

**REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

N° .....

Série.....

**THESE**

Présentée à

**L'UNIVERSITE MENTOURI - CONSTANTINE**

*Faculté des Sciences Exactes*

*Département de Chimie*

Pour obtenir

**Le Titre de Doctorat en Sciences**

**Option : phytochimie**

Présentée par

**ALI KALLA**

**Etude et valorisation des principes actifs de quelques  
plantes du sud algérien :**

*Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum et Traganum nudatum*

Soutenue le 04 /10 / 2012 devant le jury :

|                            |   |            |
|----------------------------|---|------------|
| <b>SALAH ROUATI</b>        | Prof. U. Mentouri, Constantine          | Président  |
| <b>DJABALLAH BELKACEMI</b> | Prof. Université Laarbi Benmhidi, O E B | Rapporteur |
| <b>SALAH AKKAL</b>         | Prof. U. Mentouri, Constantine          | Examineur  |
| <b>NOUREDDINE GHERRAF</b>  | Prof. U. Laarbi Benmhidi, O E B         | Examineur  |
| <b>DJABRI BELKACEM</b>     | MCA U. Larbi Tébessi Tébessa            | Examineur  |

# إهداء

محمد ..... إبنى

إليك أهدي هذا العمل المتواضع

لن أذكر ما حبيت

## Remerciements

Tout d'abord, je tiens particulièrement à remercier Monsieur le Professeur Djaballah Belkacemi pour qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail tout au long de ces années.

Mes remerciements vont également à Monsieur le Professeur Salah Rouati, doyen de la faculté des sciences exactes à l'université Mentouri de Constantine d'avoir accepté de présider le jury de ma soutenance de thèse et pour ses observations précieuses au cours de la révision du manuscrit.

Je remercie sincèrement Monsieur Nouredine Gherraf, professeur à l'université Laarbi Benmhidi d'OEB. Ses conseils et ses commentaires et aussi sa bienveillance et son humour auront été fort utiles.

J'adresse également mes remerciements à Monsieur le Professeur Salah Akkal de l'Université de Mentouri de Constantine et Monsieur, B. Djabri, Maître de conférences à l'université Cheikh Laarbi Tebessi de Tébessa pour avoir accepté de juger ce travail.

Mes remerciements vont également à mon épouse et à madame W. Mokdad pour m'avoir aidé dans la révision de la langue de ce manuscrit.

Cette thèse est le fruit d'une collaboration de mes collègues et amis des laboratoires des matériaux organiques de Tébessa, chimie Organique de Ouargla et de phytochimie d'Elminia en Egypte. Je tiens à remercier donc ; A. Gouasmia, L. Kaaboub, L. Messai, M. Benahmed, B. Harkati, M. E. F. Hegazy, M. Tarik, M.R. Ouahrani, B. Labed S. Hameurelain , S. Chihi, A. Ec-chahma et autres pour leur agréable compagnie et leurs soutiens.

## Abréviations et symboles

Les abréviations ont été indiquées sous la forme la plus couramment utilisée dans la littérature, elles sont donc souvent issues de terminologie française, anglaise ou grecque.

| <b>Symbole</b>    | <b>Désignation</b>   |
|-------------------|--|
| [1],[2], ...      | Désignation mentionnée dans la partie bibliographique  |
| (A),(B), ...      | Composés identifiés pour la première fois dans le <i>P. scoparius</i> selon la banque utilisée |
| RMN               | Résonance Magnétique Nucléaire   |
| CC                | Chromatographie sur Colonne  |
| CPG               | Chromatographie en phase gazeuse   |
| CCM               | Chromatographie sur couche mince   |
| DCM               | Dichlorométhane  |
| HE                | Huiles essentielles  |
| SM                | Spectroscopie de masse   |
| °C                | Degré Celsius  |
| A, B, C,...       | Désignation des composés naturels isolés dans le présent travail                               |
| AcOEt             | Acétate d'éthyle   |
| UV                | Ultraviolet  |
| Uma               | Unité de masse atomique  |
| RMN H             | Spectre de résonance magnétique nucléaire du proton  |
| Et al.            | Et autres auteurs  |
| Hz                | Hertz  |
| Nm                | Nanomètre  |
| DMSO-d            | Diméthylsulfoxyde deutérié   |
| CPG/SM<br>(GC-MS) | Chromatographie en phase gazeuse couplée par la spectroscopie<br>de masse                      |
| µl, ml            | Microlitre, millilitre   |

|                     |   |
|---------------------|---|
| g , kg              | Gramme, kilogramme  |
| min, h              | Minutes, heures   |
| eV                  | Electron volt   |
| ppm                 | Partie par million  |
| <sup>13</sup> RMN C | Spectre de résonance magnétique nucléaire de carbone 13           |
| %                   | Pourcentage   |
| C (g/l)             | Concentration (en gramme par litre)                               |
| CMI                 | Concentration minimale inhibitrice                                |
| DPPH                | Diphényl picrylhydrazyl   |
| FRAP                | Ferric Reducing / Antioxydant power                               |
| ABTS                | Acide 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonique          |
| Vc                  | Acide ascorbique  |
| Ve                  | Tocophérol  |
| TPTZ                | 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine (2,4,6 -tripyridyl-s-triazine |
| VEAC                | ferrique)<br>Vitamine E, Equivalent, Antioxydant, Capacity        |

## Listes des figures

| Figure           | Désignation  | Page |
|------------------|--|------|
| <i>Figure 1</i>  | Structure des molécules : carvacrol et eugénol   | 15   |
| <i>Figure 2</i>  | Structure des molécules : géraniol et citronellol  | 15   |
| <i>Figure 3</i>  | Structure des molécules : citral et citronellal  | 16   |
| <i>Figure 4</i>  | Structure de La molécule de carvone  | 16   |
| <i>Figure 5</i>  | Structure de la molécule d'ascaridole et du limonène   | 17   |
| <i>Figure 6</i>  | Identification des composés d'une HE par GC-SM   | 37   |
| <i>Figure 7</i>  | Organigramme des origines des radicaux libres oxydants et les types des réactions d'oxydation appliquées en biologie   | 41   |
| <i>Figure 8</i>  | Antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie alimentaire  | 42   |
| <i>Figure 9</i>  | Les fleurs de la plante <i>Pituranthos scoparius</i>   | 46   |
| <i>Figure 10</i> | <i>Pituranthos scoparius</i> de la région de récolte   | 46   |
| <i>Figure 11</i> | Présentation de la plante <i>P. scoparius</i>  | 48   |
| <i>Figure 12</i> | Présentation du <i>Rhantherium adpressum</i>   | 49   |
| <i>Figure 13</i> | L'encombrement et les dérivations du <i>Traganum nudatum</i>   | 52   |
| <i>Figure 14</i> | Le <i>Traganum nudatum</i>   | 52   |
| <i>Figure 15</i> | Les feuilles du <i>Traganum nudatum</i>  | 53   |
| <i>Figure 16</i> | Photos de la zone de récolte "Djamaa " du <i>T. nudatum</i>  | 54   |
| <i>Figure 17</i> | <i>Pituranthos scoparius</i> et l'huile extraite au laboratoire  | 56   |
| <i>Figure 18</i> | Montage d'une unité d'entraînement à la vapeur d'eau   | 57   |
| <i>Figure 19</i> | Chromatogramme des HE de la plante <i>Pituranthos scoparius</i>  | 60   |
| <i>Figure 20</i> | Représentation des fractions des HE du <i>P. scoparius</i>   | 65   |
| <i>Figure 21</i> | Pourcentage des différentes fractions des HE du <i>P. scoparius</i>  | 67   |
| <i>Figure 22</i> | Chromatogramme des HE de la plante <i>R. adpressum</i>   | 69   |
| <i>Figure 23</i> | Représentation des fractions des HE du <i>R. adpressum</i>   | 74   |
| <i>Figure 24</i> | Spectres de masse de quelques composés identifiés des HE du <i>P. scoparius</i>  | 80   |
| <i>Figure 25</i> | L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des sels des alcaloïdes dans les racines, feuilles et tiges du <i>T. nudatum</i> sur la bactérie testée avec une concentration mère = 5 g / l | 101  |

|                  |   |     |
|------------------|---|-----|
| <b>Figure 26</b> | Diamètre de la zone d'inhibition (mm) des extraits aqueux des sels des alcaloïdes des racines du <i>T. nudatum</i> pour les différentes bactéries testées                       | 102 |
| <b>Figure 27</b> | Diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux des sels des alcaloïdes des feuilles de la plante <i>T. nudatum</i> pour les différentes bactéries testées            | 104 |
| <b>Figure 28</b> | Diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux des sels des alcaloïdes des tiges de la plante <i>Traganum nudatum</i> pour les différents types de bactéries testées | 105 |
| <b>Figure 29</b> | Concentration minimale inhibitrice (CMI) dans l'extrait des feuilles du <i>T. nudatum</i>   | 108 |
| <b>Figure 30</b> | Concentration minimale inhibitrice (CMI) dans l'extrait des tiges du <i>T. nudatum</i>  | 109 |
| <b>Figure 31</b> | Concentration minimale inhibitrice (CMI) dans l'extrait des racines du <i>T. nudatum</i>  | 110 |
| <b>Figure 32</b> | La molécule de diphényl picrylhydrazyl (DPPH)   | 112 |
| <b>Figure 33</b> | Equation d'inhibition de la racine DPPH en présence des anti-radicaux   | 113 |
| <b>Figure 34</b> | Allure des courbes normalisées du test DPPH de l'acide ascorbique (Vc) et le tocophérol (Ve)  | 116 |
| <b>Figure 35</b> | Allures des courbes du test DPPH sur les extraits des sels alcaloïdes des racines, feuilles et tiges du <i>T. nudatum</i>   | 117 |
| <b>Figure 36</b> | La molécule de TPTZ   | 119 |
| <b>Figure 37</b> | Courbe standard du tocophérol (Ve) pour le test FRAP  | 121 |

## Liste des Tableaux

| <b>Tableau</b>    | <b>Désignation</b>  | <b>page</b> |
|-------------------|---|-------------|
| <b>Tableau 1</b>  | Condition d'analyse CPG-SM des huiles essentielles.   | 58          |
| <b>Tableau 2</b>  | Résultats des tests chimiques du <i>P. scoparius</i>  | 59          |
| <b>Tableau 3</b>  | Résultats d'analyse de l'extrait des HE par GC-MS   | 60          |
| <b>Tableau 4</b>  | Résultats d'analyse selon les familles des terpènes du<br><i>P. scoparius</i>   | 64          |
| <b>Tableau 5</b>  | Pourcentage des différentes fractions des huiles (publication)  | 66          |
| <b>Tableau 6</b>  | Résultats d'analyse de l'extrait par GC-MS du <i>R. adpressum</i>   | 70          |
| <b>Tableau 7</b>  | Résultats d'analyse en pourcentage selon les familles des terpènes de <i>R. adpressum</i>   | 73          |
| <b>Tableau 8</b>  | Date de récolte et période de séchage du <i>T. nudatum</i>  | 83          |
| <b>Tableau 9</b>  | Résultats récapitulatifs du <i>Traganum Nugatum Del</i>   | 88          |
| <b>Tableau 10</b> | Tests de présence des alcaloïdes dans le <i>Traganum nudatum</i>  | 95          |
| <b>Tableau 11</b> | Concentration et masse des extraits du <i>Traganum nudatum</i>  | 96          |
| <b>Tableau 12</b> | Diamètres d'inhibition des extraits de la plantes sur les différentes<br>souches bactériennes   | 102         |
| <b>Tableau 13</b> | Valeur de CMI obtenues en g / l pour les extraits aqueux des racines,<br>feuilles et tiges de la plante du <i>T. nudatum</i> sur la bactérie testée | 111         |
| <b>Tableau 14</b> | Résultats du test DPPH sur les extraits des sels alcaloïdes des racines,<br>feuilles et tiges du <i>Traganum nudatum</i>                            | 117         |
| <b>Tableau 15</b> | Résultats du test FRAP sur les extraits du <i>Traganum nudatum</i> et l'acide<br>ascorbique   | 122         |



## Sommaire

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Introduction Générale</b>  | <b>1</b>  |
| <b><i>Chapitre I : Les plantes médicinales et leurs principes</i></b>         | <b>4</b>  |
| <b>I-1- Les plantes médicinales</b>   | <b>4</b>  |
| <i>I.1.1- Définition</i>  | 4         |
| <i>I.1.2- Mode d'obtention et récolte</i>                                     | 4         |
| <i>I.1.3- Nature de la dessiccation:</i>                                      | 5         |
| <i>I.1.4- Conservation des plantes médicinales</i>                            | 5         |
| <i>I.1.5- Aspects traditionnels</i>   | 5         |
| <i>I.1.6- Utilisation des plantes en médecine traditionnelle</i>              | 6         |
| <b>I. 2 - Les huiles essentielles</b>   | <b>7</b>  |
| <i>I.2.1- Définition et rôle écologique</i>                                   | 7         |
| <i>I.2.2- Utilisation des huiles essentielles</i>                             | 8         |
| <i>I.2.3- Solubilité des huiles essentielles dans les solvants organiques</i> | 8         |
| <i>I.2.4- Les colorants d'origine les huiles essentielles</i>                 | 9         |
| <i>I.2.5- Toxicité des huiles essentielles</i>                                | 9         |
| <i>I.2.6- Facteurs intervenant dans la qualité des huiles essentielles</i>    | 10        |
| <i>I.2.7- Etudes antérieures sur les genres des plantes choisies</i>          | 11        |
| <i>I.2.8- Etudes antérieures sur les plantes productrices des HE</i>          | 12        |
| <i>I.2.9 - Les huiles essentielles extraites des plantes visées</i>           | 13        |
| <i>I.2.10- L'activité biologique des huiles essentielles</i>                  | 14        |
| <b>II. 3- Les alcaloïdes</b>  | <b>18</b> |
| <i>I.3.1 – Définition:</i>  | 18        |
| <i>I.3.2 –Nature et présence des alcaloïdes:</i>                              | 19        |
| <i>I.3.3 – Propriétés physiques des alcaloïdes:</i>                           | 20        |
| <i>I.3.4– Propriétés chimiques des alcaloïdes:</i>                            | 20        |
| <i>I.3.5- Propriétés basiques des alcaloïdes:</i>                             | 20        |
| <b>Chapitre II : Les méthodes d'extraction et d'analyse</b>                   | <b>21</b> |
| <b>III. 1- Les méthodes d'extraction et d'analyse</b>                         | <b>21</b> |
| <i>III.1.1- Définition</i>  | 21        |

## Table des matières

---

|   |           |
|---|-----------|
| <i>II.1.2- Extraction</i>   | 21        |
| <i>II.1.3 - Techniques utilisées pour la séparation des huiles</i>          | 22        |
| <i>II.1.4- Techniques utilisées pour la séparation des principes actifs</i> | 27        |
| <i>II.1.5- Techniques chromatographiques</i>                                | 28        |
| <i>II.1.6 - Techniques de distillation</i>                                  | 31        |
| <i>II.1.7- Techniques de filtration</i>                                     | 32        |
| <b>IV. 2- Méthodes d'analyses et activité biologique</b>                    | <b>33</b> |
| <i>II.2.1- Analyse structurale par spectrométrie de masse</i>               | 33        |
| <i>II.2.2- Analyse par les couplages conventionnels</i>                     | 34        |
| <i>II.2.3- Activité anti oxydante</i>                                       | 37        |
| <b>Chapitre III : Description des plantes</b>                               | <b>44</b> |
| <b>III.1- <i>Pituranthos scoparius</i></b>                                  | <b>44</b> |
| <i>III.1.1- Description botanique du genre</i>                              | 44        |
| <i>III.1.2- Usages traditionnels</i>  | 44        |
| <i>III.1.3- Toxicité</i>  | 45        |
| <i>III.1.4 - Intérêt pastoral</i>   | 45        |
| <i>III.1.5- Description</i>   | 45        |
| <i>III.1.6- Monographie de la plante</i>                                    | 46        |
| <i>III.1.7- Classification de <i>Pituranthos scoparius</i></i>              | 48        |
| <b>III. 2- <i>Rantherium adpressum</i></b>                                  | <b>49</b> |
| <i>III.2.1 - Description</i>  | 49        |
| <i>III.2.2- Monographie de la plante</i>                                    | 49        |
| <i>III.2.3- Classification de <i>Rantherium adpressum</i></i>               | 50        |
| <i>III.3- <i>Traganum nudatum</i></i>                                       | 50        |
| <i>III.3.1- Description de la plante</i>                                    | 50        |
| <i>III.3.2- Diffusion géographique</i>                                      | 51        |
| <i>III.3.3- Les utilisations curatives du <i>Traganum nudatum</i></i>       | 51        |
| <i>III.2.4- Monographie de la plante</i>                                    | 52        |
| <i>III.3.5- Classification de la plante</i>                                 | 54        |
| <b>Chapitre IV : Valorisation des plantes</b>                               | <b>55</b> |
| <b>IV.1- Étude du <i>Pituranthos scoparius</i></b>                          | <b>55</b> |

## Table des matières

---

|   |            |
|---|------------|
| <i>IV.1.1- Composés volatils du Pituranthos scoparius</i>                 | 55         |
| <i>IV.1.2- Récolte</i>  | 55         |
| <i>IV.1.3- Extraction</i>   | 55         |
| <i>IV.1.4- Conditions d'analyse CPG/SM des huiles essentielles</i>        | 57         |
| <i>IV.1.5- Calcul du rendement</i>  | 58         |
| <i>IV.1.6- La densité relative à 20°C</i>                                 | 59         |
| <i>IV.1.7- phytoscreening de la plante</i>                                | 59         |
| <i>IV.1.8- Résultats et discussion</i>                                    | 64         |
| <i>IV.1.9- Etude Comparative</i>  | 67         |
| <b>IV.2- Etude de <i>Rhanterium adpressum</i></b>                         | <b>69</b>  |
| <i>IV.2.1- Récolte</i>  | 69         |
| <i>IV.2.2- phytoscreening de la plante</i>                                | 69         |
| <i>IV.2.3- Résultats et discussion</i>                                    | 73         |
| <b>IV.3- Etude du <i>Traganum nudatum</i></b>                             | <b>81</b>  |
| <i>IV.3.1- Cueillette:</i>  | 81         |
| <i>IV.3.2- La cueillette durant la journée</i>                            | 82         |
| <i>IV.3.3- Saison de cueillette</i>                                       | 82         |
| <i>IV.3.4- Séchage</i>  | 82         |
| <i>IV.3.5- Réactifs utilisés pour les tests des principes actifs</i>      | 83         |
| <i>IV.3.6- Tests de présences des principes actifs</i>                    | 84         |
| <i>IV.3.7- Extraction des alcaloïdes</i>                                  | 89         |
| <i>IV.3.8- Méthode utilisée pour l'extraction des alcaloïdes basiques</i> | 94         |
| <i>IV.3.9- Etude de l'activité biologique</i>                             | 95         |
| <b>Conclusion générale</b>  | <b>124</b> |
| <b>Bibliographie</b>  | <b>127</b> |

## Introduction Générale

A travers le temps, l'homme a pu compter sur la nature pour assurer ses besoins de base: nourritures, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

Les plantes médicinales sont des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Suivant Dragendorff, toute matière d'origine végétale utilisée pour soin est une plante médicinale [1].

Les plantes médicinales occupent actuellement un rang très important dans la production agricole et dans l'industrie. Elles présentent un secteur économique très fin et soigné dans les pays producteurs. Les plantes médicinales sont les sources principales des principes actifs utilisés dans le domaine pharmaceutique pour la production des médicaments. Elles sont aussi souvent utilisées dans le domaine de fabrication des produits de beauté, les détergents et autres. Les plantes médicinales sont impliquées dans ces différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques ou même telles qu'elles sont. Notons là les différentes familles des produits biologiques (hormones, cortisones ...) utilisés avec une très grande importance dans la production des produits pharmaceutiques [2].

Bien qu'une grande partie du XX<sup>ème</sup> siècle a été consacrée à la mise au point des molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs de sources naturelles a résulté dans la découverte d'un grand nombre de médicaments utiles qui commence à jouer un rôle majeur dans le traitement de nombreuses maladies humaines.

Dans le monde, 80% des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité. Aujourd'hui, le savoir des praticiens traditionnels est de moins en moins transmis et tend à disparaître. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie, emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives et dont il appartient à la recherche moderne de préciser les propriétés et valider les usages. La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethnopharmacologiques.

Cette approche permet de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux principes actifs.

Dans le cadre de notre travail relatif aux plantes médicinales et aromatiques, nous nous sommes intéressés à traiter trois plantes récoltées de la zone saharienne. La composition chimique de l'huile essentielle d'écorce de *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* est notre première tâche. Cette deuxième plante n'a fait l'objet, à notre connaissance, d'aucune étude. Cependant le *Pituranthos scoparius* a été étudié pour des raisons comparatives, notamment les conditions géographiques, climatiques et saisonnières. L'étude et la caractérisation de ces deux plantes nous ont permis de mettre en œuvre la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau et la technique analytique: la CPG-SM. Nous avons étudié, comme seconde tâche, l'activité biologique des alcaloïdes de la troisième plante, le *Traganum nudatum*. L'extraction des sels des alcaloïdes a été faite par les méthodes chromatographiques connues dans ce domaine.

Nous avons étudié deux échantillons des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum*. Les huiles essentielles ont été obtenues à partir de l'écorce par l'entraînement à la vapeur d'eau dans des alambics en verrier. Le matériel végétal a été récolté de la région de Ghardaïa.

Nous avons réalisé l'étude détaillée de la composition chimique de l'huile essentielle, par analyse des fractions hydrocarbonées et oxygénées (après avoir analysé des huiles par GC-MS)

Les principaux chapitres de notre travail sont traités selon le plan suivant:

- Le premier chapitre sera consacré aux généralités sur les plantes médicinales, les huiles essentielles et leur composition et un aperçu sur les alcaloïdes.
- Dans le deuxième chapitre, nous passerons en revue les principales techniques conventionnelles utilisées pour l'extraction des principes actifs ; particulièrement les huiles essentielles, à travers divers exemples. Nous reporterons également dans ce chapitre les protocoles et les techniques d'analyse utilisés et quelques caractéristiques principales de la CPG et SM.
- Dans le troisième chapitre de ce travail, nous présenterons une description botanique des trois plantes : *Pituranthos scoparius*, *Rhantherium adpressum* et *Traganum nudatum* en se rattachant surtout aux études phytochimiques sur leurs genres.
- Le dernier chapitre sera consacré au travail personnel consistant en l'extraction et l'analyse des huiles par GC-MS concernant les deux premières plantes: *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* et l'étude de l'activité biologique et l'activité antioxydante des extraits aqueux obtenus de la troisième plante: *Traganum nudatum*.
- Enfin nous achèverons ce travail par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

**Chapitre I :**  
**Les plantes médicinales**  
**et leurs principes actifs**

## **Chapitre: I : Les plantes médicinales et leurs principes**

### **I-1- Les plantes médicinales**

#### **I.1.1- Définition :**

La matière médicale est à l'origine de l'étude de toutes les matières premières naturelles à usage médical. Actuellement encore appelée pharmacognosie, elle est le plus souvent limitée aux produits bruts d'origine végétale [3].

En dehors des plantes strictement médicinales, la matière médicale étudie aussi:

- Les plantes toxiques.
- Certains végétaux alimentaires, comme les plantes à caféine et les épices à propriétés physiologiques marquées, les huiles végétales utilisées en diététique, les fruits riches en vitamines.
- Les plantes à usage surtout industriel, mais ayant quelques applications en pharmacie: plantes à fibres (cotonnier, chanvre, lin), plantes oléagineuses (Arachide, Ricin, Soja), plantes à parfums (Lavande, Rose, ...etc.) [3].

#### **I.1.2- Mode d'obtention et récolte:**

Des études scientifiques ont permis de définir le moment optimal de la récolte. Ainsi, sont récoltées de préférence: [4]

- les racines au moment du repos végétatif (automne, hiver);
- les parties aériennes, le plus souvent au moment de la floraison;
- les feuilles, juste avant la floraison;
- les fleurs à leur plein épanouissement, voir en bouton (aubépine);
- les graines, lorsqu'elles auront perdu la majeure partie de leur humidité naturelle.



### **I.1.3- Nature de la dessiccation:**

Pour assurer une bonne conservation, c'est-à-dire favoriser l'inhibition de toute activité enzymatique après la récolte, éviter la dégradation de certains constituants ainsi que la prolifération bactérienne, le séchage apparaît comme un élément primordial [4].

Les techniques de dessiccation sont diverses:

- au soleil et à l'air libre pour les écorces et les racines;
- à l'abri d'une lumière trop vive pour les fleurs, afin d'éviter une modification de leur aspect, et parfois leur activité (huiles essentielles).
- avec une température de séchage bien choisie, car la composition chimique peut varier selon les conditions.

### **I.1.4- Conservation des plantes médicinales :**

Les plantes médicinales, rarement utilisées à l'état frais, doivent être conservées dans de bonnes conditions. Or, une fois récoltée, la plante se fane et meurt; apparaissent alors des processus de dégradations souvent préjudiciables à l'activité thérapeutique des plantes. [3]

Les principes actifs peuvent subir des hydrolyses (ex: hétérosides, alcaloïdes-esters), des oxydations et (ou) des polymérisations (tanins, composés terpéniques des huiles essentielles), des isomérisations (alcaloïdes de l'ergot de seigle), des racémisations (hyoscyamine) aboutissant à une perte d'activité de la plante. Ces dégradations, de nature enzymatique, nécessitent la présence d'eau. Elles peuvent être évitées par différents moyens tels que:

- la dessiccation, qui a pour but d'inhiber l'action des enzymes par élimination d'eau.
- la stabilisation, qui vise à les détruire [3].

### **I.1.5- Aspects traditionnels:**

Un certain nombre de plantes médicinales est encore utilisé de nos jours sous forme de décoction 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 l'activité préconisée par nos ancêtres.

Une relation entre la structure chimique et l'activité biologique est alors tendant. La production des molécules naturelles pourrait entrer dans la composition de médicaments moins agressifs vis-à-vis de l'organisme, ou à des fins industrielles précédemment exposées. Cette dernière perspective permet d'élargir le champ de valorisation des plantes aromatiques (autrefois restreint du point de vue économique, à l'extraction de molécules olfactives), par l'exploitation des nombreuses et diverses activités biologique, substantiellement évoquées par la médecine traditionnelle, qui sont recensées et corrélées à certains types de structures chimiques. Ce dernier fera apparaître des molécules bioactives dans des espèces référencées par la médecine traditionnelle [5].

#### **I.1.6- Utilisation des plantes en médecine traditionnelle**

Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité. [6] [7].

L'ethnopharmacologie et l'ethnobotanique ont pour finalité la compréhension des pratiques et des représentations relatives à la santé, à la maladie, et la description, l'évaluation thérapeutique des plantes utilisées dans les pharmacopées traditionnelles. L'usage empirique des différentes préparations traditionnelles plantes est donc extrêmement important pour une sélection efficace de plantes puisque la plupart des métabolites secondaires de plantes employées en médecine moderne ont été découverts par l'intermédiaire d'investigations ethnobotaniques [7].

## I. 2 - Les huiles essentielles

### I.2.1- Définition et rôle écologique:

Pour la 8<sup>e</sup> édition de la pharmacopée Française (1965), les huiles essentielles (essences, huiles volatiles) sont : "des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation" [8] [9].

La norme AFNOR NF T 75-006 (octobre 1987) a donné la définition suivante d'une huile essentielle : "Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur [10], soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec" [11].

Les huiles essentielles sont des liquides huileux aromatiques très concentrés renfermant des mélanges complexes des substances volatils constitués de plusieurs dizaines de composés [5], [12], [13], obtenus à partir d'un type d'aromates et plantes aromatiques (fleurs, bourgeons, graines, permissions, brindilles, aboiement, herbes, bois, fruits et racines), et dans toutes les régions climatiques du globe. Les facteurs environnementaux comme la température, l'irradiante et la photopériode peuvent jouer un rôle primordial sur la qualité et la quantité de l'huile essentielle [14]. Cette huile essentielle se compose de plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes.

Les terpènes sont construits à partir de plusieurs entités isopréniques, constituant une famille très diversifiée tant au niveau structural que fonctionnel. On rencontre principalement des mono et des sesquiterpènes (possédant respectivement 10 et 15 atomes de carbone) plus rarement des diterpènes (20 atomes de carbone).

Les composants des huiles essentielles peuvent être classés également en deux groupes principaux:

- Les hydrocarbures aliphatiques ou aromatiques qui consistent les terpènes, tels que monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes.

- Les composés oxygénés, tels que les esters, les aldéhydes, les cétones et les alcools.

Parfois on trouve même des composés azotés et soufrés [15].

### **I.2.2- Utilisation des huiles essentielles :**

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que:

#### *a- En pharmacie:*

Les huiles essentielles peuvent être utilisées comme:

- Aromatisant des médicaments destinés à la voie orale [15].
- Pour leurs actions physiologiques (Menthes, Verveine, Camomille) [3].

#### *b- Dans l'industrie:*

##### *- Parfumerie et cosmétologie:*

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles essentielles constituent des bases de parfums.

Exemples: Rose, Jasmin, Vétiver, Ylang-ylang, etc.... [3].

##### *- Alimentation:*

Les huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie) [15] [3].

Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les progrès constants des différentes techniques de séparation et d'identification, demeure toujours une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre simultanée ou successive de diverses techniques [9].

### **I.2.3- Solubilité des huiles essentielles dans les solvants organiques:**

Les huiles essentielles solubles dans les solvants organiques usuels, sont liposolubles [11], [16]. Les huiles essentielles entraîna- bles à la vapeur d'eau, sont très peu

solubles dans l'eau. Elles le sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette (on parle d'eau aromatique) [11].

#### **I.2.4- Les colorants d'origine les huiles essentielles :**

Le  $\beta$ -carotène se rencontre dans toutes les huiles végétales. C'est un colorant particulièrement sensible à la chaleur et à l'oxydation. Il est transformé en un composé incolore par hydrogénation. La chlorophylle est présente en grande quantité dans les huiles.

Les colorants d'origine oxydative sont responsables de la couleur brune de certaines huiles. Ils sont beaucoup plus gênants que les précédents car ils ne sont que peu retenus par les produits adsorbant utilisés pour décolorer les huiles [17].

#### **I.2.5- Toxicité des huiles essentielles:**

Cet aspect de la connaissance des huiles essentielles 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 manque aussi des données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes, tératogènes ou cancérigènes.

On connaît par contre beaucoup mieux le risque de toxicité aigue lie a une ingestion massive, en particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, tanaïsie, 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 doses fortes: camphre, menthol, (risque de spasme de glotte chez le

jeune enfant), cinéole, E-anéthole. Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudent face aux pratiques telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des huiles essentielles -pures et à doses fortes- par voie orale et, a fortiori, en mélange [11].

#### **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 et 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 [18], séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques [11]. 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 [8] [19]. D'autres facteurs tels que les traitements auxquels on peut procéder avant ou pendant l'hydrodistillation (broyage, dilacération, dégradation chimique ou enzymatique, pression, agitation) contribuent à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle [19].

Au cours de l'hydrodistillation, le milieu aqueux résultant de l'immersion du matériel végétal atteint des pH compris entre 4 et 7 et occasionnellement, des valeurs inférieures à 4 pour certains fruits [19]. Les constituants de l'essence native sont soumis aux effets combinés de l'acidité et de la chaleur, et peuvent subir des modifications chimiques. L'huile essentielle récupérée est un produit qui diffère sensiblement de l'essence originelle, d'autant plus que l'ébullition est longue, et le pH est faible [20].

La matière végétale est l'objet de réactions chimiques diverses : hydrolyses, déprotonations, hydratations et cyclisations [20] pouvant être catalysées par des métaux présents à l'état de trace dans la plante ou provenant des équipements de récolte et d'extraction provoquant des transformations chimiques des constituants. L'hydrolyse d'esters est souvent la première réaction qui se produit [11]. Elle conduit à la formation

d'acides organiques qui, à leur tour, catalysent les réactions de cyclisation et de déshydratation [19].

### 1.2.7- Etudes antérieures sur les genres des plantes choisies :

#### - Genre *Pituranthos* :

Les études phytochimiques effectuées sur le genre *Pituranthos* d'après les données bibliographiques, concernent les espèces suivantes: *Chluranthos*, *scoparius*, *tortuosus* et *triradiatus* [89].

L'étude effectuée par Singab et collaborateurs [91] sur l'espèce *Pituranthos tortuosus* est basée sur les tests biologiques relatifs à l'activité anti-tumorale des composés flavonoïques isolés.

- Une autre étude récente sur l'espèce *Tortuosus* a été réalisée par A. Abdelwaheb et collaborateurs [92] sur les parties aériennes. Cette étude est portée sur l'analyse de l'extrait des huiles essentielles par GC et GC-MS [92].

- Une étude chimique sur les poussées du *Pituranthos triradiatus* a été réalisée par A. F. Halim et collaborateurs [93]. Celle-ci a abouti à l'isolement des composés monoterpéniques qui ont été déterminés par les méthodes d'analyse spectroscopiques RMN 1D et 2D [93].

- D'autres études phytochimiques [89] effectuées antérieurement par les mêmes chercheurs sur les racines du *Pituranthos triradiatus*, ont permis d'isoler des composés coumariniques [89].

- des travaux dirigé par A. Dibi de l'université de Batna sur l'espèce *chluranthos* à permis d'isoler un certain nombre de principes actifs de l'extrait chloroformique de la plante [11].

- des flavonoïdes glucosidiques ont été isolés de l'extrait n-butanolique par A. Touil et all de même espèce récoltée de la région d'El Hoggar [12].

- Une étude récente a été effectuée sur les racines de l'espèce *Pituranthos scoparius* et a permis d'isoler deux nouveaux composés isocoumariniques [94].

- Une étude chimique récente a permis également de mettre en évidence des huiles essentielles dans les graines et les tiges de la plante *Pituranthos scoparius*. [95][96][97].

- quant à l'espèce *Battandieri* nos recherches bibliographiques sur cette espèce n'ont abouti à aucune étude.

**- Genre *Rantherium* :**

La distribution géographique du genre *Rantherium* est très restreinte, ce que prouve le peu d'études antérieures sur ce genre.

Le *Rantherium Suaveolens* et le *Rantherium adperssum* sont localisés dans les zones arides et dans le nord du Sahara, ils ont quelques valeurs nutritives comme ils sont indiqués par M. Boussaid et al [13].

Les travaux de M. Bouheroum et al ont abouti à l'isolation de cinq produits en partant d'un extrait chloroformique du *Rantherium adperssum* récolté de la wilaya d'Ouargla, il s'agit des produits : spathulénol,  $\beta$ -eudesmésol,  $\beta$ -sítostérol, stigmastérol et  $\beta$ -hydroxy lupeolyl 3-hexadecanoate [14].

**- Genre *Traganum* :**

Malgré la présence intense de l'espèce *nudatum* au nord du Sahara algérien (Ghardaïa, Ouargla, El oued et l'extrême sud de Tébessa) nous n'avons détecté aucune étude de valeur sur cette plante ce qui montre la grande probabilité d'obtention de nouvelles molécules dans cette plante. Notons que nos essais préliminaires sur l'espèce choisie prouvent l'absence quasi-totale des huiles essentielles dans cette plante.

**1.2.8- Etudes antérieures sur les plantes productrices des HE :**

Les plantes aromatiques productrices d'huiles essentielles ont fait l'objet de plusieurs recherches en particulier dans les domaines de parfumerie et de pharmacie.



Les travaux de J. Q. Cu et col [15], reprennent ceux de Tedder et Brunechon [16][29], ces travaux ont montrés clairement comment les molécules volatiles sont synthétisées à partir de l'unité isoprène (méthyl-2-butadiène 1,3). Les diverses combinaisons de ces unités, par réaction d'addition, conduisent aux terpènes, sesquiterpènes, diterpènes..

L'ensemble de ces composés est produit dans les cellules sécrétrices de la plante, lui confère une odeur caractéristique. Cette odeur peut être libérée de la plante et récupérée par suite par des méthodes physiques [15]. Les produits obtenus par hydrodistillation, entraînement à la vapeur d'eau et par expression de l'écorce des fruits sont généralement les produits les plus concentrés en matière olfactive [16].

Chacun de ces composés de part leur volatilité dégage une odeur une odeur propre. Ainsi certaines plantes peuvent avoir une odeur similaire due à la présence d'une molécule commune dans l'écorce ou dans les sécrétions. La concentration de cette molécule devienne importante si le caractère olfactif dans la plante est intéressant [16].

Généralement, il assez aléatoire d'évaluer la qualité olfactive d'une huile essentielle d'après sa composition chimique car les dégradations des composés aromatiques sont aussi souples. L'importance et la valorisation d'une huile essentielle d'une plante est déterminée seulement après un examen organoleptique évaluant les interactions moléculaires et la détermination des constantes physiques en plus de la composition chimique permettent de déceler toute adultération [29].

### **I.2.9 - Les huiles essentielles extraites des plantes visées :**

#### **a- *Pituranthos scoparius* :**

Selon l'unique étude antérieure trouvée dans la bibliographie et notre étude, nous avons remarqué que les monoterpènes hydrocarbonés tel que  $\alpha$ -terpinolène,  $\gamma$ -terpinène,  $\alpha$ -pyronène ..., les sesquiterpènes hydrocarbonés à l'image de  $\beta$ - cubebène, t-murolène ..et les dérivés aromatiques des monoterpènes tel que butylidène phtalidesont sont à la base des huiles extraites. Ces trois familles des huiles essentielles regroupent plus de 75 % de la matière récupérée. On trouve également et en quantités plus ou moins

importantes des monoterpènes et des sesquiterpènes oxygénés. A titre d'exemple de ces deux familles on cite l'acétate de bornyl et le  $\gamma$ -elmène.

***b -Rantherium adperssum :***

C'est une plante qui, à notre connaissance, n'a jamais été soumise à une extraction des huiles essentielles auparavant. Nous avons remarqué l'absence quasi-totale des monoterpènes hydrocarbonés, Seulement le n-tridec-1-ène recensé avec 0.54 % de la totalité de la matière récupérée. Les monoterpènes oxygénés et les dérivés aromatiques de monoterpènes à leur tour ne se trouvent qu'en quantités minimales, l'ester de n-hexadécane-1-ol et acide 1,2-Benzenedicarboxylic, diisooctyl appartient à ces deux familles. Par contre les sesquiterpènes oxygénés, à l'image de  $\beta$ -eudesmol,  $\alpha$ -eudesmol et le  $\alpha$ -cadinol sont majoritaires dans la fraction des huiles extraites. Nous trouvons également et en quantités considérables des sesquiterpènes hydrocarbonés tel que le bicyclo (4.4.0) dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene et le naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylethylidene)-, (4aR-trans).

***c -Traganum nudatum :***

Les essais préliminaires, sur cette plante, pour prouver la présence des huiles essentielles n'ont abouti à aucun résultat considérable. Notre travail, par conséquent, est dirigé en vers l'étude de l'activité biologique sur un extrait aqueux acidifié de la plante.

**I.2.10- L'activité biologique des huiles essentielles:**

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques [12]. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires [8] ou au niveau de la microflore vaginale [9] et d'origine fongique contre les dermatophytes [10]. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques [30] qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Par exemple dans les préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques [31]. Le thymol est très irritant, astringent et caustique. La dose de thymol applicable sur la peau et les muqueuses est de 0,5%. Ingéré à la dose de 2 g ou à plus fortes doses, il est responsable de gastralgies avec nausées [32].

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des labiaceae: thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge... etc. L'essence de thym est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives [33].

L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Les travaux de Zakaria D. et collaborateurs [34] ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait. Ils donnent un exemple de variations qualitatives et quantitatives de quelques espèces. Nous citons ci-dessous quelques exemples de molécules terpéniques issues des huiles essentielles avec leurs caractères physico-chimiques et leurs propriétés thérapeutiques.

#### **a/ Phénols :**

Le carvacrol de masse moléculaire  $M = 150.2$ , la densité  $d = 0.92$  g/ml, sa teneur dans le thym est de l'ordre de 33 %, il est considéré comme agent stimulant, tonique et irritant [35].

L'eugénol : de masse moléculaire  $M = 164.2$ , la densité  $d = 1.07$  g/ml, sa teneur dans le girofle atteint 82 %, il a pratiquement les mêmes propriétés du carvacrol [35].

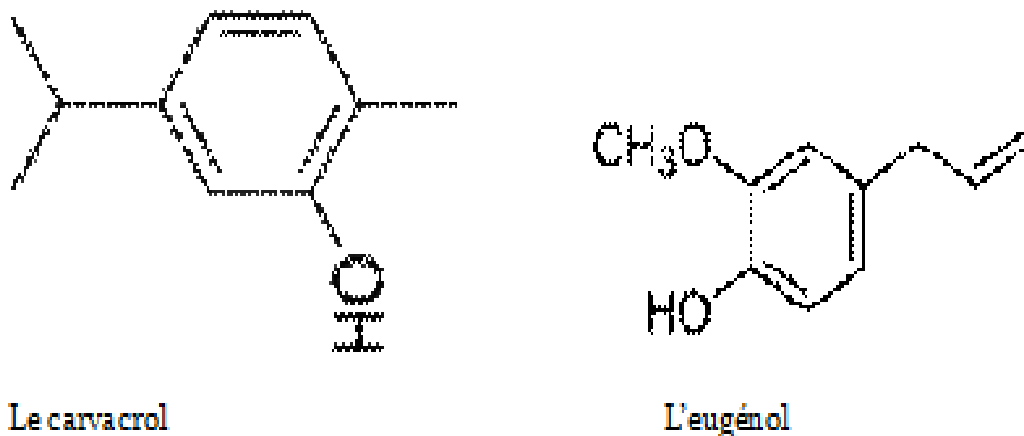


Figure 1 : Structures des molécules : carvacrol et eugénol

### b/ Alcools terpéniques

Le géraniol de masse moléculaire  $M = 154.3$ , de densité  $d = 0.88$  g/ml, sa teneur dans palmarosa est de l'ordre de 90 % [36].

Le citronellol de masse moléculaire  $M = 156.3$ , de densité  $d = 0.86$  g/ml, sa teneur dans la palmarosa est de l'ordre de 33 % [37].

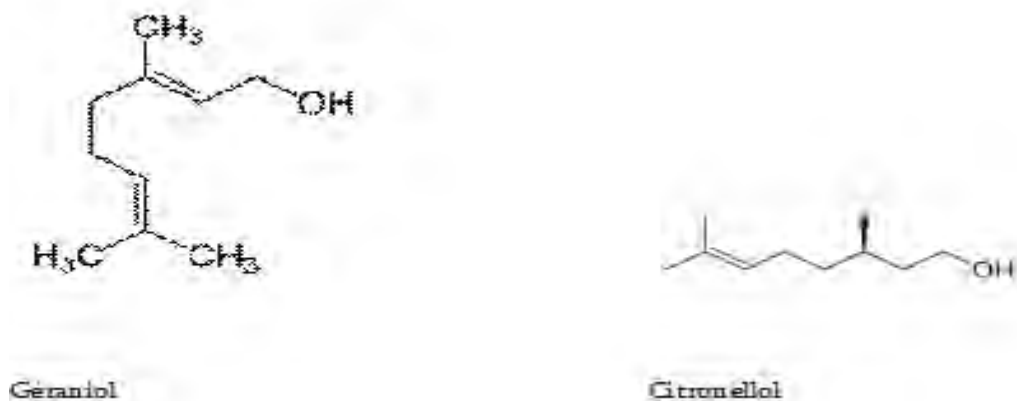


Figure 2 : Structures des molécules : géraniol et citronellol

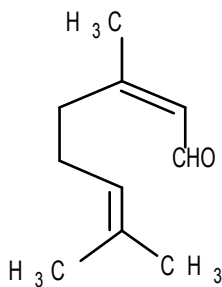
Ces deux produits sont considérés comme des agents anti-inflammatoires antiseptiques, bactéricides, fongicides, antiviraux et neurotoxiques.

### c/ Aldéhydes terpéniques

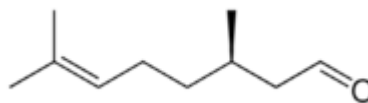
Citronellal :  $M = 154.3$ ,  $d = 0.89$  g/ml extrait de la citronnelle à 45 %, il est considéré

comme toxique, spermicide et insecticide [37].

Citral :  $M = 154.3$ ,  $d = 0.89$  g/ml extrait de la mélisse citronnée à 50 %, il a pratiquement les mêmes propriétés du citronellal [38].



Le citral

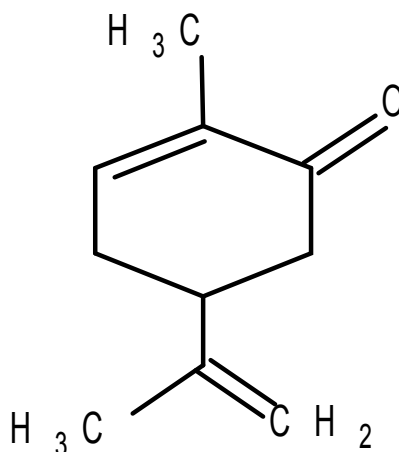


Le citronellal

**Figure 3 :** Structures des molécules : citral et citronellal

#### d/ Cétone :

Tel que la carvone :  $M = 150.2$ ,  $d = 0.96$  g/ml extraite, comme son nom l'indique du carvi à 50 %, elle est considérée comme calmant, antivirale et neurotoxique [39].



**Figure 4 :** Structure de La molécule de carvone

**e/ Ethers :** Comme l'ascaridole de masse moléculaire  $M = 168.2$  et de densité  $d = 1.01$  g/ml, sa teneur extraite de l'épazote est de l'ordre de 61 %, les propriétés antibactérienne, antifongique. Insecticide. L'ascaridole est fortement réactif et toxique (par la liaison -O-O-) [40].

**f/ hydrocarbures aliphatiques sesquiterpènes :** Le limonène extrait du carvi à 45 % a une

masse moléculaire de l'ordre de 150.2 et de densité  $d=0.96$  g/ml. Le limonène est un bon agent pour les herbicides et les insecticides [39].

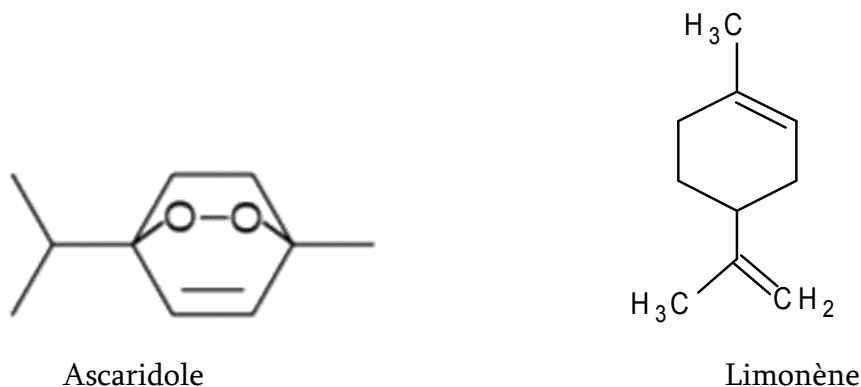


Figure 5 : Structures des molécules d'ascaridole et du limonene

## II. 3- Les alcaloïdes

Le *Traganum nudatum*, la troisième plante visée dans notre travail, n'a donné aucun signe de présence des huiles essentielles. L'étude de l'activité biologique a été faite en partant d'un extrait aqueux acidifié riche en alcaloïdes.

### I.3.1 – Définition:

Les alcaloïdes sont des substances d'origine biologique et le plus souvent végétale (ils sont rare dans le règne animal), éventuellement reproductibles par synthèse, azotées, de réactions alcalines plus ou moins prononcées et douées à faible dose de propriétés pharmacodynamiques marquées. Leurs noms se terminent souvent par "ine".

Les alcaloïdes renferment toujours du carbone, de l'hydrogène et de l'azote, et le plus souvent, en plus, de l'oxygène (exceptionnellement quelques alcaloïdes contiennent du soufre). Les alcaloïdes donc sont des produits aminés naturels qui ont des effets physiologiques sur l'organisme humain [41] [42] [43].

La plus part des alcaloïdes contient plus d'un hétérocycle. L'atome d'azote de cet hétérocycle est une amine secondaire ou tertiaire. La présence des atomes d'azote dans la chaîne linéaire est très rare. Notons que plusieurs alcaloïdes contiennent deux atomes et plus d'azote dans des hétérocycles différents à l'image de la nicotine et la réserpine. La caféine à son tour contienne quatre atomes d'azote réparti dans les différents hétérocycles [41].

Hiérarchiquement, les alcaloïdes sont les uns des premiers produits organiques synthétisés à une haute qualité de pureté vue leur importance notamment dans le secteur pharmacologique et leur séparation simple à partir des plantes par extraction. Leur comportement basique aide à traiter les plantes par des solutions diluées des acides métalliques et par suite leur extraction sous forme de sels. Après la filtration, les alcaloïdes sont enfin récupérés par action des bases sous formes de précipités traités par des solvants organiques [44].

### **I.3.2 –Nature et présence des alcaloïdes:**

La source principale des alcaloïdes était auparavant les plantes florales mais plusieurs composés de cette famille ont été récemment extraient des règnes animaux à savoir les insectes et les poissons. Malgré cet avancement, les alcaloïdes floraux restent les plus importantes par rapport aux restes [41] [45].

En général les alcaloïdes ne se concentrent pas dans une seule partie de la plante. Ils se présentent avec des concentrations différentes dans les tiges, les fleurs, les racines et les feuilles. Cette même concentration se diffère selon la période de récolte. Signalons que la présence des alcaloïdes dans une partie de la plantes ne prouve en aucun cas sa naissance dans ce milieu [1].

La présence des alcaloïdes est généralement associée à un acide organique ou à une autre entité avec un pourcentage variant entre 1 et 3 % du poids sec de la plante. Dans des cas très particuliers, notamment dans les quinquinas, ils dépassent les 10 % [42] [46] [47].

Le rôle des alcaloïdes dans la plante reste encore moins clair. Probablement ils sont considérés comme une réserve d'azote en cas de son manque dans le sol [1] [47].

### **I.3.3 – Propriétés physiques des alcaloïdes:**

La masse moléculaire des alcaloïdes varie entre 100 et 900 g/mol.

Les alcaloïdes et leurs sels purs sont en général des produits solides cristallisés caractérisés par un point d'ébullition propre. Certains alcaloïdes sont amorphes se trouvant sous forme de cires. D'autres alcaloïdes de faibles points d'ébullitions sont à l'état liquide sous forme d'huiles dont la viscosité variante.

Les alcaloïdes dans le cas général sont des produits incolores, sans odeurs spécifique, particulièrement ceux qui ayant de faible points d'ébullition. Un nombre limité des alcaloïdes possédant des cycles aromatiques vire vers le jaune tel que la berbérine et la colchicine, d'autres virent vers l'orange à l'image de la canadine.

Les alcaloïdes liquides peuvent être volatils caractérisés par une odeur spécifique ou non volatils. Signalons enfin que les alcaloïdes ont un gout amer [1] [44-49].

### **I.3.4– Propriétés chimiques des alcaloïdes:**

Les alcaloïdes peuvent former des sels organiques ou non organiques par action des acides. Ces sels formés sont en général plus stable que les bases mères. Plusieurs alcaloïdes ont une activité optique très importante avec la présence d'un atome de carbone asymétrique [46].

### **1.3.5- Propriétés basiques des alcaloïdes:**

Les alcaloïdes sont en général des bases grâce à la présence d'un doublet électronique libre de l'atome d'azote. La présence de plus de deux atomes d'hydrogène, la structure cristalline et d'autres facteurs défavorise la formation des alcaloïdes au milieu végétal. Plusieurs chemins biosynthétiques ont été proposés pour la formation des alcaloïdes [46]. .



# Chapitre II

## Les méthodes d'extraction et d'analyse

## Chapitre II : Les méthodes d'extraction et d'analyse

### III. 1- Les méthodes d'extraction et d'analyse

#### III.1.1- Définition

Un procédé de séparation est une technique ou une technologie permettant de transformer un mélange de substances en deux ou plusieurs composants distincts. Les buts de ce type de procédé peuvent être divers [50] [51]

- Purification: des impuretés doivent être extraits du composé d'intérêt
- Concentration: élimination d'une partie du solvant
- Fractionnement: séparation d'un mélange complexe en plusieurs mélanges différents.

Le principe d'un procédé de séparation est d'utiliser une différence de propriétés entre le composé d'intérêt et le reste du mélange. Plus la différence de propriété sera grande, plus la séparation sera aisée. Ainsi le choix du procédé de séparation commence par une bonne connaissance de la composition du mélange et des propriétés des différents composants.

#### II.1.2- Extraction:

L'extraction est une technique de séparation en génie chimique. Cette technique utilise un moyen d'extraction pour séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de propriétés chimiques ou physiques. On distingue l'extraction liquide-liquide et l'extraction solide-liquide.

## **Types d'extraction:**

### **a - Extraction liquide-liquide:**

L'extraction liquide-liquide est une mise en œuvre de l'extraction par transfert entre deux phases liquides. Le produit extrait ne change pas de phase: un mélange binaire ou plus dont on veut effectuer la séparation est mis en contact avec un autre liquide non miscible appelé solvant et retenu pour sa capacité à extraire sélectivement l'un des éléments du mélange. Après l'opération, on récupère deux phases séparées par décantation : l'extrait formé du solvant enrichi en soluté, et le raffinat, soit le mélange appauvri en soluté. Cette opération, ordinaire dans l'industrie chimique, permet de séparer des produits ayant des températures d'ébullition très voisines (donc une distillation trop délicate) mais ayant des propriétés physico-chimiques différentes. Au laboratoire, c'est aussi une technique de purification très employée: dans une ampoule à décanter, les deux liquides séparent les solutés en fonction de leur solubilité dans chaque solvant [52].

### **b - Extraction solide-liquide:**

Il s'agit d'extraire une substance présente dans un solide pour la faire passer dans un solvant. Les cas les plus simples correspondent à la décoction, l'infusion et la macération. En chimie organique, on utilise parfois un appareil plus efficace, le kjeldahl qui fonctionne en continu [53].

### **II.1.3 - Techniques utilisées pour la séparation des huiles :**

Les huiles essentielles sont des produits obtenus soit à partir des matières premières naturelles par distillation à l'eau, soit à partir des fruits de citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques (AFNOR, Peyron et Richard en 1992).

Les huiles essentielles sont extraites principalement par des méthodes :

- L'hydrodistillation.
- L'entraînement à la vapeur de l'eau.

- micro-onde.
- par des solvants organiques (Soxhlet).

**a - Extraction par hydrodistillation:**

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle [12], ainsi que pour le contrôle de qualité [19].

Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique

La température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation. Elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange « eau + huile essentielle » distille à une température inférieure à 100°C à pression atmosphérique [11]. Par contre, les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très sècles [3] [54].

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures [55] selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait [54].

L'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques.

C'est ainsi que pour certains végétaux fragiles, comme par exemple les pétales de fleurs, une technique d'extraction plus appropriée est utilisée. Il s'agit de la « distillation dite sèche ». Cette technique ancestrale, utilisée autrefois par les alchimistes arabes [20] consiste à extraire les huiles essentielles de plantes fragiles à

l'aide d'un alambic par l'effet de la chaleur du soleil. Plus récemment, en Herzégovine [17], une technique toute proche a permis l'extraction d'une huile essentielle de rose de très grande qualité, cependant cette technique, possède elle aussi ses limites. En effet, technique écologique par excellence, le chauffage par les rayons du soleil est très faiblement productif car plusieurs jours sont nécessaires pour extraire les précieuses gouttelettes d'essences de rose.

#### **b - Extraction par 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 des plantes aromatiques. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter [3]. 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 [54].

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques quelque soit le « type » d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation.

### **c - Extraction par micro-ondes:**

Le mécanisme du chauffage diélectrique repose sur le fait que les molécules polaires, telles que l'eau, ont des extrémités négatives et positives : ce sont des dipôles.

En l'absence de champ électrique, les dipôles d'un milieu diélectrique se trouvent orientés au hasard sous l'effet de l'agitation thermique du milieu. Sous l'effet d'un champ électrique continu, les molécules tendent à s'orienter dans la direction du champ électrique. Plus le champ électrique est intense, moins l'agitation thermique qui tend à désorganiser l'alignement est importante.

Lorsque toutes les molécules sont orientées, il apparaît un moment dipolaire global induit. Sous l'effet d'un champ électrique alternatif de fréquence, les dipôles s'orientent dans la direction du champ sur une demi alternance, se désorientent lorsque le champ s'annule et se réorientent dans l'autre sens pendant la seconde demi alternance : c'est la rotation dipolaire. L'énergie électrique est convertie en énergie cinétique par la rotation des dipôles. L'énergie cinétique est transformée partiellement en chaleur : l'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interactions entre molécules (les forces de liaison par pont hydrogène et les forces de liaisons de Van der Waals). Ces forces peuvent être assimilées à des forces de frottement internes qui existent dans les contacts solide-solide. Elles s'opposent ainsi à la libre rotation des molécules. De la friction produite, naît le dégagement de chaleur [54]. Cette chaleur dilate les glandes et est éclate. Ce processus donc libère les huiles essentielles

### **d - Extraction par solvants organique (Soxhlet):**

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 [54].

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 [54].

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une forte solubilité de l'huile [56], 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 [54] [57].

Parmis les solvants les plus utilisés sont des carbures aliphatiques (pentane, hexane) [4] [5] ou des carbures aromatiques (benzène). On opère le plus souvent à la température ordinaire [19].

De nombreux solvants ont ainsi été étudiés pour l'extraction d'huiles végétales, y compris des biosolvants. En dehors des alcanes, des cycloalcanes et des hydrocarbures aromatiques [58], les principaux solvants préconisés sont :

- Les halogéno-alcanes, comme le dichlorométhane, sont très efficaces, moins inflammables, mais qui posent le problème de la compatibilité alimentaire et des rejets dans l'atmosphère.
- Les éthers, mais qui imposent des contraintes de mise en France très importantes en raison de leur inflammabilité et des risques d'explosion.
- Les cétones, et en particulier l'acétone, mais dont l'affinité pour l'eau et l'odeur ont pénalisé la mise en France dans la filière alimentaire.
- Les alcools, et en particulier l'éthanol, et l'isopropanol, qui sont des solvants compatibles avec l'alimentaire, mais dont l'affinité pour l'eau impose des contraintes fortes de séchage des graines, et limite la solubilité de l'huile [4].

## **e - Extraction par solvants supercritique :**

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé: il s'agit du CO<sub>2</sub> ou autres en phase supercritique. A l'état supercritique, le CO<sub>2</sub> n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre. Les fluides supercritiques comme le CO<sub>2</sub> sont de bons solvants à l'état supercritique, et de mauvais solvants à l'état gazeux [59].

### **II.1.4- Techniques utilisées pour la séparation des principes actifs:**

Les principes actifs d'une plante médicinale sont des agents chimiques capables d'une activité. La présence de ces composants souvent en quantité extrêmement faible dans la plante impose des séparations, généralement, délicates. La décoction, l'infusion et la macération sont les méthodes de séparation les plus utilisées pour l'extraction globale des principes actifs et qui sont suivies par des séries de séparation chromatographique pour atteindre une matière pure d'un principe actif.

#### **a- Décoction:**

La décoction est une méthode d'extraction des principes actifs d'une préparation généralement végétale par dissolution dans un solvant approprié (généralement l'eau), ce qui suppose que ces substances ne soient pas thermolabiles. Elle s'applique généralement aux parties les plus dures des plantes : racines, graines, écorce, bois.

La décoction est utilisée en herboristerie, en teinture, en brasserie et en cuisine. Le terme désigne également les préparations obtenues par cette méthode, généralement des tisanes. La décoction consiste à chauffer l'élément avec de l'eau, jusqu'à ce que cette dernière soit bouillante, pour en extraire les principes actifs. Plusieurs plantes, feuilles, fleurs, racines etc... trouvées en herboristerie pour leurs vertus thérapeutiques s'utilisent, entre autres, sous forme de décoctions.



Pour réaliser une décoction, on prépare les parties de plantes recherchées, coupées et fractionnées si nécessaire, et on les place dans un récipient rempli d'eau. Le tout est porté à ébullition et maintenu à température pendant un temps variable, généralement entre deux et quinze minutes. À la fin, on laisse tiédir et on filtre le liquide à l'aide d'une passoire avant de l'utiliser. La décoction ne doit pas être confondue avec l'infusion ni avec la macération.

La décoction permet une extraction des principes actifs plus complète que l'infusion mais ne s'applique pas partout, la température modifiant ou dégradant certains principes. La décoction dure en moyenne quelques minutes [60].

### **b- Infusion**

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide initialement bouillant que l'on laisse refroidir. Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes, le thé par exemple. Le solvant n'est pas nécessairement de l'eau, cela peut être également une huile ou un alcool [60].

### **c- Macération**

La macération consiste à laisser tremper une plante sèche dans un solvant approprié pendant plusieurs heures, jours, voire semaines. L'intérêt de la macération est généralement la conservation des principes actifs durant le procédé [60].

### **II.1.5- Techniques chromatographiques :**

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et de leur désorption successive sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase.

On définit un coefficient de partition K:

$$K = \frac{\text{Masse de soluté dans la phase stationnaire par unité de volume}}{\text{Masse de soluté dans la phase mobile par unité de volume}}$$

**a- Nature des phases:**

**- Phase fixe:**

La phase fixe peut être solide ou liquide. Les solides, silice ou alumines traitées, permettent la séparation des composants des mélanges grâce à leurs propriétés adsorbantes. Ils peuvent être employés comme remplissage d'une colonne (chromatographie par gravité et chromatographie à haute performance ou HPLC) ou étalés en couche mince sur une plaque de verre, d'aluminium ou sur une feuille de matière plastique (chromatographie sur couche mince ou CCM)

La phase fixe peut aussi être constituée par un liquide imprégnant un support solide ou encore par une chaîne carbonée fixée sur un support (phase greffée). Ainsi en chromatographie sur papier, la phase fixe est formée par l'eau que les molécules de cellulose du papier adsorbent, alors qu'en chromatographie en phase gazeuse, elle est constituée d'un liquide peu volatil et thermiquement stable imprégnant un granulé poreux.

**- Phase mobile:**

La phase mobile est:

- Soit un gaz (exemple chromatographie en phase gazeuse): la phase mobile est appelée gaz vecteur ou gaz porteur.
- Soit un liquide (exemple chromatographie sur papier, couche mince ou colonne): la phase mobile est appelée éluant.

### **b- Chromatographie sur couche mince (C.C.M):**

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

### **c- Chromatographie sur colonne:**

Alors que les autres méthodes chromatographiques sont habituellement employées pour l'analyse et la séparation de très faibles quantités de produits, la chromatographie sur colonne peut être une méthode préparative; elle permet en effet la séparation des constituants d'un mélange et leur isolement, à partir d'échantillons dont la masse peut atteindre plusieurs grammes.

Elle présente cependant plusieurs inconvénients:

- de grandes quantités de solvant sont nécessaires à l'élution
- la durée de l'élution est généralement très grande
- la détection des composés exige une attention constante.

Elle est adaptée à la purification de faibles quantités de produit, lorsque les conditions opératoires sont au point. Cependant, la méthode étant très empirique, sa mise au point nécessite souvent de nombreux essais.

### **d- Chromatographie en phase gazeuse:**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est, comme toutes les techniques de chromatographie, une technique qui permet de séparer des molécules d'un mélange éventuellement très complexe de nature très diverses. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie.

Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une *colonne*, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée *phase stationnaire*, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un *gaz porteur* (ou *gaz vecteur*). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules

### II.1.6 - Techniques de distillation:

La distillation est un moyen de séparer deux liquides parfaitement miscibles par la différence de leurs points d'ébullition, c'est l'un des procédés d'extraction les plus anciens, apporté par les arabes au IX<sup>ème</sup> siècle [61].

Plusieurs types de distillation peuvent être cités à savoir: la distillation simple, distillation fractionnée, distillation par entraînement avec la vapeur d'eau  
.....

Le produit est retiré, au fur et à mesure de la distillation, en donnant dans l'ordre une « tête », un « cœur » est une « queue ».

#### a- Distillation simple

C'est la condensation dans un récipient séparé de la vapeur directement émise par un mélange liquide porté à l'ébullition ou à une température modérée mais sous un vide ce qui permet d'éliminer rapidement les solvants ou leurs mélanges.

#### b- Distillation fractionnée:

La distillation fractionnée, aussi appelée rectification, est un procédé de séparation. Son but est de séparer les différents constituants d'un mélange de liquides miscibles, possédant des températures d'ébullition différentes. Pour cela, elle exploite le même principe que la distillation classique mais se distingue par

l'utilisation d'une colonne de séparation, qui permet une meilleure discrimination des constituants du mélange.

**c- Distillation sous vide:**

C'est la condensation dans un récipient séparé de la vapeur directement émise par un mélange liquide porté à l'ébullition ou à une température modérée mais sous un vide ce qui permet d'éliminer rapidement les solvants ou leurs mélanges. Le matériel nécessaire pour réaliser la distillation sous vide, appelé aussi l'évaporateur rotatif est le suivant :

**II.1.7- Techniques de filtration :**

Le but de la filtration est de séparer les constituants d'un mélange liquide-solide par passage à travers un milieu filtrant. Cette opération est beaucoup plus rapide que la sédimentation, elle est donc plus utilisée.

On récupère après filtration soit un solide (après une cristallisation), soit un liquide (récupération d'eaux usées avant traitement et après sédimentation), soit un liquide et un solide à la fois (opération de recristallisation).

On distingue:

**a- Filtration par gravité:**

Le mélange est soumis uniquement à la pression atmosphérique. Le liquide passe à travers le support filtrant, qui peut être du sable par exemple, tandis que le solide est récupéré sur le support filtrant.

**b- Filtration par surpression :**

La suspension arrive sous pression dans le filtre.

### **c- Filtration sous pression réduite:**

Le mélange est soumis d'un côté du filtre à la pression atmosphérique, et de l'autre côté, où sort le filtrat, à une dépression réalisée grâce à une pompe à vide.

Lors du passage d'une suspension à travers un milieu filtrant, le fluide circule à travers les ouvertures tandis que les particules sont arrêtées. En s'enchevêtrant, ces dernières finissent par former un second milieu filtrant pour les autres particules qui se déposent d'une manière continue sous forme de gâteau dont l'épaisseur va en croissant au fur et à mesure de l'écoulement de la suspension.

La différence de pression entre l'amont et l'aval (perte de charge) a une grosse importance car elle règle la vitesse de filtration.

Cet appareil permet d'éliminer rapidement un solvant volatil **par** évaporation. Le principe est basé sur l'abaissement du point d'ébullition avec la pression.

## **IV. 2- Méthodes d'analyses et activité biologique**

### **II.2.1- Analyse structurale par spectrométrie de masse :**

La spectrométrie de masse est une méthode physico-chimique appliquée à la détermination structurale des composés organiques. Elle permet d'accéder à la masse moléculaire d'une substance et apporte des informations structurales par le biais de l'étude des fragments moléculaires engendrés [19] [62].

Parmi les méthodes analytiques, la spectrométrie de masse (MS) occupe une place privilégiée grâce à ses caractéristiques: méthode hautement sensible (détection de composés à l'état de traces en quantité inférieure au milligramme), spécifique, applicable à des mélanges complexes, combinable à de nombreuses techniques chromatographiques et possédant une grande variété d'applications (analyses chimiques qualitatives et quantitatives, interaction entre molécules, biomédecine, entre autres) [15].

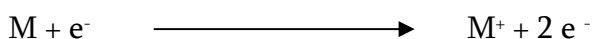
Généralement, le spectre fournit des indications précises quant à la structure et l'identité du composé analysé. Ces informations pourront être utilisées à des fins d'analyse quantitative [63].

**- Principe de la spectrométrie de masse:**

Le principe de la spectrométrie de masse consiste au bombardement à l'aide d'un faisceau d'électrons, d'une molécule à l'état gazeux pour produire une série de fragments enregistrables et caractéristiques de la molécule initiale.

Notant que la plupart des composés organiques ont des potentiels d'ionisation compris entre 7 et 20 eV. L'efficacité de l'ionisation s'accroît avec l'énergie des électrons, pour atteindre un seuil entre 50 et 100 eV.

Les molécules M des produits à analyser sont bombardées pour donner naissance à l'ion M<sup>+</sup> :



**II.2.2- Analyse par les couplages conventionnels. [9]**

**a- La chromatographie en phase gazeuse (CPG):**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition [64]. La CPG est la technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles. Elle permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit [65].

Pour chacun des composés, deux indices de rétention polaire et apolaire, peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme

étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température programmée (indice de rétention) [66]. Ils sont ensuite comparés avec ceux de produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature). Toutefois, il est fréquent d'observer des variations, parfois importantes, lorsque l'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire et ceux de la littérature (en particulier sur colonne polaire). C'est pourquoi la comparaison des indices sur deux colonnes de polarité différente est nécessaire.

Malgré tout, ceci ne peut suffire à une bonne identification, sans l'apport du couplage entre la CPG et une technique d'identification spectroscopique : en général la spectrométrie de masse (CPG/SM). La combinaison de ces deux techniques complémentaires, est applicable à l'analyse d'un grand nombre de substances organiques, aussi bien gazeuses que liquides.

#### **b- Le couplage chromatographie - spectrométrie de masse :**

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) en mode impact électronique (SM-IE) est la technique la plus utilisée pour l'analyse des huiles essentielles à cause de leur faible volatilité [19]. Il permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation [9].

Les techniques de couplage sont plébiscitées car ne nécessitant pas d'étapes de purification préalable des composés, elles représentent un gain de temps important surtout lorsque les quantités d'échantillons disponibles sont faibles [67]. Il existe de nombreux exemples de l'application de cette technique pour l'analyse de mélanges de produits naturels complexes et, en particulier, de mélanges de flavonoïdes [68] [69].



Le couplage LC-MS fournit, en fonction du type de technique de masse employée, divers éléments relatifs à la masse moléculaire de chaque constituant d'un mélange mais également des informations découlant du comportement en LC (temps de rétention en fonction du type de colonne), de l'absorbance UV et permet des comparaisons avec des standards ou des données préalablement acquises. C'est la technique de choix pour caractériser rapidement sans séparation chimique les éléments d'un mélange de composés naturels pour savoir s'ils sont, ou non, déjà connus et s'ils méritent les ressources requises pour leur isolement et leur détermination structurale (étape connue sous le terme anglais de dereplication) [70].

Dans la source d'ionisation les molécules sont bombardées à l'aide d'électrons, conduisant ainsi à la formation des ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Il existe plusieurs analyseurs de masse mais les plus utilisés pour l'analyse des huiles essentielles sont le "quadripôle " et le " piège à ion " ou " ion trap ". Le quadripôle ainsi que l'" ion trap " utilisent la stabilité des trajectoires pour séparer les ions selon le rapport masse sur charge ( $m/z$ ) [71] [72]. Les spectres de masse ainsi obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles, commerciales (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library [61], Wiley Registry of Mass Spectral Data [72], contenant plusieurs milliers de spectres, König-Joulain, intitulée « Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils » contenant plus de 1200 composés) ou construite au laboratoire.

Si, dans la grande majorité des cas le couplage CPG/SM fonctionne correctement, certains auteurs ont souligné les difficultés rencontrées lors de l'identification de molécules possédant des spectres de masse insuffisamment différenciés, voire superposables, comme pour le 1-endo-bourbonanol (sesquiterpène tricyclique) et le 1,6-germacradièn-5-ol (monocyclique) [73]. C'est donc le cas de

certaines sesquiterpènes et diterpènes, puisque ces molécules sont construites à partir des mêmes entités isopréniques.

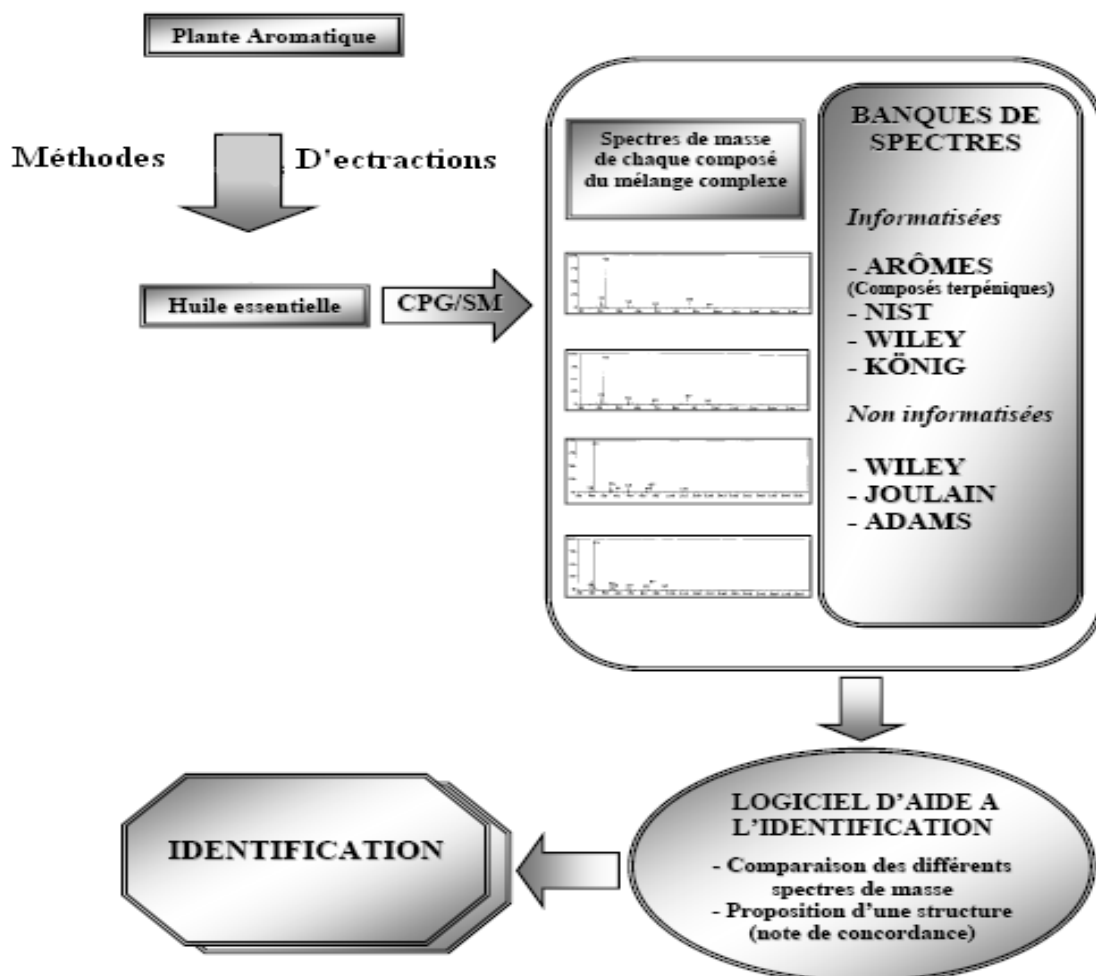


Figure 6: Identification des composés d'une HE par GC-SM. [9]

### II.2.3- Activité anti oxydante:

#### a- Définition des radicaux libres:

Les radicaux libres sont des espèces chimiques atomiques ou moléculaires contenant un électron libre ou plus non appariés. Les réactions chimiques donnent naissance à ces espèces pour catalyser le milieu et elles disparaissent à la fin de la réaction.

- Les radicaux primaires: le radical primaire contient un seul électron libre et neutre tel que  $\dot{\text{H}}$ ,  $\dot{\text{N}}$ ,  $\dot{\text{F}}$ ,  $\dot{\text{Cl}}$ ,  $\dot{\text{C}}\text{H}_3$ ,  $\dot{\text{C}}_2\text{H}_5$ ,  $\dot{\text{N}}\text{H}_2$  ...
- Les radicaux secondaires: le radical secondaire contient deux électrons et plus libres et neutres tel que  $\ddot{\text{N}}\text{H}\dot{\text{C}}\ddot{\text{H}}_2\ddot{\text{O}}$  [74] [75].

La durée de vie des radicaux libres est très courte, elle est d'ordre de picoseconde ( $10^{-12}$  seconde). La caractéristique commune des radicaux libres est la grande réactivité chimique [76] [77]. Le volume, la position stérique et la mésomérie de l'atome ou la molécule sont directement liés à la stabilité des radicaux libres.

#### **b- Radicaux libres actifs (radicaux non stables):**

Se sont des radicaux libres de très courte durée de vie, de petite masse atomique ou moléculaire et d'une énergie d'activation qui tend vers le zéro. A titre d'exemple de cette famille on cite:  $\text{H}_2\dot{\text{O}}^+$ ,  $\text{I}_2^-$ ,  $\dot{\text{O}}\text{H}$ ,  $\text{NO}^-$ ,  $\text{CH}^{5+}$ ,  $\dot{\text{C}}\text{H}_3$ .

#### **c- Radicaux libres stables:**

Se sont des radicaux libres de grande durée de vie qui passe de quelques secondes à quelques heures voire quelques jours. Ces radicaux sont caractérisés par leur grande masse moléculaire et leur très grande stabilité et par suite leur énergie d'activation très limitée. Les radicaux libres issus des corps aromatiques présentent les exemples les plus concrets de cette famille à l'image du triphénylméthyle (TP<sub>3</sub>M), les radicaux issus du diphénylpécrylhydrazyle (DPPH) et les radicaux du diphenyle d'oxyde nitrique (Ph<sub>2</sub>NO).

#### **d- Cinétique des radicaux libres:**

Nous avons cité précédemment que la durée de vie des radicaux libres peut être courte ou longue selon le type de ces radicaux. La détermination de la cinétique des radicaux libres de courte durée de vie est faite par des méthodes spectroscopiques

telles que la spectroscopie de masse ou par RMN. Cependant celle des radicaux libres de longue durée de vie est déterminée par les méthodes classiques, pour ces cas on peut mesurer une grandeur en fonction du temps telle que la détermination de la concentration, l'intensité, l'absorption. Ces grandeurs variables en fonction du temps nous permettant de déterminer la vitesse de la réaction et par suite la détermination de sa cinétique. La méthode rentable pour le cas des radicaux libres de longue durée de vie est notamment l'absorption de la lumière en fonction du temps, nous utilisons comme appareillages les spectrophotomètres UV-V à condition que la zone d'absorption des radicaux libres différent de celle des produits réactionnels. A titre d'exemple le triphénylméthyl ( $\text{Ph}_3\text{Me}$ ) absorbe la lumière dans la zone située entre 345 – 510 nm et l'absorption par le triphénylméthane ( $\text{PhCH}$ ) est pratiquement sous la barre de 262 nm [78].

#### II.2.4- Réactions auto oxydantes:

Un nombre très important de réaction d'oxydation en chimie organique fait appel au mécanisme des radicaux libres. L'oxydation organique est par définition l'effet de l'oxygène de l'air sur les corps organiques en présences des facteurs et des conditions favorisant l'oxydation. Citons les initiateurs aux radicaux libres et la sensibilité des réactifs à l'absorption de la lumière [76] [77] [79].

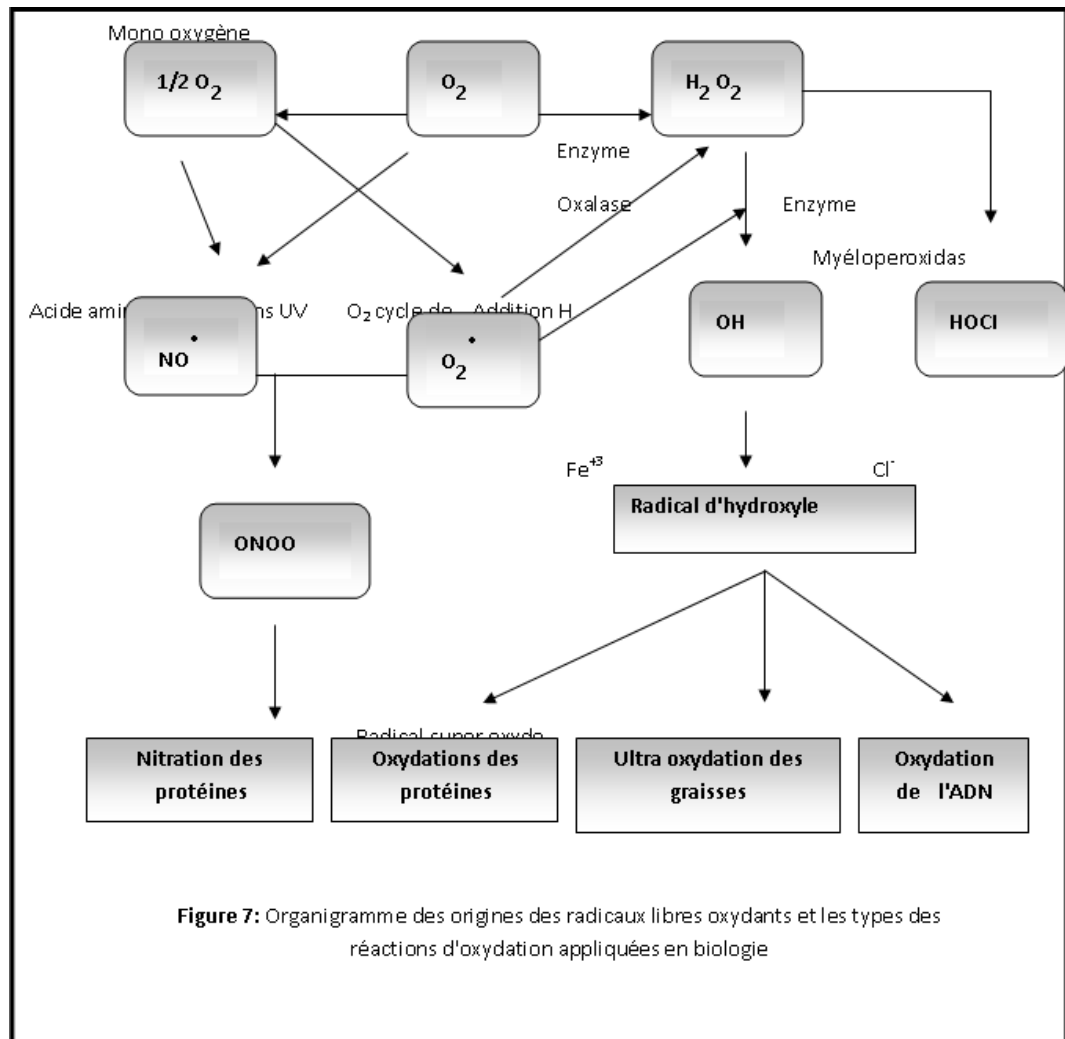
La décomposition des produits alimentaires est l'un des sujets importants de l'auto-oxydation organique. Les chaines carboniques non saturées des acides gras s'oxydent facilement en acides carboxyliques de masses moléculaires inférieures et caractérisés par une odeur désagréable. Notons comme exemple de cette auto-oxydation la consommation des produits alimentaires par exposition à l'air ou à la lumière pour une grande durée. La peroxydation des solvants par action de l'oxygène de l'air est un second exemple de cette gamme de réaction [80].

### **a- Réactions d'oxydations dans le système biologique:**

Les réactions radicalaires, sans aucun doute, contribuent à la croissance du corps humain et à sa conservation [81]. Ceux ci est du au rôle important des réactions dans les manifestations biologiques [78] vu la présence des radicaux libres dans les cellules humaines, particulièrement dans l'étape d'autoplastie biosynthèse ou durant l'étape de destruction des corps bioactives [82].

L'oxygène est l'élément de base dans les cellules ou se passent l'oxydation, cette oxydation n'est que l'effet de l'oxygène sur les différents corps organiques de la cellule. L'importance de cette réaction réside dans l'obtention de la quantité d'énergie nécessaire pour la formation d'autres corps organiques notamment les corps cellulaires. Une partie de cette énergie à pour destination d'effectuer les différentes activités fonctionnelles (mouvements, croissance, ingestions, dégagements ...) [83].

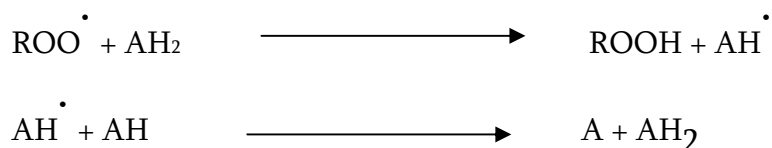
Parmi les espèces radicalaires aptes à se former dans les cellules on note les radicaux primaires biochimiques [84]. Les chaines de peroxysomes et le système cytochrome, ces deux types radicalaires sont responsables de la destruction de l'ADN des vieilles cellules en plus de leur responsabilité de certaines maladies (fig. 7) telles que le cancer, la paralysie vibratoire et l'amollissement musculaire.



**Figure 7:** Organigramme des origines des radicaux libres oxydants et les types des réactions d'oxydation appliquées en biologie

**b- Définition des antioxydants:**

Les antioxydants sont des corps donneurs d'atomes d'hydrogène [85], ou des molécules qui, par action sur les radicaux, les transforment en corps stables. Les équations suivantes schématisent ces réactions:

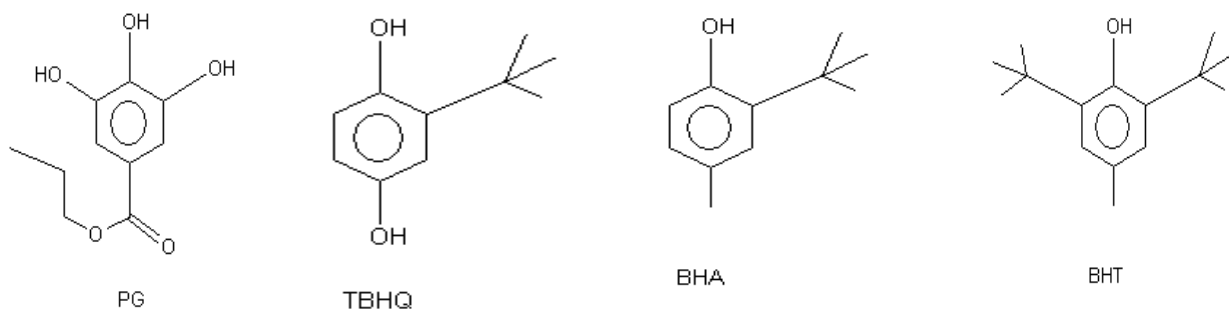


Le rôle principal des antioxydants réside dans la rupture de la série des réactions radicalaires d'oxydation. Suivant l'origine des antioxydants, ils sont subdivisés en deux catégories:

**- Les antioxydants synthétiques:**

Les antioxydants synthétiques sont des produits de l'industrie utilisés comme aditifs dans plusieurs secteurs notamment le secteur des produits alimentaires conservés afin de minimiser sa dégradation car les phénomènes d'oxydation les touchent avant la matière alimentaire ce qui conduit à prolonger la durée d'utilisation de ces aliments. Parmi les antioxydants les très répandus dans l'industrie alimentaire on cite:

Le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), la gallate propylée (PG), la tétra-butylhydroquinone (TBHQ). Ces quatre produits cités sont caractérisés par leur activité importante, leur toxicité quasiment nulle et leur bon marché vis-à-vis aux antioxydants naturels [86]. Néanmoins, ces produits sont caractérisés par leurs effets secondaires fatals causés par les utilisations multiples. Mentionnons que les pays du marché européen les interdisent actuellement. Les formules chimiques de ces quatre antioxydants synthétiques sont illustrées dans la figure 8



**Figure 8 :** Antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie alimentaire

**- Les antioxydants naturels:**

Les concentrations des radicaux libres tels que  $\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{HOO}^\bullet$  et  $\text{O}_2^{\bullet\bullet}$  à l'état physiologique habituel sont contrôlés par les cellules qui utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et qui consomment, par suite, une quantité d'énergie considérable afin de contrôler les réactions d'oxydation [84]. Parmi ces stratégies, nous citons l'utilisation des enzymes de censure naturelle (Peroxydases, catalases, superoxyde dismutases). D'autres stratégies basées sur l'utilisation des facteurs antioxydants formés à partir de la matière alimentaire telle que l'acide ascorbique (vitamine C), l'ubiquinone (la vitamine Q), l'acide urique et le concentrât extrait de la carotte. Ce type d'aliment constitue un attrapoire des radicaux libres, particulièrement les électrons libres, et les transforment en corps stables [86].

On conclusion les antioxydants sont des produits de formation internes ou externes aptes à neutraliser ou même à réparer les détériorations causées par les radicaux libres.



# Chapitre III

## Description des plantes

## Chapitre III : Description des plantes

### III.1- *Pituranthos scoparius*

#### III.1.1- Description botanique du genre:

Les ombellifères sahariennes sont différentes les unes des autres et leur détermination ne présente pas de grandes difficultés. Exclusivement, la distinction entre les espèces de *Pituranthos* est souvent difficile [86]. En effet, elles ne se distinguent les unes des autres que par la couleur des fleurs et la taille de leur pédoncule [87].

Le genre *Pituranthos* possède plus de 20 espèces, dont certains sont spécifiques à l'Afrique du nord [88][89], et sont souvent rencontrées dans les régions arides ou désertiques.

Le potentiel floristique algérien de ce genre comporte les espèces suivantes:

- *Pituranthos Chloranthus*, espèce particulièrement moins présente.
- *Pituranthos Scoparius*, L'objet de notre travail, espèce abondante dans les Aurès.
- *Pituranthos battandieri* (Maire), endémique au Sahara marocain et la région oranaise.

Quezel [88] a décrit le genre *Pituranthos* comme une plante vivace, totalement aphyllé, à tiges très ramifiées, portant des ombelles à involucre et involucelles polyphylles et des péricarpes ovoïdes à 6 bandelettes.

#### III.1.2- Usages traditionnels :

L'espèce *Pituranthos scoparius* est appelée localement Guezzeh. Les huiles obtenues des tiges et des graines de l'espèce *Pituranthos scoparius* sont largement utilisées comme remède contre le rhumatisme et la fièvre [21].

La plante est notamment utilisée comme médicament contre [90]:

- Les spasmes, Les douleurs du diabète, l'hépatite, les infections urinaires, et les difficultés digestives.

L'espèce *Pituranthos Chloranthus* est employée, en cataplasmes sur la tête, contre les céphalées [21].

Les espèces *triradiatus* et *tartuosus*, sont utilisées par la population bédouine contre les douleurs d'estomac, les parasites intestinaux ou comme agent régulateur de la menstruation chez les femmes [21].

### III.1.3- Toxicité :

Les nomades connaissent le haut pouvoir allergisant des plantes du genre *Pituranthos* pour les animaux, en période de leur floraison [21]. En effet, le pollen des espèces *Chluranthos* et *scoparius* engendrent des ophtalmies graves, quand il pénètre dans les yeux des animaux. Le dromadaire en particulier y est très sensible. Très allergisant, ce pollen rend les animaux aveugles pendant plusieurs jours. Les nomades traitent ces ophtalmies en instillant dans les yeux du dromadaire, du jus de tabac ou en introduisant du sel sous les paupières [21].

### III.1.4 - Intérêt pastoral:

La plante est broutée en petites quantités par les dromadaires [88].

### III.1.5- Description:

C'est une plante vivace, sans feuilles ou presque, à tiges hautes de 50-80 cm, jaunâtre, en forme de joncs, ramifiées dans le haut seulement, simples et parallèles entre elles dans leur moitié inférieure, portant des ombelles latérales; pédoncules souvent courts; pétales blancs à nervures étroites [86].

Fruit: Akènes ovoïdes, de 1-3 mm de diamètre, poilés. [28]

Habitat: Hamada et lits d'oued et dépressions à fond rocheux.

Répartition: Assez répandue dans tout le Sahara, comme tout le nord africain. Elle se présente en très grandes colonies. Sahara septentrionale: Guire, Saoura, BouSaada, Biskra...etc [86].

### III.1.6- Monographie de la plante



**Figure 9:** Les fleurs de la plante *Pituranthos scoparius*



**Figure 10:** *Pituranthos scoparius* de la région de récolte







**Figure 11:** Présentation de la plante *Pituranthos scoparius*

### III.1.7- Classification de *Pituranthos scoparius*

Embranchement : Phanérogames;

Sous-embranchement : Angios permes;

Classe : Eudicotylédones;

Sous-classe : Melophyta Choripetalae;

Série : Opétale hermaphrodite;

Ordre : Araliales;

Famille : Ombellifères;

Genre : *Pituranthos*;

Espèce : *Pituranthos scoparius*

### III. 2- *Rantherium adpressum* :

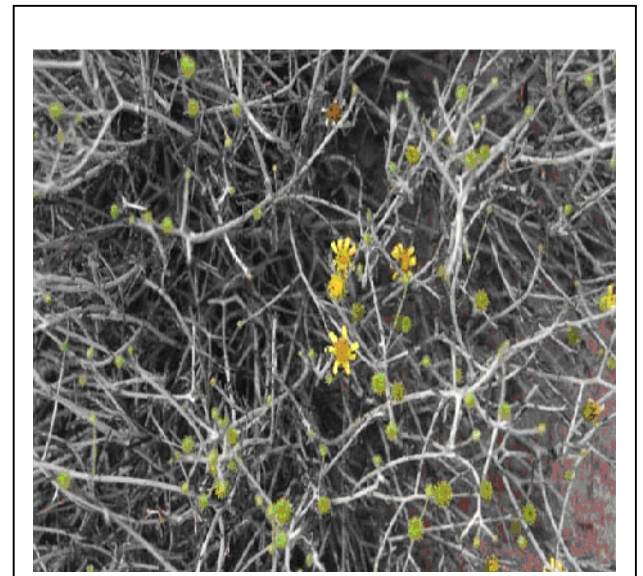
#### III.2.1 - Description:

La sous-famille Tubuliflore renferme approximativement 3000 espèces dans presque 200 genres distribués en 14 tribus [91][92].

Particulièrement, elle renferme numériquement, 408 espèces en Algérie, réparties en 109 genres. La plante *Rantherium adpressum* (Arfadj) du sud Algérien en est un exemple, dont la phytochimie est particulièrement intéressante. Elle est utilisée traditionnellement avec une autre plante appelée *Haplophyllum tuberculum* pour traiter les douleurs de l'estomac.

La classification de cette famille a été souvent contestée. Des études phytochimiques, des données botaniques, ainsi que la connaissance de la biogenèse des métabolites secondaires ont permis de clarifier la position importante de certains composés ( terpéniques, flavonoïdes, polyacétylènes )[93].

#### III.2.2- Monographie de la plante



**Figure 12:** Présentation de la plante *Rantherium adpressum*

**III.2.3- Classification de *Rantherium adpressum*:**

Embranchement: Spermatophyte

Sous Embranchement : Angiosperme

Classe: Dicotylédone

Sous classe: Gamopétale

Série: Epigone

Sous série: Isostémone

Ordre: Astérale

Famille: Compositae (Asteraceae)

Sous famille:Tubuliflore

Tribus: Inulée

Genre: *Rantherium*

Espèce: *adpressum*

**III.3- *Traganum nudatum*:**

Le "*Traganum nudatum*" est une plante endémique. Les renseignements recensés de cette plante sont très maigres malgré sa large utilisation dans la médecine traditionnelle particulièrement dans le Sahara algérien. Cela nous laisse penser que la plante n'est pas étudiée. La première présentation apparue, suivant nos connaissances, est réalisée par le Dr Ec-chahma Abdelmadjid, spécialisé dans les plantes médicinales, enseignant à l'université Kasdi Merbah, Ouargla.

**III.3.1- Description de la plante:**

Le *Traganum nudatum* est un feuillu vivace de la famille Chénopodiacées [94], sa hauteur est de 15-40 cm mais elle peut atteindre 1 m, des tiges dérivantes, les branches de couleur blanches, les feuilles ovales en alternation, leur dimensions (1.5 – 3 x 8 – 4)., la plante présente des chardons jaunes courbées vers le bas et se terminent par une



chevelure en coton qui couvrent les fleurons et les nouvelles tiges après la disparition des feuilles [94]. La floraison se produit durant le printemps en formant de modestes fleurs qui se regroupent en deux à trois fleurs [87]. Notons enfin que la plante garde sa forme durant l'été avec jaunissement des feuilles [94]. La figure 14 illustre la plante du *Traganum nudatum*.

### III.3.2- Diffusion géographique:

Le *Traganum nudatum* est une plante désertique qui elle pousse dans l'erg et dans les régions sableuses, particulièrement dans la zone qui sépare l'erg et El'Hamada [94]. La plante recouvre une grande surface des wilayas d'Ouargla, El-Oued, Ghardaïa et Tébessa au nord centre du Sahara [95].

### III.3.3- Les utilisations curatives du *Traganum nudatum*:

Le *Traganum nudatum* très mentionné dans la littérature arabe, notamment dans la poésie. Il est utilisé comme matière curative sous forme de tisane, de poudre ou même sous forme de baume. De diverses maladies sont traitées par cette plante; citons:

- Traitement des plaies et les maladies cutanées
- Traitement des hémorroïdes
- Traitement des différentes formes du rhumatisme.
- Traitement des maux du dos particulièrement les lombalgies.
- Traitement des diarrhées et les exténuations.
- Traitement des otites.
- Le mélange de la plante avec le henné et une matière savonneuse est utilisé pour le traitement des blessures et les tuméfactions cutanés.

Signalons enfin que le *Traganum nudatum* est une plante pastorale très favorisée chez le chameau, que se soit verte ou sèche. [95].

III.2.4- Monographie de la plante



Figure 13: L'encombrement et les dérivations des tiges et les feuilles du *Traganum*



Figure 14: *Traganum nudatum*



**Figure 15:** les feuilles du *Traganum nudatum*





**Figure 16:** Photos de la zone de récolte "Djamaa – El-Oued" du *Traganum nudatum*

**III.3.5- Classification de la plante : [94-96]:**

- Nom usuel (courant): Tragam Dénudé
- Nom usuel en arabe: Edh- dhamrane
- Nom scientifique: *Traganum nudatum*
- Règne: Végétal
- Embranchement: spermaphytes
- Sous embranchement: angiospermes
- Classe: Dicotylédones
- Sous classe: Apétales
- Série: Apétales unisexuées
- Ordre: Centrospermales
- Famille: Chénopodiacées
- Genre: *Traganum*
- Espèce: *nadatum*

# Chapitre VI

## Valorisation des plantes

## **Chapitre IV : Valorisation des plantes**

### **IV.1- Étude du *Pituranthos scoparius***

#### **IV.1.1- Composés volatils du *Pituranthos scoparius***

Actuellement, la méthode de dosage et d'identification, la plus couramment employée dans l'étude des huiles essentielles, fait appel à la chromatographie en phase gazeuse. Elle permet l'identification des constituants et l'obtention d'une valeur approximative des concentrations respectives. Cette méthode permet également de séparer de faibles quantités des différents composants de l'huile essentielle.

#### **IV.1.2- Récolte :**

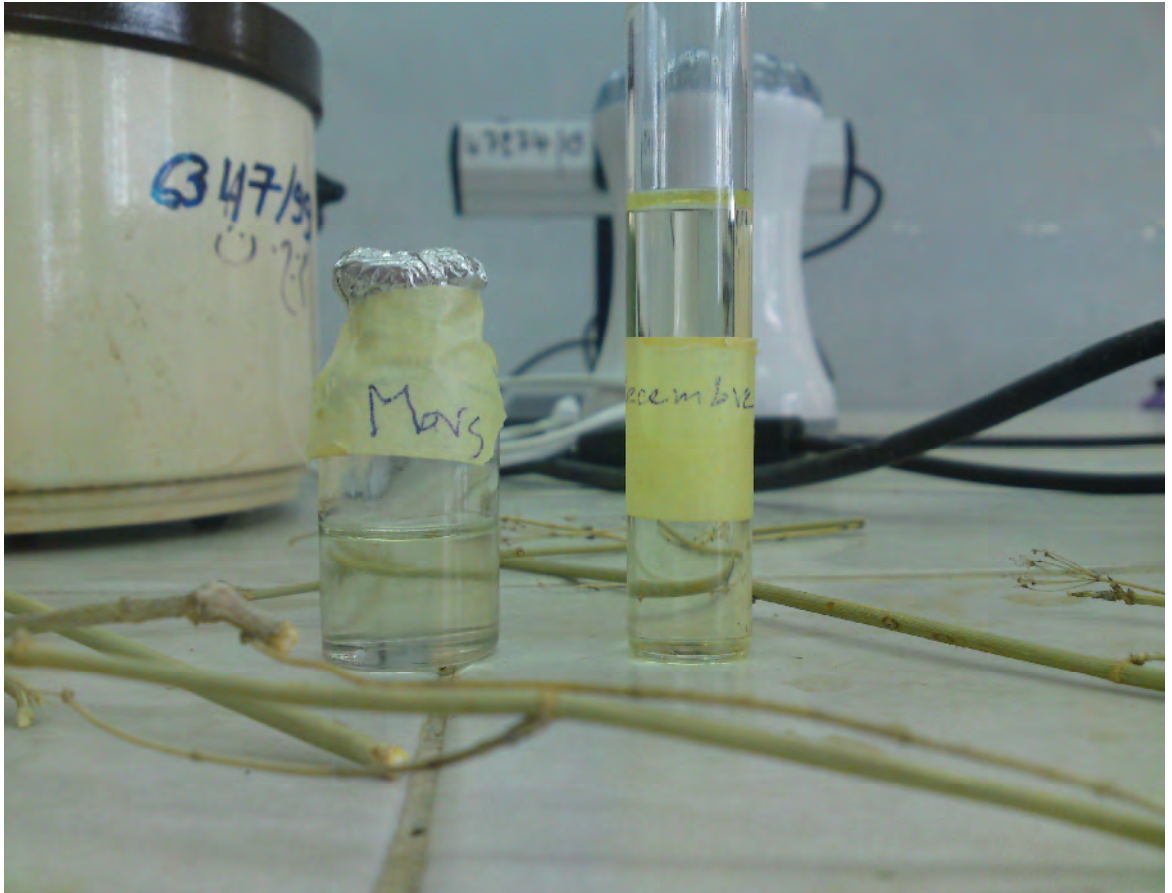
La récolte de la plante est effectuée dans la région de Ghardaïa (latitude: 32.4, longitude: 3.81, altitude: 450), au mois de février 2008. La plante a été entreposée, séchée et soumise aux différentes opérations d'extraction.

**Les analyses GC-MS ont été effectuées au niveau du laboratoire du National Research Center (Égypte).**

#### **IV.1.3- Extraction :**

L'huile essentielle est extraite par la méthode d'entraînement à la vapeur. Dans un Erlenmeyer de 2 litres contenant de l'eau mise en chauffage, on monte un alambic dans lequel on place la matière végétale (coupée en petits morceaux). (figure 17)





**Figure 17:** la plante *Pituranthos scoparius* et l'huile extraite au laboratoire

La vapeur d'eau traverse la matière végétale en entraînant les produits volatils vers le réfrigérant. La vapeur condensée est un mélange d'eau et d'huile essentielle. Celui-ci est recueilli dans une ampoule à décanter. L'huile est séparée de l'eau par décantation. (figure 18)



Figure 18: Montage d'une unité d'hydrodistillation

#### IV.1.4- Conditions d'analyse CPG/SM des huiles essentielles:

Les Huiles essentielles ont été analysées en utilisant un appareil de type Agilent GC6890A, équipé d'une colonne capillaire HP5MS (longueur: 30 m, et de 0,25 mm de diamètre intérieur. L'épaisseur du film est 0,25 mm) couplé à un spectrophotomètre de masse de type Agilent 5973EI, avec un détecteur à impact d'électrons, 70 eV.

Les conditions analytiques sont les suivantes (tableau 1):



**Tableau 1:** Conditions d'analyse CPG/SM des huiles essentielles.

| Conditions                                   |   |
|--|---|
| Température de l'injecteur ( °C )            | 250   |
| Température du détecteur ( °C )              | 150   |
| Température de auxiliaire ( °C )             | 280   |
| Température de source ( °C )                 | 230   |
| Quantité injectée ( µl )                     | 0,2   |
| Programmation de la température du four (°C) | 50 à 1min, 50 à 150(3°C/min) et de 150°C à 250 °C (5°C/min) et en isotherme à (250°C) pendant 5 min |

#### IV.1.5- Calcul du rendement:

L'huile essentielle est au préalable placée sur un desséchant de sulfate de magnésium anhydre (MgSO<sub>4</sub>), afin d'éliminer toute traces éventuelles d'eau, elle est ensuite pesée afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse de la matière végétale fraîche.

$$\% \text{ huiles} = \frac{\text{Le poids des huiles obtenu après extraction}}{\text{Poids de la matière végétale}} \times 100$$

Le poids de la matière végétale 1000g, et le poids d'huiles essentielles après l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau 2,5g.

$$\% \text{ huiles} = \frac{2,5 \times 100}{1000} = 0,25 \%$$

**IV.1.6- La densité relative à 20°C:**

La densité relative à 20°C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume de cette huile, à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C.

$$d = \frac{25}{29} = 0,86$$

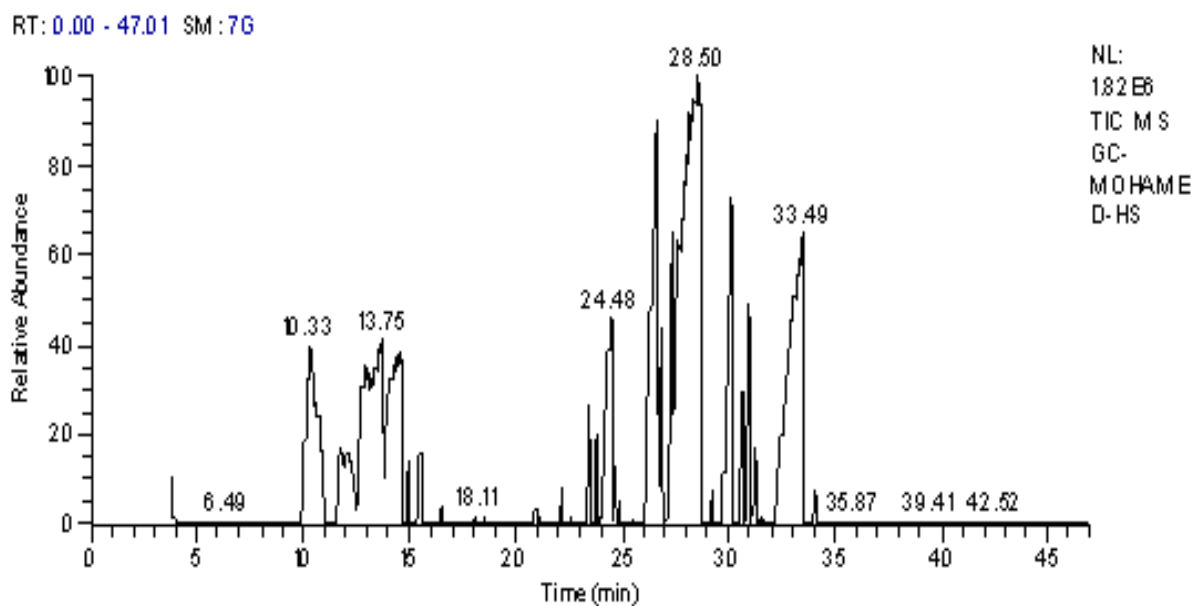
**IV.1.7- phytoscreening de la plante:**

Les tests chimiques préliminaires effectués sur la plante *P. scoparius* ont révélé la présence des métabolites secondaires rapportés dans le tableau ci-dessous:

**Tableau 2 :** Résultats des tests chimiques du *P. scoparius*

| Familles chimiques    | Observations |
|-----------------------|--------------|
| Tannins               | +            |
| saponosides           | +            |
| Huiles essentielles   | +            |
| Stéroïdes             | +            |
| Alcaloïdes            | -            |
| flavonoïdes           | +            |
| Glycosides cardiaques | -            |

Le chromatogramme de l'huile extraite de la plante est présenté dans la figure 19



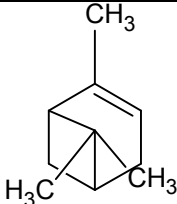
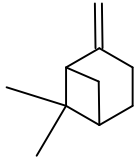
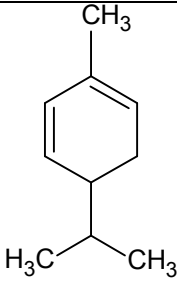
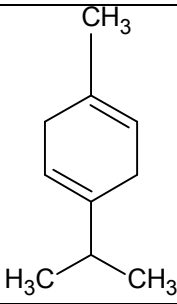
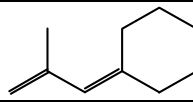
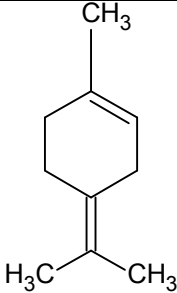
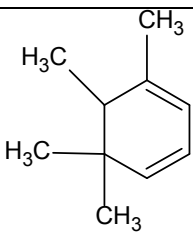
**Figure 19:** Chromatogramme des HE de la plante *P. scoparius*

Enfin le tableau ci-dessous récapitule les résultats de l'analyse par GC-SM

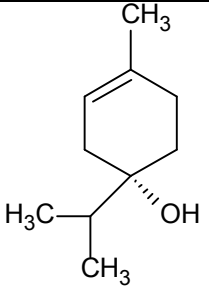
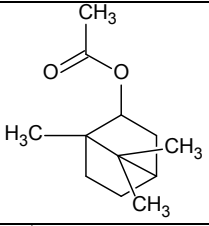
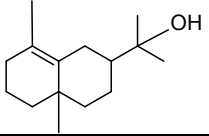
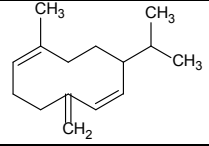
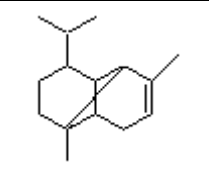
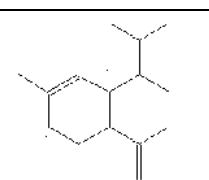
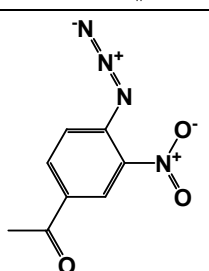
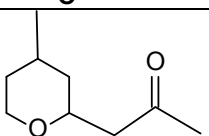
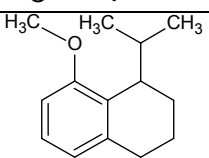
**Tableau 3 :** Résultats d'analyse de l'extrait des huiles essentielles par GC-MS.

| Composés               | Type d'huiles essentielles | temps de rétention des HE | %    | Formules moléculaires |
|------------------------|----------------------------|---------------------------|------|-----------------------|
| cyclofenchène          | Monoterpènes hydrocarbonés | 10,26                     | 3.61 |                       |
| $\delta$ -3-carane (A) | Monoterpènes hydrocarbonés | 10,73                     | 0.70 |                       |
| Tricyclène (B)         | Monoterpènes hydrocarbonés | 10,90                     | 0.58 |                       |

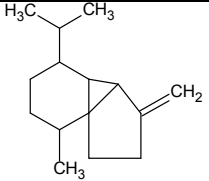
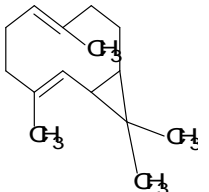
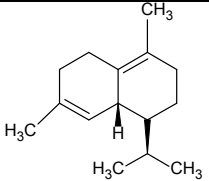
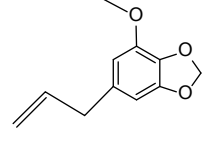
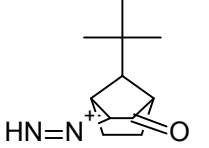
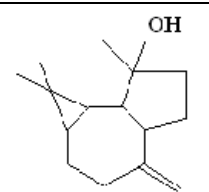
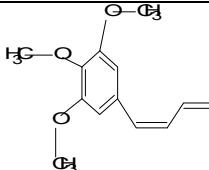
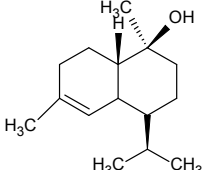
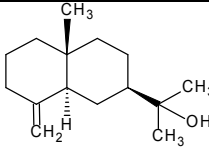
Chapitre IV : Valorisation des plantes

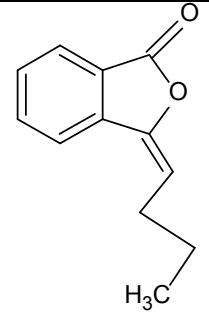
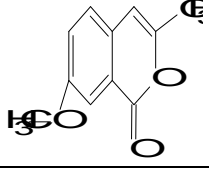
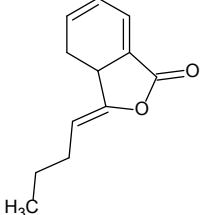
|                                      |                            |       |       |   |
|--------------------------------------|----------------------------|-------|-------|---|
| $\alpha$ - pinène                    | Monoterpènes hydrocarbonés | 11,72 | 2.93  |    |
| 2- $\beta$ -pinene (C)               | Monoterpènes hydrocarbonés | 12,17 | 3.74  |    |
| $\alpha$ - Phellandrene              | Monoterpènes hydrocarbonés | 12,84 | 2.15  |    |
| $\gamma$ - terpinene                 | Monoterpènes hydrocarbonés | 13,73 | 5.47  |   |
| 1-cyclohexyliden-2-methylpropene (D) | Monoterpènes hydrocarbonés | 14,60 | 12.89 |  |
| $\alpha$ -Terpinolene                | Monoterpènes hydrocarbonés | 14,93 | 2.68  |  |
| $\alpha$ -Pyronene (E)               | Monoterpènes hydrocarbonés | 16,50 | 0.11  |  |

## Chapitre IV : Valorisation des plantes

|   |                              |       |      |   |
|---|------------------------------|-------|------|---|
| (+)- Terpinene-4- ol                                      | Monoterpènes oxygéné         | 18,10 | 0.05 |    |
| bornyl acetate  | Monoterpènes oxygéné         | 20,92 | 0.07 |    |
| $\gamma$ -Elemene   | Sesquiterpènes oxygénés      | 22,21 | 0.24 |    |
| Gérmacrène D  | Sesquiterpènes oxygénés      | 22,59 | 0.04 |    |
| $\alpha$ -copaene   | Sesquiterpènes hydrocarbonés | 23,47 | 1.34 |   |
| t-muurolene   | Sesquiterpènes hydrocarbonés | 23,76 | 1.01 |  |
| 4-acetyl-2-nitroazidobenzene                              | -                            | 24,47 | 2.19 |  |
| 3,7-Guaiadiene (2-acetyl-4methyl-tetrahydropyran) (F)     | Sesquiterpènes hydrocarbonés | 24,67 | 0.56 |  |
| 8-methoxy-1,2,3,4 - tetrahydro-1-isopropyl-naphtalene (G) | Monoterpènes oxygéné         | 24,91 | 0.17 |  |

## Chapitre IV : Valorisation des plantes

|  |                                       |       |       |   |
|--|---------------------------------------|-------|-------|---|
| $\beta$ - cubebene   | Sesquiterpènes hydrocarbonés          | 26,63 | 15.28 |    |
| Bicyclogermacène   | Sesquiterpènes hydrocarbonés          | 26,86 | 1.44  |    |
| $\delta$ - cadinène  | Sesquiterpènes hydrocarbonés          | 27,34 | 2.60  |    |
| Myristicine<br>(1,3-benzodioxole,4 - methoxy-6-(2-propenyl)) | Dérivées aromatiques des monoterpènes | 27,62 | 12.14 |    |
| Syn-7-tert-butyl-3-diazobicyclo[2,2,1]heptan-2-one           | -                                     | 27,86 | 0.21  |   |
| Spathulenol  | Sesquiterpènes oxygénés               | 29,20 | 0.27  |  |
| (z)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2-propenal (H)                | Dérivées aromatiques des monoterpènes | 30,15 | 3.74  |  |
| Muurolol   | Sesquiterpènes hydrocarbonés          | 30,65 | 2.15  |  |
| $\beta$ - eudesmol   | Sesquiterpènes oxygénés               | 30,99 | 3.19  |  |

|   |                                      |       |       |   |
|---|--------------------------------------|-------|-------|---|
| butylidene phtalide (I)                       | Dérivées aromatiques de monoterpènes | 31,23 | 0.86  |  |
| 3-methyl-7-methoxy-2-benzopyran-1(1H)-one (J) | Dérivées aromatiques de monoterpènes | 33,50 | 19.64 |  |
| Butylidene dihydro-phtalide (K)               | Dérivées aromatiques de monoterpènes | 34,07 | 0.40  |  |

**Tableau 4 :** Résultats d'analyse selon les familles des terpènes du *P. scoparius*

|                             |   |       |       |
|-----------------------------|---|-------|-------|
| <b>Monoterpènes</b>         | Monoterpènes hydrocarbonés (%)            | 34.86 | 35.15 |
|                             | Monoterpènes oxygénés (%)                 | 0.29  |       |
| <b>Sesquiterpènes</b>       | Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)          | 22.23 | 25.97 |
|                             | Sesquiterpènes oxygénés (%)               | 3.74  |       |
| <b>Dérivées aromatiques</b> | Dérivées aromatiques des monoterpènes (%) | 36.78 | 36.78 |
| <b>Totale (%)</b>           |   | 97.9  |       |

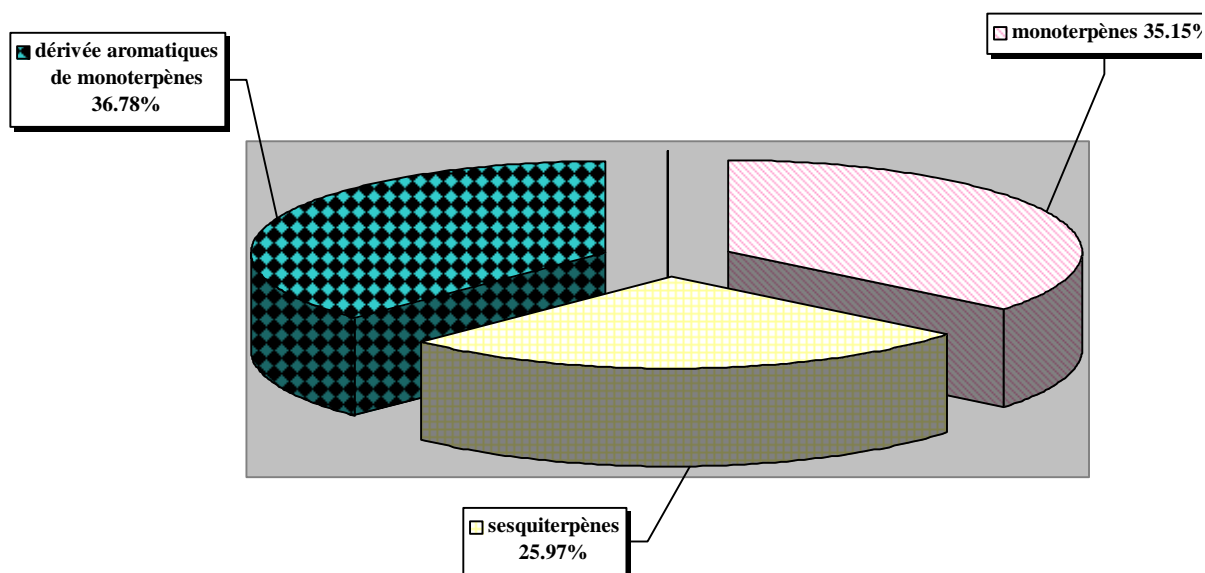
#### IV.1.8- Résultats et discussion:

L'analyse de l'échantillon par GC-MS a permis d'identifier 31 composés. Nous pouvons noter une forte prédominance de la fraction monoterpènes 35.15 %, tels que le  $\alpha$ - pinène 2.93 %, 2- $\beta$ -pinene 3.74 %,  $\gamma$  - terpinène 5.47 %,

1-cyclohexyliden-2-méthylpropène 12.89 %, par rapport à la fraction sesquiterpénique 25.97 % ( $\beta$ - cubebène 15.28 %,  $\delta$ - cadinène 2.60 %, Muurolol 2.15 %,  $\beta$ - eudesmol 3.19 %). La fraction des dérivées aromatiques représente environ 36.78 %.. (Figure 20)

Les composés hydrocarbonés constituent une importante partie de la composition chimique de l'huile : 57.09 % par rapport aux composés oxygénés: 40.81 %.

Parmi les composés majoritaires dans les huiles récupérées, on trouve le 3-méthyl-7-méthoxy-2-benzopyran-1(1H)-one 19.64 %, Myristicine 12.14 %,  $\beta$ - cubebène 15.28 %, 1-cyclohexyliden-2-méthylpropène 12.89 %,  $\gamma$ - terpinène 5.47 %.



**Figure 20:** Représentation des fractions des huiles de la plante *Pituranthos*

Par ailleurs, les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des graines et des tiges de la plante *Pituranthos scoparius* recueillie au mois d'Avril, ont été analysées par GC-MS. Le Tableau 5, englobe la nature des huiles et le pourcentage des différentes fractions obtenues (pour la référence de comparaison).



**Tableau 5:** Le pourcentage des différentes fractions des huiles selon la référence

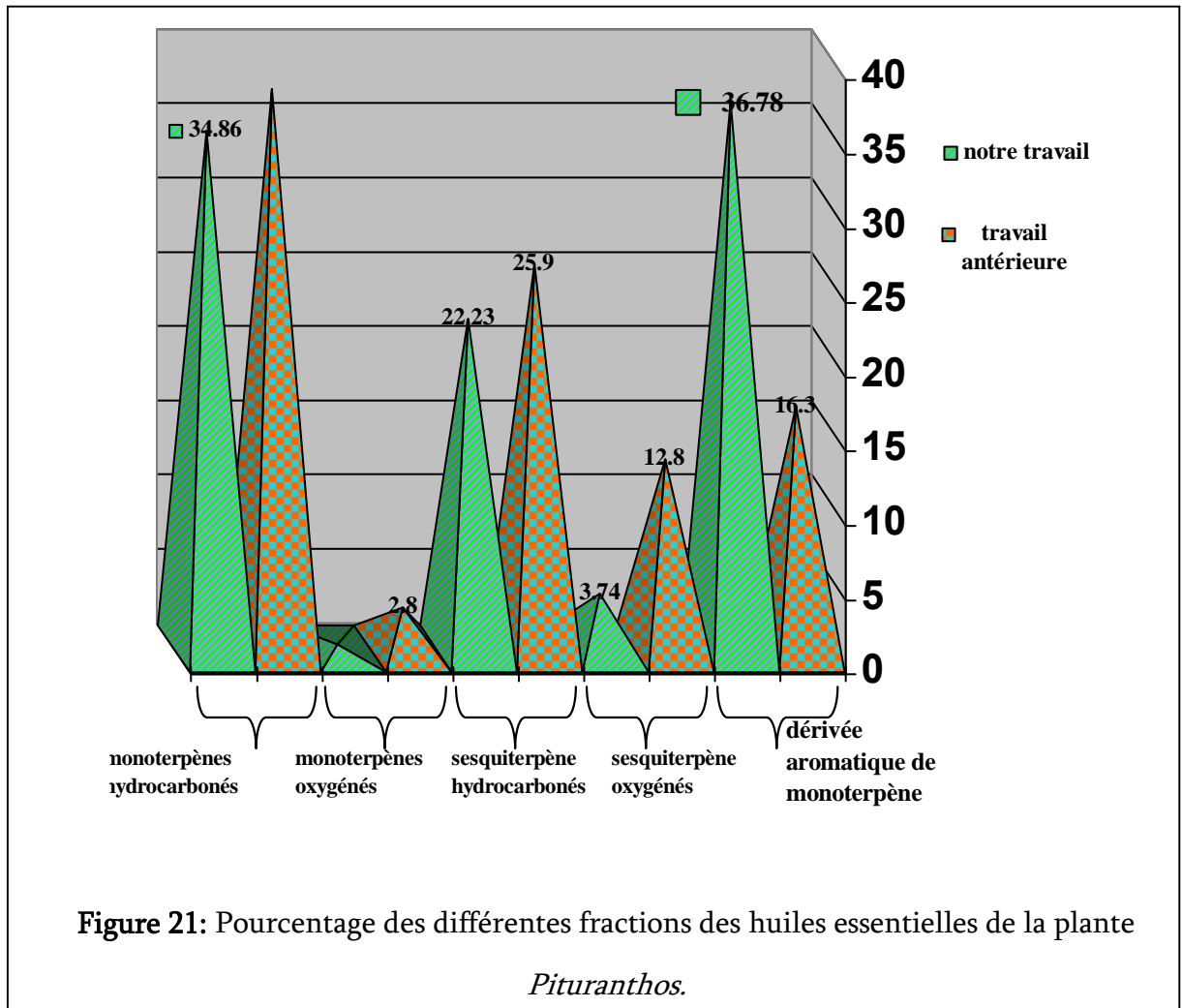
|                             |   |      |      |
|-----------------------------|---|------|------|
| <b>Monoterpènes</b>         | Monoterpènes hydrocarbonés (%)            | 37.7 | 40.5 |
|                             | Monoterpènes oxygénés (%)                 | 2.8  |      |
| <b>Sesquiterpènes</b>       | Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)          | 25.9 | 38.7 |
|                             | Sesquiterpènes oxygénés (%)               | 12.8 |      |
| <b>Dérivées aromatiques</b> | Dérivées aromatiques des monoterpènes (%) | 16.3 | 16.3 |
| <b>Totale (%)</b>           |   | 95.5 |      |

Les composés des huiles identifiés représentent 95.5 % de l'huile totale pour les tiges. La composition des huiles est dominée par les monoterpènes 40.5 %. Parmi les monoterpènes, les hydrocarbonés sont principalement représentés à 93.1 % du total des monoterpènes. Limonène 9.8 % et  $\alpha$ -pinène 6.8 % étaient les principaux monoterpènes hydrocarbonés.

La fraction des sesquiterpènes représente 38.7% de l'huile pour les tiges. Les sesquiterpènes hydrocarbonées représentés à 25.9 %, des huiles, ce qui représente, pratiquement, deux fois plus le taux des sesquiterpènes oxygéné 12.8 %.

Dans notre étude, pour chaque huile essentielle, nous avons trouvé les principaux composés reportés dans la dite référence à savoir: pour les tiges,  $\alpha$ -pinène 6.8 %, phellendène 7.1 %, limonène 9.8 %, méthyle eugénol 4.5 %, germacrène D 12.73 %, myristicin 7.2 %, spathulenol 4.5 %, et B-eudesmol 4.1 %.

Remarquons que les dérivés aromatiques des monoterpènes sont représentés à 16.3 % des huiles.



#### IV.1.9- Etude Comparative:

En comparant les données de la littérature (publication de P.vérité et al) [28] avec les résultats de notre travail, nous remarquons que les composés de l'huile identifiés représentent 97.9 % et 95.5 %, respectivement. La composition de chaque huile est dominée par les monoterpènes (35.15 % et 40.5 %, respectivement). Les monoterpènes hydrocarbonées sont principalement représentés (99.1 % et 93.1 % du total des monoterpènes).  $\alpha$ -pinène (2.93 % et 6.8 %), et  $\alpha$ -phylendrene (2.15 % et 7.1 %), sont les principaux hydrocarbures des monoterpènes.

Les dérivés aromatiques des monoterpènes sont très différents dans ce travail comparativement au travail publié (36.78 % et 16.3 %), myristicine (12.14 % et 7.2 %), muurolol (2.15 % et 3.6 %) et  $\beta$ -eudesmol (3.19 % et 4.1 %) sont les principaux dérivés aromatiques des monoterpènes.

La fraction des sesquiterpènes est différente aussi entre les deux travaux (25.97 % et 38.7 %). Pour l'huile dans le présent travail, la teneur des sesquiterpènes hydrocarbonés est (85.6%) est supérieure aux sesquiterpènes oxygénés 14.4%.

Concernant le travail publié, ces chiffres sont de l'ordre de 67.11% et 33.07% successivement.

D'après les résultats obtenus par GC-MS, de nouveaux constituants sont détectés pour la première fois dans l'huile de *Pituranthos scoparius*, comparativement aux résultats publiés jusqu'à ce jour selon la banque des données de l'appareil. Ces composés sont:  $\delta$ -3-carane, tricyclène, 2- $\beta$ -pinène, 1-cyclohexylidène-2-méthylpropène,  $\alpha$ -Pyronène, 3,7-Guaiadiène, 8-méthoxy-1,2,3,4-tetrahydro-1-isopropyl-naphtalène, (z)-3-(3,4,5-triméthoxyphényl)-2-propenal, butylidène phtalide, 3-méthyl-7-méthoxy-2-benzopyran-1(1H)-one, Butylidène dihydro-phtalide.

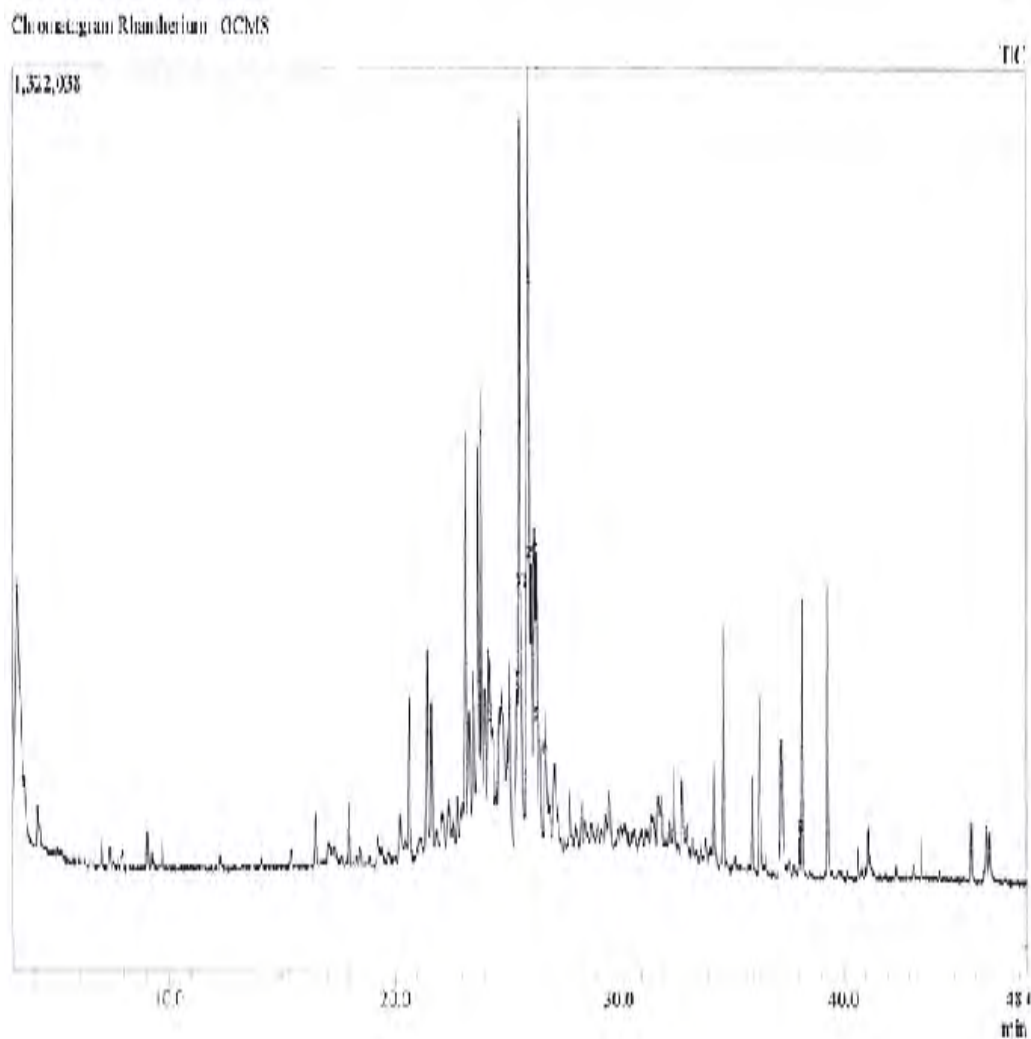
## IV.2- Etude de *Rhanterium adpressum*

### IV.2.1- Récolte:

La récolte de cette plante a été faite dans la région de Ghardaïa au mois d'Avril 2008, on a réalisé le même protocole expérimental décrit auparavant. Les analyses ont été effectuées au niveau du laboratoire de recherche de biologie à l'université de Jijel.

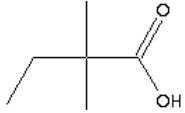


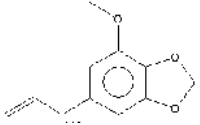
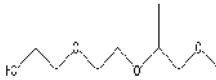
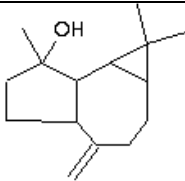
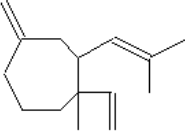
### IV.2.2- phytoscreening de la plante

De la même manière effectuée sur la plante précédente, nous rapportons les résultats issus du chromatogramme dans le tableau suivants :

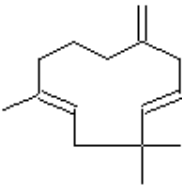
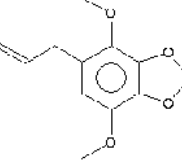
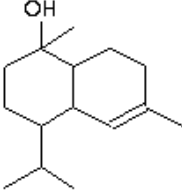
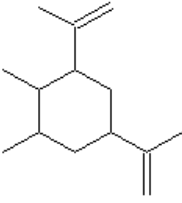
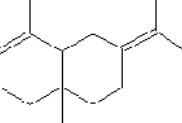
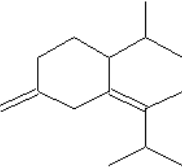
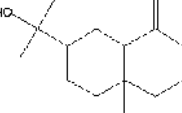


**Figure 22:** Chromatogramme des HE de la plante *Rhanterium adpressum*.

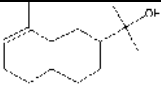
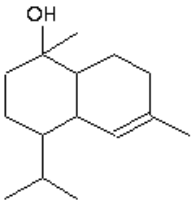
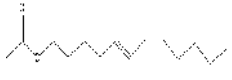
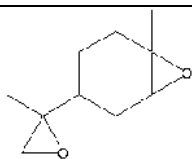
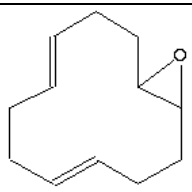
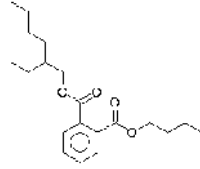
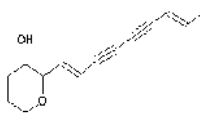
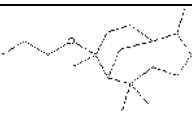
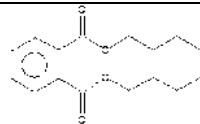
**Tableau 6:** les résultats d'analyse de l'extrait par GC-MS de la plante *R. adpressum*

| Composé  | Type d'huile essentielle              | Temps de rétention | %     | Formules moléculaires   |
|--|---------------------------------------|--------------------|-------|---|
| Acide 2,2-dimethylbutanoïque   | Acide gras                            | 4.10               | 0.38  |    |
| n-Hexadecan-1-ol   | Monoterpènes oxygénés                 | 16,5               | 0.52  |    |
| n-Tridec-1-ene   | Monoterpènes hydrocarbonés            | 17,95              | 0.54  |    |
| Myristicin   | Dérivées aromatiques des monoterpènes | 20,62              | 5.05  |   |
| 1-[2-(2-Methoxy-1-methylethoxy)-1-methylethoxy]-2-propanol             | Monoterpènes oxygéné                  | 22,78              | 0.47  |  |
| (-)-Spathulenol  | Sesquiterpènes oxygénés               | 23,85              | 19.57 |  |
| Cycloheptane, 4-methylene-1-methyl-2-(2-methyl-1-propen-1-yl)-1-vinyl- | Sesquiterpènes hydrocarbonés          | 24,25              | 2.38  |  |

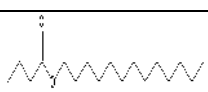
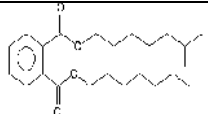
## Chapitre IV : Valorisation des plantes

|   |                                      |       |       |   |
|---|--------------------------------------|-------|-------|---|
| $\beta$ -Humulene   | Sesquiterpènes hydrocarbonés         | 24,38 | 1.48  |    |
| Apiole<br>(Camphre de Persil)   | Dérivées aromatiques de monoterpènes | 24,65 | 2.29  |    |
| (-)- $\beta$ -Cadinol   | Sesquiterpènes oxygénés              | 24,85 | 11.34 |    |
| Cyclohexane, 1,2-diméthyl-3,5-bis(1-méthylethényl)-, (1,2,3,5)                              | Sesquiterpènes hydrocarbonés         | 25,00 | 1.39  |   |
| Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-diméthyl-2-(1-méthylethylidène)-, (4aR-trans) | Sesquiterpènes hydrocarbonés         | 25,37 | 1.62  |  |
| Bicyclo[4.4.0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-méthyl-9-méthylène                                   | Sesquiterpènes hydrocarbonés         | 25,55 | 12.94 |  |
| $\beta$ -Eudesmol   | Sesquiterpènes oxygénés              | 25,65 | 15.13 |  |

## Chapitre IV : Valorisation des plantes

|   |                                      |       |      |   |
|---|--------------------------------------|-------|------|---|
| $\alpha$ -Eudesmol  | Sesquiterpènes oxygénés              | 26,18 | 5.37 |    |
| $\alpha$ -Cadinol   | Sesquiterpènes oxygénés              | 26,26 | 6.56 |    |
| E,Z-5,7-Dodecadien-1-ol acétate                             | Monoterpènes oxygénés                | 26,45 | 1.78 |    |
| 1-Methyl-4-(2-methyl-2-oxiranyl)-7-oxabicyclo[4.1.0]heptane | Monoterpènes oxygénés                | 26,74 | 1.80 |    |
| 1,2-Epoxy-5,9-cyclododecadiene                              | Sesquiterpènes oxygénés              | 27,13 | 1.32 |  |
| 1-Butyl 2-(2-ethylhexyl) phthalate                          | Dérivées aromatiques de monoterpènes | 29,58 | 0.59 |  |
| 2H-Pyran-3-ol, tetrahydro-2-(1,7-nonadiene-3,5-diynyl)      | Sesquiterpènes oxygénés              | 32,47 | 4.81 |  |
| Cedryl propyl éther   | Sesquiterpènes oxygénés              | 32,84 | 0.74 |  |
| Dibutyl phthalate   | Dérivées aromatiques des             | 34,24 | 0.87 |  |

## Chapitre IV : Valorisation des plantes

|   | monoterpènes                         |       |      |   |
|---|--------------------------------------|-------|------|---|
| acide Butyric, 2-tetradecyl ester               | Acide gras                           | 41,10 | 0.31 |  |
| acide 1,2-Benzenedicarboxylic, diisooctyl ester | Dérivées aromatiques de monoterpènes | 46,46 | 0.46 |  |

**Tableau 7 :** Résultats d'analyse en pourcentage selon les familles des terpènes de *R. adpressum*

|                             |  |       |              |
|-----------------------------|--|-------|--------------|
| <b>Monoterpènes</b>         | Monoterpènes hydrocarbonés (%)           | 0.54  | 5.11         |
|                             | Monoterpènes oxygénés (%)                | 4.57  |              |
| <b>Sesquiterpènes</b>       | Sesquiterpènes hydrocarbonés (%)         | 19.81 | 83.33        |
|                             | Sesquiterpènes oxygénés (%)              | 63.52 |              |
| <b>Dérivées aromatiques</b> | Dérivées aromatiques de monoterpènes (%) | 9.26  | 9.26         |
| <b>Total %</b>              |  |       | <b>97.70</b> |

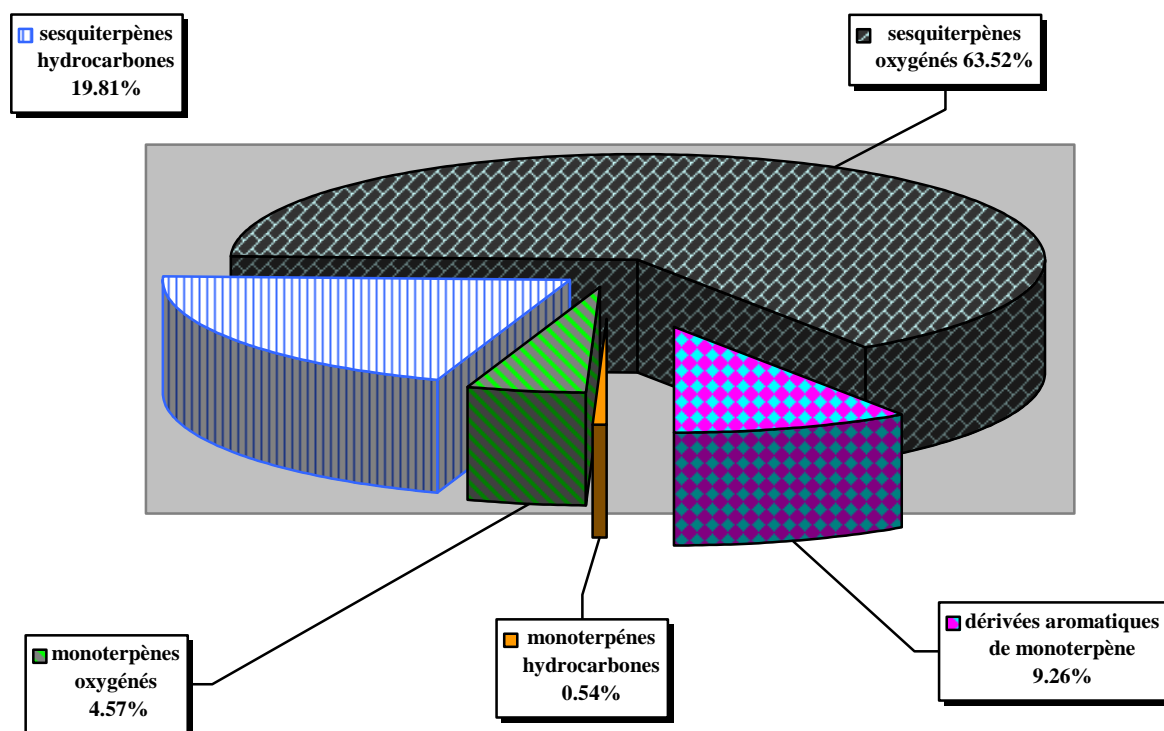
### IV.2.3- Résultats et discussion :

Les composés identifiés de l'huile représentent 97.7 % de l'huile totale. La composition des huiles est dominée par les sesquiterpènes 83.33 %. Parmi les sesquiterpènes, les composées oxygénées constituent une importante partie de la composition chimique de l'huile essentielle 63.52 % de la totalité des sesquiterpènes, par rapport aux composés hydrocarbonés : 19.81 %.



La fraction des monoterpènes représente une faible quantité : 5.11 %. Les monoterpènes oxygénés représentent 4.57 %, par contre les monoterpènes hydrocarbonés ne donnent que 0.54 %.

Les dérivées aromatiques des monoterpènes représentent 9.26 %.

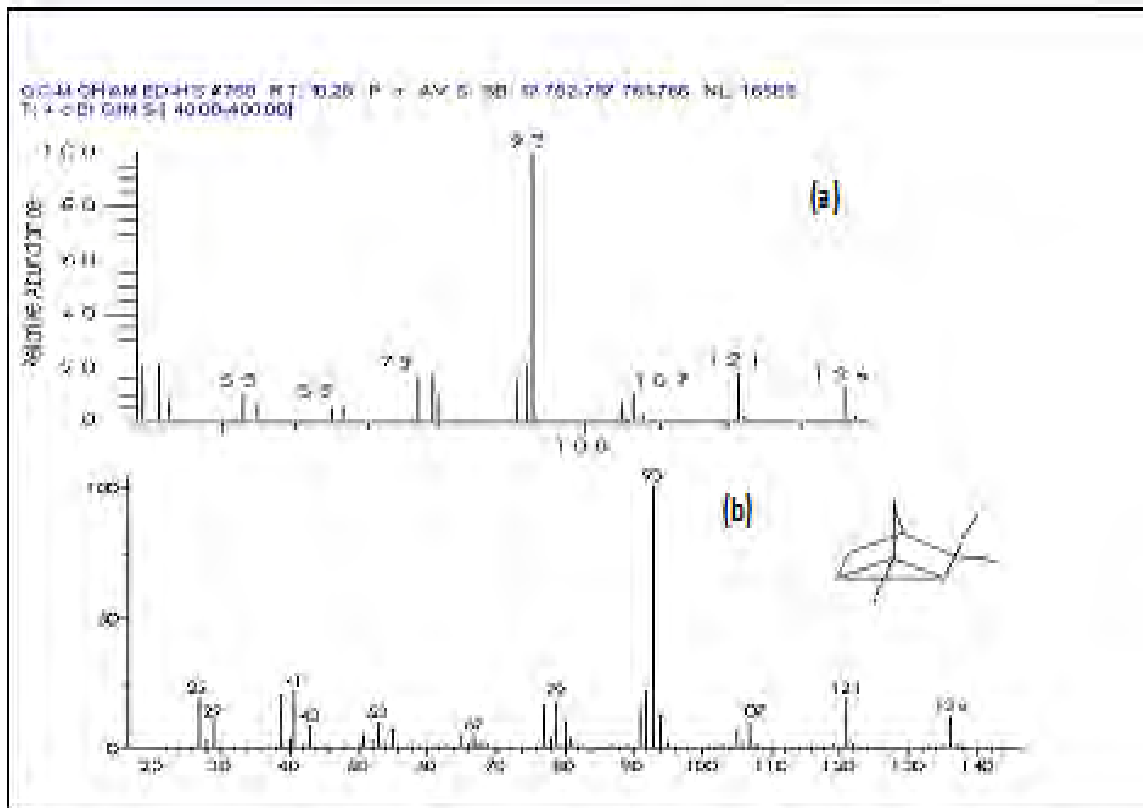


**Figure 23:** Représentation des fractions des huiles essentielles de la plante *Rhanterium adpressum*.

Parmi les composées majoritaires dans les huiles essentielles, on trouve: le (-)-Spathulenol 19.57 %,  $\beta$ -Eudesmol 15.13 %, Bicyclo[4.4.0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene 12.94 %, (-)- $\beta$ -Cadinol 11.34 %,  $\alpha$ -Cadinol 6.56 %,  $\alpha$ -Eudesmol 5.37 %, 2H-Pyran-3-ol, Myristicin 5.05 %, tetrahydro-2-(1,7-nonadiene-3,5-diyanyl) 4.81 %

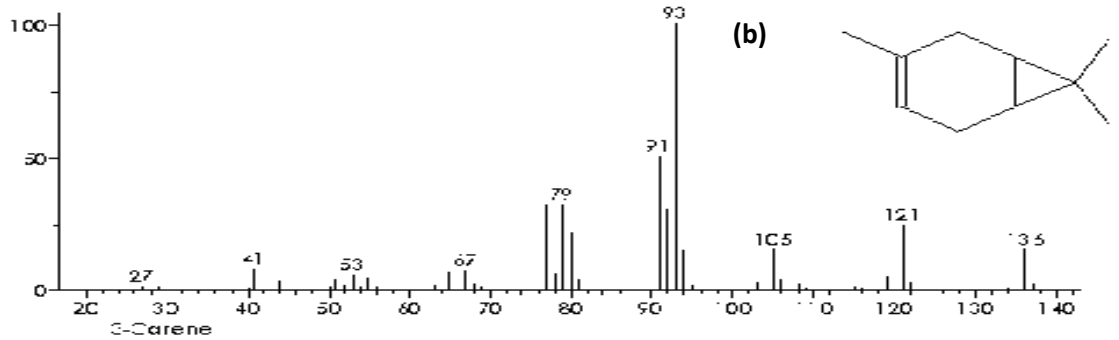
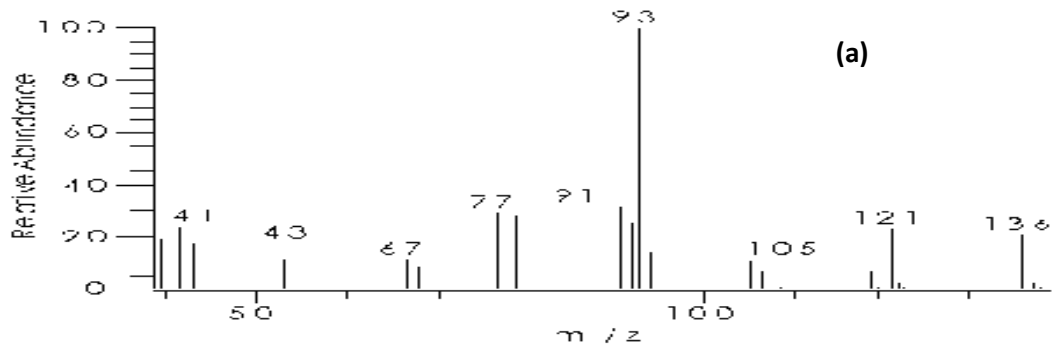
Nous avons rapporté dans la figure 24, quelques exemples d'identification des composés de l'huile de la plante *Pituranthos scoparius* par conformation des spectres de masse des composés identifiés avec leurs spectres de référence.

### Cyclofenchene



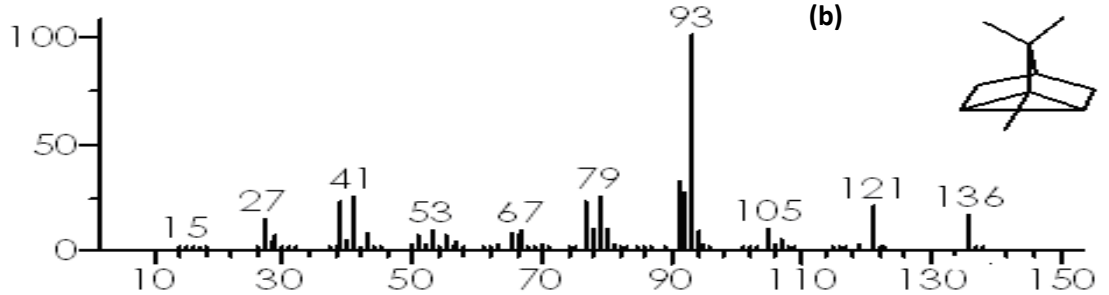
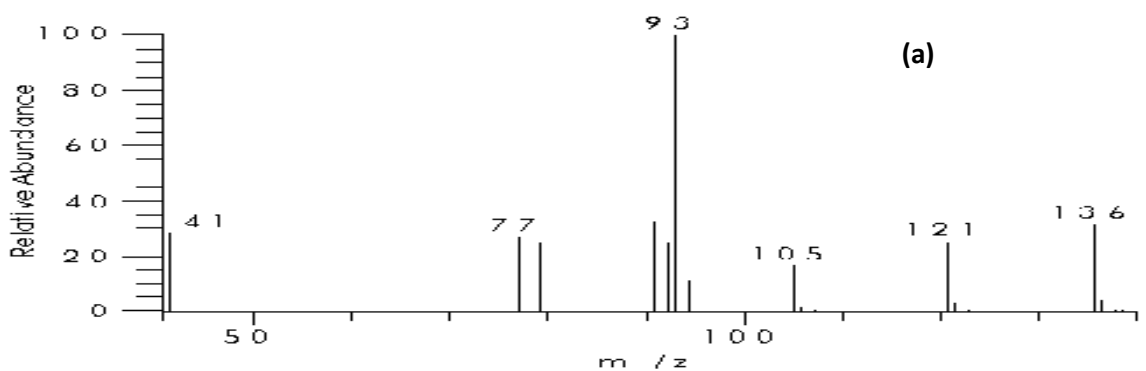
8.3- Carène

GC-M OHAMED-HS #814 RT: 10.73 P: + AV: 5 SB: 12 807-812 816-821 NL: 1.05E5  
T: + c EI Q1M S [ 40.00-400.00]

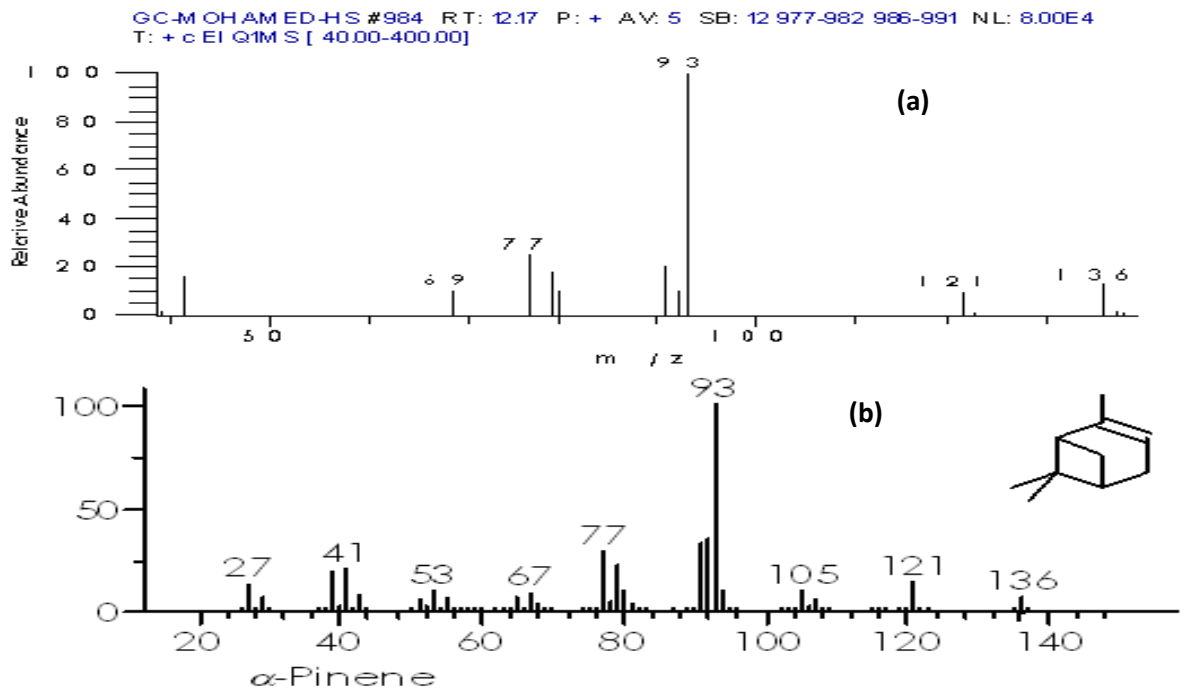


Tricyclène

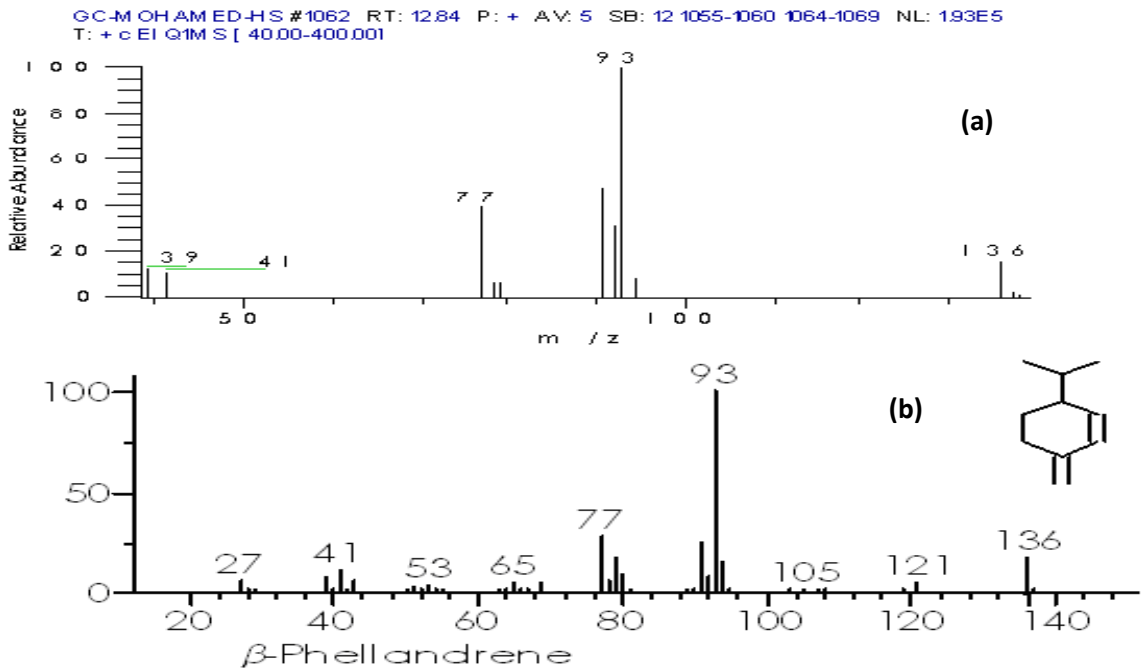
GC-M OHAMED-HS #834 RT: 10.90 P: + AV: 5 SB: 12 827-832 836-841 NL: 6.04E4  
T: + c EI Q1M S [ 40.00-400.00]



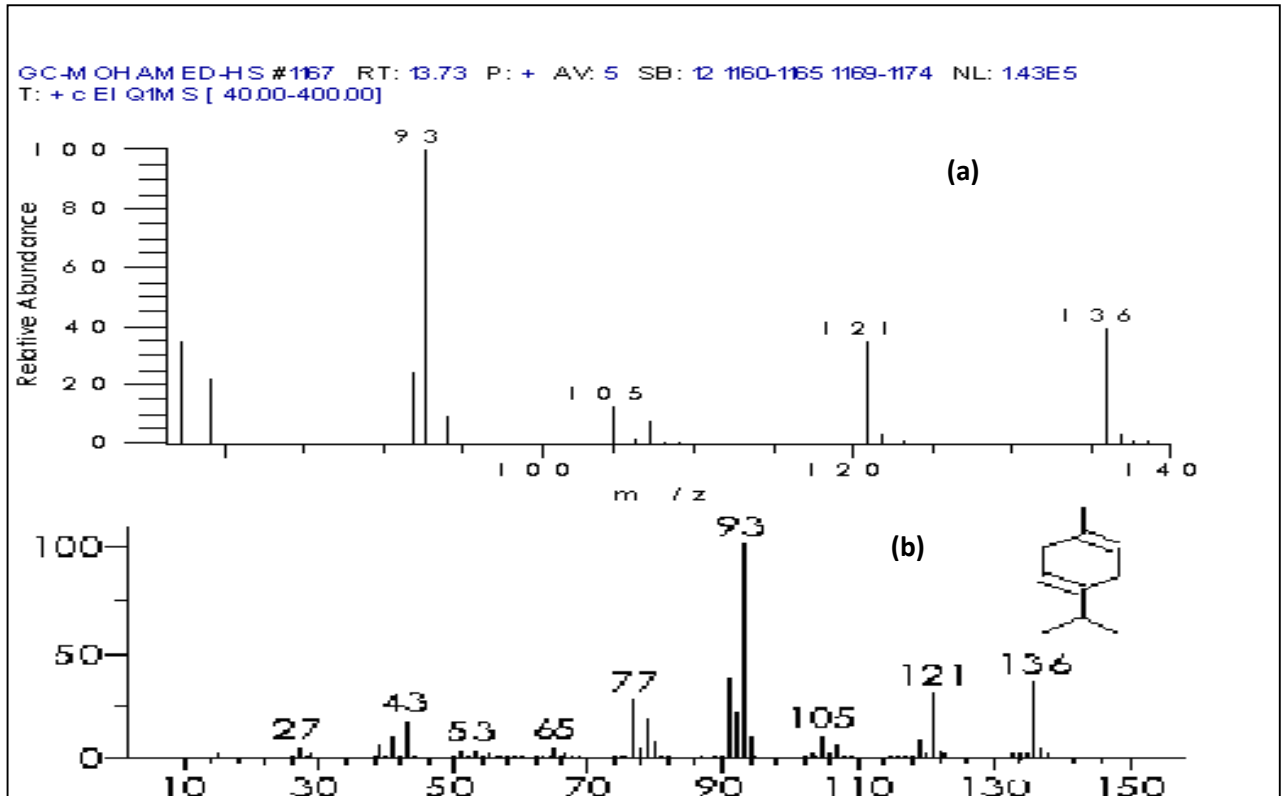
$\alpha$ -pinène



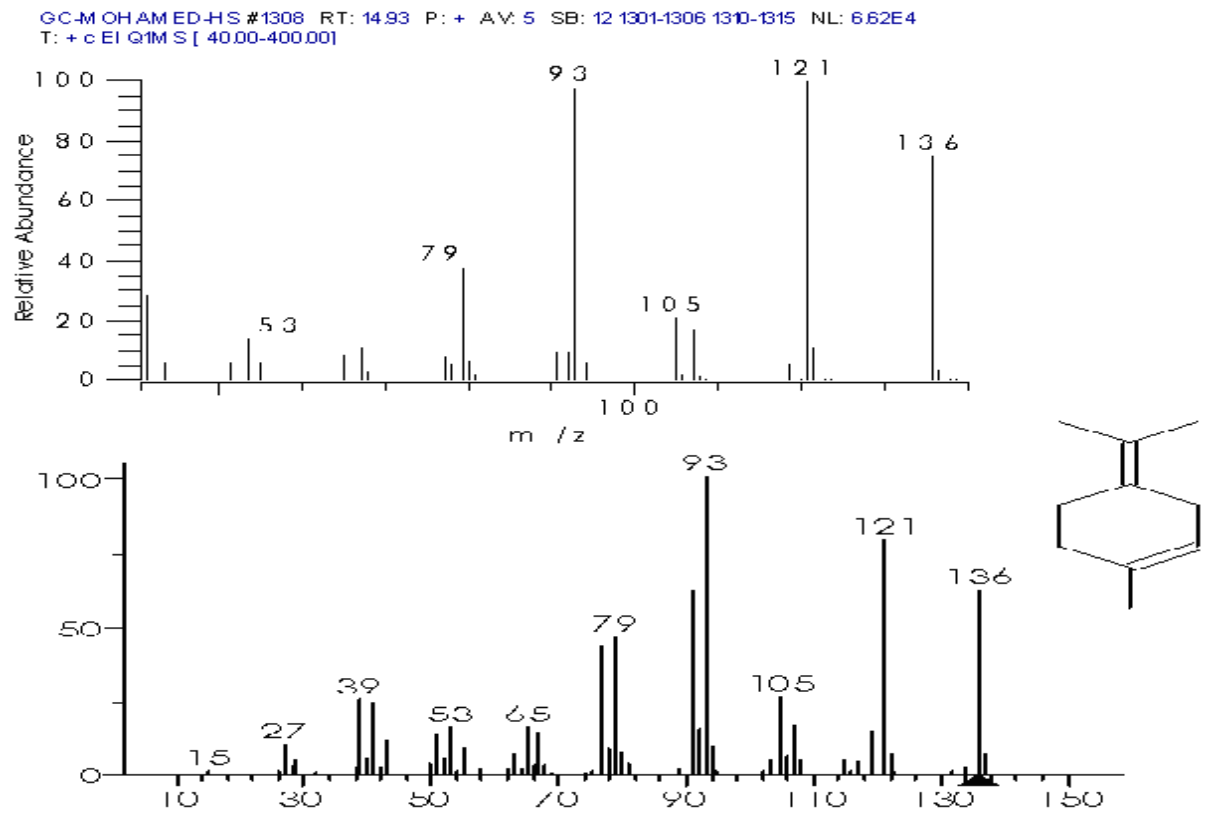
$\beta$ -phellandrène



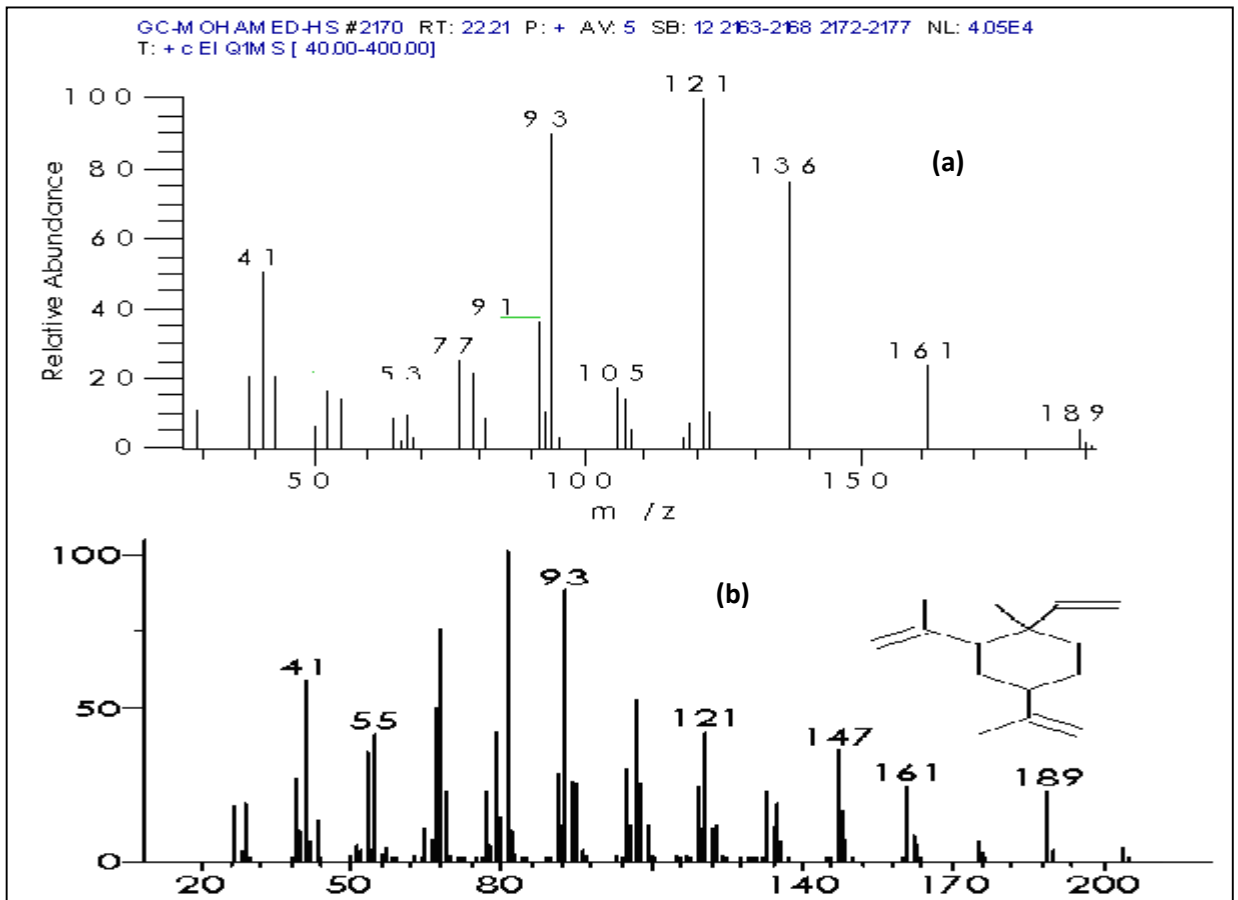
$\gamma$ -Terpinène



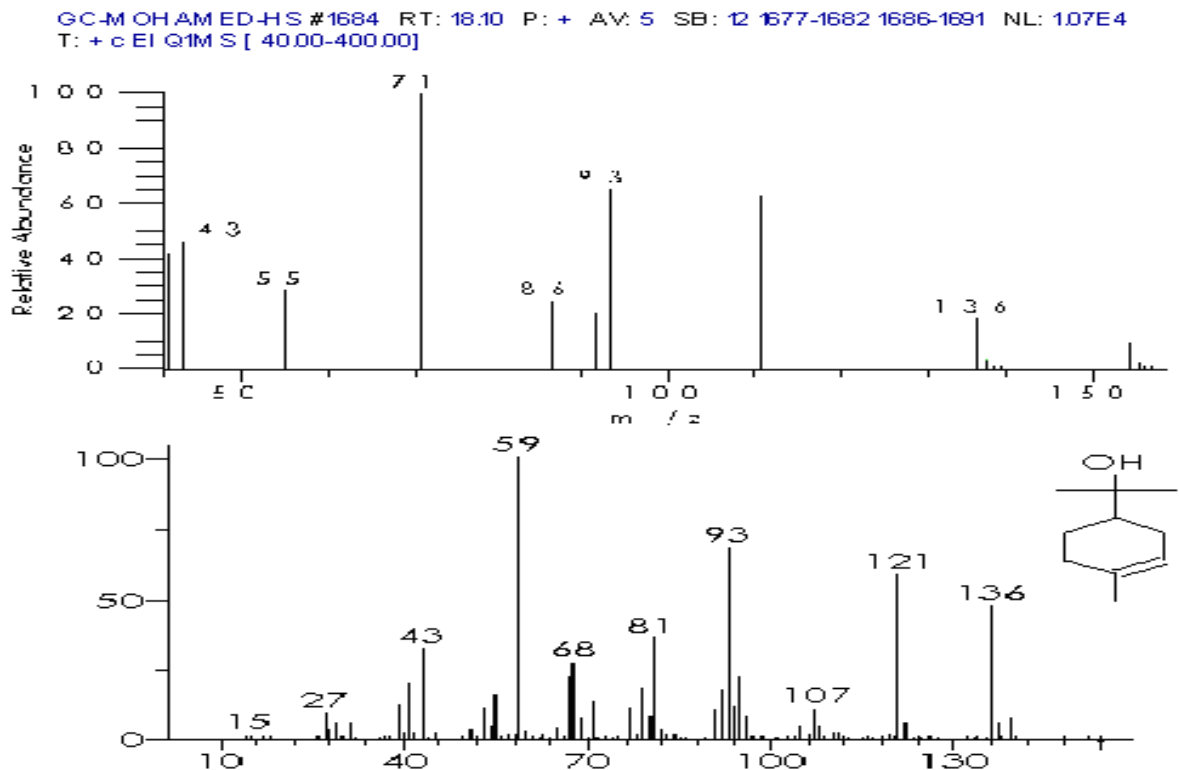
$\alpha$ -Terpinolène



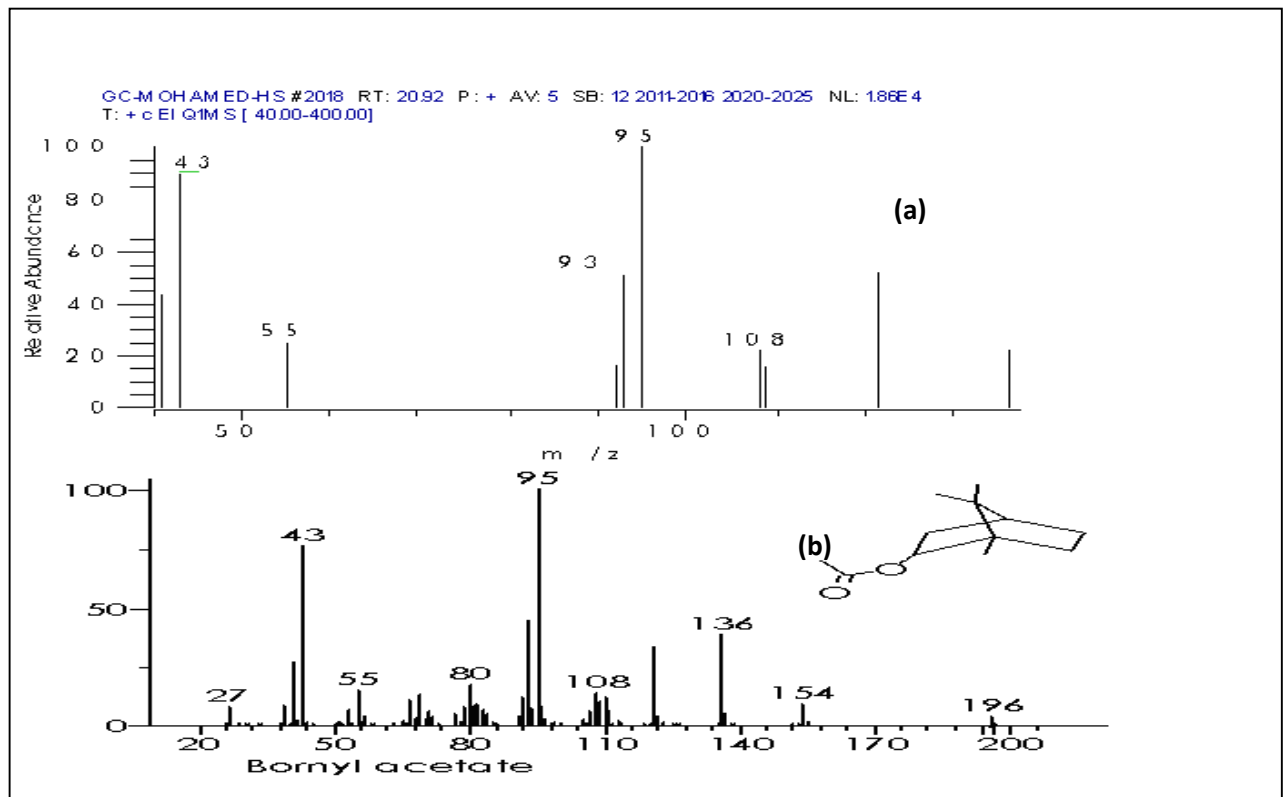
$\beta$ -elemène



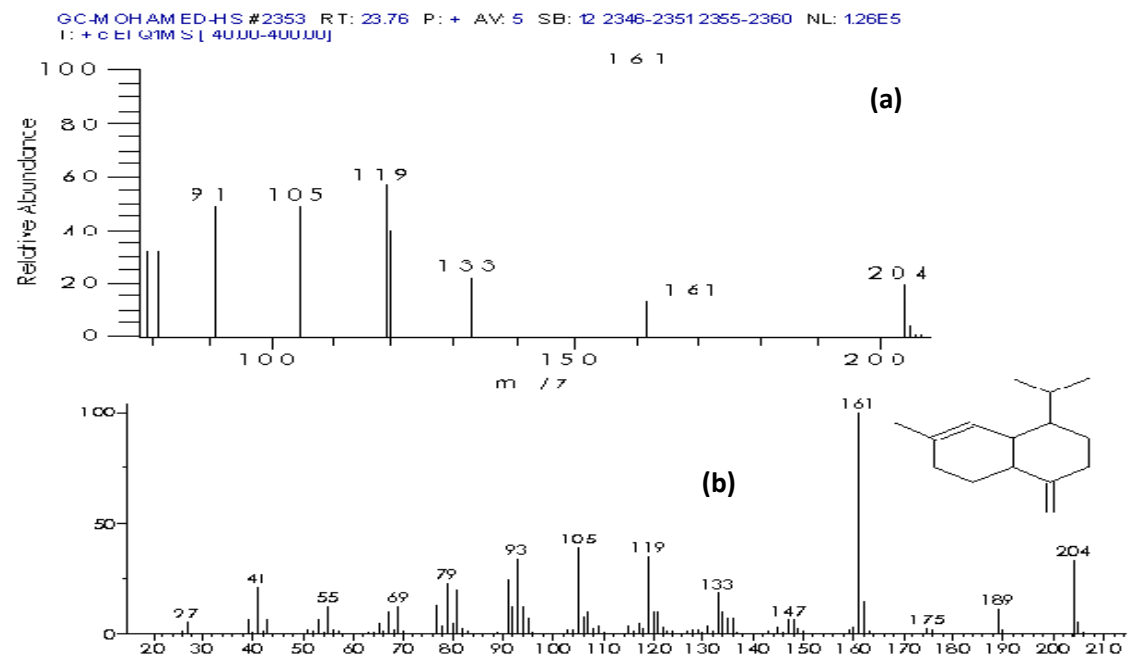
$\alpha$ Terpineol



Bornyl acetate



$\gamma$ -Muurolene



**Figure 24:** Spectres de masse de quelques composés identifiés des huiles essentielles de la plante *Pituranthos scoparius*

(a): le spectre obtenu dans le présent travail, (b): le spectre de référence.

### IV.3- Etude du *Traganum nudatum*

#### IV.3.1- Cueillette:

La saison de la cueillette est déterminante pour la présence des principes actifs. Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la composition quantitative et qualitative de ces principes [1] [97] à savoir:

##### *1. Etape de la cueillette:*

C'est une étape qui dépend de la présence des principes actifs dans la partie de la plante en considération:

##### *2. La saison:*

###### *a. feuilles*

La saison appropriée à la cueillette des feuilles est au début de floraison sans abimer les pétales jusqu'à l'apparition totale de la fleur [1].

###### *b. Les fleurs:*

La cueillette des fleurs est faite suivant la qualité de la fleur elle-même et le type des principes actifs voulus. La saison peut aller, donc à partir de l'apparition des bourgeons jusqu'à la complétude de la fleur [1].

###### *c. Les fruits et les graines:*

La cueillette est réalisée avec la maturité des fruits, généralement, étalée sur quelques jours pour éviter toute pourriture probable [1].

###### *d. Les racines:*

Pour des raisons économiques et afin d'éviter toute destruction probable de la race, les racines sont récoltées après deux ans de la plantation [1] [98].



### IV.3.2- La cueillette durant la journée:

Le moment de la cueillette durant la journée est un facteur très important pour la présence qualitative et quantitative des principes actifs. La cueillette est faite au levé du soleil pour éviter toute perte des principes actifs fragiles [1] [98].

### IV.3.3- Saison de cueillette:

Le *Traganum nudatum* est une plante verte durant toute l'année, le choix de la saison de cueillette est déterminé de telle façon que la concentration en matière chimique à étudier soit la maximale. Dans notre cas la plante a été récoltée de la région de Djamaa wilaya d'El-oued au mois de Novembre. Une étude comparative a été proposée afin de comparer les concentrations des principes actifs et leurs effets biologiques entre cette récolte et celle du même mois prise de l'extrême nord du Sahara (région de Negrine, wilaya de Tébessa) [1] [98].

### IV.3.4- Séchage:

Avant de procéder au séchage, la plante est subdivisée en ses composants (feuilles, fleurs, fruits, graines tige et racines) après être débarrassée des insectes, du sable et toutes autres sortes de malveillants. Les grosses parties telles que les tiges et les racines sont triturées. La plante est étalée ensuite sur un tissu blanc épais sous forme d'une couche fine. Elle est séchée dans un endroit sombre, aéré et loin des rayons solaires pour éviter toutes sortes de réaction durant le séchage. La plante est séchée durant une période suffisante pour une évaporation totale de l'eau qui empêche le broyage de la plante et favorise sa fermentation [98] [99].

La date de la récolte et la période de séchage de la plante sont portées dans le tableau ci-dessous:

**Tableau 8:** Date de récolte et période de séchage de la plante du *T. nudatum*

| Partie de la plante | Date de la récolte | Période de séchage |
|---------------------|--------------------|--------------------|
| Racines             | 18/11/2007         | 30 jours           |
| Tiges               | 18/11/2007         | 20 jours           |
| Feuilles            | 18/11/2007         | 15 jours           |

Une fois la plante est bien séchée et loin de toute sorte de destruction, l'entreposage des différentes parties broyées de la plante est fait d'une manière séparée pour chaque partie dans des flacons marron bien fermés à l'abri des rayons solaires [42] [43].

#### IV.3.5- Réactifs utilisés pour les tests des principes actifs :

##### a- Réactif de Dragendorff:

C'est un réactif constitué de deux solutions:

Solution A: 0.85 g de nitrate de bismuth dissoute dans un mélange de 10 ml d'acide éthanoïque et 40 ml d'eau.

Solution B: formée de 8.0 g d'iodure de potassium dans 20 ml d'eau.

Préparation: On verse 20 ml d'acide éthanoïque sur un mélange de 15 ml de la solution A et 15 ml de la solution B. on jauge jusqu'à 100 ml avec l'eau distillée [74] [75].

##### b- Réactif de Bouchardat:

C'est une solution aqueuse d'un mélange de 25 g d'iode et 50 g d'iodure de potassium jaugée jusqu'à 1000 ml.

### c- Réactif de Mayer:

Le réactif de Mayer est constitué de deux solutions:

Solution A: 13.55 g de chlorure de mercure dissoute dans 20 ml d'eau distillée.

Solution B: 49.8 g d'iodure de potassium dissoute dans 20 ml d'eau distillée.

Préparation: On mélange les deux solutions et on jauge jusqu'à 1000 ml par de l'eau distillée [100] [101].

### d- Réactif de Wagner:

C'est un mélange composé de 1.27 g d'iode et 2.0 g d'iodure de potassium dissout dans 75 ml d'eau distillée. Ce mélange est jauge jusqu'à l'obtention de 100 ml de la solution.

## IV.3.6- Tests de présence des principes actifs :

### a- Alcaloïdes:

On dissout 10 g de la plante broyée (mélange de racines, tiges et fleurs) dans 50 ml d'acide chlorhydrique HCl 1 %. On ajoute à la solution obtenue, après filtration, de l'ammoniac jusqu'à l'obtention d'un pH = 8 – 9. On procède ensuite à une extraction par 20 ml de chloroforme. L'opération est répétée trois fois. Après l'évaporation de la solution organique, on dissout le précipité obtenu dans 2 ml de HCL 1%. On ajoute à la solution acidifiée quelques gouttes du réactif de Mayer. L'apparition d'un trouble ou d'un précipité blanc prouve la présence des alcaloïdes [102] [103].

### **b- Alcaloïdes indoliques:**

Les plaques CCM éluées dans un mélange organique convenable sont révélées par le réactif de Bouchardat. La présence des spots jaunes après un chauffage à 100 °C pendant 5 minutes est une signification de présence des alcaloïdes indoliques [47] [103][104].

### **c- Sels d'alcaloïdes:**

On dissout 50 g de la plante broyée (mélange de racines, tiges et fleurs) dans 300 ml d'éthanol. On agite pendant une heure et on filtre. On évapore 20 ml du filtrat obtenu et on ajoute 5 ml de HCl 10 % au précipité, on chauffe légèrement et on filtre. On ajoute au filtrat quelques gouttes de NH<sub>4</sub>OH jusqu'à un pH = 9. On procède à l'extraction par le diéthyléther et on sépare le précipité auquel on ajoute quelques millilitres de HCl 2 % et quelques gouttes des deux réactifs de Mayer et de Wagner. L'apparition d'un précipité est un témoin de présence des sels d'alcaloïdes.

On évapore 20 ml du filtrat obtenu et on ajoute 5 ml de HCl 2 N. on chauffe légèrement et on filtre. On divise le filtrat en deux parties. On ajoute à la première quelques gouttes du réactif de Mayer et à la deuxième quelques gouttes du réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité dans les deux cas prouve la présence des sels des alcaloïdes

### **d- Cardinolides:**

#### **- Le Tedrose:**

1 g de la plante broyée et séchée est macéré dans 20 ml d'eau distillée. On filtre et on ajoute à 10 ml du filtrat, 10 ml d'un mélange éthanol – chloroforme (1 – 1). On mélange le contenu de l'ampoule à décanter et on sépare la phase organique. On évapore

cette phase et on ajoute au précipité obtenu successivement 3 ml d'acide acétique, quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  et 1 ml d'acide sulfurique.

L'apparition d'une couleur bleu verdâtre prouve la présence des cardenolites [105] [106].

### **- Les trichlorures:**

10 g de la plante est macérés dans l'éthanol 70 % . on évapore l'extrait obtenu sous vide et on ajoute au précipité le trichlorure.

L'apparition d'une couleur violette prouve la présence des cardinolides [102] [106].

### **e- Saponosides:**

On agite le filtrat obtenu par macération de 2 g de la plante dans 80 ml d'eau distillée pendant quelques minutes.

L'apparition d'une mousse dans le milieu prouve la présence des saponosides [102] [103].

### **f- Tanins:**

On agite le filtrat obtenu par macération de 10 g de la plante dans 80 ml d'alcool éthylique 50 % pendant quelques minutes. On ajoute quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  au milieu.

L'apparition d'une couleur verte prouve la présence des tanins [102] [103].

### **g- Stérols et triterpènes:**

On agite le filtrat obtenu par macération de 5 g de la plante dans 20 ml de chloroforme pendant quelques minutes. On ajoute 1 ml d'acide sulfurique sur les parois du ballon.

L'apparition d'une couleur verte qui se transforme au fur et à mesure au rouge sur les points de contact de l'acide sulfurique avec la solution prouve la présence des stérols et des triterpènes [102] [103].

**h- Flavonoïdes:**

On trempe 10 g de la plante dans 150 ml d'acide chlorhydrique 1 % pendant 24 heures, on filtre et on procède aux tests suivants:

- On ajoute à 10 ml du filtrat, du NH<sub>4</sub>OH jusqu'au pH basique.

L'apparition d'une couleur jaune prouve la présence des flavonoïdes [102] [103].

- On ajoute une petite quantité de poudre de magnésium à 1 ml du filtrat.

L'apparition d'une couleur rouge marque la présence des glycosides flavonoïdes [102] [103].

- On ajoute 2.5 d'alcool éthylique à 5 ml du filtrat.

L'apparition d'une couleur jaune prouve la présence des flavonoïdes libres [102] [103].

- On évapore la phase aqueuse issue du test des flavonoïdes libre et on ajoute au précipité 3 ml de HCl 3 %, on chauffe la solution et on la garde au repos pour refroidir après quoi on ajoute 2.5 ml d'alcool amylique (C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>-OH).

L'apparition d'une couleur jaune prouve la présence des hélérasides flavonoïdes libres [102].

**i- Huiles essentielles:**

On trempe 10 g de la plante dans de l'éthanol à 70 % pendant 24 heures. Le filtrat obtenu est entraîné par la vapeur d'eau. On chauffe légèrement la solution pendant 4-5 heures.

La couche huileuse qui couvre la surface supérieure est un témoin de présence des huiles essentielles [102] [103].

Nous résumons enfin toutes les opérations effectuées sur la plante de *Traganum nutatum* Del. dans le tableau 9:

**Tableau 9:** Résultats récapitulatifs du *Traganum Nutatum Del*

| Principes actifs       |             | racines | tiges | feuilles |
|------------------------|-------------|---------|-------|----------|
| Alcaloïdes             | Dragendorff | +       | +     | +        |
|                        | Mayer       | +       | +     | +        |
|                        | Bouchardat  | +       | +     | +        |
| Flavonoïdes            |             | +       | +     | +        |
| Flavonoïdes libres     |             | +       | +     | +        |
| Saponosides            |             | +       | +     | +        |
| Tanins                 |             | +       | +     | +        |
| Cardenolides           |             | -       | -     | -        |
| Dérivées stéroïdes     |             | -       | -     | -        |
| Stérols et triterpènes |             | -       | -     | -        |
| Huiles essentielles    |             | -       | -     | -        |

On remarque clairement à partir de ces tests que le *Traganum Nugatum* est riche en plusieurs principes actifs, particulièrement, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les flavonoïdes libres, les saponosides et les tanins. Cependant, on marque l'absence des autres principes testés.

### IV.3.7- Extraction des alcaloïdes:

Selon le pH du milieu, on peut utiliser trois méthodes pour l'extraction des alcaloïdes [47] :

- Extraction par des solvants apolaires.
- Extraction par des solvants polaires.
- Extraction par l'eau acidifiée.

#### a- Extraction par des solvants apolaires:

C'est une méthode très importante, elle est nommée aussi la méthode (Stas–Otto), elle est basée sur deux étapes principales:

-On traite la poudre de la plante avec une base faible telle que l'ammoniac ou carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , ainsi on libère les alcaloïdes de leur forme salée et on les extrait avec un solvant aprotique tel que le chloroforme, le dichlorométhane ou même le diéthyléther. L'extraction se fait soit par macération, percolation ou on utilisant l'appareil de Soxhlet. On obtient ainsi un déchet de la plante et un filtrat contenant les alcaloïdes sous forme basique.



### - Purification des alcaloïdes extraits:

La purification est faite par extraction liquide – liquide. La phase organique basique est lavée par une eau acidifiée dans une ampoule à décanter. On élimine ainsi les impuretés dissoutes dans la phase organique tel que la chlorophylle, les graisses et on récupère les alcaloïdes dans la solution aqueuse. Cette dernière, à son tour est traitée par la solution organique initiale pour éliminer les déchets dissout dans la solution aqueuse tel que les glucides, les sels, ...[107] [108 [109][110].

Le diagramme ci-dessous présente les différentes étapes utilisées pour l'extraction des alcaloïdes à partir de la plante broyée on utilisant les solvants apolaires.

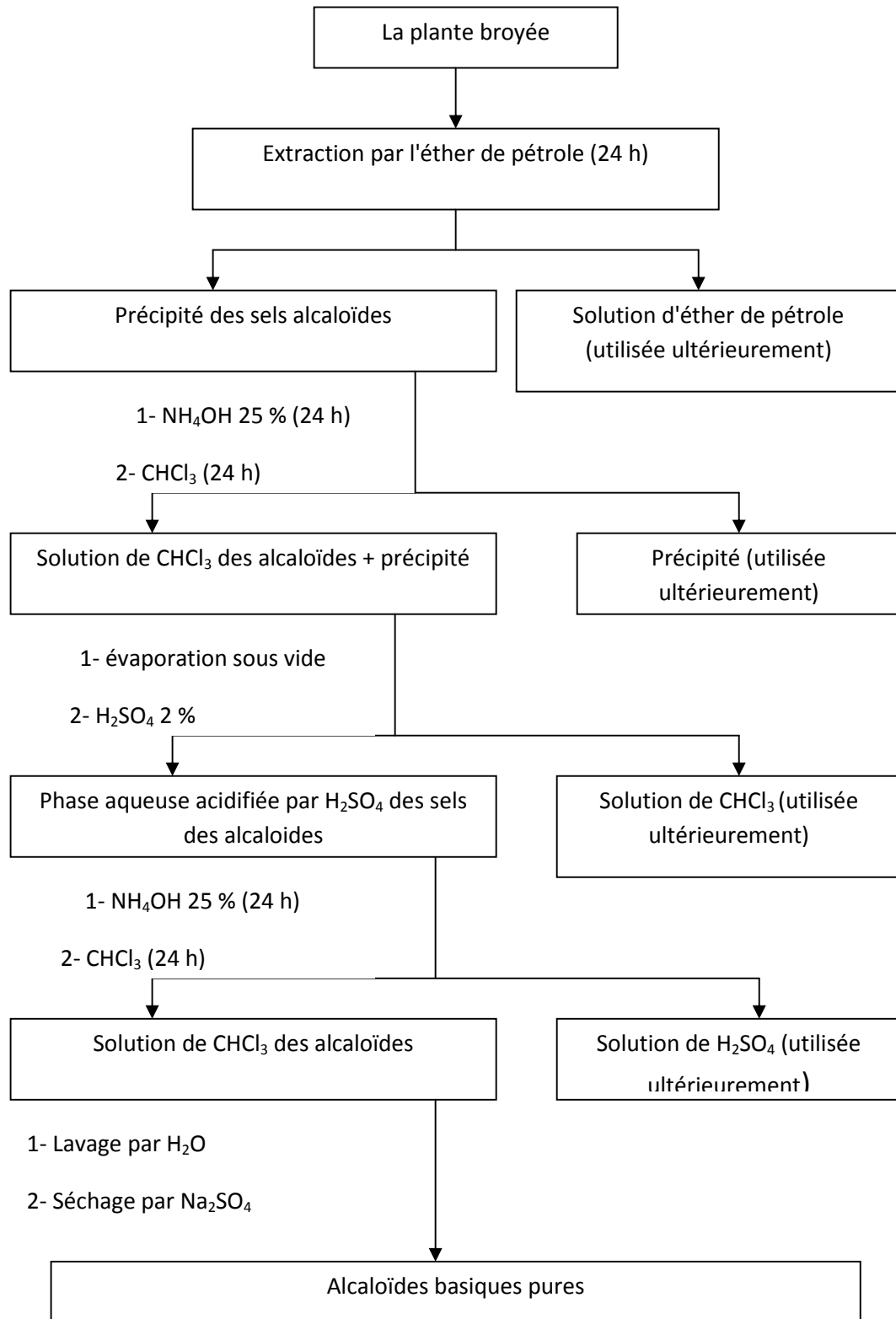


Diagramme 1 : Extraction des alcaloïdes par des solvants apolaires

Méthode Stas - Otto

### **b- Extraction par les solvants polaires:**

La plante est macérée dans l'alcool éthylique. Le filtrat obtenu est évaporé sous vide et le précipité obtenu est dissout dans une solution d'un acide dilué. La macération peut être faite par un mélange d'alcool éthylique et d'eau acidifiée. La dissolution est faite de la même manière décrite auparavant.

La solution aqueuse acidifiée est traitée par un solvant organique aprotique tel que le chloroforme, le dichlorométhane ou même le diéthyléther. On évapore la solution jusqu'à l'obtention d'un précipité des alcaloïdes basiques ... [107] [108 [109][110].

Le diagramme ci-dessous présente les différentes étapes utilisées pour l'extraction des alcaloïdes à partir de la plante broyée on utilisant les solvants polaires.

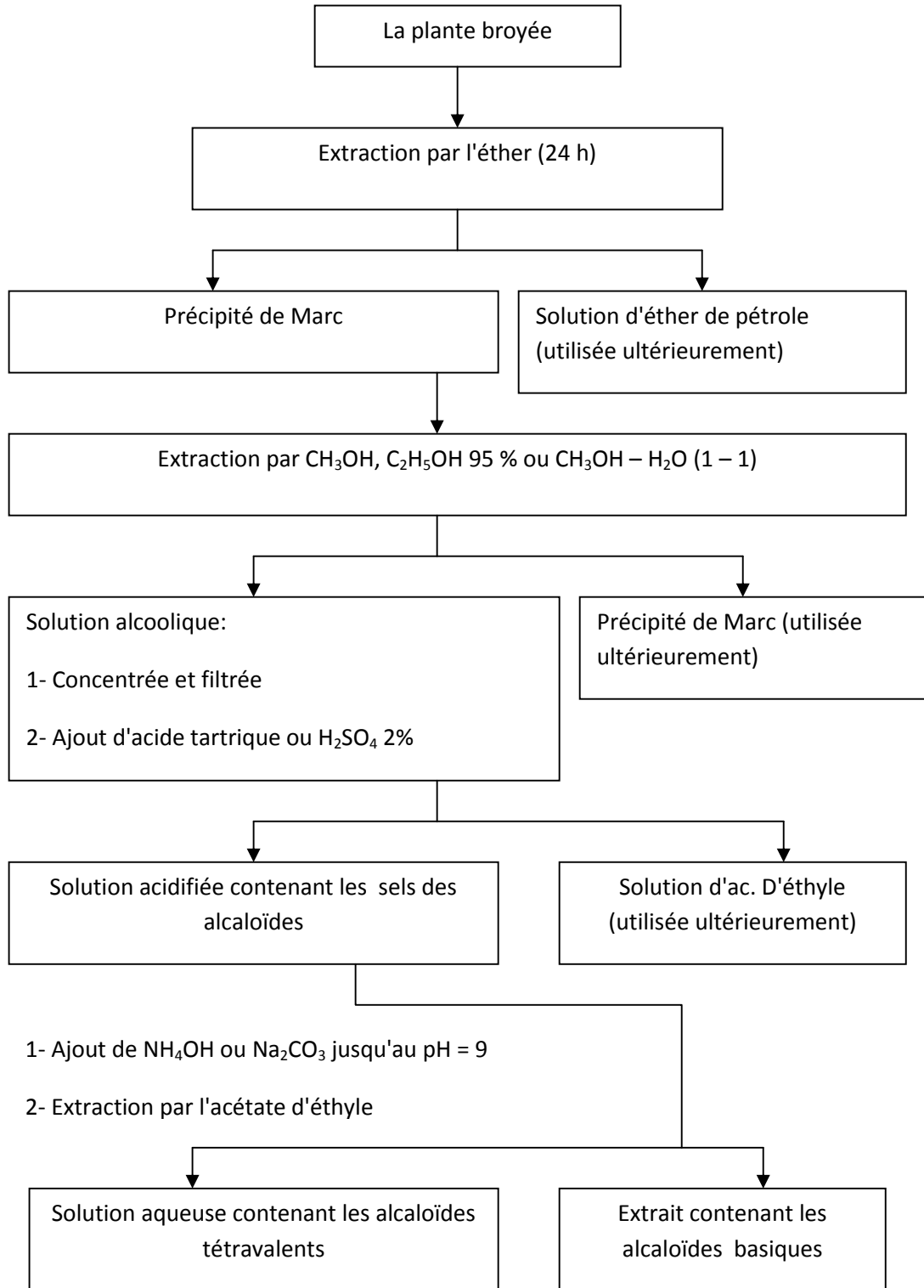


Diagramme 2 : Extraction des alcaloïdes par des solvants polaires

**c- Extraction par l'eau acidifiée:**

La plante broyée est traitée par un acide dilué, on obtient ainsi les sels des alcaloïdes.

- On ajoute  $\text{NH}_4\text{OH}$  ou  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  jusqu'au  $\text{pH} = 9$  et on procède à une extraction par un solvant apolaire ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{-O- C}_2\text{H}_5$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). On évapore pour obtenir les alcaloïdes bruts.

- On ajoute un réactif pour précipiter les alcaloïdes sous forme de complexes et on les libère ensuite par précipitation d'ion de l'atome central du complexe [44][46] [47] [111].

**IV.3.8- Méthode utilisée pour l'extraction des alcaloïdes basiques:**

On macère 500 g de la matière végétale dans 1.5 litres d'éther de pétrole pendant 24 heures. On filtre et on évapore le filtrat. On dissout le résidu obtenu dans 1.5 litres du mélange éthanol – eau (1 – 1) pendant 24 heures. On ajoute au filtrat obtenu par filtration de l'acide sulfurique 2 % jusqu'au virage acide. La solution acidifiée est ensuite extraite par l'acétate d'éthyle dans une ampoule à décanter, on obtient ainsi deux phases:

- phase organique d'acétate d'éthyle.
- phase aqueuse contenant les alcaloïdes.

Le tableau ci-dessous présente les différents tests de présence effectués sur les racines, tiges et feuilles de *Traganum nudatum*:

**Tableau 10:** Tests de présence des alcaloïdes dans le *Traganum nudatum*

| Extrait<br>Réactif | Racines | Tiges | Feuilles |
|--------------------|---------|-------|----------|
| Dragendorff        | +       | +     | +        |
| Mayer              | +       | +     | +        |
| Wagner             | +       | +     | +        |

On procède maintenant à une étude d'activité biologique des sels d'alcaloïdes qui se dissolvent facilement dans l'eau. Rappelons que l'eau n'a aucune influence sur la bactérie contrairement aux solutions organiques qui l'inhibent.

#### IV.3.9- Etude de l'activité biologique :

##### a- Etude de l'activité biologique des extraits aqueux des sels

##### alcaloïdes des racines, tiges et feuilles de *Traganum nudatum*:

Après l'extraction des alcaloïdes sous forme de sels des différentes parties de la plante (racines, tiges et feuilles), on a procédé à une succession de tests biologiques de ces extraits sur cinq souches bactériennes en plus d'un test sur un type de levure. Les résultats obtenus ont été positifs pour: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus Sp.* Cependant pour: *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhis*, les tests sont portés négatifs.

On procède à une évaporation totale de 100 ml de chaque extrait (racines, tiges et feuilles) jusqu'à l'obtention d'un précipité sec. On pèse les trois précipités et on les

dissout dans un même volume d'eau pour amener les trois extraits à la même concentration. Les résultats obtenus ont été rapportés dans le tableau ci-dessous:

**Tableau 11:** Concentration et masse des extraits du *Traganum Nudatum*

| Extraits aqueux des<br>Sels des alcaloïdes | Racines | Feuilles | Tiges |
|--|---------|----------|-------|
| m ( g )                                    | 1.102   | 0.850    | 0.500 |
| C ( g/l )                                  | 11.02   | 8.50     | 5.00  |
| C' ( g/l )                                 | 5.00    | 5.00     | 5.00  |

Trois étapes essentielles ont été suivies pour cette étude:

- 1- Tests biologiques des extraits de la plante sur cinq différentes bactéries en plus d'un test sur un type de levure.
- 2- Détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'évolution de la bactérie (CMI) pour chaque extrait.

**b- Etude spécifique de l'activité biologique d'un extrait végétal contre la bactérie par diffusion dans un milieu solide**

**- Mode opératoire:**

Cette méthode explique clairement la réactivité de l'extrait végétal contre la bactérie préparée avec une concentration  $M_c$  Ferland = 0.5. Cette valeur correspond avec la valeur mesurée par spectrophotométrie UV-V se trouvant dans l'intervalle  $10^8 - 10^7$ . Les disques stérilisés sont trempés dans une petite quantité de l'extrait végétal obtenu et placés dans une boîte de Pétri sur la surface gélosée de la bactérie.

Suivant cette méthode, il faut mentionner:

- la diffusion de la matière extraite dans le milieu gélosé détruit la croissance de la bactérie autour du disque.
- Dans ce cas on observe un anneau qui entoure le disque, c'est le cas d'inhibition.
- les résultats sont lus après 24 heures d'incubation de la boîte de Pétri dans une couveuse à 37 °C.

### **- Préparation du premier milieu de culture:**

- On dissout le milieu Muller-Hinton (MH) et le milieu Gélose Sabouraud (GS) des enzymes dans un bain marie à 95 °C.
- On verse 15 ml de Muller-Hinton (MH) dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. La matière se refroidit et se condense au repos.

### **- Préparation de la suspension bactérienne:**

- On prépare à partir d'une culture fraîche (18 – 24 h) une suspension bactérienne par prise de 3 à 5 colonies bactériennes séparées entre elles. On place ces colonies dans 5 à 6 ml d'eau stérilisée et on mélange avec le vortex. La première lecture de concentration de la suspension est réalisée par un spectrophotomètre UV-V fixé sur une longueur d'onde  $\lambda = 620$  nm. On fixe ensuite l'absorbance qui correspond à cette concentration dans l'intervalle ( $10^7$ - $10^8$ ) bactéries / ml.

Si la lecture ne correspond pas avec la valeur de l'intervalle désirée, on dilue la suspension par de l'eau distillée et stérilisée pour une valeur supérieure à  $10^8$  bactéries / ml ou on ajoute quelques colonies pour une lecture inférieure à  $10^7$  bactéries / ml. A tenir compte que l'utilisation de suspension bactérienne préparée est faite juste avant 15 minutes de sa préparation.



### - Préparation du deuxième milieu de culture:

- On dissout le milieu Muller-Hinton (MH) dans un bain Marie à 95 °C.
- On refroidit jusqu'à 45 °C.
- On place dans des bouteilles en verre stérilisées 50 ml du milieu (MH) et on ajoute 150 µl de chaque échantillon bactérien.
- On mélange le contenu de chaque bouteille et on verse 5 ml de chacune d'elles sur la surface des boîtes de Pétri contenant déjà la première couche du milieu. On garde les boîtes au repos jusqu'à la congélation totale.

### - Emplacement des disques:

- On prend avec une pince stérilisée un disque, on plonge son extrémité dans l'extrait végétal étudié. Le disque se mouille spontanément.
- On porte la disque sur la surface glucosée des boîtes de Pétri.
- On met les boîtes au repos pendant 30 minutes et on les place d'une manière renversées dans la couveuse sous 37 °C pendant 24 heures.

### - Lecture des résultats:

- Les extraits naturels ont un pouvoir sensible à la bactérie si le diamètre d'inhibition est supérieur à celui du disque.
- La présence d'une zone claire autour du disque est un acte inhibiteur.
- L'absence de cette zone claire autour du disque est un test négatif.

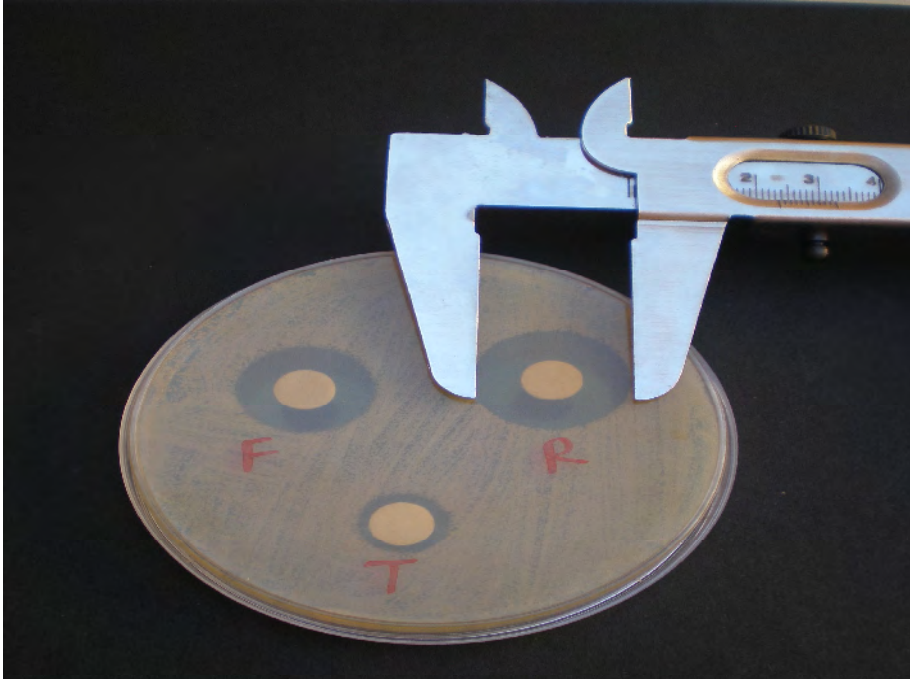
- Les conditions opératoires pour cette étude ont été effectuées à 37 °C

**- Résultats et discussion :**

Les résultats obtenus concernant l'activité biologique sont illustrés sur la figure 25 présentée ci-dessous avec:

R: Extrait des racines, F: extrait des feuilles et T: extrait des tiges

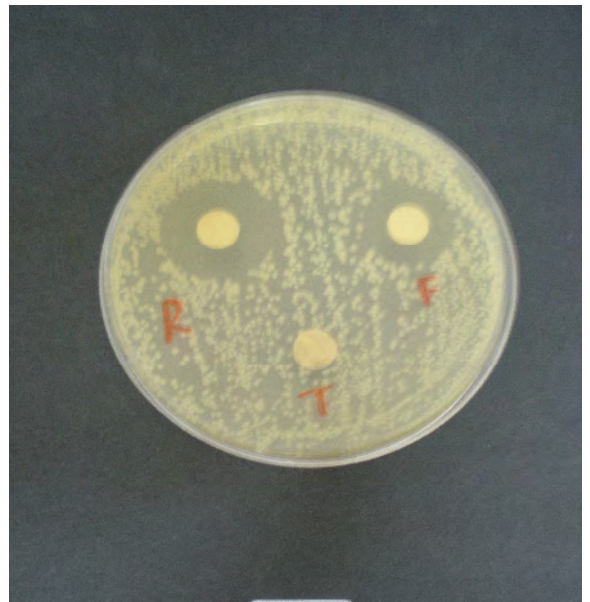
Nous précisons là que la mesure du diamètre à été faite en trois reprises pour s'assurer de la valeur mentionnée. Les résultats ont été rapportés dans le tableau 12.



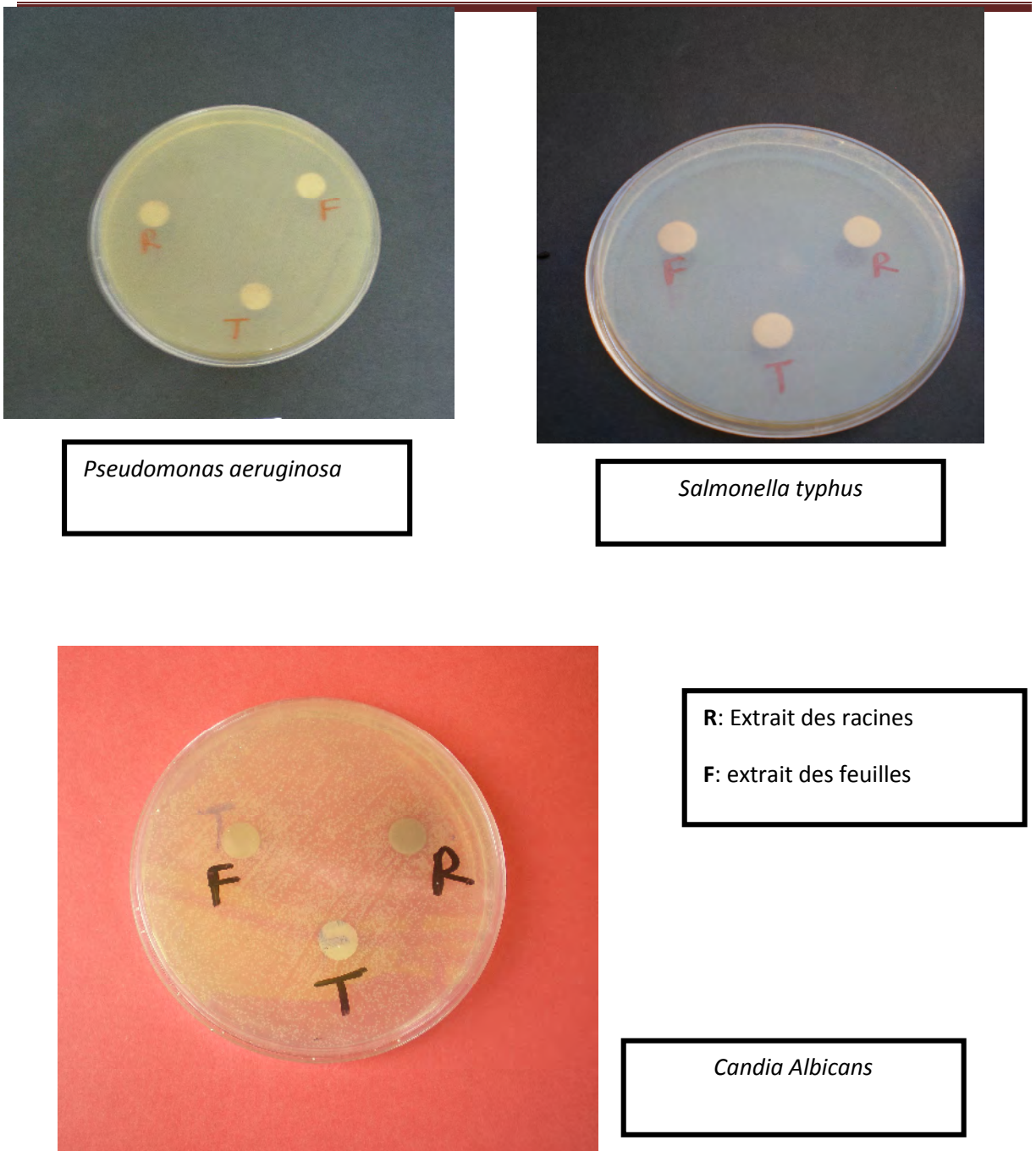
*Escherichia coli*



*Streptococcus Sp*



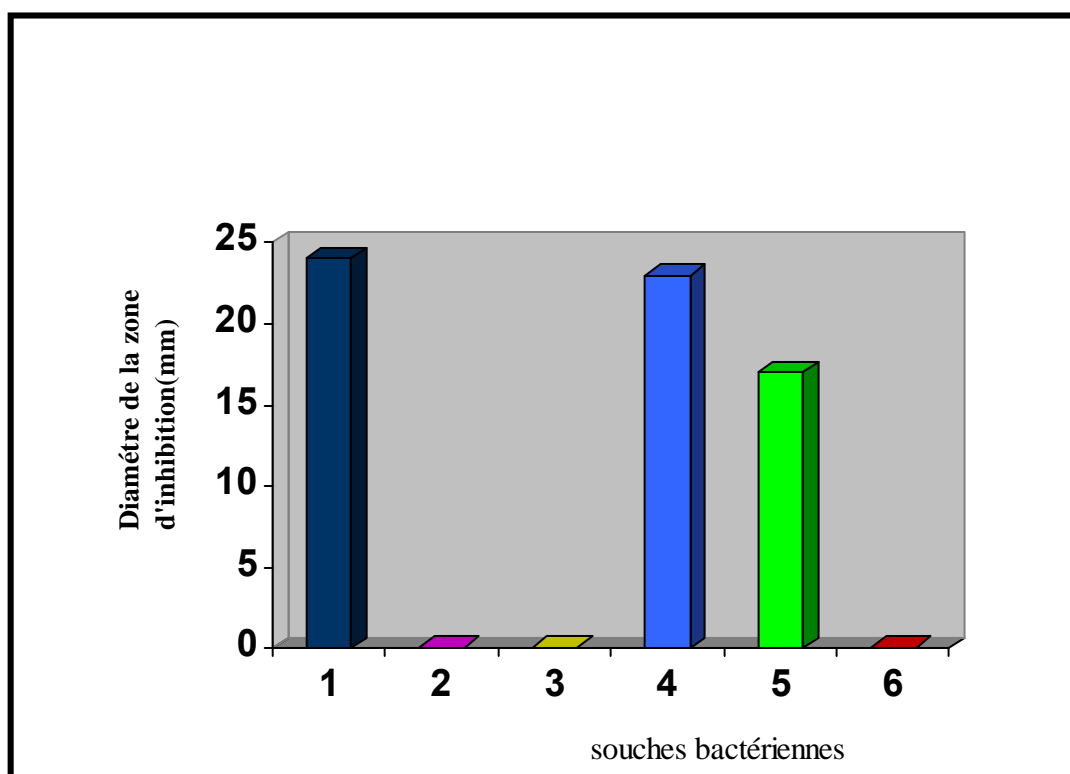
*Staphylococcus aureus*



**Figure 25:** L'activité antibactérienne des extraits aqueux des sels des alcaloïdes dans les racines, feuilles et tiges de la plante *T. nudatum* sur la bactérie testée avec une concentration mère = 5 g / l

**Tableau 12:** Diamètres d'inhibition des extraits de la plantes sur les différentes souches bactériennes

| Les bactéries testées         | Type Gram   | Diamètre d'inhibition (mm) des extraits |          |       |
|-------------------------------|-------------|---|----------|-------|
|                               |             | Racines                                 | Feuilles | Tiges |
| <i>Escherichia coli</i>       | -           | 24                                      | 16       | 11    |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | -           | -                                       | -        | -     |
| <i>Salmonella typhis</i>      | -           | -                                       | -        | -     |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | +           | 23                                      | 19       | 0     |
| <i>Streptococcus Sp</i>       | +           | 17                                      | 16       | 12.5  |
| <i>Candida albicans</i>       | Champignons | -                                       | -        | -     |



**Figure 26:** Diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux des sels des alcaloïdes des racines du *Traganum nudatum* pour les différentes bactéries testées

A partir des résultats obtenus (figure 26), on peut conclure que l'extrait aqueux des sels des alcaloïdes des racines de *Traganum nudatum* a une activité inhibitrice sur certaines bactéries étudiées avec des degrés différents.

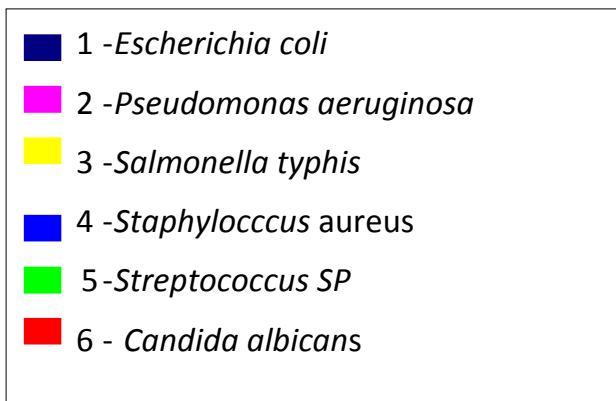
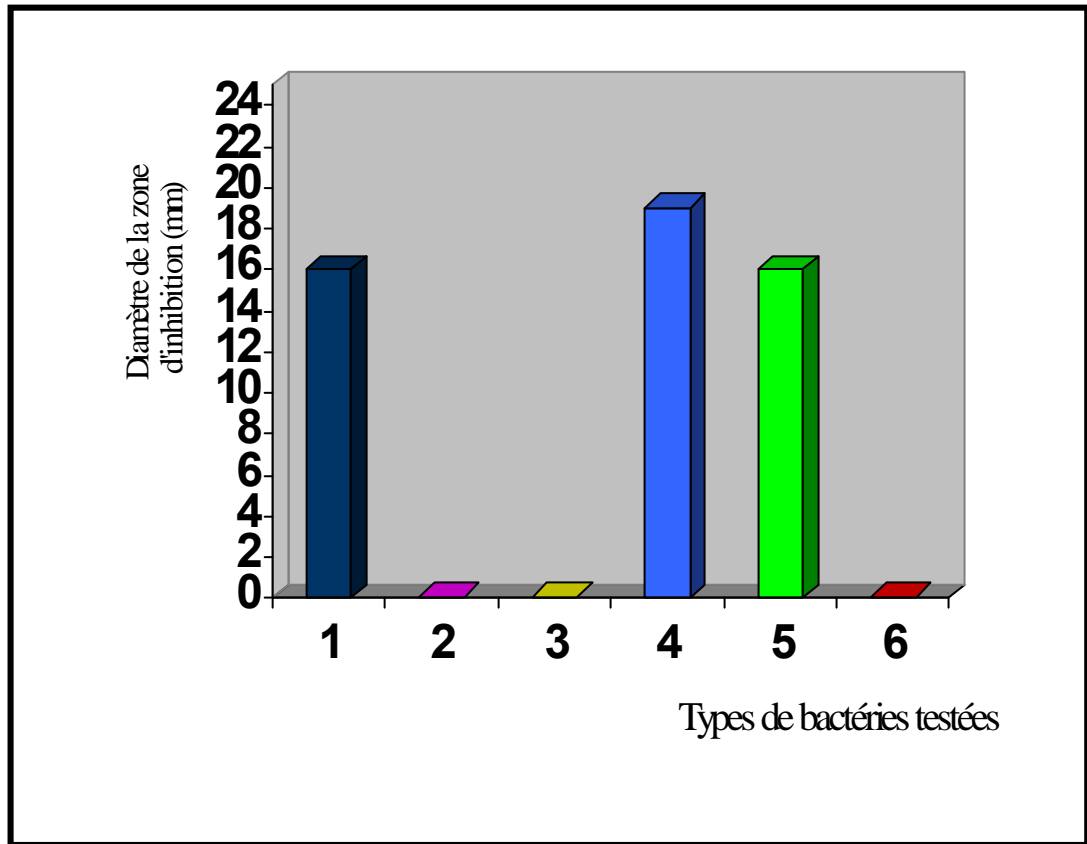
La deuxième remarque importante issue de cette étude concerne le diamètre de la zone d'inhibition qui diffère d'une souche bactérienne à une autre.

L'extrait des racines n'a aucune influence sur la bactérie type *Salmonella typhis* et *Pseudomonas aeruginosa*, cependant son activité est nettement visible sur les autres bactéries, notamment; *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus Sp* et *Escherichia coli*.

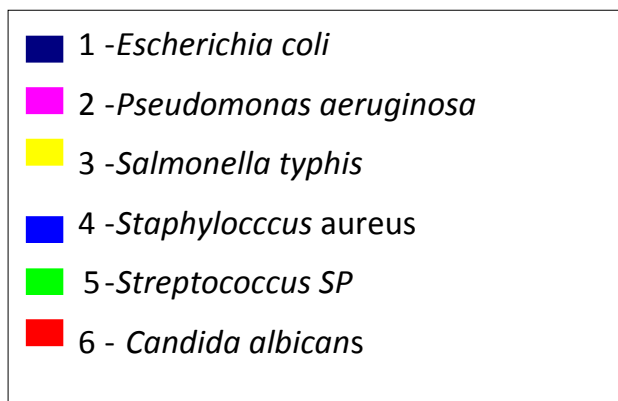
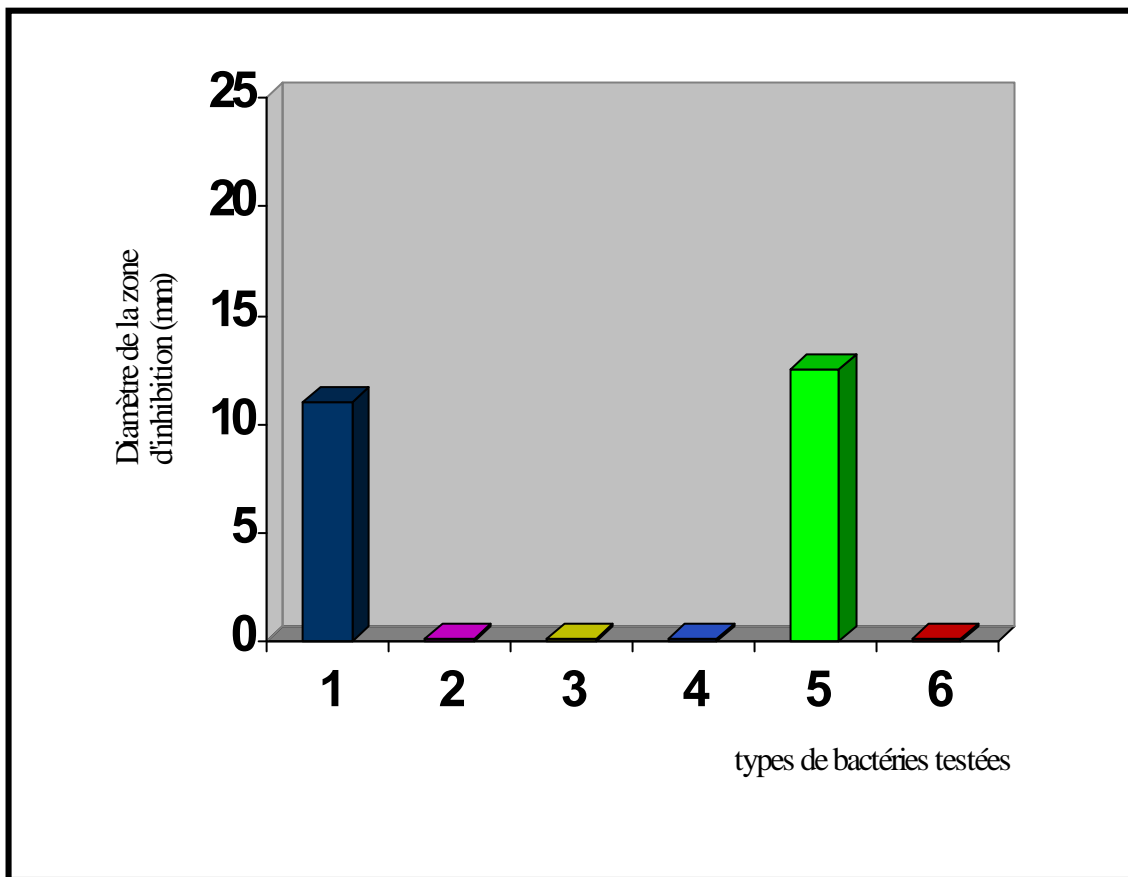
Concernant l'extrait des feuilles :

A partir des résultats obtenus et se basant sur la figure 27, on peut conclure le suivant:

- Les diamètres de la zone d'inhibition (mm) d'*Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptocoque* ont des valeurs très proches et pour des valeurs 16, 19 et 17 mm.
- L'extrait des feuilles n'a pratiquement aucune activité sur les bactéries de *Salmonella typhis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. Les diamètres de la zone d'inhibition (mm) sont nuls, la bactérie résiste, donc, à cet extrait.



**Figure 27:** Diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux des sels des alcaloïdes des feuilles du *Traganum nudatum* pour les différentes bactéries testées



**Figure 28:** Diamètre de la zone d'inhibition (mm) de l'extrait aqueux des sels des alcaloïdes des tiges du *Traganum nudatum* pour les différentes de bactéries testées

Concernant l'extrait aqueux des sels des alcaloïdes des tiges de la plante *Traganum nudatum*, on constate que cet extrait a une faible activité en vers *E.coli* et *Streptocoque* avec un diamètre de 11 et 12.5 mm successivement. Cette activité devient nulle pour le reste des bactéries à savoir: *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhis*, *Staphylococcus aureus* et *Condida Albicans*.



### **Résultat général:**

A partir des résultats obtenus, on peut conclure que l'extrait aqueux des sels des alcaloïdes des racines de la plante étudiée à une activité supérieure sur E.coli, Streptocoque et Echerichia Coli aureus à celle de l'extrait des feuilles .cette activité est inférieure dans le cas de l'extrait des tiges. Touts ces trois extraits n'ont aucune activité sur le reste des bactéries testées notamment Salmonella Typhis, Pseudomonas aeruginosa et Condidia Albican.

### **c-Détermination de la CMI dans un milieu solide :**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la concentration minimale de l'extrait aqueux pour inhiber la croissance de la bactérie.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) pour des différents échantillons de bactérie est déterminée par dilution de l'extrait végétal dans un milieu gélosé de MH. Elle correspond donc à la première concentration de la série des concentrations préparées ou toutes colonies bactériennes sur le milieu sont absentes.

#### **- Mode opératoire:**

- Préparation du milieu gélosé (MH) par stérilisation du milieu.
- Préparation de la suspension bactérienne avec une concentration  $10^4$  UFC / ml à partir d'une bactérie récemment cultivée (18 – 24 heures).
- Préparation des solutions diluées des extraits dans le milieu gélosé. La concentration des solutions est de l'ordre de 10 à 0.15 % de la concentration initiale.

### - Dilution:

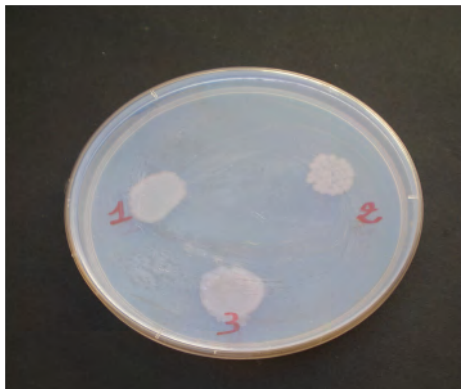
- On met 5 ml de chaque extrait dans une fiole de 50 ml et on jauge avec le milieu gélosé (MH). On obtient ainsi la solution (1) de concentration de 10 %.
- On met 50 % de la solution (1) dans une fiole de 50 ml, on jauge, on obtient ainsi la solution (2) de concentration 5 %.
- On poursuit cette dilution jusqu'à l'obtention de la solution (n) de concentration 0.15 %.
- On prend de chaque solution 1, 2, ... n 15 ml et on les transforme dans des boîtes Pétri.
- On sèche les boîtes Pétri dans une étuve à 37 °C pendant 30 mn.
- On introduit dans chaque boîte 1 µl de la suspension bactérienne de concentration  $10^4$  UFC / ml en utilisant des micropipettes.
- On transforme à nouveau les boîtes dans l'étuve à 37 °C pendant 24 heures.

### - Lecture des résultats:

- La lecture de CMI est faite après 24 heures.
- La lecture de CMI est réalisée uniquement dans les milieux de faible croissance de bactérie.
- On ne tient pas compte de la présence d'une ou deux colonies de bactérie.

Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau 13 et les figures 29, 30 et 31.

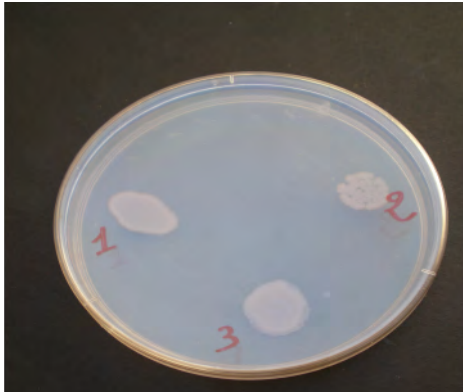
## Chapitre IV : Valorisation des plantes



- 1- Colonies de *Staphylococcus aureus*
- 2- Colonies de *Escherichia coli*

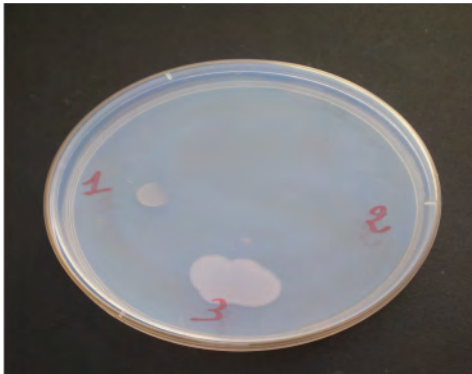
Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 0.31 %.

(Colonies visibles pour les des échantillons de bactérie testée)



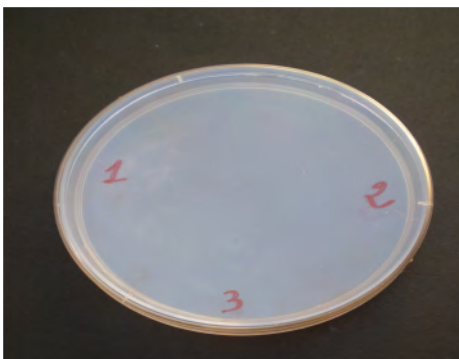
Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 0.625 %.

(Colonies visibles pour les des échantillons de bactérie testée)



Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 1.25 %.

(Colonies visibles uniquement pour staphylocoques aureus et Streptocoques)

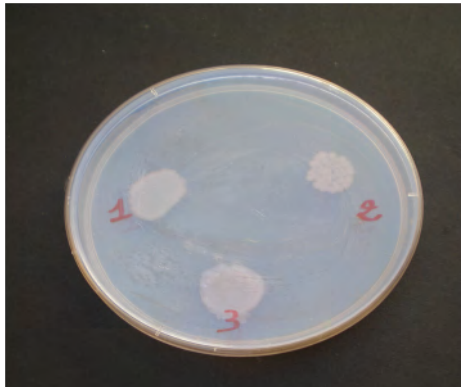


Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 2.5 %.

(Pas de colonies visibles)

**Figure 29:** Concentration minimale inhibitrice (CMI) dans l'extrait des feuilles du *T. nudatum*

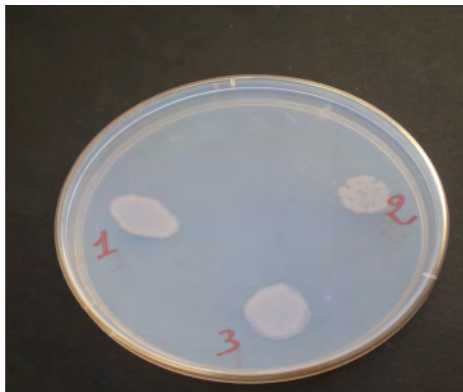
## Chapitre IV : Valorisation des plantes



- 1- Colonies de Staphylococcus aureus
- 2- Colonies d'Escherichia coli

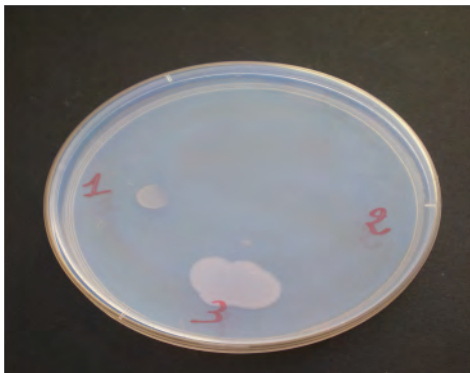
Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 0.31 %.

(Colonies visibles pour les des échantillons de bactérie testée)



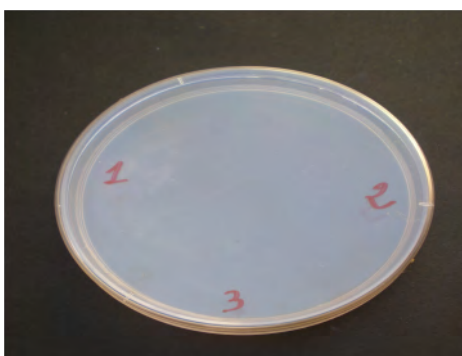
Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 0.625 %.

(Colonies visibles e pour les des échantillons de



Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 1.25 %.

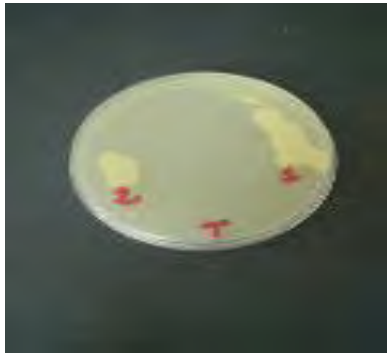
(Colonies visibles uniquement pour Streptocoques et Staphilococcus aureus)



Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 2.5 %.

(Pas de colonies visibles)

Figure 30 : Concentration minimale inhibitrice dans l'extrait des tiges du *T. nudatum*

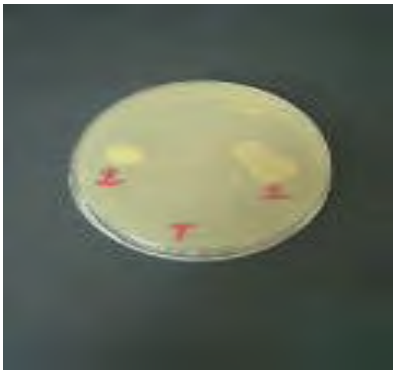


1- Colonies de Staphylococcus aureus

2- Colonies d'Escherichia Coli

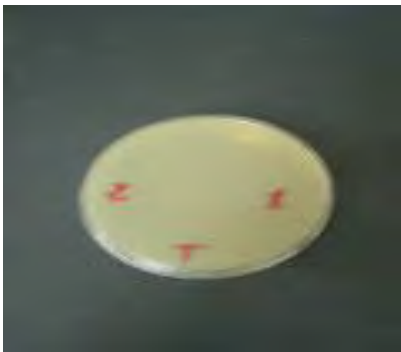
Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 0.625 %.

(Colonies visibles pour les des échantillons de bactérie testée)



Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 1.25 %.

(Colonies visibles pour les des échantillons de bactérie testée)



Résultats de l'étude quantitative des échantillons de bactérie testée à concentration 2.5 %.

(Colonies visibles pour les des échantillons de bactérie testée)

**Figure 31:** La concentration minimale inhibitrice (CMI) dans l'extrait des racines du *Traganum nudatum*

**Tableau 13:** valeur de CMI obtenues en g / l pour les extraits aqueux des racines, feuilles et tiges de la plante du *Traganum nudatum* sur la bactérie testée

| Valeur de CMI en g / l        |                     |                      |                   |
|-------------------------------|---------------------|----------------------|-------------------|
| Bactérie                      | Extrait des racines | Extrait des feuilles | Extrait des tiges |
| <i>Escherichia Coli</i>       | 0.0625              | 0.0625               | 0.125             |
| <i>Staphylococcus aureus</i>  | 0.0625              | 0.10                 | 0.125             |
| <i>Streptococcus SP</i>       | 0.0625              | 0.10                 | - -               |
| <i>Salmonella typhis</i>      | -                   | -                    | -                 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | -                   | -                    | -                 |
| <i>Candida albicans</i>       | -                   | -                    | -                 |

**- Discussion des résultats:**

A partir des résultats obtenus et mentionnés dans le tableau 13 on peut conclure que les valeurs de CMI de l'extrait des racines sur la bactérie *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptocoque* à une valeur égale 0.625 g / l. Cette valeur est fixe, elle est de même que la valeur obtenue dans le cas de l'extrait des feuilles sur la bactérie *Escherichia Coli*. La valeur de CMI sur les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Streptocoque* est de l'ordre de 0.10 g / l dans l'extrait des feuilles. Enfin l'extrait des tiges représente la valeur de 0.125 g / l sur les bactéries de *Escherichia Coli* et *Staphylococcus aureus*.

Donc, plus que les valeurs de CMI sont petites plus que l'extrait à une activité plus grande en vers la bactérie testées.

On comparant les extraits étudiés entre eux du point de vue de leur activité en vers la bactérie, on conclut que l'extrait des racines à une activité sur la bactérie *Escherichia Coli* *Staphylococcus aureus* et *Streptocoque*. Ces valeurs sont meilleurs que celles obtenues dans l'extrait des feuilles, ce dernier à une activité sur la bactérie *Escherichia Coli* et *Streptocoque* meilleur que celle obtenue dans le cas de l'extrait des tiges.

**D- Estimation de l'activité anti oxydante :**

L'activité anti oxydante est par définition le pouvoir de l'extrait ou du composé a inhibé la racine libre ou de bloquer le phénomène d'oxydation. L'activité anti oxydante est estimée par de différentes méthodes à savoir:

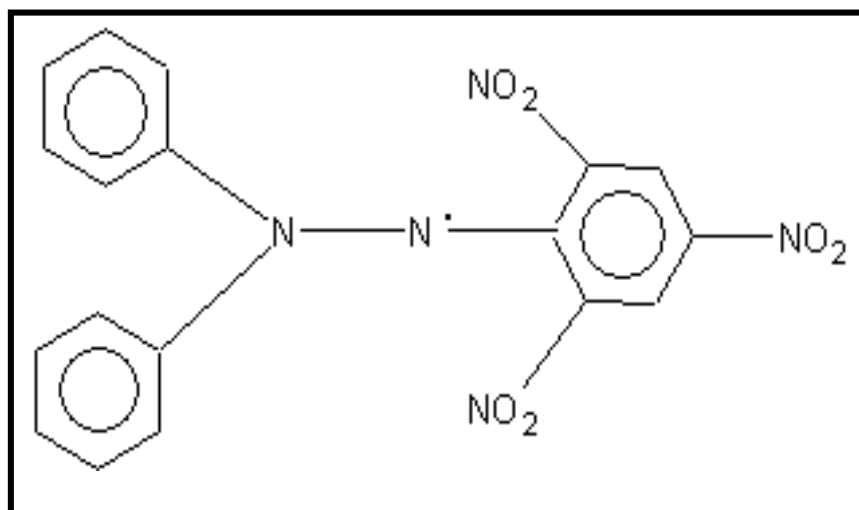
- 3 Test DPPH
- 4 Test FRAP
- 5 Test ABTS
- 6 Test LM
- 7 Test TRAP

Ces méthodes sont basées sur la coloration et la décoloration de la solution dans une longueur d'onde bien définie.

Dans notre présent travail, nous avons utilisé le test DPPH et le test FRAP.

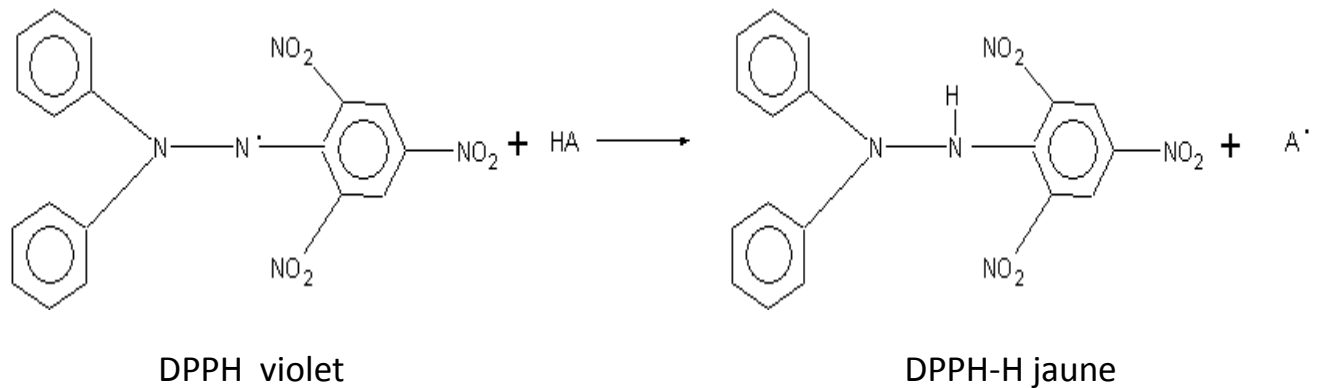
**- Estimation par DPPH:**

C'est un test antiradicalaire, défini depuis plus de cinquante ans par Paulois (plus précisément en 1958) en se basant sur des calculs portés sur les phénomènes anti oxydants. La molécule de DPPH à une formule chimique donnée sur la figure 32.



**Figure 32:** La molécule de diphényl picrylhydrazyl (DPPH)

Le diphényl picrylhydrazyl (DPPH) est un produit solide de couleur violette-noircie, dérivé de diphényl picrylhydrazine qui est un corps solide jaune [63].



**Figure 33:** Equation d'inhibition de la racine DPPH en présence des anti-radicaux libres

L'inhibition des racines libre est faite en gardant le DPPH avec les extraits en études pendant 30 minutes. Le DPPH est un corps stable qui réagit avec une entité moléculaire anti racine pour donner le DPPH-H avec une perte d'absorption à une longueur d'onde maximale  $\lambda_{ma}$  tel que:

$$\lambda_{ma} = 517 \text{ nm} \quad [112]$$

Le pouvoir anti radicaux libres est déterminé par une expression quantitative arithmétique en fonction de la concentration de la solution pour éliminer 50 % des racines libres. Le résultat est exprimé en IC50. L'unité de la concentration est soit le g/l pour les extraits bruts ou le mM pour les corps purs à masse moléculaires connues afin d'éliminer 50 % des racines de DPPH. La concentration est calculée à partir des courbes



de changement du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de la solution. Généralement, plus que la valeur de IC50 est petite plus que l'activité anti racine est grande [113] [114].

Ce test est fréquemment pratiqué vu ces caractéristiques; c'est une méthode rapide, simple et moins couteuse. La molécule de DPPH est utilisée comme molécule écrasante des racines, elle réagit instantanément avec toutes autres sorte de radicaux libres ou anti-radicaux libres en formant un produit de couleur moins intense que les racines réactives. On utilise le spectrophotomètre UV-V pour suivre la cinétique de cette réaction.

Suivant sa nature, on observe dans le test DPPH de différentes modifications sur les anti-oxydants, notamment la cinétique de la réaction (rapide, moyenne ou lente). Ceci est du au temps nécessaire pour atteindre le but désiré. Le pouvoir anti racines est calculé à partir du pourcentage de DPPH restant après le temps nécessaire à la réaction [114].

### - Préparation des produits et mode opératoire:

- **Préparation de DPPH à 250 mM:** On dissout 0.0049 g de DPPH dans 50 ml de méthanol absolu. La masse moléculaire de DPPH égale à  $M_{DPPH}$  394 g/mole

On prépare de différentes concentrations diluées à partir des extraits des sels d'alcaloïdes des racines, feuilles et tiges du *Traganum nudatum* en versant ces extraits dans du méthanol absolu.

On ajoute à chaque 100 ml de solution de plante 1 ml de solution de DPPH, le mélange est bien agité pour homogénéiser le milieu. On garde le mélange obtenu à l'obscurité totale pendant 30 minutes et on procède à la lecture d'absorption par spectrophotomètre UV-V à la longueur d'onde  $\lambda_{max} = 517$  nm.

Pour des raisons comparatives, on détermine par la même manière et dans les mêmes conditions l'absorption de l'acide ascorbique (Vc) et le tocophérol (Ve) utilisés dans le secteur de l'industrie alimentaire.

*- Résultats du test:*

Le pourcentage d'inhibition (I %) est calculé par la formule suivante:

$$I \% = \frac{(A_0 - A_i)}{A_0} \times 100$$

Avec:  $A_0$  = absorption de la racine libre en absence des extraits

$A_i$  = absorption mélange racine libre et le DPPH après 30 minutes

L'allure de la fonction  $I \% = f(C)$  est une droite passant par la point de repère (0). A partir du tracé des différentes courbes on obtient la concentration qui correspond à 50 % des racines libres de chaque extrait (racines, feuilles et tiges) ainsi que l'acide ascorbique (Vc) et le tocophérol (Ve).

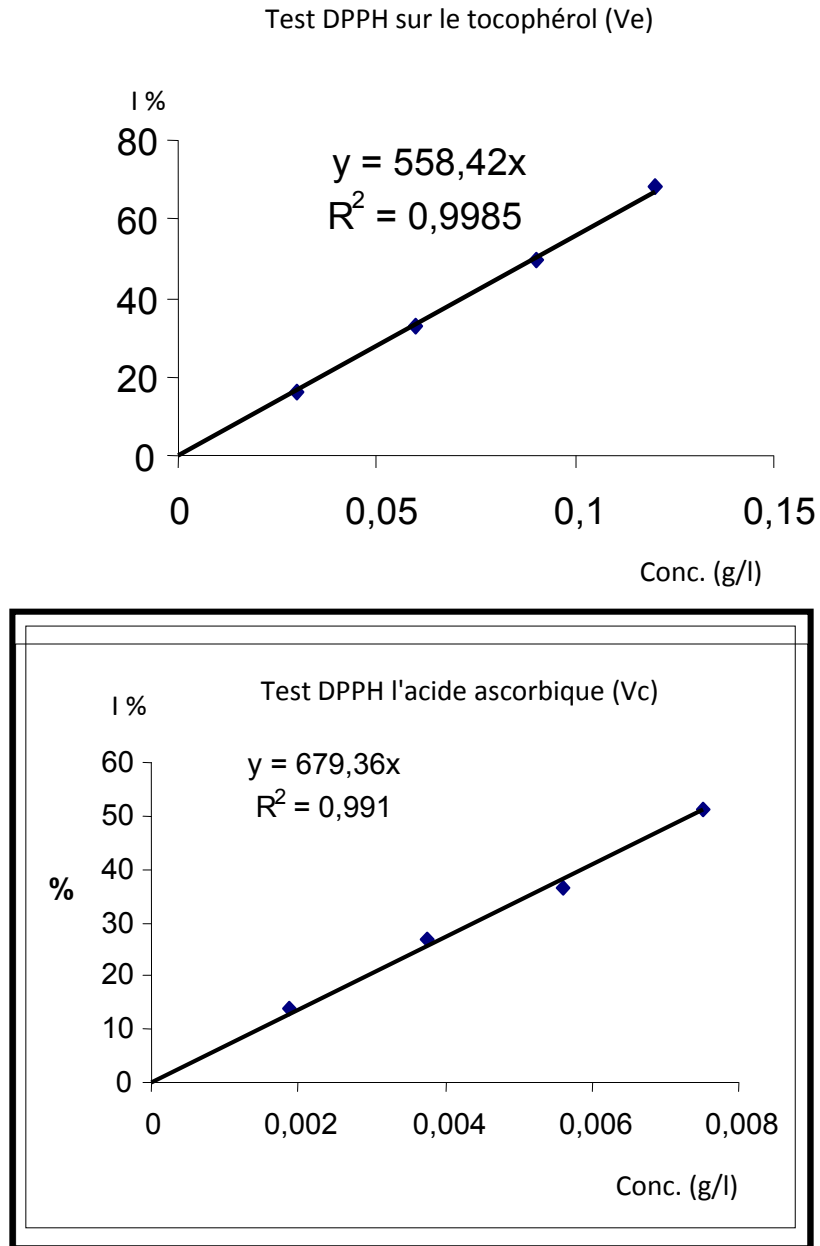
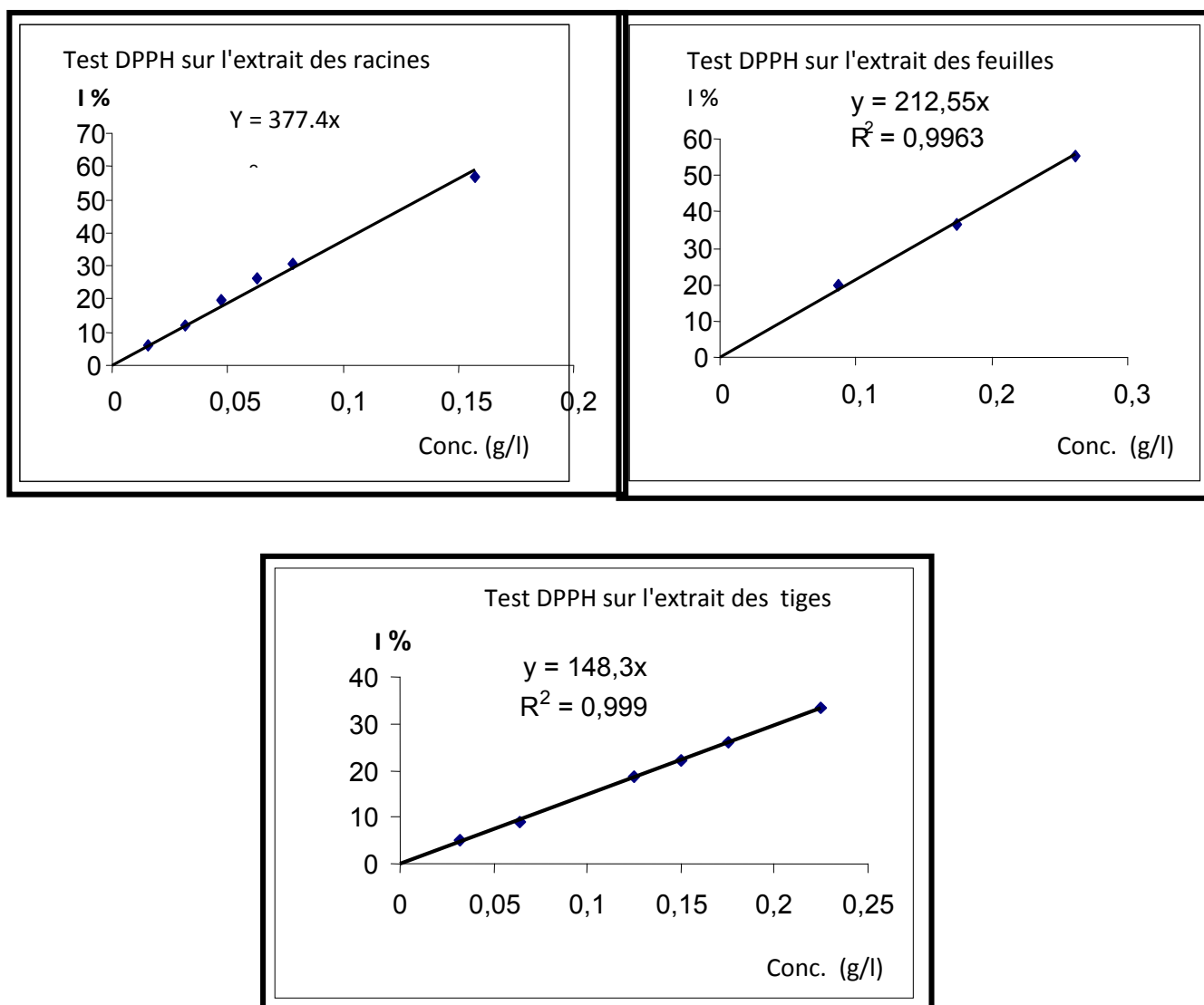


Figure 34: Allure des courbes normalisées du test DPPH de l'acide ascorbique (Vc) et le tocophérol (Ve)



**Figure 35:** Allures des courbes du test DPPH sur les extraits des sels alcaloïdes des racines, feuilles et tiges du *Traganum nudatum*

**Tableau 14:** Résultats du test DPPH sur les extraits des sels alcaloïdes des racines, feuilles et tiges du *Traganum nudatum*

| Racines                | feuilles | Tiges | Vc    | Ve    |       |
|------------------------|----------|-------|-------|-------|-------|
| IC <sub>50</sub> (g/l) | 0.132    | 0.235 | 0.337 | 0.073 | 0.089 |

### - *Discussion:*

A partir des courbes 1 et 2 de la variation de l'inhibition (I %) en fonction de la concentration des différents extraits obtenus de la plante *Traganum nudatum* ainsi la solution d'acide ascorbique et celle de tocophérol on peut calculer les valeurs de IC<sub>50</sub> données sur le tableau 12. l'activité anti-oxydantes des extraits étudiés par rapport à celle de Vc et Ve et comme suit:

- Extrait des racines: l'activité anti-oxydante est de deux fois moins que celle de l'acide ascorbique (Vc) et une fois et demi moins que celle du tocophérol.
- Extrait des racines: l'activité anti-oxydante est de trois fois moins que celle de l'acide ascorbique (Vc) et deux fois et demi moins que celle du tocophérol.
- Extrait des racines: l'activité anti-oxydante est de quatre fois et demi moins que celle de l'acide ascorbique (Vc) et quatre fois moins que celle du tocophérol.

En comparant ces valeurs avec celles de Vc et Ve utilisés dans le secteur de l'industrie alimentaires, les extraits des sels alcaloïdes de la plante *Traganum nudatum* sont nettement inférieurs. L'activité de l'extrait des racines est supérieure à celle de l'extrait des feuilles, ce dernier à une activité anti-oxydante supérieure à celle de l'extrait des tiges.

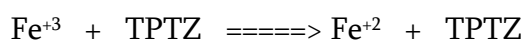
### **b- Test FRAP:**

Le test FRAP (Ferric Reducing / Antioxydant power) traduit les phénomènes de l'activité anti oxydo-réductrices des réactions de réduction colorés, c'est-à-dire l'étude du pouvoir des extraits en questions d'inhiber les réactions d'oxydoréduction. Le principe du test est basé sur la coloration ou la décoloration du complexe TPTZ

(2, 4, 6 -tripyrindyl-s-triazine ferrique) dans un milieu acidifié [105] [106].

Le test FRAP est une analyse directe et rapide utilisée pour la mesure de l'activité anti oxydante des enzymes dans le liquide biologique vif (plasma humain). Nous avons étudié ce test pour observer les changements du comportement d'absorption photonique dans les différents extraits de la plante *Traganum nudatum* sous leurs effets anti oxydant. L'étude a été repérée sur un intervalle de temps compris entre 0 et 10 minutes. Plus précisément, ce test nous permis de poursuivre la cinétique de la réaction ainsi que la densité de la lumière absorbée en fonction du temps et par suite nous pouvons calculer la constante de la vitesse de la réaction.

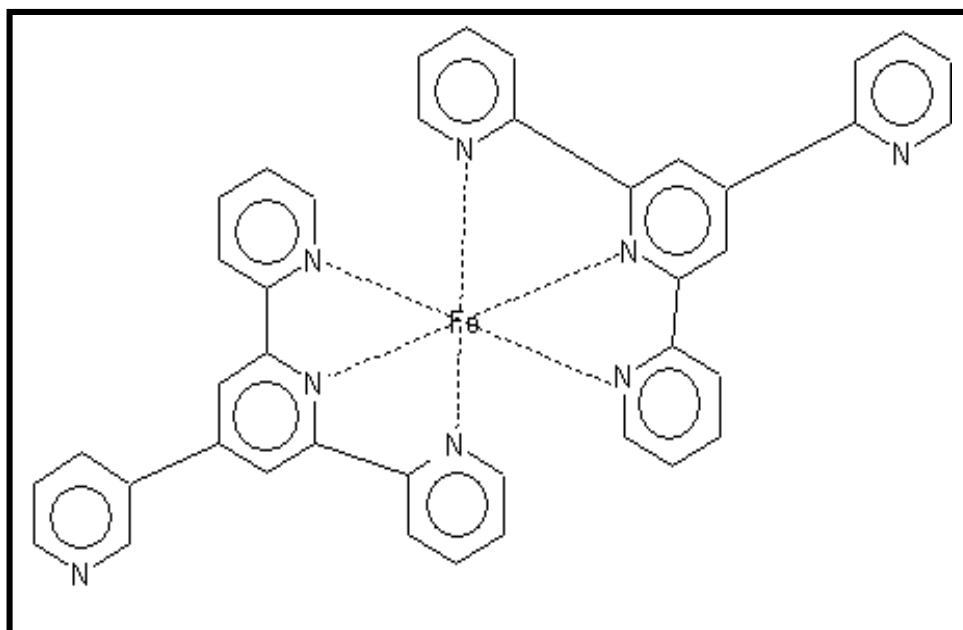
La réaction en question peut être exprimée par l'équation:



marron clair

bleu foncé

La formule chimique développée de TPTZ est donnée dans le schéma ci-dessous:



**Figure 36** : La molécule de 2 , 4 , 6 -tripyridyl-s-triazine ferrique (TPTZ)

**- Préparation des solutions:**

On doit préparer trois solutions aqueuses afin d'obtenir le mélange FRAP:

**Solution 1:** La première solution aqueuse est une solution tampon d'acétate de sodium dans un milieu acide (pH = 3.6): on dissout 0.62 g d'acétate de sodium ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) dans 3.2 ml d'acide acétique glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). En jauge le contenu jusqu'à 200 ml par de l'eau distillée. La molarité de la solution tampon obtenue égale 0.3 M.

**Solution 2:** On dissout 0.078 g de TPTZ dans 25 ml d'acide HCl (0.04 moles). On obtient ainsi une solution aqueuse de TPTZ à 0.01 M.

**Solution 3:** On dissout 0.135 g de trichlorure de fer hexahydraté ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) dans 25 ml d'eau distillée. On obtient ainsi une solution aqueuse à 0.02 M de  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ .

Le mélange des trois solutions en proportions volumiques 1:1:10 est nommé par définition la solution FRAP [107].

**- Mode opératoire:**

**- Tracé de la courbe standard:**

- On prépare une série de solution de tocophérol (Ve) dont la molarité passe de 0.01 jusqu'à 0.2 M.
- On ajoute à 2 ml du méthanol absolu, 1 ml du mélange FRAP et 100  $\mu\text{l}$  de la solution de tocophérol 0.2 M.
- La lecture de l'absorption est faite directement avec l'ajout de la première goutte sur le spectrophotomètre UV-V.

- On mentionne les valeurs de la lecture sur un intervalle d'une minute sur dix
- On reprend l'opération avec le reste des solutions de tocophérol préparées.

Comme observation préliminaire, on remarque que l'absorption augmente avec le temps jusqu'à l'obtention d'une valeur maximale fixe. On remarque aussi que l'absorption augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. On conclut de ces deux remarques préliminaires, l'évaluation quantitative de l'activité anti oxydante peut être fixée pour un temps choisi.

Par expérience, on a conclu que le temps préférable pour une activité anti oxydante optimale est après 5 minutes d'absorption. Enfin la courbe 03 enregistre la variation de la concentration en fonction de l'absorption.

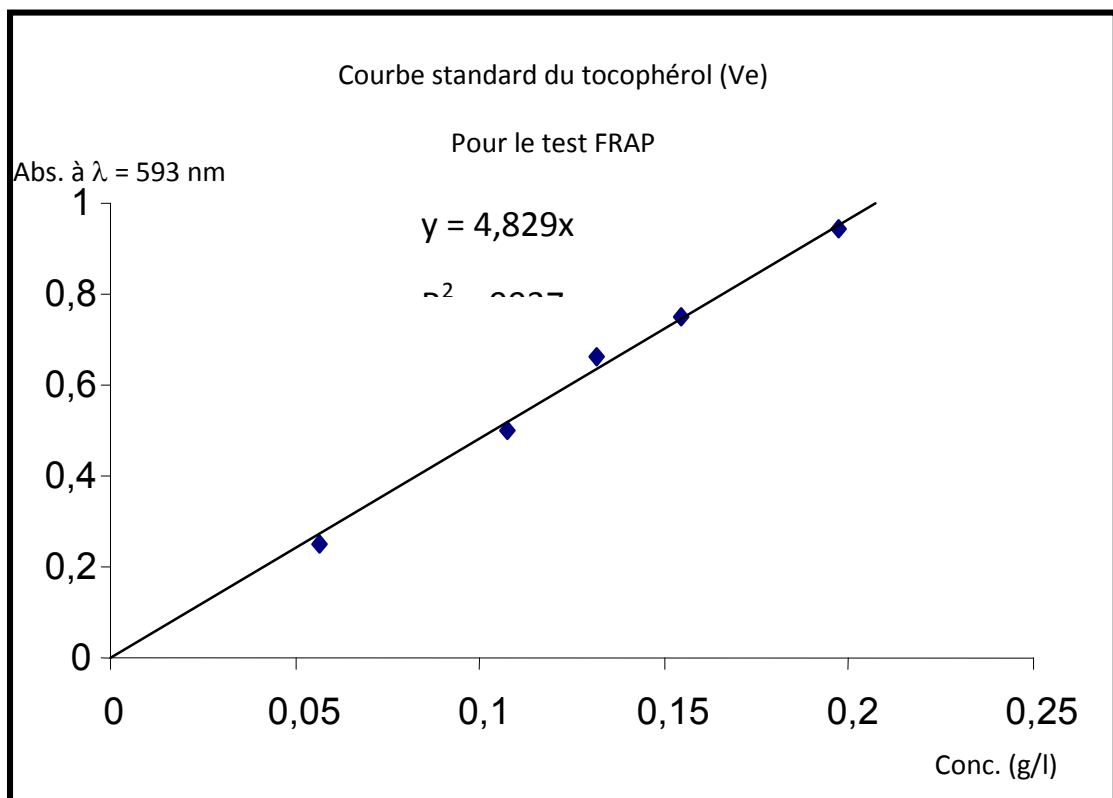


Figure 37: Courbe standard du tocophérol (Ve) pour le test FRAP



### -Traitement des extraits :

On prépare des différentes solutions des extraits des sels des alcaloïdes des racines, feuilles et tiges du *Traganum nudatum* diluées dans l'éthanol. On prend de chaque solution 100 µl et on les traite de la même façon précédente (traitement du tocophérol). C'est-à-dire 2 ml du méthanol absolu, 1 ml du mélange FRAP et 100 µl de la solution de l'extrait. On procède aussi de la même façon avec une solution de l'acide ascorbique à titre comparatif.

Les résultats ainsi obtenus sont mentionnés dans le tableau ci-dessous:

**Tableau 15 :** Résultats du test FRAP sur les extraits du *Traganum nudatum* et l'acide ascorbique

|            | Racines | feuilles | tiges | Vc    |
|------------|---------|----------|-------|-------|
| VEAC (g/l) | 0.314   | 0.287    | 0.133 | 0.582 |

\* VEAC = (Vitamine E, Equivalent, Antioxydant, Capacity )

### - Discussion des résultats:

Plus que la valeur de VEAC est grande plus que la valeur de l'activité anti oxydante est grande aussi. Le pouvoir anti oxydant équivalent au tocophérol des racines, feuilles, tiges et d'acide ascorbique sont successivement 0.314, 0.287, 0.133 et 0.582 g/l. On conclut que l'activité anti oxydante de l'acide ascorbique utilisé dans le secteur alimentaire en tant que produit de conservation et anti oxydant est plus grande que celle de l'extrait des racines et celui des feuilles de deux fois. Elle est encore quatre fois plus grande que celle de l'extrait des tiges.

On conclusion générale tirée des deux tests DPPH et FRAP on mentionne que l'activité anti oxydante et l'activité anti radicaux libres des extraits des sels alcaloïdes des racines et des feuilles du *Traganum nudatum* est très proche de celle de l'acide ascorbique. Ces deux activités sont estimées inférieures dans le cas de l'extrait des tiges.

## *Conclusion générale*

Tenant compte de cette étude, nous retenons les points essentiels suivants :

### **Concernant les huiles essentielles:**

Le but principal de la première partie de notre travail est d'étudier les huiles essentielles de deux plantes: *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* récoltées de la région de Ghardaïa.

La détermination de la composition chimique des huiles extraites a été réalisée par les différentes méthodes d'analyses, telles que la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

### **1- Concernant le *Pituranthos scoparius* :**

L'analyse et l'étude de l'échantillon extrait du *Pituranthos scoparius* par GC-MS nous ont permis d'identifier 31 composés. Comparativement aux résultats publiés jusqu'à ce jour, quelques nouveaux constituants ont été détectés pour la première fois dans l'huile du *Pituranthos scoparius*. Notamment:  $\Delta$ -3-carane, tricyclène, 2-B-pinene, 1-cyclohexyliden-2-methylpropenem,  $\alpha$ -Pyronene, 3,7-Guaiadiene, 8-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-1-isopropyl-naphtalene, (z)-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2-propenal, butylidene phtalide, 3-methyl-7-methoxy-2-benzopyran-1(1H)-one, Butylidene dihydro-phtalide.

Une différence pondérale vis-à-vis de la teneur en dérivés aromatiques des monoterpènes a été observée comparativement aux travaux précédents

## 2- Concernant le *Rhantherium adpressum* :

Le taux des composés identifiés de l'huile du *Rhantherium adpressum* représente 97.7 %. Cette huile est dominée par les sesquiterpènes avec un pourcentage de 83.33 %, les monoterpènes ne représentent qu'une faible quantité de l'ordre de 5.11 %, et enfin les dérivées aromatiques des monoterpènes avec un taux de 9.26 %.

Les composés oxygénés des sesquiterpènes constituent une partie importante de la composition chimique des huiles essentielles avec un taux de 63.52 %. Les composées hydrocarbonées ne représentent que 23.78 %.

Parmi les composées majoritaires dans les huiles essentielles, on trouve: (-)-Spathulenol 19.57 %, B-Eudesmol 15.13 %, Bicyclo[4.4.0]dec-1-ene, 2-isopropyl-5-methyl-9-methylene 12.94 %, (-)-B-Cadinol 11.34 %,  $\alpha$ -Cadinol 6.56 %,  $\alpha$ -Eudesmol 5.37 %, 2H-Pyran-3-ol, Myristicin 5.05 %, tetrahydro-2-(1,7-nonadiene-3,5-diynyl) 4.81 %.

## Concernant le *Traganum nudatum* :

Notre travail principal est basé sur l'extraction des alcaloïdes dans les trois parties essentielles de la plante (tiges, feuilles et racines) et d'une manière séparée. Après révélation en utilisant les méthodes de précipitation appropriées telles que Dragendorff et Mayer nous avons optés à l'extraction des alcaloïdes brut en utilisant les protocoles d'extraction convenables.

L'extrait d'alcaloïdes a été exposé aux tests biologiques pour évaluer les effets antibactériens et antioxydant.

Les résultats montrent bel et bien une certaine activité plus ou moins importante vis-à-vis de certaines souches bactériennes. Concernant les tests antioxydants, l'extrait a montré un

effet important comparativement aux deux solutions utilisées à savoir d'acide ascorbique et du tocophérol.

Cette partie de notre travail est loin d'être achevée, nous proposons d'effectuer en premier lieu une séparation chromatographique suivie par une caractérisation des principes isolés. Nous proposons aussi d'utiliser d'autres souches bactériennes et d'évaluer la toxicité de la plante pour mieux la valoriser. A titre comparatif, nous proposons d'étudier la plante récoltée d'une autre région.

## Bibliographie

---

### Bibliographique

- [1] محمد السيد هيكل , ع . عبد الرزاق عمر.، (1993)، النباتات الطبية و العطرية – كيمياؤها – إنتاجها- فوائدها , الطبعة الثانية , منشآت المعارف الإسكندرية , 13-134 .
- [2] الدكتور أحمد فرج العطييات.، (1995)، النباتات الطبية و العطرية في الوطن العربي زراعة و تصنيع النباتات الطبية في الوطن العربي . المؤسسة العربية للدراسات و النشر ص21-22
- [3] M. Paris, M. Hurabielle; (1980), *Abrégé de Matière Médicale (Pharmacognosie), Tome 1 Paris.*
- [4] R. Anton ; (1999), *Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinales, science et thérapeutique. Edition française.*
- [5] C. Bourrel; (1993), *Analyse chimique, activités biologiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées, Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse. Toulouse, France.*
- [6] A. Lhuillier; (2007), *Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: agauria salicifolia hook.f ex oliver, agauria polyphylla baker (ericaceae), tambourissa trichophylla baker (monimiaceae) et embelia concinna baker (myrsinaceae), Toulouse, France.*
- [7] A. Gurib-Fakim; (2006), *Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow, Molecular Aspects of Medicine 27, 1-93.*
- [8] F. Chemat, M. Abert Vian, O. Dangles; (2007-1), *Essential oils as antioxidants, International Journal of Essential Oil Therapeutics,*
- [9] J.F. Cavalli; (2002), *Caractérisation par CPG/IK, CPG/SMet RMNdu carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar, Thèse université de Corse Pascal Paoli.*
- [10] M. E. Lucchesi, F. Chemat, J. Smadja; (2004), *An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices, flavour and fragrance journal J. 19: 134-138*

## Bibliographie

---

- [11] N. Nait Said ; (2007), Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes *Pituranthos chloranusthus* et *Marrubium vulgare*, *Mémoire de magister à l'université de Batna*.
- [12] A. Touil, S.Ghouati, J. Creche ; (2003), Flavonoid glucosides from pituranthos chloranthus. *Chemistry of compounds, vol. 42, N. 1*.
- [13]: M. Boussaid, N. Ben Fadhel, M. Ben M'hamed; (1998), 'Structure of vegetation in Northern and Central Tunisia and Protective Measures. *Cah. Opt. Mediter., Vol. 38, 295-302*.
- [14] M. Bouheroum ; (2007), Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes : *Rantherium adperssum* et *Ononis angustissima*, *Thèse de doctorat d'état à l'université de constantine*.
- [15] J.Q. Cu; (1990), Extraction de compositions odorants vegetables par divers solvants organiques. *Thèse de l'Institut Nationale Polytechnique. Toulouse, France*.
- [16] J.M. Tedder; (1970), Basic Organic chemistry. *Ed. John Wiley & Sons. New York*.
- [17] I. Amalia Kartika; (2005), Nouveau procédé de fractionnement des graines de tournesol: expression et extraction en extrudeur bi vis, purification par ultrafiltration de l'huile de tournesol, *Thèse doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, France*.
- [18] E.Yayi, D. Joachin, L. Gbenou, A. Leon, A. Ahoussi, M. Moudachirou, J. C. Chalchat; (2004), *Ocimum.gratissimum* L., siège de variations chimiques complexes, *C.R. Chimie 7 1013–1018*
- [19] A. Luicitla, R. Lgunez ; (2006), Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe, *Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, France*.
- [20] P. Morin, H. Richard; (1985), Thermal degradation of lineally acetate during steam distillation in Proc. 4 Fh Weurman Flav, *Res. Symp. Elsevier Sci. Publ. B. V. Amsterdam, pp 563-576*.

## Bibliographie

---

- [21] N. Nait Said; (2007), Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes: *Pituranthos chluranthos* et *Marrubium vulgare*. *Mémoire de Magister, Université EL-Hadj Lakhdar-Batna, Algérie*.
- [22] A.N. Singab, T. Khalifa, G.H. Mahran, Y. Okada, Y. Matsumaru, H. Nishino, T. Okuyama; (1998), Five glycosylated flavonoids from the antibacterial butanolic extract of *Pituranthos scoparius*, *Natural Medicines, Vol. 52 (2), P: 191-194*.
- [23] A. Abdelwahad, N. Hayder, S. Hilani, A. Mahmoud, J. Chibani, M. Hemmami, L. Chekir-Ghedira, K. Ghedira; (2006), Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Pituranthos tourtuosud* (Coss), *Maire. Flavour Fragr. 21: 129-133*
- [24] A.F. Halim, H. Saad, M.F. Lahloub, A.F. Ahmed; (1995), *Phytochemistry, Vol. 40 (30), P: 927-929*.
- [25] H.Haba, M.G.Benkhaled, C. Log, C. Lavaud; (2004), *Natural Product Research. Vol. 18, N° 5, pp 409-413*
- [26] G.Vernin, R. M. Zamkotsian, G. Verbin, C. Ghiglione, M. Dahia, C. Pqrkqnyim; (1999), *Abstracts of papers American Chemical Society, Vol. 217 (1-2), P: AGFD*
- [27] G. Vernin, C. Lageot, C. Ghiglione, M. Dahia, C. Parkanyi; (1999), *Journal of Essential Oil Research, Vol. 11 (6), P: 673-676*
- [28] P. Verite, A. Nacer, Z. Kabouche, Z.Segbuin; (2004), Composition of seeds and stems essential Oils of *Pituranthod scoparius* (Coss.& Dur), *Schinz. Flavour Frage; 19: 562-564*.
- [29] J. Brunechon; (1987), *Pharmacognosie, Ecole technique de documentation, Ed. Ravoilie*.
- [30] A. Sivropoulou, E. Papanikolaou, C. Nikolaou, S. Kokkini, T. Lanaras, M. Arsenakis; (1996), Antimicrobial and cytotoxic activities of *origanum* essential oils, *J. Agric. Food Chem. 44, 1202-1205*.



## Bibliographie

---

- [31] A. Agnihotri, S. Khatoon, M. Shanta; (2003), Pharmacognostical evaluation of an antioxidant plant-*Acorus calamus linn*, *Nat. Prod. Sci.* 9(4), 264-269.
- [32] A. Zambonelli, A.Z. D'aurelio, A. Severi, E. Benvenuti, L. Maggi, A. Bianchi; (2004), Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *thymus vulgaris L.* *J. Essent. Oil Res* 16(1), 69-74.
- [33] J.M. Tedder; (1970), Basic Organic chemistry, *Ed. John Wiley & Sons. New York*
- [34] D. Zakarya, T. Fathallah, M. Chascrette; (1993), Use of multifunctional autocorrelation method to estimate molar volumes of alkanes and oxygenated compounds. Comparison between components of autocorrelation vectors and topological indices, *J. Phys. Org. Chem.*6(10), 574-582.
- [35] Q. Delespaul., V. De Billerbeck., C.G. Roques., J.M. Bessiere; (2000), The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods. *J. Essent. Oil Res.* 12, 256-266.
- [36] V.K. Raina, S. Srivastava, K. Aggarwal, K.K.Syamasundar; (2003), Essential oil composition of *Cymbopogon martinii* from different places in india. *J. Flavour Fragr.* 18(4), 312-315.
- [37] B.R. R. Rao, A.K. Bhattacharya, G.R. Mallavarapu, S. Ramesh; (2004), Yellow and crinkling disease and its impact on the yield and composition of the essential oil of citronella (*Cymbopogon winteranus Jowitt.*). *J. Flavour Fragr.* 19(4), 344-350.
- [38] A. Allahverdiyev, N. Duran, M. Ozguven, S. Koltas; (2004), Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis L.* against herpes simplex virus type-2. *Phytomedicine.* 11 (7-8), 657-661
- [39] C. Bourrel; (1993), Analyse chimique, activités biostatiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées. *Thèse de l'Institut National Polytechnique de toulouse. Toulouse, France.*
- [40] D. Macdonald, K. VanCrey, K. Harrison, P. Rangachari; (2004), Ascaridole-less infusions of *Chenopodium ambrosioides* contain a nematocides that is not toxic to mammalian smooth muscle. *Journal of Ethnopharmacology.* 92(2-3), 215-221.

## Bibliographie

---

- [41] A. Kirrmann, J. Cantacuzene, P. Duhamel; (1975), Chimie organique fonctions complexes, *tome 3, éd. Librairie Colin. Paris, p:197-199*
- [42] A. Vallet; (1996), Contribution à l'étude de la biosynthèse des alcaloïdes tropaniques chez le *Datura innoxia* Mill, transformation par *agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium rhizogenes* et culture de chevelus lacunaires, *mémoire D.E.A. Université de Picardie Jules Vienne, 1 – 32*
- [43] W. Nultsch; (1969), Botanique Générale, *éd. Louis Pasteur, 319-320.*
- [44] M. Paris, M. Hurabielle; (1986), Abrégé de matière médicale, *tome 2, éd. Masson, 256-266*
- [45] J. Bruneton; (1993), Pharmacognosie, phytochimie Plantes médicinales, technique et documentation, *p.266-275-2<sup>ème</sup> édition. Lavoisier. Paris.*
- [46] J. Bruneton; (1999); Pharmacognosie, *3<sup>ème</sup> édition, éd. Technique et Documentation .783-1086*
- [47] م. بن عبد الله اللحيان, م. بن إبراهيم الحسن, (1998), المركبات الحلقية غير المتجانسة و الحيوية, الطبعة الثانية, دار الكتاب العربي بيروت لبنان, 136-127.
- [48] م. عبد العزيز، أ.م. مجاهد, (1993), النبات العام, الطبعة الخامسة, المكتبة الأنجلو مصرية القاهرة, 73-143
- [49] G.A. Cordelle; (1949), Introduction to alkaloids a biogenetic approach, *éd. Canada, 1-1055*
- [50] C. Judson King;(2002), *Separation Processes, Introduction, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, coll. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry,*
- [51] G. Mahuzier; (1978), Méthodes de separation, *ed. Maçon.*
- [52] Robert H. Perry et Don W. Green; (2007), Perry's chemical engineers'handbook, *8 th edition McGraw-Hill.*

## Bibliographie

---

- [53] M Gheorghiadé, D van Veldhuisen, W Colucci , (2006), *Contemporary Use of Digoxin in the Management of Cardiovascular Disorders*, 113: 2556 - 2564
- [54] L. Bottin ; (2006), Déterminants de la variation moléculaire et phénotypique d'une espèce forestière en milieu insulaire: cas de *Santalum austrocaledonicum* en Nouvelle-Calédonie, *Montpellier*.
- [55] J. Bruneton; (1999), *Pharmacognosie Phytochimie Plantes Médicinales*, Paris. 3<sup>e</sup> édition.
- [56] J. Pellecuer, J. L. Roussel, C. Andary; (1980), Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles, *Rivista Italiana Essenzo (EPPOS)*. 23, 45-50.
- [57] C. Viollon, J.P. Chaumont; (1994), Antifungal Properties of essential oils and their main components upon *cryptococcus neformans*. *Mycopathologia*, 128 (3), 151-153.
- [58] M.E. Lucchesi ; (13 juillet 2005), Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, *Université de la Réunion*.
- [59] S. Barthe; (2007), Les huiles essentielles, désintoxiquer et fortifier l'organisme, *Ed Exclusif*.
- [60] A. Sophie, N. Eherhart ; (2003), La phytothérapie se soigner par les plantes, *ed Eyrolles*
- [61] National Institute of Standards and Technology; (1999), *PC Version 1.7 of The IST/EPA/NIH Mass Spectral Library*, The Perkin Elmer Corporation.
- [62] F.W. Mc Lafferty, D.B. Stauffer; (1994), Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6<sup>th</sup> ed. *Mass spectrometry library search system Bench Top/PBM, version 3.10d*. Palisade Co., Newfield.
- [63] J. De Graeve, F. Berthou, M. Prost; (1985), Méthodes Chromatographiques Couplées à la spectrométrie de masse, *Ed. Masso Paris..*

## Bibliographie

---

- [64] M. Stobiecki; (2000), Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides, *Phytochemistry* 54 (3), 237-256.
- [65] M. Arpino, A. Prevot, J. Serpinet, J. Tranchant, A. Vergnol, P. Witier; (1995), Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, *ed. Masson, Paris*.
- [66] H. Van Den Dool, P.D. Kratz; (1963), A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition, *Chromatography, J. Chromatog.*, 11, 463-471.
- [67] F. Cuyckens, M. Claeys; (2004), Mass spectrometry in the structural analysis of flavonoids, *Journal of Mass Spectrometry* 39 (4), 1-15
- [68] R.Colombo, F.M. Lancas, J.H. Yariwake; (2006), Determination of flavonoids in cultivated sugarcane leaves, bagasse, juice and in transgenic sugarcane by liquid chromatography-UV detection, *Journal of Chromatography A* 1103, 118-124.
- [69] V.Exarchou, Y.C. Fiamegos, T.A.Van Beek, C. Nanos, J. Vervoort; (2005), Hyphenated chromatographic techniques for the rapid screening and identification of antioxidants in methanolic extracts of pharmaceutically used plants, *Journal of Chromatography A*.
- [70] J.K. Prasain, C.C. Wang, S. Barnes; (2004), Mass spectrometric methods for the determination of flavonoids in biological samples, *Free Radical Biology and Medicine* 37(9), 1324-1350
- [71] E.De Hoffmann, J. Charette, V. Stroobant; (1999), Spectrométrie de Masse, 2e édition, *Librairie Dunod, Paris*.
- [72] F.W. Mc Lafferty, F. Turecek, (1993), Interpretation of Mass Spectra, *Fourth edition, University Science Books, Sausalito, California*.
- [73] D. Joulain, R. Laurent; (1989), Two Closely Related Sesquiterpenols: 1-endobourbonanol and 1,6-germacradien-5-ol, *J. Essent. Oil. Res.*, 1, 299-301
- [74] M. Javillier, M. Polonvski, P. Boulanger, M. Lemoigne, J. Roche, R. Wurmser; (1959), *Traité de Biochimie Générale, tome I, éd. Masson, 1309-1359*.

## Bibliographie

---

[75] G. RICHTER ; (2001), Métabolisme des végétaux, *éd. Romandes*, 306-454.

[76] س.هـ. باين, ه.ج.ب. نديكسون, د.ج. كرام, ج.س. هاموند, (1995), الكيمياء العضوية المجلد الثاني, [76] , الدار الدولية للنشر و التوزيع . 840 – 385 .

[77] ي. ل. علي (2002), الأسس الإلكترونية لميكانيكية التفاعلات العضوية الطبعة و التوزيع .

[78] دار المسيرة للنشر و التوزيع و الطباعة – – , ع.ع. سعيد (2001), كيمياء الجنور الحرة [78] . 192 .

[79] N. J.Turbo, A. Masayuki, L.R. Gould; (1982), *J.AM.Chem.Soc*, 104 856 -858.

[80] K.P.C. Vollhardt, S N.E. Chore; (1999), *Traité de la chimie organique, traduction 3<sup>ème</sup> éd. De Boeck et Lancier. s. a.*

[81] G. Dominique ; (2004), Etude de nouvelles réactions radicalaires application à la Synthèse d'alcaloïdes, *Thèse de Doctorat, Ecole Polytechnique.*

[82] G. Olive; (1998), Synthèse de nouvelles nitrons du Type Pyrroline –N – Oxyde et leur utilisation en spin – trapping, *Thèse de doctorat, université d'Aix Marseille III.*

[83] A. Favier; (2003), Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique l'actualité chimique, *Actualité chimique 269-270.*

[84] Marney Butz; (2002), Use of the ferries Reducing Antioxidant Power Test ( FRAO) Assay as a Measurement of Antioxidant of Plant Phenylpropanoids, Undergraduate Research conference Centennial Student Union Minnesota State, *University, Mankato Mars 25-26.*

[85] Hilcentr; (2003), Chimie organique hétérocyclique, *EDP. Sciences.*

[86] P. Ozenda; (1991), Flore et Végétation du Sahara, *Ed. CNRS Paris France.*

## Bibliographie

---

- [87] H. Haba; (2002), Thèse de magister chimie, Université EL-Hadj Lakhdar, Batna, Algérie.
- [88] F. Quezel, S. Santa; (1962), Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, *Vol.1-2 Ed. CNRS, Paris France.*
- [89] R. Neger; (2009), Petite Flore des Régions Arides du Maroc Occidental, *Tome 2 Ed. CNRS, Paris France.*
- [90] V. Hammiche, K. Maiza; (2006), Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology 105 358–367*
- [91] N. Boutaghane, A. Nacer, Z. Kabouche, B. Ait-Kaki (2004), Comparative antibacterial activities of the essential oils of stems and seeds of *pituranthos scoparius* from algerian septentrional sahara, *Chemistry of natural compounds, Vol. 40, No. 6.*
- [92] K. Bremer; (2002), Cité dans Roland P. Roberts, Phylogeny of Ericamera, Chrysothamnus and Related Genera (ASTERACEAE: Astereae ) Based on Nuclear Riosomal DNA Sequence Data, *Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College,*
- [93] F. Chaaib Kouri; (2004), Investigation phytochimique d'une brosse à dents africaine *Zanthoxylum zanthoxyloides* (Lam.) Zepernick et Timler (Syn. *Fagara zanthoxyloides* L.) (Rutaceae), *Thèse de doctorat, faculté des sciences, Institut de Pharmacognosie et Phytochimie, Université de Lausanne,*
- [94] Boumlik Messaili ; (1995), Systématique des spermaphytes, Botanique, *office des publications universitaires, pp. 11 – 42*
- [95] Z. Zerrouki; (1996), Contribution a l'inventaire des plantes spontanées et leur utilisation éventuelle en médecines traditionnelles par la population d'Ouargla, *Mémoire d'ingénieur. INFS/AS Ouargla, p 81*
- [96] P. Quezel, S. Santa; (1963), Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertique méridionales, *Tome 2, pp 893 – 894*

## Bibliographie

---

- [97] P. Ozenda; (1983), Flore du Sahara, 2<sup>ème</sup> édition, éd. CNRS, Paris, p 336.
- [98] محمد رفعت., (1988)، العلاج بالأعشاب قديما و حديثا, الطبعة الثانية, مؤسسة عز الدين للطباعة و  
. 23 – 13
- [99] El-Khaffagy; (1995), Arabe Of drungs and médicimal plants, *Alixendeia*  
p :1- 31
- [100] N. Gherraf; (1997), Reinvestigation of Alkaloid content of *peganun harmala*,  
mémoire de magister, *Université de Guelma* 27
- [101] W. Heller et H. Geiger;(1988). The Flavonoids, Advances in Research since  
1980, éd. J. B. Harborne, Chapman and Hall, London, 399-425.
- [102] K. Benwqhi; Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodon  
Dactylon-L chiendent , *mémoire de magister. Université de Ouargla*, pp 15 – 17.
- [103] N. CHAOUCH ; (2001), Etude des Alcaloïdes dans le coloquinte colocynthis  
vulgaris (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya de Ouargla),  
*mémoire de magister; Université de Ouargla*, p 44
- [104] K. Randeraim; (1971), Chromatographie sur couche mince, éd. Augustins, 87-
- [105] I.F.F. Benzie, S J.J. Tain; (1996), the ferric reducing ability of plasma (FRAP)  
as a measure of antioxidant power, *ehe FRAP essay Anal Biochen* . 239, 70-76
- [106] J.F. Lesgerds; (2000), Contribution à l'étude du statut antioxydant de l'homme  
aspects chimiques et biochimiques, *thèse de doctorat Université d'Aix Marseille*.  
311.
- [107] Atta-Ur. Rahman, Khalid Bhatti M., Frazana Akhtar Er M.Iqbal  
Choudhary; (1992), *Phytochemistry*, 31(8), 2869-2872.
- [108] G. Massiot, P. Thepenier, M. Jose Jacquier, L. Olivier, C. Delaude; (1992),  
*Phytochemistry*, 31(8), 2873-2876

## Bibliographie

---

- [109] R. Ikan; (1978), Natural products A. laboratory guide, 1969, éd. Academic press, 178 – 203
- [110] L.R. Snyder; (1978), Chromatography, 150(1), 1 – 296
- [111] E. Stahl; (1975), Analyse chromatographique et microscopique des drogues, éd. Masson, 59-79
- [112] W. Brand Williams, C. Berset, M.E. Cuvelier; (1995), Use of free radical method to evaluate antioxidant activity lebens . Wissen. U. Tech, 28-28-30
- [113] BLOIS (1958). Détermination antioxydante de M.S. par l'utilisation d'un radical libre stable nature 181, pp1199-2000
- [114] Uchiyama, Suzuki. Y. Fukuzawa ; (1968), Etude biochimiques de K. de la fonction physiologique du tcopherolactome Yakgaku Zasshi, 88, pp 68 ,683



## *Résumé*

L'objet de ce travail est l'étude de quelques plantes médicinales du sud-est algérien utilisées fréquemment dans la médecine traditionnelle.

Le choix est porté sur trois plantes : *Pituranthos Scoparius*, *Rhantherium adpressum* et *Traganum nudatum*.

Concernant le *Pituranthos Scoparius* : l'objectif visé est de mettre en évidence l'effet saisonnier sur le contenu des huiles essentielles. Cette étude nous a permis de constater d'importantes fluctuations aussi bien qualitatives que quantitatives.

Concernant le *Rhantherium adpressum* : plante qui n'a pas été sujet d'études auparavant, 17 constituants formant l'huile volatile issue de la partie aérienne ont pu être identifiés dont la dominance est nettement en faveur des sesquiterpènes.

Concernant le *Traganum Nudatum* : cette plante n'a jamais fait l'objet d'études que ce soit chimiques ou biologiques en dépit de son large utilisation dans la médecine populaire saharienne. Pour cela, une étude concernant l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante des extraits aqueux des racines, tiges et feuilles a été entreprise. L'étude montre bel et bien que la plante présente un effet inhibiteur plus ou moins important sur la prolifération de quelques souches bactériennes ainsi que sur les radicaux libres.

**Mots clés :** *Pituranthos Scoparius*, *Rhantherium adpressum*, *Traganum nudatum*, huiles essentielles, extrait aqueux, activité antibactérienne, activité antioxydante.

## Summary

The present work was aimed to study some medicinal plants namely *Pituranthos scoparius*, *Rhantherium adpressum et Traganum nudatum*, growing in Algerian south-east and used frequently in the traditional medicine.

Concerning *Pituranthos scoparius*, the aim is to highlight the seasonal effect on the contents of essential oils. This study enabled us to note significant fluctuations both qualitative and quantitative.

Regarding *Rhantherium adpressum*: which has not subjected to any study so far, the GC-MS analysis of the essential oils afforded 17 volatile components dominated by sesquiterpenes.

Dealing with *Traganum Nudatum*, which in its turn has not been studied before in spite of its broad use in the Saharian popular medicine, a study concerning the antibacterial activity and the antioxidant activity of the aqueous extracts of the roots, stems and leaves was undertaken. The study shows indeed that the plant presents a more or less significant inhibiting effect on the proliferation of some bacterial strains and free radicals.

**Mots clés :** *Pituranthos Scoparius*, *Rhantherium adpressum*, *Traganum nudatum*, essential oils, aqueous extract, antibacterial activity, antioxidant activity.

## ملخص:

يهدف هذا العمل الى دراسة بعض النباتات الطبية التي تنمو في الجنوب الشرقي الجزائري و التي غالبا ما تستعمل في الطب التقليدي خاصة في هاتين المنطقتين.

وقد وقع الاختيار على النباتات: *Rhantherium adpressum*، *Pituranthos Scoparius* و *Traganum Nudatum*.

بالنسبة للنبتة الأولى *Pituranthos Scoparius* فإن الغرض الأساسي من العمل هو إظهار التأثير الفصلي على مكونات الزيوت الطيارة المستخلصة من النبتة. وقد بينت الدراسة بعض الفروقات الهامة، نوعيا و كميًا.

في ما يتعلق بالنبتة الثانية و التي لم يسبق دراستها من قبل، حسب ما توصلنا إليه، فإن الزيت المستخلص من الأجزاء العلوية للنبتة يحتوي على سبعة عشر مركبا فعالا وكانت النسبة الغالبة فيها عبارة عن مركبات سيسكويتربينية.

في ما يتعلق بالنبتة الثالثة : هذه النبتة أيضا لم يسبق دراستها من قبل سواء من الناحية الكيماوية أو البيولوجية فارتأينا أن نهتم بالجانب البيولوجي على اعتبارها كثيرة الاستعمال في الطب التقليدي للمنطقة. وكانت الدراسة مركزة بالأساس على النشاط المضاد للبكتيريا و التأكسد للمستخلصات المائية للجزور، السيقان و الأوراق بشكل منفصل. و بينت الدراسة بوضوح أن النبتة لها فعل مثبت مهم إلى حد ما على تكاثر عدد الخلايا الحية لبعض سلالات البكتيريا و على بعض الجذور الحرة.

## الكلمات المفتاحية:

*Traganum Nudatum* ، *Rhantherium adpressum*، *Pituranthos Scoparius*

Terpènes, sesquiterpènes، النباتات الطبية و القلويدات، الزيوت الطيارة، المحاليل المائية، النشاطية المضادة للبكتيريا، النشاطية المضادة للتأكسد.