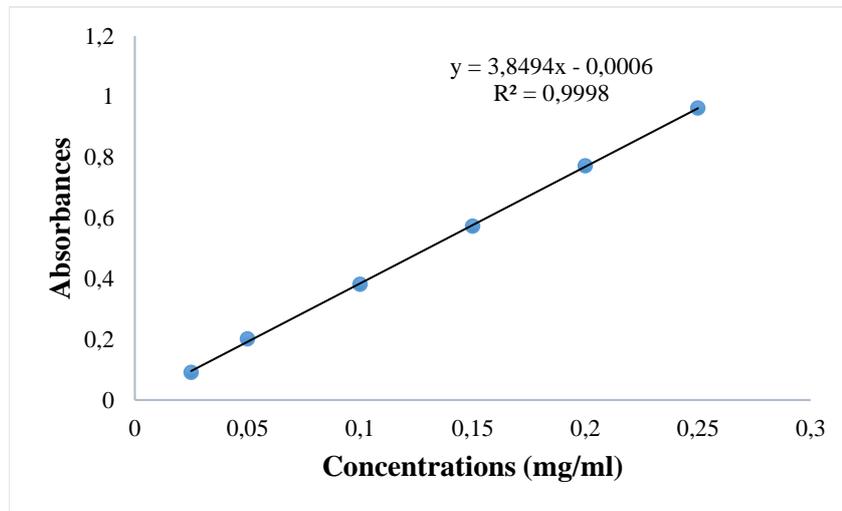
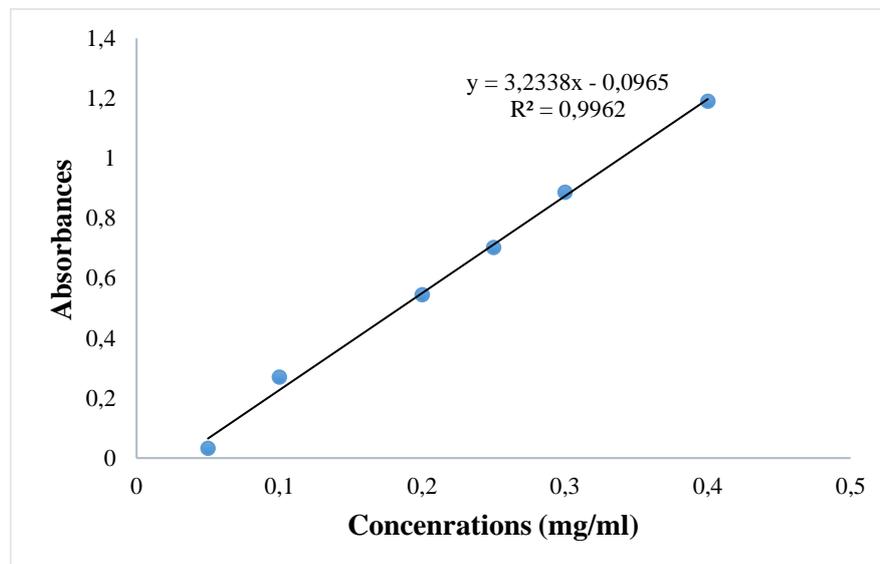
---

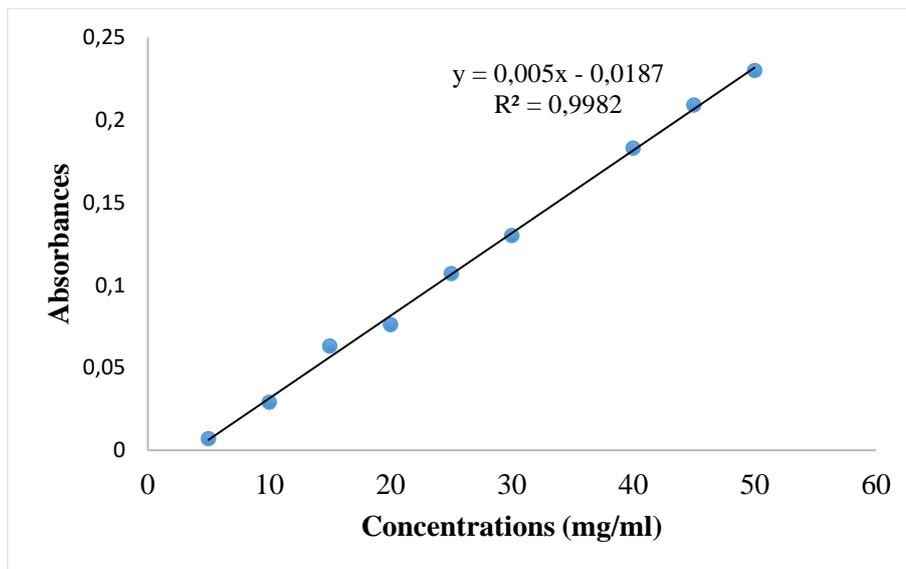
**Annexe 1****Tableau I:** Avantages et inconvénients des différentes méthodes d'extraction

Méthode d'extraction	Temps d'extraction	Taille d'échantillon	Solvant	Investissement	Avantages	Inconvénients	Références
<b>Soxhlet</b>	3-48 h	1-30 g	150-500 ml	Élevé	Capacité élevée, Pas d'étape de filtration, Facile à manipuler	Volume important de solvants, extraction lente, variabilité des résultats selon la température	<b>Chemat et al., 2008 ; Calderón-Oliver et al 2021</b>
<b>Macération</b>	De quelques heures à quelques jours	Quantité importante	Volume important		Méthode simple, récupération des substances avec solubilité faible	Extraction lente, pas de sélectivité, volume important de solvants	<b>Rasul, 2018</b>
<b>Ultrasons</b>	10-60 min	1-30 g	50-200 ml	Faible	Manipulation facile	Nécessité d'une étape de filtration, volume important de solvants,	<b>Chemat et al., 2008</b>
<b>Fluide supercritique</b>	10-60 min	1-5 g	2-5 ml	Élevé	Rapide, simple à réaliser, faible consommation de solvants, sélectivité élevée	Plusieurs paramètres à optimiser	<b>Chemat et al., 2008</b>
<b>Microonde</b>	3-30 min	1-10 g	10-40 ml	Modéré	Manipulation facile, consommation en solvants modéré, extraction rapide, extraction plus sélective	Absorption nécessaire d'énergie microonde par le solvant, nécessité d'une étape de filtration	<b>Chemat et al., 2008 ; Azmir et al., 2013 ; Ekezie et al., 2017</b>

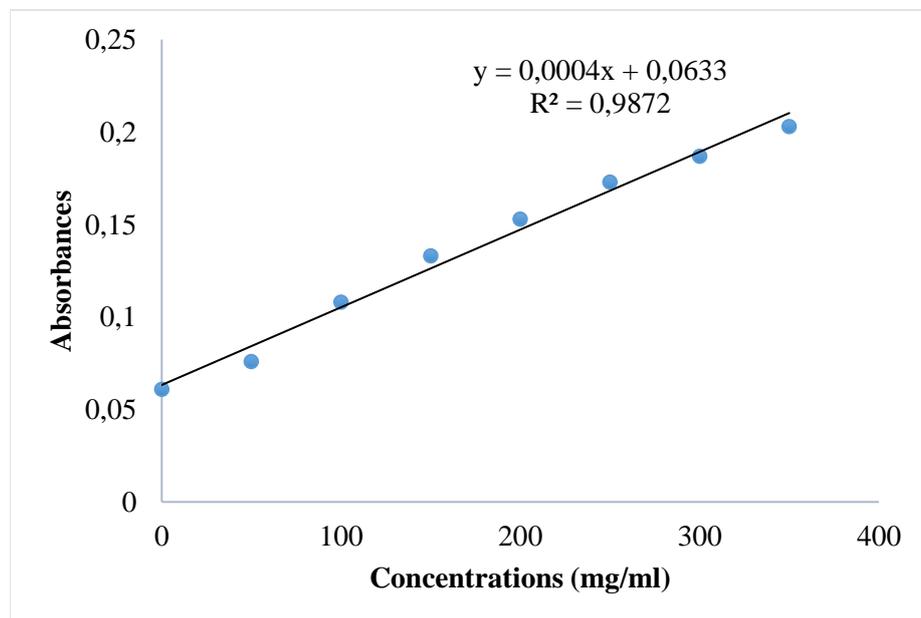
**Annexe 2****Tableau I** : Matériel et réactifs utilisés

<b>Produits</b>	<b>Appareils</b>
<p>Chlorure d'hydrogène (HCl), éthanol, méthanol, acide gallique, acide ascorbique, quercétine, catéchine, vanilline, l'acide tannique.</p> <p>Folin-Ciocalteu, DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle), ABTS (acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), FeSO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, Salicylate de Na, carbonate de Na, AlCl<sub>3</sub>, nitroprussiate de sodium (Na<sub>2</sub>[Fe(CN)<sub>5</sub>NO]), Sulfanilamide, NEDD, eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), eau distillée, phénanthroline, iodate de potassium (KIO<sub>3</sub>),</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bain marie (MEMMERT)</li> <li>-Broyeur électrique (Modèle A11Basic d'IKA, Allemagne)</li> <li>-Micro-onde (2450 MHz, Maxipower Model MAXMO23S, China)</li> <li>- Etuve ventilée (BINDER, MEMMERT, BD53)</li> <li>-Spectrophotomètre (SHIMADZU UV-VIS SPECTROPHOTOMETER).</li> <li>-Tamis automatique (RETSH AS 200 central).</li> <li>- Vortex (VELP Scientifica).</li> <li>-Balance de précision (BP 310 P)</li> <li>- Réfrigérateur (ENIEM)</li> </ul>

**Annexe 3 : Courbes d'étalonnages****Figure 1 : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux (TPC)****Figure 2 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes**



**Figure 3 :** Courbe d'étalonnage des tanins condensés



**Figure 4 :** Courbe d'étalonnage des tanins Hydrolysés

## Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence de deux méthodes d'extractions, l'extraction assistée par microondes (EAM) et l'extraction par macération (EM) sur le rendement d'extraction, la teneur en composés phénoliques totaux (TPC), en flavonoïdes et en tannins à partir des fleurs d'*Aloysia triphylla*, suivi par l'étude et la comparaison des activités antioxydantes des extraits obtenus avec ces deux méthodes. L'EAM a permis d'obtenir un rendement d'extraction ( $27,80 \pm 0,83\%$ ) significativement plus important ( $p < 0,001$ ) que l'EM ( $22,60 \pm 0,89\%$ ). Les teneurs en TPC et en flavonoïdes des extraits obtenus par EAM et par EM ont montré des résultats hautement ( $p < 0,05$ ) et très hautement importants ( $P < 0,001$ ) respectivement. Elles sont de  $455,40 \pm 26,90 \mu\text{g EAG/g ES}$  et  $402,06 \pm 12,18 \mu\text{g EAG/g ES}$ , pour les TPC et de  $447,19 \pm 21,39 \text{ mg EQ/g ES}$  et  $370,51 \pm 13,62 \text{ mg EQ/g ES}$  pour les flavonoïdes concernant les extraits obtenus par EAM et par EM respectivement. Pour les tannins condensés, les résultats n'ont pas montré une différence significative ( $P > 0,05$ ), ils sont de  $11,04 \pm 0,14 \text{ mg ECat/g ES}$  et  $10,53 \pm 0,19 \text{ mg ECat/g ES}$  pour les extraits obtenus par EAM et par EM respectivement. Pareil pour les tannins hydrolysables, les résultats n'ont pas montré une différence significative ( $P > 0,05$ ), ils sont de  $32,67 \pm 2,50 \text{ mg EAT/g ES}$  et  $26,00 \pm 2,36 \text{ mg EAT/g ES}$  pour les extraits obtenus par EAM et par EM respectivement. Les activités antioxydantes des extraits obtenus par EAM sont significativement meilleures que celles des extraits macérés. Elles sont pour l'extrait obtenu par EAM de  $271,18 \pm 17,50 \mu\text{g/ml}$ ,  $216,21 \pm 18,08 \mu\text{g/ml}$ ,  $77,95 \pm 1,88\%$ ,  $63,20 \pm 1,43\%$ ,  $46,53 \pm 0,57\%$  et pour l'extrait macéré de  $362,08 \pm 34,74 \mu\text{g/ml}$ ,  $284,87 \pm 6,89 \mu\text{g/ml}$ ,  $70,83 \pm 1,34\%$ ,  $43,51 \pm 1,33\%$  et  $34,48 \pm 1,47\%$  pour, DPPH, ABTS, NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et OH respectivement. Ces résultats démontrent que l'EAM est plus efficace pour l'extraction des TPC à partir des fleurs d'*Aloysia triphylla*, comparé à l'EM.

**Mots clés :** Fleurs d'*Aloysia triphylla*, Composés phénoliques, Extraction assistée par microondes, Extraction par macération, Activités antioxydantes.

## Abstract

The aim of this study was to evaluate the influence of two extraction methods, microwave-assisted extraction (MAE) and maceration extraction (ME), on the extraction yield, total phenolic compound (TPC), flavonoid and tannin content of *Aloysia triphylla* flowers, followed by a study and comparison of the antioxidant activities of the extracts obtained with these two methods. MAE resulted in a significantly higher extraction yield ( $27.80 \pm 0.83\%$ ) ( $P < 0.001$ ) than ME ( $22.60 \pm 0.89\%$ ). The TPC and flavonoid contents of extracts obtained by MAE and ME showed a highly ( $P < 0.05$ ) and very highly significant ( $P < 0.001$ ) difference respectively. They are  $455.40 \pm 26.90 \text{ mg GAE/g DW}$  and  $402.06 \pm 12.18 \text{ mg GAE/g DW}$ , for TPC and  $447.19 \pm 21.39 \text{ mg QE/g DW}$  and  $370.51 \pm 13.62 \text{ mg QE/g DW}$  for flavonoids, concerning extracts obtained by MAE and ME respectively. For condensed tannins, the results showed no significant difference ( $P > 0.05$ ), at  $11.04 \pm 0.14 \text{ mg CatE/g DW}$  and  $10.53 \pm 0.19 \text{ mg CatE/g ES}$  for extracts obtained by MAE and ME respectively. Similarly for hydrolysable tannins, the results showed no significant difference ( $P > 0.05$ ), at  $32.67 \pm 2.50 \text{ mg TAE/g DW}$  and  $26.00 \pm 2.36 \text{ mg TAE/g DW}$  for extracts obtained by EAM and EM respectively. The antioxidant activities of extracts obtained by MAE are significantly better than those of macerated extracts. They are for the extract obtained by MAE  $271.18 \pm 17.50 \mu\text{g/ml}$ ,  $216.21 \pm 18.08 \mu\text{g/ml}$ ,  $77.95 \pm 1.88\%$ ,  $63.20 \pm 1.43\%$ ,  $46.53 \pm 0.57\%$  and for the macerated extract  $362,08 \pm 34,74 \mu\text{g/ml}$ ,  $284,87 \pm 6,89 \mu\text{g/ml}$ ,  $70,83 \pm 1,34\%$ ,  $43,51 \pm 1,33\%$  and  $34,48 \pm 1,47\%$  concerning DPPH, ABTS, NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and OH respectively. These results demonstrate that MAE is more efficient for the extraction of TPC from *Aloysia triphylla* flowers, compared with ME.

**Keywords:** *Aloysia triphylla* flowers, Phenolic compounds, Microwave-assisted extraction, Maceration extraction, Antioxidant activities.