

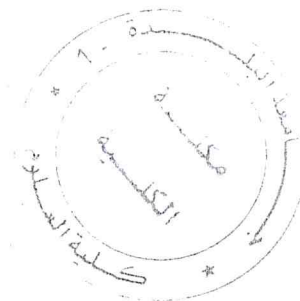
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université BLIDA 1

Faculté des Sciences

Département de Chimie



Mémoire présenté par

OULD HOCINE Lynda

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des Substances Naturelles

Titre

Etude de la composition chimique de l'espèce *Artémisia absinthium L*
de la région de Blida (Chrèa) et l'évaluation de son activité biologique

Soutenu publiquement en septembre 2015 devant le jury composé de :

A. Badis	Pr	Président	Université de Blida
S. Kasmi	MCA	Examinatrice	Université de Blida
Z. Chemat	MCB	Promotrice	Université de Blida

MA-540-94-1

Promotion 2014/2015

Remerciements

Avant tout, je remercie « ALLAH » le tous puissant de m'avoir donnée la force, le courage, la santé et la volonté pour pouvoir accomplir ce modeste travail.

Je tiens tout d'abord à remercier très sincèrement Mr M. EL HATTAB, Professeur à l'université Blida 1, de m'avoir accueillie au sein du laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, et qui, durant ces deux années m'a gratifiée de son savoir et son aide scientifique avec générosité.

Mes sincères remerciements à ma promotrice M^{me} Z. CHEMAT maître de conférence à l'université de BLIDA 1 pour son aide qu'elle m'a prodigué, pour son encadrement et les conseils apportés tout au long de ce travail ainsi que pour la confiance qu'elle m'a témoignée au cours des manipulations, et son investissement quotidien dans son travail.

J'adresse mes remerciements particuliers à M^{me} W. TOUAFEK, Responsable du Master Chimie des Substances Naturelles, et lui voue tous mes respects pour sa modestie, son aide et sa précieuse présence pour l'accomplissement de mon travail.

Je désire aussi remercier M^{me} S. KASMI pour toute sa disponibilité, son aide et son soutien sur le plan scientifique et humain

Mes remerciements vont également au Pr. Y. DAGHBOUCHE, et au Dr. N. BOUZIDI, pour leur gentillesse, leurs aides et leurs précieux conseils.

Je voudrais également adresser mes sincères remerciements à Mr BOUTOUMI, maître de conférences à l'université Blida 1, pour sa modestie, sa disponibilité et sa sincérité pour nous avoir transmis son savoir.

Je tiens à exprimer mes remerciements au Pr. A. BADIS pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury, comme je ne cesse de remercier

M^{me} S. KASMI d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je n'oublie surement pas mes chers parents qui m'ont entouré de leurs amours, leurs sacrifices et leurs générosités durant toute la durée de mes études.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à mes collègues et amies qui ont contribué par leur soutien et amitié, chacun par sa façon à la progression de mon travail dans une ambiance toujours amicale et stimulante.

Un très grand merci pour tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis Jour et nuit, nous mène vers le bonheur fleuri, Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys Nous prions dieu que cette soutenance Fera signe de persévérance Et que nous serions enchantés Par notre travail honoré.

Je dédie ce modeste travail

A la mémoire de mon cher Père OULD HOCINE Merzouk,

A l'âme de mon père qui m'a quitté sans voir le fruit de son éducation. Lui qui m'a transmis l'amour de vivre, l'amour de sacrifice et celui de continuer à donner sans limite.

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le Respect que j'ai toujours eu pour toi.

A ma très chère mère BENALI AMMAR Saliha

Tu représentes pour moi la source de tendresse et L'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et De prier pour moi.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour, Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et T'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher frère OULD HOCINE Mansour Djamel

Mon cher frère qui m'est le père et la mère, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour toi.

Je te dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A toutes ma famille et mes chers ami(e)s je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Résumé

Notre étude est basée sur une caractérisation chimique et phytochimique de l'*Artemisia absinthium* L de la région de Blida (Chr a) et sur des tests *in vitro* et *in vivo* pour mettre en évidence des activités biologiques de l'huile essentielle et l'extrait naturel.

Une étude qualitative et quantitative de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation, a été réalisée par l'analyse de CG/SM et par le calcul de rendement qui est égale à 0,25%. La méthode de l'hydrodistillation a fournit une faible teneur en composés chimique. Cette huile est composées majoritairement de 7-ethy,1,4-dimethyl Azulene avec un pourcentage de 52,22%.

Les tests d'activités antimicrobiennes effectués sur l'huile essentielle et l'extrait méthanolique extraite d'absinthe, ont montré que l'huile essentielle avait des actions extrêmement inhibitrices contre, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* par rapport à l'extrait.

L'activité antioxydante *in vitro* a été étudiée avec la méthode au DPPH. Le test d'activité montre que l'huile et l'extrait d'*Artemisia absinthium* présentent un très faible pouvoir antioxydant comparativement aux antioxydants pris comme référence. L'huile est doté d'un pouvoir antiradicalaire potentiellement élevé pas rapport à son extrait.

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique, a été testé *in vivo* selon le teste de Levy, les résultats de cette étude on montrées que l'extrait méthanolique d'*Artemisia absinthium*   la dose de 50mg/kg présente une efficacité sur l'œdème aigue de la patte postérieure gauche des souris, induit par la carraghénine, avec une meilleur efficacité vis-à-vis de celle de l'anti-inflammatoire non st ro id n.

Le dosage quantitatif des composés phénoliques par la méthode de Folin- Ciocalteu   révélé que l'absinthe est pauvre en polyphénols totaux.

Mots clés : Huile essentielle, Etude chimique, Activités biologiques, Etude phytochimique.

ملخص

ترتكز دراستنا على دراسة الخواص الكيميائية والكميائية النباتية لنبات *Artemisia absinthium L* من منطقة البليدة (شريعة) و على الفحوص المختبرية *in vitro* و *in vivo* للتدليل على الأنشطة البيولوجية للزيت الأساسي و المستخلص النباتي الطبيعي .

تم إجراء دراسة نوعية وكمية من الزيت المستخرج بواسطة التقطير بالبخار من خلال تحليل GC / MS وحساب المرود الذي قدر ب 0,25%. نتج عن طريقة التقطير بالبخار مركبات كيميائية منخفضة. ويتكون هذا الزيت أساسا من 7 إيثيل، 4،1-ثنائي ميثيل آزولين بنسبة 52.22%.

أظهرت الاختبارات النشاط المضادة للميكروبات التي أجريت على الزيت أساسي و المستخلص الميثانولي المستخرج من نبات الأفسنتين ان هذا الزيت الاساسي له تأثير مثبط ضد الميكروبات في اختبار السلالة على وجه الخصوص

Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumonia, Streptococcus pneumoniae et Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans, Aspergillus flavus

مقارنة بالمستخلص الميثانولي.

تمت دراسة نشاط مضادات الأوكسدة اين فيترو في التجارب المختبرية باستخدام طريقة DPPH اختبار النشاط يدل على أن الزيت و المستخلص للأفسنتين لديهما قدرة مضادة للأوكسدة منخفضة جدًا بالمقارنة مع المواد المضادة للأوكسدة المستخدم كمرجع و الزيت لديه طاقة عالية بالمقارنة مع مستخلصه.

تم اختبار النشاط المضادة للالتهابات للمستخلص الميثانولي *in vivo* وفقا لاختبار Levy، فإن نتائج هذه الدراسة اظهرت أن مستخلص الميثانول من شيح الأفسنتين بجرعة 50مغ / كغ لديه كفاءة على ذمة الحادة للرجل الأيسر من الفئران، التي يسببها الكاراجينان، مع كفاءة أفضل مقارنة بالمضادة للالتهابات non stérodièn.

كشفت التحديدات الكمية من المركبات الفينولية عن طريقة Folin-Ciocalteu أن الأفسنتين منخفضة في إجمالي البوليفينول.

كلمات البحث: الزيت الاساسي، الدراسة الكيميائية، الأنشطة البيولوجية، البحوث الكيميائية النباتية.

Abstract

Our study is based on a chemical and phytochemical characterization of *Artemisia absinthium* L of the Blida region (Chr ea) and in vitro assays and in vivo to demonstrate the biological activities of the oil and natural extract.

An essential qualitative and quantitative study of the oil extracted by steam distillation was performed by analysis of GC / MS and the performance calculation is 0.25%. The method of steam distillation provides a low chemical compounds. This oil is composed mainly of 7-ethyl, 1,4-dimethyl Azulene with a percentage of 52.22%.

The antimicrobial activity tests carried out on the essential oil and the methanol extract extracted wormwood showed that the essential oil was extremely inhibitory actions against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* , *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* relative to the extract.

The antioxidant activity in vitro was studied with the method DPPH. The activity test shows that the oil and the extract of *Artemisia absinthium* have very low antioxidant power compared to Antioxidants taken as reference. The oil has a potentially high antiradical power not from its extract.

The anti-inflammatory activity of methanol extract was tested in vivo tests according to Levy, the results of this study show that the methanol extract of *Artemisia absinthium* at a dose of 50mg / kg has an efficiency of the acute edema of the left hindpaw of mice, carrageenan-induced, with a better efficiency vis-a-vis that of the non st roid n anti-inflammatory.

The quantitative determination of phenolic compounds by the method of Folin Ciocalteu has revealed that absinthe is low in total polyphenols.

Keywords: Essential oil, Chemical study, Biological Activities, Research, phytochemical.

Liste des abréviations

ABS	: Absorbance
AFNOR	: Association Française de la Normalisation
ATCC	: American Type Culture Collection
°C	: Degré Celsius
CE₅₀	: Concentration effective correspondant à une inhibition de 50% des radicaux libres
CG/SM	: Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse
GSD	: Gélose Sabouraud dextrose
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EM	: Extrait méthanolique
FC	: Folin-Ciocalteu
g	: Gramme
HD	: Hydrodistillation
HE	: Huile essentielle
kg	: Kilogramme
MH	: Muller Hinton
min	: Minute
ml	: Millilitre
mm	: millimètre.
nm	: nanomètre
UV	: Ultra - Violet
Vis	: Visible
Vit C	: Vitamine C
ZI	: Zone d'inhibition
%	: Pourcentage

Liste des Figures

Figure 1	L'espèce d' <i>Artémisia absinthium L</i>	4
Figure 2	Une touffe d'absinthe originale	5
Figure 3	Feuilles d'absinthe originale	6
Figure 4	Fleurs d' <i>Artémisia absinthium L</i>	6
Figure 5	Habitat d' <i>Artémisia Absinthium L</i>	7
Figure 6	Formules développées de quelques monoterpènes rencontrés dans l'huile essentielle d'Absinthe	13
Figure 7	Schéma du dispositif de l'entraînement à la vapeur d'eau	18
Figure 8	Schéma du dispositif de l'hydrodistillation.	19
Figure 9	Montage d'hyrodiffusion	19
Figure 10	Effet biologiques des polyphénols	22
Figure 11	Schéma directeur des différentes étapes de notre étude	24
Figure 12	Catre géographique de la région de Blida	25
Figure 13	Les parties aériennes séchées de l' <i>Artemisia absinthium L</i>	26
Figure 14	Montage de l'hydrodistillation	27
Figure 15	Préparation de l'extrait brut à partir de la matière végétale sèche.	30
Figure 16	Protocole de mise en œuvre du test de dosage des phénols totaux.	32
Figure 17	Illustration de la méthode d'aromatogramme	33
Figure 18	Forme libre et réduite du radical DPPH	37
Figure 19	Différentes étapes de l'activité anti inflammatoire	41
Figure 20	Influence de la masse de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle	42
Figure 21	Evolution du rendement en fonction du temps	44

Figure 22	Huile essentielle de l’Absinthe	45
Figure 23	Profile chromatographique d’analyse de l’huile essentielle de l’Absinthe extraite par hydrodistillation	48
Figure 24	Extrait méthanolique de l’Absinthe	49
Figure 25	Droite d’étalonnage des solutions standards de l’acide gallique allant de 0.01 à 0.06 mg.ml ⁻¹ obtenue par le teste de Folin-Ciaocalteu	49
Figure 26	Aromatogrammes des Bactéries testées avec l’extrait méthanolique et l’huile essentielle de l’absinthe.	53
Figure 27	Histogramme des diamètres des zones d’inhibition des bactéries	54
Figure 28	Aromatogrammes des champignons testées avec l’extrait méthanolique et l’huile essentielle de l’absinthe	55
Figure 29	Histogramme des diamètres des zones d’inhibition des champignons	56
Figure 30	Variation du taux de piégeage du DPPH par l’HE de l’absinthe en fonction des différentes concentrations	57
Figure 31	Variation du taux de piégeage du DPPH par l’extrait méthanolique de l’absinthe en fonction des différentes concentrations	58
Figure 32	Variation de taux de piégeage du DPPH par « la vitamine C » en fonction des différentes concentrations	59
Figure 33	Histogramme représentant des valeurs de EC ₅₀ des échantillons testés et l’antioxydant de référence	61
Figure 34	Pourcentage d’œdème chez les trois lots	63
Figure 35	Pourcentage de réduction d’œdème de l’extrait et de produit de référence	63

Liste des Tableaux

Tableau 1	Comparaison entre les teneurs (%) des composés majoritaires de l'huile essentielle d'absinthe de l'Algérie avec ceux des autres pays	11
Tableau 2	Le pourcentage et la composition chimique % de l'huile essentielle de l'absinthe provenant de l'iran	12
Tableau 3	Souches microbiennes testées et leurs références.	34
Tableau 4	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle <i>d'Artemisia Absinthium L</i>	45
Tableau 5	Propriétés physico-chimiques l'huile essentielle <i>d'Artemisia Absinthium L</i>	45
Tableau 6	Composition chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne d'artémisia absinthium extraite par Hydrodistillation.	47
Tableau 7	Variation des absorbances et du taux de piégeage du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle et de l'extrait d'absinthe.	57
Tableau 8	Variation des absorbances et du taux de piégeage du DPPH en fonction des Différentes concentrations d'acide ascorbique	57
Tableau 9	Variation des absorbances et du taux de piégeage du DPPH en fonction des Différentes concentrations d'acide ascorbique	58
Tableau 10	EC ₅₀ des échantillons naturels et des standards	59
Tableau 11	Résultats d'Activités anti-inflammatoires	62

SOMMAIRE

Remerciements.....	I
Résumé	IV
ملخص.....	V
Abstract	VI
Liste des abréviations	VII
Liste des figures	VIII
Liste des tableaux.....	X
Introduction.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. Présentation de la plante <i>Artemisia absinthium</i> L ...	3
I. 1 Introduction	3
I. 2 Historique	3
I. 3 Origine et distribution géographique	3
I. 4 Etude botanique et biologique de l'absinthe	4
I. 4.1. Classification classique.....	4
I. 4.2. Noms communs	4
I. 5 Biologie de l' <i>Artémisia absinthium</i> L.....	5
I.5.1. L'appareil végétatif de l' <i>Artémisia absinthium</i> L	5
I.5.2. L'appareil reproducteur de l' <i>Artémisia absinthium</i> L	6
I.6 Exigences écologiques	7
I.6. 1. Climatiques	7
I.6.2. Edaphique	7
I.7. Utilisations de l'Absinthe	8
I.7.1. Propriétés thérapeutiques	8
I.7.2. Usage culinaire	8
I.7.3. Un stimulant digestif	8

I.7.4. Un vermifuge	9
I.7.5. Un anti-inflammatoire	9
I.7.6. Un insecticide	9
I.8. Travaux antérieurs effectués sur <i>l'Artémisia absinthium L</i>	9
I.8.1. Composition chimique de l'Absinthe	9
I.8.1.1. substances amères.....	9
I.8.1.2.Huiles essentielles	10
I.9. Activités biologiques d' <i>Artemisia Absinthium L</i>	14
I.9.1. Activité antimicrobienne	14
I.9.2. Activité antioxydante	14
I.9.3. Activité insecticide.....	15

Chapitre II : Généralités sur les Huiles essentielle et Les polyphénols

II.1 Huile essentielle	16
II. 1.1 Définition	16
II. 1.2 Intérêts	16
II. 1.3 Propriétés physiques	16
II. 1.4 Composition chimique des huiles essentielles	17
II. 1.4.1 Monoterpènes	17
II. 1.4.2 Sesquiterpènes	17
II.1.4.3 Composés aromatique	17
II. 1.5. Technique d'extraction	18
II. 1.5.1 Entrainement à la vapeur d'eau	18
II. 1.5.2 Hydrodistillation	18
II. 1.5.3 Hydrodiffusion	19
II. 1.5.4 Extraction assistée par micro-onde	20
II. 1.5.5 Extraction par gaz supercritique.....	20
II. 2. Composés phénoliques.....	21
II. 2.1 Définition	21
II. 2.2 Actions pharmacologiques des polyphénols	21

II. 2.3 Techniques d'extraction	22
II. 2.4. Catégories des polyphénols	22
II.2.4.1 Formes les plus simples	23
II.2.4.1.1 Acides phénoliques	23
II.2.4.1.2. Coumarines	23
II.2.4.1.3. Flavonoides	23
II.2.4.2. Forme condensées (Tanin)	23

Chapitre III : Matériels et Méthodes

III. 1 Matière végétale	25
III.1.1 Récolte traitement et conservation.....	25
III.1.2 Identification botanique	26
III. 2 Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	26
III.2.1. Détermination de l'influence de la masse végétale à traiter	27
III.2.2. Détermination de la durée d'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne de l' <i>Artemisia absinthium L</i> (la cinétique)	27
III.3 Mode opératoire et appareillage	27
III.3.1. Calcul du rendement en huile essentielle.....	28
III.4 Propriétés physico-chimiques et organoleptiques	29
III.5. Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle par chromatographie en Phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)	29
III.6. Préparation de l'extrait méthanolique	30
III.6.1. Méthode de macération.....	30
III.6.2. Procédure expérimentale	30
III.7. Etude phytochimique.....	31
III.7.1. Dosage des phénols totaux_	31
III.7.2. Procédure expérimental	31
III.8. Tests des activités biologiques.....	33
III.8.1. Tests d'activités antimicrobiennes	33

III.8.1.1 Etude de l'activité antimicrobienne d'HE et de l'EM d' <i>Artemisia Absinthium L.</i>	33
III.8.1.2. Technique en milieu solide : Méthode des aromatogrammes	33
III.8.1.3. Microorganismes utilisés	33
III.8.1.4. Milieux de culture	34
III.8.1. 5. Protocole expérimental	35
III.9. Test d'Activité anti-oxydante	36
III.9.1. Méthode au DPPH.....	36
III.9.2. Principe	36
III.9.3. Mode opératoire	37
III.10. Test d'activité anti-inflammatoire	39
III.10.1. Introduction	39
III.10.2. Méthode d'œdème à la Carraghénine chez la souris selon Levy	39
III.10.2.1. Mode opératoire	39
III.10.2.2. Expression des résultats.....	40
 Chapitre IV : Résultats et Discussions	
IV.1. Extraction de l'huile essentielle d' <i>Artemisia Absinthium L</i> par hydrodistillation	42
IV.1.2. Paramètres influençant le rendement en HE	42
IV.1.2.1. Influence de la masse végétale	42
IV.1.2.2. Evolution du rendement en HE en fonction de la durée d'extraction	43
IV.2. Caractérisation de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de l' <i>Artemisia Absinthium L</i>	43
IV.2.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle	44
IV.2.2. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d' <i>Artemisia Absinthium</i>	45
IV.3. Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	46
IV.4. Etude phytochimique	49

Introduction générale

Les substances naturelles connaissent un intérêt croissant pour des applications dans de nombreux produits de consommation. Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps. La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles, ils sont alors appelés « plantes aromatiques ». Un grand nombre de plantes aromatiques possèdent des propriétés biologiques très intéressantes [1]. Cependant, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydante, anti-inflammatoire et antimicrobienne, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'utilisation rare ou moins fréquente ou non connues en médecine [2].

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement localisé surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Artemisia absinthium L.*

Cette plante est largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée,...etc. a constitué le sujet de plusieurs études. Cette étude s'intègre dans le contexte global de la mise en valeur de la biodiversité des plantes aromatiques et médicinales algériennes en générale et des espèces du genre *Artémisia* en particulier pour leurs propriétés médicinales. Le genre *Artemisia* est l'un des plus importants de la famille des *Asteraceae*. Il a été enregistré onze espèces d'*Artémisia* en Algérie [3].

Artemisia absinthium L communément appelé « Chedjret Merieme » [4]. Cette espèce a été utilisée depuis l'antiquité dans la médecine populaire. Traditionnellement celle-ci est utilisée comme un antipyrétique, un antimicrobien, dans le traitement des plaies, des insecticides et d'autres [5]. Cependant, à notre connaissance, aucune étude détaillée n'a été réalisée auparavant sur l'absinthe poussant spontanément au centre d'Algérie particulièrement à Blida (Chrèa).

Au cours de cette étude, nous avons étudié la caractérisation de l'huile essentielle de l'absinthe grâce à la détermination de sa composition chimique. Ainsi que

son activité biologique et antioxydante. Dans ce travail, nous avons aussi effectué, une étude phytochimique de l'extrait méthanolique de l'absinthe, pour évaluer la teneur des phénols totaux, Ainsi que son activité biologique comme antimicrobienne, anti-inflammatoire et antioxydante.

Notre travail sera donc réparti en deux parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique dans laquelle nous présentons la matière végétale, son utilisation et les travaux dont elle a fait l'objet. Ainsi qu'un aperçu sur les généralités des huiles essentielles et les polyphénols.
- La deuxième partie sera consacrée aux matériels et méthodes employés lors de cette étude ainsi que l'interprétation des discussions des résultats expérimentaux, nous terminerons par une conclusion générale et les perspectives des actions à mener.

CHAPITRE I
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Présentation de la plante *Artemisia absinthium* L :

I.1. Introduction :

Les Astéracées constituent l'une des plus vastes familles du règne végétal, c'est la deuxième après les orchidées. Cette famille comprend plus de 20.000 espèces végétales. Le métabolisme terpénique est généralement intense chez cette famille qui élabore une grande variété de structures : mono, sesqui, di, et tri-terpénique. La famille des Astéracées comprend de nombreuses plantes aromatiques et médicinales. Parmi les genres importants : *Artémisia* avec 300 espèces. Ils sont utilisés dans une grande partie des pharmacopées locales en raison de leurs diverses propriétés médicinales [6].

I.2. Historique :

L'absinthe est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues. Depuis le temps les plus reculés ; on l'utilisait dans la thérapeutique. Selon Gilly [7] ; « *bsinthium* » signifie : douceur et avec le préfixe *a* privatif *absinthium* signifie : sans douceur. C'est une boisson alcoolisée très renommée appelée aussi « La Fée verte ». Cependant, l'huile est toxique et la plupart des pays ont interdit sa fabrication depuis le début du 20^{ème} siècle La plante fut déclarée toxique à cause de la présence des thuyones. Ce n'est qu'en 1999 qu'il est à nouveau permis de cultiver, de distiller et de consommer la plante [7].

I.3. Origine et distribution géographique :

L'absinthe, plante herbacée très aromatique, est originaire du sud de la Sibérie et du Cachemire. L'espèce est cultivée dans les pays Balkans, en Angleterre, en France, Afrique du nord (Algérie et Maroc) et elle est également présente dans l'est de l'Amérique du nord au Canada et en Turquie [8].

I.4. Etude botanique et biologique de l'absinthe :

I.4.1. Classification classique :

L'absinthe appartient : [9]

- Règne : *Plantae*.
- Sous-règne : *Tracheobionta*
- Division : *Magnoliophyta*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Sous-classe : *Arteridae*
- Ordre : *Asterales*
- Famille : *Astéracées (eae)*
- Genre : *Artemisia*
- Espèce : *Artemisia absinthium L*



Figure 1 : L'espèce d'*Artémisia absinthium* [10]

I.4.2. Noms communs :

▪ En Algérie (nom vernaculaire)

Diverses appellations sont attribuées à l'*Artémisia absinthium L.* En kabyle : *Thamemmayth* [11] En Arabe : *Chiha Coracani*, *Chaibet el Adjouz*, *Deqnatech Cheik*, *Chiba*, *Chedjret Merieme* [11]

▪ Dans d'autres pays

L'*Artémisia absinthium L.* possède plusieurs autres appellations à travers l'Europe telle que :

- 1) Nom Français : *Absinthe* [7].
- 2) Nom Anglais : *Wormwood* [7].
- 3) Nom Allemand : *wermut* [7]
- 4) Nom Espagnol : *encens* [7].
- 5) Nom Italien : *assenzo* [7].

I.5. Biologie de l'*Artémisia absinthium* L. :

C'est une plante vivace (figure 2) pouvant atteindre 90 cm à 1 m de haut, recouverte de poils soyeux blancs argentés et de nombreuses glandes oléifères. Son odeur est très forte, sa saveur est fortement amère et aromatique [12].



Figure 2: Touffe d'absinthe originale

I.5.1. L'appareil végétatif de l'*Artémisia absinthium* L: [13]

- **Racine** : La plante possède un rhizome dur.
- **Tige** : Les tiges sont souterraines, ligneuses ; dressés et rameuses. Les fragments de tige sont rigides, gris argentés, à l'extérieur sont anguleux et possèdent une moelle interne.
- **Feuilles** : L'absinthe possède des grosses touffes de feuilles recouvertes d'un fin duvet gris pale (figure I 3) dont les feuilles sont composées, opposées à la base, puis alternes pour le reste de la plante. Elles sont très découpées, plumeuses, pennatilobées en trois lobes dentés. Les feuilles basilaires mesurent jusqu'à 25 centimètres de long et sont longuement pétiolées (Figure I 4). Les feuilles caulinaires sont brièvement pétiolées, moins divisées. Les feuilles au sommet peuvent même être simples et sessiles (sans

pétiole). Involucre blanchâtre à folioles linéaires. Les rameaux portent à leurs extrémités des petits capitules globuleux. Elles sont vert grisâtre au dessus et vert argenté, Presque blanches et soyeuses, sur le dessous.

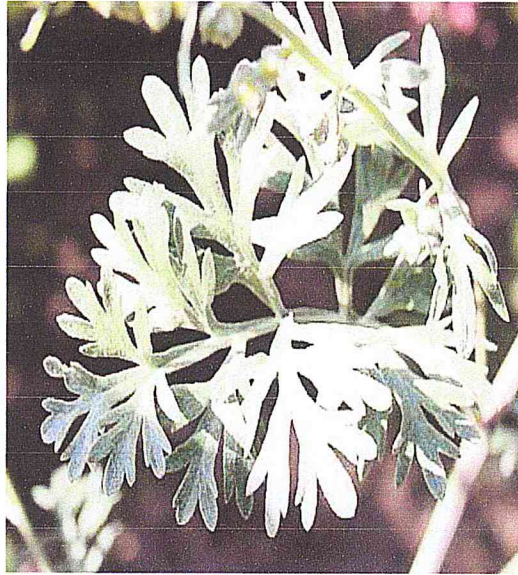


Figure 3 : Feuilles d'absinthe originale [13].

I.5.2. L'appareil reproducteur de *l'Artemisia absinthium L* : [13]

- **Fleur et inflorescence** Les fleurs sont jaunes, (figures 5) tubulaires. La floraison a lieu de juillet à septembre. Inflorescence en petits capitules (composée) globuleux souvent pendants, à leur tour réunis en grappes ou longs panicules feuillés et ramifiés, parfois terminales. Bractées florales en rangs peu nombreux avec Pappus souvent présent.



Figure 4 : Fleurs d'*Artemisia absinthium L* [13]

- **Fruits et graines** Le fruit de l'absinthe est un akène, fruit sec non soudé à la graine dont la dissémination est de type barochore. Les graines tombent à côté de la plante en automne [13].

I.6. Exigences écologiques :

I.6. 1. Climatiques :

La plantation de la l'*Absinthe* exige des endroits bien ensoleillés ; une terre souple, légère. Aime les sols riches en azote, elle peut pousser dans les régions à faible pluviosité et sa culture est possible également dans des zones arides et sèches [14].

I.6.2. Edaphique :

L'absinthe n'est pas exigeante en sol, elle pousse dans les plaines, montagnes, pentes, régions secs et arides, terrains rocheux et le bord des routes, Elle réussit sur des sols acides et sols argileux calcaires (figure I.6). Cette plante est disséminée également dans les régions incultes. Elle est même indiquée pour mettre en valeur les terrains pauvres et inaptes aux autres cultures [14].



Figure 5 : Habitat d'*Artémisia Absinthium L* [14].

I.7. Utilisations de l’Absinthe :

I.7.1. Propriétés thérapeutiques :

L’absinthe est un excellent tonique amer, elle est légèrement diurétique, emménagogue et vermifuge. C’est l’un des meilleurs toniques stomatiques contre la dyspepsie, la gastrologie et les insuffisances hépatiques [15]. Les substances amères présentes dans cette espèce lui confèrent des propriétés thérapeutiques. De ce fait, elle est apéritive, eupeptique, cholérétique et carminative [16].

La plante possède également une action antitoxique en cas d’intoxication au Plomb [16]. D’autres utilisations sont décrites comme remède populaire, l’absinthe jouait d’une grande réputation comme tonique, contre l’anémie et l’arthrite [15]. Et par voie externe, contre le retard de cicatrisation.

Des études menées en 1995 au Pakistan ont conclu, que l’absinthe possède une activité hépato protectrice élevée grâce à son action inhibitrice sur les enzymes responsables des métabolites dans le foie [17]. Ces propriétés thérapeutiques s’expliquent par la présence des composés terpéniques (sesquiterpènes lactone et mono-terpènes).

I.7.2. Usage culinaire :

L’absinthe est en fait très peu utilisée en tant qu’épice. En raison de sa saveur amère très prononcée, elle ne doit être utilisée qu’avec parcimonie (quelque fragment de feuilles). Or sa consommation est prohibée dans de nombreux pays en raison de ses fortes teneurs en thuyone neurotoxique, entraînant des troubles nerveux, des hallucinations et des convulsions [18].

I.7.3. Un stimulant digestif :

En stimulant la production du suc gastrique et de la bile, l’Absinthe améliore la digestion et l’absorption des aliments. Elle élimine aussi les flatulences et ballonnements. La teinture d’Absinthe favorise la digestion, Elle aide le corps à retrouver sa vitalité après une longue maladie [17].

I.7.4. Un vermifuge

L'absinthe est un remède traditionnel pour éliminer les vers comme en témoigne son nom en anglais, qui signifie tue-vers [17].

I.7.5. Un anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire de l'Absinthe lui permet de traiter certaines maladies, ces principes amers sont des azulénogènes qui peuvent fournir le carbure anti-inflammatoire, c'est leur transformation en azulènes qui leur confère des qualités anti-inflammatoire. Cette plante est parfois prescrite comme antidépresseur. [16].

I.7.6. Un insecticide

L'absinthe est un insecticide ou insectifuge. [19]. D'après les travaux effectués par Bouksil et al [20]. Chabab [21]. Hamdani et al [22]. L'huile essentielle de cette plante a une activité insecticide certaine dans le contrôle de *Callosobruchus maculatus* (ravageur de niébé) et contre *Tribolium costaneum herbst* (ravageur de blé dur) et la *sitophilus oryzae* (ravageur des grains de céréales) respectivement.

I.8. Travaux antérieurs effectués sur *l'Artémisia absinthium L*

La majorité des travaux effectués sur l'espèce d'*Artémisia absinthium L*. a porté sur les huiles essentielles, les extraits, et leurs activités biologiques. D'autres travaux sont effectués sur L'identification des polyphénols, ainsi que sur les flavonoïdes.

I.8.1. Composition chimique de l'Absinthe :

Selon Wichtl et al [23], Heinrich et al [24], les constituants chimiques de l'Absinthe sont les substances amères (0.15-0.4%) et les huiles essentielles (0.2-1.5%).

I.8.1.1. substances amères

Les principes amers contenus dans la plante ne constituent pas un groupe homogène. Toutes ces substances, qui peuvent être très différentes, sont liées entre elles par l'armature de leur gout.

Le taux des principes amers dans une feuille fraîche de l’Absinthe augmente au cours de l’année jusqu’à être multiplié par six à la floraison. Le genre est riche en différentes lactones sesquiterpéniques [7]. Parmi ces substances on distingue :

- ✓ Les lactones sesquiterpéniques dimères
- ✓ Les lactones sesquiterpéniques monomères

I.8.1.2.Huiles essentielles

La composition chimique de l’huile essentielle varie selon le chimiotype considéré, Elle varie également selon les conditions géographiques et climatiques (température, altitude, précipitation, hauteur, direction du vent, période de cueillette, etc.), et selon la phase de développement de la plante [25].

Selon Gilly [7]. L’huile essentielle de l’Absinthe possède une saveur amère et brûlante, sa densité varie entre 0,925 et 0,950. Cette huile contient beaucoup de composants mono et sesquiterpènes qui ont été identifiés dans cette huile. De nombreuses publications munie par Basta et al, Chaisson et al, ont décrit la composition chimique et l’activité biologique de l’huile essentielle d’Absinthe [26, 27]. Ces travaux mettent en évidence la grande variabilité chimique de l’huile essentielle en fonctions des paramètres cités ci précédemment.

Chiasson et al, ont montré l’influence de la technique d’extraction de l’huile essentielle sur la composition chimique d’*A. absinthuim*, l’auteur a remarqué que le pourcentage de sabinène dans l’huile d’absinthe extraite par le procédé de microonde a diminué presque de moitié. L’ α - thujone a diminué de 2.9% dans l’huile obtenue par hydro-distillation à 1.4% dans l’huile obtenue par le procédé de microonde. Ce qui influe sur l’activité acaricide de cette huile [27].

Lopes –Lutz et al, Ont déterminé que l’huile essentielle d’*A.absinthuim* originaire du Canada est dominée par le trans-sabinyl acétate (26.4%), le myrcène (10.8%), et la β -thujone (10.1%). Dans son profil chimique, la fraction majoritaire est celle des monoterpènes oxygénés qui sont responsables de l’activité antimicrobienne contre: *Staphylococcus aureus*, *Trichophyton rubrum* et *Microsporium .canis*. Cette huile a également manifesté un pouvoir antioxydant [28].

Le tableau 1 regroupe les principaux constituants de l'huile essentielle d'absinthe, et Une comparaison entre les teneurs (%) des composés majoritaires identifiés dans de l'huile de l'Algérie avec ceux des autres pays.

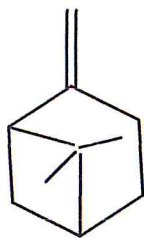
Tableau 1 : Comparaison entre les teneurs (%) des composés majoritaires de l'huile essentielle d'absinthe de l'Algérie avec ceux des autres pays.

Composés \ Pays	Algérie Gouraya [22]	Maroc Gigou [29]	Turquie Erzurum [30]	Iran Khorasan Razavi [31]	Iran Guilan [32]	Canada Alberta [28]
β -Thuyone	90,12	46,94	0,7	0,07	18,6	10,1
Chamazulène	-	-	17,8	-	0,9	0,3
β -Cymène	-	1,02	0,6	10,35	1,9	1,2
Acétate de Sabinyl	-	10,96	-	-	-	26,4
β -Pinène	-	0,29	-	0,42	23,8	0,1
Sabinène	-	0,25	-	-	8,9	1,6
Mycènes	1,38	-	0,2	0,04	4,0	10,8
Camphre	5,01	-	1,4	14,83	-	-
Isoledène	-	-	-	8,52	-	-
Nuciferol butanoate	-	-	8,2	-	-	-
Nuciferol propionate	-	-	5,1	-	-	-

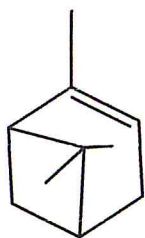
Une étude à été effectuée par A.rezaeinodehi et al, en Iran sur l'huile essentielle de l'Absinthe, a fin de déterminée la composition chimique de L'huile essentielle qui est analysée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS). Les composés majoritaires, sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : le pourcentage et la composition chimique % de l'huile essentielle de l'absinthe provenant de l'Iran : [32]

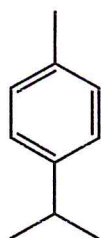
Composés	IR	Pourcentage(%)
&-pinene	938	3,8
Sabinene	975	8,9
β-pinene	980	23,8
Myrcene	990	4,0
&-phellandrene	1004	3,2
&-terpinene	1017	0,4
p-cymene	1025	1,9
β-phellandrene	1029	0,7
1-8 cinéole	1033	0,3
(E)-β-ocimène	1048	0,4
γ-terpinene	1061	0,7
Linalool	1097	4,2
&-thujone	1101	0,9
β-thujone	1113	18,6
Iso-3-thujanol	1134	0,9
Trans pinocarveol	1136	0,6
Terpinene-4-ol	1177	1,5
&-terpineol	1189	0,3
Myrtenal	1193	0,3
germacrene D	1478	3,1
β-selinene	1488	0,7
Cubenol	1644	4,3
&-cadinol	1651	1,8
Chamazulene	1730	0,9



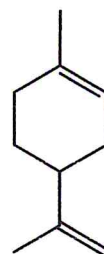
β -Pinène



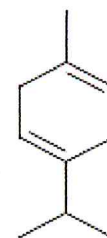
α -Pinène



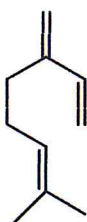
p-Cymène



Limonène



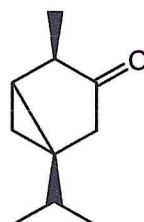
γ -terpinène



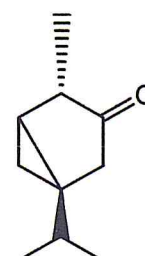
β -Myrcène



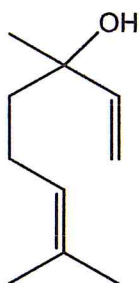
β -phellandrène



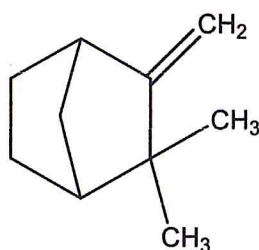
α -thujone



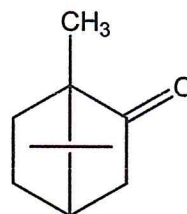
β -thujone



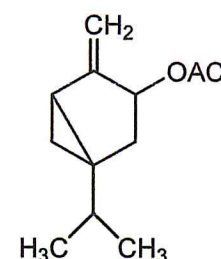
Linalol



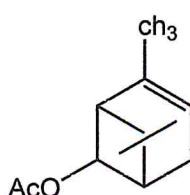
Camphène



Camphre



Acetate de sabinyl



Acétate de chrysanthényle

Figure 6 : Formules développées de quelques monoterpènes rencontrés dans l'huile essentielle d'Absinthe

I.9. Activités biologiques d'*Artemisia Absinthium L*

I.9.1. Activité antimicrobienne

L'effet antimicrobien de l'huile essentielle de l'*Artemisia absinthium L.* provenant de la Croatie a été constaté et décrit par différents auteurs Kaul et al. Selon ces auteurs, le taux élevé de thuyone est la principale cause de l'activité antimicrobienne de l'huile [33].

Kordali et al. [30] ont mené une étude afin de montrer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'absinthe provenant de la Turquie, ils ont constaté que l'absinthe a un pouvoir antifongique vis-à-vis de toutes les espèces fongiques testées, et que la concentration de l'huile essentielle de l'absinthe n'a aucune influence sur l'activité antimicrobienne.

Des études au centre agricole Scotlandais mettant l'accent sur la nature antimicrobienne des huiles volatiles ont révélé que l'huile (d'Absinthe africaine), constituée d'un mélange de mono-terpènes, est active contre plusieurs souches bactériennes entre autre: *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Brevibacterium linens* et *Yersinia enterocolitica* [10].

I.9.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'absinthe a été étudiée par divers auteurs. Kordali et al, [30] ont mené une étude afin de montrer l'activité antioxydante de l'huile essentielle de l'absinthe provenant de la Turquie. Il a été constaté qu'il est difficile de déterminer les composants responsables de l'activité antioxydante. L'huile essentielle de l'absinthe riches en composants phénoliques a montré une forte activité antioxydante, La thuyone peut être le responsable de l'effet antioxydant car l'absence de ce composé dans quelques espèces d'*Artemisia* est fortement liée au faible taux d'activité antioxydante.

Par la suite Lopes-Lutz [28] a évalué l'activité antioxydante d'*Artemisia absinthium* chémotype (acétate de trans sabinyle), par les deux techniques DPPH et β -carotène et il a reporté des activités antioxydants relatives de 15%. Toutefois Lopes-Lutz a attribué l'activité antioxydante faible de l'huile d'*Artemisia absinthium L* à la présence de quelques composés non phénoliques tels que : Le 1,8-cinéole, l' α -pinène, β -pinène, le terpinène-4-ol et le β -cimène [28].

Baykan Erel et al [34], Pour mettre en évidence l'activité antioxydante de l'huile essentielle et l'extrait d'Absinthe, l'activité testée a été montrée par la mise en place de trois méthodes à savoir : la méthode au DPPH, la méthode de la capacité antioxydante en équivalent Trolox (TEAC) et la méthode de la capacité antioxydante totale (TAC), cette activité est élevée chez l'espèce étudiée en adoptant la méthode au DPPH , l'activité de l'huile est importante à celle de l'extrait méthanolique.

Daniel Constantin et al. ont démontrés que l'extrait méthanolique d'Absinthe est riche en flavonoïdes et les acides phénoliques, qui ont montré une bonne activité antioxydante et effet cytoprotecteur contre les dommages oxydatifs dans les cellules de fibroblastes. Ces résultats apportent un soutien scientifique pour l'utilisation traditionnelle de l'Absinthe dans le traitement des troubles de la peau [35].

I.9.3. Activité insecticide

L'activité insecticide de l'Absinthe a été déterminée par Derwiche et al, [29] ils ont conclu que l'effet insecticide de l'huile essentielle de l'Absinthe est dû essentiellement à l'abondance de thuyone, l'acétate de sabinyl et aussi à tous les constituants chimiques contenus dans huile.

Une étude récente (2014) à été réalisée par Dhen N, Mjdoub O, ces auteurs ils ont reportés que la potentialité insecticide de l'huile essentielle de l'Absinthe, à été investiguée contre deux insectes ravageurs à savoir *Rhyzopertha dominica* et *spodoptera littoralis*. L'huile essentielle de l'Absinthe à montré une forte toxicité par fumigation contre les adultes de *R.dominica*, un insecte des denrées stockées, avec des concentrations létales CL_{50} de $18,23\mu/l$ d'air et CL_{90} de $41,74\mu/l$ d'air. [36]

CHAPITRE II
GENERALITE SUR LES HUILES
ESSENTIELLE ET LES
POLYPHENOLS

II.1. Huile essentielle

II.1.1.Définition

Selon la norme NF T 75-006 de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) une huile essentielle est définie comme « le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [37].

II.1. 2.Intérêts

Selon MILPIED [38], les huiles essentielles ont certainement un rôle dans la plante : il s'agit d'une sécrétion qui induit une augmentation de la production de certains composants pour inhiber la germination en hiver, protéger la plante contre les parasites, les insectes, les herbivores et favoriser la fécondation en attirant certains insectes.

II.1. 3.Propriétés physiques

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent un certain nombre de propriétés physiques communes. Elles sont liquides à température ambiante, très odorantes, volatiles, ces essences ne sont que très rarement colorées. Leur densité est le plus souvent inférieure à celle de l'eau. Elles possèdent également un indice de réfraction souvent élevé [39].

Le pouvoir rotatoire est l'une des propriétés principales des huiles essentielles. Il permet à certaines substances de dévier le plan de la lumière. Chaque espèce végétale produit une huile essentielle dont les composés ont des pouvoirs rotatoires définis. Il permet la mesure quantitative de l'activité optique de l'huile essentielle.

Les huiles essentielles sont aussi de nature hydrophobe, totalement solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau. Ces substances ne contiennent aucun corps gras contrairement à une huile végétale [39].

II.1. 4.composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants, distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane [40].

II.1. 4.1.Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). [40] Ils comportent deux unités isoprène (C₅H₈), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales.

II.1. 4.2.Sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en C₁₅H₂₄ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature [40].

II.1.4.3.Composés aromatique

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon [40].

II.1. 5. Technique d'extraction

Ils existent plusieurs procédés d'extraction des huiles essentielles :

II.1.5.1. Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter [39]. Durant le passage de la vapeur d'eau à travers la plante, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action des vapeurs pour former un mélange eau et huile essentielle en deux phase, une phase organique et une phase aqueuse.

L'avantage de cette technique est d'éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant affecter la qualité des huiles essentielles.

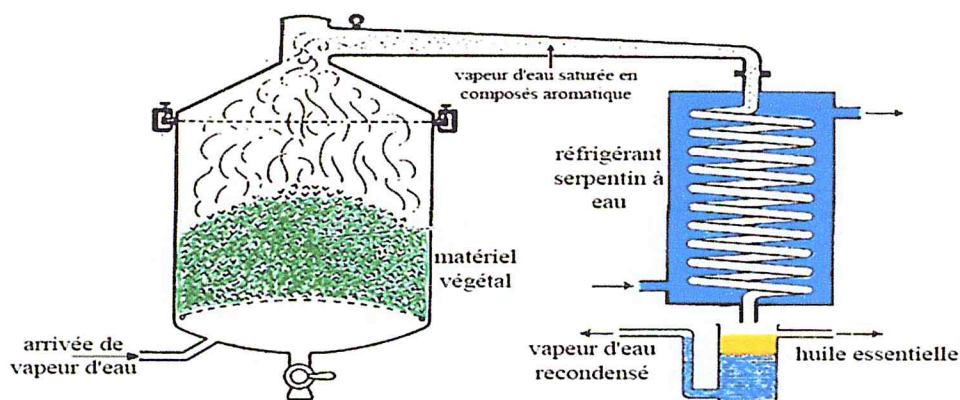


Figure 7 : Schéma du dispositif de l'entraînement à la vapeur d'eau

II.1.5.2. Hydrodistillation

Le principe de cette technique consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau, L'ensemble est porté à ébullition à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement des cellules et la libération des molécules odorantes, ensuite le mélange est refroidi, une fois condensées, eau et huile essentielle sont séparés du fait de leurs différences de densité [39].

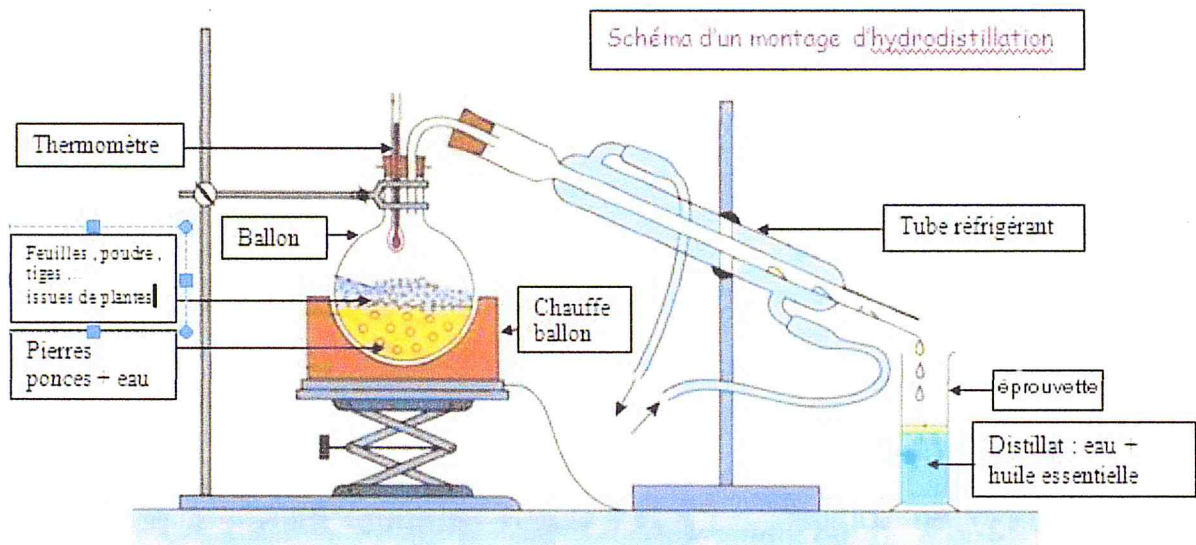


Figure 8 : Schéma du dispositif de l'hydro-distillation.

II.1.5.3. Hydrodiffusion

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

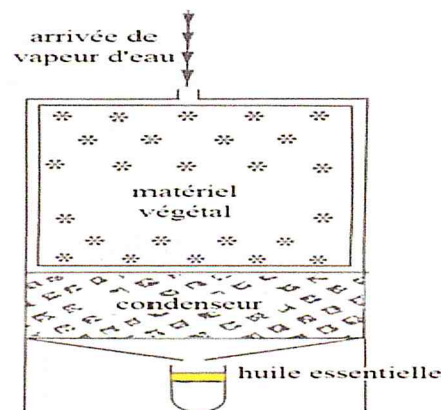


Figure 9 : Montage d'hydrodiffusion

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur [39].

II.1.5.4.Extraction assistée par micro-onde

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques [41]. Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol), pour l'extraction des composés polaires ou bien en présence d'un solvant qui n'absorbe pas les microondes, (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extrait.

II.1.5.5.Extraction par gaz supercritique

Cette technique d'extraction permet d'extraire les principes actifs de la plante sans chauffage, le principe de ce procédé repose sur l'état supercritique du gaz carbonique, qui dans certaines conditions de pression et de température, se comporte comme un fluide qui a une densité d'un liquide et une viscosité d'un gaz. Il diffuse à travers les cellules de la plante, et extrait les principes actifs [42].

Les avantages de cette extraction sont :

- L'obtention des extraits aromatiques 100% naturels, sans trace de solvants.
- Dans ce procédé le risque de dégradation des produits fragiles est éliminé, à cause de la température adéquate (32 C°).

Les avantages de CO₂ supercritique sont:

- Facilité de manipulation,
- Non toxique, ininflammable et sans odeur,
- Bon marché et disponible avec une grande pureté.

L'extraction par le fluide supercritique est une méthode très rapide. Elle permet, par simple changement des conditions de pression et de température, d'optimiser l'extraction et l'obtention d'extraits de grande qualité.

II.2.Composés phénoliques

II.2.1. Définition :

Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, impliqués dans de nombreuses facettes de leurs systèmes biologiques : pigmentation, mécanismes de croissance et de reproductions, protection contre les prédateurs, ils peuvent intervenir et maintenir certains aspects de la physiologie de la plante. Ils participent à la défense des plantes contre les agressions environnementales. On le retrouve particulièrement dans les végétaux (fruits, légumes, céréales, etc.) et dans les produits qui en dérivent (thé, jus de fruits, etc.). Ils sont caractérisés par un cycle benzénique portant un ou plusieurs groupes hydroxyles. Ils constituent un groupe de molécules très varié en fonction de leur structure et de leur degré de polymérisation, ce qui leur confère des activités biologiques différentes. À l'heure actuelle plus de 8000 composés phénoliques, dont 5000 appartient à la classe des flavonoïdes [43].

II.2.2. Actions pharmacologiques des polyphénols

Pour percer le mystère de ses biomolécules, de nombreux travaux ont été publiés. Ces derniers s'articulent autour de la caractérisation chimique et les propriétés pharmacologiques de polyphénols. Selon la littérature, les polyphénols ont un large spectre d'activité biologique. Ils ont des propriétés variées: antioxydant, antimicrobienne, anti tumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, analgésique, antiallergique, antispasmodique, antibactérienne, hépato protectrice, et ostrogénique [44].

Pour certains chercheurs, l'action pharmacologique des polyphénols issus des végétaux, est associée à deux propriétés : d'une part, leur capacité à se lier aux protéines, ce qui peut conduire à l'inhibition des activités enzymatiques (lipoxygénase, peroxydases, xanthine oxydase, glucosidases, galactosidases, etc.) et d'autre part, leur caractère antioxydant permet de neutraliser les formes actives de l'oxygène ou des radicaux libres à caractère toxique issus de la peroxydation lipidique. Ces résultats pourraient se révéler très utiles pour le développement des thérapies contre nombreuses maladies [44].

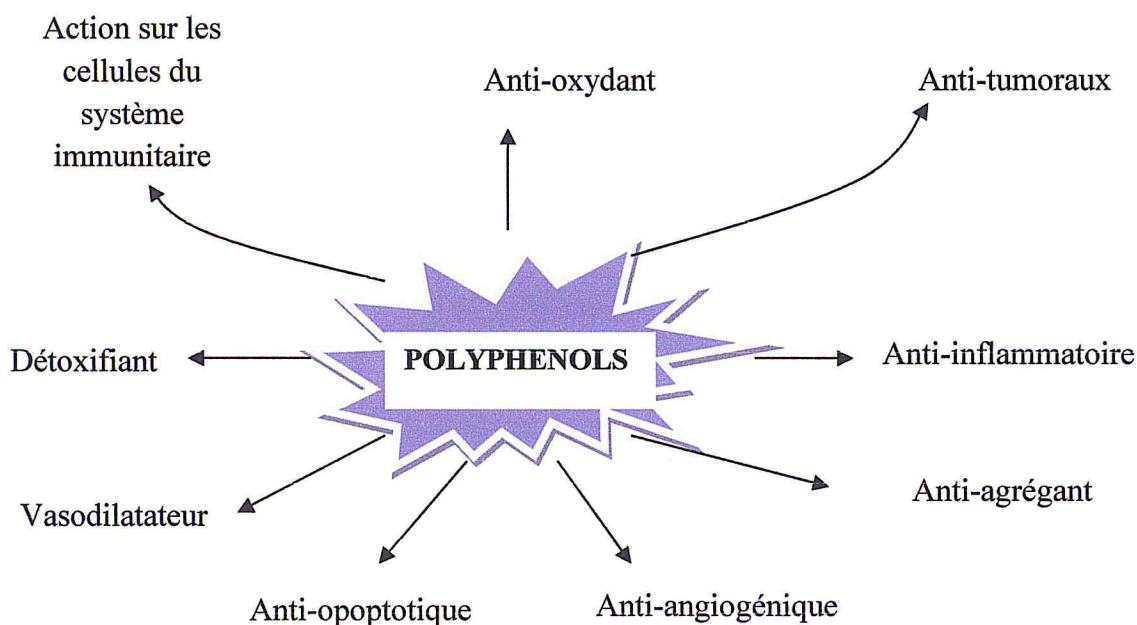


Figure 10 : Effet biologiques des polyphénols

II.2.3. Techniques d'extraction

D'après RICHARD [45], il s'agit d'extractions par les solvants, qui ne permettent pas forcément d'obtenir des huiles essentielles, mais plutôt des concrètes. Ceux-ci, sont des produits cireux très colorés et très aromatiques. Les solvants, utilisés dans l'extraction, peuvent être : hexane ou éther de pétrole ou méthanol. Ils ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau. Les extraits issus de l'extraction par solvants ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et des résines.

II.2.4. Catégories des polyphénols

Les composés phénoliques sont divisés en plusieurs catégories : les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombre considérable [46]. On distingue deux formes de polyphénols :

II.2.4.1. Formes les plus simples

Ces molécules phénoliques simples sont présentées sous forme soluble dans la vacuole [46]. Elles sont caractérisées par leurs bas poids moléculaires. On distingue : les acides phénoliques, les coumarines et les flavonoïdes.

II.2.4.1.1.Acides phénoliques

Les acides phénoliques sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales. Leur toxicité est faible et sont considérés comme non toxiques [46].

II.2.4.1.2.Coumarines

Les coumarines sont des phytoalexines dont le taux de production de celles-ci augmente dans les tissus végétaux suite à une infection par un pathogène, ou à une exposition aux différents stress [47].

II.2.4.1.3.Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal, en abondance dans les familles suivantes : Polygonacées, Apiacées, Rutacées, Astéracées et Légumineuses. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles.

Les flavonoïdes sont omniprésents dans les organes aériens jeunes où ils sont localisés dans les tissus superficiels. On les trouve principalement dans les agrumes : citrons, orange, pamplemousses et dans une moindre mesure : abricots, cerises, raisins, papayes, tomates et sarrasin. On en trouve également en quantité importante dans de nombreuses plantes médicinales et très spécifiquement dans les herbes aromatiques comme le thym, le persil, le romarin et le céleri [46].

II.2.4.2.Forme condensées (Tanin)

Les tanins sont des composés phénoliques polaires d'origine végétale, qui existent dans presque chaque partie de la plante : écorce, feuilles, fruits et racines, leurs poids moléculaires s'étendent de 500 à 3000g. Ils sont utilisés dans l'industrie de cuir. La quantité importante de tanin identifiée chez les plantes parasitées correspond à une réaction de défense. Les tanins ont une propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Cette propriété est liée à leur aptitude à se combiner à des macromolécules (protéines, polysaccharides) [46].

CHAPITRE III
MATERIELS ET METHODES

Le schéma directeur des différentes étapes de notre étude est illustré sur la figure 11 par l'organigramme suivant :

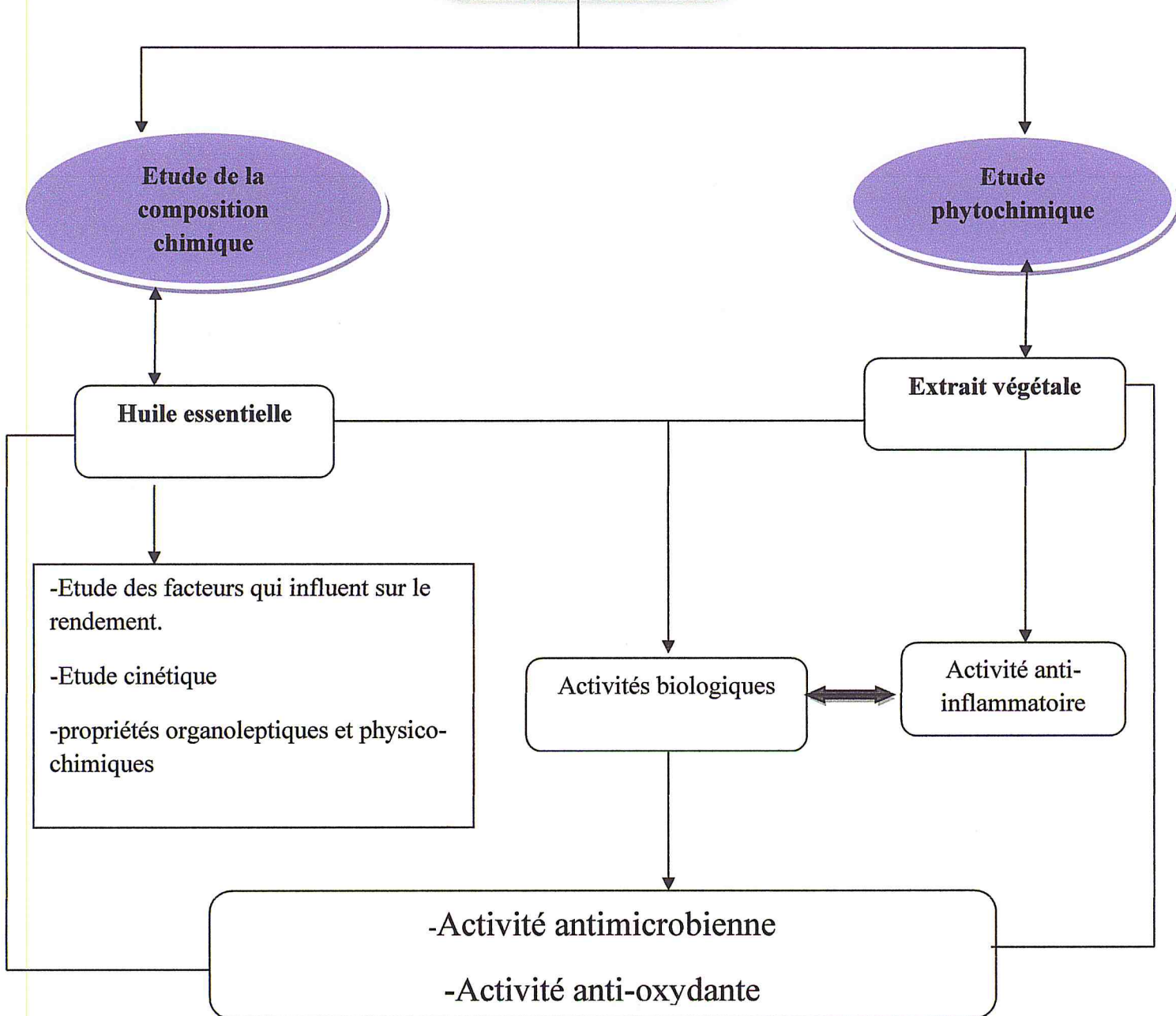


Figure 11 : Schéma directeur des différentes étapes de notre étude

III.1. MATIERE VEGETALE

III.1.1. Récolte, traitement et conservation

La matière végétale que nous avons utilisée lors de notre expérimentation est : l’Absinthe (*Artemisia absinthium L*) qui a été récoltée en février 2015. La plante provient de la région de CHREA de la wilaya de Blida située à 25 km au nord d’Alger (figure 12). La région de CHREA possède un climat continental, humide, froid en hiver et sec et chaud en été.

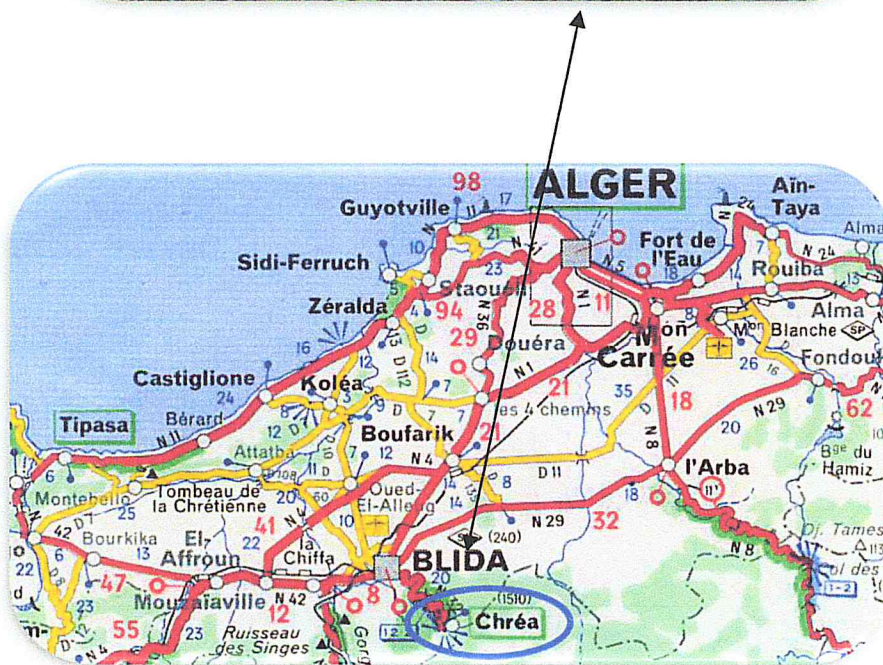


Figure 12 : Carte géographique de la région de Blida

Les parties aériennes de la plante, représentées sur la figure13, ont été séchées à température ambiante, à l'abri de la lumière et dans des endroits bien aérés (pour éviter les moisissures) et ont été conservées dans des sacs.



Figure 13 : Les parties aériennes séchées de *l'Artemisia absinthium L*

III.1.2. Identification botanique

L'identification et la systématique de la plante ont été confirmées au niveau du laboratoire de botanique du département d'Agronomie de l'Université Saad Dahlab et au niveau du laboratoire botanique du jardin d'essais d'El Hamma (Alger).

III.2. EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE PAR HYDRODISTILLATION

L'extraction de l'huile essentielle de *l'Artemisia absinthium L.* a été réalisée à l'échelle laboratoire. En utilisant le procédé d'hydrodistillation ou nous avons étudié l'influence de certains paramètres sur le rendement en huile essentielle :

- ✓ La masse de la matière végétale.
- ✓ Le temps d'extraction (la cinétique).

III.2.1. Détermination de l'influence de la masse végétale à traiter

Nous avons effectué une série d'extraction en faisant varier la masse de 50g à 200g et en fixant le temps d'extraction constant pour chaque essai.

III.2.2. Détermination de la durée d'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne de *l'Artemisia absinthium L* (la cinétique)

Nous avons procédé à l'extraction de l'huile essentielle en réalisant des essais de 30 min à 180 min. notre objectif principal est d'optimiser le temps nécessaire pour obtenir le rendement maximale

III.3. Mode opératoire et appareillage

La matière végétale de la partie aérienne (feuilles, tiges, fruits), préalablement pesée et broyée, beigne dans 500 ml d'eau dans un ballon de capacité de 2l. Le ballon est relié à un réfrigérant par un col par l'intermédiaire d'un T de distillation. La vapeur d'eau produite entraîne les constituants volatiles, qui après refroidissement et condensation dans le réfrigérant, sont recueillies dans le récipient (figure 14) à différents intervalles du temps pendant toutes la durée de l'extraction qui dure 3 heures.

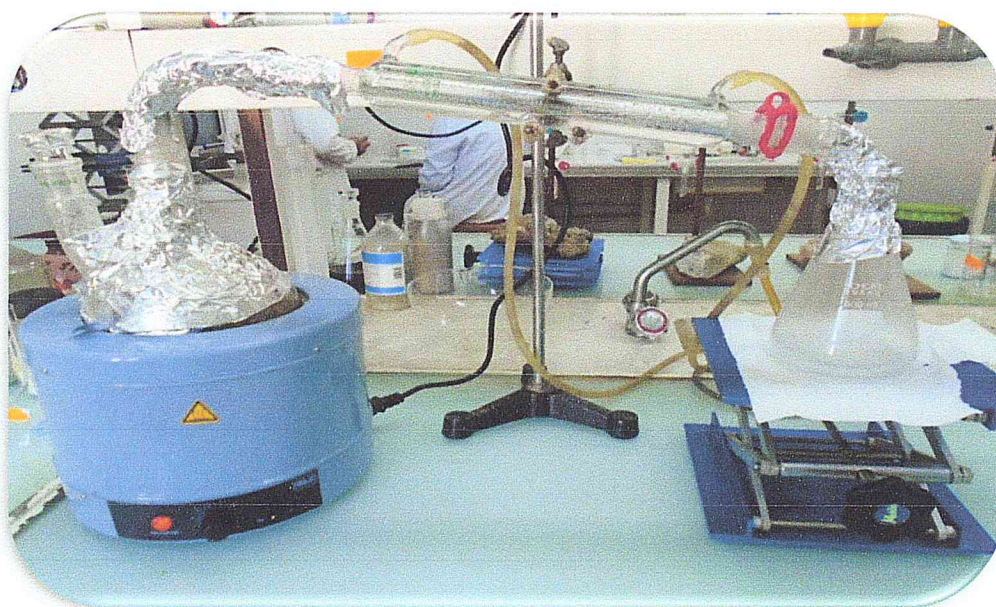


Figure 14 : Montage de l'hydrodistillation

Le distillat recueilli subit un relargage par l'ajout de quelques cristaux de chlorure de sodium (le NaCl ayant plus d'affinité à l'eau que l'huile essentielle incite celle-ci à flotter puisque les huiles essentielles sont moins denses que l'eau).

L'hydrolat est ensuite transvasé dans une ampoule à décanter ou l'huile essentielle est séparée de l'eau par une extraction liquide-liquide au moyen de l'éther diéthylique. Nous avons obtenus alors deux phases : une phase aqueuse, et une phase organique contenant l'huile essentielle. Cette opération est répétée deux fois afin de récupérer le maximum de l'huile essentielle. Nous avons récupère la phase étherée qui est placée préalablement sur un desséchant de type sulfate de sodium anhydre (Na₂ SO₄) afin d'éliminer toute trace éventuelle d'eau.

L'huile essentielle est récupérée après l'évaporation de l'éther diéthylique dans un évaporateur rotatif. L'huile essentielle récupérée est pesée afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse végétale. Cette huile essentielle est conservée dans le réfrigérateur à l'abri de la lumière et à une température de 4°C en vue de son analyse.

III.3.1. Calcul du rendement en huile essentielle [35]

Le rendement en huile essentielle est définit comme étant le rapport entre la masse de L'huile essentielle extraite et la masse de la matière végétale, il est exprimé en pourcentage % et calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = M(\text{HE}) / M (\text{MV}) \times 100$$

Ou :

R(%) : Rendement en huile essentielle (en g) pour 100 g de matière sèche

M(HE) : Masse de l'huile essentielle (g)

M(MV) : Masse de la matière végétale sèche utilisée (g)

III.4. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ET ORGANOLEPTIQUES

Les propriétés organoleptiques (aspect, couleur, odeur) et physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle de l'*Artemisia absinthium L* extraite par hydrodistillation. Nos essais ont été effectués selon un protocole précis et obéissent aux normes édictées par A.F.N.O.R [37]. Les modes opératoires sont donnés en Annexe A.

III.5. ANALYSE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE (CG/SM)

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation d'*Artemisia absinthium L* a été analysée à au sein du centre de recherche d'analyse physico-chimique (CRAPC) à l'université de Bab Zouar Houari Boumediene, en utilisant un chromatographe Hewlett packard série Agilent 6890 N, couplée à un spectromètre de masse Hewlett packard, série Agilent 5973, avec les conditions opératoires suivantes :

Injecteur

Température : 250°C

Mode d'injection : Splitless

Volume injecté : 0,2 µl

Colonne

Type : Hp-5ms

Dimensions : long 30m * D int 250 µm * épaisseur film 0,25 µm

Phase stationnaire : diphényle (5%) – Diméthyl arylène siloxane

Température du four : 60°C pendant 8 min, 2°C/min jusqu'à 280°C, 10 min

Gaz vecteur : Hélium pur 99,9998 %

Débit GV : 0,5 ml/min

Détecteur de masse

Température de l'interface : 280 °C

Type d'ionisation : électronique

Intensité du filament : 70 Ev

Type de l'analyseur de masse : Quadripôle

Température du quadripôle : 150 ° C

III.6. PREPARATION DE L'EXTRAIT METHANOLIQUE

III.6.1.Méthode de macération

La méthode d'extraction utilisée pour les composés phénoliques est celle de Biallo et al [48]. Elle est effectuée par épuisement successive du matériel végétal, en utilisant un solvant organique. L'objectif de l'étape de l'extraction est de libérer les substances phénoliques présentes dans la partie aérienne en poudre (feuilles, fruits et tiges).

III.6.2. Procédure expérimentale

Les parties aériennes déjà séchés à l'abri de la lumière et à température ambiante sont finement broyées en poudre, ensuite, la matière végétale est mise à macérer pendant 48 heures à température ambiante dans le méthanol à raison de 20g /150 ml. Après filtration, on obtient de la concrète. Le solvant organique est éliminé par une évaporation rotative sous vide. L'extrait brut obtenu est immédiatement récupéré dans un flacon en verre hermétiquement fermés et conservés jusqu'à son utilisation.

L'organigramme de la figure 15 illustre le procédé d'extraction par solvant volatil afin d'obtenir un extrait brut à partir de poudres de la partie aérienne de l'Absinthe.

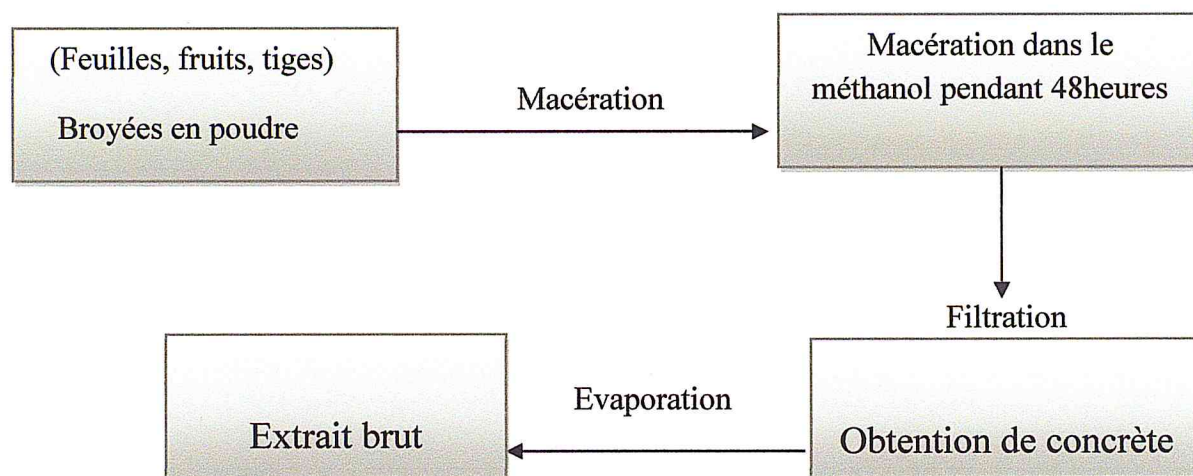


Figure 15 : Préparation de l'extrait brut à partir de la matière végétale sèche.

III.7.ETUDE PHYTOCHIMIQUE

III.7.1. Dosage des phénols totaux

L'étude quantitative des composés phénoliques totaux, de l'extrait méthanolique préparé à partir de la partie aérienne (feuilles, fruits et tiges) de l'*Artemisia absinthium L* a été déterminée via le test de Folin-Ciocalteu, adapté par Nathalie Blanc [49] avec quelques modifications.

Principe :

Le réactif de Folin–Ciocalteu consiste en une solution jaune, constituée par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les composés polyphénoliques présents dans l'échantillon en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) [50]. L'intensité d'absorption est proportionnelle à la quantité de phénols présents dans l'échantillon. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de l'ordre 760nm.

III.7.2. Procédure expérimental

4 mg d'extrait végétale préalablement dissous dans 2 ml d'eau distillée et 2ml du méthanol à la température ambiante. 1 ml de chaque solution d'extrait a été mélangé à 5 ml d'eau distillée et 6 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 290 mg.ml^{-1} . 0,5ml de réactif de Folin-Ciocalteu a été ajouté, et la coloration a été développée pendant 30 min à l'obscurité à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 760 nm avec un spectrophotomètre (UV-1700), contre un blanc (même solution précédente à l'exception de l'extrait phénolique).

La quantification des phénols totaux de notre extrait a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$), établie avec le standard étalon d'acide gallique à six concentrations d'un intervalle allant de 0,01 à 0,06 mg/ml et dans les mêmes conditions que l'échantillon. La teneur des polyphénols totaux a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait en poudre (mg EAG/g).

L'estimation de la quantité en phénols totaux de notre extrait végétal (figure 16) est obtenue selon le protocole expérimental cité dans le schéma suivant :

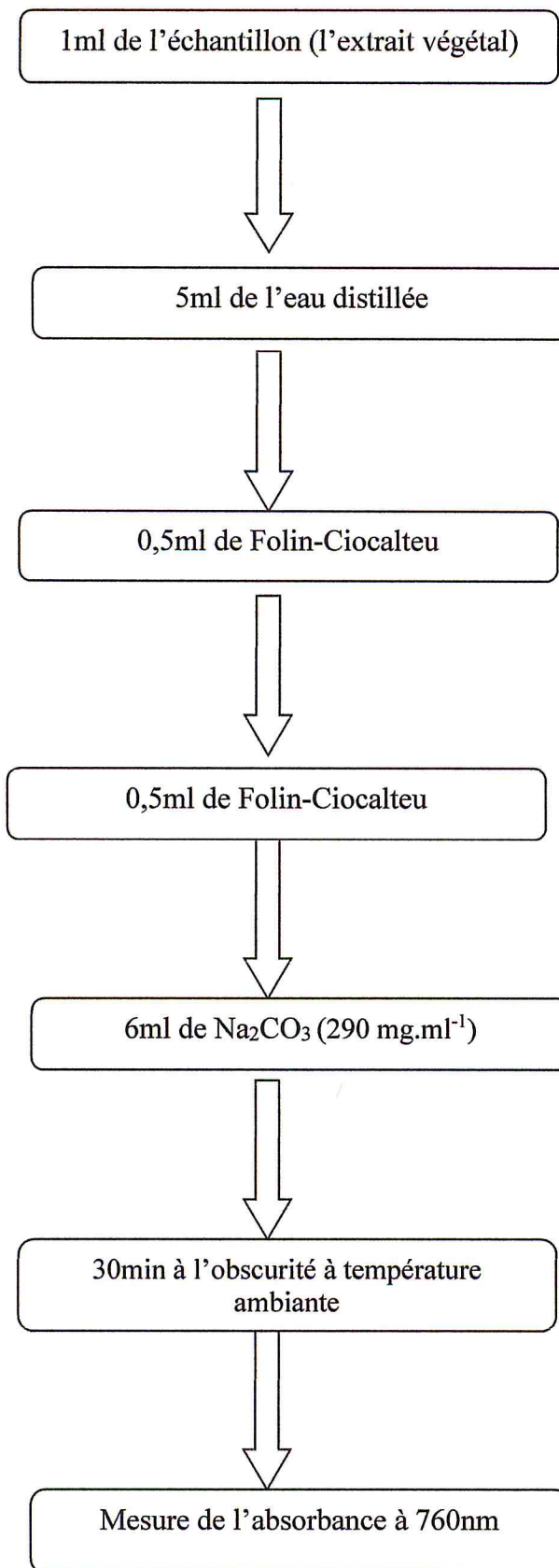


Figure 16 : Protocole de mise en œuvre du test de dosage des phénols totaux.

III.8. TESTS DES ACTIVITES BIOLOGIQUES

III.8.1. Tests d'activités antimicrobiennes

III.8.1.1 Etude de l'activité antimicrobienne d'HE et de l'EM d'*Artemisia Absinthium L*

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé appelée aromatoگرامme.

III.8.1.2. Technique en milieu solide : Méthode des aromatoگرامmes

L'aromatoگرامme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée Antibioگرامme [51]. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des Produits à tester et de s'appliquer à un grand nombre d'espèces bactériennes [52].

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la bactérie est résistante selon l'illustration de la figure 18.

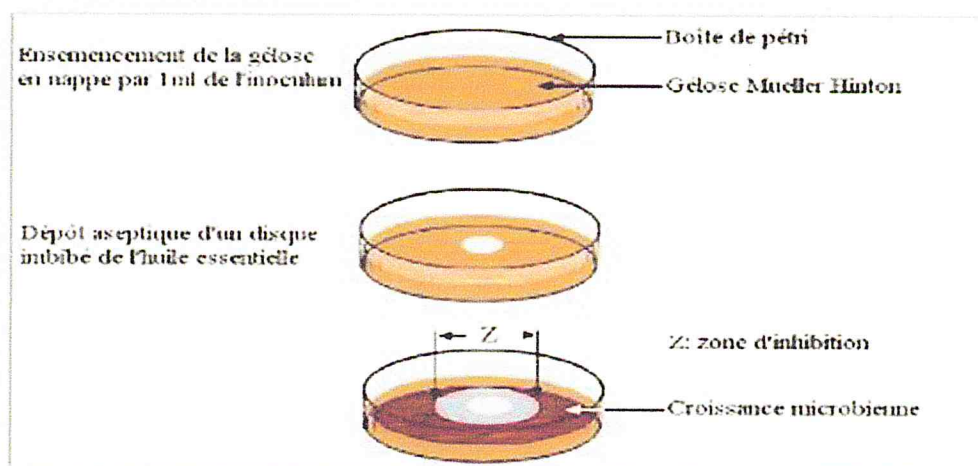


Figure 17 : Illustration de la méthode d'aromatoگرامme

III.8.1.3. Microorganismes utilisés

Les tests antimicrobiens ont été réalisés au niveau du laboratoire central de biologie (centre hospitalo-universitaire Frantz-fanon de Blida) pour les bactéries et pour les champignons c'était au niveau du laboratoire d'hygiène de Blida.

Les souches utilisées dans notre étude sont référencées ATCC (American Type Culture Collection). Ils sont résumés dans le tableau 2 et ont été choisis pour leurs contaminations élevées sur les denrées alimentaires et leur pathogénicité.

Les tests sont réalisés sur cinq bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pneumoniae*, et *Entérocooccus faecalis*), et sur deux Champignons (*Candida albicans* et *Aspergillus flavus*)

Tableau 3 : Souches microbiennes testées et leurs références.

Souches	Espèces bactériennes utilisées	Gram	Référence ATCC
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	(-)	25922
	<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	25923
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-)	27853
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	(+)	49619
	<i>Entérocooccus faecalis</i>	(+)	51299
champignons	<i>Candida albicans</i>	/	24433
	<i>Aspergillus flavus</i>	/	2035

III.8.1.4. Milieux de culture

Suivant la méthode employée et selon les souches, les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- Gélose Nutritive et Gélose Mueller Hinton (MH) pour les bactéries,
- Gélose Sabouraud dextrose (GSD), appelée communément Sabouraud Merck pour les champignons.

III.8.1.5. Protocole expérimental

➤ **Préparation de préculture:**

Les tests antimicrobiens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24 heures). Le repiquage des souches est effectué par ensemencement de la souche microbienne dans un milieu liquide. Les germes utilisés ont été cultivés sur gélose nutritive, les boîtes ainsi ensemencées sont incubées à 37°C pendant 18 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les champignons.

➤ **Préparation de l'inoculum:**

A partir des cultures jeunes. On prélève 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 10 ml d'eau physiologique stérile, on agite au vortex pendant quelques secondes. La standardisation de la suspension correspond à une concentration optimale de 10^7 à 10^8 germes/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm.

➤ **Ensemencement:**

Des boîtes de PETRIE stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la solution bactérienne, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

➤ **Dépôts des disques :**

A l'aide d'une pince stérile, les disques stériles de papier de Wathman 9 mm du diamètre, contenant l'huile essentielle et l'extrait méthanolique d'*Artemisia absinthium L* sont déposés sur la surface gélosée. Des disques imbibés de méthanol et l'éther ont été appliqués sur chaque boîte de pétri, ces disques ont servi de contrôle négatif contre toutes les espèces microbiennes utilisées dans l'étude. Après diffusion de l'HE et l'EM dans la gélose pendant 4 heures à température ambiante, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 25°C pendant 48 heures pour les champignons.

➤ Lecture:

La lecture s'effectue après l'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (le diamètre du disque inclus), La lecture se fait à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition [52].

- Non sensible(-) ou résistante : diamètre < 8 mm
- Peu sensible(+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- sensible (++) ou intermédiaire : diamètre compris entre 15 à 19 mm
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

III.9. Test d'Activité anti-oxydante

III.9.1. Méthode au DPPH

Pour évaluer l'activité anti-oxydante de nos échantillons (HE et extrait), nous avons adopté la méthode au DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) qui a été proposée par Leitao et al [53], avec quelques modifications.

III.9.2. Principe

Le DPPH (**figure 18**) est un radical libre stable possédant une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux libres, la coloration devient jaune pâle. On peut résumer cette réaction par l'équation suivante [54] :



Où $(\text{RH})_n$ représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH \cdot (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H (2,2-diphényl-1-picryl hydrazine).

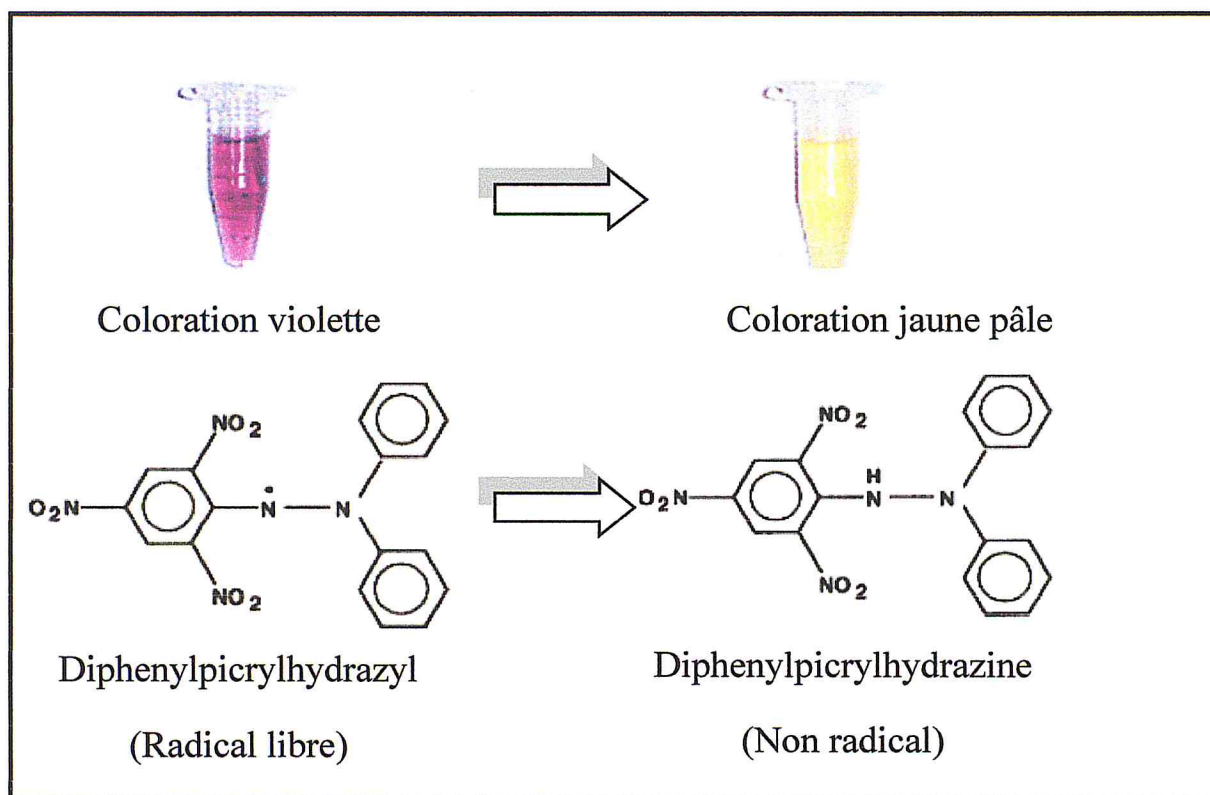


Figure 18 : Forme libre et réduite du radical DPPH

III.9.3. Mode opératoire

✓ Préparation de la solution DPPH :

Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol.

✓ Solutions des substances testées :

Pour les substances testées (HE et l'extrait) et le témoin (VC) ont été préparés par dissolution dans le méthanol absolu à raison de 20 mg/ml pour l'HE, 2 mg/ml pour l'extrait et 0,5 mg/ml pour les témoins. Ces solutions dites solutions mères, subissent ensuite des dilutions pour avoir différentes concentrations de l'ordre de milligramme par millilitre.

✓ **Procédure expérimental :**

Dans des tubes secs et stériles, on introduit 1 ml de méthanol, suivie par les différentes concentrations des solutions à tester ou des témoins auxquelles on ajoute 1 ml de la solution au DPPH. Après agitation par un vortex, les tubes sont mis à l'obscurité à une température ambiante pendant 30 minutes. Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois.

La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV- Visible, en utilisant des cuves en quartz de volume de 2 ml. Pour chaque dilution, on prépare un blanc, constitué de 1ml de méthanol et 1ml de la solution au DPPH.

✓ **Expression des resultants :**

La caractéristique principale d'un antioxydant est sa capacité à piéger les radicaux libres. Le pourcentage d'activité (I %) est donné par la formule suivante :

$$I (\%) = \left(\frac{Abs_{blanc} - Abs_{échan}}{Abs_{blanc}} \right) \times 100$$

Où :

$I (\%)$: Pourcentage d'activité anti-oxydante

Abs_{blanc} : Absorbance de blanc à 517nm.

$Abs_{échan}$: Absorbance de l'échantillon à 517nm

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de trois mesures. La valeur EC_{50} (concentration nécessaire pour l'inhibition de 50% des radicaux libres et appelée aussi la valeur IC_{50}) a été déterminée pour chaque échantillon, est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Les valeurs d' EC_{50} des échantillons sont comparées à celles trouvées pour l'antioxydant de référence : VC [55].

III.10. TEST D'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE

III.10.1. Introduction :

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à diverse agression qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse, son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation.

La phytothérapie a été utilisée depuis des siècles pour traiter les affections, En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expériences des populations ainsi que de la médecine arabe classique. [56]

C'est dans ce but s'inscrit notre travail qui consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique de l'Absinthe, cette activité anti-inflammatoire a été faite au niveau de laboratoire de pharmacologie au centre de recherche et de développement à Saidal El-Harrach d'Alger.

III.10.2. Méthode d'œdème à la Carraghénine chez la souris selon Levy [57]

La mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode de Levy [57].

Principe :

L'injection de la Carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris, provoque une réaction inflammatoire qui peut être, réduite par un produit anti-inflammatoire. Cette étude permis de comparer la réaction de l'œdème plantaire après administration de dose différente de produit anti-inflammatoire et de produit de référence correspondant.

III.10.2.1. Mode opératoire :

Le test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait méthanolique issue de la partie aérienne de l'Absinthe à une concentration de 50mg/kg, sur l'œdème des pattes postérieures provoquées par l'injection d'une solution de la Carraghénine à 1 % chez les souris.

La préparation de la solution de la Carraghénine (1%) à été faite par une dilution de 50mg de la Carraghénine dans 5ml d'eau physiologique. Les souris albinos sont réparties en 3 lots de 6 souris dont le poids corporel est compris entre 18g et 23g.

➤ **Au temps T₀:** Administrer aux trois lots les suspensions suivantes:

- **Lot témoin :** chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau distillée
- **Lot essai 1 :** chaque souris reçoit 0,5 ml du l'extrait à la dose 50mg/kg
- **Lot essai 2 :** chaque souris reçoit 0,5 ml du produit de référence (Clofenal) (Déclofénac de sodium à 2mg/kg)

➤ **Au temps T₀+30min :**

- La solution de la Carraghénine à 1% est injectée sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0,025ml à tous les souris mis en expérience.

➤ **Au temps T₀+4h :**

- Après avoir sacrifié les souris ayant été soumises à une forte concentration d'éther diéthylique, couper les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et les pesés sur une balance analytique.

III.10.2.2. Expression des résultats [57]

- Calculer la moyenne arithmétique des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot.
- Calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) et (% de réduction d'œdème) par les formules suivantes :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{Moyenne des poids de la patte gauche} - \text{Moyenne des poids de la patte droite}}{\text{Moyenne des poids de la patte droite}} \times 100$$

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

La figure 19: illustre les différentes étapes de l'activité anti-inflammatoire citée précédemment :



Administration des solutions préparées
Par voie orale




Injecteion de la carraghénine à 1%
sous L'aponévrose des pattes gauches



Sacrifier les souris avec l'étherdiéthylique



Couper les pattes postérieures à la
Hauteur de l'articulation



	poids pattes Droites	poids pattes Gauches
1		
2		
3		
4		
5		
6		

Peser les pattes droites et gauches

Figure 19 : Différentes étapes de l'activité anti inflammatoire

CHAPITRE IV
RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1. EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE D'ARTEMISIA ABSINTHIUM L PAR HYDRODISTILLATION

IV.1.2. Paramètres influençant le rendement en HE

Les paramètres qui influent sur le rendement en huile essentielle sont :

- La masse végétale
- Le temps d'extraction (la cinétique d'extraction)

IV.1.2.1. Influence de la masse végétale

Pour ce premier paramètre, nous avons considéré que le temps d'extraction constant (3h) et la masse végétale variable. Pour cela nous avons effectué quatre manipulations. La figure 20 illustre la variation du rendement en fonction de la masse végétale.

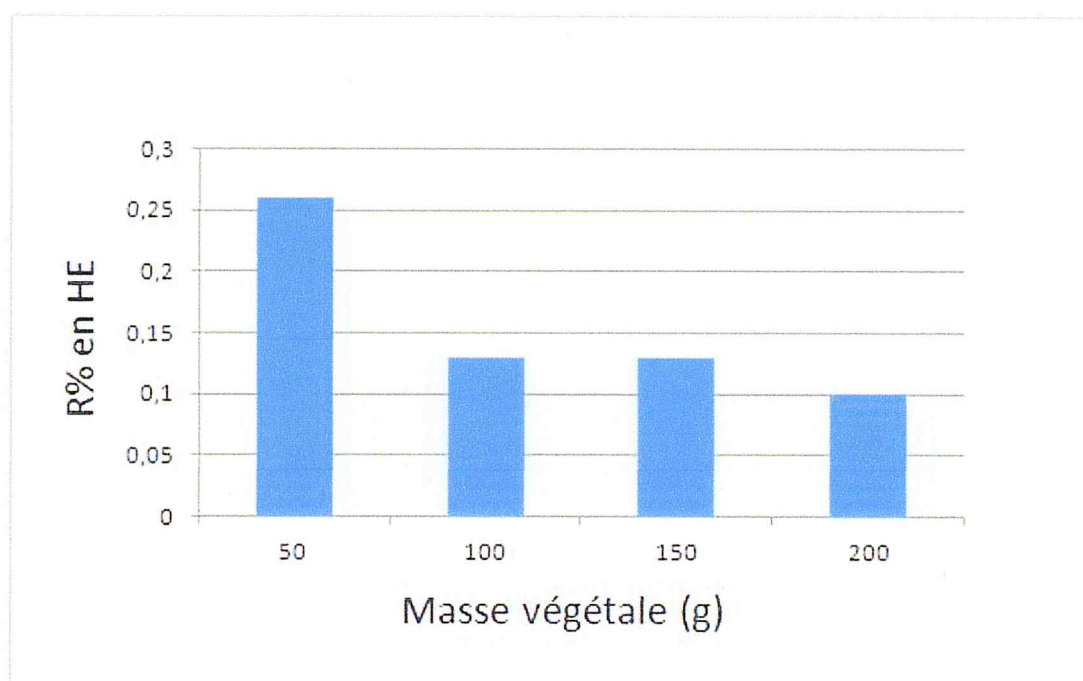


Figure 20 : Influence de la masse de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle

Nous constatons, d'après ces résultats que le rendement en HE varie inversement avec l'augmentation de la masse de la matière végétale, il est maximal lorsque la masse est égale à 50 g. Lorsque la masse augmente les rendements diminuent. Cela est dû probablement au tassement de la matière végétale. En effet, un tassement insuffisant ou excessif de la matière végétale impose à la vapeur d'emprunter des chemins préférentiels, sans entrer en contact effectif avec l'ensemble de la matière végétale, et par conséquent le rendement diminue. Pour ces raisons, nous avons opté pour une masse végétale de 50 g qui semble être la masse optimale à traiter dans le dispositif d'extraction pour un ballon de capacité de 2L.

Le rendement en HE de 0,25% est similaire à celui trouvé par Weiss et al [58] Par contre, d'après les travaux de Orav et al [59] Les rendements en HE de différentes régions de Tunisie ont donné des valeurs plus importantes : Gafsa (1,24%), kasserine (1,87%) et Ghar dimaou (2.22%). Cette différence en rendement peut être attribuée à de nombreux facteurs : stade de croissance, condition pédoclimatiques et édaphique de la région, technique d'extraction, etc.

IV.1.2.2. Evolution du rendement en HE en fonction de la durée d'extraction (cinétique)

En Théorie, la durée d'extraction est le temps nécessaire à la récupération de la totalité de l'huile contenue dans la matière végétale. Or en pratique, il est difficile de récupérer toute l'huile. Ce temps correspond alors au moment pour lequel nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Il détermine la fin du processus. Lors de cette étude, un suivi cinétique a été réalisé sur l'extraction de l'huile essentielle de la matière végétale (la partie aérienne) par HD.

Pour cette étude nous avons choisi les paramètres qui ont donné le rendement le plus élevé c'est à dire (50g) de la partie aérienne d'*Artemisia Absinthium L*, et le temps d'extraction de (3h) la figure montre la cinétique d'hydrodistillation de l'HE.

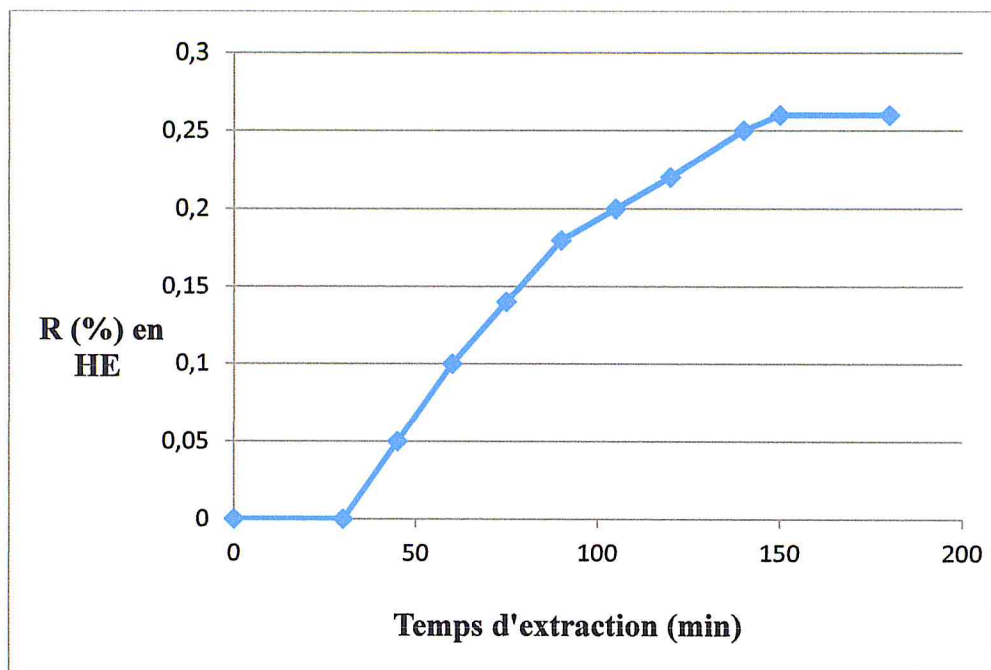


Figure 21 : Evolution du rendement en fonction du temps

D'après la figure 21, nous constatons que la cinétique se divise en trois étapes :

- La première étape correspond au temps mort il est de l'ordre de 30 min, cette étape durant laquelle aucune extraction d'huile essentielle ne se produit.
- La deuxième étape représente une extraction plus ou moins rapide. On observe une augmentation significative du rendement.
- La troisième étape correspond à une ligne horizontale qui enregistre la fin d'extraction et au cours de cette étape la courbe tend vers un palier qui correspond au rendement maximal possible de l'ordre de 0,26%.

IV.2. CARACTERISATION DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DE L'EXTRAIT METHANOLIQUE DE *L'ARTEMISIA ABSINTHIUM L*

Les propriétés organoleptiques et physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle.

IV.2.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de la partie aérienne d'*Artemisia Absinthium L* obtenue par hydrodistillation représenté sur la figure 22, présente les caractères organoleptiques regroupés dans le tableau 4

Tableau 4 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle *d'Artemisia Absinthium L*

Aspect	Couleur	Odeur
Liquide	Bleu foncée	Aromatique caractéristique de la plante



Figure 22: Huile essentielle de l'Absinthe

IV.2.2. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle *d'Artemisia Absinthium L*

Les résultats des analyses physico-chimiques sont regroupés dans le tableau 5

Tableau 5 : Propriétés physico-chimiques l'huile essentielle *d'Artemisia Absinthium L*

Indice de réfraction	1,375
Indice d'acide	2,2
Indice d'ester	26,6

Nous constatons que la valeur de l'indice de réfraction de l'huile essentielle mesurée est supérieure à l'indice de réfraction de l'eau à 20°C (1,333) cela montre sa richesse en constituants chimiques, et favorise son utilisation dans les produits cosmétiques.

L'indice d'acide (IA) donne une idée sur le taux des acides libres dans l'HE. Une valeur élevée indique une dégradation d'HE (hydrolyse des esters) durant sa conservation. Dans notre étude la valeur d'indice d'acide est faible ce qui prouve une bonne conservation de l'huile essentielle [37]

L'indice d'ester de notre HE est très élevé (26,6) ce qui ne permet pas une longue durée de conservation [37].

IV.3. ANALYSE DE L'HUILE ESSENTIELLE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE

L'huile essentielle extraite par hydrodistillation a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Le tableau 6, Regroupe la composition qualitative et quantitative de l'huile essentielle.

Tableau 6 : Composition chimique de l'huile essentielle de l'Absinthe

Ordre d'élution	Noms de composés	Formule moléculaire	Temps de rétention (min)	Pourcentage
1	Béta-thujone	C ₁₀ H ₁₆ O	22,26	5,478%
2	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl	C ₁₅ H ₂₄ O	48,85	6,500%
3	Oxyde de Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄ O	52,79	2,455%
4	acid, 3-methyl,1-ethyl-1,5-dimethyl-4-hexenyl butanoïque	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	54,38	2,032%
5	Carveol	C ₁₀ H ₁₆ O	54,88	2,828%
6	2-Naphtalenemethanol	C ₁₁ H ₁₀ O	56,98	21,706%
7	7-ethyl 1,4-dimethyl- Azulene	C ₁₄ H ₁₆	61,44	52,222%
8	1-(2,4-Dimethylphenyl)-3-(tetrahydrofuryl-2)propane	C ₁₅ H ₂₂ O	75,14	4,422%
9	Acid 3-Nitrophthalic	C ₈ H ₅ NO ₆	97,59	2,360%

L'analyse de l'huile essentielle extraite à partir de la partie aérienne d'*Artemisia Absinthium* a révélé la présence de neuf composés, et elle contient plusieurs classes de composés chimiques, Cette huile essentielle est largement dominée par le composé majoritaire (7-ethyl,1,4-dimethyl Azulene,) qui appartient à la classe des hydrocarbures polycycliques avec un taux de (52,222%) et qui possède des propriétés anti-inflammatoire et antioxydante, suivi par le (2-Naphtalene methanol) qui représente (21,706%) de la composition chimique de l'huile essentielle et qui appartient à la classe des acides. Ce lui ci est utilisé comme un intermédiaire pour la synthèse d'inhibiteur de corrosion.

Cependant, d'autres constituants présentant un pourcentage moins important ont été identifiés à savoir le Phenol, 2,6-bis(1,1-diméthylethyl)-4-méthyl (6,500%), Béta-thujone (5,478%), 1-(2,4-Diméthylphényl)-3-(tétrahydrofuryl-2)propane (4,422%).

Globalement, les constituants de notre huile peuvent être repartis en cinq classes de composés terpéniques : Les hydrocarbures, Les cétones, Les alcools, Les Phénols, Les acides.

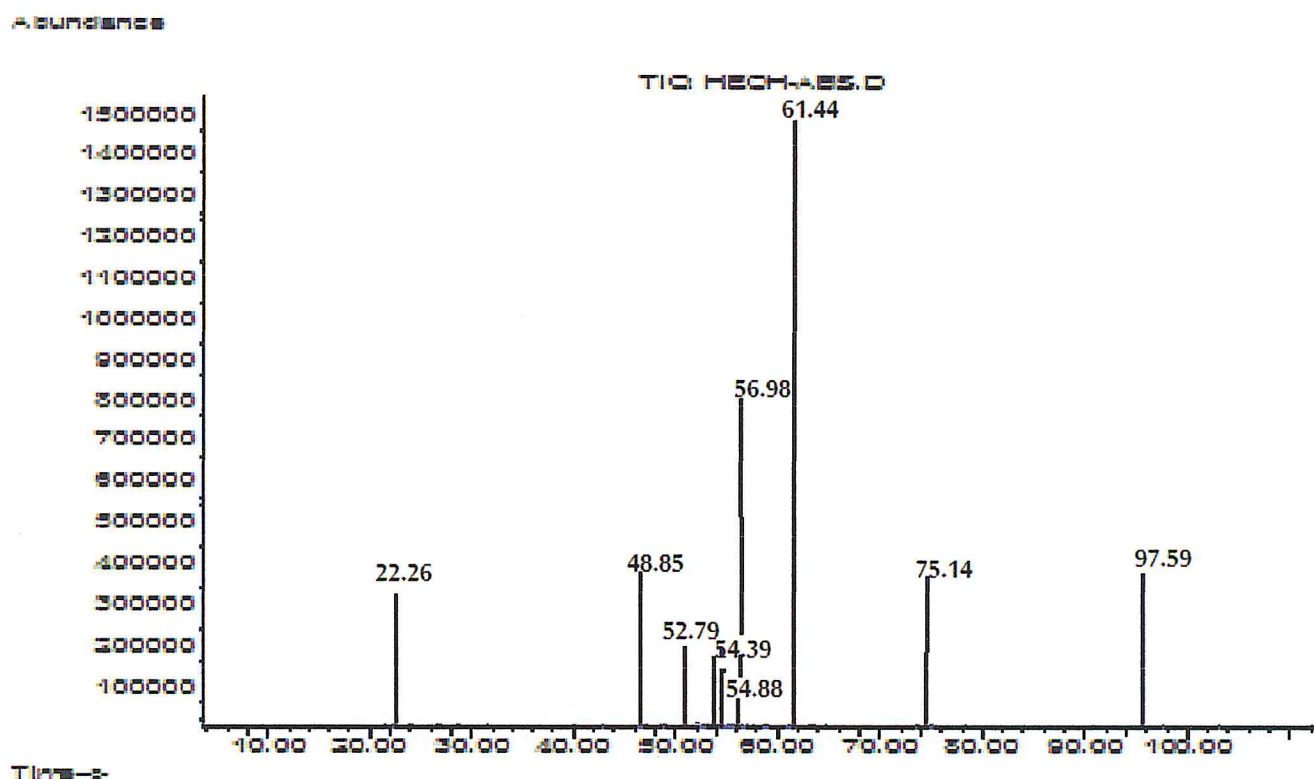


Figure 23 : Profile chromatographique d'analyse de l'huile essentielle de l'Absinthe extraite par hydrodistillation

En Iran [32], l'analyse de l'HE de l'absinthe récoltée dans le Nord-Ouest du pays, présente le chimiotype suivant par ordre majoritaire décroissant: β -pinène, thuyone et le sabinène, alors que celle récoltée dans le Nord-Est du pays [31] donne le chimiotype composé de : camphor, ρ -cymène et isodène. Tandis que, en Turquie [30], l'analyse de l'HE montre un chimiotype composé de : chamazulène, nuciferol butanoate et nuciferol propionate.

A l'issue de ces résultats, nous constatons que l'origine géographique a un effet important sur la composition chimique de l'HE d'*Artemisia absinthium* L. En effet, nos résultats présentent un chimiotype qui ne concorde pas avec ceux de l'Iran [31, 32] et de la Turquie [30].

IV.4. ETUDE PHYTOCHIMIQUE

IV.4.1. Propriétés organoleptiques de l'extrait méthanolique

L'extrait méthanolique de l'Absinthe présenté sur la figure 24 a une couleur marron verdâtre, et un aspect pâteux avec une odeur forte piquante.



Figure 24 : Extrait méthanolique de l'absinthe

IV.4.2. Teneur des polyphénols totaux

La valeur moyenne de la concentration en phénols totaux de l'extrait d'absinthe est calculée à partir de la valeur moyenne des absorbances obtenue à une longueur de 760nm en utilisant la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique utilisé par gramme d'extrait (mgEAG/g d'extrait). Les résultats obtenus sont présentés dans la figure suivante :

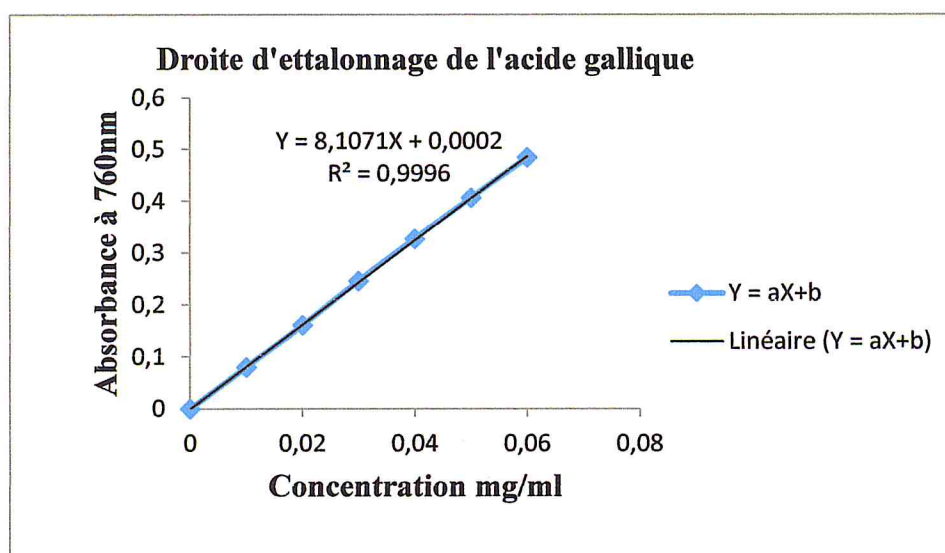
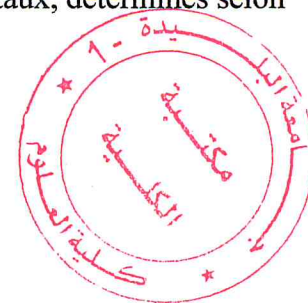


Figure 25 : Droite d'étalonnage des solutions standards de l'acide gallique allant de 0,01 à 0,06 mg.ml⁻¹ obtenue par le test de Folin-Ciocalteu

Les résultats de l'analyse colorimétrique des composés phénoliques totaux, déterminés selon la relation ci-dessous [60]

$$T = \frac{C \times V}{M}$$



T : Taux des composés phénoliques (mg EAG / g d'extrait sec)

C : Concentration d'extrait équivalente à l'acide gallique

V : Volume d'extrait (ml)

M : Poids sec d'extrait d'algue (g).

NB : La concentration d'extrait équivalente à l'acide gallique est obtenue par extrapolation des valeurs d'absorbance obtenues pour les échantillons dans la droite de calibration établie pour l'acide gallique, traité de la même manière que les échantillons réels.

La détermination des composés phénoliques totaux par le test de Folin-Ciocalteu met en évidence que la teneur en composés phénoliques de l'extrait méthanolique est égale à 14 mg.EAG/g d'extrait sec, cette valeur représente une faible teneur en phénols totaux. Ce résultat est lié à la méthode de Folin-Ciocalteu qui est connue d'être très sensible, mais malheureusement peu spécifique, car beaucoup d'autres composés réducteurs peuvent interférer, donnant un taux phénolique apparent faible [61].

D'après Le résultat de Mahmoudi et al [62]. Qui est égale à 194.9 mg EAG/g. Nous pouvons constater que ces teneurs en phénols totaux obtenus sont très élevées que celle obtenue au cours de notre expérimentation qui était de 14 mg EAG/g

La distribution des métabolites secondaires peut varier pendant le développement de la plante. Ceci peut être liée aux conditions climatiques sévères (la température élevée, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols. En effet, la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, la maturité de la récolte et les conditions de stockage, méthodes d'étude (extraction et procédure...)) [63].

IV.5. ACTIVITES BIOLOGIQUES

IV.5.1. Evaluation de l'Activité antimicrobienne

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de deux échantillons; l'huile essentielle et l'extrait méthanolique à la dose de 50mg/ml d'*Artemisia Absinthium L.*, par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé. Le pouvoir antimicrobien de ces échantillons est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

Les résultats des observations effectuées sur l'effet de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique sur la croissance des souches bactériennes sont regroupés dans le tableau 7

Tableau 7 : Les diamètres des zones d'inhibitions de HE et de l'extrait méthanolique.

Souches	Espèces bactériennes utilisées	Huile Essentielle	Extrait Méthanolique
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	16 mm	/
	<i>Staphylococcus aureus</i>	25 mm	16 mm
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7 mm	/
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	20 mm	/
	<i>Entérocooccus faecalis</i>	15 mm	/
champignons	<i>Candida albicans</i>	/	/
	<i>Aspergillus flavus</i>	11 mm	/

Après l'incubation, nous remarquons l'apparition des zones d'inhibition avec des diamètres différents qui entourent les disques imprégnés de l'huile essentielle et l'extrait

méthanolique, cela s'explique par le fait que les souches bactériennes, sont plus au moins sensibles vis-à-vis de nos échantillons.

D'après le tableau 6 , nous remarquons que :

- La bactérie *Staphylococcus aureus* est extrêmement sensible à l'HE, avec une zone d'inhibition de 25mm, Elle présente aussi une sensibilité vis-à-vis de l'extrait méthanolique avec un diamètre de l'ordre de 16mm.
- *Streptococcus pneumoniae* est très sensible vis-à-vis de l'huile essentielle avec un diamètre d'inhibition de 20mm, par contre une absence totale de la zone d'inhibition vis-à-vis de l'extrait méthanolique à une concentration de 50mg/ml.
- *Escherichia coli* à montrée une sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle avec un diamètre d'inhibition de 16mm, par contre une absence totale de la zone d'inhibition vis-à-vis de l'extrait méthanolique à une concentration de 50mg/ml.
- *Entérocooccus faecalis* à montrée une sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle avec un diamètre d'inhibition de 15mm, tant dis que une absence totale de la zone d'inhibition vis-à-vis de l'extrait méthanolique à une concentration de 50mg/ml.
- *Pseudomonas aeruginosa* à manifestée un effet de la non sensibilité ou résistante vis-à-vis de l'huile essentielle, avec un diamètre de 7mm, cependant une absence totale de la zone d'inhibition vis-à-vis de l'extrait méthanolique à une concentration de 50mg/ml.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les bactéries sont plus sensibles à l'HE qu'à celle de l'extrait. Par ailleurs, nos résultats concordent avec ceux de Sura baykan et al. [64] qui ont étudié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et celle de l'extrait méthanolique de l'absinthe qui a montré la présence des zones d'inhibition pour les bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Entérocooccus faecalis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

En effet, la force et le spectre d'activité antimicrobienne varient selon le type d'extrait et le Gram des bactéries. Cependant, les bactéries à Gram positif sont généralement les plus sensibles aux effets des extraits phénoliques. La résistance générale plus élevée chez les bactéries à Gram négatif est attribuée à la présence d'une membrane externe imperméable aux composés lipophiles. L'absence de cette barrière chez les bactéries à Gram positif permet le

contact direct des constituants hydrophobes des extraits avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire bactérienne [65].

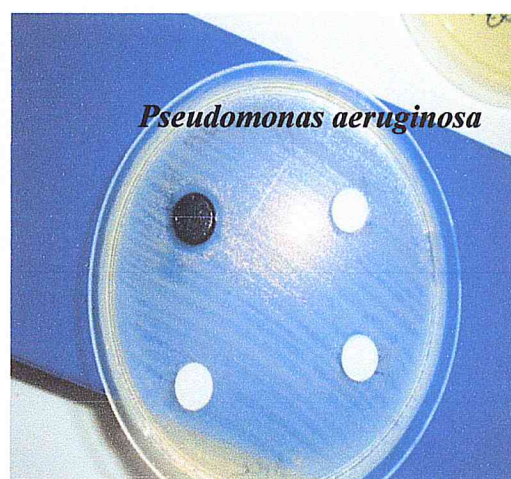
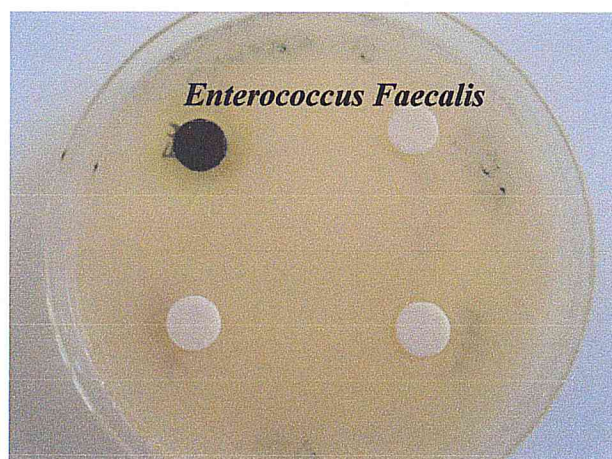
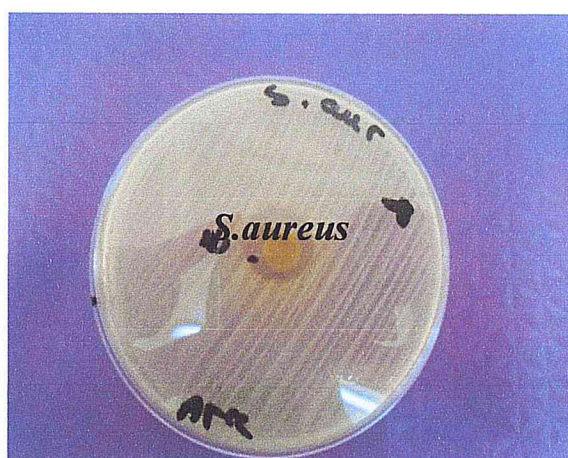
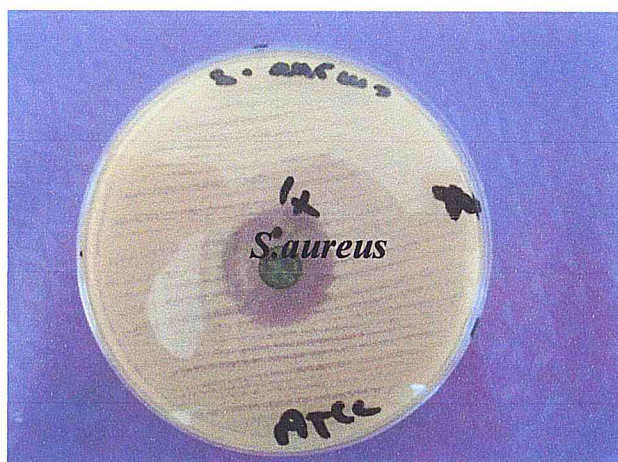
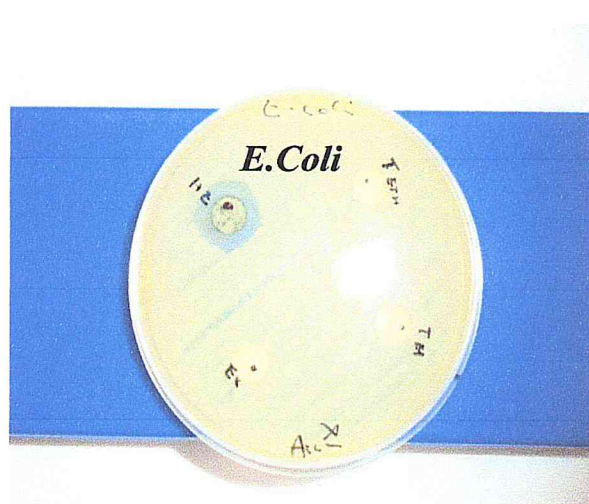
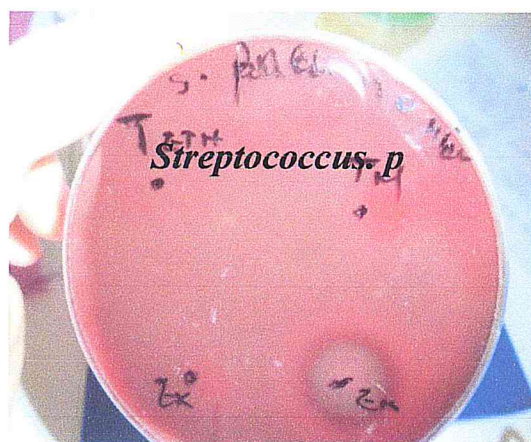


Figure 26 : Aromatogrammes des bactéries testées avec l'extrait méthanolique et l'huile essentielle de l'absinthe.

L'histogramme présenté sur la figure 27 indique une comparaison entre le comportement de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique vis-à-vis des souches microbiennes.

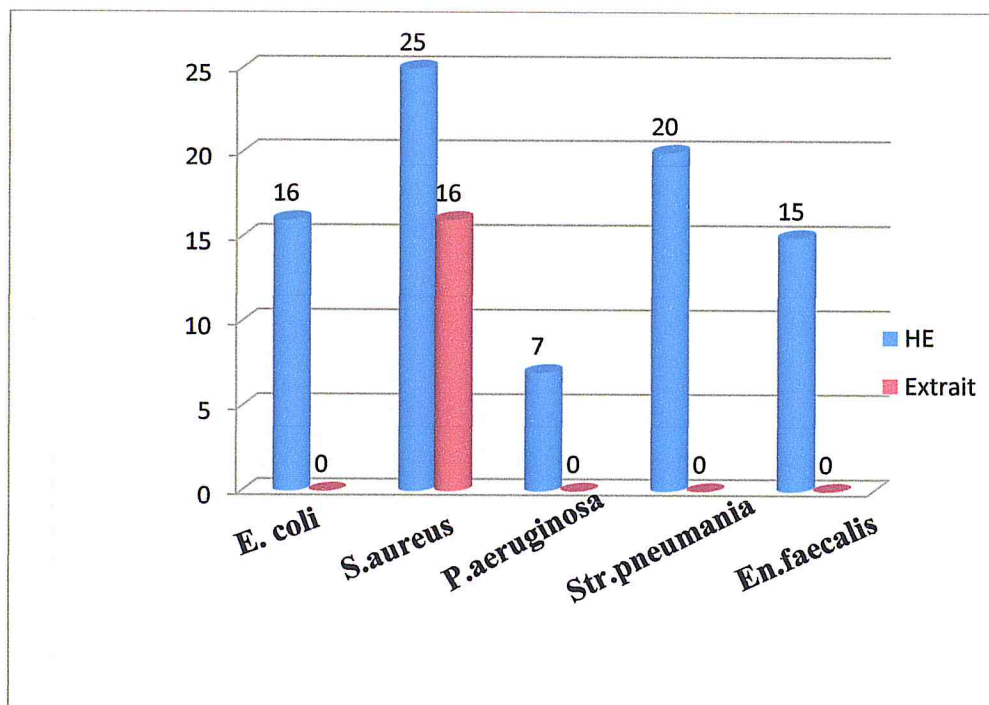


Figure 27 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des Bactéries

IV.5.2. Activité antifongique

L'huile essentielle et l'extrait méthanolique de l'*Artemisia absinthium L* ont été testés sur deux champignons à savoir, *Candida albicans* et *Aspergillus flavus* afin d'évaluer son pouvoir antifongique. Les résultats illustrés sur la figure 28 montrent que les organismes testés poussent sur toute la surface de la gélose, ce qui indique que l'extrait méthanolique n'a pas d'activité antifongique, ce qui est attribué principalement à l'absence de molécules actives à l'égard des levures testées ; tant dis que le champignon *Aspergillus flavus* est moyennement sensible vis-à-vis de l'huile essentielle qui a donné une zone d'inhibition de 11 mm.

Cette activité antifongique de l'huile essentielle d'absinthe peut être expliquée par sa richesse en composés oxygénés monoterpéniques, comme la thuyone et le 4-terpinéol qui agit comme des antiseptiques et antimicrobienne.

Nos résultats ne concordent pas avec ceux obtenus dans la littérature ; Lopes-Lutz et al [28] ont étudiés le pouvoir antifongique sur plusieurs souches pour HE et l'extrait méthanolique notamment, *Candida albicans* et *Aspergillus flavus*, ils ont obtenus respectivement les résultats suivants : 13mm et 18mm pour l'huile essentielle de Canada. Sura Baykan et al [64], eux même ils ont obtenus respectivement les résultats suivants : 23mm et 20mm pour l'extrait méthanolique de la Turquie.

Les différences trouvées entre les résultats concernant l'activité antifongique de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique est liée à la composition chimique, aux groupements fonctionnels des composés majoritaires et à leur effet synergique ; mais dépend aussi de la méthode et au type de solvant utilisé pour l'extraction, aux conditions d'analyse expérimentale et aux variations saisonnières.

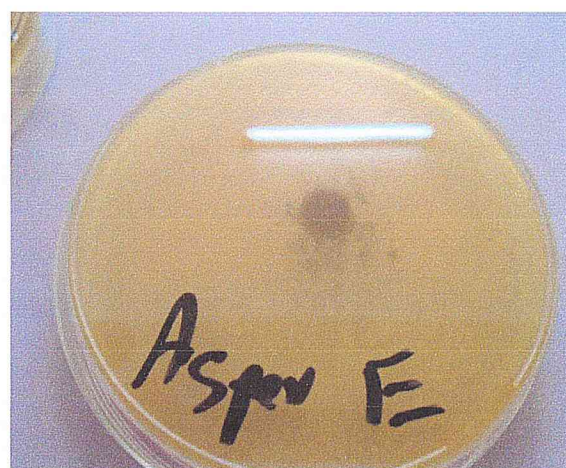
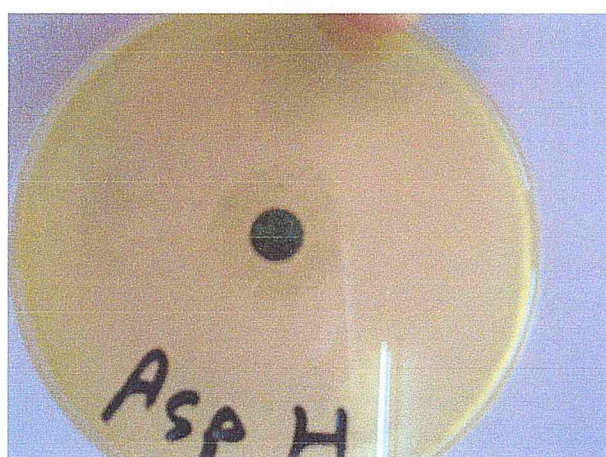
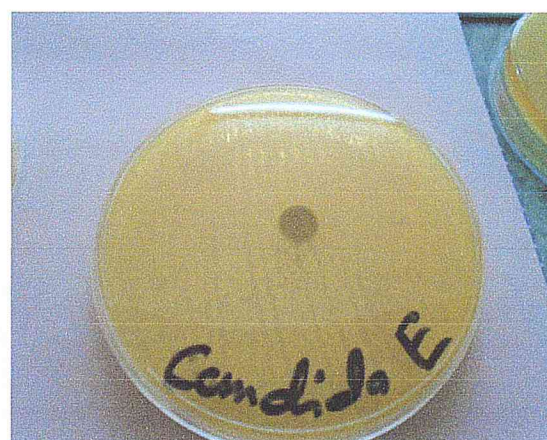


Figure 28 : Aromatogrammes des champignons testés avec l'extrait méthanolique et l'huile essentielle de l'absinthe.

L'histogramme suivant présente le comportement de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique vis-à-vis des champignons testés.

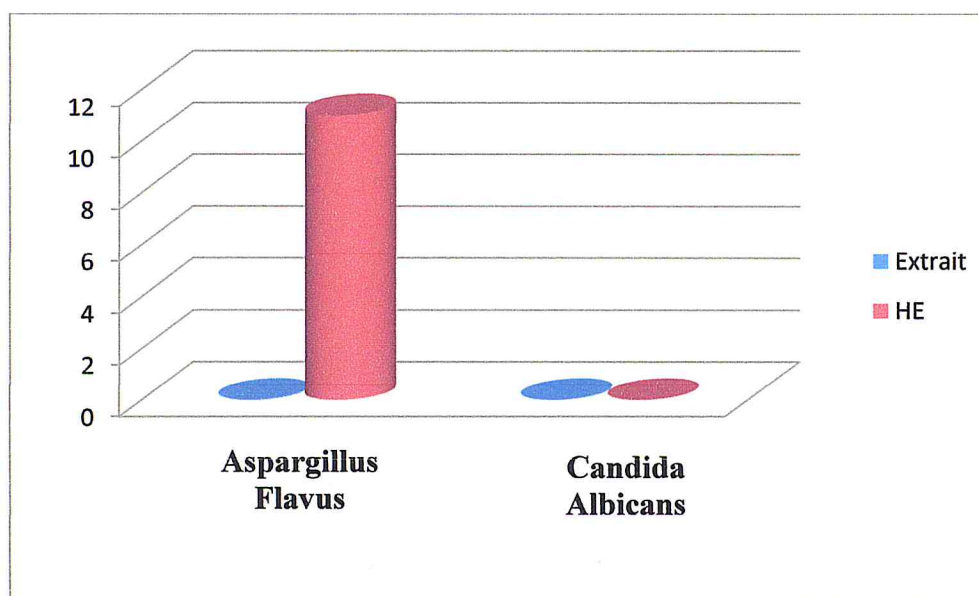


Figure 29 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des champignons

IV.6. ACTIVITE ANTI-OXYDANTE

L'activité anti-oxydante d'HE et de l'extrait méthanolique de l'absinthe vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par un spectrophotomètre UV-Visible, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires.

IV.6.1. Activité de piégeage du radical DPPH pour les échantillons étudiés

Les résultats d'activités antioxydantes de l'HE et l'extrait de l'absinthe sont regroupés dans le tableau 8 et illustrés sur les figures 30 et 31 :

Tableau 8 : Variation des absorbances et du taux de piégeage du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle et de l'extrait d'absinthe.

Concentration	HE		Extrait méthanolique	
	Absorbance	Activités (%)	Absorbance	Activités (%)
0,10	0,390	34,27	0,385	18,43
0,20	0,340	47,03	0,336	28,81
0,39	0,230	67,39	0,210	55,50
0,58	0,200	73,35	0,206	56,36
0,77	0,170	76,04	0,169	64,19
0,95	0,169	77,51	0,123	73,94

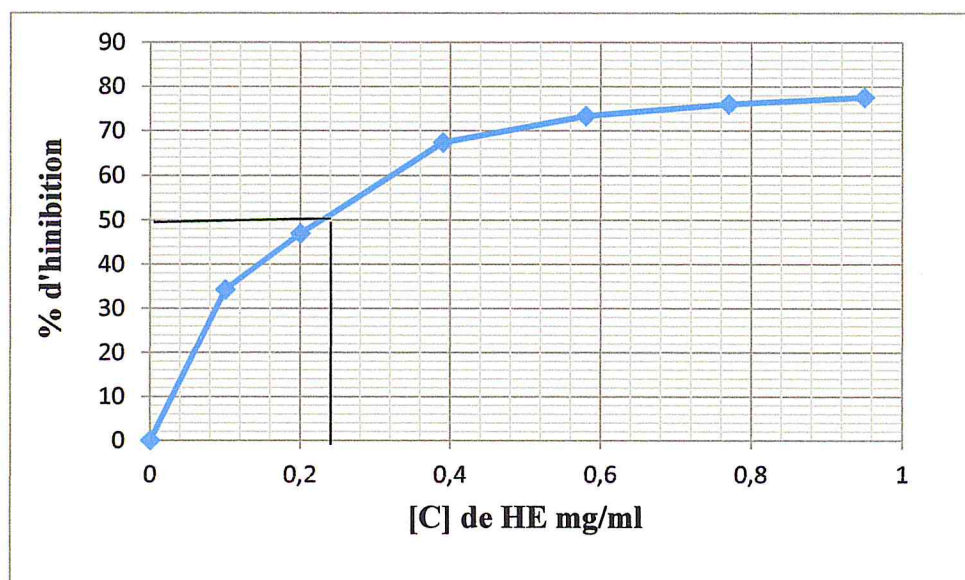


Figure 30: Variation du taux de piégeage du DPPH par l'HE de l'absinthe en fonction des différentes concentrations.

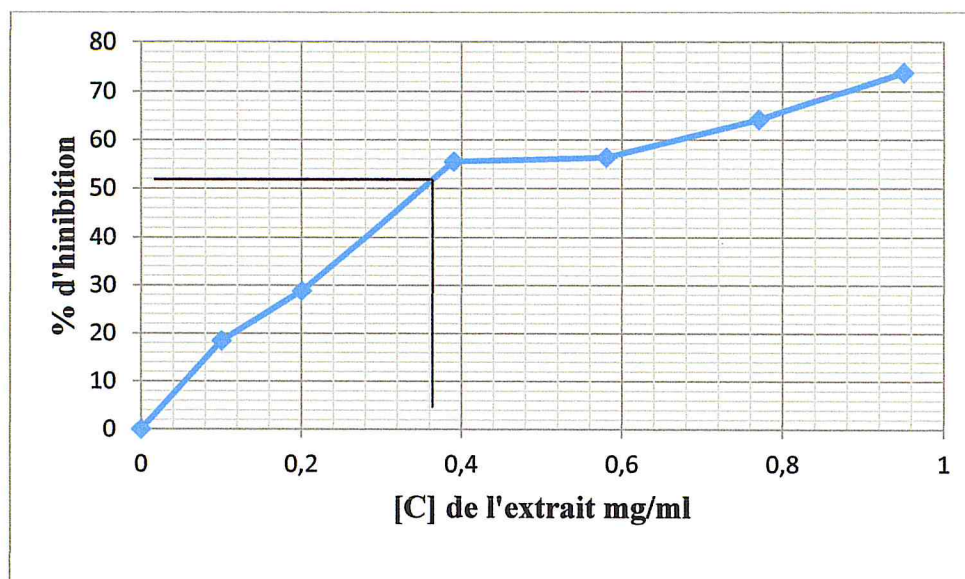


Figure 31: Variation du taux de piégeage du DPPH par l'HE de l'absinthe en fonction des différentes concentrations.

IV.6.2. Activité de piégeage du radical DPPH par les antioxydants de références

L'évaluation du pouvoir antiradicalaire de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique de l'absinthe ont été fait en comparaison avec ce lui de l'antioxydant de référence : L'acide ascorbique « Vitamine C ». Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 9, et illustrés par la figure 32.

Tableau 9 : Variation des absorbances et du taux de piégeage du DPPH en fonction des Différentes concentrations d'acide ascorbique

	Concentration	Absorbance	Activité%
Acide Ascorbique	0,0005	0,497	12,8
	0,003	0,375	34,2
	0,006	0,207	63,7
	0,008	0,170	70,1
	0,02	0,112	80,3
	0,03	0,078	86,3
	0,05	0,055	90,1

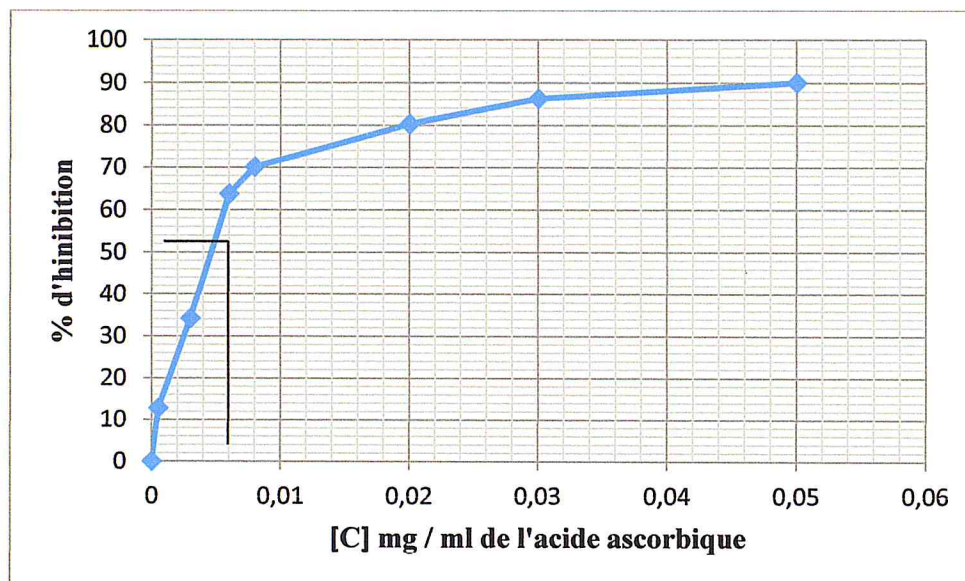


Figure 32 : Variation du taux de piégeage du DPPH• par « la vitamine C » en fonction des différentes concentrations

IV.6.3.Détermination de EC50

Les valeurs de EC₅₀ (mg/ml) de nos échantillons testés et les antioxydants de référence sont déterminées graphiquement. Les résultats sont présentés dans le tableau 10 et illustré par la figure 33 Ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour confirmer leurs résultats. Il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur) [66], sachant qu'une faible valeur de EC₅₀ correspond à une forte activité antioxydante.

Tableau 10 : EC₅₀ des échantillons naturels et des standards

Echantillons	EC50 (mg.ml ⁻¹)
L'acide ascorbique	0,0049
HE de l'absinthe	0,25
Extrait de l'absinthe	0,35

D'après le tableau, nous remarquons que la valeur de EC₅₀ de l'antioxydant de référence « l'acide ascorbique » est de 0.0049 (mg.ml⁻¹), alors que les échantillons naturels testés s'échelonnent entre 0,25 et 0,35 (mg.ml⁻¹). Nous remarquons que les capacités antioxydantes de l'HE et l'extrait d'absinthe sont très faibles, probablement cela est du à leurs faibles teneurs en composés phénoliques.

En comparant les résultats de EC₅₀ des échantillons testés, nous pouvons déduire que l'huile essentielle a donné un pouvoir antiradicalaire meilleur que l'extrait avec une valeur respectivement de 0,25 mg.ml⁻¹ et 0,35 mg.ml⁻¹. Nous constatons que la EC₅₀ relatif à l'antioxydant standard, est très bas par rapport à ceux des échantillons testés.

L'acide ascorbique est un excellent antioxydant, car il possède des capacités de neutralisation du radical libre DPPH et il est puissant en agissant à des faibles doses.

A l'issue des résultats obtenus avec l'HE, l'extrait et l'acide ascorbique « vitamine C », on peut classer le pouvoir antioxydant suivant l'ordre : VC > HE > Extrait.

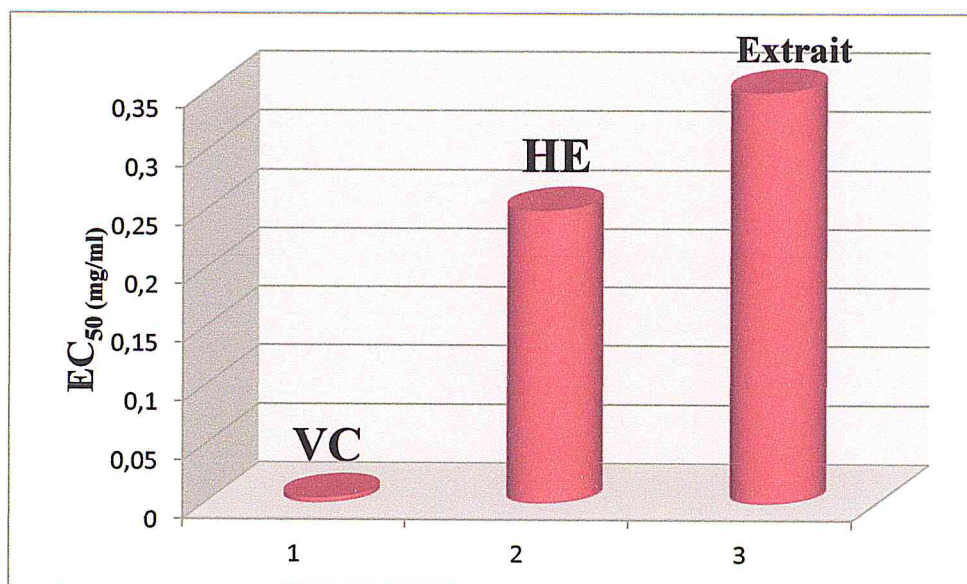


Figure 33 : Histogramme représentant des valeurs de EC₅₀ des échantillons testés et l'antioxydant de référence.

Les résultats d'activité antioxydante de l'huile essentielle d'absinthe sont en accord avec ceux obtenus par LOPES et al [28]. En effet, l'activité est testée par une même technique (test du DPPH). Ce même auteur a constaté que cette huile étudiée présente une faible activité antioxydante. Celle-ci est due à sa composition chimique, qui est riche en composés non phénoliques.

L'activité antioxydante de l'extrait obtenu au cours de notre étude (0,35 mg/ml) est faiblement inférieure que celle obtenue par MAHMOUDI et al [62] (0,61 mg/ml), les résultats sont exprimés en EC₅₀, sachant qu'une forte activité antioxydante correspond à une faible valeur de EC₅₀.

Il est bien connu qu'il existe une corrélation entre l'activité antioxydante et la teneur en composés phénoliques des extraits de plantes [67]. La propriété antioxydante des extraits méthanoliques de l'espèce d'*Artemisia* peut être attribuée aux contenus phénoliques.

IV.7. TEST D'ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE *IN VIVO*

Après l'administration de l'eau physiologique, le produit de référence (Clofénal), et l'extrait d'absinthe à des souris chez les quelles, nous avons provoqué une inflammation, par l'injection de la carraghénine à 1%, dans la surface plantaire des pattes postérieure. Nous avons mesuré les poids des pattes postérieures en (g) chez les trois lots.

Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 11 et illustrés par les figures 34 et 35

Tableau 11 : Résultats d'Activités anti-inflammatoires

Témoin (Eau physiologique)		La référence (Clofénal)		Extrait d'Absinthe	
Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)	Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)	Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)
0,158	0,144	0,173	0,130	0,137	0,128
0,193	0,155	0,164	0,150	0,143	0,128
0,220	0,162	0,149	0,131	0,139	0,125
0,190	0,146	0,169	0,158	0,138	0,117
0,247	0,162	0,163	0,138	0,123	0,114
0,207	0,158	0,147	0,121	0,129	0,094
La moyenne =0,203	La moyenne =0,154	La moyenne =0,160	La moyenne =0,138	La moyenne =0,135	La moyenne =0,118
% d'œdème= 31,82%		% d'œdème =15,94%		% d'œdème=14,41%	
		% de réduction de l'œdème =50%		% de réduction de l'œdème =54,71%	

IV.7.1. Le pourcentage d'œdème

L'administration par la voie orale de la carraghénine, entraîne une augmentation significative du pourcentage de l'augmentation du volume des pattes gauches par rapport aux pattes droites, des souris témoins, de groupe standard et celle de groupe traités par l'extrait; après les 30 min de l'expérimentation. Ce qui prouve bien que la carraghénine à induit une réaction inflammatoire engendrant un œdème.

Au cours de ce teste, nous avons constatés une diminution d'œdème (figure 34) chez les lots témoins, produit de référence (Clofénal), et l'extrait d'absinthe, respectivement 31,82%, 15,94% et 14,41%, préalablement provoqués par l'injection de la carraghénine.

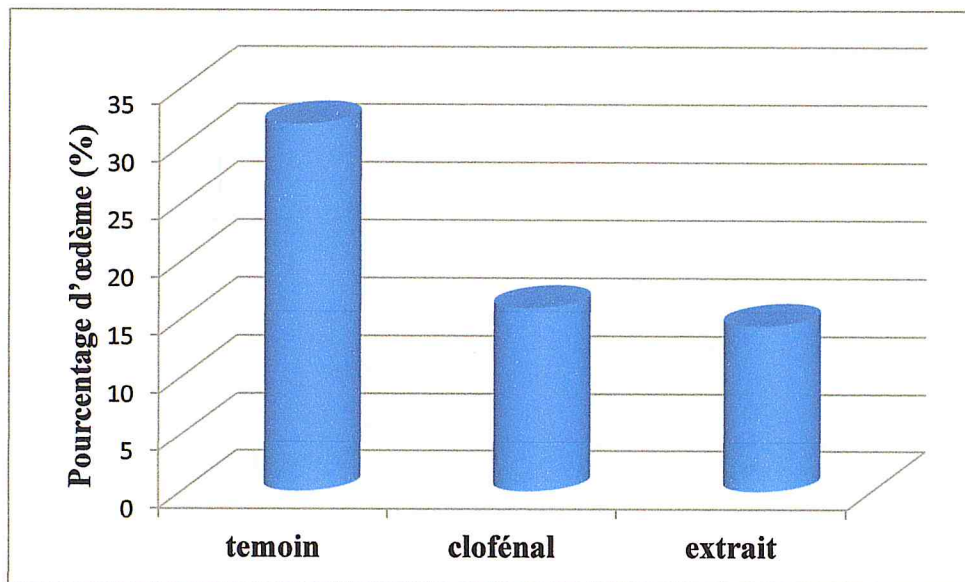


Figure 34 : Pourcentage d'œdème chez les trois lots

IV.7.2. Le pourcentage de réduction d'œdème

Dans les quatre heures qui ont suivi le traitement, nous avons remarqués que l'extrait méthanolique d'absinthe, à la dose de (50mg/kg) a induit un taux de réduction d'œdème de 54,71%. Ce taux est supérieur à celui obtenus suite au traitement à la base de Clofénal. En effet ce dernier à provoqués une réduction d'œdème de 50%, ce qui confirme que l'extrait méthanolique d'absinthe à exercé une activité anti-inflammatoire.

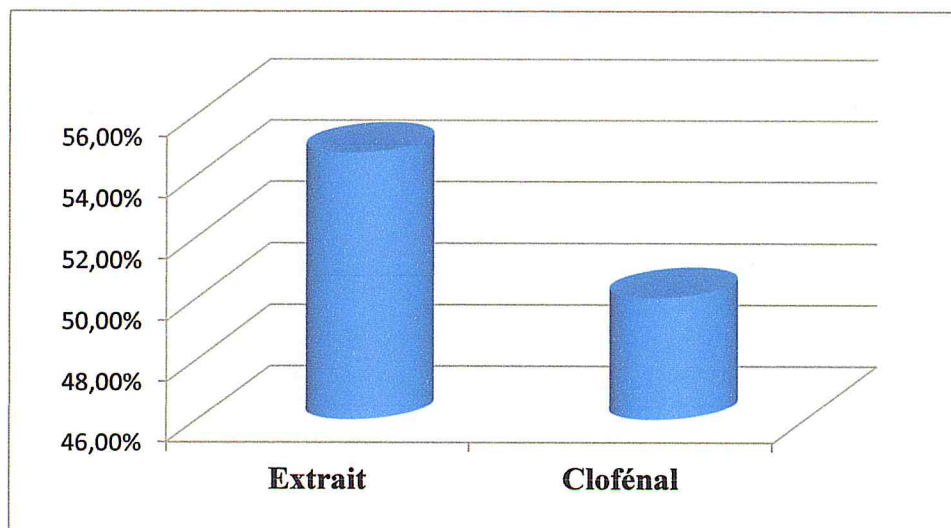


Figure 35 : Pourcentage de réduction d'œdème de l'extrait et de produit de référence

Ces résultats concordent avec plusieurs recherches qui montrent que l'activité anti-inflammatoire de l'extrait peut s'expliquer en partie par la présence dans les feuilles des composés polyphénoliques comme les tanins et les flavonoïdes

De plus, de nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires [68].

Des études munies par Hadi.Aet al. Ont démontrés que les constituants ou les composants phytochimiques d'*Artémisia absinthium* telle que les flavonoïdes, les tanins, les caroténoïdes et les polyphénols sont responsables de l'activité anti-inflammatoire [69].

Dans notre cas on peut dire que notre extrait qui a présenté une activité anti-inflammatoire est lié à la présence de composé 7-ethyl 1,4-dimethyl- Azulene dans la plante et qui est responsable de cette activité.

CONCLUSION

Le présent travail vise à valoriser une plante médicinale et aromatique très répandue dans le monde et en Algérie connue sous le nom d'Absinthe. Notre étude a porté sur l'analyse chimique de son huile et l'analyse phytochimique de son extrait ainsi que leur activité biologique *in vitro* et *in vivo*.

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation à l'échelle laboratoire. L'étude de certains paramètres influençant le rendement de l'huile essentielle nous a permis d'obtenir un rendement de l'ordre de 0,25%.

Le dosage des composés phénoliques contenus dans l'extrait méthanolique par la méthode de Folin-Ciocalteu a révélé des concentrations très faibles en polyphénols totaux chez l'absinthe. L'ensemble des résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de sources naturelles biologiquement actives.

Cette étude nous a permis également d'établir la composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium*, son profil chimique est dominé par la présence du composé 7-ethy,1,4-dimethyl Azulene avec un pourcentage de 52,22%.

Les tests d'activités antimicrobiennes effectués sur l'huile essentielle et l'extrait méthanolique extraite d'absinthe, ont montré que l'huile essentielle avait des actions extrêmement inhibitrices contre, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* par rapport à l'extrait.

Ces résultats présentent un intérêt pour des applications phytosanitaires comme des procédés de lutte biologique basés sur des substances naturelles afin d'éradiquer les infections d'origine fongique et en vue d'une utilisation dans le cadre d'une agriculture biologique.

L'étude de l'activité antioxydante *in vitro* a été testée avec la méthode au DPPH. L'étude comparative du pouvoir antioxydant de l'extrait et de l'huile essentielle d'absinthe montre que cette dernière est plus puissante.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*, nous a amené à déduire que l'extrait méthanolique d'*Artemisia absinthium* est efficace à la dose 50 mg/ kg administrés aux souris. L'extrait a exercé une activité anti-inflammatoire, qui a induit un taux de réduction d'œdème de 54,71%. Ce taux est supérieur à celui obtenu suite au traitement à la base de Clofénal, qui a provoqué une réduction d'œdème de 50%. Les résultats obtenus lors de cette étude sont très intéressants, mais des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets.

Néanmoins, il serait judicieux en guise de perspectives de :

- Etudier la toxicité de l'huile de l'absinthe ;
- Tester l'huile sur d'autres germes phytopathogènes ;
- Déterminer le ou les principes actifs responsables de l'activité antimicrobienne de l'huile afin de produire des formules antifongiques naturelles ;
- Réaliser des études pour l'isolement et l'identification des composés actifs responsables de l'activité antioxydante de l'extrait ;
- Confirmer nos résultats en étudiant la même espèce provenant des différentes régions d'Algérie;
- Etudier l'activité antimicrobienne de l'huile d'*Artemisia absinthium* en fonction du stade végétatif de la plante.
- Etudier l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium*.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] **Leslev bremness.** ; « Plantes aromatiques et médicinales, 700 espèces ».Ed. Tec & Doc, Paris, 2005.
- [2] **Mohamedi Z.** ; « Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. » Thèse de magister, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, faculté des sciences, département de biologie, laboratoire Produit Naturels 2005/2006.
- [3] **Quezel R. ; Santa S.** ; « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. » Tome 2. Ed, Centre National de la Recherche Scientifique. Paris p977, 1963.
- [4] **Hose S.**; «Der Wermut - *Artemisia absinthium* - Zeitschrift Phytother» 2002 23: 187-194.
- [5] **Kordali S.; Cakir A.; Mavi A.; Kilic H and Yildirim A.**; « a Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential from three Turkish *Artemisia* species» J. Agric. Food Chem. 53, 1408 – 1416.2005.
- [6] **Bruneton J.** ; «Plante toxique végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux» Ed. Tec & Doc, Paris, p185, 2005.
- [7] **Gilly G.** ; «Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse» Ed. L'harmattan, Paris pp193-197. 2005
- [8] **Swerdlow J.L.** ; «Médecine des plantes qui guérissent de la nature, Washington » DC . National Geograohic Society. 2000
- [9] **Ozenda P.** ; «Flore du Sahara » Edition centre national de recherche scientifique, 2^{ème} édition. Paris. p662. 1983.
- [10] **Khebri S.** ; « Etude chimique et biologique de trois artemisia » thèse de Magister, université El-hadj lakhar Batna, faculté des sciences, département de chimie 2010/2011.
- [11] **Ghemour G.** ; « Les plantes médicinales dans la région des Ouadhia et Boghni ». Thèse d'ingénieur, U.M.M.T.O , Institut d'agronomie, 2004/2005.
- [12] **Delille L.** ; « Les plantes médicinales d'Algérie. » Ed. Berti, Alger. 2007
- [13] **BORDEZ L.** ; «Grande Absinthe *Aerémisia absinthium L* » Faculté libre des sciences et technologies, université catholique du lille, 1753.

- [14] **Skiredj A. ; Elattir H. ; Elfadi A. ;** « Bulletin mensuel d'information et de liaison du Programme National de Transfert de Technologie en Agriculture » (PNTTA) DERD, Rabat.2002
- [15] **Schauenberg F. ;** « Guide des plantes Médicinales, analyse, description et utilisation des 400 plantes » Ed Delachaux et Niestlé, Espagne, p396, 2006.
- [16] **Ait Youssef M. ;** « Plantes médicinales de kabylie , Mohand Ait youssef » Préface du docteur Jean-philippe Brette. Editions. Ibis. Press. Paris, pp 48-53, p 349, 2006.
- [17] **Paul iserin. ;** « Encyclopédie des plantes médicinales » préface de paul iserin ISBN: 2-03-560252-1
- [18] **Teuscher E. ; Anton R. ; Lobstein A. ;** « Plantes aromatiques, Épices, aromates, condiments et huiles essentielles » Edition Tec and Doc, Lavoisier, Paris, (6), p 522, 2005.
- [19] **Kalemba D.; Gora J.; Kurowska A.; Majda T and Mielniczuk Z.;** «Analysis of essential oils in aspect of their influence on insects. Part I.Essential oils of *Artemisia absinthium* L» *Zeszyty Naukowe Politechniki Lodzkiej, Technologia I Chemia Spozywcza* 589, 5–14. 1993
- [20] **Bouksil H. ; Khelili A. ;** « Activité biologique de trois huiles essentielles à l'égard d'un ravageur des denrées stockées » Mémoire d'ingénieur Institut d'agronomie, U.M.M.T.O, 2008/2009.
- [21] **Chabab H. ;** « effet insecticide de trois plantes spontanées le thym (*Thymus algeriensis*), le bourrache (*Borago officinalis* L) et l'absinthe (*Artemisia absinthium* L) sur l'insecte ravageur de blé dur *Tribolium castaneum herbst* ».Mémoire d'ingénieur. Institut d'agronomie, U.M.M.T.O 2009/2010.
- [22] **Hamdani F/Z. ; Ameur H. ;** « Comparaison de l'activité insecticide des molécules des huiles essentielles de la lavande, l'absinthe, l'origan, la citronnelle et le faux poivrier contre la *Sitophilus oryzae* »2009/2010.
- [23] **Wichtl M. ; Anton R. ;** « Plantes thérapeutiques-tradition, pratique officinale, science et thérapeutique » 2^{ème} édition, Edition : Tec et Doc, Paris : 2-7430-0631-5. 2003.
- [24] **Heinrich M.; Barnes J.; Gibbons S.;** « *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*» Churchill Livingstone, Edinburg, 209–210, 2004.
- [25] **Jerkovic J.; Mastelic M.; Juteau F.; Masotti V and Viano J. ;** «Chemical variability of *Artemisia vulgaris* L. essential oils originated from the Mediterranean area of France and Croatia *Flavour. » Fragr. J. (18):* 436–440 (2003).

- [26] **Basta O.; Tzakou O.; Couladis M.; Pavlovic M. ;** «*J. Essent. Oil Res* » 19, 316-318. 2007
- [27] **Chiasson H.; Bélanger A.; Bostanian N.; Vincent C.; Poliquin A.;** «Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L oil » *Journal of Economic Entomology* , 94 (1), 167-171. 2001.
- [28] **Lopes-Lutz D.; Alviano D.S.; Alviano C.S.; Kolodziejczyk P.P.;** «Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils » *Phytochemistry.*; 69 (8) :1732-1738.2008
- [29] **Derwiche E.; Benziane Z and Boukir A.;** «Chemical compositions and insecticidal activity of essential oils of three plants *Artemisia* species : *Artemisia Herba-Alba*, *Artemisia Absinthium* and *Artemisia Pontica* (Morocco) » *EJEAF Che*, 8 (11). 1202 – 1211. 2009.
- [30] **Kordali S.; Cakir A.; Mavi A.; Kilic H and Yildirim A.;** «Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential from three Turkish *Artemisia* species» *J. Agric. Food Chem.* 53, 1408 – 1416. 2005.
- [31] **Nezhadali A.; Parsa M.;** «Study of the volatile compounds in *Artemisia absinthium* from Iran using HS/SPME/GC/MS, *Advances in Applied Science Research*» 1 (3): 174-179. 2010.
- [32] **Rezaeinodehi A.; Khangholi S.;** «Chemical composition of the essential Oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Iran. » *Pakistan journal of biological sciences* 11 (6): 946-949.2008
- [33] **Kaul V.; Nigam S.; Dhar L.;** «Antimicrobial activities of the essential oils of *Artemisia absinthium* L., *Artemisia valesiaca* Wall. And *Artemisia vulgaris* L.» *India J Pharmacol*; 38: 21-2.1976.
- [34] **Baykan Erel S.; Reznicek G.; Şenol S.G.; Karabay Yavasogulu N.U.; Konyalioglu S.; Zeybe A.;** «Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L., species from western Anatolia» *J Biol* 36, 75-84.2012.
- [35] **Oana Craciunescu.; Daniel Constantin.; Alexandra Gaspar.; Liana Toma. ; Elena Utoiu and Lucia Moldovan.;** «Polyphenol composition and antioxidant activity of extract from *Artemisia absinthium* L». *Chemistry Central Journal* 2012.

- [36] **Dhen N.; Majdoub O.; Souguir S.; Tayeb W.; Laarif A and Chaib I.**; «Chemical composition and fumigant toxicity of artemisia absinthium essential oil against *Rhyzopertha dominica* and *Spodoptera littoralis*». Tunisian Journal of Plant Protection 9: 57-65. 2014.
- [37] **Association française de Normalisation.** ; Recueil des normes françaises « huiles Essentielles ». ; AFNOR. ; Paris AFNOR NF T 75-006. 1986.
- [38] **Milpied H.** ; «Progrès en dermato-allergologie» Edition John Libbey eurotexte. p128 Bordeaux 2009.
- [39] **Bruneton J.** ; «Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales» (3^{ème}édition) .Paris Ed.Techniques et Documentations, Lavoisier, p575.1999.
- [40] **Nicolas Rabasso.** ; «Chimie organique : 1. Généralités, études des grandes fonctions et méthodes spectroscopiques. » (2^{ème}édition) .Paris Ed.Techniques et Documentations p135.1998.
- [41] **Wang Z.** ; «Chimie organique 3, Généralités, études des grandes fonctions et méthodes spectroscopiques. » (3^{ème}édition) .Paris Ed.Techniques et Documentations p250.1999.
- [42] **Bocevaska M.; Sovova H.**; «*The journal of supercritical fluids*» 40, 360-367.2007.
- [43] **Robards K.; Prenzler P.D.; Tucker G., Swatsitang P.; Glover W.**; «Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. » *Food Chemistry*, Vol. 66, Issue: 4, 1999, pp. 401–436.
- [44] **Diebolt M.**; « Effets pharmacologiques des polyphénols végétaux sur la vasomotricité et études des mécanismes dans un modèle de vaisseaux humains reconstitués par ingénierie tissulaire » Université Laval, 2003.
- [45]**Richard H.** ; « Épices et aromates. Technologie et Documentation » Lavoisier. Paris. 339p.2000
- [46] **Marouf A.** ; « Dictionnaire de botanique : Phanérogames. » Ed. Dunod, Paris, p199, 2000.
- [47] **Gravot A.** ; « Etude de la biosynthèse des furano-coumarines chez *Ruta graveolens*. » Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Lorraine. 2002/2003
- [48] **Biallo D. ; Sanogo R. ; Yasambou H.** ; « Etude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae) ». *C.R. chimie*–7: 1073 – 1080. 2004.

- [49] **Kusumi T.; Uchimura H.**; « The conformation of the 17-*O*-MTPA-Eicosatetraenoyl chain of a marine acylphloroglucinol », *Journal of Tetrahedron Letters*, 35, 3127-3128, 1994.
- [50] **Daels-rakotoarison D.** ; «Extraits polyphénoliques d'aubepine, de cola et d'eglantier »
Thèse de doctorat, université de Lille II France, 172 (64). 1999.
- [51] **Benjlali B.; Tantaoui-elarki A.; Ismaili-alaoui M.** ; « Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé ». *Plant. Méd. Phytothérapie*. 1986; 20, pp 155-167
- [52] **Fauchere J. ; Avril L.** ; « Bactériologie générale et médicale ». Ellipses Ed itent, Paris, 365. 2002.
- [53] **Leitão G.; Vilegac W.**; «Quick Preparative Separation of Natural Naphthopyranones with Antioxidant Activity by High – Speed Counter Current Chromatography. » *Z. Naturforsch.* 57C, 1051 – 1055.2002
- [54] **Celiktas O.Y.; Bedir E.; Vardar Sukan F.**; «*In vitro* antioxidant ctivities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide». *Food Chem.* 101: 1457-1464.2007
- [55] **Mensor L.; Menezes F.; Leitão G. ; Reis S.; Santos T.; Coube S.; Leitão S.**; «Screening Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method. » *Phy – Tothes. Res.* 15, 127 – 130.2001
- [56] **Ndiyaye M. ; Dieye M.** ; « Evaluation de l'activité anti-inflammatoire des feuilles d'annona reticulata (annonacea) sur l'oedeme aigue de la patte de rat induit par la carraghénine » *pharm .med trad afr .vol XIV* pp.179-186.2006
- [57] **Levy L.**; « Carrageenan paw edema in the mouse »*L ifc Sci* 8,pp 601-606. 1969.
- [58] **Weiss R.F.; Thieme Verlag M.D.G.**; « Weiss's Herbal Medicine » 6^{ème} édition. Stuttgart: Thieme, pp 79-80. 2001
- [59] **Orav A.; Raal A.; Arak E.; Muurisepp M.; Kailas T .**; «composition of the essential oil of artemesia absinthium L.of different geographical origin procedding of the Estonian academy of sciences chemistry » vol .55,no .3, pp155-165 2006.
- [60] **Mohamed Y.; Hofer T.; Andersen H.; Hansen T.**; « Polyunsaturated fatty acid-derived chromones exhibiting potent antioxidant activity », *Journal of Chemistry and Physics of Lipids*, 170-171, 41-45, 2013.

- [61] **Tawaha.K.; Alali Q. ; Gharaibeh M.; Mohammad M.; El-Elimat T .;**« Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species », *Journal of Food Chemistry*, 104, 1372-1378, 2007.
- [62] **Mahmoudi M.; Ebrahimzadeh M.; Ansaroudi F.; Nabavi S and Nabavi M.;** «Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage». *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (24). PP. 7170-7175.2009.
- [63] **Falleh H.; Ksouri R.; Chaieb K.; Karray-Bouraoui N.; Trabelsi N.; Boulaaba M.; Abdelly C.;** «Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities, *Comptes Rendus Biologies* » 331, 372–379.2008
- [64] **Sura Baykan Erel.; Gottfried Reznicek.; Serdar Gokhan Senol.;** «Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L Speices from western Anatolia, *Turk J Biol*»36(2012) 75-84.
- [65] **Wendakoon C.; Sakaguchi M.;** «Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices », *Journal of Food Products*, 58, 280-283, 1995.
- [66] **Molyneux P.;** «The use of the stable free radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity » *Songklanakarin J. Sci. Technol* 26 (2), pp 211-219. 2004.
- [67] **Albayrak S.; Aksoy A.; Sağdıç O.;** «Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey » *Turk J Biol* 34: 463-473.2010
- [68] **Mansour Sadia. ;** « Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L , *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboides* - *Etude in vivo* » thèse de doctorat .2014 2015
- [69] **Hadi A.; Hossein N.; Shirin P.; Najmeh N.; Abolfazl M.;** « Anti-inflammatory and Analgesic Activities of *Artemisia absinthium* L and Chemical Composition of its Essential Oil » *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 24(2), 38, 237-244. 2014.

ANNEXES

ANNEXE A

Caractérisation de l'huile essentielle

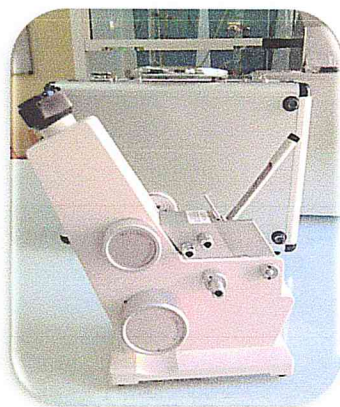
Caractéristiques physiques de l'huile essentielle :

Détermination de l'indice de réfraction : (Norme NF T 75-112)

L'indice de réfraction d'un milieu homogène, transparent, peut être défini comme le pouvoir que possède ce milieu pour dévier un rayon arrivant sur la surface, selon British pharmacopeia. La détermination de l'indice de réfraction se fait à l'aide d'un réfractomètre.

Mode opératoire :

On met de l'HE dans la cellule de mesure à l'aide d'une micropipette, puis on referme le couvercle. Au bout de quinze secondes (le temps nécessaire pour que l'appareil soit stabilisé à 20°C) on règle l'appareil jusqu'à la localisation du trait au centre de la cellule, on lit alors la valeur de l'indice de réfraction.



Annex (A) 1: réfractomètre d'Abbe

Caractéristiques chimiques de l'huile essentielle

Détermination de l'indice d'acide (Norme NF (T 75-103))

L'indice d'acide I_A est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans un gramme de l'huile essentielle.

Méthode de calcul

L'indice d'acide est exprimé selon la formule suivante :

$$IA = V \times C \frac{56,11}{m}$$

Où :

I_A : L'indice d'acide

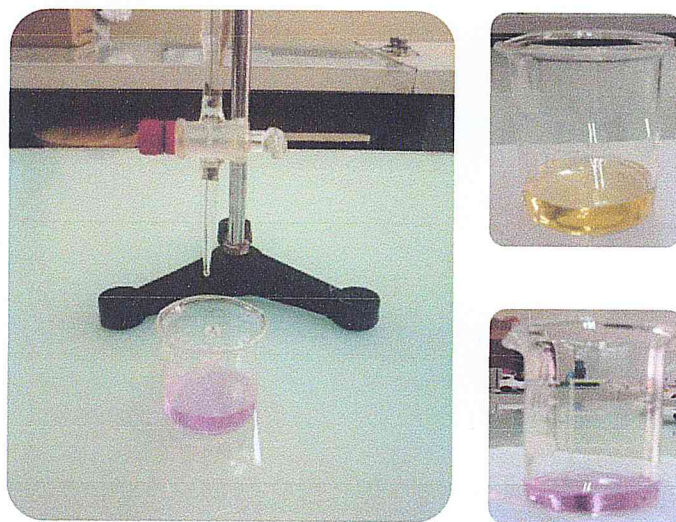
V : est le volume, en ml, de solution de KOH utilisé pour le titrage.

C : est la concentration exacte, en moles par litres, de la solution de KOH.

m : est la masse, en grammes, de l'huile essentielle.

Mode Opératoire

On introduit 0,5 g de l'huile essentielle dans 25 ml d'éthanol et 5 gouttes de phénolphtaléine comme indicateur coloré, et on neutralise la solution avec l'hydroxyde de potassium (0.1M) contenue dans la burette.



Annex (A) 2 : Différentes étapes de la détermination de l'indice d'acide

Détermination de l'indice d'ester (AFNOR NF T 75-104 :1994)

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'huile essentielle. L'hydrolyse des esters présents dans l'huile essentielle se fait par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une

solution d'hydroxyde de potassium éthanolique et dosage en retour de l'excès d'alcali par une solution d'acide chlorhydrique HCl.

Méthode de calcul

$$IE = \frac{28,05}{m} (V_0 - V_1) - IA$$

IE : Indice d'ester ;

V_0 : est le volume, ml, de la solution de HCl utilisé pour l'essai à blanc ;

V_1 : est le volume, ml, de la solution de HCl utilisé pour la détermination ;

m : est la masse, en grammes, de l'huile essentielle ;

IA : est la valeur de l'indice d'acide déterminé selon la norme NF T 75-103

ANNEX B

Tableau des résultats

Annexe (B) 1: influence de la masse de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle

Masse végétale (g)	R(%)
50	0,26
100	0,13
150	0,13
200	0,10

Annexe (B) 2: Evolution du rendement en HE selon la durée d'extraction (cinétique)

TEMPS (min)	Rendement (%)
0	0
0	0
30	0
45	0,05
60	0,10
75	0,14
90	0,18
105	0,20
120	0,22
140	0,25
150	0,26
180	0,26

Annexe(B) 3 : Variation des absorbances et du taux de piégeage du DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle et de l'extrait d'absinthe.

Concentration	HE		Extrait méthanolique	
	Absorbance	Activités (%)	Absorbance	Activités (%)
0,10	0,390	34,27	0,385	18,43
0,20	0,340	47,03	0,336	28,81
0,39	0,230	67,39	0,210	55,50
0,58	0,200	73,35	0,206	56,36
0,77	0,170	76,04	0,169	64,19
0,95	0,169	77,51	0,123	73,94

Tableau (B) 4: Variation des absorbances et du taux de piégeage du DPPH en fonction des Différentes concentrations d'acide ascorbique

Acide Ascorbique	Concentration	Absorbance	Activité%
	0,0005	0,497	12,8
	0,003	0,375	34,2
	0,006	0,207	63,7
	0,008	0,170	70,1
	0,02	0,112	80,3
	0,03	0,078	86,3
	0,05	0,055	90,1

Annexe(B) 5 : Résultats d'activité anti-inflammatoire

Témoin (Eau physiologique)		La référence (Clofénal)		Extrait d'Absinthe	
Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)	Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)	Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)
0,158	0,144	0,173	0,130	0,137	0,128
0,193	0,155	0,164	0,150	0,143	0,128
0,220	0,162	0,149	0,131	0,139	0,125
0,190	0,146	0,169	0,158	0,138	0,117
0,247	0,162	0,163	0,138	0,123	0,114
0,207	0,158	0,147	0,121	0,129	0,094
La moyenne =0,203	La moyenne =0,154	La moyenne =0,160	La moyenne =0,138	La moyenne =0,135	La moyenne =0,118
% d'œdème= 31,82%		% d'œdème =15,94%		% d'œdème=14,41%	
		% de réduction de l'œdème =50%		% de réduction de l'œdème =54,71%	

ANNEX C

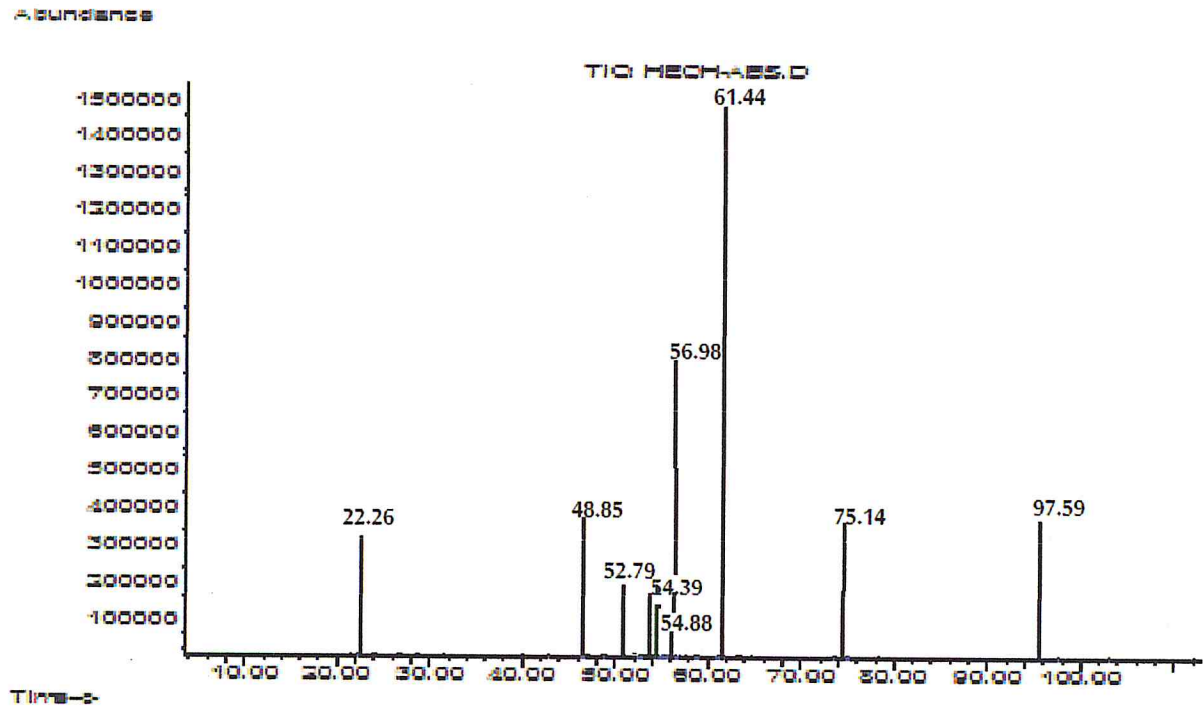


Figure C (a): Profile chromatographique d'analyse de l'huile essentielle de l'Absinthe extraite par hydrodistillation