

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

Université SAAD DAHLEB de blida 1

Faculté des sciences

Département de chimie

Spécialité chimie appliquée



Présenté par :

Bahi fatma Zohra & Aoussat Yousra & Boucetta Lamia

Intitulé du mémoire

**Contribution à l'étude expérimentale de l'effet synergétique sur le pouvoir
antioxydant des systèmes artificiels à base de composés naturels**

Soutenu le 14-07-2022 devant les jurys :

Mr. BELAFRIEKH.A	MCB	USDB1	PRESIDENT
Mr. CHAOUATI.N	MCB	USDB1	EXAMINATEUR
Mr. AIT YAHIA AHMED	MAA	USDB1	PROMOTEUR
Mme. ATI FELLA	MCB	USDB1	CO-PROMOTRICE
Mme. HAMZA KAHINA	MCB	USDB1	INVITE

2022

Remerciement

Avant tout, nous tenons à remercier dieu, tout puissant, à qui nous avons fait confiance depuis longtemps jusqu'à ce jour où il nous a donné la chance de mener bien notre mémoire de fin d'étude malgré les obstacles et les difficultés.

Nous remercions sincèrement monsieur **Ait Yahia** notre promoteur, et nous tenons à lui exprimer tout notre gratitude pour son aide précieux, pour sa disponibilité, ces conseils qui ont été un grand apport dans la concrétisation de ce travail et pour son extrême amabilité.

Nous remercions également **Mme Ati Fella** notre Co promotrice, pour sa présence continuelle à notre côté lors de la réalisation de notre mémoire

Mes sincères remerciements vont aussi aux membres de jury qui ont accepté de lire, d'évaluer ce travail et de bien vouloir nous accorder quelques instants de leurs précieux temps.

Un tout grand merci à **Mme Hamza Kahina** pour leur aide et leur gentillesse et ses conseils précieux, et ses encouragements toujours positifs.

De même, on remercie également l'ensemble de l'équipe du Laboratoire de pavions 5 de l'Université de Saad Dahleb Blida 1 qui nous a bien accueilli.

L'ensemble des enseignants de Département de chimie, faculté des sciences qui ont participé à notre formation universitaire méritent aussi nos remerciement les plus sincères.

Enfin, nos remerciements les plus chaleureux s'adressent à nos familles qui nous ont soutenus toute la longue vie et à nos chers amis pour le soutien indéfectible.

Dédicace

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes parents qui m'ont toujours encouragé et conseillé, tous les mots ne puissent exprimer mon amour et mon respect que dieu le tout puissant vous procure, santé et longue vie.

Aux joyeux de ma vie :

ma très chère **mère**, pour ses prières, ses encouragements et son soutien dans les différentes étapes de ma vie.

à l'homme de ma vie, la personne sans qui je ne serais pas là maintenant qui m'a toujours soutenu et m'as permis de continuer mes études dans les meilleures conditions, **père** merci d'être dans ma vie, pour vos conseils et merci pour votre amour.

mes parents merci pour votre confiance et votre présence je vous aime papa, mama.

A mes sœurs, **Amel, Amina, Mahdia** et mes deux frères **Mohamed, Mokhtar** Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A **Adem, Rayane, Racim, Zakaria** et **Ranim**, à mon cousin **Marouane** pour toute l'aide que vous m'avez apportée.

A tout ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour.

à mes amis **Khadîdja, Houda, Salima**, puisse dieu conserver notre amitié.

sans oublier mes binômes **Yousra, Lamia** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension et son sérieux afin de réussir dans ce travail, merci Pour tous ces beaux souvenirs avec vous.

Fatma Zohra (Nissa)

Et même si,
Ce tout petit mot de cinq lettres ne jamais suffit
Pour leur témoigner mon amour infini
Qui est sans doute loin d'être décrit
Je serais pour autant profiteuse de cette occasion
De ces moments qui ne seront jamais oubliés
Pour leur dire



A ma mère, tu es le bonheur que dieu m'a offert
A mon père, tu es très cher
A mes chères sœurs (Sanaa et Yasmine) et mon frère (Aymen)
A Yasmine qui m'a inspiré la beauté de l'amitié
A mes binômes (Anissa et Youssra) pour leur sérieux et leur encouragement afin de réussir dans
ce travail.
A Salima chère amie
A ma chère cousine Meriem Vous m'avez toujours écouté attentivement et aidé inlassablement
À tous ceux qui en défilant cette page espèrent trouver leurs noms
Je ne vous ai pas oubliés
Vous êtes tous dans mon cœur

Merci

Lamia

*Je commence par rendre grâce à dieu et sa bonté, pour la patience, la compétence et le courage qu'il m'a donné pour arriver à ce stade.

Avec tout mon amour éternel et avec l'intensité de mes émotions, j'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail :

*A ma très chère mère « **Sihem** » tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de la tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études... Merci maman.

*A mon très cher père « **Toufik** » rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation ... merci papa.

Avec toute ma fidélité et tout mon amour pour vous mes parents, je ne pourrai jamais égaler votre mérite. Qu'Allah vous garde et vous protège.

*A ma sœur chérie « **Feriel** » mon âme sœur, ma moitié, ta présence illumine ma vie jour après jour, merci pour ta présence à mes côtés et pour ton encouragement qui m'a énormément servi, que dieu te garde pour moi.

*A ma petite tés belle-sœur « **Nafissa** » et mon très cher frère unique « **Alaedine** » pour leur soutien moral, leur présence à tout moment à mes côtés.

*A ma grand-mère, qui m'a accompagné par ses prières, que Dieu te garde pour moi.

*A mon cher fiancé « **Abdelkrim** » pour son amour, son soutien, sa compréhension et son encouragement pendant toute la durée de ce travail.

Sans oublier mes binômes « **Lamia** » et « **Anissa** » qui sont partagées avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail, merci pour votre sympathie et tous les moments agréables que nous avons passés ensemble.

« **Yousra** »

Résumé

L'objectifs de notre travail est l'étude de l'effet synergique sur l'activité antioxydante du thymol avec quelques composé volatils : l'eugénol, eugényl acétate, limonène, camphor, camphene, p-cymene, 2-naphtol, menthol.

L'activité antioxydante a été teste par la méthode du piégeage du radicale libre DPPH. Les résultats de l'activité des composés purs ont montré qu'elle varie selon la structure des composés testés. Les produits phénoliques et aromatiques présentent la meilleure activité.

La combinaison de ces composés avec le thymol a donné un effet synergique qui varie selon le rapport des deux composés et selon l'activité initiale du composé 2.

Un effet antagonisme est obtenu dans le cas du limonène avec le thymol a un rapport thymol/limonène 25/75.

Mot clés : activité antioxydante, synergie, DPPH, composé volatil, EC₅₀

Abstract:

The objectives of our work are the study of the synergistic effect on the antioxidant activity of thymol with some volatile compounds: eugenol, eugenyl acetate, limonene, camphor, camphene, p-cymene, 2-naphthol, menthol.

The antioxidant activity was tested by the DPPH free radical scavenging method. The results of the activity of the pure compounds showed that it varies according to the structure of the compounds tested. Phenolics and aromatics show the best activity.

The combination of these compounds with thymol gave a synergistic effect which varies according to the ratio of the two compounds and according to the initial activity of compound 2

An antagonist effect is obtained in the case of limonene with thymol at a thymol/limonene ratio 25/75

Keywords: antioxidant activity, synergy, DPPH, volatile compound, EC50.

ملخص

الهدف من عملنا هو دراسة الفعل التازري على الفعالية المضادة للأكسدة للتيمول مع بعض المركبات المتطايرة:

الاجينول , الاوجينيل اسيتات , الليمونين , الكامفور , الكامفين, الباراسيمان , 2-خافنول , المنتول .

تم اختبار الفعالية المضادة للأكسدة بواسطة طريقة تفخيخ الجذور الحرة DPPH, و أظهرت نتائج نشاط المركبات النقية أنها تختلف باختلاف بنية المركبات المختبرة , تظهر الفينولات و العطريات أفضل نشاط .

أعطى الجمع بين هذه المركبات مع التيمول تأثيرا تازريا يختلف وفقا لنسبة المركبين ووفقا للنشاط الأولي للمركب2.

يتم الحصول على التأثير التازري السلبي في حالة الليمونيين مع التيمول بنسبة تيمول/ليمونين 75/25.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للأكسدة , التآزر , DPPH, المركب المتطاير, EC50

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Sommaire

Liste des abréviations

listes des figures

Listes des tableaux

Introduction générale	1
Partie bibliographique	2
Chapitre I : Activité antioxydante	3
I.Radicaux libres :.....	4
I.1 Introduction :.....	4
I.2 Définition :.....	4
I.3 Types des radicaux libres :.....	5
I.3.1 Espèces réactives de l’oxygène les ERO :	5
I.3.2 Espèces réactive de l’azote ERA :	6
I.4 Source de production des radicaux libres :	6
I.5 Stress oxydatif :	7
I.6 Dommages causés par les radicaux libres :.....	8
I.6.1 Acide désoxyribonucléique ou ADN :.....	8
I.6.2 Protéine :	8
I.6.3 Lipides :.....	9
I.7 Antioxydants :.....	9
I.7.1 Définition :.....	9
I.7.2 Classification des antioxydants :.....	9
I.7.2.1 Antioxydants de synthèses :.....	10
I.7.2.2 Antioxydants naturels :.....	11
I.8 Méthodes d’évaluation des propriétés antioxydantes :	12
I.8.1 Méthode du piégeage du radical libre DPPH :	12
Chapitre II :Les huiles essentielles	14
II.Huiles essentielles :.....	15

Sommaire

II.1	Définition :.....	15
II.2	Composition chimique des huiles essentielles :.....	15
II.2.1	Composés terpéniques :.....	15
II.2.2	Monoterpènes :.....	16
II.2.3	Sesquiterpènes :.....	16
II.2.4	Composés d'origines diverses	16
II.2.5	Composé aromatique dérivé de la phénylpropane :.....	17
II.3	Domaine d'application des huiles essentielles.....	17
II.4	Notion de chemotype :.....	17
II.5	Activité antioxydante :	18
Chapitre 3 : Préambule sur la synergie.....		19
III.	Introduction	20
III.1	Synthèse bibliographique sur la synergie :.....	20
Partie expérimentale		23
Matériels et méthode.....		24
IV.	Introduction :.....	25
IV.1	Lieux d'expérimentation :.....	25
IV.2	Appareillage et produits :.....	25
IV.2.1	Appareils :.....	25
IV.2.2	Produits chimiques :.....	25
IV.3	Méthodes :	27
IV.3.1	L'étude expérimentale Activité antioxydante des composés volatils purs :.....	27
IV.3.2	Préparation des solutions mères et filles :.....	27
IV.3.3	Activité antioxydante des mélanges binaires :.....	32
RESULTATS ET DISCUSSIONS		35
V.	Introduction :	36
V.1	Etude de l'activité antioxydante des composés purs :.....	36
V.2	Effets synergiques des composés étudiés :.....	39
Conclusion.....		46
Références bibliographiques :		47

Liste des abréviations

μmol : micromole.

ABS : Absorbance.

ABTS : (2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate).

ADN : acide désoxyribonucléique.

BHA : butylated hydroxyanisole.

BHT : butylated hydroxytoluene.

C : concentration.

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl.

EC50 : Effective concentration.

ERA : Espèces réactives de l'azote.

ERO Espèce réactives de l'oxygène.

FRAP : capacités reductrices ferriques d'antioxydants.

mg : Milligramme.

ml : Millilitre.

moy: moyenne.

NO : l'oxyde nitrique radicalaire.

ONOO : l'anion peroxy nitrite.

ORAC : capacités d'absorbance du radicale de l'oxygène.

OS : stress oxydatif.

S : somme.

TBHQ : tert-butyl hydroquinone.

TEAC : Capacité antioxydante équivalente de Trolox.

Vp : Volume prélevé, : Volume prélevé

μl : Microlitre

listes des figures

Figure 1. structure chimique de triphénylméthyle.....	4
Figure 2. Les principales espèces réactive de l'oxygène	6
Figure 3. Origines et cibles des principaux espèces réactives oxygénés et azotés.....	7
Figure 4. La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants.	8
Figure 5. Structure chimique de BHT.	10
Figure 6. structure chimique des isomère I et II.....	10
Figure 7. structure chimique de TBHQ.	11
Figure 8. structure chimique de gallate de propyle.	11
Figure 9. Réaction du DPPH' avec un antioxydant	13
Figure 10. Structure chimique de l'isoprène.	16
Figure 11. Schématisation du protocole expérimental de la méthode DPPH.	28
Figure 12. Valeurs des EC50 des composés étudiés purs	38
Figure 13. Histogramme comparative des valeurs d'EC50 en $\mu\text{mol/ml}$	43

Listes des tableaux

Tableau 1: Classes chimiques, structures, formules brutes et masses molaires des composés étudiés.....	26
Tableau 2: concentration de la solution mère, volumes prélevé et concentrations des échantillons testées pour chaque composé.	29
Tableau 3: Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel thymol et Eugenyl acetate 50/50 %.	32
Tableau 4: Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel thymol et Eugenyl acetate 75/25 %	33
Tableau 5: Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel thymol et Eugenyl acetate (25-75) %.....	33
Tableau 6: Activité antioxydante, EC50 et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active pur ; thymol.	37
Tableau 7: Activité antioxydante, EC50 et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/Eugenyl acetate » à 50/50%.	39
Tableau 8: Valeurs des EC50 des composés purs et des mélanges binaires testés. Ainsi que le volume qui donne 50% d'activité VEC50 et les concentrations C1 du thymol et C2 du composé 2 à la même activité pour des rapports thymol / composé2 égale à 75/25 ; 50/50 ; 25/75.	40
Tableau 9: Valeurs des EC50 en $\mu\text{mol/ml}$ des composés purs et la concentration des composés purs dans les mélanges binaires à cette concentration pour des rapports 50/50 ; 75/25, 25/75.	41
Tableau 10: Valeurs des EC50 en $\mu\text{mol/ml}$ des pseudo-composés et les sommes des EC50 des composés purs pour des rapports 50/50 ; 75/25, 25/75.	42

Introduction

Introduction générale

Une substance bioactive est une entité matérielle qui, mis en contact avec de la matière vivante entraîne une réaction de celle-ci. Cette réaction peut être bénéfique ou délétère pour cet organisme vivant. Seulement, les molécules les plus intéressantes présentent quelques inconvénients tel que la faible concentration de leur toxicité, il cause aussi des inflammations, leur faible disponibilité. Il serait alors, intéressant de les associer avec d'autres molécules moins toxiques et moins coûteuses pour éviter ces problèmes. Ces mélanges par synergie devraient donner aussi de meilleures activités

Dans ce contexte nous allons étudier l'effet synergique de huit composés avec le thymol sur l'activité antioxydante. Les composés qui seront testés sont issus communément dans les huiles essentielles. Le test de l'activité antioxydante qui sera utilisé est celui de la mesure du piégeage du radical libre DPPH.

Notre travail comporte deux parties :

La première partie sera réservée à la recherche théorique. Il sera composé de trois chapitres :

Chapitre 1 : contiendra des rappels et généralités sur les radicaux libres, antioxydants, activité antioxydante et les méthodes d'évaluation des propriétés anti-radicalaires.

Chapitre 2 : présentent des généralités et définition de huiles essentielles leur composition chimique, domaine d'applications, notion de chémotype, activité antioxydante d'huiles essentielles.

Chapitre 3 : comporte *Préambule sur la synergie*.

La deuxième partie est dédiée aux résultats obtenus suivie de leurs discussions, et nous terminons par une conclusion générale.

Partie bibliographique

Chapitre I :

Activité antioxydante

I. Radicaux libres :

I.1 Introduction :

Un radical libre est une espèce chimique qui possède un électron non apparié sur sa couche externe. Ceci les rend extrêmement réactives. Les antioxydants sont des substances capables d'éliminer ces radicaux libres. Quand ces derniers, sont produits en grande quantité par rapport aux antioxydants, ils engendrent des problèmes de santé[1].

Les radicaux libres seraient à l'origine de plusieurs pathologies parmi lesquelles nous pouvons citer les arthroses, l'asthme, le cancer, le diabète, les maladies cardiaques et l'athérosclérose [2].

I.2 Définition :

Le premier radical décrit est le radical triphénylméthyle voir la figure 1 ci-dessous.

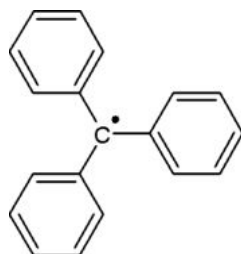


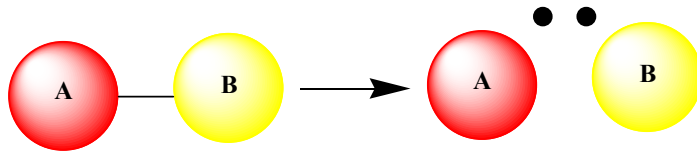
Figure 1. structure chimique de triphénylméthyle.

Cela a été souligné par Gomberg dans sa tentative en 1900 pour synthétiser l'hexaphénylthane à partir de chlorure de triphénylméthyle et de zinc [3].

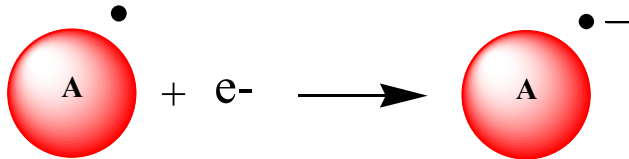
Un radical libre est un atome ou une molécule incluant un ou plusieurs électrons solitaires dans sa couche externe [4]. et capable d'exister à l'état libre, ceci le rend très réactif. En effet, ce radical a toujours tendance à capturer des électrons pour remplir son orbitale de valence, et passer ainsi à un état plus stable : il va donc se réduire en oxydant un autre composé (système redox) [5].

Généralement un radical libre se forme comme suit [6] :

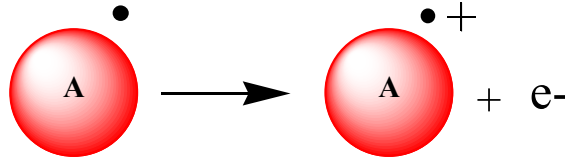
- Par scission homogène des liaisons moléculaires covalentes normales.



- Par dismutation
 - Réduction monoélectronique (Gain d'électron par la molécule)



- Oxydation monoélectronique (Perte d'électron par les molécules)



I.3 Types des radicaux libres :

Les RL peuvent être dérivés de l'oxygène (espèces réactives de l'oxygène ERO) ou d'autres atomes tels que l'azote (espèces réactives d'azote ERA)[7].

I.3.1 Espèces réactives de l'oxygène les ERO :

Parmi les différents types de radicaux libres, les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont les radicaux libres les plus abondants. Ces radicaux libres comprennent le radical hydroxyle (OH^\bullet), le radical peroxy (RO_2^\bullet), le radical alkyle (RO^\bullet), le radical perhydroxyle HO_2^\bullet et les radicaux libres générés par réduction monoélectronique de l'oxygène, tel que l'anion superoxyde ($\text{O}_2^{\bullet-}$). Parmi ces ERO les radicaux $\text{O}_2^{\bullet-}$ et OH^\bullet sont considérés comme les plus réactifs [8]. Il existe également certains dérivés non radicalaires, oxydants réactifs, qui représentent une source de toxicité importante, comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le peroxynitrite (ONOO^-)[9]. La figure 2 ci-dessous illustre la chimie de production des différentes espèces réactive de l'oxygène.

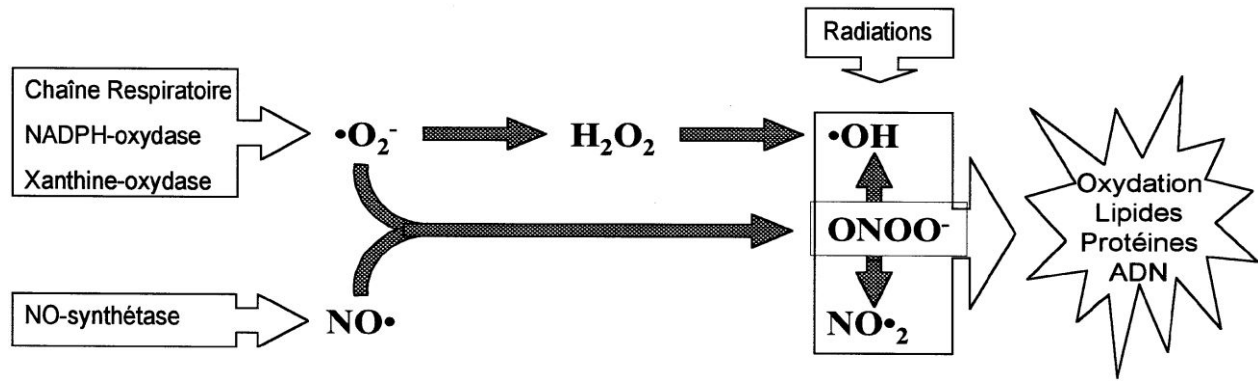


Figure 3. Origines et cibles des principales espèces réactives oxygénées et azotées [9].

1.5 Stress oxydatif :

Le stress oxydatif 'OS' est un environnement transcellulaire anormal et multifactoriel défini par un déséquilibre entre les états antioxydants et pro-oxydants. Elle est le résultat d'une production endogène excessive de RL [6].

Les ERO sont présentes dans les cellules à des doses raisonnables : leur concentration est régulée par l'équilibre entre la vitesse à laquelle elles sont produites et la vitesse à laquelle elles sont éliminées par le système antioxydant. Ainsi, au repos, la balance antioxydant /pro-oxydant (balance redox) est considérée comme étant en équilibre. Cependant, cette homéostasie redox peut être perturbée par une surproduction d'ERO (comme dans le cas de l'obésité et chez les fumeurs). Ce déséquilibre peut être induit de manière régulatrice en activant les systèmes producteurs d'ERO. La réponse antioxydante compense alors efficacement cette production, et ce déséquilibre est temporaire en revanche, dans certaines pathologies (cancer), la production de ERO est plus importante et plus longue, et la réponse antioxydante est insuffisante. Ce déséquilibre est permanent. Cette perturbation de l'homéostasie redox peut avoir plusieurs causes : stress exogène (facteur environnementaux pro-oxydants), intoxication aux métaux lourds, radiations, carences en antioxydants apportés par l'alimentation, ou anomalies génétiques [13]. La figure 4 schématise la balance d'équilibre entre les systèmes pros et antioxydants.

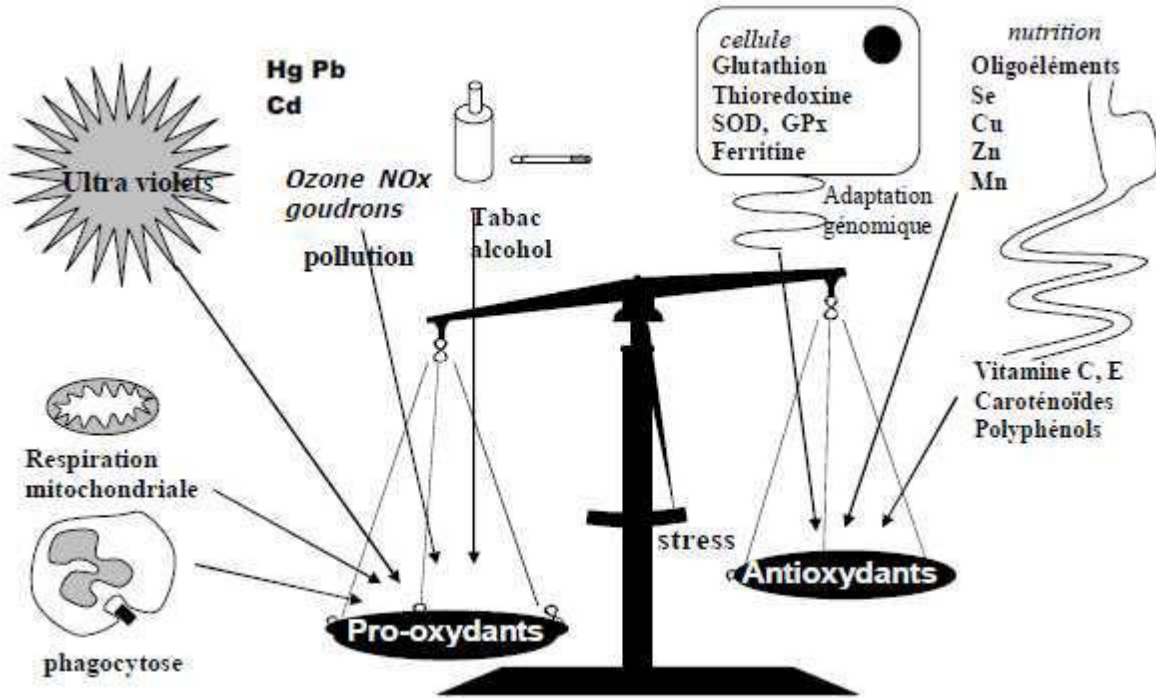


Figure 4. La balance d'équilibre entre les systèmes pro et antioxydants [7].

I.6 Dommages causés par les radicaux libres :

La surproduction de radicaux libres endommage directement différentes biomolécules, à savoir l'ADN, les protéines et les lipides l'ADN est très vulnérable aux attaques des radicaux libres et souffre donc de divers dommages oxydatifs[14].

I.6.1 Acide désoxyribonucléique ou ADN :

Bien que l'ADN soit la mémoire de tous les composants biochimiques des êtres vivants, c'est une molécule très sensible aux attaques par les ERO, ceci induit la formation de nombreux dérivés par addition, oxydation ou fragmentation, comme les radicaux hydroxyles qui réagissent avec les bases en s'ajoutant sur les doubles liaisons de l'ADN [15].

I.6.2 Protéine :

Les protéines peuvent être ciblées et modifiées par des radicaux libres, tels que les ERO et ERN, et subissent des réactions oxydatives. Ces réactions d'oxydation sont souvent influencées par des cations métalliques tels que le cuivre et le fer. Les protéines affectées sont fragmentées ou

dénaturées à mesure que leurs structures primaire et secondaire changent. L'oxydation des chaînes latérales d'acides aminés, en particulier dans le cas de la cystéine, implique la formation de liaisons disulfures [7].

I.6.3 Lipides :

La peroxydation lipidique des membranes lipidique causée par le stress oxydatif peut être très dommageable car, elle altère la biologie membranaire comme le degré de fluidité, et peut affecter la fonction normale des cellules en augmentant leur perméabilité [7].

I.7 Antioxydants :

I.7.1 Définition :

En général, un antioxydant est une substance qui retarde et prévient les dommages oxydatifs aux molécules cibles [16]. Ils inhibent (antioxydants primaires) ou ralentissent l'oxydation des substrats (antioxydants secondaires)[17].

Les antioxydants sont définis comme des substances ajoutées, à faible dose, à des produits naturellement oxydables dans l'air, pour ralentir ou inhiber le phénomène de leur oxydation. Cette définition peut être élargie afin que, le terme "antioxydant" englobe toutes les substances qui protègent les systèmes biologiques des effets potentiellement nocifs, c'est-à-dire des processus ou des réactions qui conduisent à une oxydation excessive. Ainsi, un antioxydant est une molécule qui ralentit ou empêche l'oxydation d'autres produits chimiques avec lesquels elle entre en contact [18].

Les antioxydants peuvent être des enzymes ou des molécule simples. Certains sont produits par l'organisme, ce sont des antioxydants endogènes, ou proviennent de l'alimentation et sont exogènes[19].

I.7.2 Classification des antioxydants :

La classification de tous les antioxydants connus est difficile, ils sont généralement classés selon leur mécanisme d'action ou leurs propriétés chimiques.

I.7.2.1 Antioxydants de synthèses :

Il existe de nombreux antioxydants synthétiques dont les squelettes sont généralement dérivés d'antioxydants naturels[20]. Les antioxydants synthétiques ont montré une très bonne efficacité en prévention et en traitement, et ils sont largement utilisés dans l'alimentation pour enrichir l'apport en nutriments [21].

Les plus connus sont les antioxydants phénoliques tels que :

- Le BHT (c) ou 2,6-di-tert-butyl-4-méthoxyphénol. C'est un Antioxydant utilisé comme conservateur dans l'industrie alimentaire.

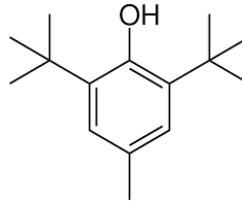


Figure 5. Structure chimique de BHT.

- Le BHA (butylated hydroxyanisole) également utilisé dans domaine alimentaire comme conservateur. Il possède deux isomères : le 3-tert-butyl-4-méthoxyphénol (I) et le 2-tert-butyl-4-méthoxyphénol (II). L'isomère II a une activité antioxydante plus élevée que l'isomère I [22].

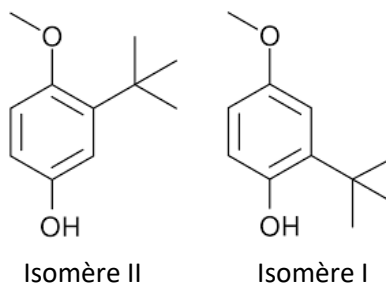


Figure 6. structure chimique des isomère I et II.

- Le TBHQ (tert-butyl hydroquinone) ou 2-(1,1-Diméthylethyl) -1,4-benzenediol comme pour les deux antioxydants il est utilisé comme conservateur alimentaire

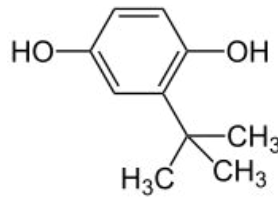


Figure 7. structure chimique de TBHQ.

- les esters d'acide gallique, dont le plus connu est le **gallate de propyle** [16].

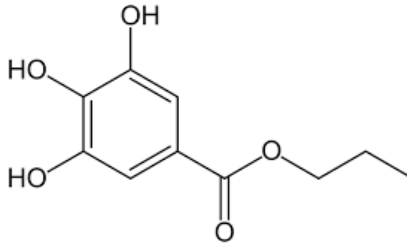


Figure 8. structure chimique de gallate de propyle.

Cependant, il a été montré que ces antioxydants synthétiques peuvent être toxiques, en effet, le BHA transforme certains produits ingérés en substances toxiques ou cancérigènes, ce qui augmente la sécrétion d'enzymes microsomaux dans le foie et les organes extra hépatiques. Le BHT est cancérigène chez le rat [18].

1.7.2.2 Antioxydants naturels :

Ils sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Ce sont essentiellement des composés phénoliques : flavonoïdes, xanthones, coumarines, caroténoïdes, dérivés d'acides phénoliques, tanins, anthocyanes... [23,24].

Et aussi, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, la vitamine c ...

- **Vitamine C**

L'acide ascorbique, ou vitamine C, est considéré comme l'antioxydant le plus important dans le liquide extracellulaire. C'est un piègeur très efficace des ions superoxydes O_2^- , du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 et des radicaux hydroxyles HO^\bullet .

L'effet antioxydant de la vitamine C repose sur sa réaction avec les radicaux peroxydes aqueux, ce qui forme des radicaux d'acide ascorbique avant d'initier la peroxydation des lipides. Par conséquent, la vitamine C peut protéger les biofilms et les lipoprotéines [18].

I.8 Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes :

Il existe plusieurs méthodes de mesure de l'activité antioxydante, nommées d'après la substance utilisée comme source de radicaux libres, par exemple [25,26,27]:

- La méthode du piégeage du radical libre DPPH^{*} (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) (Brand-Williams et al., 1995).
- La méthode d'ORAC (Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène) (Cao et al.,1993).
- La méthode FRAP (Capacités réductrices ferriques d'antioxydants) (Benzie et Strain,1996)
- La méthode d'ABTS (2,2-azinobis (3-éthyle-benzothiazoline-6-sulphonate) ou TEAC (Capacité antioxydante équivalente de Trolox) (Miller et al., 1993).
- La méthode de blanchissement de la β -carotène (Sun et Ho, 2005).

I.8.1 Méthode du piégeage du radical libre DPPH :

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH^{*}) est généralement le substrat le plus largement utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante, en raison de la stabilité de sa forme radicalaire et de la simplicité de la méthode d'analyse.

Avec un maximum d'absorption vers 515-520 nm (violet). En présence d'antioxydants, la réduction du DPPH^{*} (transfert d'hydrogène du phénol ou de C-H vers les radicaux libres) peut être facilement suivie par spectroscopie UV-vis [28].

En règle générale, peu de résultats cinétiques sont rapportés, mais la réponse principale discutée dans ce test est le paramètre EC₅₀ correspondant à la quantité d'antioxydants nécessaire et effectif pour neutraliser 50% de la quantité initiale de radicaux libres.

La popularité de ce test est attribuée à sa facilité d'utilisation, sa rapidité d'analyse, sa bonne sensibilité associée à une forte absorption des radicaux libres DPPH^{*}. Cependant, les données générées par cette procédure doivent être considérées avec beaucoup de prudence, car ce test dépend fortement du solvant et de l'encombrement stérique du composé [29].

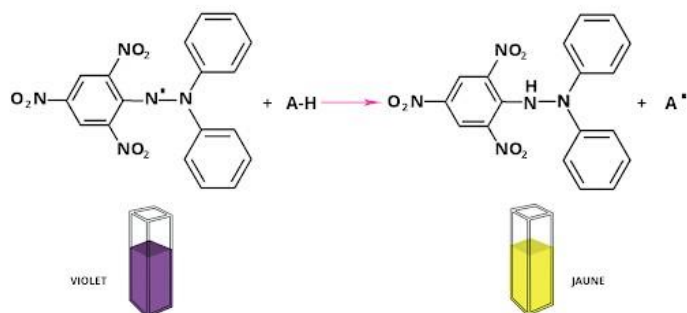


Figure 9.Réaction du DPPH[•] avec un antioxydant [28].

Chapitre II :

Les huiles essentielles

II. Huiles essentielles :

II.1 Définition :

Les huiles essentielles, souvent appelées "essences", sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils sécrétés par les plantes aromatiques. C'est un produit aromatique obtenu à partir des matières premières végétales botaniquement définies par distillation à la vapeur ou distillation sèche ou par des procédés mécaniques appropriés sans chauffage [30]. Leur propriétés antiseptique, antioxydante et anti-inflammatoire ont généré une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie [31].

II.2 Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composants variables, ces derniers déterminent leurs propriétés biologiques et forment deux ensembles distincts de sources biosynthétique [31].

II.2.1 Composés terpéniques :

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels à structure cyclique ou à chaîne ouverte. Leur caractéristique structurelle la plus importante est la présence d'une unité isoprène (C_5H_8), avec 5 atomes de carbone dans leur squelette [32].

Ils ont été isolés d'organismes vivants, principalement des plantes. Sur la base des unités C_5 , nous pouvons classer les terpénoïdes en C_5 : (héli terpènes), C_{10} : (monoterpènes), C_{15} : (sesquiterpènes), C_{20} : (diterpènes), C_{25} : (sesterpènes), C_{30} : (triterpènes), C_{40} : (tétrapènes), plus que C_{40} (poly terpènes) [33].

- Monoterpènes formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$)
- Sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$)
- Diterpènes, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$)
- Tétra terpènes, huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes
- Poly terpènes (C_5H_8) $_n$ ou n peut-être de 9 à 30 [32].

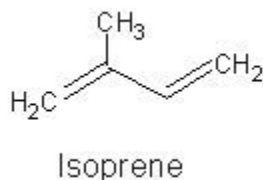


Figure 10. Structure chimique de l'isoprène [34].

II.2.2 Monoterpènes :

Les monoterpènes sont les composants les plus simples des terpènes, dont la plupart sont présent dans les huiles essentielles (90%) [35].

Ils correspondent le plus souvent à la formule moléculaire $C_{10}H_{16}$, correspondant aux trois possibilités suivantes :

1. Monoterpènes acycliques (myrcènes, ocimènes...).
2. Monoterpènes monocycliques (limonene, alpha- et gamma-terpinène, p-cymène...).
3. Monoterpènes bicycliques (α -pinène, sabinène, camphène...).

Selon bruneton (1999), la réactivité du cation intermédiaire justifie l'existence de nombreuses molécules aux fonctions différentes : alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes et phénols [34].

II.2.3 Sesquiterpènes :

Ils renferment trois unités isoprène dans leur formule moléculaire brute $C_{15}H_{24}$. Ils présentent de multiples structures, conduisant à un grand nombre de possibilités ; monocycliques (humuleine, α -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, Artéanuuni B, artémisinine). Ils renferment aussi des fonctions comme les alcools (farnésol, carotol, β -santalol, patchoulal), cétones (nootkatone, cis-longipinane-2.7-dione, β -vétivone), aldéhydes (sinensals), esters (acétate de cédryle) [34].

II.2.4 Composés d'origines diverses

Des composés aliphatiques, généralement de faible poids moléculaire, peuvent être entraînés lors de l'hydrodistillation [35].

Ce sont des produits de conversion de molécules non volatiles qui peuvent être entraînées par la vapeur d'eau. Ce sont des composés qui résultent de la dégradation des acides gras et des terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister, mais sont rares.

II.2.5 Composé aromatique dérivé de la phénylpropane :

Ils sont moins abondants que les composés terpéniques, qui sont des hydrocarbures aromatiques produits par une voie métabolique secondaires appelée acide shikimique. Eux-mêmes intermédiaires dans la synthèse de la lignine à partir du phénylpropane, qui sont généralement des Allyphénols et parfois des aldéhydes (l'eugénol). Vanilline, anéthol, estragol.... Ils sont plus fréquents dans les HE d'apiaceae [36].

II.3 Domaine d'application des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont de nombreuses applications. Ainsi, pour leur goût et leurs odeurs, elles sont très exploitées dans l'industrie des produits naturels et des parfums. Elles présentent certaines propriétés thérapeutiques et utilisation en aromathérapie. elles sont utilisées dans les secteurs de la cosmétologie, de produits de toilette, produits d'entretien, agroalimentaire, produits parapharmaceutiques et produits d'intérieur [34].

II.4 Notion de chémotype :

La notion de chémotype (chemotype ou composition chimique) est une notion clé en aromathérapie. Terme utilisé pour la première fois par Dr R.Santesson et son fils en 1968, les chémotypes ont ensuite été définis comme "des groupes d'individus chimiquement définis dans des groupes d'individus morphologiquement indiscernables"[37].

Le chémotype de l'HE est une référence précise indiquant les composants biochimiques majeurs ou uniques présents dans l'HE. C'est l'élément qui différencie les HE extraites d'une même espèce végétale mais avec des compositions biochimiques différentes. Cette classification permet de sélectionner des HE plus précises, plus sûres et plus efficaces à utiliser. Ce polymorphisme chimique est présent chez certaines espèces : thym, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare*. Notamment, les HE avec différents chémotypes présentent non seulement des activités différentes, mais ont également une toxicité très variable [32].

II.5 Activité antioxydante :

La recherche d'antioxydants naturels aux avantages non toxiques a conduit à de nombreuses études sur le potentiel antioxydant des HE [30].

L'activité antioxydante de l'HE est due à la capacité inhérente de certains de ses constituants (en particulier les phénols) à empêcher ou à retarder l'oxydation aérobie des matières organiques, bien que le processus d'extraction de l'huile de la matière première (distillation) limite les composés phénoliques dans la phase finale. Car, nombre de ces composés ne sont pas volatils. Cependant, il existe des HE non phénoliques qui présentent un comportement antioxydant en raison de la chimie des radicaux libres de certains terpénoïdes et d'autres composants volatils (par exemple, les composants soufrés de l'ail, tels que les sulfures d'allyle) [30]. Parmi les huiles essentielles possédant une forte activité antiradicalaire on peut citer : *Ammoides verticillata*, *Thymus vulgaris* etc... [38]

Chapitre 3 :

Préambule sur la synergie

III. Introduction

Selon la littérature, le terme synergie signifie "travailler ensemble" en ce sens que l'effet total du mélange dépasse la somme des effets des composés individuels. L'additivité signifie "travailler l'un plus l'autre" en ce sens que l'effet total du mélange n'est que la somme des effets des composés individuels. L'antagonisme signifie "travailler l'un contre l'autre".

Généralement, les études développées se proposent de mettre en œuvre les huiles essentielles, les fractions lipidiques, aides gras et monoglycérides intervenant ensemble pour jouer un rôle en synergie ou non, par des approches de structure - activité. Ainsi, il est apparu intéressant à étudier les propriétés biologiques (exp : antioxydante) des huiles essentielles, de leurs constituants à l'état pur et des combinaisons de ces derniers.

Ce qui a poussé plusieurs chercheurs à réaliser différentes études, pour une approche des effets en synergie.

III.1 Synthèse bibliographique sur la synergie :

L'étude de la synergie d'une part, entre les huiles essentielles de quelques plantes médicinales, reconnu potentiellement douer d'activité antioxydante, et d'autre part, des mélanges huile essentielle/composé synthétique a été menée par K. Sharma et col (2020) [39]. En utilisant la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH Cette étude a montré à la fois, un renforcement des activités antioxydantes des composés synthétiques et, une réduction significative de leurs doses actives dues à la synergie. Enfin, ils ont conclu que les interactions synergétiques entre différentes huiles essentielles peuvent diminuer leurs effets organoleptiques négatifs en les rendant efficaces même à doses plus faibles.

Jian Ju et col (2020) [40] ont pu démontrer, d'après l'analyse du mécanisme synergétique antifongique du système binaire eugénol/citral sur *Penicillium roqueforti*, que cette combinaison présente des propriétés bactériostatiques puissantes. Ainsi, l'eugénol seul était responsable de l'augmentation de la perméabilité des membranes cellulaires de *P. Roqueforti* endommagées, alors que, le citral cause principalement la peroxydation lipidique des membranes. Dans le cas de

leur combinaison l'intégrité des membranes cellulaires a été complètement détruite, entraînant la mort des cellules. Ceci confère à ce mélange un grand potentiel comme conservateur naturel.

Dans leurs travaux sur le potentiel antioxydant, des huiles essentielles de 24 génotypes du basilic, H. G. S. de Araújo Couto et col (2019) [41] ont étudié différentes combinaisons des principaux composés trouvés dans les huiles essentielles. Ils ont conclu que, l'activité antioxydante de ces huiles essentielles ne peut s'expliquer uniquement par la présence des composés majeurs. Ainsi, malgré l'influence de l'eugénol, l'activité antioxydante est également liée à la synergie entre d'autres composés mineurs présents dans l'huile essentielle. Ce fait confère une puissante activité antioxydante à certaines huiles essentielles de basilic.

Le travail mené par M. Llana-Ruiz-Cabello et col (2015) [42] présente une large évaluation des profils pro-oxydants et antioxydants du carvacrol, du thymol et de leur mélange sur la lignée cellulaire Caco-2. Ils ont pu montrer qu'à des concentrations élevées, le carvacrol et son mélange avec le thymol induit un stress oxydatif, Toutefois, à de faibles concentrations, toutes les expositions analysées ont présenté un rôle protecteur contre un stress oxydatif induit.

M. Milos et col (2012) [43] ont étudié la synergie et l'antagonisme antioxydant entre le thymol, carvacrol, thymoquinone et p-cymène dans un système-modèle. Ils se sont basés, dans le choix des composés étudiés, sur le fait que, ces derniers font partie des constituants de différentes huiles essentielles possédants une importante activité antioxydante. Les résultats de ce travail indiquent que, la majorité des mélanges d'antioxydants présentent un certain niveau de divergence en capacité antioxydante par rapport aux valeurs individuelles de leurs constituants. Le seul effet antagoniste trouvé correspond au système-modèle thymoquinone -p-cymène. Toutefois, malgré l'ajout, en premier, d'un troisième composé au système précédent, et par la suite d'un quatrième composé, Mladen Milos et son équipe ont constaté une diminution de la capacité antioxydante, indiquant et confirmant que l'effet antagoniste entre la thymoquinone et le p-cymène l'emporte sur l'effet synergique des autres paires.

T-B Yen et col (2008) [44] ont mis en évidence, l'effet synergétique du système binaire cinnamaldéhyde/eugénol contre les champignons de la pourriture du bois. Ce système présente aussi d'excellentes propriétés antifongiques contre le *Laetiporus sulphureus*.

Dans leur étude sûre, les interactions synergétiques entre différents antioxydants, utilisés comme conservateurs alimentaires, Frank et col (2006) [45] ont prouvé que, les antioxydants naturels ou synthétiques, utilisés dans la conservation alimentaire, peuvent interagir entre eux, ce qui se traduit par une synergie additive ou antagoniste. Tels que, les combinaisons entre les vitamines (vit C et/ou vit E) et les antioxydants phyto-chimiques (polyphénol et caroténoïde). Aussi, le mélange des acides phénoliques (exp : acide rosmarinique) avec l' α -tocophérol présente une forte interaction synergétique.

De ce fait, Il paraît clair que, les résultats de la synergie des combinaisons entre les antioxydants naturels étaient très prometteurs et devraient être pris très au sérieux par les chercheurs.

*Partie
expérimentale*

Matériels et méthode

IV. Introduction :

L'étude développée dans ce mémoire se propose de mettre en œuvre des mélanges binaires de composés volatiles purs et d'estimer leurs rôles en synergie, par des approches de structure - activité

Ainsi, deux étapes visant à évaluer les effets de synergie des composés purs dans les mélanges binaires formulés, et nommés systèmes artificiels, sont entreprises. La première étape vise à préparer et à tester séparément les différents composés purs afin d'identifier les paramètres structuraux qui gouvernent le pouvoir anti-radicalaire de ces derniers. La seconde consiste à préparer des systèmes artificiels binaires à partir des solutions de composés purs afin de montrer le synergisme ou l'antagonisme de leur activité antioxydante.

Ces systèmes artificiels sont préparés par le mélange de composés purs avec le thymol à des concentrations fixes. L'activité antioxydante est mesurée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

IV.1 Lieux d'expérimentation :

Notre travail expérimental a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique du département de chimie, faculté des sciences, université Saad Dahleb Blida.

IV.2 Appareillage et produits :

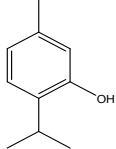
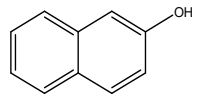
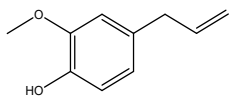
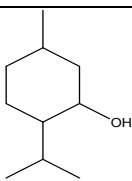
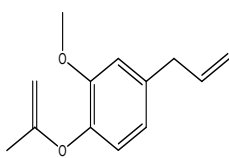

IV.2.1 Appareils :

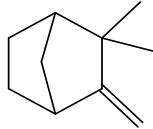
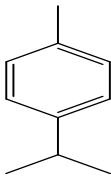
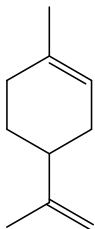
- Les analyses des espèces chimiques étudiées par spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet et visible ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible
- Nous avons utilisé une balance analytique de précision 10^{-4} mg de marque PERKIN 550
- Le logiciel "Origine pro 2017" a été utilisé pour tracer les différents graphes.

IV.2.2 Produits chimiques :

Le tableau 1 regroupe l'ensemble des produits chimiques utilisés au cours de notre travail expérimentale.

Tableau 1: Classes chimiques, structures, formules brutes et masses molaires des composés étudiés.

Famille	Composé	NOM IUPAC	Structure	Formule brute	Masse molaire g.mol ⁻¹
Hydrocarbures phénoliques	Thymol	5-Methyl-2-(propan-2-yl) phénol		C ₁₀ H ₁₄ O	124.1372
	2-naphtol	Naphtalen-2-ol		C ₁₀ H ₈ O	144.17
	Eugenol	2-Methoxy-4-(prop-2-en-1-yl) phenol		C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164,201
Hydrocarbures oxygénés non phénoliques	Menthol	(1R,2S,5R)-5-méthyl-2-(propan-2-yl) cyclohexanol		C ₁₀ H ₂₀ O	156,2752
	Eugenyl-acetat	(2-methoxy-4-prop-2-enylphenyl) acetate		C ₁₂ H ₁₄ O ₃	206.241
	Camphor	1, 7,7-Trimethylbicyclo [2.2.1] heptan-2-one		C ₁₀ H ₁₆ O	152,23

Hydrocarbures	Camphene	2,2-Dimethyl-3-methylidenebicyclo [2.2.1] heptane		$C_{10}H_{16}$	136,234
	P-cymene	1-méthyl-4-(1-méthyléthyl) benzène		$C_{10}H_{14}$	134,218
	Limonene	1-méthyl-4-prop-1-én-2-yl-cyclohexène		$C_{10}H_{16}$	136,234

IV.3 Méthodes :

IV.3.1 L'étude expérimentale Activité antioxydante des composés volatils purs :

L'étude expérimentale de l'activité antioxydante des composés volatils purs et celle des mélanges binaires est réalisé par la méthode de piégeage du radical libre DPPH•. Cette méthode est basée sur la réduction des radical DPPH• par un agent antioxydant (espèces chimiques étudiés), ce qui entraîne un changement de couleur de la solution éthanolique ; on passe du violet vers le jaune. Ce changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie UV-visible à 517nm. Ainsi on peut déterminer la concentration effective d'inhibition «EC₅₀» d'une substance chimique. Cette dernière représente la concentration en matière active nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres DPPH.

IV.3.2 Préparation des solutions mères et filles :

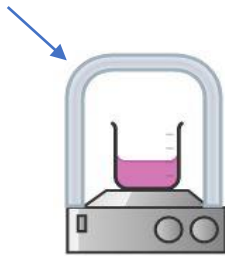
La précision de la mesure, de l'activité antioxydante, est étroitement liée à l'étape de la préparation des échantillons analysés par spectrométrie UV-visible. Cette dernière se présente comme suite.

- Nous avons préparé en premier des solutions de concentration connue pour chaque composé étudié, ces dernières sont nommées « solution mère ».
- A partir de chaque solution mère nous avons préparé, par dilution, plusieurs solutions de concentration moindre nommée « solutions filles ».

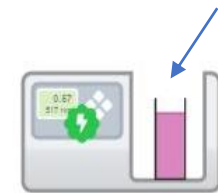
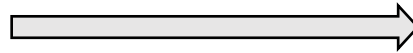
Préparation des échantillons à analyser est résumée par les différentes étapes de la figure ci-dessus.

1

Solution de DPPH
4mg/100ml
éthanol



Après 30 min en mesure son abs à 517 nm pour s'assurer que son abs est de (0,56-0,59)



Spectrophotomètre UV-visible

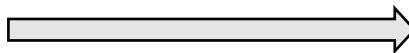
2

Solution mère des échantillons à tester



Concentration connue de chaque espèce chimique étudié

Différents volumes de chaque solution mère sont prélevés et complétés à 1ml avec l'éthanol



Addition de 1 ml de solution DPPH (volume totale 2 ml)



Échantillon

3

L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible à 517 nm trois répétition ont été effectuées pour chaque solution testée



Figure 11. Schématisation du protocole expérimental de la méthode DPPH.

L'activité antioxydante AA % sera calculée par l'équation suivante :

$$AA \% = [(ABS_{\text{control}} - ABS_{\text{échantillon}}) / ABS_{\text{control}}] * 100$$

Soit :

- ABS control : absorbance à la longueur d'onde de 517nm de la solution de DPPH dans l'éthanol.
- ABS échantillon : absorbance à $\lambda=517$ nm de chaque échantillon.

Les concentrations ainsi que les volumes prélevés pour chaque échantillon sont donné dans le tableau 2.

Tableau 2: concentration de la solution mère, volumes prélevé et concentrations des échantillons testées pour chaque composé.

Composé	[Solution mère] mg/ml	Volume prélevé (µl)	[Solution fille] (mg/ml)
Thymol	10	5	0,025
		10	0,05
		20	0,1
		40	0,2
		60	0,3
		80	0,4
		100	0,5
		120	0,6
		150	0,75
		200	1
		300	1,5
		400	2
500	2,5		
2-naphtol	500	5	0,01
		10	0,02
		15	0,03
		20	0,04
		40	0,08
		60	0,12
		80	0,16
		100	0,2
		120	0,24

		150	0,3
		200	0,4
		400	0,8
		500	1
		800	1,6
Eugenyl acetate	100	5	0,25
		10	0,5
		20	1
		30	1,5
		40	2
		60	3
		100	5
		200	10
		300	15
		500	25
Eugenol	0.013	5	0,0000325
		10	0,000065
		20	0,00013
		30	0,000195
		40	0,00026
		50	0,000325
		60	0,00039
		70	0,000455
		80	0,00052
		90	0,000585
		100	0,00065
		200	0,0013
		250	0,001625
		300	0,00195
Camphor	800	10	4
		20	8
		40	16
		50	20
		70	28
		80	32
		100	40
		300	120
		500	200
		600	240
		800	320
Camphene	800	20	8
		60	24
		80	32
		200	80
		300	120

		400	160
		500	200
		800	320
P-cymene	0.2	20	0,002
		50	0,005
		100	0,01
		200	0,02
		300	0,03
		400	0,04
		500	0,05
		600	0,06
		700	0,07
		800	0,08
		900	0,09
		950	0,095
		980	0,098
		Limonene	500
10	2.5		
20	5		
40	10		
60	15		
80	20		
100	25		
200	50		
300	75		
400	100		
500	125		
Menthol	400	5	1
		10	2
		20	4
		40	8
		80	16
		100	20
		120	24
		150	30
		200	40
		400	80
		500	100
		800	160

IV.3.3 Activité antioxydante des mélanges binaires :

Nous avons préparé des mélanges binaires afin d'estimer l'interaction synergiques des corps pur dans chaque mélange binaire étudié. Le couple de corps pur représente un pseudo composé définit comme suit thymol/constituant(i)*

*chaque constituant(i) fait partir de la liste des composés suivante : {eugenol, eugenyl acetate, 2-naphtol, camphene, camphor, limonene, p-cymène, menthol}.

Chaque système artificiel a été préparé comme suit :

- 1- Préparation des solutions mères pour chaque constituant du mélange binaire, selon le même protocole correspondant à la solution de corps pur (voir tableau 4).
- 2- Préparation des différents systèmes artificiels
 - Système artificiel 1 : rapport 1 :1
 - Système artificiel 2 : rapport 0.75 :0.25 ou 3 :1
 - Système artificiel 3 : rapport ou 0.25 :0.75 ou 1 :3
- 3- Le suivie de l'activité antioxydante de ces mélanges binaires ce fera comme pour les solutions de corps purs.

La série de tableau regroupe les concentrations des solutions mères des mélanges binaires, la concentration totale en espèces actives des échantillons analysés ainsi que les volumes prélevés

La suite des tableau 3,4 et 5 (concernons les autres corps pures se trouve dans annexe 1)

Tableau 3: Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel thymol et Eugenyl acetate 50/50 %.

	[Thymol+Eugenyl acetate dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/Eugenyl acetate	110	0	0
		5	0,14
		10	0,28
		20	0,55
		40	1,10
		60	1,65
		80	2,20
		100	2,75
		120	3,30
		150	4,13

		200	5,50
		300	8,25
		400	11,00
		500	13,75

Tableau 4: Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel thymol et Eugenyl acetate 75/25 %

	[Thymol +Eugenyl acetate dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (μ l)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/Eugenyl acetate	110	0	0
		5	0,08
		10	0,16
		20	0,33
		40	0,65
		60	0,98
		80	1,30
		100	1,63
		120	1,95
		150	2,44
		200	3,25
		300	4,88
		400	6,50

Tableau 5: Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel thymol et Eugenyl acetate (25-75) %.

	[Thymol +Eugenyl acetate dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (μ l)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/Eugenyl acetate	110	0	0
		5	0,19
		10	0,39
		20	0,83
		40	1,70
		60	2,66
		80	3,57
		100	4,47
		120	5,44
		150	6,83

		200	9,17
		300	13,81
		400	18,49
		500	23,20

RESULTATS ET DISCUSSIONS

V. Introduction :

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'influence de la synergie sur l'activité antioxydante globale des systèmes binaires. Ces derniers sont formés par le mélange d'un composé volatils naturel (issue communément des huiles essentielles) au thymol a des proportions fixes (75/25 – 50/50 – 25/75). Le choix des composés étudiés est basé sur les raisons suivantes :

- L'analyse GC-MS des HE, potentiellement doué d'activité microbiologiques, montre que ces molécules étudiées font partie de la composition chimique de ces huiles.
- La similitude de la structure chimique de quelques-uns, et la diversité de la classe chimique des autres permet une meilleure compréhension de la relation structure activité des systèmes étudié.
- Le thymol est pris comme élément de synergie pour pouvoir discuter l'effet de la structure des mélanges sur l'activité à savoir phénolique/phénolique ; phénolique/aromatique non phénolique et phénolique/hydrocarbure non aromatique.

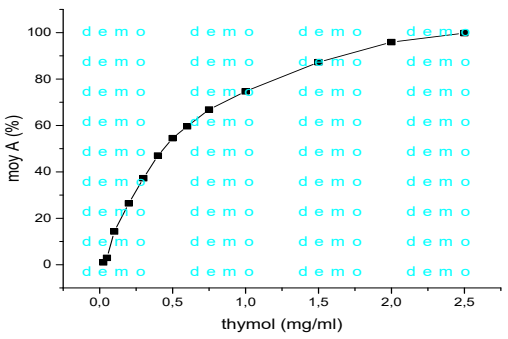
Pour cela, nous avons utilisé la méthode du piégeage du radical libre DPPH pour testés l'activité des composés purs et celles des mélanges binaires. L'exploitation des résultats des différents essais expérimentaux est réalisée sur la base de la comparaison des valeurs de l'EC₅₀. Cette dernière représente la valeur de la concentration qui donne 50% d'activité.

V.1 Etude de l'activité antioxydante des composés purs :

Afin de déterminer s'il existe une éventuelle synergie de l'activité antioxydante dans les systèmes binaire, l'étude de l'activité antioxydante des composés purs s'impose. Dans cette étape, on déterminera l'EC₅₀ de chaque composé étudié.

L'activité de piégeage du radical libre DPPH des différentes solutions filles et les courbes de la variation de cette activité en fonction de la concentration [mg/ml] sont regroupés dans le l'annexe 2. On donnera aussi dans le même tableau les valeurs de l'EC₅₀, vous trouverez ci-après le cas de thymol comme exemple d'illustration.

Tableau 6:Activité antioxydante, EC50 et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active pur ; thymol.

Composé	Activité Moy %	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité moy (%) = f([concentration massique])
Thymol	0,9942	0,446	
	2,9240		
	14,3275		
	26,4327		
	37,2515		
	47,0175		
	54,5029		
	59,6491		
	66,8421		
	74,6784		
	79,7661		
	95,9064		
	99,7661		

Les figures données dans les tableaux de l'annexe 2 montrent que généralement l'activité de piégeage du radical libre DPPH varie selon une fonction algorithmique avec la variation de la concentration. On aura donc une augmentation linéaire de l'activité jusqu'à la proximité de 50% suivie d'une inflexion. A la fin, on obtient généralement un palier, où l'activité atteint un maximum quelle que soit la quantité de matière ajoutée.

D'autre part, les valeurs d'EC₅₀ données dans le même tableau varient selon la variation de la structure du composé testé comme c'est illustré sur les histogrammes suivants :

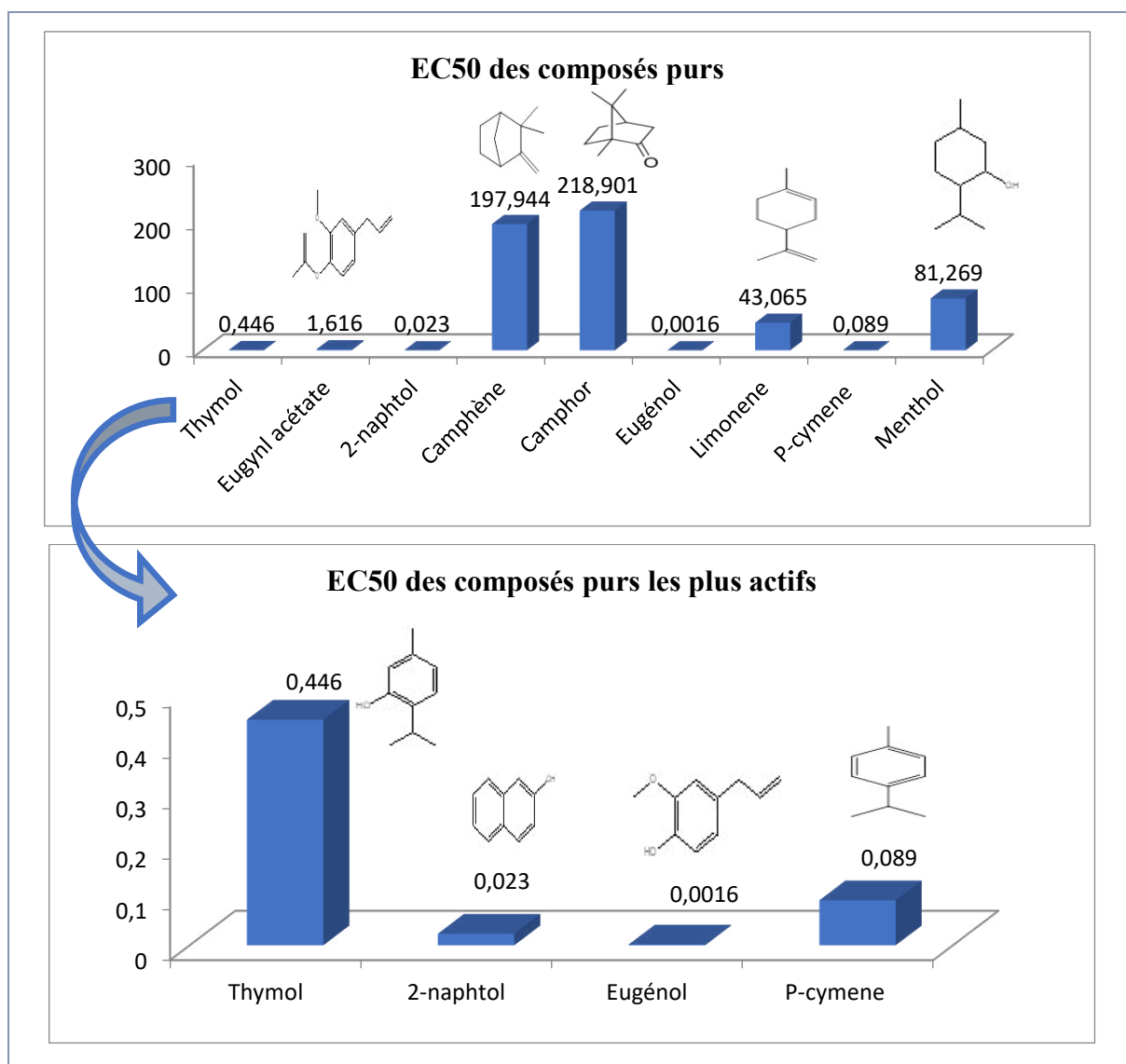


Figure 12. Valeurs des EC₅₀ des composés étudiés purs

Sachant que plus la valeur de l'EC₅₀ est importante, moins l'espèce chimique est active. On peut alors classer ces composés selon leur activité et leurs structures en deux groupes :

Groupe 1 : il comporte les composés les moins actifs, Il regroupe dans l'ordre du plus actif au moins actif : le limonène, le menthol, le camphène et le camphor. Ces composés sont pour la plupart des hydrocarbures non aromatiques. Le radical formé après réaction avec le DPPH n'est pas stable.

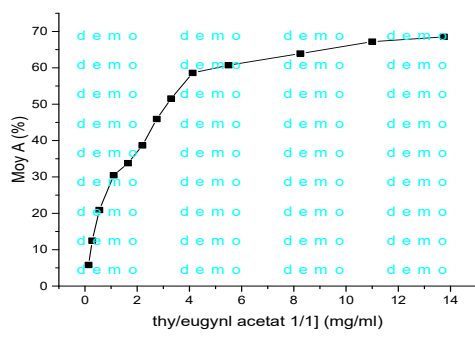
Groupe 2 : il comporte les composés les plus actifs, il regroupe dans l'ordre d'activité décroissante : eugénol, 2-naphtol, p-cymène, thymol. Ces antioxydants sont des aromatiques qui peuvent stabiliser le radical libre formés par résonance.

L'eugénol acétate est un composé intermédiaire, il présente une structure similaire a celle de l'eugenol. Seulement, la fonction phénol (le groupement responsable de l'activité) est remplacé par la fonction ester. La réaction avec le DPPH est due alors au départ d'un proton du groupement propenyl qui est moins mobil et moins actif qu'un proton phénolique.

V.2 Effets synergiques des composés étudiés :

L'effet synergique des composés étudiés sur l'activité antioxydante est réalisé en préparant des mélanges binaires à des proportions volumiques fixes (50-50 ; 25-75 ; 75-25). Ces mélanges seront considérés comme des pseudo-composés. L'activité de ces derniers sera mesurée de la même manière que les composés purs. Les résultats de l'activité antioxydante de ces pseudo-composés en fonction de la concentration sont donnés dans l'annexe 3. On donne ici l'exemple du pseudo-composé thymol/Eugenyl acetate.

Tableau 7:Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/Eugenyl acetate » à 50/50%.

Composé	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/Eugeynl acetate	5,78463	3,1591	
	12,4856		
	20,9045		
	30,4699		
	33,7915		
	38,6598		
	45,9334		
	51,5468		
	58,5913		
	60,7107		
	63,9178		

	67,1826		
	68,4993		

A partir des tableaux de l'annexe 1, nous avons tracé les courbes de la variation de l'activité en fonction des volumes des solutions filles testées. Cela, nous a permis de déduire le V_p - EC_{50} : le volume de la solution fille à l'activité égale à 50%. À partir de ces volumes, nous avons déterminé les valeurs C_1 et C_2 qui correspondent respectivement à la concentration du thymol et du composé formant le pseudo-composé à l' EC_{50} . Ces résultats sont donnés dans le tableau suivant.

Tableau 8: Valeurs des EC_{50} des composés purs et des mélanges binaires testés. Ainsi que le volume qui donne 50% d'activité VEC_{50} et les concentrations C_1 du thymol et C_2 du composé 2 à la même activité pour des rapports thymol / composé2 égale à 75/25 ; 50/50 ; 25/75.

	Composé	EC_{50} pur	EC_{50} du pseudo-composé (mg/ml)	V_p - EC_{50} (ml)	C_1 -thymol (mg/ml ^o)	C_2 -composé (mg)/1ml
75/25	Thymol	0.446	/	/	/	/
	Eugynlacétate	1.616	1,838	0,112	0,419	1,397
	2-naphtol	0.023	0,123	0,029	0,108	0,014
	Camphène	197.944	1.669	0,446	1,672	0,001
	Camphor	218.901	7,712	0,242	0,906	24,153
	Eugénol	0.0016	8.545	0,083	0,310	0,000134875
	Limonene	43.065	17.200	0,260	0,974	16,233
	P-cymene	0.089	0,272	0,072	0,270	0,002
Menthol	81.269	2.849	0,053	0,199	0,001	
50/50	Thymol	0.446	/	/	/	/
	Eugynlacétate	1.616	3,1591	0,11469615	0,286740375	2,86740375
	2-naphtol	0.023	0,06681	0,01929248	0,04823121	0,01929248
	Camphène	197.944	131.973	0,65381167	1,63452917	130,762333
	Camphor	218.901	20,296	0,15874	0,39685	31,748
	Eugénol	0.0016	0.238	0,09499992	0,23749979	0,00030875
	Limonene	43.065	23.071	0,18120394	0,45300984	22,650492
	P-cymene	0.089	0,263	0,1035346	0,25883649	0,00517673
Menthol	81.269	7.194	0,06969365	0,17423412	6,96936466	
25/75	Thymol	0.446	/	/	/	/
	Eugynlacétate	1.616	2,357	0,054	0,067	2,023
	2-naphtol	0.023	0,035	0,013	0,016	0,019

Camphène	197.944	40.744	0,135	0,168	40,368
Camphor	218.901	45,617	0,242	0,302	72,459
Eugénol	0.0016	0.179	0,143	0,179	0,001
Limonene	43.065	31.791	0,169	0,421	63,202
P-cymene	0.089	0,275	0,208	0,261	0,016
Menthol	81.269	19.090	0,127	0,159	0,010

Pour montrer l'effet de la synergie dans les systèmes artificielle binaires et pour maitre en évidences les interactions synergétiques entre les molécules de ces systèmes il est judicieux de faire intervenir le poids moléculaire des constituants de ce système. Ce qui permettra une meilleure approche structure-activité. Pour cela nous avons déterminé l'EC₅₀ des composés purs et des systèmes artificiels préparé en µmol/ml.

Nous avons en premier, déterminé les concentrations du thymol C'₁ et de chacun des composés 2 C'₂ à l'EC₅₀ µmol/ml. Le tableau ci-dessous regroupe les valeurs obtenues.

Tableau 9: Valeurs des EC₅₀ en µmol/ml des composés purs et la concentration des composés purs dans les mélanges binaires à cette concentration pour des rapports 50/50 ; 75/25, 25/75.

Rapport volumiques	Composé	EC ₅₀ (µmol/ml)	C' ₁ (µmol/ml)	C' ₂ (µmol/ml)
75/25	Eugenyl acetate	7.83	2.31	13.91
	2-naphtol	0.16	0.38	0.134
	Camphene	1452.97	13.17	959.84
	Camphor	1437.96	3.19	208.55
	Eugenol	9.74.10 ⁻³	1.91	1.88.10 ⁻³
	Limonene	316.11	3.65	166.26
	P-cymene	0.66	2.08	0.039
	Menthol	520.04	1.40	44.59
50/50	Eugenyl acetate	7.83	3.38	6.77
	2-naphtol	0.16	0.87	0.097
	Camphene	1452.97	13.47	7.34.10 ⁻³
	Camphor	1437.96	7.29	158.66
	Eugenol	9.74.10 ⁻³	2.5	0.82.10 ⁻³
	Limonene	316.11	7.85	119.16
	P-cymene	0.66	2.18	0.015
	Menthol	520.04	1.60	6.39.10 ⁻³
25/75	Eugenyl acetat	7.83	0.45	9.08

	2-naphtol	0.16	0.13	0.13
	Camphène	1452.97	1.35	296.31
	Camphor	1437.96	2.43	475.98
	Eugénol	$9.74 \cdot 10^{-3}$	1.44	$6.09 \cdot 10^{-3}$
	Limonene	316.11	3.39	463.92
	P-cymene	0.66	2.10	0.12
	Menthol	520.04	1.28	0.064

La somme de C'_1 et de C'_2 donnera l' EC_{50} des pseudos composés en $\mu\text{mol/ml}$. Ces valeurs seront comparées à ceux des sommes des EC_{50} des composés purs S- EC_{50} en $\mu\text{mol/ml}$. Le tableau 10 regroupe tous ces données et la figure 13 les illustre.

Tableau 10: Valeurs des EC_{50} en $\mu\text{mol/ml}$ des pseudo-composés et les sommes des EC_{50} des composés purs pour des rapports 50/50 ; 75/25, 25/75.

	EC_{50} $\mu\text{mol/ml}$			
	S- EC_{50}	75/25	50/50	25/75
Eugénol acétate	11,428	10,149	16,213	10,349
2-naphtol	3,752	0,967	0,522	0,261
Camphène	1456,563	13,476	973,003	297,667
Camphor	1441,555	165,960	211,750	478,417
Eugénol	3,603	2,498	1,915	1,448
Limonene	319,703	127,001	169,911	467,314
P-cymene	4,256	2,190	2,124	2,222
Menthol	523,631	1,609	46,000	1,345

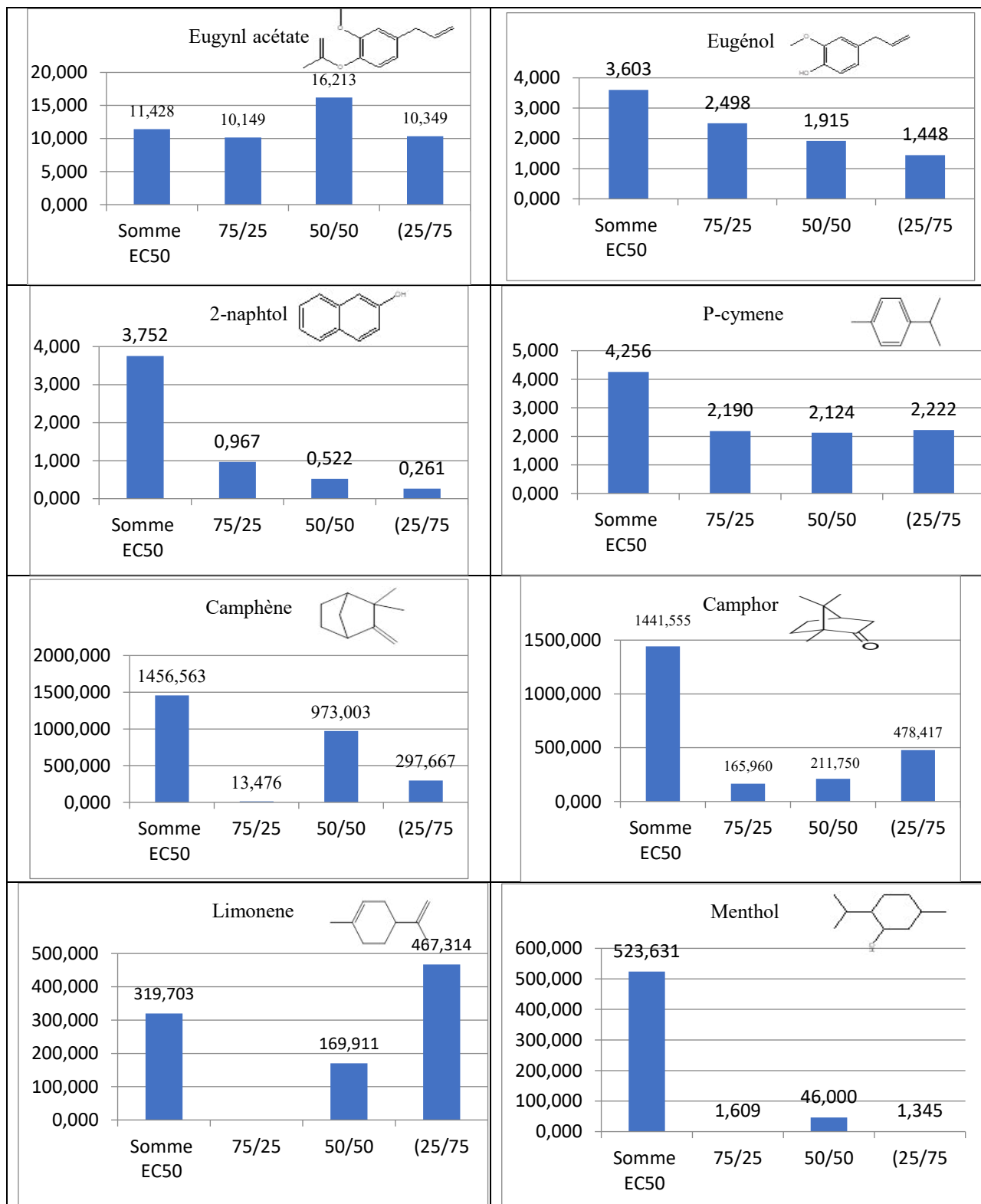


Figure 13. Histogramme comparative des valeurs d'EC50 en $\mu\text{mol/ml}$.

- 1- Somme des valeurs des EC_{50} du thymol et de celle du composé 2 testés à l'état purs.
- 2- Valeurs du EC_{50} du pseudo-composé a un rapport thymol/composé = 75/25.
- 3- Valeurs du EC_{50} du pseudo-composé a un rapport thymol/composé = 50/50.
- 4- Valeurs du EC_{50} du pseudo-composé a un rapport thymol/composé = 25/75.

L'effet de combinaison des composés antioxydants peut être :

Additifs : Si la valeur de la somme des EC_{50} des composés purs est égale à celle de l' EC_{50} du pseudo-composé.

Synergique : Si la valeur de la somme des EC_{50} des composés purs est inférieure à celle de l' EC_{50} du pseudo-composé.

Antagonisme : Si la valeur de la somme des EC_{50} des composés purs est supérieure à celle de l' EC_{50} du pseudo-composé.

L'eugénol et le 2-naphtol présentent un effet synergique intéressant qui augmente avec la diminution de la quantité du thymol. Cela peut être justifié par le fait que ces deux composés présentent des activités supérieures à celle du thymol.

Contrairement à l'eugénol et le 2-naphtol, le camphor et le limonène présentent un effet synergique qui diminue avec la diminution de la quantité du thymol. De la même manière, cela peut aussi être justifié par le fait que ces composés sont beaucoup moins actifs que le thymol. Alors que le p-cymène, qui a une activité proche de celle du thymol, présente une synergie indifférente de la quantité du thymol.

Le camphène et le menthol présentent des activités qui varient d'une manière non proportionnelle, avec la quantité du thymol, On remarque qu'à un rapport 50/50 le minimum d'activité est atteint.

On ne signale aussi qu'aucun des composés ne présente un effet additif. Alors que, le limonène est le seul composé qui présente un antagonisme. L'effet synergique entre différents antioxydants est très complexe, car chaque molécule antioxydante est en mesure de devenir un agent pro-oxydant.

Conclusion générale

Conclusion

Le travail réalisé dans ce mémoire vise à étudier l'effet synergique de la combinaison binaire de quelques composés volatils avec le thymol. Pour cela nous avons utilisé le teste de la mesure de la capacité du piégeage du radicale libre DPPH.

Les résultats du test sur les composés purs montrent que les produits aromatiques et phénoliques présentent les meilleures activités. Les hydrocarbures oxygénés et non oxygénés sont moins actifs.

La combinaison du thymol avec ces composés a un rapport thymol /composés de 50/50 25/75 75/25 a donné un effet synergique dans tous les cas sauf avec le limonène a un rapport 75/25.

La variation de l'effet synergique avec la quantité du thymol dans le mélange binaire et proportionnel dans les cas des molécules qui présentent des activités supérieures à celle du thymol à l'état pur. Elle est inversement proportionnelle dans le cas des molécules qui présentent des activités inférieures au thymol à l'état pur. Cette variation est aussi parfois stagnée comme c'est le cas avec le p-cymene ou insensé comme dans le cas de l'acétate d'Eugenyl, du camphene et le menthol.

En perspective, on propose de faire une étude théorique par DFT pour montrer l'effet des interactions intermoléculaires sur la synergie.

Références bibliographiques :

- [1] R. Ammour et M. Brahmi, « Etude théorique par la DFT de l'activité anti-oxydante des composés terpéniques non oxygénés », Thesis, Université Blida 1, 2020.
- [2] S. I. M. Dieng *et al.*, « Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. », *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol. 11, n° 2, p. 768-776, 2017.
- [3] F. Derradji, « Etude théorique (DFT) d'addition des radicaux libres aux alcènes », Thesis, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA, 2021.
- [4] H. Brahimi et F. Hamdi, « Contribution à l'étude des variations des dérivés carbonyles sériques chez le diabétique de type1 », Thesis, 2016. Consulté le: 24 décembre 2021.
- [5] J. Goudable et A. Favier, « Radicaux libres oxygénés et antioxydants », *Nutrition Clinique et Métabolisme*, vol. 11, n° 2, p. 115-120, juin 1997, doi: 10.1016/S0985-0562(97)80058-1.
- [6] B. Hadjer et B. Chaimae, « Stress Oxydant et Compléments Alimentaires », Thesis, 2021.
- [7] F. M. Hocine et M. A. Gorine, « ÉVALUATION DE L'EXPOSITION AU PLOMB ET CADMIUM ET IMPACT SUR QUELQUES PARAMETRES DU STATUT OXYDANT/ANTI OXYDANT CHEZ LES OUVRIERS EXPOSES AUX FUMÉES DE SOUDAGE », Thesis, 2017.
- [8] « Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection? » <https://123dok.net/document/ynel77py-r%C3%B4le-antioxydant-anti-apoptotique-brassinost%C3%A9ro%C3%AFdes-nouvelle-strat%C3%A9gie-neuroprotection.htm>
- [9] E. Fontaine, D. Barnoud, C. Schwebel, et X. Lerverve, « Place des anti-oxydants dans la nutrition du patient septique », *Réanimation*, vol. 11, n° 6, p. 411-420, sept. 2002, doi: 10.1016/S1624-0693(02)00269-4.
- [10] I. Mimiuni, « LE PROCESSUS OXYDATIF ET LES ANTIOXYDANTS EN PATHOLOGIE HUMAINE », 2020, Consulté le: 4 janvier 2022. [En ligne]. Disponible sur: <http://ao.um5.ac.ma/xmlui/handle/123456789/18391>
- [11] J. Haleng, J. Pincemail, J.-O. Defraigne, C. Charlier, et J.-P. Chapelle, « Le stress oxydant », *Revue médicale de Liège*, vol. 62, n° 10, p. 628-38, 2007.
- [12] « Radicaux libres et antioxydants ». <https://www.sport-passion.fr/sante/radicaux-libres-et-antioxydants.php>.
- [13] C. Migdal et M. Serres, « Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant », *Med Sci (Paris)*, vol. 27, n° 4, Art. n° 4, avr. 2011, doi: 10.1051/medsci/2011274017.
- [14] J. Carange, « Rôle antioxydant et anti-apoptotique des brassinostéroïdes, une nouvelle stratégie de neuroprotection? », PhD Thesis, Université du Québec à Trois-Rivières, 2010.

- [15] S. Bencherrat, « Le stress oxydant dans l'insuffisance rénale chronique et l'hémodialyse chez une population âgée de la région Tlemcen », Thesis, 2017. Consulté le: 26 décembre 2021.
- [16] F. Merck, « La biodiversité végétale au service des ingrédients naturels: étude des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits végétaux et développement d'un conservateur naturel pour l'industrie cosmétique », PhD Thesis, COMUE Université Côte d'Azur (2015-2019), 2017.
- [17] M. R. Mezrag, K. Bentouil, et N. Gherraf, « Etude comparative des l'activité antioxydante et antibactérienne des espèces médicinales locales », 2020.
- [18] A. Rahima et B. Imène, « Dosage par HPLC-DAD de l'épigallocatechine gallate dans le thé et évaluation de son activité antioxydante », 2019.
- [19] K. Oueslati, « Caractérisation et modélisation de la production des radicaux libres oxygénés par la chimie de Fenton dans un milieu mimétique de la viande », phdthesis, Université Clermont Auvergne [2017-2020], 2017.
- [20] N. Belkheiri, « Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes », phd, Université de Toulouse, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2010.
- [21] H. Rouha, K. (Encadreur) Ayouni, et K. Baali, « Activité antioxydante des huiles essentielles extraites de quelques plantes de la famille des Lamiaceae », 2017.
- [22] F. Boufenghour et A. Kamah, « Les ouvreurs des canaux potassiques et activité antioxydante », PhD Thesis, University of Jijel, 2020.
- [23] F. N. Muanda, « Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques », *Thèse de doctorat en Chimie organique. Ecole doctorale SESAMES Université Paul Verlaine-Metz*, vol. 294, 2010.
- [24] G. Fedala, K. Belhamel, et promoteur, « Evaluation de l'activité antioxydante des extraits des plantes *Urtica dioica*, *Urtica pilulifera* et *Globularia alypum* L », Thesis, Université Abderrahmane Mira Béjaïa, 2015.
- [25] T. C. Eversley, « Le potentiel antioxydant de l'alimentation tel qu'estimé par le score ORAC: une comparaison des apports des personnes âgées avec démence du type Alzheimer avec ceux des témoins sans problèmes cognitifs », 2012.
- [26] Y. Soltani, M. Ali-Bouzidi, F. Toumi, et A. Benyamina, « Activités antioxydantes des extraits de trois organes de *Juniperus phoenicea* L. de l'Ouest algérien », *Phytothérapie*, sept. 2017, doi: 10.1007/s10298-017-1160-x.
- [27] B. Sabrina, T. Ouehnia, et S. Laidouï, « Complexes des métaux de transition avec une base de Schiff : synthèse, caractérisation et pouvoir antioxydant. », Thesis, Université Abderrahmane Mira .Bejaïa, 2021.
- [28] M. A. Massoune et A. Zeboudj, « Contribution à l'étude de l'activité antioxydante des composés phénoliques et non phénoliques et leurs synergies », Thesis, Université Blida 1, 2021.

- [29] C. Marteau, « Activité antioxydante des phénols: mécanismes, cinétiques, effets de solvants et synergies », Thèse de doctorat, Université Lille 1 - Sciences et technologies, Villeneuve-d'Ascq ; 1970-2017, France, 2013.
- [30] M. Beloufa, « Etude chimique et activité antioxydante des huiles Essentielles du Thy-mus fontanesii, Rosmarinus Officinalis et Artemisia herba alba de la région de Tlemcen. », Thesis, 08-05-2019, 2018.
- [31] F. Z. Belbachir, « Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne de trois huiles essentielles et de leurs fractions oxygénées: Effet de synergie ou d'antagonisme. », Thesis, 14-04-2021, 2019.
- [32] H. Maidi, « Évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles du Genévrier rouge (Juniperus phoenicea L.). », Thesis, 2013.
- [33] S. Bouchelouh et A. Hala, « Etude théorique des propriétés physico-chimiques des flavonoïdes d'une plante (salvia officinalis) », PhD Thesis, University of Jijel, 2020.
- [34] Y. Benalia, « Valorisation des ressources végétales steppiques par l'étude des huiles essentielles. Cas: Marrubium deserti De Noé », PhD Thesis, 2018.
- [35] W. SAMAH, M. MESSAOUDA, et B. E. KOUISSA, « Extraction des huiles essentielles a partir de mentha pulegium », PhD Thesis, Université jijel, 2016.
- [36] C. Merabti, F. (Encadreur) Brahmi, et S. Khima, « Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Calamintha officinalis et Abies numidica », juin 2015.
- [37] R. Deschepper, « Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie », 2017.
- [38] R. Achiri, « Etude chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de Mentha pulegium, Lavandula angustifolia et Verbena officinalis au niveau de la pépinière de Ain Fettouh », *Mémoire de Master en Chimie, spécialité Chimie des Produits Naturels, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen*, 2018.
- [39] K. Sharma, S. Guleria, V. K. Razdan, et V. Babu, « Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds », *Industrial Crops and Products*, vol. 154, p. 112569, oct. 2020, doi: 10.1016/j.indcrop.2020.112569.
- [40] « Analysis of the synergistic antifungal mechanism of eugenol and citral - ScienceDirect ». <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364382030116X> .
- [41] H. G. S. de Araújo Couto *et al.*, « Essential oils of basil chemotypes: Major compounds, binary mixtures, and antioxidant activity », *Food Chemistry*, vol. 293, p. 446-454, sept. 2019, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.04.078.
- [42] « In vitro pro-oxidant/antioxidant role of carvacrol, thymol and their mixture in the intestinal Caco-2 cell line - ScienceDirect ». <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0887233315000235>.

- [43] M. Milos et D. Makota, « Investigation of antioxidant synergisms and antagonisms among thymol, carvacrol, thymoquinone and p-cymene in a model system using the Briggs–Rauscher oscillating reaction », *Food Chemistry*, vol. 131, n° 1, p. 296-299, mars 2012, doi: 10.1016/j.foodchem.2011.08.042.
- [44] T.-B. Yen et S.-T. Chang, « Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi », *Bioresource Technology*, vol. 99, n° 1, p. 232-236, janv. 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2006.11.022.
- [45] R. Tsao, « 13 - Synergistic interactions between antioxidants used in food preservation », in *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*, F. Shahidi, Éd. Woodhead Publishing, 2015, p. 335-347. doi: 10.1016/B978-1-78242-089-7.00013-0.

Annexe 1

Tableau 3-a : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et 2-naphtol 50/50 %**

	[Thymol +2-naphtol dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/2-naphtol	14	0	0
		5	0,02
		10	0,04
		20	0,07
		40	0,14
		60	0,21
		80	0,28
		100	0,35
		120	0,42
		150	0,53
		200	0,70
		300	1,05
		400	1,40
		500	1,75

Tableau 9-b : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et eugenol (50-50) %**

	[Thymol +eugenol dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/eugenol	10.013	0	0
		5	0,01
		10	0,03
		20	0,05
		40	0,10
		60	0,15
		80	0,20
		100	0,25
		120	0,30
		150	0,38
		200	0,50
		300	0,75
		400	1,00
		500	1,25

Tableau 3-c : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et camphene 50/50 %**

Annexe 1

	[Thymol +Camphene dans la solution mère binaire] mg/ml	VOLUME prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/Camphene	810	0	0
		5	1,01
		10	2,03
		20	4,05
		40	8,10
		60	12,15
		80	16,20
		100	20,25
		120	24,30
		150	30,38
		200	40,50
		300	60,75
		400	81,00
		500	101,25
		700	141,75
800	162,00		

Tableau 3-d : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et camphor 50/50 %**

	[Thymol +camphor dans la solution mère binaire] mg/ml	VOLUME prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/camphor	810	0	0
		5	0,33
		10	0,66
		20	1,33
		40	2,65
		60	3,98
		80	5,30
		100	6,63
		120	7,95
		150	9,94
		200	13,25
		300	19,88

Tableau 3-e : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et limonene 50/50 %**

Annexe 1

	[Thymol +limonene dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/limonene	510	0	0
		5	0,6375
		10	1,275
		20	2,55
		40	5,1
		60	7,65
		80	10,2
		100	12,75
		120	15,3
		150	19,125
		200	25,5
		300	38,25
		400	32,2227273
500	35,4971591		

Tableau 3-f : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et menthol 50/50 %**

	[Thymol +menthol dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/menthol	410	0	0
		5	0,64
		10	1,28
		20	2,55
		40	5,10
		60	7,65
		80	10,20
		100	12,75
		120	15,30
		150	19,13
		200	25,50
		300	38,25
		400	32,22
500	35,50		

Tableau 3-g : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et p-cymene 50/50 %**

Annexe 1

	[Thymol +P-cymene dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (μl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/P-cymene	10.02	0	0
		5	0,64
		10	1,28
		20	2,55
		40	5,10
		60	7,65
		80	10,20
		100	12,75
		120	15,30
		150	19,13
		200	25,50
		300	38,25
		400	32,22
500	35,50		

Tableau 3-h : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **eugenol/Eugenyl acetate 50/50 %**

	[Eugenol +Eugenyl acetate dans la solution mère] mg/ml	Volume prélevé (μl)	Concentration totale en espèces actives
Eugenol/eugenyl acetate	100.013	0	0
		5	0,13
		10	0,25
		20	0,50
		40	1,00
		60	1,50
		80	2,00
		100	2,50
		120	3,00
		150	3,75
		200	5,00
		300	7,50
		400	10,00
		500	0,13

Tableau 4-a : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et 2-naphtol 75/25 %**

Annexe 1

	[Thymol +2-naphtol dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/2-naphtol	14	0	0
		5	0,02
		10	0,04
		20	0,09
		40	0,17
		60	0,26
		80	0,34
		100	0,43
		120	0,51
		150	0,64
		200	0,85
		300	1,28
		400	1,70
500	2,13		

Tableau 4-b : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et eugenol 75/25 %**

	[Thymol +eugenoldans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/eugenol	10.013	0	0
		5	0,52
		10	1,04
		20	2,08
		40	4,15
		60	6,23
		80	8,30
		100	10,38
		120	12,45
		150	15,56
		200	20,75
		300	31,13
		400	41,50
500	51,88		

Tableau 4-c : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et camphene 75/25 %**

Annexe 1

	[Thymol +camphene dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/camphene	810	0	0
		5	0,02
		10	0,04
		20	0,08
		40	0,15
		60	0,23
		80	0,30
		100	0,38
		120	0,45
		150	0,56
		200	0,75
		300	1,13
		400	1,50
500	1,88		

Tableau 4-d : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et camphor 75/25 %**

	[Thymol +camphor dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/camphor	810	0	0
		5	0,33
		10	0,66
		20	1,33
		40	2,65
		60	3,98
		80	5,30
		100	6,63
		120	7,95
		150	9,94
		200	13,25
		300	19,88

Tableau 4-e : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et limonene 75/25 %**

Annexe 1

	[Thymol +limonene dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/limonene	510	0	0
		5	0,33
		10	0,66
		20	1,33
		40	2,65
		60	3,98
		80	5,30
		100	6,63
		120	7,95
		150	9,94
		200	13,25
		300	19,88
		400	16,74
500	18,44		

Tableau 4-f : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et menthol 75/25 %**

	[Thymol +menthol dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/menthol	410	0	0
		5	0,33
		10	0,66
		20	1,33
		40	2,65
		60	3,98
		80	5,30
		100	6,63
		120	7,95
		150	9,94
		200	13,25
		300	19,88
		400	16,74
500	18,44		

Tableau 4-i : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et p-cymene 75/25 %**

Annexe 1

	[Thymol +P-cymene dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (μl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/P-cymene	10.02	0	0
		5	0,33
		10	0,66
		20	1,33
		40	2,65
		60	3,98
		80	5,30
		100	6,63
		120	7,95
		150	9,94
		200	13,25
		300	19,88
		400	16,74
500	18,44		

Tableau 4-i : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **eugenol et Eugenyl acetate 75/25 %**

	[Eugenol +Eugenylacetate dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (μl)	Concentration totale en espèces actives
Eugenol/eugenyl acetate	100.013	0	0
		5	0,06
		10	0,13
		20	0,25
		40	0,50
		60	0,75
		80	1,00
		100	1,25
		120	1,50
		150	1,88
		200	2,50
		300	3,75
		400	5,00
500	6,25		

Annexe 1

Tableau 5-a : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et 2-naphtol 25/75 %**

	[Thymol +2-naphtol dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/2-naphtol	14	0	0
		5	0,01
		10	0,03
		20	0,06
		40	0,11
		60	0,17
		80	0,22
		100	0,28
		120	0,33
		150	0,41
		200	0,55
		300	0,83
		400	1,10
		500	1,38

Tableau 5-b : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et eugenol 25/75 %**

	[Thymol +eugenoldans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/eugenol	10.013	0	0
		5	0,01
		10	0,03
		20	0,05
		40	0,08
		60	0,10
		80	0,13
		100	0,15
		120	0,19
		150	0,25
		200	0,38
		300	0,50
		400	0,63
		500	0,01

Annexe 1

Tableau 5-c : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et camphene 25/75 %**

	[Thymol +camphene dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/camphene	810	0	0
		5	1,51
		10	3,01
		20	6,03
		40	12,05
		60	18,08
		80	24,10
		100	30,13
		120	36,15
		150	45,19
		200	60,25
		300	90,38
		400	120,50
500	150,63		

Tableau 5-d : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et camphor 25/75 %**

	[Thymol +camphor dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/camphor	810	0	0
		5	0,94
		10	1,89
		20	3,78
		40	7,55
		60	11,33
		80	15,10
		100	18,88
		120	22,65
		150	28,31
		200	37,75
		300	56,63

Tableau 5-e : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et limonene 25/75 %**

Annexe 1

	[Thymol +limonene dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/limonene	510	0	0
		5	0,94
		10	1,89
		20	3,78
		40	7,55
		60	11,33
		80	15,10
		100	18,88
		120	22,65
		150	28,31
		200	37,75
		300	56,63
		400	47,70
500	52,55		

Tableau 5-f : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et menthol 25/75 %**

	[Thymol +menthol dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (µl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/menthol	410	0	0
		5	0,94
		10	1,89
		20	3,78
		40	7,55
		60	11,33
		80	15,10
		100	18,88
		120	22,65
		150	28,31
		200	37,75
		300	56,63
		400	47,70
500	52,55		

Tableau 5-i : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **thymol et p-cymene 25/75 %**

Annexe 1

	[Thymol +P-cymene dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (μl)	Concentration totale en espèces actives
Thymol/P-cymene	10.02	0	0
		5	0,94
		10	1,89
		20	3,78
		40	7,55
		60	11,33
		80	15,10
		100	18,88
		120	22,65
		150	28,31
		200	37,75
		300	56,63
		400	47,70
500	52,55		

Tableau 5-g : Concentration des solutions mères, concentration en espèces actives totale et volume prélevé pour le système artificiel **eugenol et Eugenyl acetate 25/75 %**

	[Eugenol +Eugenyl acetate dans la solution mère binaire] mg/ml	Volume prélevé (μl)	Concentration totale en espèces actives
Eugenol/eugenyl acetate	100.013	0	0
		5	0,19
		10	0,40
		20	0,82
		40	1,71
		60	2,67
		80	3,63
		100	4,65
		120	5,62
		150	7,15
		200	9,66
		300	14,65
		400	19,59
500	25,00		

Annexe 2

Tableau 6-a : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active pur ; 2-naphtol.

composé	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
2-naphtol	47,9761905	0,023	
	54,5833333		
	63,1547619		
	73,452381		
	79,8809524		
	83,3928571		
	85,4761905		
	87,0833333		
	88,2738095		
	89,5833333		
	92,0833333		
	92,9166667		
	93,8095238		

Tableau 6-b : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active pur ; camphène.

composé	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Camphène	0	197,944	
	2,93785		
	5,87571		
	10,50847		
	19,03955		
	29,66102		
	40,18251		
	50,79096		
	64,85876		

Annexe 2

Tableau 6-c : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active pur ; camphène.

composé	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Camphor	0	218,901	
	2,01149		
	3,96552		
	10		
	11,2069		
	18,27586		
	20,86207		
	23,56322		
	31,72414		
	39,31034		
	61,66667		
	68,33333		

Tableau 6-d : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active pur ; limonene.

Composé	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Limonene	0	43.065	
	4.76190476		
	9.22619048		
	13.0357143		
	14.6428571		
	25.0595238		
	30.7142857		
	33.1547619		
	56.3690476		
	60.1785714		
	68.8095238		
	73.8690476		

Annexe 2

Tableau 6-e : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active pur ; menthol.

Composé	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Menthol	0	81.269	
	1.04166667		
	3.067112963		
	5.61342593		
	6.65509259		
	9.94444444		
	9.20138889		
	15.5092593		
	21.1805556		
	30.8449074		
	49.4212963		
	58.1018519		
	75.4050926		

Tableau 6-f : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active pur ; p-cymene.

Composé	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
P-cymene	0	0.089	
	11.3807048		
	12.305026		
	13.5181976		
	16.0023108		
	19.0641248		
	24.3789717		
	26.4009243		
	28.3651069		
	29.4049682		
	35.0086655		

Annexe 2

	50.2599653		
	57.5389948		
	64.1825534		

Tableau 6-i : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active pur ; eugenol.

Composé	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Eugeno l	0	0,0016	
	3,73614		
	6,71337		
	9,86573		
	10,9749		
	12,3759		
	5		
	17,9217		
	7		
	22,6503		
	2		
	27,0286		
	31,0566		
	3		
	34,5592		
5			
37,7116			
2			
43,6077			
1			
50,3794			
5			
57,7933			
5			

Annexe 2

Tableau 6-g : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active pur ; eugenol.

composé	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])																
Eugynl acetate	14,1466208	1,616	<p>Détails du graphique : Le graphique illustre la relation entre la concentration massique de l'eugynil acetate (en mg/ml) et son activité antioxydante moyenne (en %). La courbe est une courbe sigmoïde qui s'élève de 0% à 100% d'activité à mesure que la concentration augmente de 0 à 25 mg/ml. L'EC₅₀ est indiquée comme étant de 1,616 mg/ml.</p> <table border="1"> <caption>Données estimées du graphique</caption> <thead> <tr> <th>eugynil acetat (mg/ml)</th> <th>moy A (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>0</td></tr> <tr><td>1,616</td><td>50</td></tr> <tr><td>5</td><td>85</td></tr> <tr><td>10</td><td>90</td></tr> <tr><td>15</td><td>92</td></tr> <tr><td>20</td><td>94</td></tr> <tr><td>25</td><td>95</td></tr> </tbody> </table>	eugynil acetat (mg/ml)	moy A (%)	0	0	1,616	50	5	85	10	90	15	92	20	94	25	95
	eugynil acetat (mg/ml)			moy A (%)															
	0			0															
	1,616			50															
	5			85															
	10			90															
	15			92															
	20			94															
	25			95															
	24,1695304																		
	38,0870561																		
45,5899198																			
64,2611684																			
69,9312715																			
84,1924399																			
91,1798396																			
93,2989691																			
96,04811																			

Annexe 3

Tableau 7-a : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/2-naphtol » à 50/50%

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/2-naphtol	23,3333	0,06681	
	35,2382		
	51,1304		
	66,0118		
	72,0833		
	73,0951		
	75,7147		
	78,3921		
	78,9882		
	79,4647		
	82,2021		
	83,3921		
	84,8804		

Tableau 7-b : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/camphène » à 50/50%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/camphène	0	131,973	
	2,54237		
	5,31073		
	9,60452		
	13,8411		
	16,9495		
	20,9035		
	24,5197		
	25,0845		
	25,9395		
	26,4978		

Annexe 3

	33,1634		
	40,1699		
	47,3443		
	54,8782		
	60		

Tableau 7-c : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/camphor » à 50/50%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/ camphor	0	20,296	<p>Détails du graphique : L'axe des ordonnées (Moy A (%)) varie de 0 à 70. L'axe des abscisses (thy/cam 1/1) (mg/ml) varie de 0 à 40. La courbe est une courbe sigmoïde qui passe par le point (20,296, 50). Les points de données sont : (0, 0), (5, 10), (10, 25), (15, 45), (20, 50), (25, 55), (30, 60), (35, 65), (40, 68).</p>
	5,6032		
	7,37564		
	8,97656		
	11,4351		
	23,4417		
	31,0461		
	34,3052		
	44,0823		
	48,8279		
	55,4039		
	68,2101		

Tableau 7-d : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/limonene » à 50/50%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/ Limonene	0	23.071	
	-1.0714286		
	8.1547619		

Annexe 3

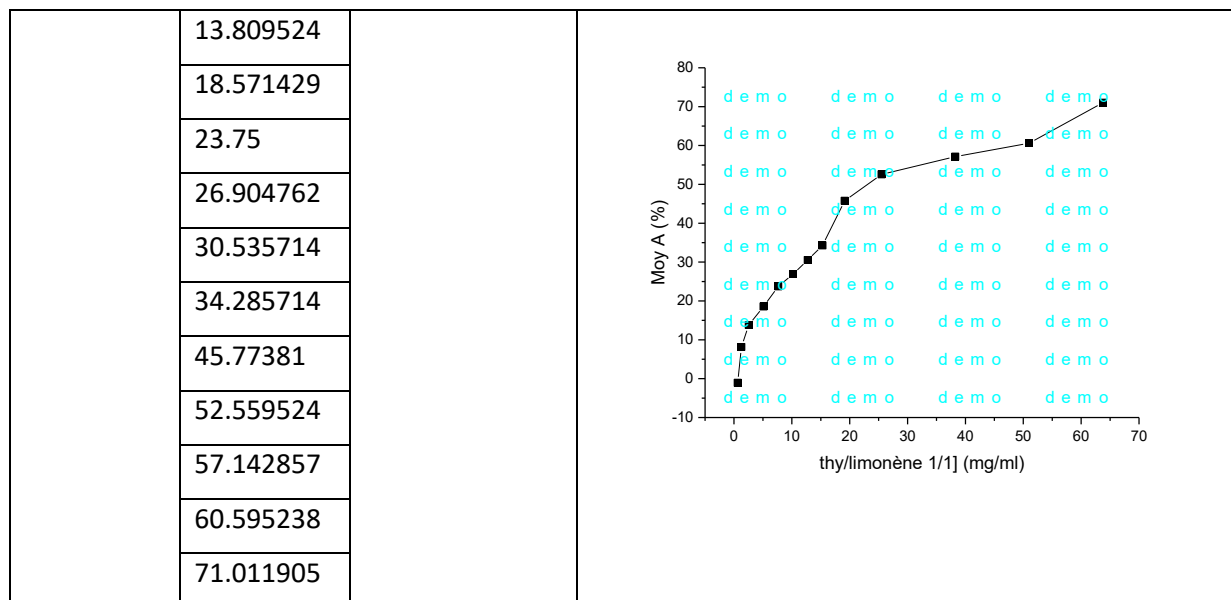


Tableau 7-e : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/menthol » à 50/50%.

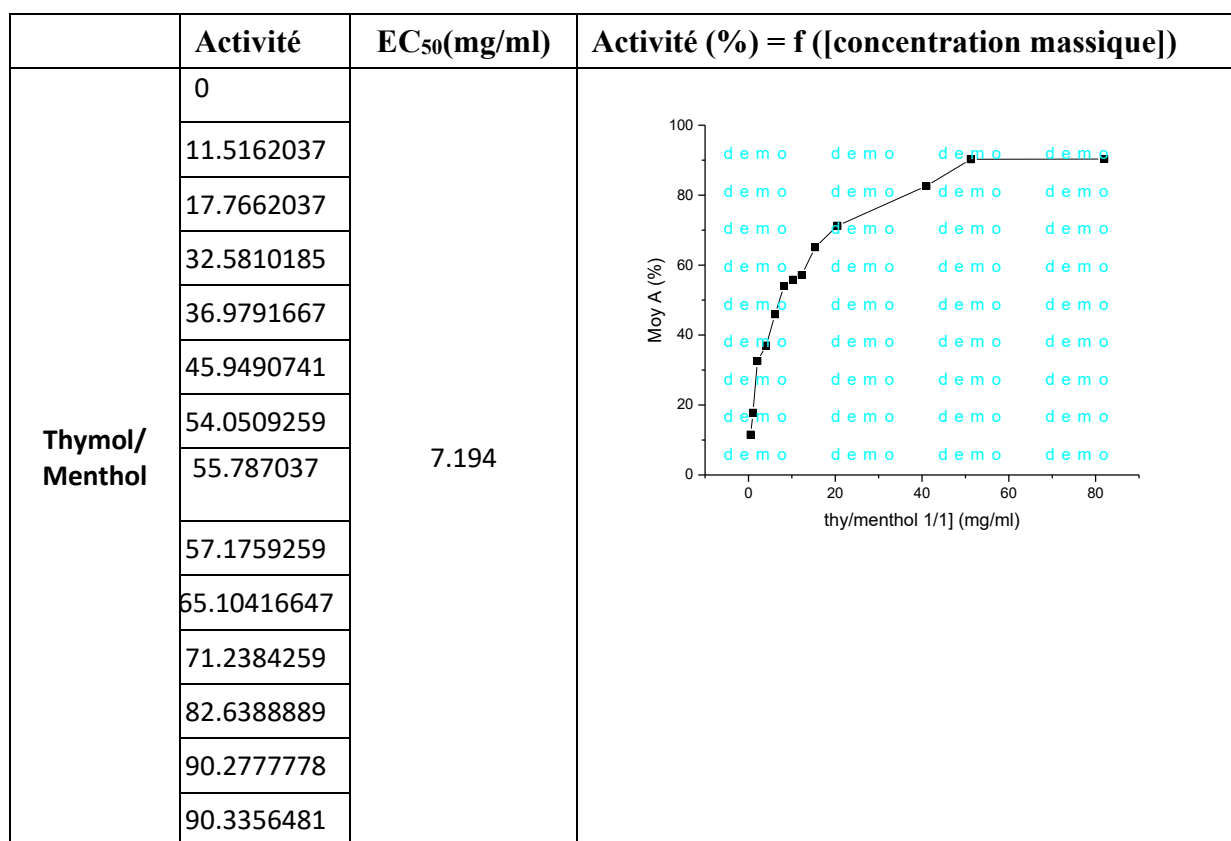


Tableau 7-f : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/p-cymene » à 50/50%.

Annexe 3

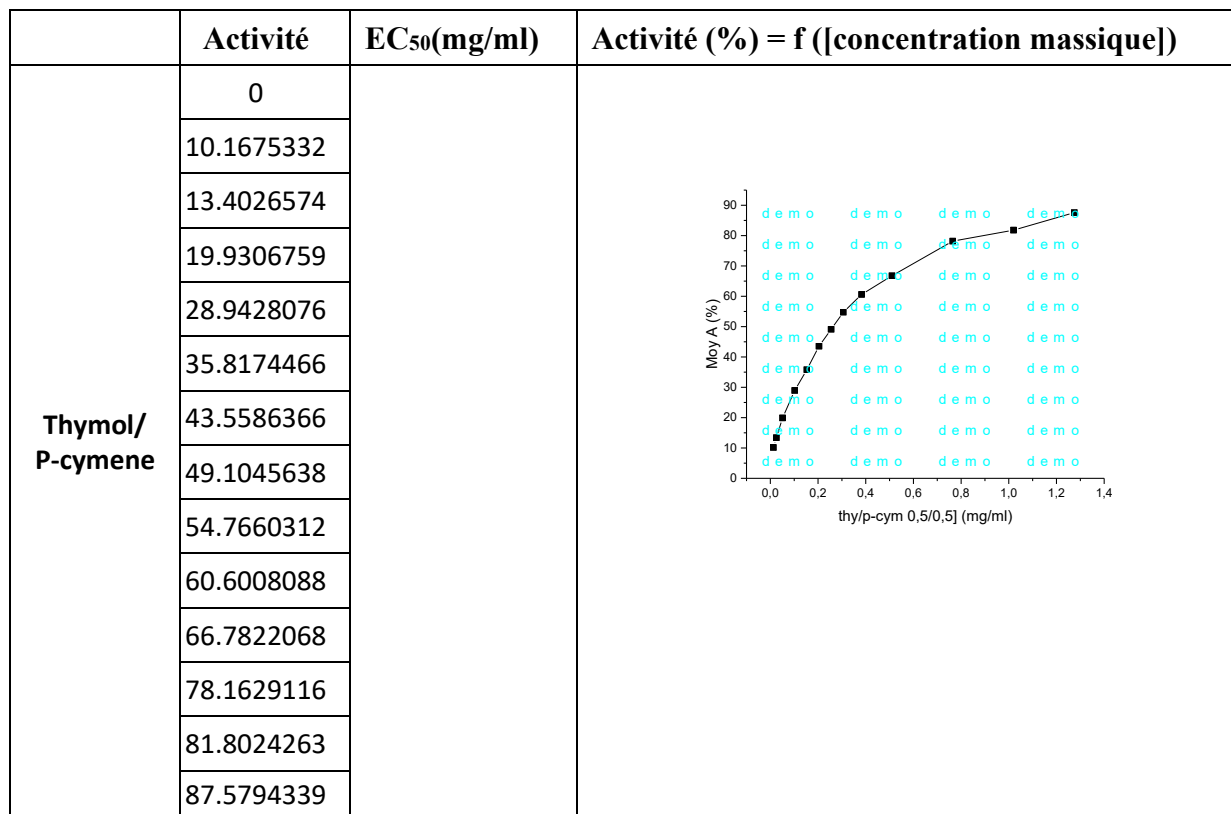
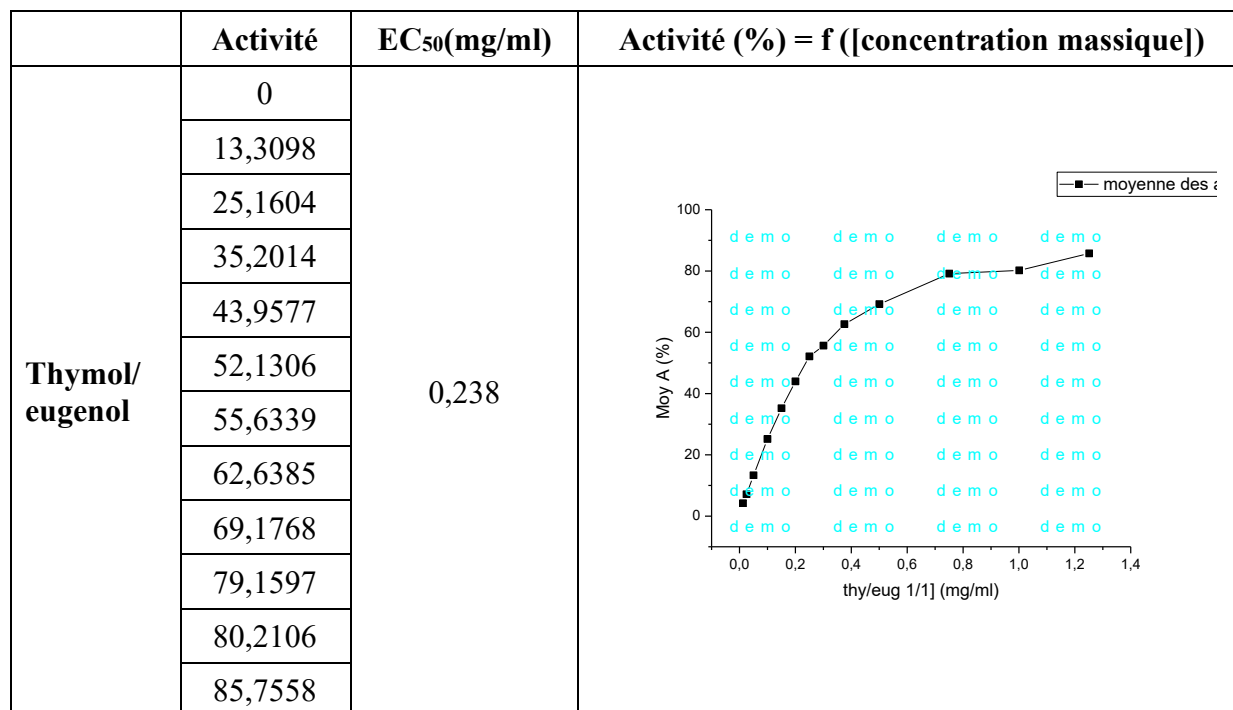


Tableau 7-g : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/eugenol » à 50/50%.



Annexe 3

Tableau 7-g : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « eugenol/Eugényl acetate » à 50/50%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Eugynol/eugeynl acetat	9,03953	2,324	
	14,0114		
	27,6832		
	36,3849		
	53,2208		
	58,2487		
	64,3509		
	67,6274		
	68,8705		
	74,8586		
	86,1589		

Tableau 8-a : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/2-naphtol » à 75/25%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/2-naphtol	20,8333333	0,123	
	26,25		
	44,2261905		
	57,3214286		
	63,452381		
	69,1071429		
	71,1904762		
	72,9166667		
	76,9642857		
	80,8928571		
	85,297619		
	87,797619		
90,1190476			

Annexe 3

Tableau 8-b : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/camphène » à 75/25%.

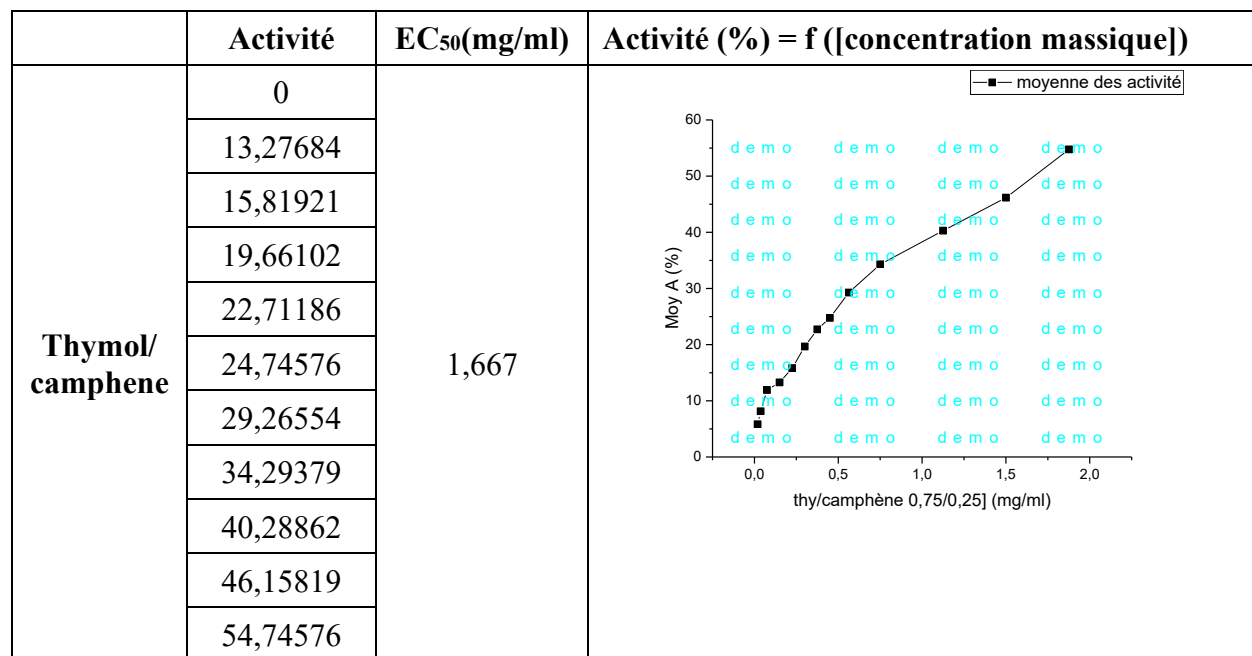
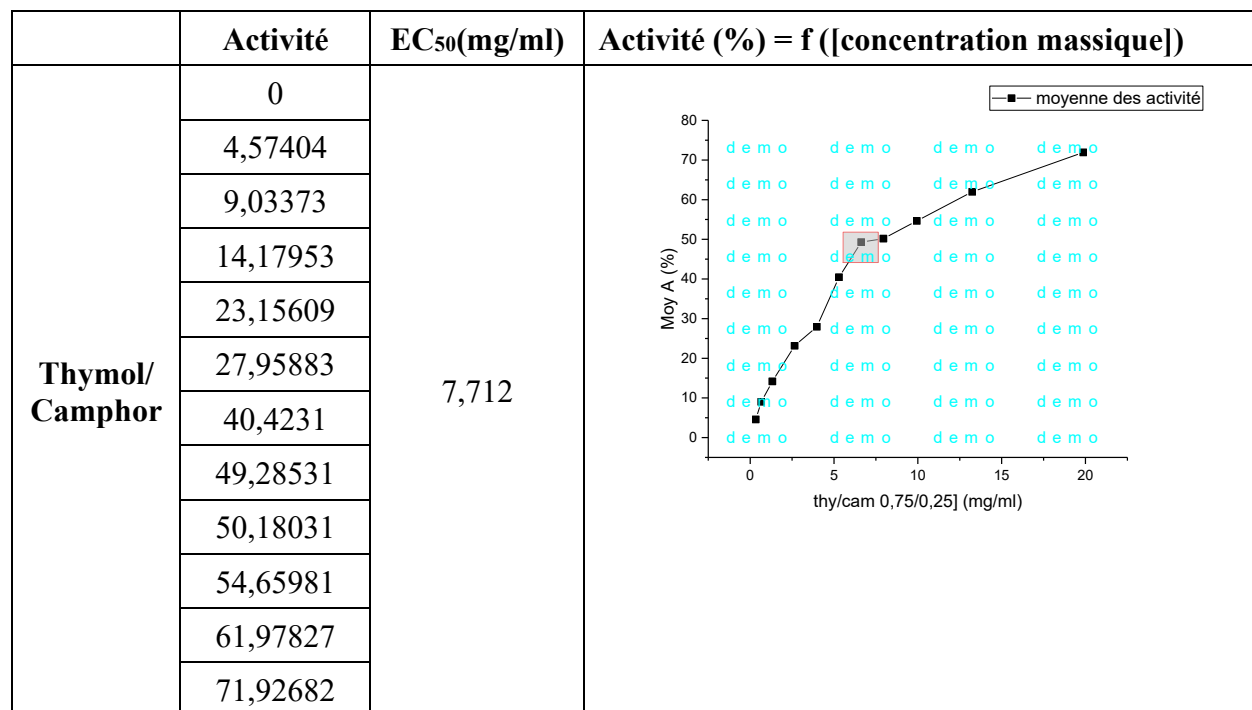


Tableau 8-c : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/camphor » à 75/25%.



Annexe 3

Tableau 8-d : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/eugenol » à 75/25%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/ Eugenol	0	8,545	
	8,1728		
	13,13485		
	17,1045		
	29,88908		
	41,73964		
	49,27029		
	55,57501		
	62,05487		
	67,6007		
	73,08815		
	80,03503		
	85,58085		
	89,84238		

Tableau 8-e : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/limonene » à 75/25%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/ Limonene	0	17.200	
	3.3928571		
	12.559524		
	17.321429		
	26.011905		
	33.27381		
	35.535714		
	39.761905		
	42.619048		
	44.702381		
	47.261905		

Annexe 3

	51.845238		
	55.0595524		
	55.952381		

Tableau 8-f : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/menthol » à 75/25%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/ Menthol	0	2.849	
	18.8078704		
	22.1643519		
	34.0856481		
	45.1388889		
	52.4884259		
	54.9768519		
	57.9282407		
	65.3356481		
	72.6273148		
	81.4814815		
	85.2430556		
	90.9722222		
	97.5694444		

Tableau 8- g: Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/p-cymene » à 75/25%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/ P-cymene	0		
	15.36684		
	21.8948585		
	25.1877527		
	36.6262276		
	57.0768342		
	61.1785095		

Annexe 3

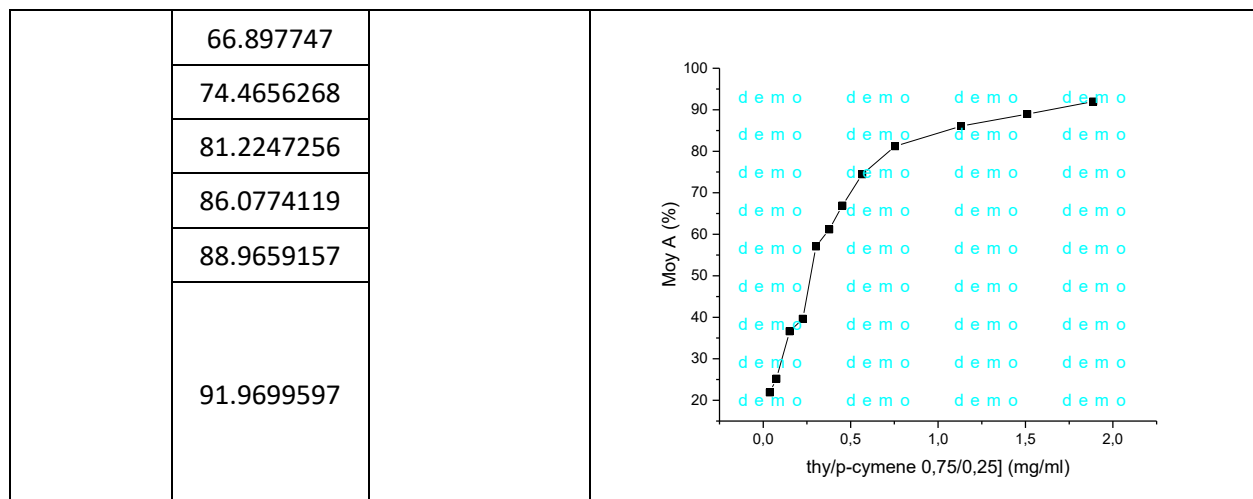


Tableau 8-h : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « eugenol/Eugenyl acetate » à 75/25%.

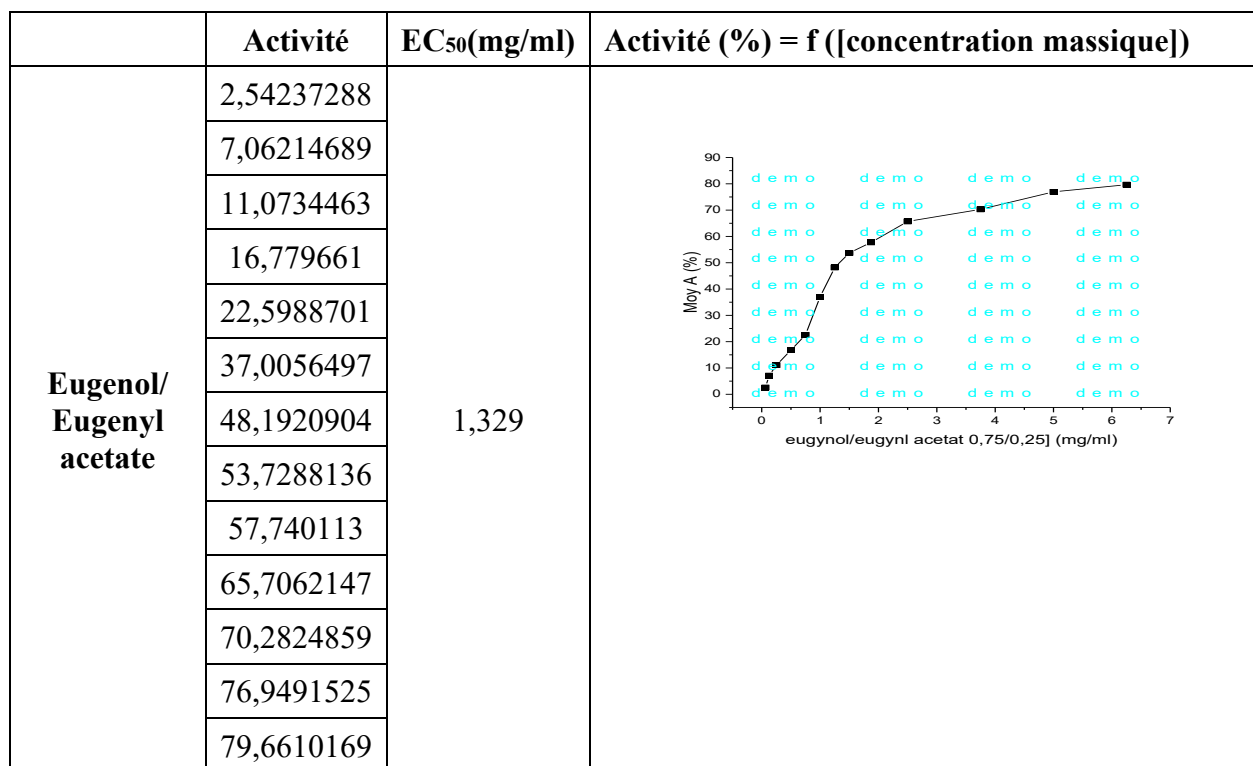


Tableau 9-a : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/2-naphtol » à 25/75%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/2- naphtol	32,0238095	0,035	
	45,5357143		

Annexe 3

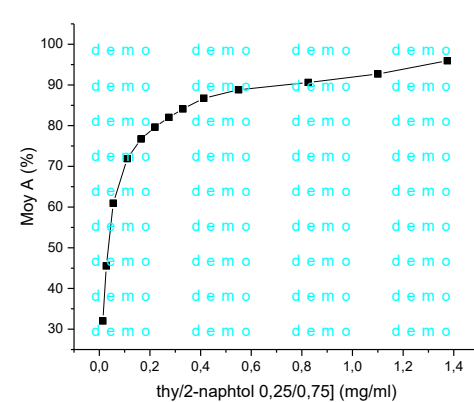
	60,952381		
	71,9047619		
	76,7261905		
	79,6428571		
	82,0238095		
	84,1071429		
	86,7261905		
	88,8095238		
	90,5952381		
	92,6785714		
	95,952381		

Tableau 9-b : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/camphene » à 25/75%.

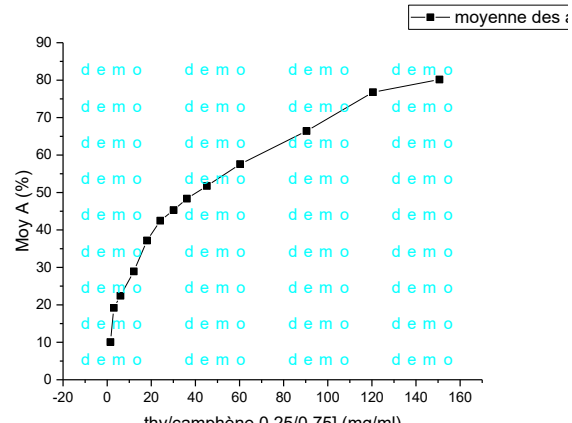
	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/ camphene	0	40,744	
	28,92655		
	37,17514		
	42,48588		
	45,31073		
	48,36158		
	51,75141		
	57,57062		
	66,41766		
	76,77966		
	80,16949		

Tableau 9-c : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/camphor » à 25/75%.

Annexe 3

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/ Camphor	0	45,617	
	4,40252		
	6,06061		
	8,4048		
	9,66266		
	18,41052		
	24,35678		
	27,27273		
	37,90738		
	41,85249		
	47,91309		
	52,94454		

Tableau 9-d : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/eugenol » à 25/75%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/ eugenol	0	0,179	
	25,74713		
	37,01149		
	39,48276		
	45,05747		
	51,72414		
	58,56322		
	65,74713		
	75,45977		
	88,67816		

Tableau 9-e : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/limonene » à 25/75%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
--	----------	--------------------------	---

Annexe 3

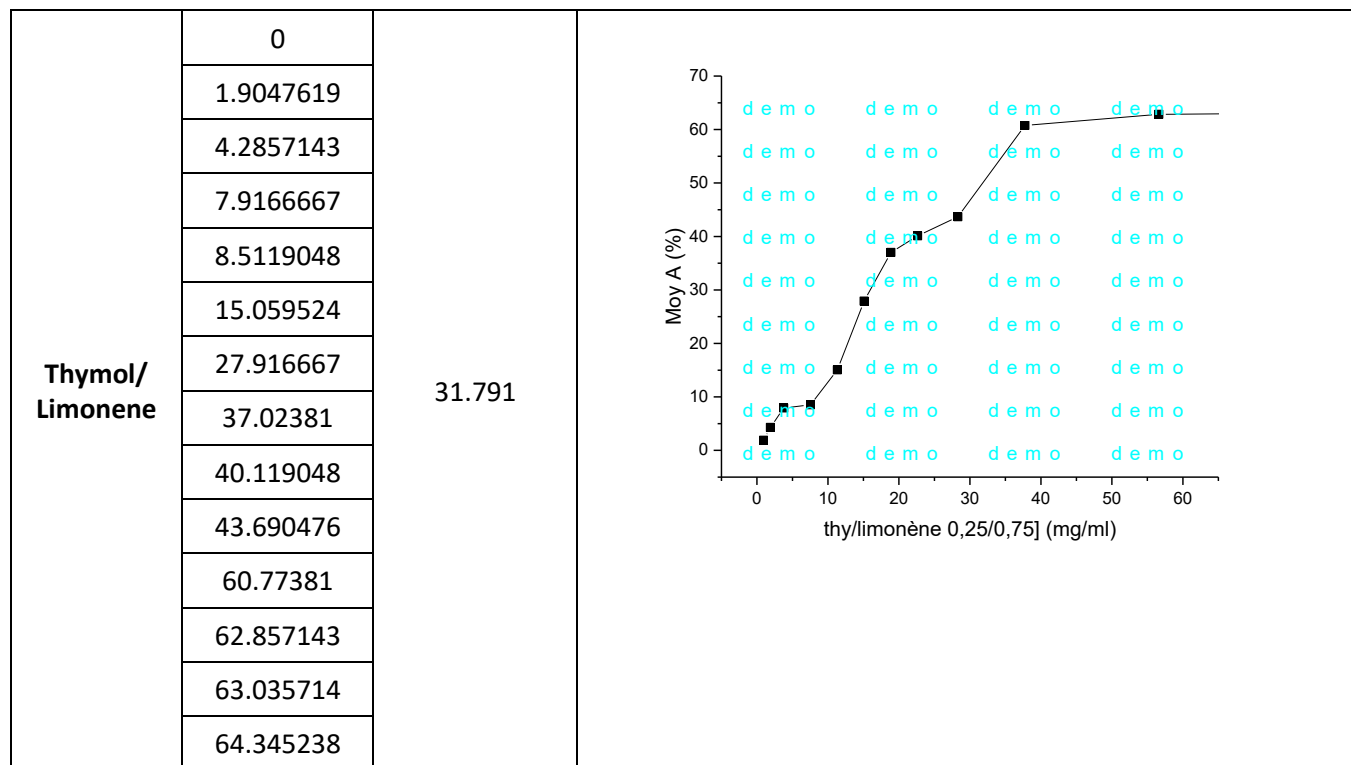
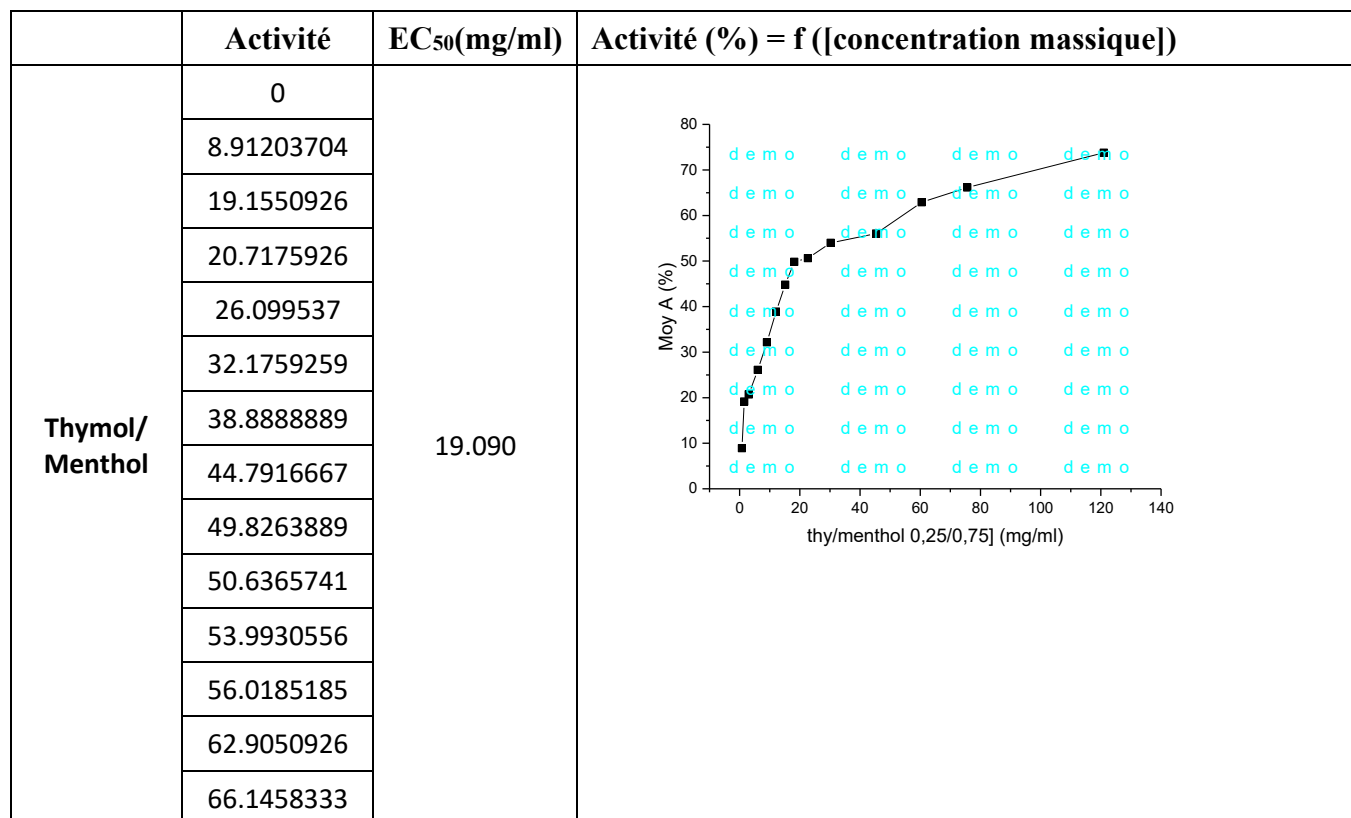


Tableau 9-f : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/menthol » à 25/75%.



Annexe 3

	73.7847222		
--	------------	--	--

Tableau 9-g : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « thymol/p-cymene » à 25/75%.

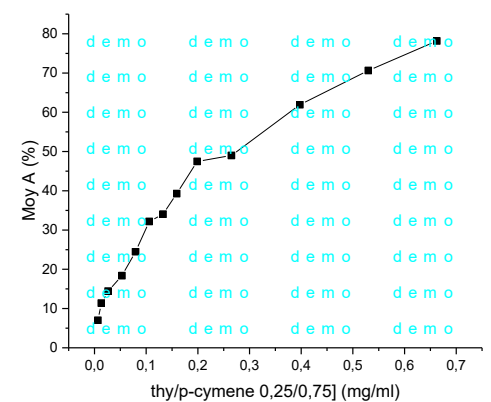
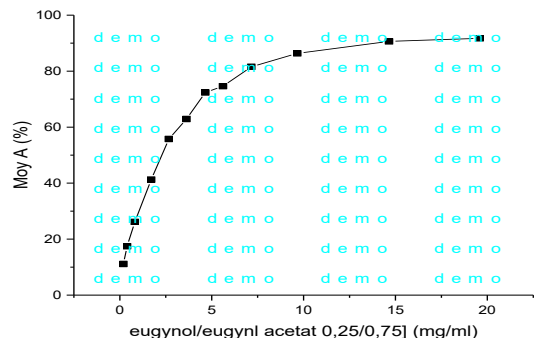
	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Thymol/ P-cymene	0	0,275	
	6.99017909		
	11.3807048		
	14.4425188		
	18.3708839		
	24.4945118		
	32.1779318		
	34.0265742		
	39.2836511		
	47.4870017		
	48.9890237		
	61.9295205		
	70.6528018		
	78.1629116		

Tableau 9-h : Activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration du pseudo composé « eugenol/Eugenyl acetate » à 25/75%.

	Activité	EC ₅₀ (mg/ml)	Activité (%) = f ([concentration massique])
Eugenol/ Eugenyl acetate	11,1111111	2,293	
	17,4523008		
	26,1503928		
	41,2457912		
	55,7800224		
	62,9068462		
	72,3905724		
	74,6352413		
	81,5375982		

Annexe 3

	86,3636364		
	90,6285073		
	91,7508418		