



N° d'ordre :.....FS/UMBB/2020

**République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure
et de la Recherche Scientifique**

Université M'hamed Bougara Boumerdès

Faculté des Sciences - Département de Chimie

Spécialité : Chimie Organique

**Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de
Master Présenté et Soutenu par**

BELAID Bouthaina.

Et

DJOUABI Wissam.

Thème :

**Étude des huiles essentielles de deux espèces de menthes
(Poivrée – Arvensis)**

Devant le jury :

M^{me} GUE MMOUR Hind

Maitre de conférences à l'UMBB

Présidente

M^{me} KHIER Nawal

Maitre de conférences à l'UMBB

Promotrice

M^{me} BOUDIEB Naima

Maitre de conférences à l'UMBB

Examinatrice

Dédicaces

Je dédie ce travail accompagné d'un profond amour :

À ma mère,

À mon père Allah yrahmo,

À mon frère et à mes sœurs et à mes nièces,

À ma famille,

À ma chère binôme pour sa entente et sa sympathie

À mes amies,

Toutes personnes qui occupent une place dans mon cœur.

Bouthaina

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes parents qu'ils m'ont toujours soutenu.

A ceux que j'aime beaucoup et qui m'ont soutenu tout le long de mon travail : mon mari et bien sûr mon frère et mes sœurs.

A toute la famille DJOUABI et LABADI.

A mon binôme Bouthaina et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet soit possible. Je vous dis merci.

wissam

Remerciements

Nous remercions ALLAH le tout puissant qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude, et la force d'accomplir ce modeste travail.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de madame **KHIER Nawal**, Maitre de conférences à l'université M'HAMED BOUGARA. Nous la remercions pour la qualité de son encadrement, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant toute la période du travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury :

M^{me} GUEMMOUR Hind, Maitre de conférences à l'UMBB, qui a accepté la présidence de ce jury et **M^{me} BOUDIAB Naima**, Maitre de conférences à l'UMBB qui a accepté de siéger à ce jury et examiner notre travail et de l'enrichir par ses propositions.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux et celles qui ont contribué à finaliser ce modeste travail de près ou de loin.

Résumé

La présente étude a pour but d'étudier deux variétés locales de menthe provenant de la région d'El oued, ainsi de mettre en évidence la distribution des composés phénoliques (polyphénols) dans les différentes espèces (menthe poivrée, menthe arvensis).

Nous avons tout d'abord procédé aux évaluations quantitatives et qualitatives des composés phénoliques extraits des deux variétés de menthe ainsi que les méthodes et les techniques utilisées.

Ensuite on est passé aux antioxydants et leur rôle dans le système de défense afin d'empêcher la formation des radicaux libres et de limiter l'oxydation qui provoque les dommages oxydants dans les cellules.

ملخص :

الغرض من هذه الدراسة هو دراسة نوعين محليين من النعناع من منطقة الوادي، وبالتالي تسليط الضوء على توزيع المركبات الفينولية (البوليفينول) في الأنواع المختلفة النعناع، (البوافري ، ارفونسيس)

لقد أجرينا أولاً التقييمات الكمية والنوعية للمركبات الفينولية المستخرجة من نوعي النعناع وكذلك الأساليب والتقنيات المستخدمة.

ثم انتقلنا إلى مضادات الأكسدة ودورها في نظام الدفاع لمنع تكون الجذور الحرة والحد من الأكسدة التي تسبب الضرر التأكسدي في الخلايا.

Abstract:

The purpose of this study is to study two local varieties of mint from the El Wadi region, thus to highlight the distribution of phenolic compounds (polyphenols) in the different species (peppermint, arvensis mint).

We first carried out quantitative and qualitative evaluations of the phenolic compounds extracted from the two varieties of mint as well as the methods and techniques used.

Then we moved on to antioxidants and their role in the defense system to prevent the formation of free radicals and limit the oxidation that causes oxidative damage in cells.

Liste des figures

Figure I. 1. Aspects morphologique de la menthe poivrée	2
Figure I. 2. Aspect morphologique de la menthe Arvensis.....	4
Figure I. 3. Structure de l'unité isoprénique.....	15
Figure I. 4. Exemple des composants monoterpéniques.....	15
Figure I. 5. Exemple des composants sesquiterpénique.....	16
Figure I. 6. Exemple des composants diterpéniques.	16
Figure I. 7. Exemple des composants triterpéniques.	16
Figure I. 8. Caoutchouc naturel.	17
Figure I. 9. Synthèse des monoterphènes.	18
Figure I. 10. Synthèse des sesquiterpène.	19
Figure II. 11 Structure du glutathion (GSH).....	30
Figure II. 12 Structure de l'acide urique	31
Figure II. 13. Structure de la vitamine E (ou α -tocophérol) (T-OH).....	31
Figure II. 14. Structure da la vitamine C (Asc).	32
Figure II. 15. Structure de quelques flavonoïdes.....	33
Figure II. 16. Structure de dérivés de l'acide p-hydroxy cinnamique.....	34
Figure II. 17. Structure de quelques stilbènes.	35
Figure II. 18. Unités monomère de base pour l'ellagitanins.....	36
Figure II. 19. Structure du BO-653	37
Figure II. 21. Structures d'antioxydants phénoliques de synthèse.	37

Liste des tableaux

Tableau I.1. L'avantage et l'inconvénient selon les méthodes d'extractions..... 14

Tableau II. 2 . Répartition des électrons dans les orbitales liantes (L) et antiliantes (AL) de la molécule d'oxygène, de l'anion superoxyde et du peroxyde..... 27

Liste des symboles

C	Contraction en composés réducteurs en mmol Equivalent Standard /g d'extrait sec
C_1	Concentration de l'échantillon lue.
D	coefficient de diffusion de l'espèce
C_i	Concentration de la solution mère d'extrait.
M	Masse molaire (g/mol).
$A_{\text{contrôle}}$	Absorbance sans antioxydant.
A_{test}	Absorbance avec antioxydant.

Liste des abréviations

HE	Huiles Essentielles
GPP	Géranyl-PyroPhosphate
IPP	Isopentényl-PyroPhosphate.
FPP	Farnésyl-PyroPhosphate
DDMC	B,B-diméthyl allyl pyrophosphate
ROS	Radicaux libres et espèces réactives de l'Oxygène
ERO	Espèce Réactive de l'Oxygène
T.E	α -tocophérol
AFNOR	Association française de Normalisation
SOD	La super oxyde dismutase
GSH	glutathion réduit
LDL	lipoprotéines de faible densité (<i>Low Density Lipoprotein</i>)
FRAP	Ferrie Reducing Antioxidant Power
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

Sommaire

Introduction générale

Chapitre I : Les plantes aromatiques et huiles essentielles

INTRODUCTION GENERALE.....	1
I.1. LES PLANTES AROMATIQUES ET HUILES ESSENTIELLES:.....	2
I.1.1 la menthe poivrée (menthapiperita):.....	2
I. 1.1. 2. Huile essentielle de la menthe poivrée :.....	3
• propriétés et usages médicinaux traditionnels :.....	3
I. 1.2. La menthe Arvensis (Menthaarvensis) :.....	4
I. 1. 2.1. L'huile essentielle de la menthe Arvensis :.....	4
• Composition de l'huile essentielle :.....	5
I. 2. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES :.....	5
I. 2. 1. Définition et rôle écologique :.....	5
I. 2. 2. Caractéristiques économiques :.....	7
I. 2. 3. Caractéristiques traditionnelles :.....	7
I. 2. 4. Activités biologique des huiles essentielles :.....	7
I. 2. 5. Toxicité des huiles essentielles :.....	9
I. 2. 6. Facteurs intervenant dans la qualité des huiles essentielles :.....	9
I.3. PROCEDES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES :.....	10
I. 3. 1. Hydrodistillation :.....	10
I. 3. 2. Entraînement à la vapeur d'eau :.....	11
I.3 .3 . Hydrodiffusion :.....	11
I. 3. 4. Extraction par du CO ₂ supercritique :.....	11
I. 3. 5. Extraction assistée par micro-onde :.....	12
I. 3. 6. L'expression à froid :.....	12
I. 3. 7. L'extraction par solvants volatils :.....	13
I.4. COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES :.....	14
I. 4. 1. Principales structures chimiques :.....	15
I.5.LA SYNTHESE DES SQUELETES TERPENIQUES :.....	17
I. 5. 1. Synthèse de monoterpènes :.....	18
I.5. 2. Synthèse de sesquiterpène :.....	19
I. 5. 3. Les Alcools :.....	19
I. 5. 4. Les Phénols :.....	19
I. 5. 5. Les Phénols méthyl-éthers :.....	19
I. 5. 6. Les Oxydes :.....	20
• les éthers oxydes :.....	20
• les oxydes terpéniques :.....	20

I. 5. 7. Les Aldéhydes :	20
I. 5. 8. Les Esters :	20
I. 5. 9. Les Cétones :	21
I. 5. 10. Les Lactones :	21
I. 5. 11. Les Coumarines :	21
I. 5. 12. Les Composes soufres :	21
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	22

Chapitre II: Modélisation et méthode de Radicaux libres, Antioxydants et les polyphénols

II. 1. RADICAUX LIBRES ET ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE (ROS) :	26
II. 1. 1. Définition :	26
II. 1. 2. Nature de la réactivité des ROS :	26
II. 1. 3. Les principales sources d'espèces réactives de l'oxygène :	27
II. 1. 3. 1. Sources exogènes d'espèces réactives de l'oxygène :	27
II.1.3.2. Source endogènes de ROS	28
II. 2. LES ANTIOXYDANTS :	28
II. 2. 1. Définition :	29
II. 2. 2. Le Stress oxydant :	29
II. 2. 3. Système de défense :	30
II. 2. 3. 1. Les systèmes enzymatiques antioxydants :	30
II. 2. 3. 2. Les antioxydants moléculaires :	30
II. 2. 3. 2. A. Les antioxydants endogènes :	30
▪ Le glutathion :	30
▪ L'acide urique :	31
II. 2. 3. 2. B. Les antioxydants exogènes :	31
▪ La vitamine E (ou α -tocophérol)	31
▪ La vitamine C (ou acide ascorbique)	32
▪ Les antioxydants phénoliques :	32
1. Les antioxydants phénoliques naturels :	32
➤ Les flavonoïdes :	32
➤ Les non-flavonoïdes :	33
▪ Les acides phénoliques :	34
▪ Les stilbènes :	34
▪ Les ellagitanins :	35
2. Les antioxydants phénoliques de synthèse :	36
II.3.CONSEQUENCES DU STRESS OXYDANT SUR L'ORGANISME :	37
II. 4. LES POLYPHENOLS ET LA SANTE DE L'HOMME :	38
II. 5. PROPRIETES BIOLOGIQUES DES FLAVONOÏDES :	39
II. 5. 1. Activité anti-oxydante :	39
II. 5. 2 Activité anti tumorale :	39
II. 5. 3. Effets cardiovasculaires :	40

II. 6. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES FLAVONOÏDES :	40
II. 6. 1. Solubilité et l'extraction :	40
II. 6. 2. Dosage :	40
II. 7. METHODE DE MESURE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE :	40
II. 7. 1. Méthodes de FRAP :	41
II. 7. 2. Méthode d'ABTS :	41
II. 7. 3. Activité réductrice sur le ferricyanure de potassium :	41
II.7.4. Capacité de piégeage du radical anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$:	42
II. 7. 5. Capacité de piégeage du radical DPPH :	42
II. 7. 6. Méthodes électrochimiques :	42
II. 8. ROLES DES FLAVONOÏDES CHEZ LES PLANTES :	43
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	45
CONCLUSION GENERALE	49

Introduction générale

Introduction générale

Les huiles essentielles constituent une partie importante dans la constitution des produits naturels. Elles sont utilisées dans des domaines très variés : industriels, pharmaceutiques, parfumerie, cosmétologie, l'aromathérapie [1]. Ce sont des extraits liquides, concentrés et complexes des plantes aromatiques ou d'organes de ces plantes (fleur, feuille, bois, racine, écorce, fruit...), obtenus par distillation par entraînement à la vapeur d'eau. Elles sont composées, chacune d'elles. D'une centaine de molécules terpéniques et aromatiques et qui sont particulièrement active dans l'entretien notre santé au quotidien.

Elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne [2]. Au niveau de la microflore vaginale [3] et d'origine fongique contre les dermatophytes [4]. Egalement, elles possèdent des propriétés cytotoxiques [5] qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Pour cela, dans le chapitre I nous présenterons une synthèse bibliographique qui résume les principales caractéristiques des deux espèces sélectionnées appartenant à la famille de lamiacées, menthe poivrée et la menthe arvensis, procédés d'extraction des huiles essentielles, composition chimique des huiles essentielles, ainsi que l'activités biologiques et la toxicité de quelques huile.

Dans le deuxième chapitre, nous avons abordé les différentes connaissances bibliographiques sur les radicaux libres qui sont les espèces réactives de l'oxygène, le stress oxydant.

Enfin, nous nous intéresserons aux systèmes de défense antioxydant, endogènes et exogènes, l'action sera alors mise en particulier sur polyphénols notamment les flavonoïdes.

Nous terminerons ce travail par une conclusion générale.

Chapitre I

Rappel bibliographique sur les
plantes aromatiques et les
huiles essentielles

I.1. Les plantes aromatiques et huiles essentielles:

I.1.1 la menthe poivrée (*menthapiperita*):

La menthe poivrée est une plante herbacée de la famille des lamiacées cultivée à El-oued ces feuilles sont opposées et décussées de 4 à 10 cm de long, velues et d'un vert foncé sur la face supérieure. Elles sont recouvertes de poils. Ces fleurs sont petites violet pale, presque régulières. La floraison s'effectue de juillet à septembre.

En raison de la saveur poivrée de ses feuilles elle est assez peu utilisée en cuisine et réservée à un usage médical son huile essentielle est utilisée dans l'industrie alimentaire pour parfumer : Bonbons, dentifrice, chewing-gums, confiseries et boisson alcoolisées (Figure 1).



Régne : plante.

Ordre : lamiales.

Famille : lamiacées.

Genre : Menthe.

Figure I. 1. Aspects morphologique de la menthe poivrée

I. 1.1. 2. Huile essentielle de la menthe poivrée :

- **propriétés et usages médicinaux traditionnels :**

L'huile essentielle de la menthe poivrée présente un aspect limpide avec une couleur verdâtre pâle et une odeur herbacée fraîche et mentholée. Elle a des propriétés aromatiques et des propriétés digestives (diminuer les lourdeurs, les ballonnements, les gaz). Au début du XIX^{ème} siècle elle est considérée comme apéritif, désobstruant, diurétique... On l'emploie aussi comme stomachique, résolutive, emménagogue, et surtout comme antispasmodique [6,7].

- **composition et effet antioxydant :**

La feuille de menthe poivrée contient de nombreux métabolites secondaires aromatiques : des acides-phénols (jusqu'à 7%), des flavonoïdes (glycosides de la lutéoline, de l'apigénine), des monoterpènes et des triterpènes. Sa composition chimique varie fortement avec les conditions climatiques, la nature de la terre cultivable et de la date de la récolte.

Elle est principalement constituée de :

- Menthol de 30 à 40% et atteignant parfois, jusqu'à 6% pour une culture à basse altitude.
 - (-)-Menthone de 15 à 25%.
 - Acétate de menthyle, de l'état de trace jusqu'à une forte concentration de 30.2% à haute altitude dans le nord.
 - Menthofurane, composé hépatotoxique, parfois absent.
 - (+)- isométhane, (+)-néomenthole, (-)- pipéritone, terpène -4- ol, β -viridiflorol...
- Etc

La menthe poivrée est une plante riche en antioxydants : tanins, flavonoïdes 18%, mais aussi une présence de vitamine C.

I. 1.2. La menthe Arvensis (*Mentha arvensis*) :

La menthe Arvensis (Menthe des champs) est une plante vivace de 50 à 60 Cm de haut plus ou moins velue, dégageant un parfum chaleureux épicé, possédant des tiges à section carré, dressées ascendante [8]. Ces feuilles sont ovales poilue, les fleurs rosées sont disposés en verticille, axillaires, écartés compacts. La floraison se déroule de juillet à octobre. Elle croit dans les milieux humides (figure2).



Règne : plante.

Ordre : Lamiacées.

Famille : lamiacées.

Genre : Menthe.

Figure I. 2. Aspect morphologique de la menthe Arvensis.

I. 1. 2.1. L'huile essentielle de la menthe Arvensis :

L'huile essentielle de la menthe Arvensis à un aspect liquide mobile limpide, une couleur jaune pâle à incolore et une odeur menthée et forte, elle est obtenue par hydrodistillation son action vasoconstrictrice permet de calmer spécifiquement les migraines. Comme elle possède aussi des propriétés anti-inflammatoires [9], antihypertenseurs [10], anxiolytique [11] et antalgiques [12].

- **Composition de l'huile essentielle :**

Une bonne huile essentielle de menthe de champs doit contenir :

- Menthol : 50 à 75%.
- Menthone : 5 à 20%.
- Acétate de menthyle : 2 à 7%.
- Isomenthone $\leq 6\%$.
- Limonène : 2 à 5%.

I. 2. Extraction des huiles essentielles :

I. 2. 1. Définition et rôle écologique :

La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques».

Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs (origan), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vétiver), rhizomes (acore), fruits (badiane) ou graines (carvi). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles, classées parmi les métabolites secondaires, se font généralement au niveau des structures histologique spécialisées, souvent localisées sur la surface de la plante [13]. Par exemple, pour la famille des lamiacées.

Parmi les composants majoritaires des huiles essentielles, nous trouvons les terpénoïdes qui possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination, mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction de pollinisateurs [14].

Par ailleurs, les plantes aromatiques productrices d'huiles essentielles, ont fait l'objet de diverses recherches en particulier dans le domaine de la parfumerie.

Les travaux de J.Q. CU et col. [15] reprennent ceux de TEDDED et BRUNECHON [13-16], où il apparaît clairement comment les molécules très volatiles sont synthétisées à partir d'unités méthyl-2-buta-1,3-diène (isoprène). Les diverses combinaisons de ces unités, par réaction d'addition, conduisent aux terpènes, sesquiterpènes, diterpènes, mais aussi à leurs produits d'oxydation tels que les alcools, aldéhydes, cétones, éthers et ester terpéniques.

L'ensemble de ces composés est produit dans les cellules sécrétrices, conférant à la plante une odeur caractéristique celle-ci peut alors être libérée de la plante et récupérée par diverses méthodes allant de l'enfleurage, pour les odeurs les plus délicates (fleur), à l'extraction à l'aide de solvants organiques [15].

Une gamme de produit à odeur plus ou moins prononcée selon la concentration en composés et en composés volatils recueillis, est alors obtenue. Les huiles essentielles produites par hydrodistillation, entraînement à la vapeur ou expression de l'écorce des fruits, sont les produits les plus concentrés en composés olfactifs [16].

Chacun de ces composés de par leur volatilité dégage une odeur propre. Ainsi certaines plantes peuvent avoir une odeur similaire due à une molécule commune présente en quantité notable dans l'huile essentielle. Dans ces conditions, une fois le ou les composés responsables d'une odeur identifiés, si le caractère olfactif de ces composés s'avère intéressant, il serait alors rentable, selon le contexte économique, de produire des espèces végétales susceptibles de fournir une huile essentielle à haute teneur moléculaire en composés recherchés, et donc généralement de meilleure qualité [16].

De manière générale, il est assez aléatoire d'évaluer la qualité olfactive d'une huile essentielle d'après la composition chimique de celle-ci, où des rapprochements heureux aussi bien que des dégradations de composés aromatiques sont induites. Seul, un examen organoleptique permettra d'évaluer ces interactions moléculaires.

Les principaux atouts olfactifs d'une huile essentielle ne tiennent pas seulement compte de la composition chimique de l'essence mais aussi de son examen organoleptique, de ses constantes physique permettant de déceler toute adultération [13].

I. 2. 2. Caractéristiques économiques :

Si de nos jours quelques centaines de plantes aromatiques, parmi d'innombrables espèces recensées dans la nature, sont exploitées à l'échelle commerciale, c'est en partie parce que les facteurs agronomiques, climatiques, botanique et olfactifs sont limitatifs mais d'autres critères sont aussi à prendre en compte [17].

I. 2. 3. Caractéristiques traditionnelles :

Un certain nombre de plantes médicales sont encore utilisées de nos jours sous forme de décoctions et infusions mais la plupart d'entre elles ont été délaissées au profit de produits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent de comprendre l'activité préconisée par nos ancêtres.

Une relation entre la structure chimique et l'activité biologique est alors tentante, aussi la production de molécules naturelles pourrait entrer dans la composition de médicaments moins agressifs vis-à-vis de l'organisme, ou à des fins industrielles précédemment exposées.

I. 2. 4. Activités biologique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires [18] ou au niveau de la microflore vaginale [19] et d'origine fongique contre les dermatophytes [20]. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques [21] qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. Le thymol est très irritant, astringent et caustique. La dose de thymol applicable sur la peau et les muqueuses est de 0,5%. Ingré à la dose de 2 g ou à plus fortes doses, il est responsable de gastralgies avec nausées [22].

Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les

champignons phytopathogènes [22] et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires [23].

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des labiatae : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles les plus actives [17-24]. Son composé majoritaire, le carvacrol, possède également une forte activité antimicrobienne [25]. D'après les travaux de SIVROPOULOU et col [21], et HUDAIB et col [26], les huiles de menthe et origan présentent des activités antibactériennes remarquables contre les souches à Gram+ et à Gram -.

Etant donné la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. CHAUMONT et LEGER [20] ont testé 12 composés aromatiques vis-à-vis de huit souches pathogènes pour l'homme *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Microsporumcanis*.

Ils concluent que les phénols (eugénol), chavicol, 4-allyl-2-6-diméthoxyphénol sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique) et hydrocinnamique présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative. KURITA et col [27-28], ont classé les composés purs selon leur activité antifongique vis-à-vis de sept champignons.

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît selon le type de fonctions chimiques :

Phénol > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures.

I. 2. 5. Toxicité des huiles essentielles :

Cet aspect de la connaissance des HE est d'autant plus important que le développement thérapeutique telles que l'aromathérapie définie comme le traitement des maladies par les essences de plantes ainsi que la connotation "produit naturel " attaché à ces produits conduisent à une utilisation souvent abusive.

La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue ; on marque aussi des données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes, tératogènes ou cancérigènes.

On connaît par contre beaucoup mieux le risque de toxicité aiguë lie à une ingestion massive, en particulier la neurotoxique des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, tanaïse, sauge, officinale) ou à pinocomphone (hysope) : ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation.

De telles intoxications ne sont pas exceptionnelles. D'autres monoterpènes sont également toxiques à dose fortes : camphre, menthol, (risque de spasme de glotte chez le jeune enfant), cinéole, E-anéthol. Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudent face aux pratiques telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des HE -pures et à doses fortes- par voie orale et, a fortiori, en mélange [29].

I. 2. 6. Facteurs intervenant dans la qualité des huiles essentielles :

Les facteurs prédominants dans la qualité des huiles essentielles peuvent avoir deux types d'origines:

- Technologique.
- Naturel.

De profondes modifications de l'huile essentielle peuvent intervenir lors de l'exploitation des végétaux depuis leur collecte jusqu'à leur transformation industrielle.

Le mode de récolte, les conditions de transport [30], séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques [31]. Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (l'acidité, température) et de la durée d'extraction [32-33].

D'autres facteurs tels que les traitements auxquels on peut procéder avant ou pendant l'hydrodistillation (broyage, dilacération, dégradation chimique enzymatique, pression, agitation) contribuent à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle [33].

I.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes. Une forte demande toujours plus exigeante basée sur différents phénomènes physiques : la distillation, l'extraction ou la séparation, ces techniques d'extraction seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées et classées en deux catégories distinctes selon le produit final obtenu : une huile essentielle ou un extrait aromatique.

I. 3. 1. Hydrodistillation :

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult) [34]. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger.

Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur afin de maintenir le rapport plante/eau à son niveau initial.

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influence non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

I. 3. 2. Entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

I.3 .3 . Hydrodiffusion :

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

I. 3. 4. Extraction par du CO₂ supercritique :

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux, le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant.

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles [35]. Cette technique est utilisable pour les essences difficilement distillables.

I. 3. 5. Extraction assistée par micro-onde :

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques [36]. Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement.

L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extrait.

I. 3. 6. L'expression à froid :

Le procédé d'extraction par expression à froid est assurément le plus simple mais aussi le plus limité. Il est réservé à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés ou encore d'agrumes qui ont une très grande importance pour l'industrie des parfums et des cosmétiques. Cependant ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'huile essentielle [37].

I. 3. 7. L'extraction par solvants volatils :

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique.

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone [38]. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson.

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances [39].

La technique d'extraction par solvant volatil, consiste à placer dans un extracteur la matière végétale à traiter et un solvant. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en huiles essentielles, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé sous pression atmosphérique.

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant, les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de l'eau ou de la vapeur d'eau.

A partir de la recherche bibliographique sur les méthodes d'extractions des huiles essentielles et l'extrait aromatique, nous présentons dans le Tableau I.1 suivant quelques avantages et inconvénients concernant les méthodes d'extractions.

Tableau I.1. L'avantage et l'inconvénient selon les méthodes d'extractions.

Méthode	Avantage	Inconvénient
L'hydrodistillation	Rendement plus grand	-le temps d'extraction plus long [40-41]. -Plus grand quantité d'eau [42]. -Hydrolyse des composés non saturé. -Pertes de quelques composés volatils [43].
L'entraînement à la vapeur d'eau	-Rendement acceptable. -Pas des réactions d'hydrolyse [44].	
L'extraction par microondes	-Moins d'énergie [41-45]. -Plus effectives que les composés oxygénés [46]. -Le temps d'extraction est très court [41-46].	
L'extraction par des solvants organique	-Rendement plus important par rapport aux autres méthodes [44].	-Grand volume de solvant [48]. -Long temps de l'opération a exigé (plusieurs heures) [48]. -Reste des solvants toxique dans l'extrait [43-45]. -Dégradation des composés non saturé [44-45].

I.4. Composition chimique des huiles essentielles :

La composition chimique d'une HE est complexe, on y retrouve couramment plus d'une centaine de composés, parmi lesquels quelques nombres de familles chimiques sont représentées.

I. 4. 1. Principales structures chimiques :

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phénylpropane, retrouvé en tant que composé majoritaire dans quelques-unes, telles que les essences d'anis, de cannelle, de girofle, marjolaine, etc.... Divers autres constituants minoritaires sont associés. De nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont également considérés comme des composés terpéniques [47].

Les composés terpéniques sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique. Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés (C₅)_n ramifiées, dérivées de l'isoprène, nous pouvons réaliser la classification suivante :

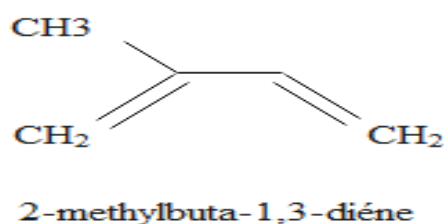


Figure I. 3. Structure de l'unité isoprénique

- Pour n = 2: les monoterpènes. Ces terpènes proprement dits sont des Hydrocarbures de formule C₁₀. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques.

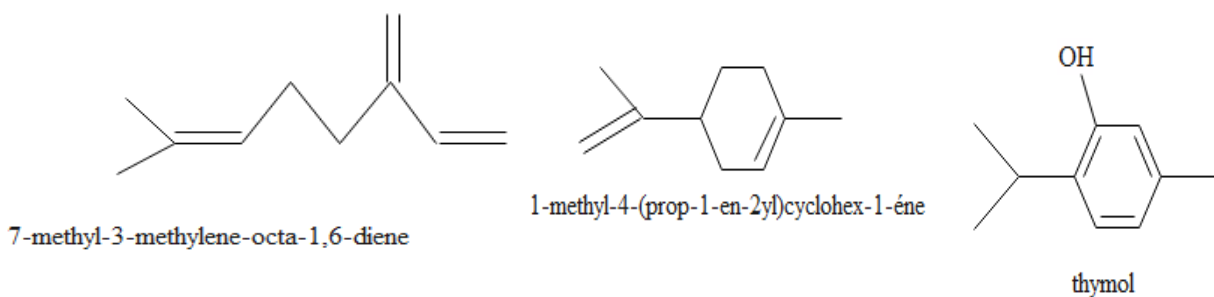


Figure I. 4. Exemple des composants monoterpéniques.

- Pour $n = 3$: les sesquiterpènes. Ce sont des hydrocarbures de formule C_{15} , soit une fois et demie (sesqui-) la molécule des terpènes (en $C_{10}H_{16}$). Un groupe particulier de sesquiterpènes est représenté par les azulènes, composés instables dont le nom vient de leur coloration bleue et qui sont importants en pharmacognosie en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires.

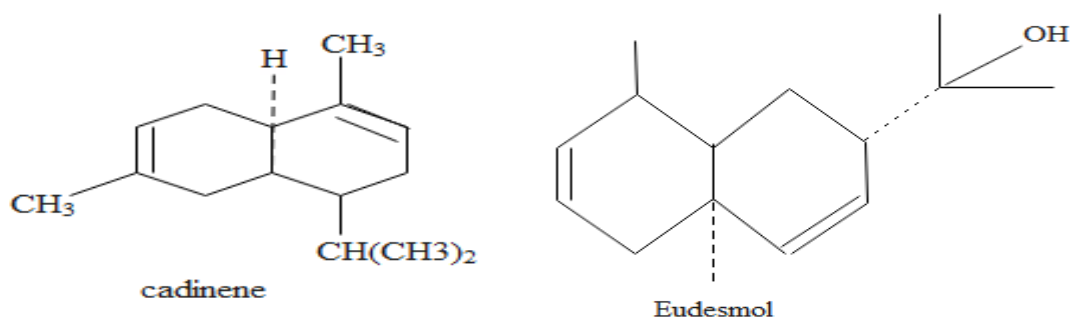


Figure I. 5. Exemple des composants sesquiterpénique.

- Pour $n = 4$: les diterpènes qui sont des dérivés d'hydrocarbures en C_{20} .

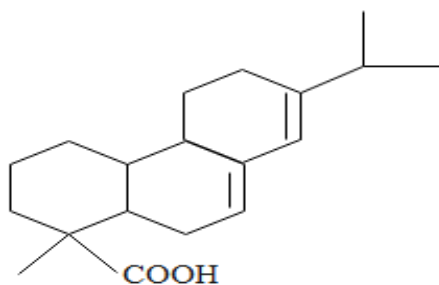


Figure I. 6. Exemple des composants diterpéniques.

- Pour $n = 5$: les sesterpènes. Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en C_{25} .
- Pour $n = 6$: les triterpènes. Ces composés en C_{30} sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifiés, ou sous forme hétérosidique.

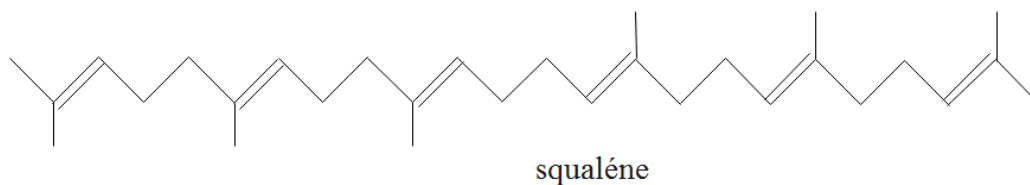


Figure I. 7. Exemple des composants triterpéniques.

- Pour $n = 8$ et les polyterpènes le caoutchouc naturel est l'exemple plus nomme. Le caoutchouc naturel est un polymère de l'isoprène.

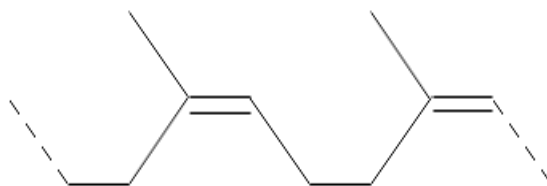


Figure I. 8. Caoutchouc naturel.

Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes, ce sont des arènes issues d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique lui-même intermédiaire de la synthèse de la lignine à partir du phénylpropane.

Les composés sont néanmoins importants sur le plan qualitatif et quantitatif chez certaines espèces. Par exemple, le trans-anéthole qui est la molécule responsable en grande partie de l'arôme d'anis, constitue environ 80% de l'huile essentielle de fenouil (1-3% d'essence), et d'anis vrai (3% d'essence).

Les dérivés phénylpropanoïques et les terpénoïdes sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au sein des mêmes organes sécréteurs où ils forment l'essence naturelle [47].

I.5. La synthèse des squelettes terpéniques :

La synthèse des squelettes terpéniques est la voie de l'acide 3R(+) mévalonique, gouvernée par des enzymes et se déroulant au sein du cytoplasme [49].

I. 5. 1. Synthèse de monoterpènes :

La réaction de synthèse est décrite ci-dessous pour un monoterpène (Figure I. 9).

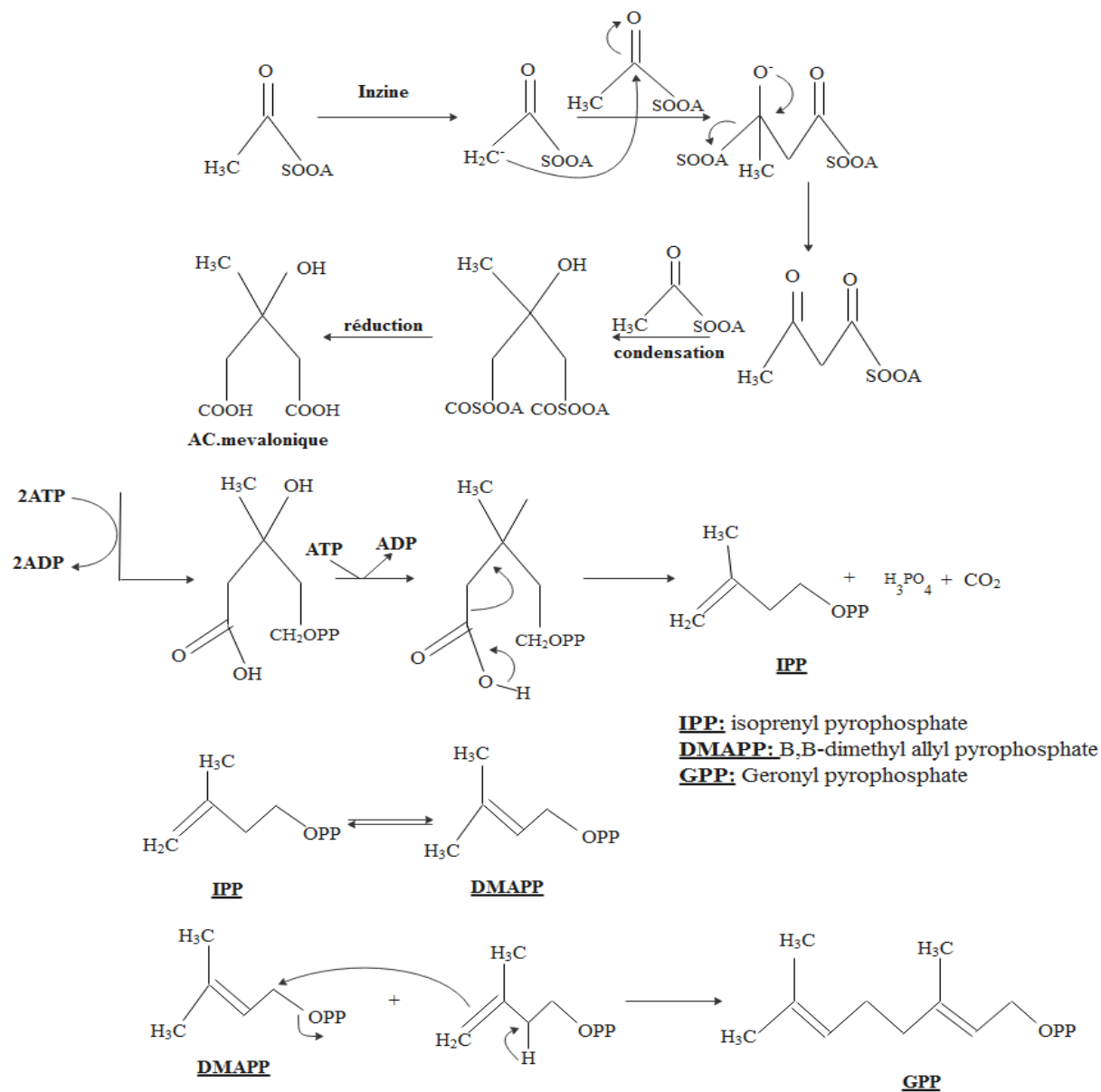


Figure I. 9.Synthèse des monoterpènes.

I.5. 2. Synthèse de sesquiterpène :

La réaction de synthèse est décrite ci-dessous pour un sesquiterpène (Figure I. 10).

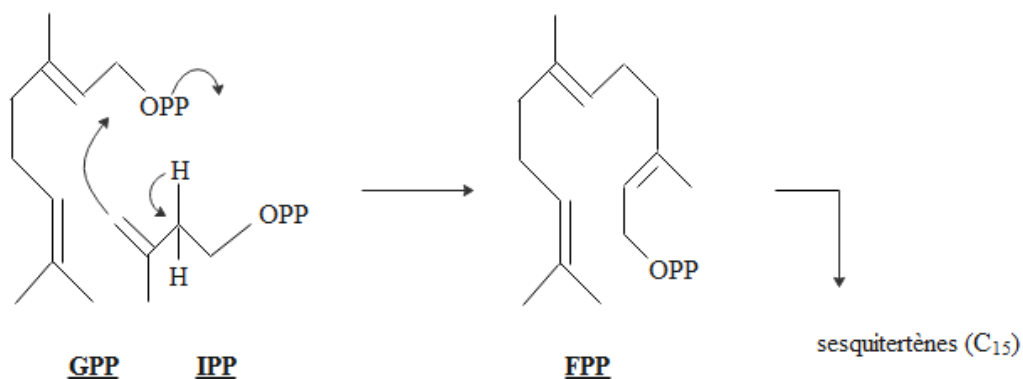


Figure I. 10. Synthèse des sesquiterpène.

I. 5. 3. Les Alcools :

Les membres de ce groupe se forment lorsque des unités composées d'un atome d'hydrogène et d'un atome d'oxygène (hydroxydes) se rattachent à des atomes de carbone.

Les alcools ont généralement des propriétés antiseptiques, antivirales. Ils présentent généralement peu ou pas de toxicité (le menthol faisant exception à cette règle).

I. 5. 4. Les Phénols :

Ce sont des alcools dans lesquels le groupement hydroxyle est fixe à un anneau d'atomes de carbone. Ce sont de puissants antibiotiques, à large spectre d'action, ainsi que de bons virucides et antifongiques. Les HE qui en contiennent en forte proportion doivent être utilisés avec parcimonie à cause de leurs toxicités [50].

I. 5. 5. Les Phénols méthyl-éthers :

Représentation de la structure phénol subit une méthylation, faisant perdre à ces molécules la dermocausticité des phénols, et leur faisant acquérir de nouvelles propriétés: antispasmodiques puissants des muscles lisses, certains sont aussi antiallergiques (chavicolméthyl-éther), ou antalgiques cutanés (eugénol méthyl-éther). En ce qui concerne les

propriétés antibiotiques, elles ne doivent pas être utilisées sans aromatogramme : elles répondent à la loi du tout ou rien.

I. 5. 6. Les Oxydes :

- **les éthers oxydes :**

Issus des phénols méthyl-éthers, ils en possèdent le caractère positivant : ils sont stimulants des glandes exocrines, antispasmodiques et antalgiques. Ils présentent diverses toxicités : neurologique (l'apiole provoque des symptômes similaires à ceux provoqués par l'alcool, la myristicine est hallucinogène, le safrole dopant), ils sont abortifs (myristicine et apiole), et le safrole est mutagène chez le rat (hepatocarcinome).

- **les oxydes terpéniques :**

Fréquemment rencontrés dans de nombreuses HE, ce sont des molécules de la sphère respiratoire : décongestionnantes des muqueuses, expectorants, mucolytiques, anti-infectieux.

I. 5. 7. Les Aldéhydes :

Ils sont formés par l'oxydation des alcools, ce sont des molécules très volatiles qui dégagent souvent une odeur puissante (le citronellal est un bon répulsif). Plutôt négatives, elles ont des propriétés calmantes et anti-inflammatoires. Certaines sont antivirales (geranial).

Leur toxicité entraîne une légère agressivité de la peau et des muqueuses (attention lors de fumigation ou de diffusion). Toutefois cette toxicité est en partie neutralisée par les terpènes contenus dans les HE à aldéhydes (limonène surtout) [51].

I. 5. 8. Les Esters :

Ils sont issus de la réaction d'un acide carboxylique avec un alcool. Ils sont spasmolytiques, anti-convulsivants, anti-inflammatoires. Ils ne manifestent pas de toxicité aux doses thérapeutiques.

I. 5. 9. Les Cétones :

Ce sont des molécules très actives, dont les propriétés s'inversent en fonction de la dose employée : à faible dose elles sont stimulantes du système nerveux central, tachycardisantes, et à doses plus élevées elles sont calmantes voire entraînant un état de stupéfaction. A doses encore plus élevées, leur toxicité est redoutable.

I. 5. 10. Les Lactones :

Ce sont des molécules comportant à la fois une fonction oxyde et cetoxy. Elles sont relativement fragiles, et peu résistant à la distillation.

I. 5. 11. Les Coumarines :

Les coumarines ne se retrouvent que dans les HE de quelques familles botaniques, comme : les Apiaceae, les zestes des Rutaceae, et les Asteraceae.

Ce sont de puissantes sédatives nerveuses, anticonvulsivantes, elles sont hypotensives et anticoagulantes.

I. 5. 12. Les Composés soufres :

Relativement rares dans les HE, ces composés sont l'apanage d'un petit nombre de famille botanique: on les rencontre en quantité notable dans quelques Apiaceae (genre Ferula), mais ils sont surtout présents dans les plantes de la famille des Liliaceae ainsi que chez les Brassicaceae.

Ce sont en général des anti-infectieux efficaces, mais ils sont fortement dermocaustiques et leur emploi est délicat [52].

Bibliographie

Références bibliographiques

- [1] S. S, Chun. A. V, Vattem. Y. T. Lin, K. Shetty, *Biochemistry*. 2005, 40, 809-816.
- [2] J, Pellecier. J. L, Roussel. C, Andary, *Rivista Italiana Essenzo (Eppos)*. 1980, 23, 45-50.
- [3] C, Viollon. J. P, Chaumont. *My Copathologia*. 1994, 128(3), 151-153.
- [4] J. P, Chaumont. D, Leger. *Plant Med. Phyto*. 1989, 23(2), 124-126.
- [5] A, Sivro Poulon. E, Papanikolaou. C, Nikolaou, S, Kokkini. T, Lanaras. M, Arsenakis. J, *Agric. Food Chem*. 1996, 44, 1202-1205.
- [6] F. V, Mérat. J. B, Baillièrè. *Dictionnaire universel de matière médicale et de thérapeutique générale*. 1832. 763-557
- [7] F. P, Chaumeton. J, Baptiste. J. L. M, Poiret. *Flore médicale, panckoucke*. 1834.
- [8] J, Bruneton. *Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, 4^e éditions médicales internationales*. 2009, 1288 P.
- [9] A. T, Peana. P. S, D'Aquila. F, Panin. G, Serra. P, Pippia. M. D. Moretti, *Phytomedicine*. 2002, 9 (8), 721-6
- [10] R. J. de Siqueira, K. M. Rodrigues, M. T. Dasilva, C. A. Correia Junior, G. P. Duart, A. A. Santos, J. G. Maia, *PhytotherRes*. 2013 feb 27.
- [11] T. Umezu, K. Nagano, H. Ito, K. Kosakai, M. Sakaniwa, M. Morita, *PharmacolBiochemBehav*. 2006, 85(4), 713-721.
- [12] A. T. Peano et al, *Eur. J. Pharmacol*. 2003, 460 (1).
- [13] T, Umezu. K, Nagano. H. Ito, K. Kosakai, M.T. Sakaniwa, M. Morita, *PharmacolBiochemBehav*. 2006, 85(4), 713-721.
- [14] A. T. Peano et al, *Eur. J. Pharmacol*. 2003, 460 (1).

- [15] K, Veres. E, Varga. A, Dobos, Zs. Hajdu. I, Mathe. E, Nemeth. K, Szabo. Investigation of the composition and stability of the essential oils of *origanum vulgare* sp., *vulgre* L., and *O. Vulgare* sp. *Hirtus* (Link) *letsvaart*. *Chromatographia*. 2003. 57 (12), 95-98.
- [16] J.H. Langenheim. *Amber: a botanical inquiry*. Science. 1969.163(872), 1157-1169.
- [17] J.Q. Cu. *Extraction de compositions odorants végétales par divers solvants organiques*, Thèse de l'Institut Nationale Polytechnique. Toulouse, France. 1990. P17
- [18] J.M. John Wiley & Sons. Tedder. *Basic Organic Chemistry*. New York. 1970.
- [19] C. Bourrel. *Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées*. Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. Toulouse, France. 1993.
- [20] J. Pellecier. J.L Roussel C. Andary. *Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles*. *Rivista Italiana Essenza (EPPOS)*. 1980. 23,45-50.
- [21] C, Viollon. J.P. Chaumont. *Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans**. *Mycopathologia*. 1994.128(3), 151-153.
- [22] J.P. Chaumont. D. Leger. *Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisins. Relation structure -activité*. *Plant Med. Phyto*. 1989. 23(2). 124-126.
- [23] A, Sivropoulou. E, Papanikolaou, C, Nikolaou. S, Kokkini, T, Lanaras and M. Arsenakis. *Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils*. *J. Agric. Food Chem*. 1996. 44, 1202-1205.
- [24] A, Zambonelli. A.Z, D'Aurelio. A, Severi. E, Benvenuti. L, Maggi. A, Bianchi. *Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *thymus vulgaris* L.*. *J. Essent. Oil Res* 2004.16(1), 69-74.
- [25] T. Mangena. N.Y.O, Muyima. *Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *artemisia afra*, *pteronia incana* and *rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains*. *Lett. Appl. Microbiol*. 1999. 28(4) 291-296.
- [26] A, Agnihotri. S, Khatoon. M, Shanta. *Pharmacognostic evaluation of an antioxidant plant - *Acorus calamus* Linn.*. *Nat. Prod. Sci*. 2003. 9(4)264-269.

- [27] D, Caccionni. M, Guizzardi. D, Biondi. R, Agantio. R, Guisepe. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on *penicilliumdigitatum* and *penicilliumitalicum*. *International J. Food Microbiol.* 1998.43(12), 73-79
- [28] M,Hudaib. E, Speroni. M Di Pietra. V, Cavrini. .GC/MS ecaluation of thymus (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations duringduring the vegetative cycle. *J. Pharma. Biom. Analysis.* 2002. 29(4), 691-700.
- [29] N,Kurita. M, Miyaji. R, Kurane. Y, Takahara.. Antifungalactivity of components of essential oils. *Agric. Biol. Chem.* 1981. 45(4), 945.
- [30] N,Kurita. M, Miyaji. R, Kurane. Y. Takahara. K. Ichimura. Antimicrobialactivity of dalmatian sage oilfromdifferentregions of the YugoslavAdriaticcoast. *AgricBiol. Chem.* 1979. 43 (11), 2365.
- [31] J.Q. Cu. Extraction de compositions odorantes végétales par divers solvants Organiques. Thèse de l'Institut Nationale Polytechnique. Toulouse, France. 1990. 23
- [32] A. E. Rose. *Technique of organique chemistry. Distillation.* Ed. John Wiley& Sons, New York. 1965. Vol. IV1-30.
- [33] Jean. Bruneton. *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales*, 2e édition. Technique documentation, Paris 1993. p 406, 410
- [34] F. Chemat, M. Abert Vian, O. Dangles, *International Journal of Essential OilTherapeutics* (2007) 1.
- [35] luicita. lagunez rivera. Etude de l'extraction de métabolites secondaires des différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France. 2006. 31-42
- [36] D.L. Pavida. G.M. Lampman. G.S. Kriz, *Introduction to organiclaboratory techniques*, W.B. Sauders Co. Philadelphia, USA. 1976, 567.
- [37] M. C. Martini, M. Seiller, Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales Paris. Lavoisier, 1999, 563.

- [38] Z. Wang, L. Li, T. Ding, X. Zhou, L. Wang, H. Zhang, L. Liu, Y. Li, Z. Liu, H. Wang, H. Zeng, H. He, *J. Chrom. A*, 2006, 1102.
- [39] R. Anton. A. Lobstein. *Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Tec & Doc, Paris, 2005. 522.
- [40] N.S. Kim. D.S. Lee. *J. Chrom. A*. 2002, 982, 31.
- [41] R. Hubert. *Epices et aromates*, Tec et Doc - Lavoisier, APRIA., Paris, 1992.
- [42] Farid Benkaci-Ali, Aoumeur Baaliouamer, Brahim Y. Meklatil, and Farid Chemat. 2006. 31-42
- [43] Guido Flamini, Marianna Tebano, Pier Luigi Cioni, Lucia Ceccarini b, Andrea Simone Ricci c, Iginio Longoc. *Journal of Chromatography A*, 2007. 1143 (2007) 36-40.
- [44] Marie Elisabeth Lucchesi, Farid Chemat, and Jacqueline Smadja *Flavour And Fragrance Journal* *FlavourFragr. J.* 2004; 19: 134-138.
- [45] M. A. Ferhat, N. Tigrine-Kordjani, S. Chemat¹, B. Y. Meklatil, F. Chemat, 2007. *Journal of Chromatography*. 2007, 65, 217-222.
- [46] M.E. LUCCHESI. *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles*. Thèse d'Université de la Réunion. 2005,
- [47] E, Marie. Lucchesi, Farid Chemat, Jacqueline Smadja. *Journal of Chromatography A*. 2004. 1043 (2004) 323-327.
- [48] Ziming Wang, Lan Ding, Tiechun Li, Xin Zhou, Lu Wang, Hanqi Zhang. Li Liu, Ying Li, Zhihong Liu, Hongju Wang, Hong Zeng, Hui H, *Journal of Chromatography A*. 2005. 1102 (2006) 11-17.
- [49] L. Ganou. *Contribution à l'étude des mécanismes fondamentaux de l'hydrodistillation des huiles essentielles*. Thèse de l'INP Toulouse, France. 1993.
- [50] H. Eggerer. F. Iylen, *Ann. Chem.* 1960, 830, 58.
- [51] R. Gerhard. *Press polytechnique et universitaire romandes, Diffusion, Tec et Doc. France*, 1993, 291
- [52] P. FRANCHOMME. JOLLOIS R. PENOEL D : *L'Aromatherapie exactement en cyclopedie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques*. Edition Roger Jollois. 2001

Chapitre II

Modélisation et méthode de
Radicaux libres, Antioxydants
et les polyphénols

II. 1. Radicaux libres et espèces réactives de l'oxygène (ROS) :

II. 1. 1. Définition :

Les espèces réactives de l'oxygène sont une famille d'entités chimiques regroupant les dérivés non radicalaire (ne possédant pas d'électron célibataire) dont la toxicité est importante [anion peroxyde (O_2^{2-}), peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), peroxydinitrite ($ONOO^-$)] et les radicaux libres oxygénés (espèces chimique possédant un électron célibataire – non apparié) qui intéresse notre propos [anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), radical hydroxyle (HO^{\cdot}), monoxyde d'azote (NO^{\cdot}) ...] [1].

On peut distinguer les radicaux primaires, qui ont un rôle physiologique particulier et les radicaux secondaires, issus de la réaction des radicaux primaires avec des entités biochimiques cellulaires (lipides, protéines, glucides ...) [2-3].

II. 1. 2. Nature de la réactivité des ROS :

A l'état fondamental le dioxygène est un biradical avec deux électrons célibataires à spins parallèles placés dans des orbitales antiliantes, $^{\cdot}O=O^{\cdot}$. L'oxygène moléculaire est relativement peu réactif car il réagit seulement avec les molécules ayant comme lui un ou deux électrons célibataires à spins parallèles.

Tableau II. 2 . Répartition des électrons dans les orbitales liantes (L) et antiliantes (AL) de la molécule d'oxygène, de l'anion superoxyde et du peroxyde

2P	AL			
	L			
2S	AL			
	L			
	AL			
1S	L			
		OM Dioxygène O ₂	OM Superoxyde O ₂ ⁻	Peroxyde O ₂ ²⁻

L'anion superoxyde $O_2^{\bullet-}$, est un monoanion radical avec un électron célibataire. Il est plus instable et plus réactif que la molécule d'oxygène car il possède trois électrons sur des orbitales antiliantes du fait que l'électron supplémentaire se place dans une orbitale antiliante.

L'anion peroxyde, O_2^{2-} n'est pas un radical. Cependant il est très instable du fait de l'existence d'un quatrième électron dans une orbitale antiliante. Dans l'eau, l'anion peroxyde O_2^{2-} se transforme en peroxyde d'hydrogène, eau oxygénée H_2O_2 ou en $HOOH$, par acceptation de deux protons. L'eau oxygénée joue un rôle très important dans les réactions radicalaires car elle peut donner des radicaux HO^{\bullet} . [4].

II. 1. 3. Les principales sources d'espèces réactives de l'oxygène :

II. 1. 3. 1. Sources exogènes d'espèces réactives de l'oxygène :

Elles sont surtout d'origine physique et chimique (ex. radiations X ou gamma, UV (315-400 nm), radiolyse de l'eau, réactions photochimiques ...).

II.1.3.2. Source endogènes de ROS

De nombreux systèmes enzymatiques identifiés dans les cellules sont également capable de générer des oxydants [5] :

- Les NADPH oxydases sont des enzymes présentes dans la paroi vasculaire et qui génèrent $O_2^{\cdot-}$ en utilisant NADH ou NADPH comme substrat
- La xanthine-oxydase joue un rôle important dans la production des ROS (particulièrement $O_2^{\cdot-}$ et H_2O_2), lors de l'ischémie / reperfusion.
- Lors du métabolisme de l'acide arachidonique, ce dernier peut être oxydé par les cyclooxygénases, soit par les lipooxygénases (métallo-enzymes à fer), pour former entre autre des hydroperoxydes qui sont des précurseurs de leucotriènes, puissants médiateurs de l'inflammation.

De plus, dans l'organisme, l'oxygène est réduit à 95 % dans les mitochondries (« centrale énergétique de la cellule ») par voie enzymatique en molécule non toxique comme H_2O . Cependant, il peut subir une réduction monoélectronique et former une espèce beaucoup plus réactive comme l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$. Cet anion n'est pas le radical le plus délétère, cependant il peut donner naissance comme indiqué précédemment à des espèces beaucoup plus réactives comme le radical hydroxyle HO^{\cdot} .

Ces ROS mitochondriales pourraient intervenir dans l'oxydation des LDL [6].

II. 2. Les antioxydants :

En conditions normales, le métabolisme aérobique chez les mammifères génère des substances réactives de l'oxygène, qui sont très dommageable pour les cellules de l'organisme. Cependant, en guise de protection, les cellules possèdent des mécanismes de défense enzymatique et non-enzymatique qui, de manière générale, suffisant à neutraliser et de dégrader les radicaux libres toxique pour les tissus résultant du métabolisme aérobique et que l'on appelle antioxydant [7,8].

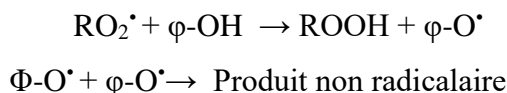
II. 2. 1. Définition :

Selon les références bibliographiques [9,10] un antioxydant est une substance, qui lorsqu'elle est présente en concentrations faibles, comparées à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de façon significative ou empêche, l'oxydation de ce substrat.

On appelle antioxydants primaires, les composés donneurs d'atomes d'hydrogène conduisant à un radical libre stable, c'est-à-dire beaucoup moins réactif que les radicaux libres porteurs de chaînes. Ce sont le plus souvent des phénols encombrés ou des amines aromatiques secondaires.

On les appelle aussi antioxydants par rupture de chaîne ou désactivateurs de radicaux libres.

En présence d'un phénol ϕ -OH, par exemple, on peut présenter le processus, comme suit [11] :



Comme on a vu auparavant, l'hydroxyle c'est le radical le plus réactif et le plus dangereux dans l'organisme. La neutralisation des produits des réactions radicalaires de HO est considérée comme une réaction importante et ce serait à la base de l'effet des antioxydants contenue dans alimentation sur l'incidence de certaines maladies [12,13].

Les peroxydes sont des produits primaires de l'oxydation. Les décomposeurs de peroxydes (sans formation de produits radicalaires) désactivent ces derniers et on les appelle parfois antioxydants secondaires parce qu'ils suppriment les peroxydes qui sont des amorceurs secondaires de l'oxydation. Ce sont, par exemple des sulfites, des phosphates, ou des thioesters [11].

II. 2. 2. Le Stress oxydant :

Normalement, un équilibre relatif existe entre la formation de radicaux libres et neutralisation de ceux-ci par des molécules antioxydantes. Toutefois, une production excessive de radicaux libres ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut déséquilibrée la balance oxydant / antioxydant. [14-16].

II. 2. 3. Système de défense :

Afin d'empêcher la formation des radicaux libres et de limiter l'oxydation qui provoque les dommages oxydants dans les cellules, l'organisme est équipé de plusieurs systèmes de défense, à savoir : enzymatiques et non enzymatiques (moléculaires naturels et synthétiques).

II. 2. 3. 1. Les systèmes enzymatiques antioxydants :

Ce type d'antioxydant est composé d'enzymes, à action directe sur les ERO. Trois enzymes ont un rôle essentiel dans la détoxification des espèces réactives de l'oxygène. La superoxydedismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase. La glutathion peroxydase a un site actif qui contient du sélénium et elle a besoin de glutathion réduit (GSH) pour fonctionner. C'est une enzyme ubiquitaire qui présente l'une des défenses antioxydantes les plus importantes de l'organisme [17]. Ces trois enzymes sont préventives parce qu'elles agissent sur les espèces impliquées dans l'initiation de la chaîne de réaction des radicaux libres. Alors que les molécules antioxydantes les plus petites, tel que l'ascorbate, le tocophérol, l'ubiquinone, l'urée et le GSH, sont capables de piéger directement les radicaux oxydants et sont ainsi des antioxydants « briseurs » de la chaîne radicalaire [18].

II. 2. 3. 2. Les antioxydants moléculaires :

Il existe deux types d'antioxydants :

II. 2. 3. 2. A. Les antioxydants endogènes :

Qui sont fabriqués par les cellules de notre corps.

- **Le glutathion :**

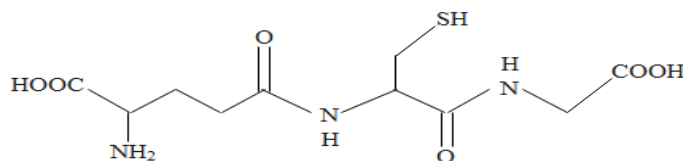


Figure II. 11 Structure du glutathion (GSH).

Au cœur des défenses antioxydantes, le glutathion est le thiol le plus abondant dans les organismes et les systèmes vivants.

- **L'acide urique :**

L'acide urique (Figure II. 3) est un piègeur de $^1\text{O}_2$, des radicaux peroxydes et hydroxyles (RO_2^\bullet et HO^\bullet), de l'ozone et de HClO . La réaction de l'acide urique avec ces ROS génère des radicaux moins réactif que HO^\bullet .

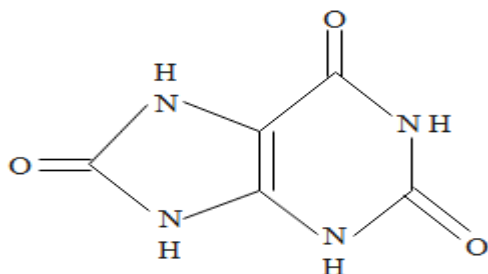


Figure II. 12 Structure de l'acide urique

II. 2. 3. 2. B. Les antioxydants exogènes :

Ce sont ceux que nous consommons tous les jours dans notre régime alimentaire, notamment ceux contenus dans les fruits et légumes.

- **La vitamine E (ou α -tocophérol)**

La vitamine E est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celle de la famille des tocophérols. Elle a besoin d'interagir avec d'autres composés pour agir correctement. Elle se trouve dans tous nos tissus.

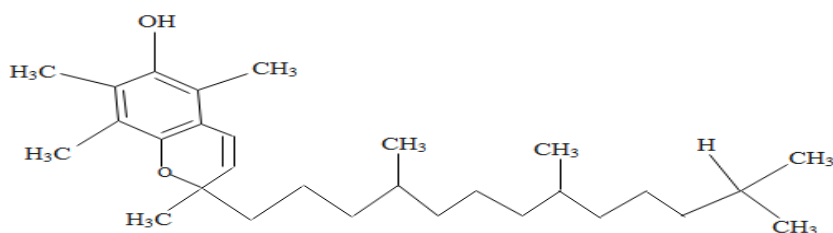


Figure II. 13. Structure de la vitamine E (ou α -tocophérol) (T-OH)

L' α -tocophérol est le principal antioxydant contenu dans les LDL. Chaque particule de LDL contient en moyenne de 6 à 12 molécules de vitamine E [19-20].

- **La vitamine C (ou acide ascorbique)**

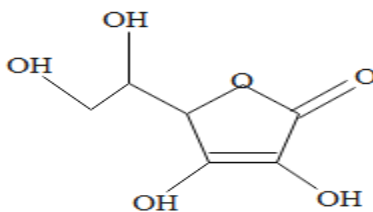


Figure II. 14. Structure de la vitamine C (Asc).

La vitamine C agit principalement en piégeant directement les ROS (majoritairement l'O₂^{•-} et le ONOO⁻).

Elle est aussi capable de recycler l'α-tocophérol de façon à agir en synergie avec ce dernier dans la prévention de la peroxydation lipidique.

La vitamine C est l'un des principaux antioxydants hydrosolubles présent dans les fluides intra et extra cellulaires (compartiments hydrophiles) [21].

- **Les antioxydants phénoliques :**

Les polyphénols jouent un grand rôle dans la quantité nutritive et hygiénique des aliments. Ils interviennent également dans la digestibilité des aliments, dans l'utilisation physiologique des protéines. Les décès dus aux infarctus du myocarde ou par athérosclérose coronarienne sont associés au taux élevé des cholestérols de type LDL circulant dans le sang [22-23].

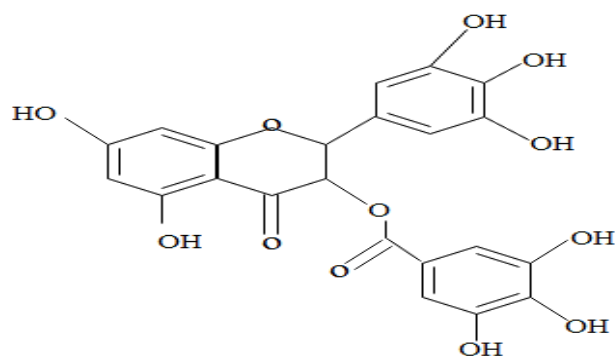
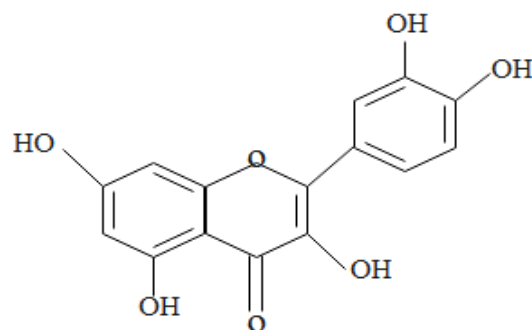
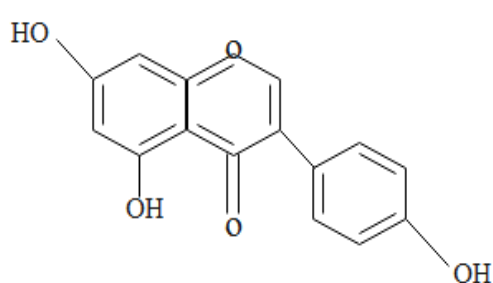
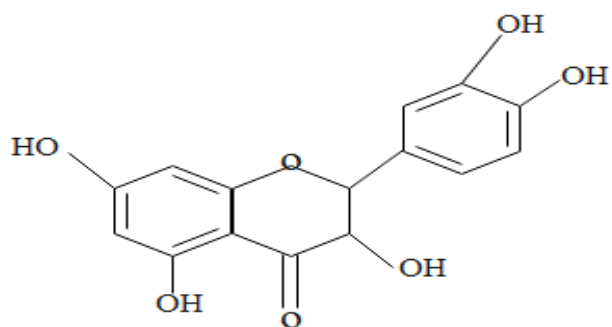
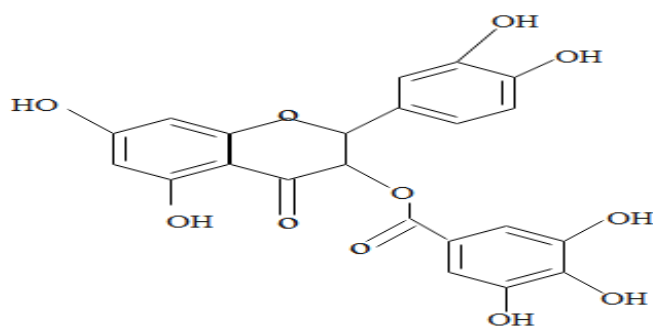
1. Les antioxydants phénoliques naturels :

Les antioxydants présents dans le raisin, le thé ou les fruits sont souvent de type phénolique.

Les composés phénoliques présents dans le vin peuvent être séparés entre les flavonoïdes et les non-flavonoïdes [24].

➤ Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde ressemble de nombreux composés naturels repartis en plusieurs familles dont les plus importantes sont les catéchines, la quercitrine, les iso flavonoïdes ou l'acide gallique. . Ce sont des pigments naturels qui donnent leurs couleurs aux plantes. Les études chez l'homme ont permis de montrer que les flavonoïdes, et notamment les isoflavones contenus dans le soja, permettent de réduire le taux de mauvais cholestérol [25].

**Epigallocatechine-3-O-gallate****Quarcétine****Isuflavone (Génistéine)****Catéchine****Epicatechine-3-O-gallate****Figure II. 15. Structure de quelques flavonoïdes**

➤ **Les non-flavonoïdes :**

Les composés non-flavonoïdes regroupent les acides phénoliques et les stilbènes. Ils ne possèdent pas de squelette « flavone ».

▪ **Les acides phénoliques :**

Les composés phénoliques sont également présents, comme les dérivés d'esters hydroxy cinnamiques possédant une structure du type C₆-C₃ (Figure II.7). Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique. L'acide caféique qui a très largement démontré son activité antioxydante [26]. L'acide férulique et l'acide sinapique [27].

On trouve aussi des dérivés de ces acides, comme l'acide chlorogénique présent dans les pommes. Ce dernier s'avère être un antioxydant intéressant, à tel point que de nombreux laboratoires tentent d'en faire sa synthèse [28].

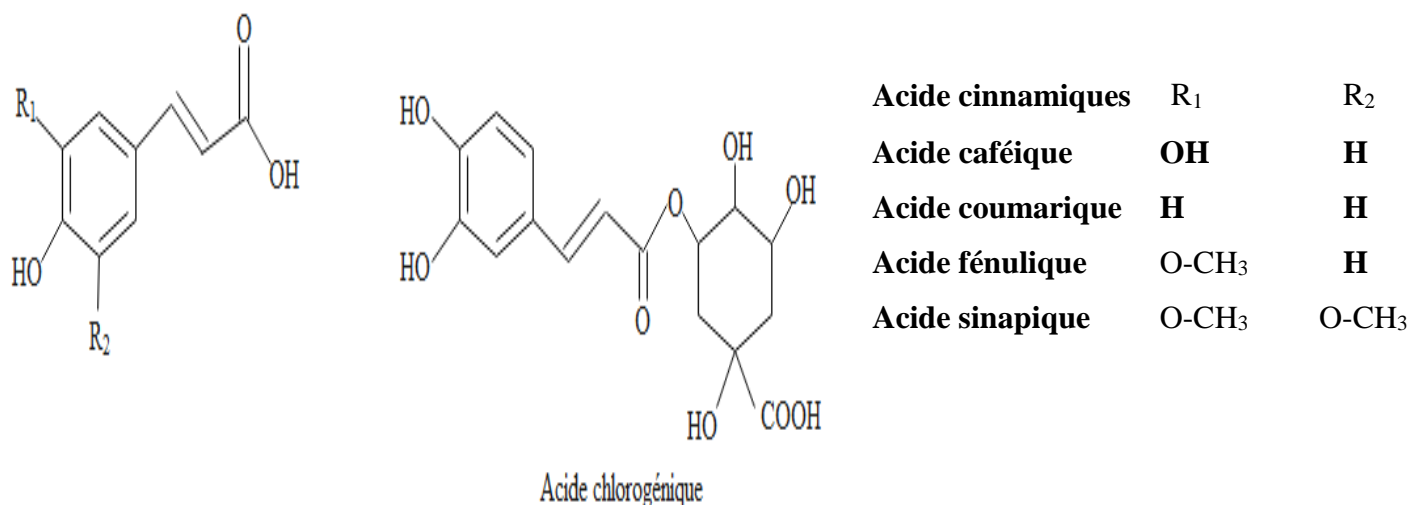


Figure II. 16. Structure de dérivés de l'acide p-hydroxy cinnamique.

▪ **Les stilbènes :**

Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par un double liaison, formant un système conjugué. Cette particularité leur confère une grande réactivité due à la délocalisation des électrons π sur la totalité de la molécule.

Les stilbènes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes vis-à-vis des lipoprotéines à basse densité LDL. Ils pourraient ainsi jouer un rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires [29].

Les plus abondants dans le raisin sont le trans-resvératrol et son dérivé glucosylé : le picéide, ainsi que les dimères comme le resvératrol qui présent dans le raisin noir et dont l'activité antioxydante est probablement associée à sa capacité à régénérer la vitamine C [30].

Ce composé intervient également dans différents mécanismes biologiques (inhibition de l'agrégation des plaquettes, antagonisme aux récepteurs à estrogènes, propriétés anti inflammatoires, etc.) [31].

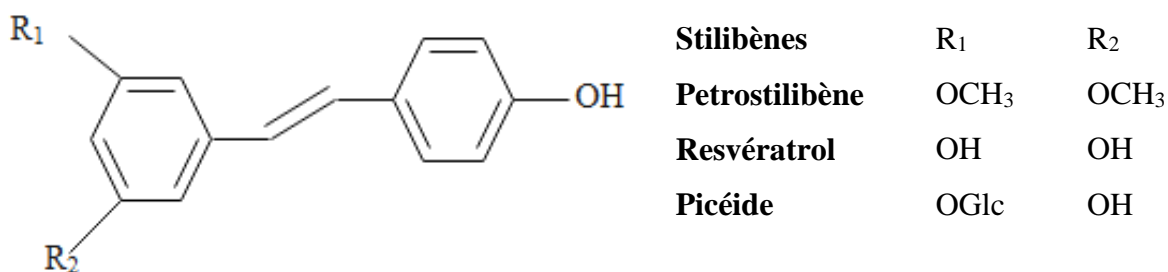
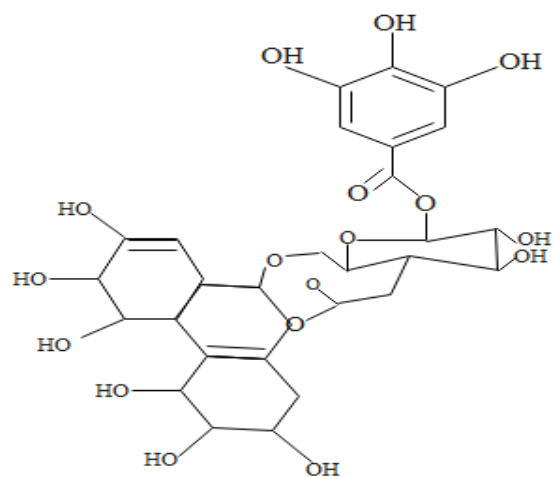


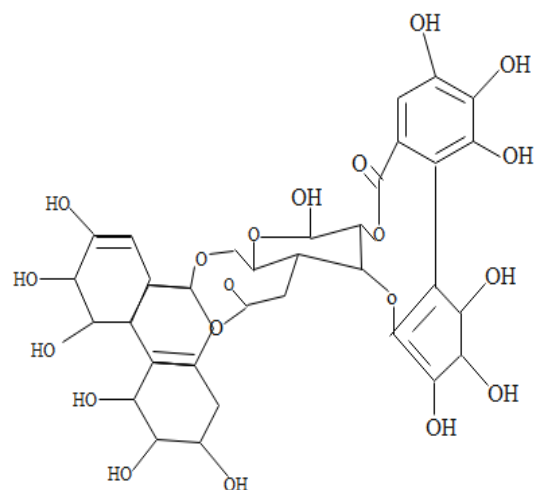
Figure II. 17. Structure de quelques stilbènes.

▪ Les ellagitanins :

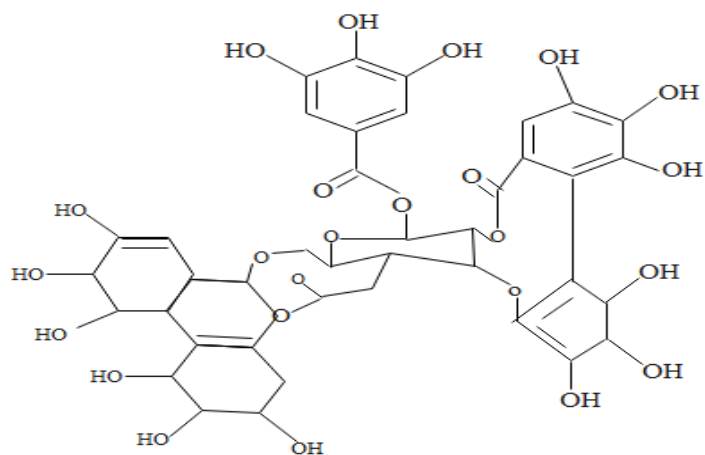
Les ellagitanins sont présents dans le bois de chêne, la grenade, la framboise et le vin rouge. Les ellagitanins de la framboise sont parmi les antioxydants les plus efficaces contre la formation d'hydro peroxydes diènes conjugués et des composés carbonylés [32]. Ils participent fortement à l'activité anti radicalaire des vins rouges et piègent les radicaux libres $O_2^{\cdot-}$ grâce aux différents groupes phénoliques [33].



galloy-HHDP-glucose
HHDP hexahydroxydiphénique



pedunculagin



galloyHbis HHDP glucose

Figure II. 18. Unités monomère de base pour l'ellagitanins.

2. Les antioxydants phénoliques de synthèse :

Il existe aussi de nombreux antioxydants synthétiques dont les palettes sont souvent dérivées des antioxydants naturels.

Devant le besoin inéluctable de créer de nouveaux antioxydants toujours plus efficace, un nouveau composé, le 2,3-dihydro-5-hydroxy-2,2-dipentyl-4,6-ditertiobutylbenzofurone ou BO-

653 (Figure II.10) s'est avéré surpasser l'activité de l' α -tocophérol et du pro Bucol dans l'inhibition de l'oxydation des LDL [34].

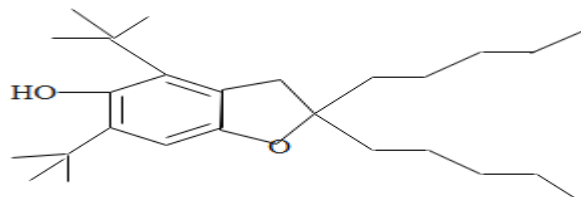


Figure II. 19. Structure du BO-653

En complément du BO-653, d'autres composés ont été synthétisés puis testés, mais les résultats sont moins bons. (Figure II. 11) [35].

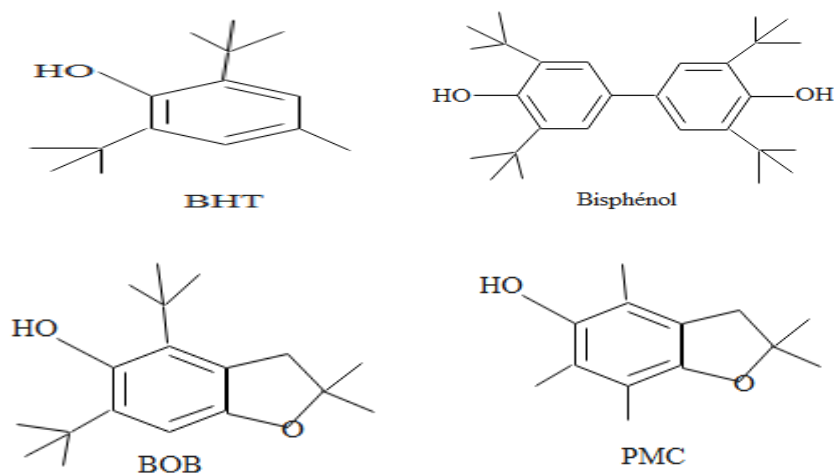


Figure II. 20. Structures d'antioxydants phénoliques de synthèse.

II.3. Conséquences du stress oxydant sur l'organisme :

L'altération des fonctions cellulaires, la perte de leur intégrité voire la mort cellulaire qui en résultent, sont responsables des processus de vieillissement et de pathologies multiples : Initiation et promotion des cancers, maladies cardio-vasculaires et pathologies neuro-dégénératives, cataracte.

II. 4. Les polyphénols et la santé de l'homme :

L'homme n'est pas capable d'assurer la biosynthèse de la plus part des antioxydants, en particulier ceux de nature phénolique. Il doit donc les trouver dans son alimentation et l'ingestion de polyphénols dans la réaction journalière est alors un facteur nutritionnel considéré comme positif par les nutritionnistes et bénéfique a notre santé. De nombreux composés phénoliques sont naturellement présents dans les fruits, les fleurs, les graines ou l'appareil végétatif de nombreuses plantes [37]. Les polyphénols, que l'on trouve principalement dans les fruits, semblent être la dernière ligne de défense contre les radicaux libres [38].

Bien que les antioxydants phénoliques puissent protéger diverses molécules biologiques de la dégradation oxydative, en particulier l'ADN, une de leurs interventions majeures concerne les lipides, qu'il s'agisse des lipides cellulaires de ceux que l'on trouve dans les produits dérivés des plantes et des animaux [37].

Les composés phénoliques comme les flavonoïdes des Citrus, du thé ont des activités multiples, intervenant dans des domaines thérapeutiques aussi variés que le traitement des insuffisances veineuses, la protection contre les accidents cardiovasculaires, l'inhibition du développement de cellules cancéreuses ou encore les effets anti-inflammatoires.

Les antioxydants phénoliques ont un effet protecteur sur les lipoprotéines sanguines, dites de faible densité (LDL) qui transporte le cholestérol du foie vers les tissus. L'oxydation des LDL par les macrophages conduit à l'accumulation de cholestérol et autre lipides dans les parois des artères, créant un épaissement qui peut aller jusqu'au bouchage des vaisseaux et conduire à la mort des tissus non irrigués. Les causes de cette maladie sont multiples mais les études *in vivo* réalisés sur les rats et les études épidémiologiques des vingt dernières années ont montré que la présence d'antioxydants phénoliques dans le sang permet de limiter le phénomène.

Les autres aliments riches en polyphénols (thé, pomme, orange, cacao, jus de fruits en particulier ceux de grenade et de myrtille, etc.) assurent également une protection contre les maladies coronariennes mais l'efficacité dépend de la nature et de la concentration des composés eux-mêmes, de leur Vitesse d'absorption dans l'intestin grêle et de leur métabolisation à l'intérieur de l'organisme. De nombreux flavonoïdes sont également impliqués dans l'inhibition de l'agrégation des plaquettes sanguines et de leur adhérence sur la paroi des vaisseaux [37].

De nombreux flavonoïdes sont également impliqués dans l'inhibition de l'agrégation des plaquettes sanguines et de leur adhérence sur la paroi des vaisseaux [37].

II. 5. Propriétés biologiques des flavonoïdes :

La principale propriété initialement reconnue aux flavonoïdes est d'être « veino-actifs », c'est à dire capables de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance [39].

II. 5. 1. Activité anti-oxydante :

Les flavonoïdes ont été découverts dans les années 30 par Albert Szent-Györgyi. Lauréat prix Nobel, en tant que des composés avec l'activité anti-oxydante prononcée [40].

Les flavonoïdes expriment les propriétés anti-oxydantes par : Le piégeage direct des espèces réactives de l'oxygène (ERO), La suppression de la formation des ERO par l'inhibition de quelques enzymes ou par chélation des ions métalliques, impliqués dans leur production, La protection des systèmes de défense antioxydants de l'organisme [41].

II. 5. 2 Activité anti tumorale :

La plupart des flavonoïdes sont *in vitro*, antimutagènes : quelques flavonols sont sur les mêmes modèles mutagènes et un petit nombre d'entre eux sont anti cancérogènes et inhibiteurs de la croissance des cellules tumorales *in vitro* [39]. Les effets anti carcinogènes de la quercétine et d'autres flavonoïdes deviennent de plus en plus évidents [42-43] ont démontré que la quercétine n'était pas génotoxique et en revanche, elle a augmenté la stabilité génomique chez les rats ayant une cirrhose biliaire induit par la ligature cholagogue.

En plus de l'activité anti-oxydante [44] ont observé une activité anticancéreuse, pour l'épi catéchine, procyanidine B2, procyanidine B4 de la fraction d'acétate d'éthyle des extraits du litchi.

II. 5. 3. Effets cardiovasculaires :

Récemment, beaucoup d'études se sont concentrées sur les effets cardiovasculaires des flavonoïdes. Les rapports épidémiologiques ont démontré que les gens peuvent avoir une incidence plus limitée en maladies du cœur, s'ils ont une ingestion diététique élevée en flavonoïdes [45].

II. 6. Propriétés Physico-Chimiques des flavonoïdes :

II. 6. 1. Solubilité et l'extraction :

Les gènes sont pour la plupart, solubles dans les solvants organiques apolaires. Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par de l'acétone ou par des alcools additionnés d'eau. Il est possible de procéder ensuite à une évaporation sous vide et lorsque le milieu ne contient plus que de l'eau, de mettre en œuvre une série d'extractions liquide-liquide par des solvants non miscibles à l'eau [39]. Si les aglycones sont les cibles, une hydrolyse chimique est habituellement effectuée avec de l'acide chlorhydrique ou l'acide formique à des températures élevées, l'hydrolyse enzymatique est également employée. Si l'intérêt des flavonoïdes-glycosyles intacts, l'hydrolyse devrait naturellement être empêchée [46].

II. 6. 2. Dosage :

Les méthodes de dosage classiques sont le plus souvent, colorimétriques ou spectrophotométriques. L'HPLC offre maintenant la possibilité d'une estimation rapide et précise de tous les flavonoïdes [39].

II. 7. Méthode de mesure de l'activité antioxydante :

Grace à la propriété essentielle de l'antioxydant (piégeur des radicaux libres), plusieurs méthodes ont été mise au point pour évaluer l'efficacité des antioxydants à piéger les radicaux libres et d'empêcher les réactions radicalaires. La majorité de ces méthodes se base sur des phénomènes chimiques, des processus physiques et des instrumentations spécifiques. La plupart des procédés analytiques exigent un prétraitement avant la mesure. Toutes ces méthodes couvrent les antioxydants primaires et secondaires.

En principe, si un composé montre une faible activité antioxydants in vitro, il est très rare qu'il présente une activité meilleure in vivo [47] aussi les mécanismes d'oxydation et de prévention in vivo sont différents à cause de la perméabilité cellulaire et du processus de transport [48].

II. 7. 1. Méthodes de FRAP :

La méthode FRAP (FerrieReducingAntioxidant Power) est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés [49].

La concentration des compose réducteurs (antioxydants) dans l'extrait est exprimée en mmol Equivalent Standard/g d'extraits selon la formule :

$$C (\%) = \frac{C_1 \times C}{M \times C_i}$$

C: Contraction en composés réducteurs en mmol Equivalent Standard/g d'extrait sec.

C_1 : Concentration de l'échantillon lue.

D: Facteur de dilution de la solution mère d'extrait.

C_i : Concentration de la solution mère d'extrait.

M : Masse molaire (g/mole).

II. 7. 2. Méthode d'ABTS :

Elle est basée sur la décoloration d'un cation radicalaire stable. $ABTS^{\cdot+}$ (2,2'-azynobis-[3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonique acide) en ABSTS en présence de composés antiradicalaires à 734 nm car le cation radicalaire chromophore $ABTS^{\cdot+}$ de couleur bleu-vert directement produit par réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium a une absorption maximale à 734 nm.

II. 7. 3. Activité réductrice sur le ferricyanure de potassium :

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice des extraits polaires est déterminée selon la méthode d'Oyaizu (1986), basée sur la réaction chimique de réduction du Fer (III) présent dans le complexe $K_3 Fe(CN)_6$, en Fer (II). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés [50].

II.7.4. Capacité de piégeage du radical anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$:

Le pouvoir antioxydant d'un extrait peut également être évalué par sa capacité à piéger les espèces oxygénées réactives telles que l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$. Cette méthode est basée sur la réaction chimique de réaction du bleu de tetrazolium, dépendant directement de la présence de radicaux superoxydes. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminé à 560 nm. Une diminution de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir antioxydant des extraits testés. Le pouvoir antioxydant de molécules ou d'extraits est ainsi déterminé en évaluant le pourcentage d'inhibition de l'absorbance du radical $O_2^{\cdot-}$ à 560 nm [50].

$$\% \text{ d'inhibition} = \left[1 - \left(\frac{A_{test}}{A_{contrôle}} \right) \times 100 \right]$$

$A_{contrôle}$: Absorbance sans antioxydant.

A_{test} : Absorbance avec antioxydant.

II. 7. 5. Capacité de piégeage du radical DPPH :

Une autre méthode très utilisée pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé consiste à étudier sa réaction avec le DPPH, un radical libre très stable à l'état cristallin et en solution, de coloration violette et il reste stable plusieurs jours, présentant une absorption caractéristique λ [25]. L'activité anti radicalaire est basée sur la réduction de l'absorbance à 517 nm lorsqu'un radical libre stable de 2,2-diphényl-picrylhydroxyl (DPPH.) est réduit [51].

II. 7. 6. Méthodes électrochimiques :

La voltammétrie cyclique et la voltammétrie à onde carrée sont des méthodes récentes qui peuvent être utilisées efficacement pour la mesure de l'activité antioxydante. Elle n'exige pas un prétraitement. La technique fournit un voltammogramme reproductible qui est obtenu en quelques minutes. D'après un simple calcul, on peut évaluer l'activité antioxydante [52].

II. 8. Rôles des flavonoïdes chez les plantes :

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont responsable de la coloration des fleurs, des fruits et parfois feuilles. Quand ils ne sont pas directement visibles, ils contribuent à la coloration par leur rôle de Co-pigments.

Dans certains cas, la zone d'absorption de la molécule est située dans le proche ultraviolet : la coloration n'est alors perçue que par les insectes qui sont ainsi efficacement attirés et guidés vers le nectar et donc contraints à assurer le transport du pollen [39]. On peut également noter que les flavonoïdes, en repoussant certains insectes par le goût désagréable, peuvent jouer un rôle dans la protection des plantes.

Les flavonoïdes montrent d'autres propriétés intéressantes dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant d'une manière complexe avec diverse hormones végétales de croissance. Certains d'entre eux jouent également un rôle de phytoalexines, c'est-à-dire des métabolites que la plante synthétise en grande quantité pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries [53].

De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, la morphogenèse, la détermination sexuelle, la photosynthèse et la régulation des hormones de croissance des plantes [53].

Bibliographie

Références Bibliographiques

- [1] Noveli, G.P.J. *PhysiolPharmacol*, 1997, 48, 517-52.
- [2] A .Favier. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. 2003.108 115
- [3] Albert. M.Gardès,. Z .Abedinzadch.. D Jore,. L'actualité chimique. 2003, 269-270
- [4] D.Han. E Williams. Cadenas, *Biochem J*.2001, 353.411-416
- [5] R .Salvayre. N. Auge. Nègre Salvayre. A. Rôle de l'oxydation dans la genèse et la progression de l'athérosclérose : Physiopathologie Diagnostics Therapeutiques, JF. Toussaint, MP, Jacob L lagost, J. Chapman, Eds. Masson: Paris, 2003, 14.269.290.
- [6] L. Mabile.O.Meilhac,. Escargueil-Blanc, L. Troly, M. Pieraggi, M .T. Salvayre. R Niègre-Salvayre. A. *Arterioscler. ThrombVasc. Biol.* 1997, 17, 1575-1582.
- [7] U, Solzbach. B. Homig. M. Jeserich, H. Just .Vitamin C improves endothelial dysfunction of epicardial coronary arteries in hypertensive patients. *Circulation* . 1997. 96(5):1513. 1519.
- [8] A. Boldyrev. Protection of proteins from oxidative stress a new illusion or a novel strategy? *Ann N.Y Acad Sci.* 2005,157 ; 193-205.
- [9] B. Halliwell, J. M. Gutteridge. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free RadieBiol Med.* 1995. 18(1):125-126.
- [10] W.J. Bauer, R. Badoud J. Loliger.A. Etournaud .Science et technologie des aliments : Principes de chimie des constituants et de technologie des procédés, l'èreédition, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2010.p.212
- [11] B. Poaty-Poaty Modification chimique d'antioxydants pour les rendre lipophiles. application aux tannins. Thèse de Doctorat, Université de Nancy. 2004.l. p.4, 135
- [12] I, Tedesco, M. Russo, P. Russe, G Iacomino, G. L. Russo, A. Carraturo, C. Faruolo, I Moio, R. Palumbo Antioxidant effect of red wine polyphenols on red blood cells.*J.NutrBiochem.*, 2000. 11(2):114-119.
- [13] A.N. ColadoSimao, A, A. Suzukawa, M, F, Casado, R, D, Oliveria, F, A, Guarnier, R, Cecchini .Genistein abrogates pre-hemolytic and oxidative stress damage induced by 2,2-Azobiz (Amidinopropane), *Life Sci.*2006. 78 (11) :1202-1210.
- [14] J. Médart .Manuel pratique de nutrition : l'alimentaion préventive et curative ,2e édition, Editions De Boeck Université, Bruxelles, 2009, p.2-51

- [15] L,Papazian. A, Roch .Le syndrome de détresse respiratoire aiguë, Springer-Verlag, France, 2008, p.153
- [16] C,Poncelet. C, Sifer .Physiologie , Pathologie et Therapie De la reproduction chez l'humain , Springer-Verlag France, Paris. 2011.,p,84.
- [17] C,Ichai. H, Ouitarnd, J.C Orban .DesordresMetaboliques et Reanimation : De la Physiopathologie Au Traitement. Springer-Verlag, France, 2011.p.427.429
- [18] G. R, Butter .The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol and ascorbate. Arch Biochem.Biophys. 1993. 300 (2) : 535-543.
- [19] B, Halliwell, Am. J. ClinNutr. 1995, 61, 670-677.
- [20] G. W, Burton. A, Joyce. K.U ,Ingold. Lancet. 1982, 320, 327.
- [21] S. Vertuani. A, Angusti. S, Manfredini, Curr. pharm. Des. 2004, 10, 1677-1694.
- [22] C ,Manach. Mazur. A, Scalbert. CurrOpin. Lipidol 2005, 16, 77-84
- [23] A.C, Karolina. G.V.Z, Dedoussis. Schmidt H, Atherosclerosis, 2006, 187, 1-17
- [24] C,Alan. J,Indu .C Michael. Nat. Prod. Rep, 2009,26, 1001-1043
- [25] J.W, Anderson. B.M, Johnstone. Cook-Newell.M.E.N.Engl. J. Med. 1995, 333.276.282.
- [26] I .Gulcin. Toxicology. 2006, 217, 213-220
- [27] G,Goetz. A, Fkyerat. N,Metais. M, Kunz. R.Tabacchi, R Pezet. V. Pont, Phytochemistry. 1999, 52.759.767
- [28] M,Sefkow. Eur. J.Org. Chem. 2001, 1137-1141
- [29] EN ,Frankel. A, L .Waterhouse, J.E. Kinsella, The Lancet, 1993, 341.1103-1104
- [30] J.G .Fang, Lu,M,Chen,Z,H. Zhu, H., Li, Y. Yang. L. Wu, LM. Liu, ZL Chem Eur. J. 2002, 8,4191 4198
- [31] C, R., Pace Asciale, S. Hahn, EP.Diamandis, G. Soleas, D.M Goldberg. ClinChimActa. 1995, 235, 207-219.
- [32] V.Kaarina. K, Petri. K ,Riita. H, J, Marina. Agric. Food. Chem. 2004.52.7419-7424
- [33] Y, Glories. N, Vivas. J Sci. Tech. Tonnellerie., 1998, 4.147.161
- [34] N, Noguchi. Y, Iwaki. M,Takahashi. E, Komuro. Y, Kato. K,Tamura.O, Cynsh . T,Kodama E,Niki. Arch. Biochem. Biophys. 1997. 342, 236-243
- [35] k.M. Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde. Evaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.thèse. Université Toulouse 3 Paul Sabatier.2017.

- [36] J Médart .Manuel pratique de nutrition : L'alimentation préventive et curative.2e édition, Editions De Boeck Université, Bruxelles, 2009, p.2-51
- [37] J.J. Macheix. A. Fleuriet. C Jay-Allemand .les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, Italie, 2005, p. 142, 145, 148, 151.
- [38] D. Lanzmann-Petithory .La diététique de la longévité, Edition Odile Jacob, Paris, 2002. p.130
- [39] J, Bruneton. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3eme Edition Tec & Doc (Ed). Paris, 1999 .575
- [40] P,Hodek. P,Trefil. M, Stiborova.Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chemico-Biological Interactions*.2002. 139 :1-21
- [41] Boudiaf, K..Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigellasativa*. Mémoire de magister Setif. 2006.
- [42] P,C.H,Hollman. M.G.L,Hertog. M.B, Katanc. Analysis and health effects and flavonoids. *Food chem* 1996 .51.43-46.
- [43] J, Tieppo. R,Vercelino. A.S, Dias. M.F, Silva Vaz. T.R. Silveira. C.A, Marroni. N.P, Marroni. J.A.P, Henriques. J.N, Picada. Evaluation of the protective effects of quercetin in the hepatopulmonary syndrome. *Food and Chemical Toxicology*. 2007 45: 1140-1146.
- [44] J,Li. Y, Jiang. Litchi Flavonoids: Isolation, Identification and Biological Activity. *Molecules*. 2007. 12: 745-758.
- [45] Y.C,Xu. S.W.S, Leung. , D.KY,Yeung. L.H, Hu,G.H, Chenc. Che, C.M., Man, RYK. Structure-activity relationships of flavonoids for vascular relaxation in porcine coronary artery.*Phytochemistry*.2007 . 68: 1179-1188
- [46].DeRijkeE.Out.Niessen, WMA, Ariese, .F. Gooijer C. Henkman. U AT Analytical separation and detection methods for flavonoids. *J ChromatographyA* , 2006 .1112 : 31,63
- [47] Y S, Hanasaki. S, Ogawa. Foku .The correlation between active oxygen searching and oxidative effects of flavonoids. *Free. Rad Biol. Med*. 1994. 16.845-850
- [48] M Antolovich. P D. E, Prenzler. S,Patsalides. K,McDonald. Robards .Methods for testing antioxidant activity.*Analyst*. 2002. 127: 183-198.
- [49] H J, Hinneburg. R,Damien Dorman. Hiltunen .Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. *Food Chem*. 2006. 97:122-129

[50] Jane Hubert .Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja - Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 2006. p.64

[51] I, T.A, Koleva.J.P, van Beek. Linssen, A. Groot. L N. Evstatieva .Screening of plants extract for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemicalanalysis*, 2002, 13(1):8-17.

[52] A, Marfak.Radiolyse gamma des flavonoides. Etude de leur reactivite avec les radicaux issus des Alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat. Limoges .2003.76

[53] A, Lhuillier. Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauriasalicifolia* Hook.f ex Oliver. *Agauriapolyphylla* Baker (Ericaceae). *Tambourissatrichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embeliaconcinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse. 2007.20-21

Conclusion générale

Conclusion générale

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie.

Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires.

Les extraits naturels issus des plantes contiennent une variété de composés phénoliques et des huiles essentielle auxquelles on attribue un pouvoir inhibiteur des microorganismes et des capacités antioxydantes.

La présente étude a pour but d'étudier deux variétés locales de menthes provenant de la région d'El-oued (menthe poivrée, menthe Arvensis), ainsi de mettre en évidence la distribution des composés phénoliques (polyphénols) dans les différentes espèces à travers de leurs teneurs en composés phénoliques.

Une étude bibliographique intéressante sur les radicaux libres, antioxydants et les polyphénols nous a permis de bien comprendre leurs fonctionnements ainsi que leurs rôles dans la santé de l'homme.

Nous pensons montrer à travers ce travail que les plantes constituent un réservoir très intéressant pour la recherche dans le future.

