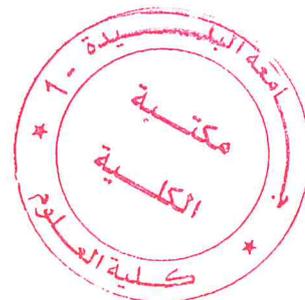


RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
 MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
 UNIVERSITÉ DE SAAD DAHLEB BLIDA 1

Faculté des sciences
 Département de chimie



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de
 MASTER EN CHIMIE DES PRODUITS NATURELS

Intitulé du mémoire

**Extraction, modification chimique et
 valorisation de l'activité microbiologique de
 l'huile essentielle de *Artemisia judaica***

Réalisé par : M^{elle} CHAAR Feriel et M^{elle} EL-AHOUEL Sara

Soutenu le 09/07/2018 devant le jury composé de :

Mr B.KADRI	Président	Dr. à l'université de BLIDA
Mme Z.ZEFFOUNI	Examinatrice	Dr. à l'université de BLIDA
Mr H.BOUTOUMI	Promoteur	Pr. à l'université de BLIDA
Mme A.DRIOUECHE	Co-promotrice	Dr. à l'université de BLIDA

Année universitaire : 2017/2018

REMERCIEMENTS

Au terme de la rédaction de ce mémoire, c'est un devoir agréable d'exprimer en quelques lignes la reconnaissance qu'on doit à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail, qu'ils trouvent ici nos vifs respects et remerciements.

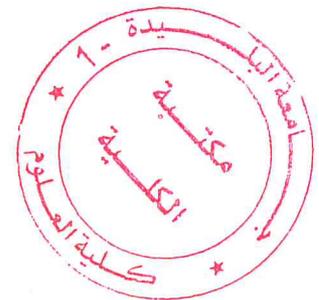
Nous tenons tout d'abord à remercier le dieu Miséricordieux le tout puissant qui nous a donné la force d'élaborer ce travail.

On adresse notre plus profonde reconnaissance et notre entière gratitude à notre promoteur, le professeur BOUTOUMI.H d'avoir accepté la direction de ce travail, on le remercie de nous avoir fait profiter de ses connaissances, ses conseils, ses recommandations, le temps qu'il nous a consacré, et pour son soutien précieux lors de la rédaction de ce travail où il trouve un hommage vivant à sa haute personnalité.

Notre gratitude ira également à la Co promotrice Mme DRIOUECHE.A pour son aide précieux et sa bienveillance, son orientation, sa confiance et sa patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble de nos enseignants de nous avoir fait profiter de leurs connaissances et de leurs expériences, et on remercie particulièrement notre responsable de MASTER Mme TOUAFEK pour son orientation et sa bienveillance tout le long du projet.

On ne manquera pas d'adresser nos remerciements à l'ensemble du personnel du laboratoire du département de chimie ainsi que le laboratoire du département de chimie industrielle, techniciens et ingénieurs pour leur aide, leurs disponibilités et leurs soutiens.



DEDICACES

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,
L'amour, le respect, la reconnaissance
Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce mémoire*

*A Mes très chers parents, MOUFIDA et SOFIANE que nulle dédicace ne
puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leurs patiences illimitée, leurs
encouragement, leurs aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour
leurs grands sacrifices. Qu'ils trouvent ici l'expression d'un grand amour et d'une
gratitude qui, si grande qu'elle puisse être, ne sera jamais à la hauteur de leur
patience.*

*A la mémoire de ma grand-mère Qui m'avait toujours accompagné par ses prières,
sa douceur et ses encouragements.
J'aurais tant aimé qu'elle soit présente
Que Dieu ait son âme dans sa sainte miséricorde.
A ma grand-mère paternelle qui m'a toujours soutenu, que Dieu lui accorde
longue vie, santé et beaucoup de bonheur.*

*A mon très cher binôme SARA, avec qui j'ai passé les meilleurs moments durant
mes 5 ans d'études à l'université.*

*A mes chers oncles et tantes
A mes chers cousins et cousines
Veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et
Mon affection la plus sincère.*

*A mes copines, en souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments
agréables que nous avons passés ensemble.*

*A Toutes les personnes qui ont participé à
L'élaboration de ce Travail, à tous ceux que j'aime*

Dédicace

Au nom de Dieu miséricordieux

J'aimerais en premier lieu remercier mon dieu **Allah**, l'unique, le tout puissant et le sachant, qui m'a donné la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail.

Je dédie ce modeste travail

A ma très chère mère

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A mon très cher Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Que mon père accepte à cette occasion, mes hommages comme gage de mon profond amour, et ma reconnaissance jamais interrompue, « je t'aime papa ».

A mon cher frère « Bilel » et Mes très chère sœurs «Mounia, Ablah et Yousra Bayen».

A mon cher mari « Ismail » qui m'a beaucoup encouragé dans cette étude.

Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entouré. Cher mari j'aimerais bien que tu trouve dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et à ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour...Que dieu le tout puissant nous accorde un avenir meilleur.

A tout ma famille du côté paternel et maternelle.

A ma sœur et chère binôme « Ferial » ce qui a commencer avec moi mon parcours universitaire dès le premier jour jusqu'aujourd'hui. Et à toute sa famille.

Sara

ABSTRACT

The recourse to natural substances as much as sources of biologically active molecules remain a major concern for the equiaring chemists. In this context, the choice of vegetables equipement in fact *Artemisia Judaica* as source of chemical compounds was undertaken. *Artemisia Judaica* gave by hydrodistillation a very appreciable yield (2%). The presence of the piperitone as a majority product (87%) was identified by CG/MS, these results one confirmed by UV-Screw and FTIR. The essential oil of *Artemisia Judaica* modified with hydrazone monohydrate and hydroxylamine is not affected by the nature of the reactional medieum. Essential oil modifie dis differently active screw to studied microbial stocks. The product of the modification generated by the reaction of modification are more active screw mushrooms.

Key words : *Artemisia Judaica*, essential oil, extraction, chemical modification.

RESUME

Le recours aux substances naturelles autant que sources de molécules biologiquement actives restent un souci majeur pour les chercheurs chimistes.

Dans cette optique, le choix du matériel végétale en l'occurrence l'*Artemisia Judaica* comme source de composés chimiques a été entrepris. L'*Artemisia Judaica* a donné un rendement en huile essentielle par hydrodistillation très appréciable (2%). La présence du piperitone en tant que produit majoritaire (87%) a été identifiée par CG/MS, ces résultats ont été confirmés par UV-Vis et FTIR. L'huile essentielle de l'*Artemisia Judaica* modifiée avec l'hydrazone monohydrate et l'hydroxylamine n'est pas affectée par la nature du milieu réactionnel. L'huile essentielle modifiée est différemment active vis-à-vis de souches microbiennes étudiées. Les produits de la modification engendrés par la réaction de modification sont plus actifs vis-à-vis des champignons.

Mot clés : *Artemisia Judaica*, huile essentielle, extraction, modification chimique, activités microbiologiques.

ملخص

يبقى استخدام المواد الطبيعية التي تعتبر مصدر للجزيئات البيولوجية النشطة، محل قلق كبير للباحثين الكيميائيين. في هذا السياق، تم اختيار نبتة الشيح الأبيض كمصدر للمركبات الكيميائية. بحيث أعطت بواسطة عملية التقطير المائي مردوداً جيداً محسوساً من الزيت الأساسي بنسبة (2%)، كما تم تحديد وجود البيبيريتون كمنتج غالباً يقدر بـ (87%) بواسطة التحليل الكروماتوغرافي و أكدت هذه النتائج بالاعتماد على UV-Vis و FTIR. الزيت الأساسي لنبتة الشيح الأبيض المعدل مع الهيدرازين أحادي الهيدرات و الهيدروكسيلامين، لا يتأثر بطبيعة وسط التفاعل. الزيت الأساسي المعدل له نشاطاً بشكل مختلف مقابل السلالات الميكروبية التي تمت دراستها. المنتجات الناتجة عن التعديل لها نشاطاً جيداً معتبر فيما يتعلق بالفطريات.

مفاتيح الكلمات □ الشيح الأبيض، الزيت الأساسي، استخلاص، التعديل الكيميائي، أنشطة مكر وبيولوجية.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE

Chapitre 1

Etude bibliographique sur l'*Artémisia Judaica* et sur la modification chimique de l'huile essentielle de l'*Artémisia Judaica*

Partie 1

Aperçue bibliographique sur la plante d'*Artémisia Judaica*

1. Généralité	01
1.1 Définition d'une huile essentielle	01
1.2 Caractères physico-chimiques des huiles essentielles	01
1.3 Procédés d'extraction des huiles essentielles	02
1.4 Analyse et profil chromatographique des huiles essentielles	03
1.4.1 Analyse par CPG	03
1.4.2 Analyse par CPG/SM	03
1.4.3 Analyse par spectroscopie de la résonance magnétique du carbone 13 (RMN C13)	03
1.4.3.1 Identification des constituants	03
1.4.4 Analyse par CCM	04
2. Matériel végétale	05
3. Etude botanique de l' <i>Artémisia Judaica</i>	05
4. Utilisation	06
4.1 Utilisation traditionnelle	06
4.2 utilisation actuelle	07
5. Composition chimique de l'huile essentielle de l' <i>Artémisai Judaica</i>	08

Partie 2

Chimie des hydrazones

1. Définition des hydrazones	09
2. Propriétés des hydrazones	09
3. Stabilité des hydrazones	10
4. Synthèse des hydrazones	10
4.1 Condensation d'un carbonyle et d'une hydrazine	10
4.2 Réaction de Wolff-Kichner 1912	10
4.2.1 Mécanisme réactionnel de la synthèse de l'hydrazone.....	11
4.3 Synthèse des hydrazones 2-acétyl-1-naphtol et de 1-acétyl-2-naphtol ..	11
4.4 Synthèse sous microondes	12
5. Réduction des hydrazones	12
6. Clivage des hydrazones	12
7. Application des hydrazones	13
7.1 Activité antimicrobienne	13
7.2 Activité anti-inflammatoire	14
7.3 Activité anti-VIH	14
7.4 Activité antioxydant	15

Partie 3

Chimie des oximes

1. Définition des oximes	16
2. Synthèse des oximes	16
2.1 Mécanisme réactionnelle d'une oxime	16

Chapitre 2

Matériels et méthodes

1. Matériel	17
1.1 Matérielle végétale	17
1.1.1 Caractéristique du site de l'AHAGGAR	17
1.1.2 Données géographiques	17
1.1.3 <i>Artemisia Judaica</i>	17
1.2 Produits chimiques	19
1.3 Matériels d'analyses	20

1.3.1	Chromatographie sur couche mince (CCM)	20
1.3.1.1	Principe	20
1.3.1.2	Protocole opératoire	20
1.3.2	Spectrométrie UV-Vis	21
1.3.3	Spectrométrie IR	22
1.3.4	Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse	23
1.4	Matériels biologiques	24
1.4.1	Les milieux de culture	24
1.4.2	Les bactéries	24
1.4.3	Les champignons	24
2.	Méthode	25
2.1	Le procédé et la méthode d'extraction de l'HE de l' <i>Artémisia Judaica</i>	25
2.2	Détermination des indices physiques	26
2.2.1	Densité	26
2.2.1.1	Mode opératoire	26
2.2.2	Indice de réfraction	28
2.2.2.1	Mode opératoire	28
2.2.3	Point de fusion	28
2.2.3.1	Mode opératoire	28
2.3	Modification chimique	28
2.3.1	Synthèse des hydrazones	28
2.3.1.1	En milieu neutre	29
2.3.1.2	En milieu acide	29
2.3.2	synthèse des oximes	30
2.3.2.1	En milieu acide	30
2.4	l'activité microbiologique	30
2.4.1	méthode de diffusion sur disque	30
2.4.2	méthode micro-atmosphère	31

Chapitre 3

Résultats et discussion

1.	Extraction de l'HE de l' <i>Artémisia Judaica</i>	31
1.1	Rendement de l'extraction	31

1.2 Les indices physiques de l'huile essentielle	32
1.3 Identification de la pipéritone par chromatographie sur couche mince ...	32
1.4 Analyse de l'huile essentielle par l'UV.....	32
1.5 Analyse de l'huile essentielle par FTIR.....	33
1.6 Analyse de l'huile essentielle par CG/MS	34
1.6.1 Composition chimique	34
2. Modification chimique de l'huile essentielle de l' <i>Artémisia Judaica</i>	36
2.1 Modification chimique par l'hydrazine	36
2.1.1 Synthèse du produit de la réaction de W-K.....	36
2.1.2 Caractère physicochimiques du produit de la réaction de W-K	36
2.1.3 identification du produit de la réaction de W-K par chromatographie	37
sur couche mince .	
2.1.4 Analyse du produit de la réaction de W-K par l'UV	37
2.1.5 Analyse du produit de la réaction de W-K par FTIR	38
2.2 modification chimique de l'huile essentielle par l'hydroxylamine	38
2.2.1 Réaction chimique de l'HE avec l'hydroxylamine	38
2.2.2 Caractéristique physico-chimiques de produit obtenu	39
2.2.3 Identification du pipéritinol par chromatographie sur couche mince ..	39
2.2.4 Analyse de la piperitinol par l'UV	39
2.2.5 Analyse de la piperitinol par FTIR	40
3. Activité microbiologique	41
3.1 Méthode de l'aromatogramme	41
3.2 Méthode micro-atmosphère	43

CONCLUSION

Liste des abréviations

Références bibliographiques

Annexes

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Schéma d'un montage d'hydrodistillation	02
Figure 1.2	La migration des composés sur les plaques CCM	04
Figure 1.3	Plante d' <i>Artemisia Judaica</i> L	05
Figure 1.4	Molécule d'hydrazone	09
Figure 1.5	Caractères électrophiles et nucléophile des hydrazones.....	09
Figure 1.6	Réaction de préparation des hydrazones	10
Figure 1.7	Réaction de Wolf-Kichner 1912	10
Figure 1.8	Mécanisme réactionnel de la synthèse de l'hydrazone	11
Figure 1.9	Synthèse d'hydrazone de 2-acetyl-1-naphtol et 1-acetyl-2-naphtol	11
Figure 1.10	La réduction des hydrazones	12
Figure 1.11	Crème Miconazol.....	13
Figure 1.12	NORFLOXACINE	14
Figure 1.13	GRIEOFULVIN	14
Figure 1.14	Synthèse de l'hydrazone	15
Figure 1.15	Squelette de l'oxime	16
Figure 1.16	Synthèse des oximes	16
Figure 2.1	Position géographique du Sahara algérien	17
Figure 2.2	<i>Artemisia Judaica</i> L.....	18
Figure 2.3	La poudre de l' <i>Artemisia Judaica</i> après broyage	18
Figure 2.4	Montage de l'extraction par hydrodistillation de type CLEVINGER...	24
Figure 2.5	Position de l'huile essentielle par rapport à l'hydrolat	25
Figure 2.6	Rendement.....	25
Figure 2.7	Rendement moyen.....	25
Figure 2.8	Densité.....	26
Figure 2.9	Pycnomètre remplie d'eau distillé	26
Figure 2.10	Pycnomètre remplie avec l'HE	26
Figure 2.11	Indice de réfraction.....	27
Figure 2.12	Montage à reflux.....	28
Figure 3.1	Variation du rendement de l'extraction de l'HE de l' <i>Artemisia Judiaca</i>	

	en Fonction de la masse du végétale.....	31
Figure 3.2	Spectre UV-Vis de l'HE de l' <i>Artemisia Judaica</i>	33
Figure 3.3	Spectre IR de l'huile essentielle de l' <i>Artemisia Judaica</i>	34
Figure 3.4	Chromatogramme de GC/MS de l'huile essentielle de l' <i>Artemisia Judaica</i>	35
Figure 3.5	Composition chimique de l'HE d' <i>Artemisia Judaica</i>	37
Figure 3.6	Synthèse de l'hydrazone.....	37
Figure 3.7	Spectre UV- Vis du produit de la réaction de W-K	39
Figure 3.8	Spectre IR du produit de la réaction de W-K	40
Figure 3.9	Synthèse de l'oxime	41
Figure 3.10	Spectre UV-Vis du pipéritinol	42
Figure 3.11	Spectre IR de la pipéritinol	43
Figure 3.12	Zones d'inhibitions des bactéries en fonction des concentrations.....	44
Figure 3.13	Zones d'inhibitions des champignons en fonctions des concentrations des produits.....	46
Figure 3.14	Zones d'inhibitions des bactéries.....	48
Figure 3.15	Zones d'inhibitions des champignons.....	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1	Classification selon APG.....	06
Tableau 1.2	Classification selon CONQUIST.....	06
Tableau 2.1	Les produits chimiques utilisés.....	19
Tableau 2.2	Condition opératoire de GC/MS	23
Tableau 2.3	Les bactéries.....	24
Tableau 2.4	Les champignons	24
Tableau 3.1	Variation du rendement de l'extraction de l'HE de l' <i>Artemisia Judaica</i> en fonction de la quantité de la matière végétale et de la durée de l'extraction	32
Tableau 3.2	Les indices physiques de l'HE de l' <i>Artemisia Judaica</i>	33
Tableau 3.3	Les rapports frontaux de l'HE de l' <i>Artemisia Judaica</i>	33
Tableau 3.4	L'absorbance en fonction de la longueur d'onde	33
Tableau 3.5	Composition chimique de l'huile essentielle de l' <i>Artemisia Judaica</i>	36
Tableau 3.6	Les caractéristiques physicochimiques de l'hydrazone	38
Tableau 3.7	Les rapports frontaux du produit de la réaction de W-K.....	38
Tableau 3.8	L'absorbance en fonction de la longueur d'onde	39
Tableau 3.9	Les caractéristiques physico chimique de la piperitinol	41
Tableau 3.10	Les rapports frontaux du pipéritinol.....	41
Tableau 3.11	L'absorbance en fonction de la longueur d'onde.....	42
Tableau 3.12	Les zones d'inhibitions des bactéries en fonction de la concentration de l'HE et les deux produits modifiés	44
Tableau 3.13	Les zones d'inhibition des champignons en fonction de la concentration de l'HE et les deux produits modifiés	46
Tableau 3.14	L'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle par la méthode micro atmosphère	47

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes représentent une source immense de molécules chimique complexes exploitées par l'homme dans l'industrie des parfums, agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique. La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles ; ils sont alors appelés « plantes aromatiques ». Ces huiles essentielles se trouvent dans de nombreuses parties de la plante :

Le bois, les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines. Ce sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire de plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes et de composés aromatiques.

En Afrique du nord, comme dans le reste du continent, plus de 80% de la population a recours aux plantes médicinales pour ses soins de santé primaire, l'art de guérir par les plantes est connu et pratiqué depuis bien longtemps, car il exploite des savoirs transmis oralement de génération en génération à certaines catégories d'individus initiés que sont les tradipraticiens de santé et les herboristes.

Le genre *Artemisia* est l'une des plantes les plus répondeuse dans le Sahara centrale grâce à la richesse de son huile essentielle en composés terpéniques qui font objet d'effets antibactériens, antinéoplasiques ou autres effets pharmaceutiques.

L'*Artemisia judaica* est très sollicitée en médecine pour ses différents effets thérapeutiques ; comme anti spasmodique, stomachique, expectorant et contre les troubles digestifs et les diarrhées chroniques.

L'huile essentielle de l'*Artémisia judaica* présente des activités biologiques importantes contre plusieurs types de bactéries et champignons.

Des tests ont démontrés que cette activité est limitée pour certaines espèces, et ce qui a fait appel à la modification chimique de l'huile essentielle.

Le but de cette modification chimique est d'améliorer l'activité biologique de ce dernier par des réactions de condensation avec l'hydrazine et avec l'hydroxylamine.

Une étude biologique affirme que l'huile essentielle modifiée présente une activité anti bactérienne et anti fongique contre les bactéries et champignons résistants à l'huile essentielle pure.

Le travail est divisé en trois grandes parties :

- Dans la première partie, une étude bibliographique est menée sur des généralités sur l'*Artemisia Judaica* et sur les méthodes d'extraction et les méthodes d'analyses utilisées.
- On parle aussi de réaction de condensation des cétones avec l'hydrazine et avec l'hydroxylamine.

La 2^{ème} partie concerne le matériel utilisé et la méthodologie :

- l'extraction et la caractérisation physico chimique de l'huile essentielle de l'*Artemisia Judaica*.
- La modification chimique de l'huile essentielle par des réaction de condensation de la pipertone avec l'hydrazine et avec l'hydroxylamine.
- Le test du pouvoir antimicrobien de l'HE et des huiles modifiés contre des bactéries à gram(+) et à gram(-) et contre des champignons connus.

La dernière partie est consacrée uniquement aux résultats et discussions.

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE 1

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'*ARTEMISIA JUDAICA* ET SUR LA MODIFICATION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE L'*ARTEMISIA JUDAICA*

PARTIE 1

APERCU BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA PLANTE *ARTEMISIA JUDAICA*

1. GENERALITES

1.1 Définition d'une huile essentielle

Produit obtenu à partir d'une matière première naturelle d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de fruits de citrus (agrumes), soit par distillation sèche, après séparation de l'éventuelle phase aqueuse par des procédés physiques

L'huile essentielle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition par exemple: filtration, décantation, centrifugation [1].

1.2 Caractères physico-chimiques des huiles essentielles

- Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînaibles à la vapeur d'eau mais très peu soluble dans l'eau.
- Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé.
- Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une Variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclarée et de romarin officinal.

- Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation. Par conséquent, leur conservation nécessite de l'obscurité et de l'humidité. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée [2].
- Elles sont constituées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atomes de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15) [3].

1.3 Procédés d'extraction des huiles essentielles

La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible et parfois très faible. Il faut plusieurs tonnes de plantes pour obtenir la quantité voulue.

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborées par le végétal.

Il existe différents procédés d'extraction.

Le choix de la méthode d'extraction utilisée dépend obligatoirement la nature de l'essence ainsi que son éventuelle utilisation. On en distingue plusieurs types:

1. Extraction par expression à froid.
2. Extraction par distillation et entraînement à la vapeur d'eau.
3. Hydro-distillation ou distillation à l'eau.
4. L'enfleurage.
5. Extraction par les solvants organiques.
6. Extraction par CO₂ supercritique.

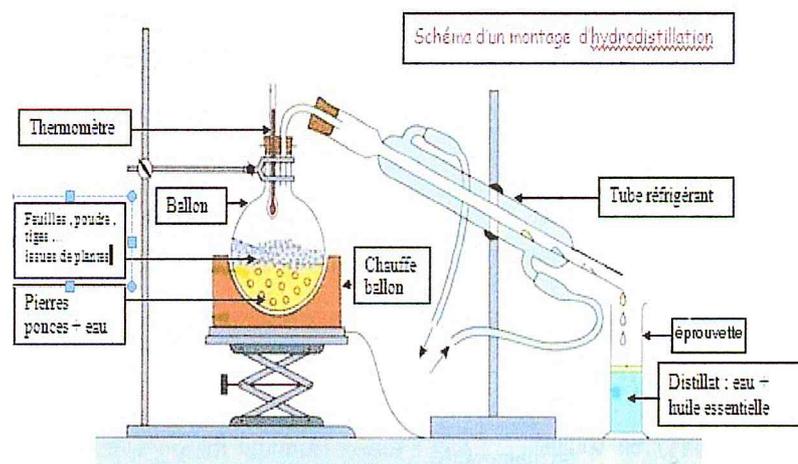


Figure 1.1 Schéma d'un montage de l'hydrodistillation légendé.

1.4 Analyses et profils chromatographiques des huiles essentielles

1.4.1 Analyse par CPG

C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. Elle permet l'individualisation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention (Ir). Le principe est basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur [4].

1.4.2 Analyse par CPG/SM

Le but de combiner entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM, après séparation chromatographique, est d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique [5]. Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur Masse. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres [6].

1.4.3 Analyse par spectroscopie de la résonance magnétique du carbone 13 (RMN ¹³C)

La RMN du C13 selon la méthode mise au point et développer par l'équipe de « chimie et de Biomasse » de l'Université de Corse (Tomi et AL, 1995), est basée sur la comparaison des déplacements chimiques des carbones du mélange avec ceux des produits de références enregistrés dans des conditions expérimentales (solvant, dilution) rigoureusement identiques à celle des huiles essentielles et stockés dans des bibliothèques de spectres propres au laboratoire.[7]

1.4.3.1 Identification des constituants

L'identification est réalisée par la prise en compte du nombre de pics observés par rapport à ceux attendus pour chaque molécule, du nombre de superpositions des signaux et des variations des déplacements chimiques des carbones dans les spectres du mélange par

rapport aux valeurs de références (M). En plus de ces paramètres qui sont accessibles par un logiciel, l'intensité des raies de résonance permet de contrôler l'appartenance d'un déplacement chimique à un composé donné. Cette technique permet l'identification de différents composants à une teneur supérieure ou égale à 0.5% sans purification précédente. [8]

1.4.4 Analyse par CCM

Cette méthode repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leurs forces de migration dans la phase mobile qui est en générale un mélange de solvant, adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis de la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice.

La chromatographie sur couche mince a été réalisée sur des plaques pré-étalées de gel de silice et sur des plaques de polyamide. [8]

Les différents constituants de l'échantillon déposé migrent avec des vitesses différentes. Dans le cas idéal, on obtient autant de tâches que les constituants sur le trajet de migration du solvant (figure 1.2).

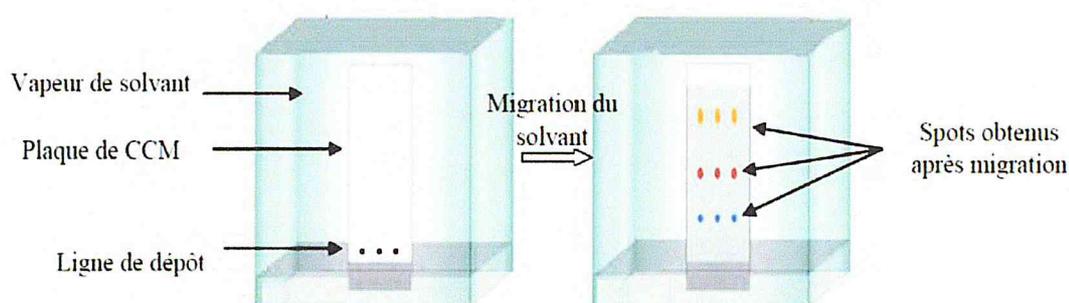


Figure 1.2 La migration des composés sur la plaque CCM

L'application principale de la CCM est d'identifier les constituants du mélange, pour cela on détermine après migration et révélation le R_f qui est compris entre 0 et 1.

L'identification se fait par comparaison du R_f du constituant à identifier avec ceux des étalons déposés sur la même plaque et dans les mêmes conditions d'élutions. Parmi les multiples applications qui possèdent la CCM, on s'intéresse dans cette étude à celles qualitatives. Le comportement d'une molécule particulière dans un système est donné et exprimé par sa fluorescence sous UV et par son R_f . [9]

2. MATIERE VEGETALE

La matière végétale, constituée des parties aériennes, feuilles et petites tiges d'*Artemisia judaïca* L., se trouve dans les régions nord et sud africaines.

Le lot de matière végétale subit un échantillonnage selon la méthode d'usage ; afin de l'utiliser pour l'ensemble des essais, les échantillons représentatifs de ce lot ainsi obtenus, doivent être conservés dans les mêmes conditions et leur taux d'humidité doivent être contrôlé, avant l'extraction, par la méthode normalisée.

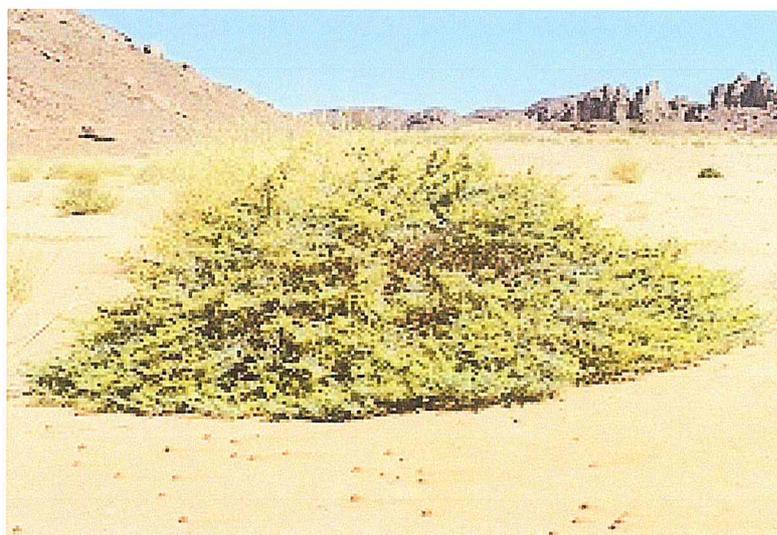


Figure 1.3 Plante d'*Artemisia judaïca* L [10]

3. ETUDE BOTANIQUE DE L'*Artemisia Judaica*

Nom vernaculaire français: Armoise de Judée

Arabe: Chih labyadh: الشيح الابيض

D'après Quezel [11], le groupement à *Artemisia judaïca* se présente comme une steppe assez lâche, à peu près dépourvue d'arbres, haute de 50 cm environ et dont la couleur gris bleuâtre est des plus caractéristiques.

C'est un arbrisseau vivace très rameux, formant de grosses touffes très denses, vert bleuté, de 60 à 80 centimètres de haut, pouvant atteindre 1,50m de haut.

Les tiges sont plus ou moins ligneuses, les feuilles sont petites, très divisées en lobes et obtuses, elles sont couvertes d'un duvet argenté [11]. Les capitules assez gros, à fleurs jaunes à jaune pâle.

Le feuillage de la plante dégage une odeur agréable au toucher et une sensation amère si goûté. Il fleurit au début du printemps. [12]

Les inflorescences en panicules denses très ramifiées, sont plus grosses que celles des autres armoises, elles sont hémisphériques de 5 à 10 mm de diamètre entourées par des bractées laineuses et contenant 10 à 20 fleurons jaune pâle. Les fruits sont des akènes petits ne dépassant pas 5 mm en taille. [13]

Le genre *Artemisia* appartient à la famille des Asteraceae; cette famille la plus importante des plantes à fleurs qui comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres formant approximativement 10% de la flore du monde[14], dont 408 espèces réparties en 109 genres dans le Sahara algérien. [15.16]

Le positionnement du genre *Artemisia* tient compte de la classification du Conquist (1981) et de l'APG II (2009). [10][17*]

Tableau 1.1 classification selon APG **Tableau 1.2** classification selon CONQUIST

Classification	
Règne	angiospermes
Sous-règne	dicotylédones Vraie
Classe	asteridees
Sous-classe	campanulidees
Ordre	asterales
Famille	asteraceae
Sous-famille	asteroideae

Classification	
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Artemisia</i> L

4. UTILISATION

4.1 Utilisation traditionnelle

Selon Sahki et al et comme confirmé par les guérisseurs rencontrés sur place, *Artemisia judaïca* jouit d'une grande réputation dans toute l'Afrique sahélienne pour ses nombreuses vertus médicinales et aromatiques; en effet la drogue est utilisée en infusion ou en décoction, ou parfois séchée puis réduite en poudre puis avalée avec une gorgée d'eau, contre les troubles digestifs et contre la grippe, elle serait également anti diarrhéique et vermifuge. Cette armoise est récoltée en quantité importante par les nomades de l'Ahaggar, au printemps, mise à sécher sur des aires propres et dénudée de ses rameaux.

Les caravaniers en remplissent des sacs qu'ils échangent ou vendent sur les marchés de Touat, d'Agadès, de Zinder ou de Tahoua (Niger) où elle est employée comme aromate et condiment. Dans le Tassili (Djanet), *Artemisia judaïca* est souvent utilisée avant les célébrations, une cuillerée de feuilles séchées est prise avec un verre d'eau pour éviter les troubles intestinaux. Une infusion de feuilles est relaxante et aide à apporter le sommeil. Elle est également utilisée pour aromatiser le troisième verre de thé, (quelques feuilles). En Egypte, elle est très appréciée pour ses effets antispasmodiques et vermifuges. En prophylaxie et pour ses propriétés hémostatiques la poudre des parties aériennes, selon le guérisseur Aflane A., est utilisée en cataplasme comme cicatrisant pour les circoncisions des enfants. En raison de ses vertus prophylactiques, une branche est souvent attachée aux poignets des bébés et les petits enfants circoncis [18].

4.2 Utilisation actuelle

Elle donne, par ses capitules et ses pédoncules, le médicament connu sous le nom de « semen-contra de Barbarie », lequel forme la base de plusieurs préparations vermifuges [19].

Peu de données sont retrouvées sur la microscopie de cette plante mis à part la présence de poils tecteurs en navette médifixes (à 2 branches) mentionnés dans les travaux d'Ouyahia.A [20].

Les poils sont pluricellulaires, mais le milieu conditionne considérablement dans de nombreux cas leur densité et même peut influencer sur la longueur de la cellule terminale du poil tecteur. Le pourcentage de stomates par rapport aux cellules épidermiques varie beaucoup avec les conditions climatiques.

5. COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE L'*Artémisia Judaïca*

L'analyse chimique de l'huile essentielle d'*Artémisia Judaïca* fait l'objet de quelques travaux permettant d'avancer l'existence de différents types chimiques, En Algérie, dans les travaux de Gherib A. et Belarbi F.[21], le dosage de l'huile essentielle de cette espèce, récoltée à l'Assekrem (Tamanrasset); obtenue par entraînement à la vapeur pendant 6 heures a été estimé à 2,45 %, alors qu'une sesquiterpènes bicycliques (santonine) obtenue par la méthode de Janot et Estève a été donnée à une moyenne de 0,43%.

Selon Batnony K 2005 [21], l'huile essentielle d'*Artemisia judaïca* du Hoggar Contient: pipéritone (53,5%), chrysanthénone (9,8%), chrysanthényl acétate (7,4%), d'autres constituants peuvent exister: le caryophyllène, l'acétate de bornyle, le bornéol, le p-cymène, l' α et β -pinènes, le camphène, le myrcène, le thymol, le nérolidol etc.

Selon Dob T. et Chelghoum C. [22], l'huile essentielle d'*Artemisia judaïca* récoltée à In-Amenas dans le sud Algérien a donné par CG/MS, 62 composés, avec une prédominance de la pipéritone (61,9%) suivi par le terpinen-4-ol (4,6%) puis l'acétate de bornyle (3,0%).

Tout récemment Gherib M. [23], dans son travail dédié aux trois espèces d'*Artemisia*, récoltées dans la région de Naama (Sud-Ouest de l'Algérie), signale que dans l'huile essentielle de l'espèce *judaïca*, les constituants majeurs sont le camphre (20,2 %), le bornéole (8,8%) et la davanone (7,6 %).

Les travaux de Charchari S. [24] ont montré une activité antimicrobienne (in vitro) de L'huile essentielle d'*Artemisia judaïca*, testée sur différents microorganismes.

L'huile a montré une activité très forte sur *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* et *Microsporium*. L'action inhibitrice des huiles est faible pour les entérobactéries.

D'autres travaux notamment ceux de Lui C.Z. and al. [25] ont démontré qu'*Artemisia Judaïca* possède un potentiel antioxydant important.

PARTIE 2

CHIMIE DES HYDRAZONES

1. DEFINITION DES HYDRZONES

Les hydrazones sont les précurseurs de nombreux hétérocycles. Ils représentent une famille de composés organiques comportant une structure de type [26] :

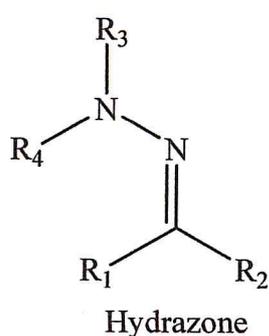


Figure 1.4 Molécule de l'hydrazone

2. PROPRIETES DES HYDRAZONES

La structure des hydrazones confère au carbone de la liaison double C=N à la fois un caractère électrophile, dû à la polarisation de la liaison double, et un caractère nucléophile, dû à la participation à la conjugaison du doublet non liant de l'azote terminal. [27]

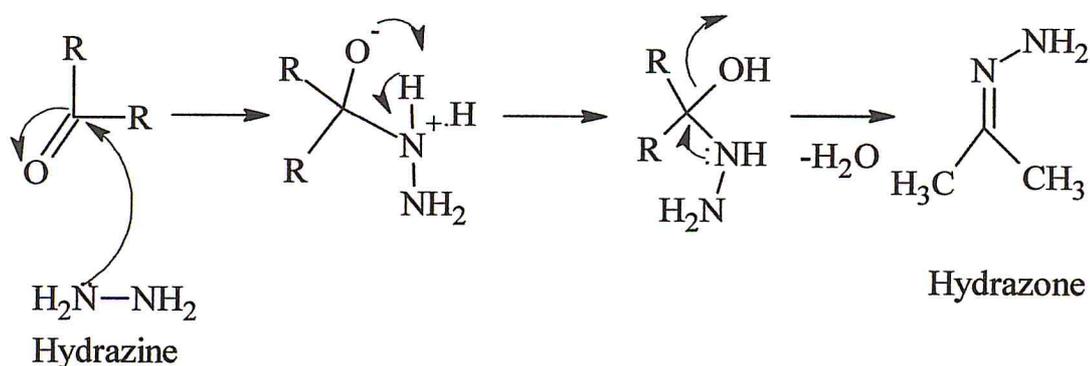


Figure 1.5 Caractère électrophile et nucléophile des hydrazones

3. STABILITE DES HYDRAZONES

Les molécules possédant une double liaison carbone-azote sont d'une importance capitale tant dans un contexte purement chimique que biologique. Les fondations de connaissances sur la formation et l'hydrolyse des liaisons C=N se trouvent dans les travaux de Bartlett, Westheimer Rutherford entre autres. Les études et analyses cinétiques approfondies de Jencks ont également impacté la connaissance des mécanismes mis en jeu lors de la formation et de l'hydrolyse de composés possédant des liaisons C=N. [28]

4. SYNTHESE DES HYDRAZONES

4.1 Condensation d'un carbonyle et d'une hydrazine

La méthode de synthèse la plus utilisée pour former une hydrazone est la condensation d'une hydrazine avec un carbonyle (figure 1.6). L'hydrazine peut subir une double condensation du composé carbonylé, aussi l'utilisation d'hydrazines mono- ou N,N-disubstituées permet d'éviter cette double condensation et de synthétiser facilement les hydrazones correspondantes[27] [29].

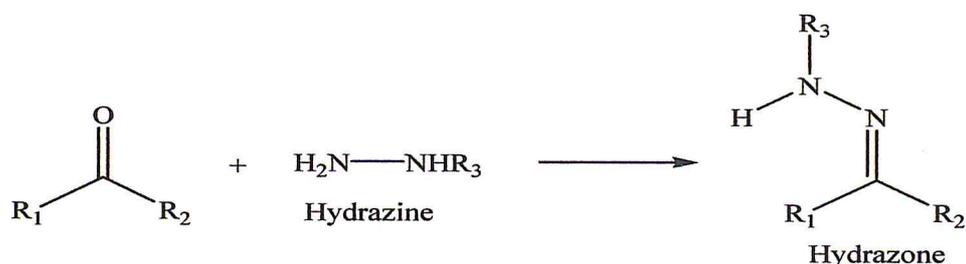


Figure 1.6 Réaction de préparation des hydrazones

4.2 Réaction de Wolff-Kichner 1912

C'est une réduction de cétones passant par l'intermédiaire d'une hydrazone. La première étape de la réaction permet de former une hydrazone. [30]

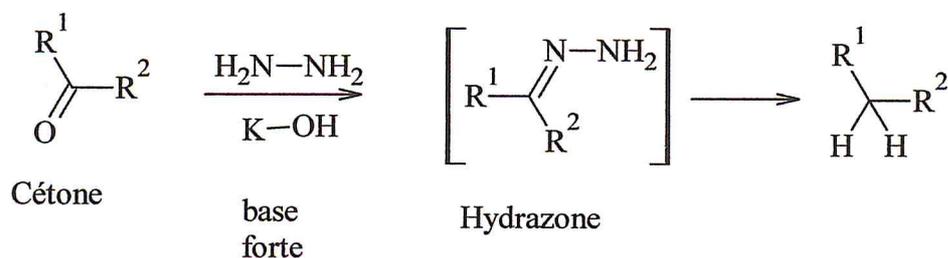


Figure 1.7 Réaction de Wolff-Kichner 1912

4.2.1 Mécanisme réactionnel de la synthèse de l'hydrazone

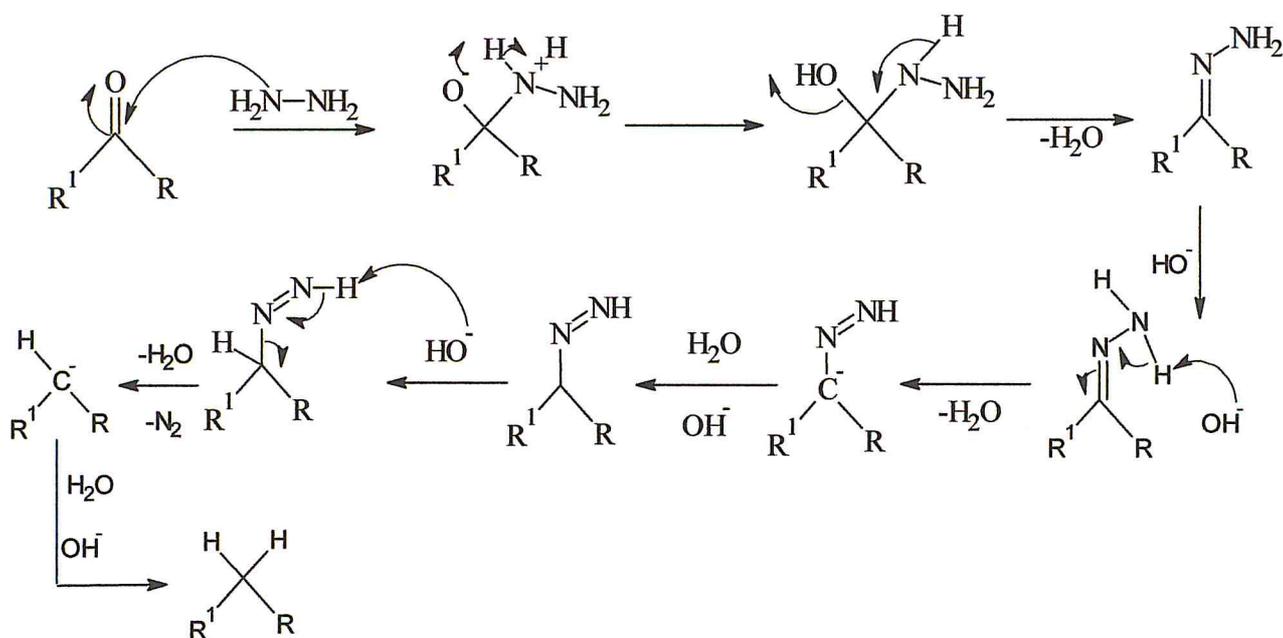


Figure 1.8 Mécanisme réactionnel de la synthèse de l'hydrazone.

4.3 Synthèse des hydrazones 2-acétyl-1-naphtol et de 1-acétyl-2-naphtol. [31]

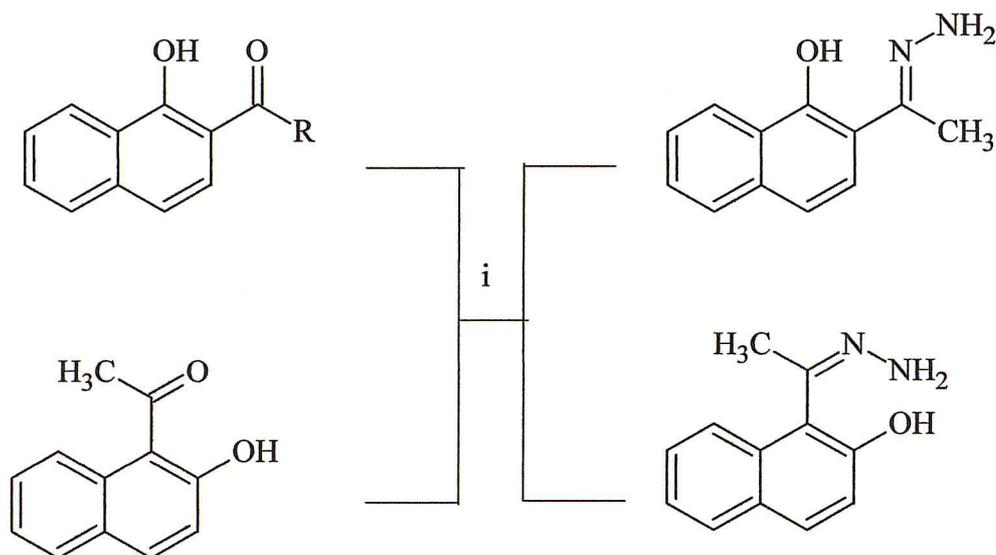


Figure 1.9 Synthèse d'hydrazones de 2-acétyl-1-naphtol et de 1-acétyl-2-naphtol

4.4 Synthèse sous microondes

La synthèse sous micro-ondes est une technique de plus en plus utilisée. A la fois simple à mettre en œuvre, rapide et sélective.

La synthèse a été effectuée à grande échelle et en absence de solvant par réactions sous microondes. Ainsi, en faisant réagir une hydrazine en présence d'un équivalent de cétone sous irradiation microondes (200W, température de 150°C à 260°C suivant le cas, temps de réaction quelques minutes) on obtient avec de très bons rendements les hydrazones correspondantes (85-98%). [32]

5. REDUCTION DES HYDRAZONES

La réaction de Wolff Kishner est un moyen de transformer une cétone en un alcane. Notez ce qui se passe ici: nous cassons deux liaisons de carbonyle et les remplaçons par deux liaisons C-H. Cette réaction nécessite un peu de chaleur (~ 200 ° C) et a été supplantée par des méthodes plus douces. [33]

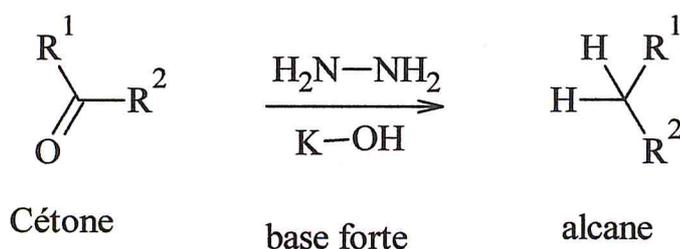


Figure 1.10 La réduction des hydrazones.

6. CLIVAGE DES HYDRAZONES

Au cours d'une synthèse, il est presque toujours nécessaire de transformer le groupement hydrazone après son utilisation.

Il existe plusieurs méthodes de clivage des hydrazones, l'ozonolyse ou l'hydrolyse en présence d'acide chlorhydrique conduit à la régénération du groupement carbonyle, À l'oxydation en présence de monopéroxyphthalate de magnésium hexahydraté (MMPP) donne des nitriles [34].

7. APPLICATION DES HYDRAZONES

La chimie des combinaisons complexes avec des ligands de la classe des hydrazones a reçu un regain d'intérêt, grâce notamment à leur activité biologique, nous trouverons ainsi que les hydrazones et leurs complexes métalliques possèdent entre autres des propriétés biologiques. [35]

7.1 Activité antimicrobienne

Au cours des dernières années, les infections microbiennes résistantes, sont devenues un danger grave pour la santé. Cela a conduit à la recherche et au développement de nouveaux agents antimicrobiens qui amélioreront l'activité biologique.

Un grand nombre de tests pour le benzisothiazolinone ont montré des propriétés antifongiques contre *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, et également actifs contre *Aspergillus Niger*.

Les hydrazones ont été synthétisés à partir d'hydrazide, ont montré une inhibition de la croissance contre des levures supérieures, comparable à celle du Miconazole, le médicament de référence. [35]



Figure 1.11 Crème Miconazole

Ils ont été synthétisés aussi et évalués pour une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Une activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter faecalis*, *Bacillus megaterium*, *E. coli*, et *Enterobacter aerogenes*. [36]

Contre différentes souches de bactérie évaluée, telles que *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* utilisant la Norfloxacin comme médicament de référence.

L'activité antifongique a été évaluée contre *Aspergillus Niger* et *Candida albicans* en utilisant comme médicament de référence la Griséofulvine. [37]



Figure 1.12 NORFLOXACINE



Figure 1.13 GRIE OFULVIN

7.2 Activité anti-inflammatoire

Certains dérivés d'hydrazones étaient synthétisés et leurs activités anti-inflammatoires et analgésiques évaluées.

7.2.1 Exemples

2-acétylpyridine et de 4-acétylpyridine ont été condensés avec sulfonylhydrazides par irradiation micro-ondes en phase solide pour donner les hydrazones correspondantes.

Indole-3-carboxaldéhyde a été condensés avec des sulfonylhydrazides par chauffage au reflux dans l'acide acétique pour donner la condensation correspondante du produit. L'évaluation de L'activité antiinflammatoire a été effectuée en utilisant la carragénine induite de l'oedème patte et le composé 12 E présentait une bonne activité anti-inflammatoire. [38]

7.3 Activité anti-VIH

Certaines hydrazones s'avèrent être de puissants inhibiteurs de la ribonucléotide réductase. Une série de benzo[d]isothiazole hydrazone, a été synthétisée et évaluée pour l'activité anti-VIH.

Tout les benzo[d]isothiazoles hydrazones ont été obtenues par condensation des acides intermédiaires, à savoir les hydrazides cycliques ou acycliques. Ces composés présentent une bonne activité contre le VIH-1. [39]

7.4 Activité antioxydante

Une famille des hydrazones de syringique a été synthétisée et évaluée pour l'activité antioxydante. Une nouvelle série d'hydrazones indiquées ont été synthétisées à partir de syringaldéhyde (Schéma). L'efficacité du carbonyle piègeur a été évaluée en mesurant l'aptitude à diminuer la teneur en carbonyle des protéines dans des cellules contesté avec de l'LDL oxydé. [39]

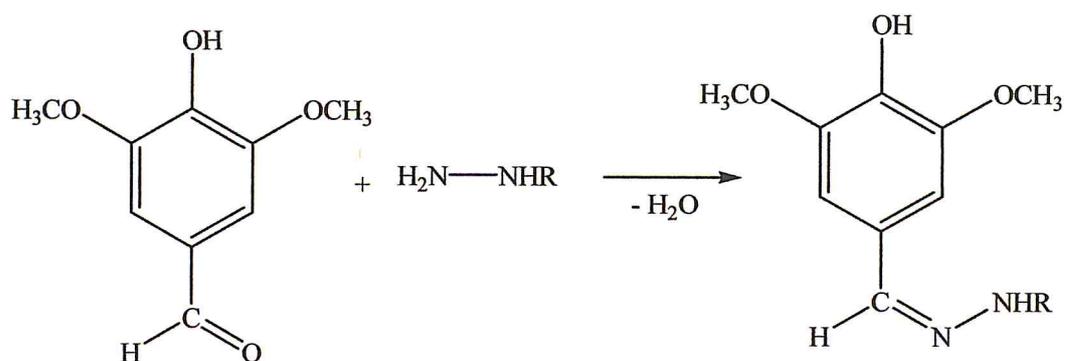


Figure 1.14 Synthèse de l'hydrazone

PARTIE 3

CHIMIE DES OXIMES

1. DEFINITION DES OXIMES

L'oxime constitue un composé organique azoté qui se caractérise par la présence d'un groupement hydroxyle au sein de l'atome d'azote.

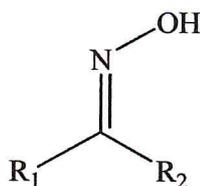


Figure 1.15 Squelette de l'Oxime

2. SYNTHÈSE DES OXIMES

La synthèse des oximes peut être réalisée par condensation d'une cétone et d'une hydroxylamine ou par condensation d'un aldéhyde et d'une hydroxylamine, ce sont des composés généralement cristallisés à température ordinaire ce qui permet de les purifier.

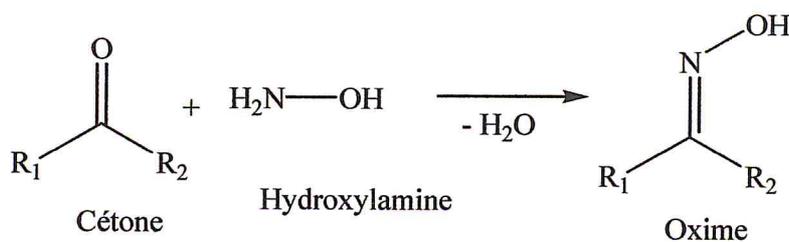


Figure 1.16 Synthèse des Oximes [40]

2.1 Mécanisme réactionnelle d'une oxime

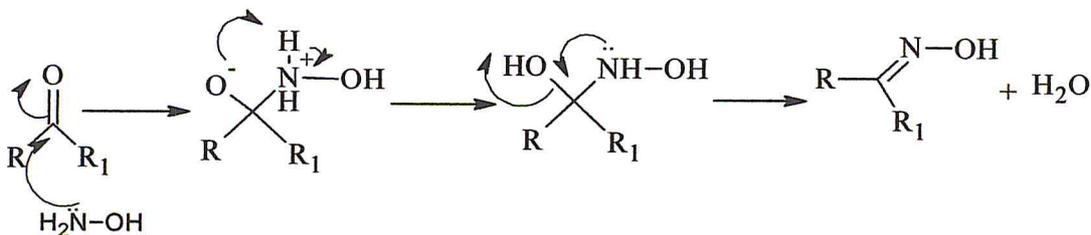


Figure 1.17 Mécanisme réactionnelle de l'oxime

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 2

MATERIELS ET METHODES

1. MATERIELS

1.1 Matériel végétal

1.1.1 Caractéristiques du site de l'AHAGGAR

Le Sahara algérien couvre une superficie de 2 millions de km². Il représente la plus grande entité du désert Africain; celui-ci vaste et aride est le plus chaud des déserts, il est constitué principalement du Sahara central et secondairement des Sahara de l'Ouest, de l'Est et du Nord (Figure 2.1).

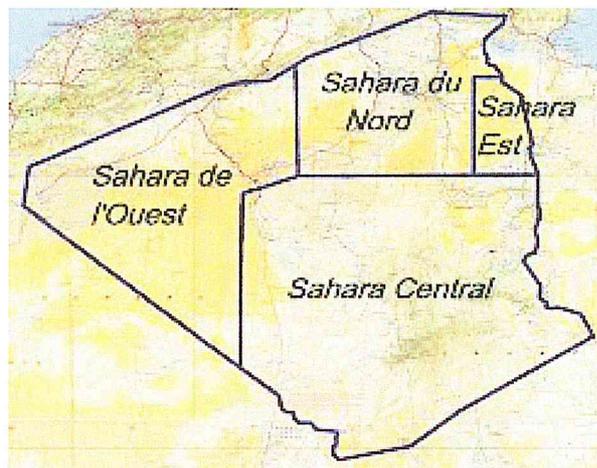


Figure 2.1 Position géographique du Sahara algérien [41]

1.1.2 Données géographiques

L'HAGGAR est situé entre la latitude 21° et 25° Nord (22° 33' N) à cheval sur le tropique du Cancer et les longitudes 3° et 6° Est du méridien de Greenwich.

1.1.3 *Artemisia Judaica*

L'*Artemisia Judaica* ou l'*Armoise* de *Judée*, se trouve dans la région d'oued Talanteneche située à 6 km du Nord-Est de la ville de Tamanrasset dans le Sahara centrale (figure 2.2).

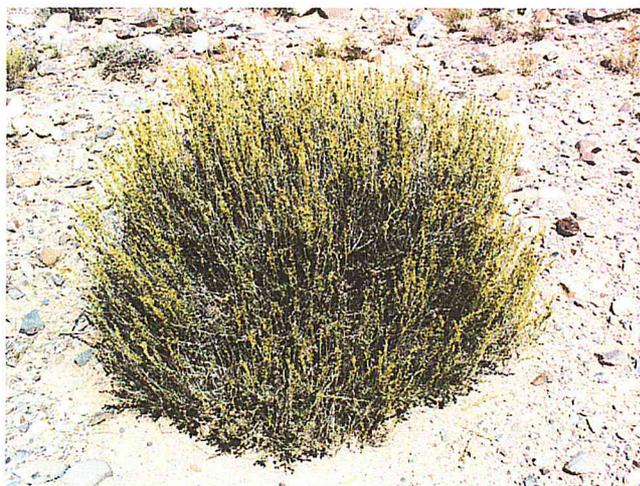


Figure 2.2 L'*Artemisia Judaica* L

Elle a été récoltée en novembre 2016, les parties aériennes, les tiges et les feuilles ont été séchées puis broyées et réduites en poudre à fin de l'utiliser pour l'extraction. (figure2.3)



Figure 2.3 La poudre de l'*Artemisa judaica* après broyage

1.2 Produits chimiques

Tableau 2.1 Les produits chimiques utilisés

Produit	Marque	Pureté (%)
Hydrazine	SIGMA ALDRICH	98
DMSO	CHEMOPHARMA	98
Hydroxylamine	FLUKA	98
Acide acétique	SIGMA ALDRICH	99.5
Méthanol	SIGMA ALDRICH	99
Ethanol	SIGMA ALDRICH	96
Acétate d'éthyle	SIGMA ALDRICH	99.5
n-Hexane	SIGMA ALDRICH	95
Cyclohexane	SIGMA ALDRICH	99.8
Diéthyle éther	SIGMA ALDRICH	99.5
Ether de pétrole	SIGMA ALDRICH	95
Dichlorométhane	SIGMA ALDRICH	99.9

1.3 Matériels d'analyses

1.3.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode analytique couramment utilisée pour la séparation et l'identification rapide des constituants d'un composé donné. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium.

1.3.1.1 Protocole opératoire

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été utilisée à fin de suivre les réactions de la modification chimiques de l'huile essentielle et pour identifier le produit majoritaire de l'HE de *l'Artemisia Judaica*.

La phase stationnaire est le gel de silice sur une plaque en aluminium de marque FLUKA dont les dimensions sont de 2 x 10 cm avec 1 cm sur la ligne du dépôt.

Le système du solvant utilisé est une variation de mélange de solvant de différentes proportions à fin d'obtenir une bonne séparation et que les taches soient bien claires.

Les éluants utilisés sont les suivants :

- Acétate d'éthyle / hexane (50 :50 %).
- Acétate d'éthyle /cyclohexane (70:30 %).
- Acétate d'éthyle/hexane (70:30 %).
- Acétate d'éthyle/diéthyle éther (70 :30%)
- Acétate d'éthyle/diéthyle éther (50 :50%).

Après migration, la révélation est faite par l'exposition des plaques aux vapeurs d'iodes.

1.3.2 Spectrophotométrie UV-Vis

En chimie organique la spectroscopie UV est essentiellement utilisée pour mettre en évidence les insaturations (les doubles liaisons) dans les molécules et les possibilités de délocalisation de ces doubles liaisons par effet mésomère.

Les radiations visibles ($400\text{nm} \leq \lambda \leq 800\text{nm}$) sont absorbées par les molécules en provoquant l'excitation des électrons de valence. Cette absorption se traduit par l'existence d'un spectre d'absorption pour lequel on porte en ordonnée l'absorbance en fonction de la longueur d'onde en abscisse. (Mesplède *et al.* 2013).

On définit la densité optique d'une solution à étudier par : $D = \log (I_0/I)$, qui est toujours positif. La densité optique D , est proportionnelle à la longueur de la cuve l , et à la concentration molaire volumique du composé C .

Le coefficient de proportionnalité s'appelle le coefficient d'extinction molaire ϵ , qui est donné par la relation suivante: $D = \epsilon \times l \times C$. Cette relation est appelée la loi de Beer-Lambert.

L'huile essentielle et l'huile essentielle modifiée ont été analysées par le spectrophotomètre de type JASCO.

Ces solutions ont été analysé l'une après l'autre par le l'UV-Visible en remplissant la cuve en quartz avec les solutions et en l'introduisant dans la chambre pour obtenir le spectre et pouvoir ainsi l'interpréter.

1.3.3 Spectrométrie Infra Rouge ou FTIR

La spectroscopie par transformée de Fourier est la technique de choix pour mesurer un spectre infrarouge, de l'infrarouge lointain (100 cm^{-1}) jusqu'à environ $10\,000 \text{ cm}^{-1}$. C'est pourquoi l'acronyme anglais *FTIR* est souvent utilisé pour référer à cette technique. Le principe de mesure ne restreint pas l'application de la STF à l'infrarouge, mais ses avantages comparativement aux méthodes dispersives, comme les spectromètres à réseau, sont moins évidents à des longueurs d'onde de moins de $\lambda = 1 \mu\text{m}$. De façon générale, la STF est très utilisée pour l'étude des excitations de basses et moyennes énergies telles que les excitations vibrationnelles et rotationnelles.

Le FTIR utilisé est de marque JASCO de type 4100.

Quelques milligrammes du produit à analyser sont broyés avec du KBr et formés ainsi en pastilles pour les analyser à l'aide d'une cellule à pastille pour les produits à l'état solide. Pour les liquide on utilise des pastilles KBr vierge en versant quelques gouttes d'huile essentielle sur la pastille, on place la cellule dans la chambre d'analyse et on obtient ensuite les spectres des produits.

1.3.4 Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse CG/MS

L'huile essentielle de l'*Artemisia judaica* a été analysé par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse.

Le Chromatographe est de type HP 6890.

La Spectromètre de masse est Quadripôle.

1.3.4.1 Conditions opératoire

Tableau 2.2 Condition opératoire de GC/MS

Injecteur	Colonne	Détecteur de masse
Température : 250°C Mode d'injection : Splitless Volume injecté : 01µl	Type : RTX-5Ms Dimensions : long 30 m, D int 0.25 mm, épaisseur film 0.25 µm Température du four : 60°C pendant 8min, pallier 0.2°C/min jusqu'à 250°C, isotherme pendant 10 min. Temps d'analyse : 113min Gaz vecteur : Hélium pure Débit GV : 1ml/min	Mode d'analyse : Scan (de 40 à 550) Solvant utilisé : méthanol Délai du solvant : 3min Température de l'interface : 270 °c Type d'ionisation : Impact électronique Intensité du filament : 70 év Température de la source : 230 °c

1.4 Matériels biologiques

1.3.5 les milieux de cultures

- Mueller–Hinton

La gélose Mueller–Hinton est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion ou de dilution en gélose.

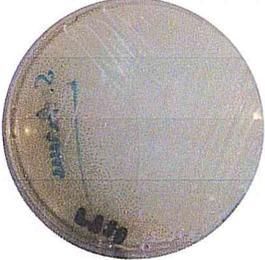
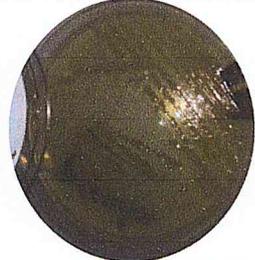
La standardisation du milieu de Mueller-Hinton est nécessaire pour obtenir des résultats fiables au niveau de l'antibiogramme.

- Sabouroud

Milieu de base qui favorise la culture des champignons microscopiques grâce à son pH relativement acide.

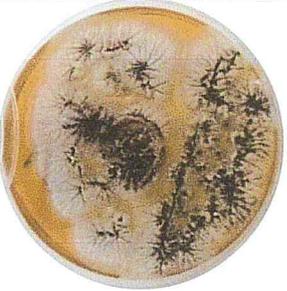
1.3.6 Les bactéries

Tableau 2.3 Les bactéries

Les bactéries à gram négatif		Les bactéries à gram positif	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 6538	<i>Bacillus</i> ATTC 6050	<i>E.Coli</i> ATTC 25922	<i>Pseudomonasse aeruginosa</i> ATTC 2785
			

1.4.3 Les champignons

Tableau 2.4 les champignons

<i>Aspargillus Fuzarium</i> ATTC 4620	<i>Candidat</i>	<i>Aspargillus Nigeria</i> ATTC 1015	<i>Aspargillus Brazilia</i> ATTC 16404
			

2. METHODE

2.1 Le procédé et la méthode d'extraction de l'huile essentielle de l'*Artemisia*

Judaica

La méthode utilisée pour extraire l'huile essentielle de l'*Artemisia Judaica* est l'hydrodistillation.

La plante est séchée, broyée ensuite hydrocumulé dans un ballon de 2L accordé à un montage de CLEVANGER. La quantité de végétal introduite dans le ballon varie de 100 jusqu'à 200 g et cela durant les 16 extractions effectuées, le solvant de l'extraction utilisé est l'eau distillée.

Le montage est représenté dans la figure suivante.

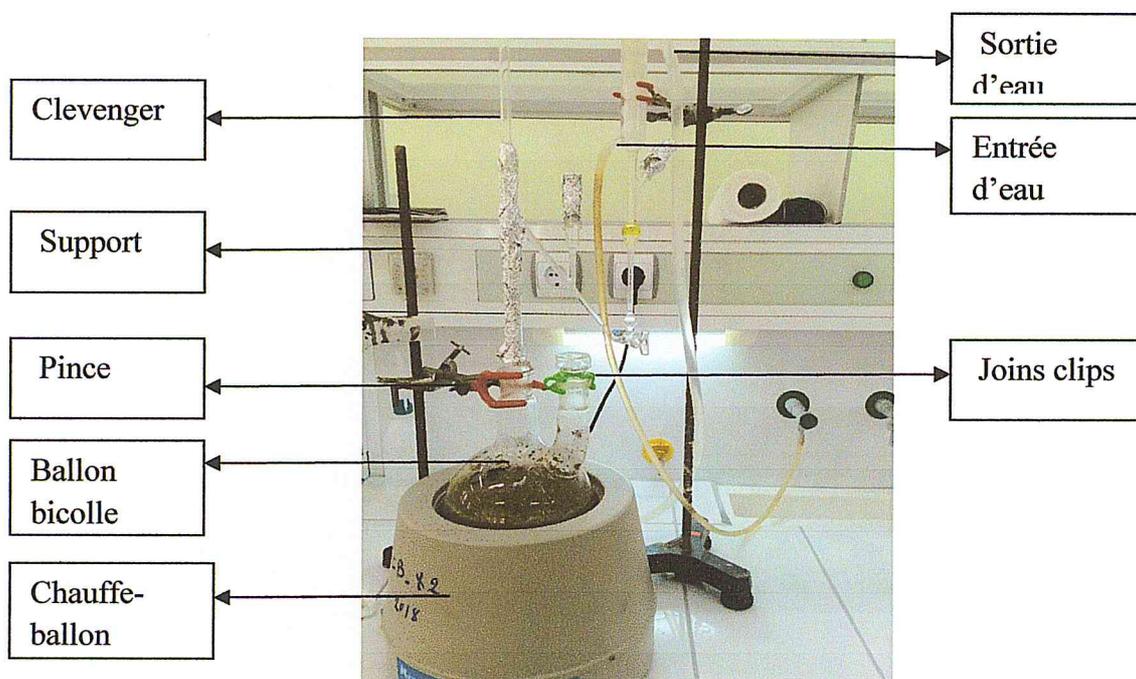


Figure 2.4 Montage légendé de l'extraction par hydrodistillation de type clevenger de l'*Artemisia Judaica*.

La durée de l'extraction dépend de la masse du végétal introduite dans le ballon qui varie de 2 à 3 heures. Les premières gouttes d'huile sont apparues après 25 minutes, elle sont superposées sur l'hydrolat car la densité de ce dernier est inférieure à celle de l'eau.

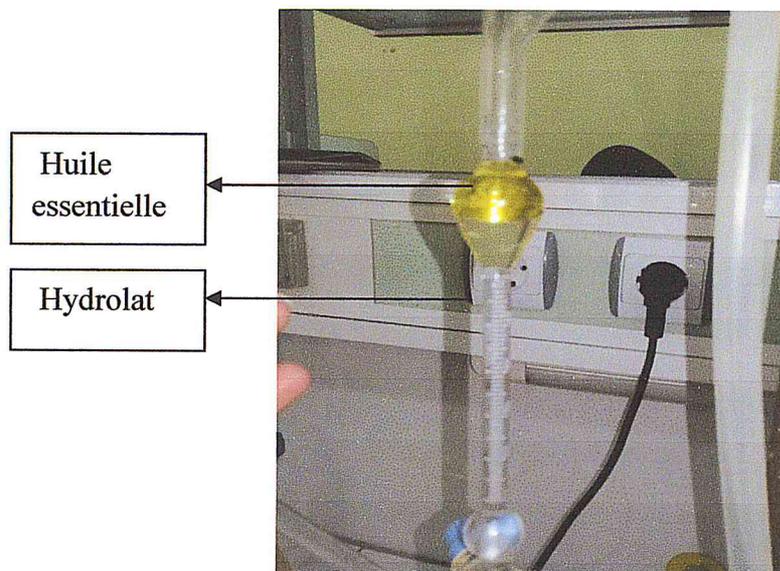


Figure 2.5 la position de l'huile essentielle par rapport à L'hydrolat

Une fois l'extraction terminée, on récupère le volume d'huile en le séparant de l'hydrolat tout en le mettant dans des flacons différents.

On ajoute quelques mg de $MgSO_4$ afin d'éliminer les traces d'eau ensuite on filtre pour avoir finalement l'huile essentielle.



On calcule le rendement de chaque extraction à partir de la loi suivante :

$$R = [m_1 \text{ (masse de l'huile obtenue)} / m_2 \text{ (masse initiale du végétale)}] * 100$$

Figure 2.6

Ainsi le rendement moyen de toutes les extractions

$$R = \Sigma R / n \text{ (le nombre d'extractions)}$$

Figure 2.7

2.2 Détermination des indices physiques

2.2.1 Densité

La densité relative à 20°C d'un corps est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique d'un corps pris comme référence. Pour les liquides et les solides, le corps de

référence est l'eau pure à 4 °C. La densité est une grandeur sans dimension et sa valeur s'exprime sans unité de mesure.

2.2.1.1 Mode opératoire

On a pesé la masse (m_0) du pycnomètre d'un volume de 5 ml, la masse (m_1) du pycnomètre rempli de l'eau distillée et la masse (m_2) du pycnomètre contenant l'huile essentielle.

La densité relative est donnée par l'expression suivante :

$$d^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Figure 2.8

m_0 : Masse du pycnomètre vide en gramme.

m_1 : Masse du pycnomètre rempli d'eau distillée en gramme.

m_2 : Masse du pycnomètre rempli d'huile essentielle en gramme.

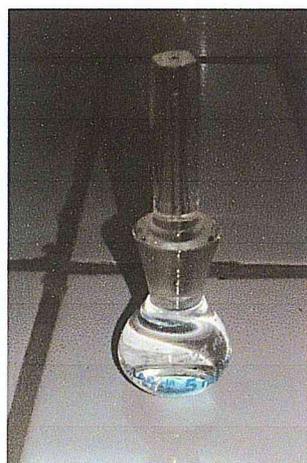


Figure 2.9 Pycnomètre remplie d'eau

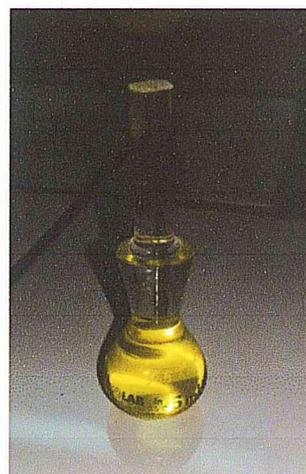


Figure 2.10 Pycnomètre remplie d'HE

2.2.2 Indice de réfraction

2.2.2.1 Mode opératoire

L'indice de réfraction a été déterminé par la lecture directe de l'angle de réfraction à l'aide du réfractomètre, en employant la lumière diffuse.

Les valeurs de référence des indices de réfraction des liquides sont données dans les « *Hand book* » à une température de 20°C. Pour les composés organiques, on a trouvé que, lorsque la température augmente de 1°C, l'indice de réfraction diminue de 0,0004. C'est pourquoi il faut toujours ramener les calculs à la température de 20°C.

L'indice de réfraction $\eta_D^{t'}$ à la température de référence $t=20^\circ\text{C}$ η_D^{20} est déterminée par la formule suivante :

$$\eta_D^{20} = \eta_D^{t'} + 0,0004 (t' - 20)$$

Figure 2.11

η_D^{20} : est la valeur obtenue à la température t' .

L'appareil est ajusté de manière à donner, à la température de 20 °C, une valeur de 1.333 pour l'eau distillée.

2.2.3 Point de fusion

2.2.3.1 Mode opératoire

Le point de fusion est déterminé à l'aide d'un fusiomètre de marque Fisher Jhones à lamelle. Le point de fusion est aperçu au moment de la fusion immédiate du solide.

2.3 Modification chimique

2.3.1 Synthèse des hydrazones

2.3.1.1 En milieu neutre

Dans un ballon de 250 ml, on introduit 10 mmol (1.52 g) d'huile essentielle et 12 mmol (0.816 g) d'hydrazine additionnée de 20 ml d'éthanol.

Le ballon est accordé à un montage à reflux mis sous chauffage et agitation.

La couleur de la solution en moment du lancement est jaune pale, elle change au cours de la réaction qui dure près de 6 heures.

Cette synthèse est suivie par chromatographie sur couche mince en prélevant des échantillons en moment du lancement, et après chaque heure jusqu'à ce qu'on obtienne le produit finale. Une fois la réaction achevée, la couleur du produit finale devient ainsi jaune foncée avec la formation d'un solide de couleur jaune qui flotte sur la solution.

Après filtration, on récupère le solide qu'on lave avec du méthanol.

Le solide se recristallise dans le méthanol. On filtre et on laisse sécher à l'air libre pour enfin obtenir le produit voulu.

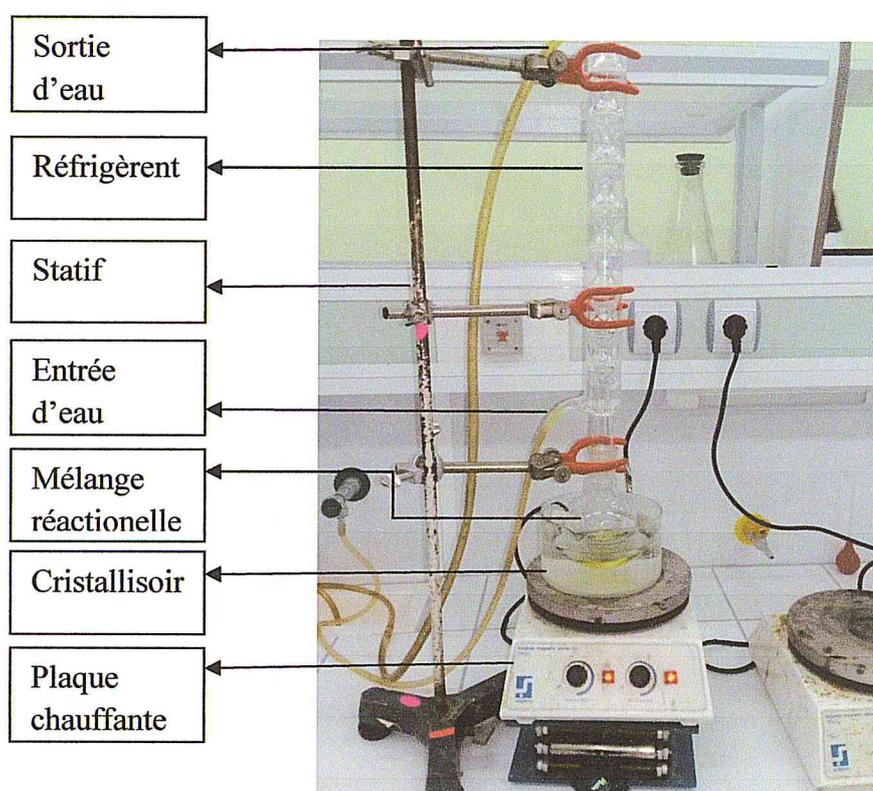


Figure 2.12 Montage à reflux

2.3.1.2 En milieu acide

Le protocole est le même que celui du milieu neutre sauf qu'on ajoute un catalyseur acide (2 ml d'acide acétique).

La réaction est aussi suivie par chromatographie sur couche mince en utilisant les mêmes éluants.

Le produit obtenue est lavé avec du méthanol et séché à l'air libre.

2.3.2 Synthèse des oximes

2.3.2.1 En milieu acide

Dans un ballon de 100 ml, on introduit 10 mmole (1.52 g) d'huile essentielle et 11mmole (0.759 g) d'hydroxylamine auquel on lui ajoute 1ml d'acide acétique et 20 ml d'éthanol.

Le ballon est accordé à un montage à reflux sous chauffage et agitation.

La couleur de la solution au moment du lancement est un marron claire, elle change au cours de la réaction qui dure près de 5 heures. Une fois la synthèse terminée, la couleur de la solution finale devient plus foncée.

La réaction est suivie par chromatographie sur couche mince, en prélevant des échantillons au début de la synthèse et après chaque heure jusqu'à ce que le produit final apparaisse.

Le produit obtenu est lavé avec du méthanol et séché à l'air libre.

2.4 Activité microbiologique

L'activité microbiologique repose sur le test de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle obtenue par extraction ainsi que l'huile modifiée par l'hydrazine dans les deux milieux acide et neutre et par l'hydroxylamine.

Ce test est effectué sur quatre souches bactériennes et quatre souches de champignons connus.

2.4.1 Méthode de diffusion sur disques (l'aromatogramme)

Après avoir coulé les deux milieux de cultures, et ensemencer les bactéries et les champignons, on prépare avant tout deux témoins qu'on utilise pour comparer les résultats finaux.

Le premier témoin est un antibiotique de type Cephalexine et le deuxième est un antifongique de type metronidazole. On pèse 200 mg de chaque témoin qu'on fait diluer dans 10 ml de DMSO dans deux tubes différents.

Ensuite, on imbibe le disque stérile à 6 mm de diamètre dans le témoin (antibiotique et antifongique) et on le pose sur la gélose (milieu de culture + bactérie ou champignon) au centre de la boîte à pétri. Cette opération se répète pour chaque bactérie et champignon.

On incube de suite les 8 souches dans une étuve à 37° pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour les champignons.

Pour l'huile essentielles et l'huile modifiée, on teste l'activité de l'huile essentielle avec une concentration de 100 % et 70% telle que l'huile modifiée par l'hydrazine et l'hydroxylamine.

Dans 10 ml de DMSO et dans 3 tubes différents, on ajoute en premier 7 ml d'huile essentielle pure, ensuite 7 ml d'huile modifiée par l'hydroxylamine et 7 mg de l'huile modifiée par l'hydrazine. On obtient ainsi 3 solutions et de l'huile pure.

De la même manière, on imbibe à chaque fois le disque stérile à 6 mm dans la solution qu'on pose ensuite sur la gélose (milieu de culture + bactérie ou champignons), et qu'on incube à 37° pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour les champignons.

2.4.2 La méthode micro atmosphère

La méthode micro atmosphère est basée sur la volatilité des huiles essentielles qui inhibe la croissance des bactéries et champignons.

On prépare du papier filtre stérile de 60 mm de diamètre qu'on imbibe avec 5 µl d'huile essentielle pure et qu'on pose sur le couvercle de la boîte à pétri. Ce ci se répète de la même façon pour les autres bactéries et champignons.

On incube à 37° pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour les champignons.

Les résultats obtenus sont interprétés en faisant une comparaison entre l'huile essentielle, les huiles modifiées et les témoins.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. L'EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE L'*Artemisia Judaica*

1.1 Le rendement de l'extraction

Tableau 3.1 La variation du rendement de l'extraction de l'HE de l'*Artemisia Judaica* en fonction de la quantité de la matière végétale et de la durée de l'extraction

La quantité du végétale (g)	100	125	150	200
La durée de l'extraction (H)	2,00	2.25	2.5	3
R (%)	0.948	1.944	2.146	2.505

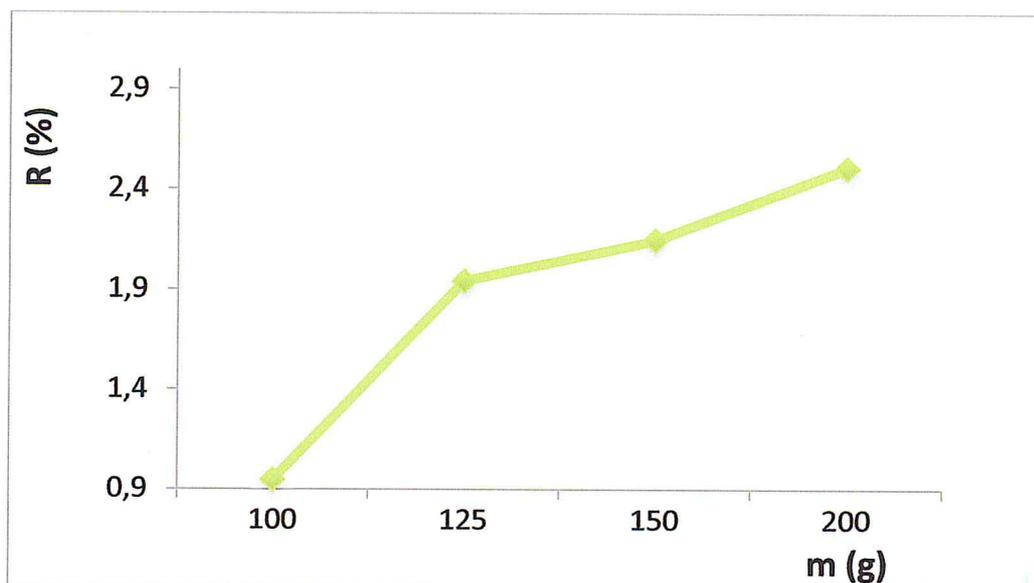


Figure 3.1 Variation du rendement de l'extraction de l'HE de l'*Artemisia Judaica* en fonction de la masse du végétale

Cette courbe représente la variation du rendement de l'extraction de l'huile essentielle de l'*Artemisia Judaica* en fonction de la quantité et la composition du végétale.

On remarque qu'à chaque fois que la quantité du végétal augmente, la durée de l'extraction se prolonge et le rendement augmente de façon proportionnelle.

La présence des tiges en quantité importante que celle des feuilles influe sur le rendement de l'huile car on remarque qu'avec 125g on a eu un rendement de 1.944% alors qu'avec 100g le rendement est de 0.948 %.

1.2 Indices physiques de l'huile essentielle

Tableau 3.2 Les indices physiques de l'HE de l'*Artemisia Judaica*

Couleur de l'HE	η_D^{20}	d^{20}
Jaune	1.4884	0.952

1.3 L'identification de la pipéritone par chromatographie sur couche mince CCM

Tableau 3.3 Les rapports frontaux de l'HE de l'*Artemisia Judaica*

Eluant (v/v)	CH ₃ COOC ₂ H ₅ / C ₆ H ₁₄ (5 :5)	CH ₃ COOC ₂ H ₅ / C ₆ H ₁₄ (7 :3)	CH ₃ COOC ₂ H ₅ / (C ₂ H ₅) ₂ O (5 :5)	CH ₃ COOC ₂ H ₅ / (C ₂ H ₅) ₂ O (7 :3)
R _f	0,9	0,9	0,9	0,9

1.4 L'analyse de l'huile essentielle par l'UV

Tableau 3.4 L'absorbance en fonction de la longueur d'onde

λ_{\max} (nm)	A
208	0,564
234	1,912
276	0,201

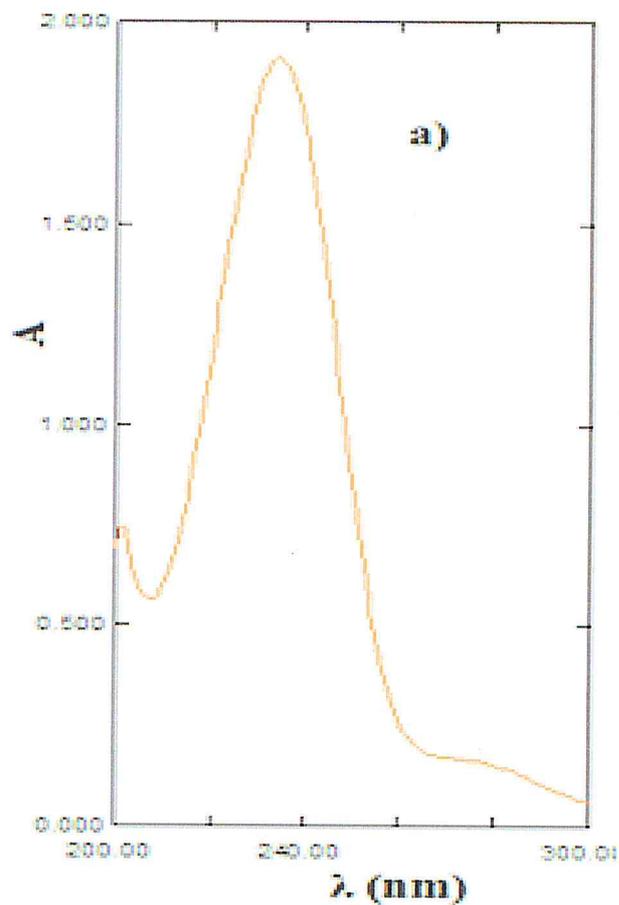


Figure 3.2 Spectre UV Visible de l'HE de l'*Artemisia Judaica*

Le spectre UV-Vis montre la présence de deux pics de différentes intensités, le premier pic le plus large et le plus intense localisé à 234 nm est attribué à l'excitation électronique $\pi \rightarrow \pi^*$ de la fonction alcène présente au sein de la structure de la piperitone. Cependant, le deuxième pic situé à 276 nm caractéristique de la transition électronique $n \rightarrow \pi^*$ du groupement carbonyle cétone de la piperitone.

1.5 L'analyse de l'huile essentielle par FTIR

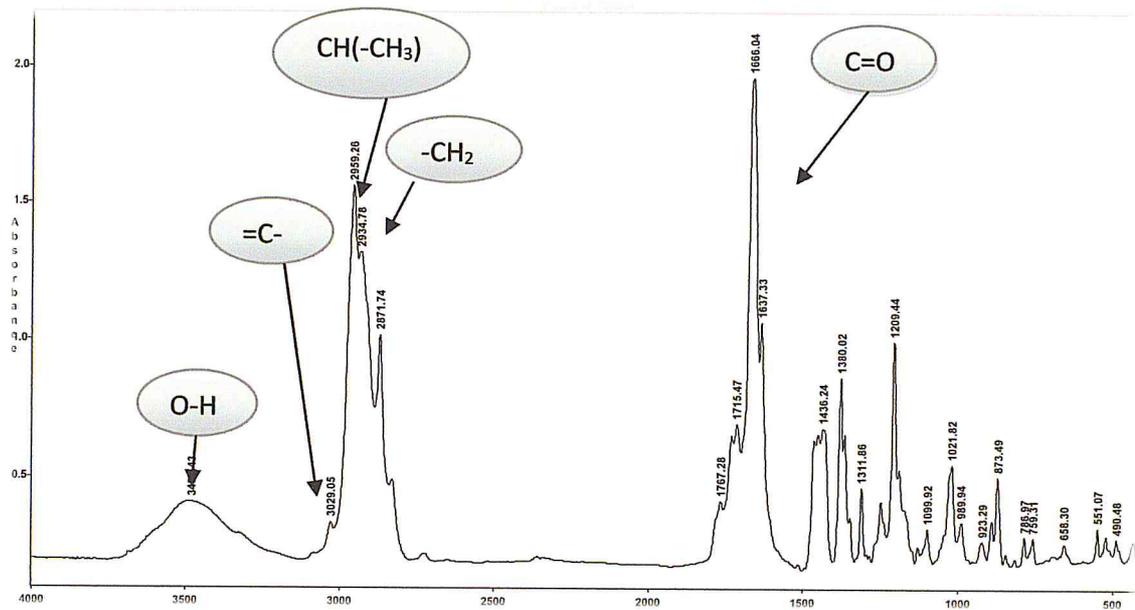


Figure 3.3 Spectre IR de l'huile essentielle de l'*Artemisia Judaica*

Le spectre IR de l'huile essentielle montre la présence d'une bande située à 3481.43 cm^{-1} responsable de la vibration de la fonction OH, 3 pics sont situés à 2871 , 2934 et 2959 cm^{-1} , responsable de la vibration des liaisons C-H, C-H₂ et C-H₃ respectivement ainsi que la liaison =C-H à 3029 cm^{-1} , un pic de forte intensité est situé à 1666 cm^{-1} responsable de la fonction carbonyle C=O d'une cétone, d'autres groupements carbonyles sont situés à 1767 , 1718 et 1630 cm^{-1} .

1.6 Analyse de l'huile essentielle par CG/MS

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle de l'*Artemisia Judaica* a donné le chromatogramme suivant:

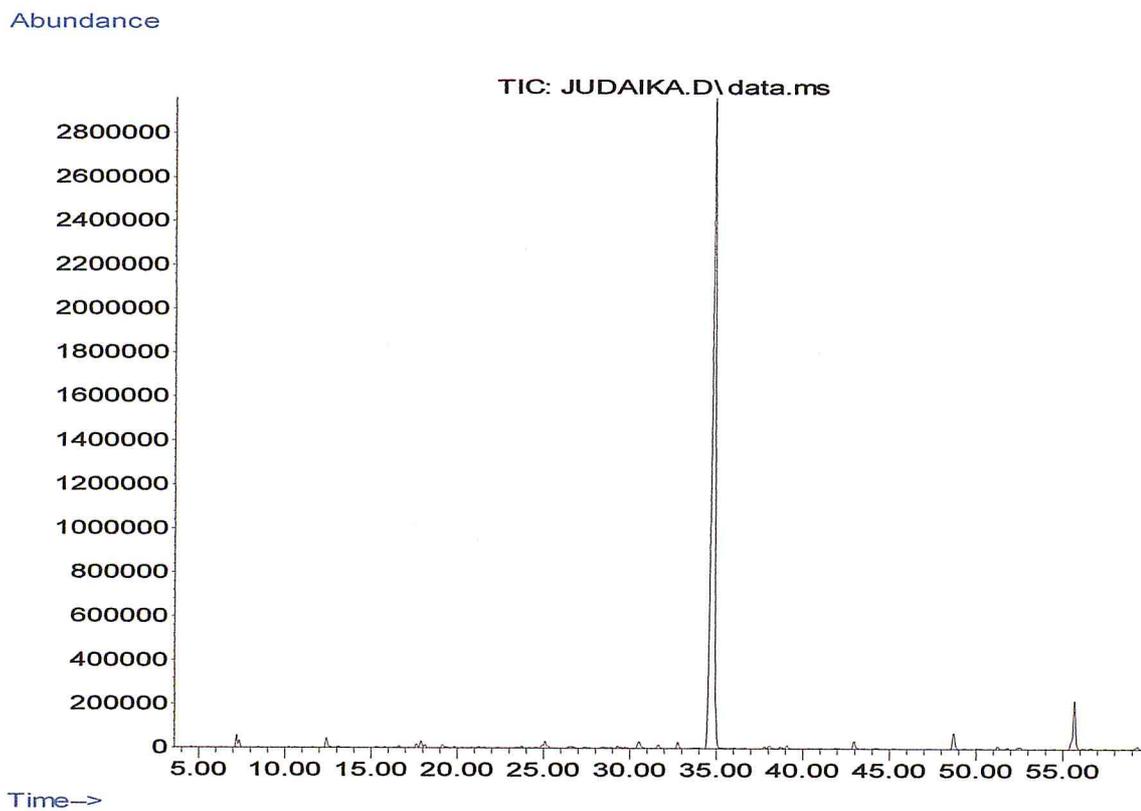
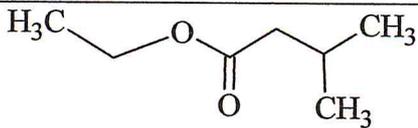
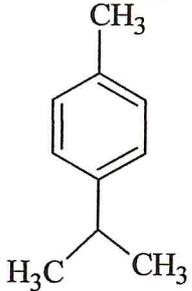
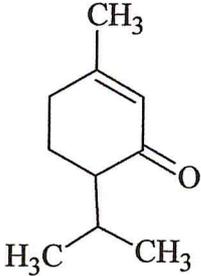
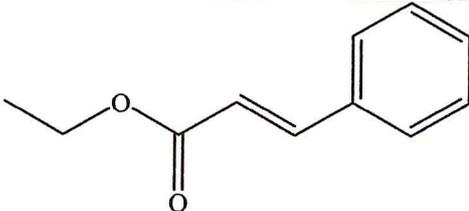
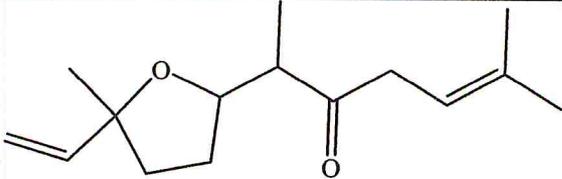


Figure 3.4 Chromatogramme de CG/MS de l'huile essentielle de l'*Artémisia Judaica*.

1.6.1 Composition chimique

L'analyse par CG/SM a permis l'identification des composés regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 3.5 Composition chimique de l'huile essentielle de l'*Artémisia judaica*

Composé	Formule	T _R (min)	Teneur(%)
Isovalerate d'éthyle		7.18	2.16
p-cymene		17.89	1.62
Pipéritone		34.67	86.48
Cinnamate d'éthyle		48.69	3.24
Davanone		55.67	6.48

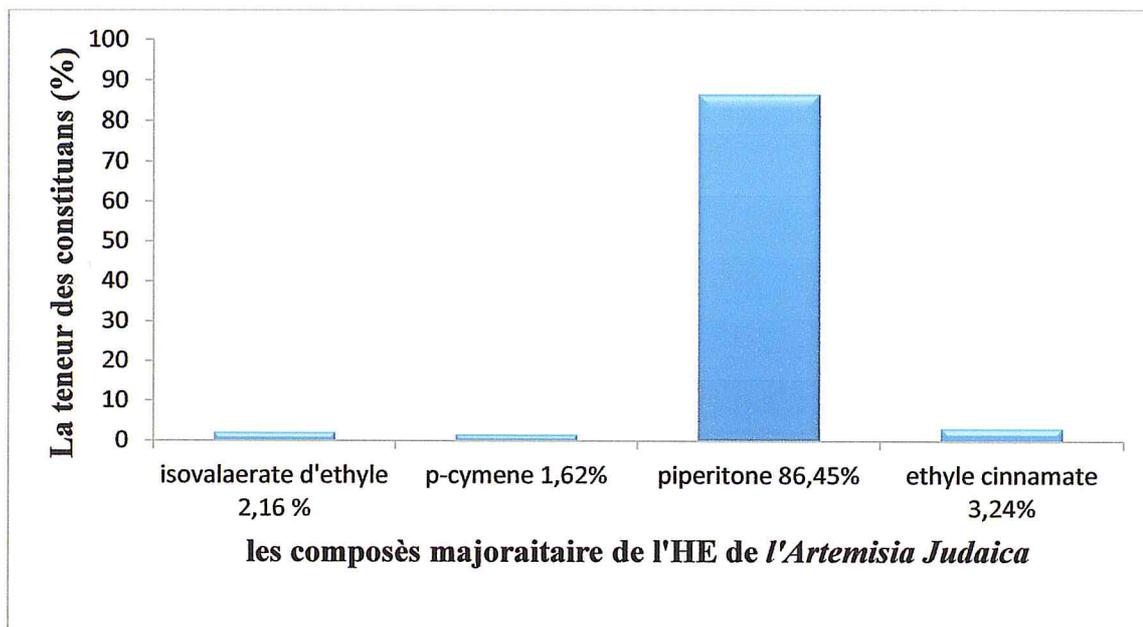


Figure 3.5 Composition chimique de l'HE de l'*Artemisia Judaica*

L'analyse de l'huile essentielle de l'*Artemisia Judaica* par CG/MS montre la présence des composés mono-terpéniques oxygénés dont la pipéritone est le produit majoritaire (86.48%).

D'autres composés mono terpéniques hydrocarbonés sont présents à l'état de trace telle que le p-cymene (1.62%).

2. MODIFICATION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE L'*Artemisia Judaica*

2.1 Modification chimique de l'huile essentielle par l'hydrazine

2.1.1 Synthèse de l'hydrazone

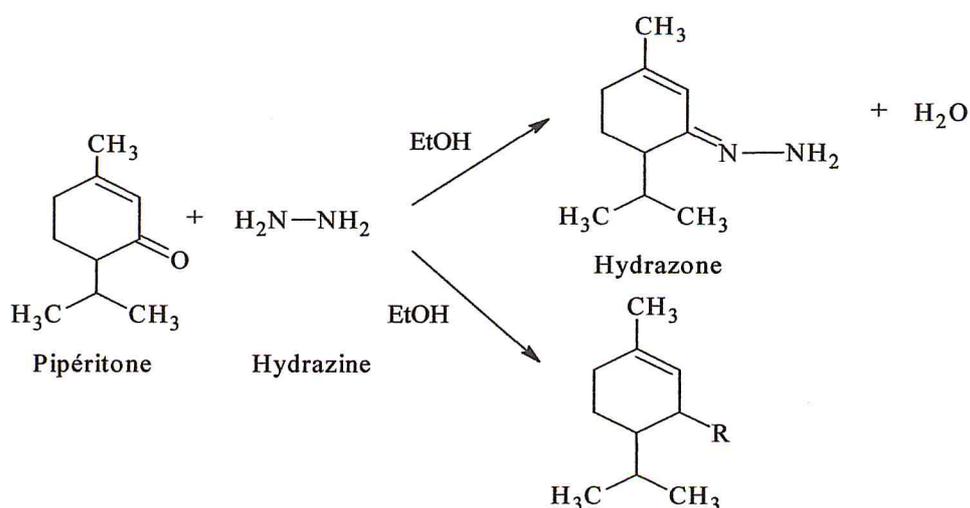


Figure 3.6 Synthèse de l'hydrazone

2.1.2 Caractères physico-chimiques de l'hydrazone

Tableau 3.6 : Les caractéristiques physico-chimiques de l'hydrazone

Nom du produit	Nature	Couleur	P _f (°C)	R %
Hydrazone	Cireux	Blanche	43	35

2.1.3 Identification de l'hydrazone par chromatographie sur couche mince

Tableau 3.7 Les rapports frontaux de l'hydrazone

Eluants (v/v)	CH ₃ COOC ₂ H ₅ / (C ₂ H ₅) ₂ O (7 :3)	CH ₃ COOC ₂ H ₅ / C ₆ H ₁₂ (7 :3)	CH ₃ COOC ₂ H ₅ / (C ₂ H ₅) ₂ O (5 :5)
R _f	0,6	0,5	0,6

2.1.3 Analyse de l'hydrazone par l'UV

Tableau 3.8 L'absorbance en fonction de la longueur d'onde

λ _{max} (nm)	A
208	0,101
230	0,091

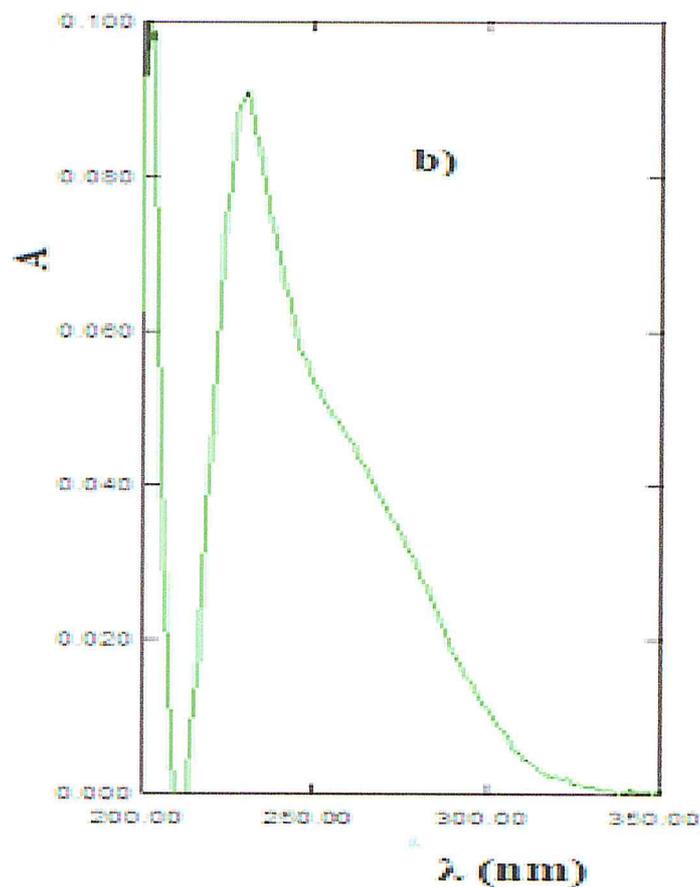


Figure 3.7 Spectre UV Visible du produit de la réaction de W-K

Le spectre UV-Vis du produit de condensation de la pipéritone avec l'hydrazine monohydrate en milieu acide et en milieu neutre est composé d'une bande large et intense spécifique à l'excitation électronique $\pi \rightarrow \pi^*$ d'un alcène à 230 nm.

Par contre, l'épaule caractéristique de la fonction carbonyle d'une cétone a disparu du spectre UV-Vis du produit de condensation.

Ces observations permettent de proposer le mécanisme de réduction du groupement carbonyle en alcane semblable à celui de la réaction de W-K.

2.1.5 Analyse de l'hydrazone par FTIR

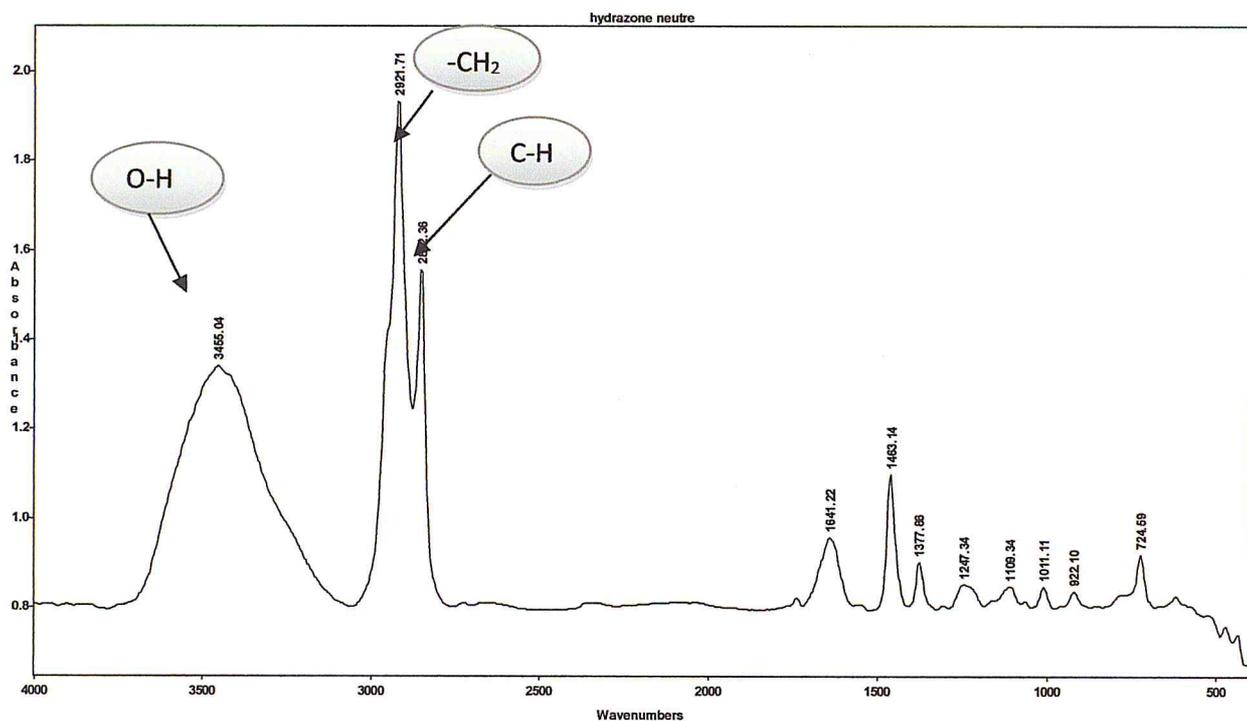


Figure 3.8 Spectre IR de du produit de la réaction de W-K

Le spectre IR du produit de la réaction de W-K montre la présence d'une bande située vers 3456.04 cm⁻¹ responsable de la vibration de la fonction OH, deux pics sont situés vers 2852.36 et 2921.71 cm⁻¹ responsable de la vibration de la liaison C-H, C-H₂ respectivement. On remarque ainsi la disparition des pics de la fonction carbonyle C=O vers 1600 jusqu'à 1750 cm⁻¹ et l'absence du pic de la fonction N-H vers 3400 cm⁻¹ et c'est ce qui explique la réduction de l'hydrazone en alcane selon la réaction de W-K.

Ce résultat est confirmé par les observations obtenues par l'analyse UV-Vis du produit de condensation.

2.2 Modification chimique de l'huile essentielle par l'hydroxylamine

2.2.1 Réaction chimique de l'HE avec l'hydroxylamine

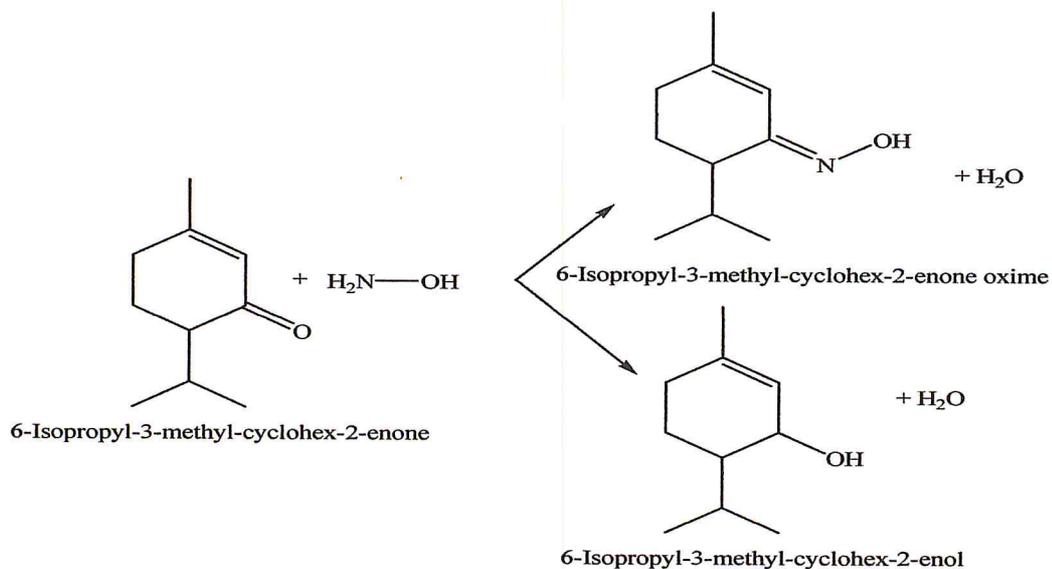


Figure 3.9 Synthèse de l'oxime

2.2.2 Caractéristiques physico chimique du produit obtenu

Tableau 3.9 Les caractéristiques physico chimique du produit obtenu

Nom du produit	Nature	Couleur	R%
Oxime	Liquide visqueux	Marron foncé	22,5

2.2.3 Identification du pipéritinol par chromatographie sur couche mince CCM

Tableau 3.10 Les rapports frontaux du pipéritinol

Eluants (v / v)	CH ₃ COOC ₂ H ₅ /C ₆ H ₁₂ (7 : 3)	CH ₃ COOC ₂ H ₅ /C ₂ H ₅ OC ₂ H ₅ (5 : 5)
R _f	0,6	0,6

2.2.4 Analyse de l'oxime par l'UV

Tableau 3.11 L'absorbance en fonction de la longueur d'onde

λ_{\max} (nm)	A
208	0,416
236	0,840

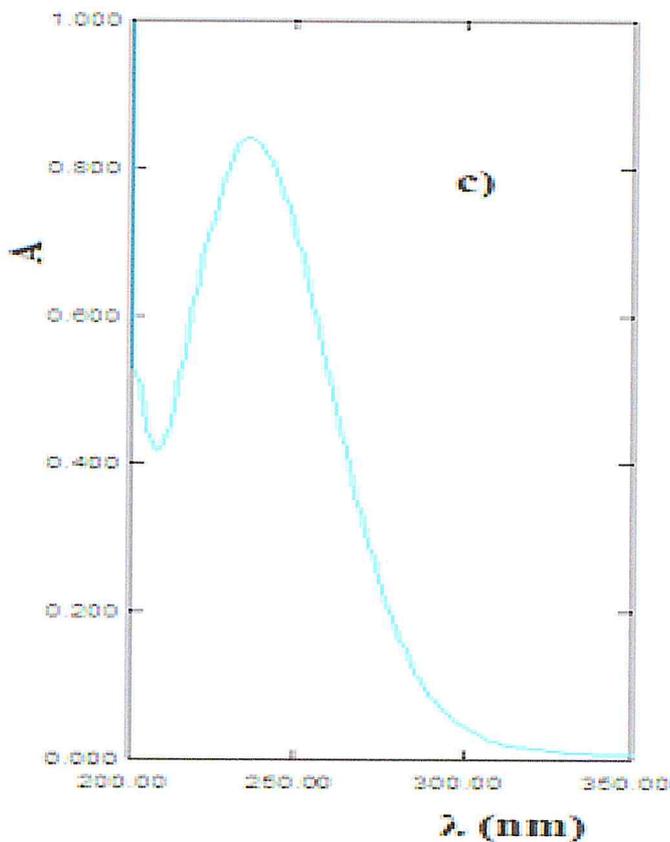


Figure 3.10 Spectre UV- Vis du pipértinol

Le spectre UV-Vis du produit de condensation de la piperitone avec l'hydroxylamine en milieu acide montre la disparition de la bande d'absorption du groupement carbonyle cétone de la piperitone et la conservation de la bande caractéristique de la fonction alcène de la piperitone à 236 nm.

L'absence de la bande caractéristique de la transition électronique $n \rightarrow \pi^*$ peut être expliqué par la réduction de la fonction cétone en fonction alcool.

2.2.5 Analyse de l'oxime par FTIR

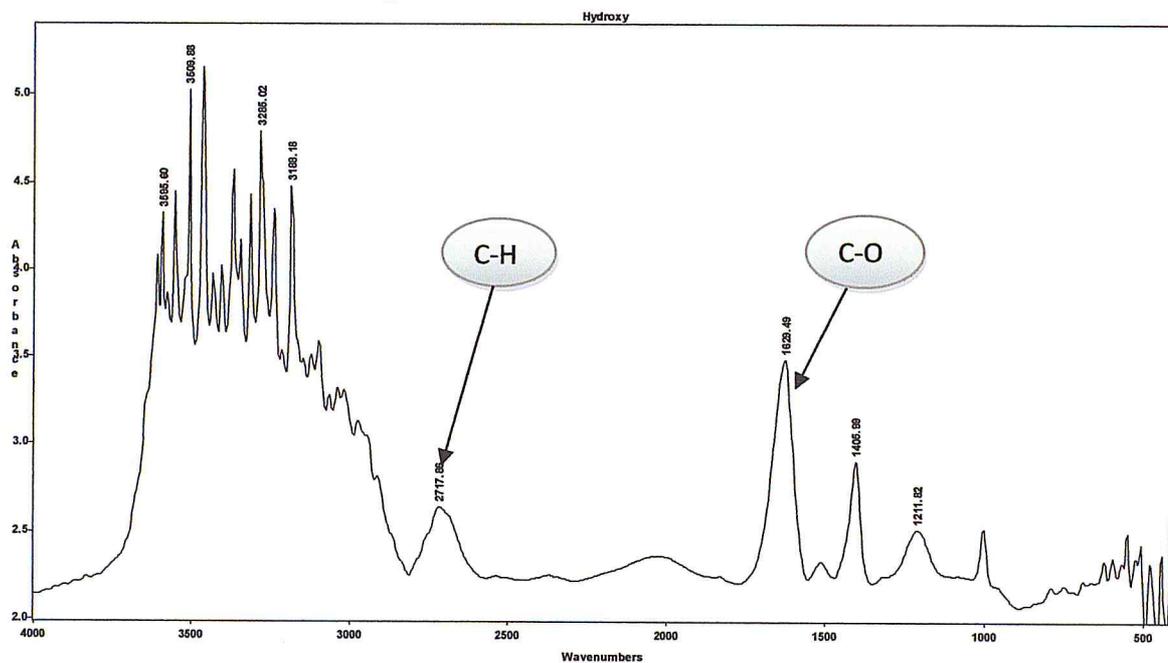


Figure 3.11 Spectre IR de la piperitol

Les résultats de l'analyse par IR de l'oxime montrent la présence d'un pic d'une intensité moyenne vers 1629.45 cm^{-1} responsable de la déformation de la fonction C-O.

Un pic d'une faible intensité est présent vers 2717.88 cm^{-1} responsable de la vibration de la fonction C-H. on remarque aussi dans ce spectre la disparition totale de la fonction carbonyle cétone C=O.

Ce phénomène peut être expliqué par la réaction de la réduction de la fonction cétone en alcool. Le piperitol est le produit de la réaction de réduction (figure 3.9).

2.3 ACTIVITE MICROBIOLOGIQUE Méthode de l'aromatogramme

Tableau 3.12 Les zones d'inhibitions des bactéries en fonction de la concentration de l'HE et les deux produits modifiés

Bactéries [C]%	Les zones d'inhibitions (mm)			
	<i>Staphilococcus Aureus</i>	<i>Pseudomonace Aeregenosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>Bacillus</i>
HE pure 100%	24	15	18	15
HE 70%	20	13	10	10
Hydrazone 70%	08	10	10	09
piperitimol 70%	16	12	10	12
Témoins positif (cephalexine)	09	16	11	12
Témoins négatif (metronidazole)	12	07	11	13

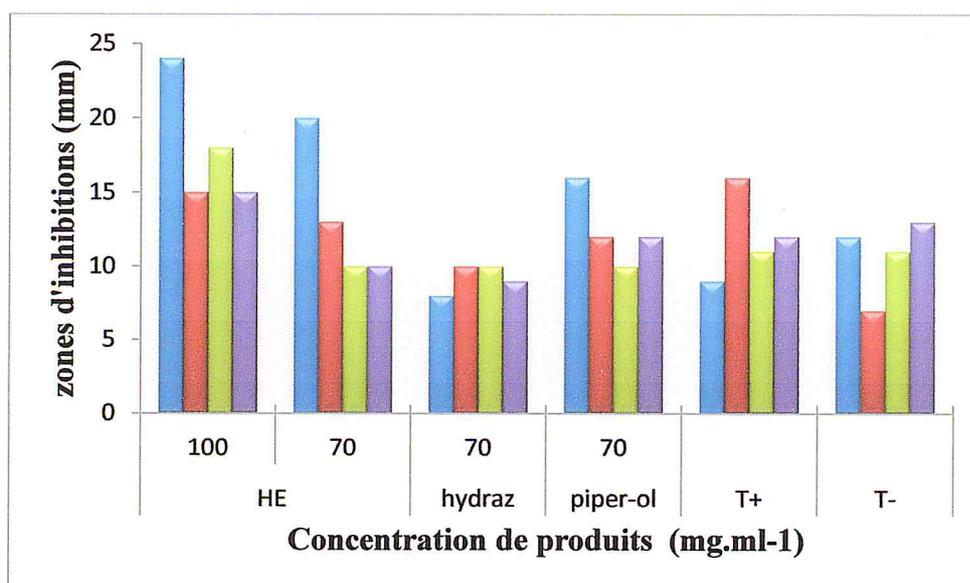


Figure 3.12 Zones d'inhibitions des bactéries en fonction des concentrations.

Le test de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'*Artemisia Judaica* par la méthode de l'aromatogramme a montré que les bactéries à gram(-) telle que *Pseudomonace Aerugenosa* sont plus résistantes que les bactéries à gram(+) telle que *Staphilococcus aureus*.

On remarque à partir des résultats obtenus que la diffusion est plus importante avec l'HE de concentration de 100% qui donne une diffusion d'un diamètre de 24 mm chez *Staphilococcus aureus* et 18 mm chez *E.Coli*, qu'avec l'HE à 70% qui a donné des zones avec un diamètre inférieur telle que *Staphilococcus aureus* avec 20 mm et *E.Coli* avec 10 mm.

L'activité antibactérienne du produit de la réaction de W-K à 70% est moins efficace par rapport à l'HE à 70% car les zones de diffusions sont inférieurs pour les bactéries à gram(+) que pour les bactéries à gram(-) avec des diamètres inférieurs à 10 mm.

Ce ci est du à la réduction des groupements responsables de l'activité antibactérienne lors de la synthèse.

Par rapport au produit de la réaction de W-K, la piperitol présente une activité anti bactérienne meilleur avec des zones de diffusion plus importante telle que *Staphilococuccus aureus* avec un diamètre de 16 mm et *Pseudomonace aerugenosa* avec un diamètre de 12 mm.

On peut en déduire que l'HE de l'*Artémisia Judaica* possède une activité antibiotique en comparant les résultats de l'HE avec ceux des témoins positif.

Tableau 3.13 Les zones d'inhibition des champignons en fonction de la concentration de l'HE et les deux produits modifi

Champignons [C] %	Les zones d'inhibition (mm)			
	<i>Aspergillus Nigeria</i>	<i>Candidat</i>	<i>Aspergillus Fuzaria</i>	<i>Aspergillus Brazilia</i>
HE pure 100%	20	18	16	17
HE 70%	12	13	13	16
Hydrazone 70%	09	08	08	14
piperitinol 70%	10	08	09	25
Témoins positif (cephalexine)	16	11	14	17
Témoins négatif (metronidazole)	10	07	10	15

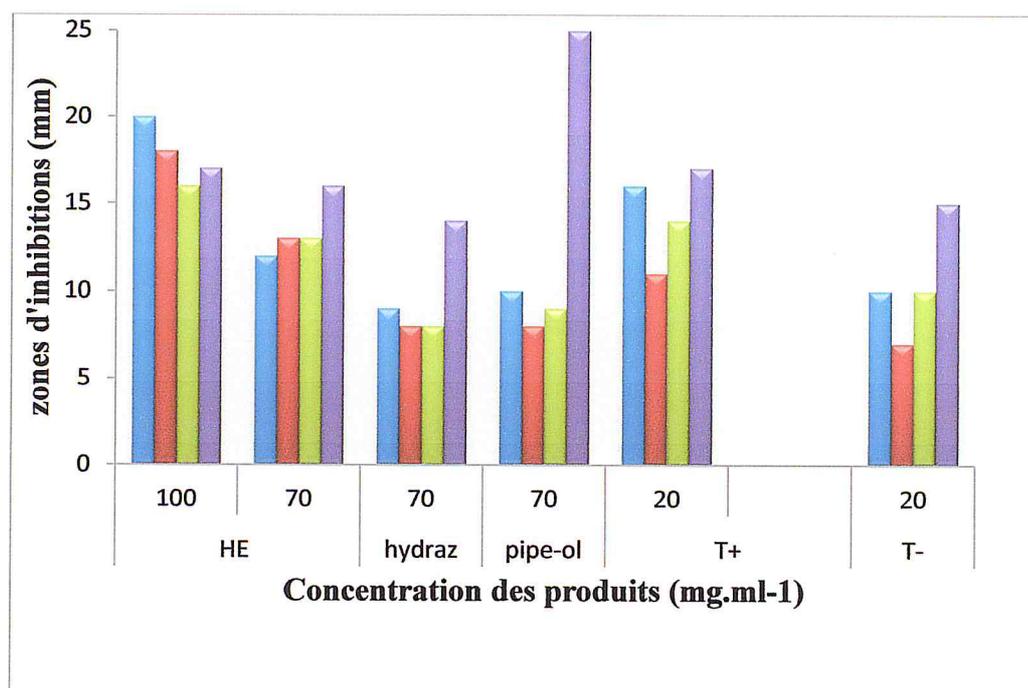


Figure 3.13 Les zones d'inhibitions des champignons en fonctions des concentrations des produits

Selon les tests antifongiques de l'huile essentielle de l'*Artémisia Judaica* avec les champignons de type *Aspergillus* et *candidat*, on remarque dans le tableau en-dessus que l'activité avec l'HE à 100% est plus importante que celle de l'HE à 70%. Telle que l'*Aspergillus Nigeria* avec un diamètre de 20 mm à 100%, et avec un diamètre de 12 mm à 70%.

Par contre, on remarque que l'hydrazone présente une activité anti fongique moins efficace que celle de l'HE à 70% chez le candidat et *Aspergillus Nigeria* et *Fuzaria* avec des zones de diffusion inférieures à 9mm et l'*Aspergillus Brazilia* avec un diamètre de 14 mm.

En parallèle, la piperitol possède une activité anti fongique très importante contre les champignons de type *Aspergillus Brazilia* avec une zone de diffusion de 25 mm.

On peut déduire à partir de ces résultats que l'HE de l'*Artemisia judaica* possède une bonne activité antifongique contre les champignons de type *Aspergillus* et *Candidat* telle que le piperitol qui présente une bonne activité antifongique contre le type *Aspergillus Brazilia*.

2.4 La méthode micro atmosphère

Tableau 3.14 Zones d'inhibitions de l'huile essentielle avec les bactéries et les champignons

	Les zones d'inhibition des bactéries et des champignons			
Bactéries	Staphilococcus	Pseudomonace	E .coli	Bacillus
La diffusion de l'HE	30	36	44	43
Champignons	Aspergillus Nigeria	Candidat	Aspergillus Fuzaria	Aspergillus Brazilia
La diffusion de l'HE	65	43	37	75

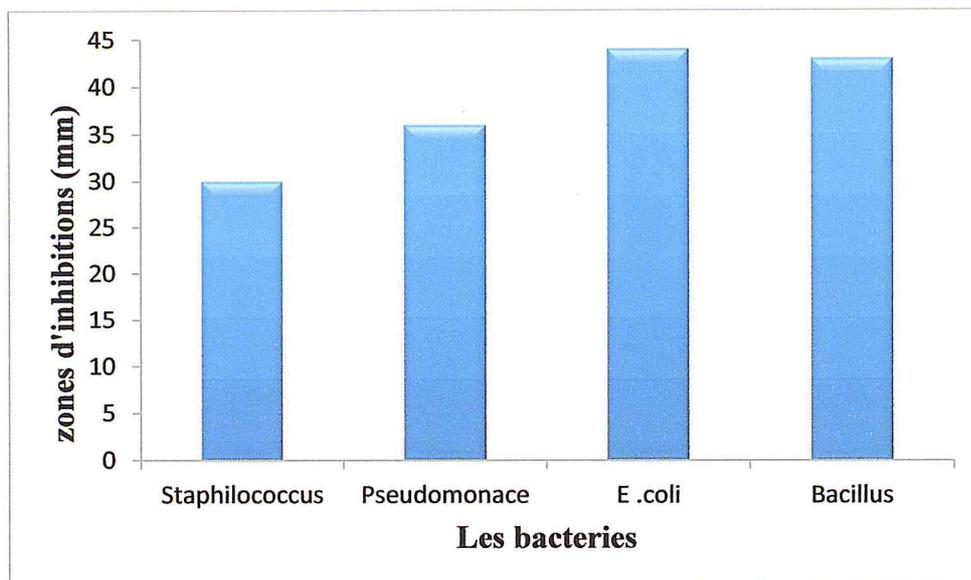


Figure 3.14 Zones d'inhibitions des bactéries

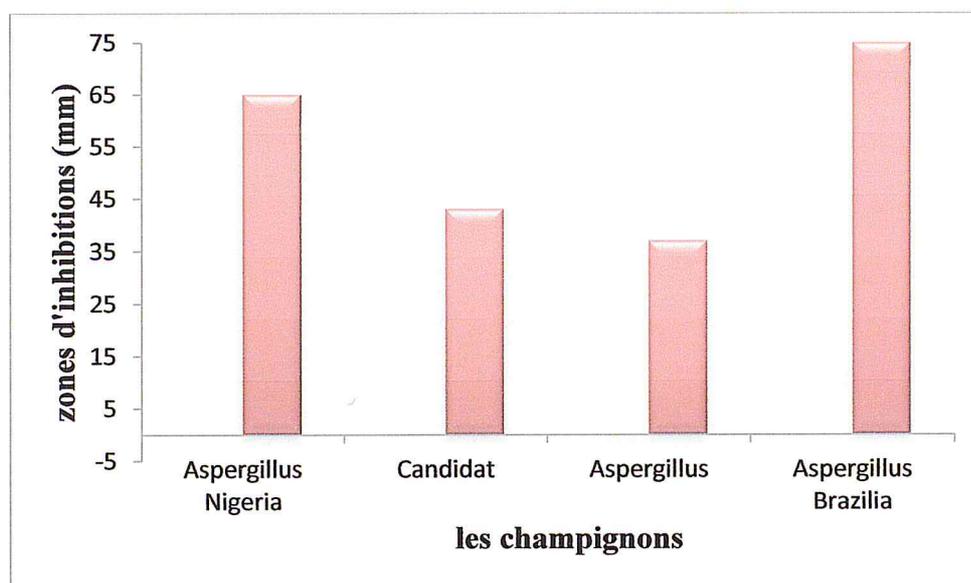


Figure 3.15 Les zones d'inhibitions des champignons

D'après les résultats, on remarque que l'activité microbiologique de l'HE de l'*Artémisia Judaica* testé par la méthode micro atmosphère est plus importante que celle avec la méthode de diffusion sur disque pour les bactéries que pour les champignons.

Les zones d'inhibitions varient de 30 à 44 mm chez les bactéries et de 37 à 75 mm chez les champignons. On en déduit à partir des résultats que l'HE de l'*Artémisia Judaica* présente une bonne activité antifongique par rapport aux résultats obtenus avec les champignons de type *Aspergillus* et *Candidat* par la méthode de l'aromatogramme que pour la méthode micro atmosphère.

CONCLUSION

L'utilisation des plantes médicinales est très recommandés dans le domaine de la santé publique grâce à leurs différents effets thérapeutiques et à la richesse de leurs huiles essentielles en composés terpéniques. Ces derniers sont connus pour leurs pouvoirs antibactérien, antioxydant et anti fongique.

L'huile essentielle de l'*Artemisia Judaica* est reconnue pour ses effets antibactériens et antifongiques contre plusieurs types de bactéries et champignons. Ces effets sont dus à la composition de l'HE en cétones responsables de l'activité antimicrobienne

A partir du travail réalisé on peut retenir que l'extraction de l'huile essentielle de l'*Artemisia Judaica* est caractérisée par le rendement de 2% qui dépend de la composition du végétale, cette valeur est identique à celle de la littérature

On déduit par les analyses chromatographiques et spectroscopiques effectuées que l'HE de l'armoise contient plusieurs composés terpéniques dont le composé majoritaire est la piperitone avec une teneur de 87%.

La modification chimique de l'HE de l'*Artemisia Judaica* conduit à la formation de deux produits de réduction de la fonction cétone telle que le produit de la réaction de W-K et le piperitinol.

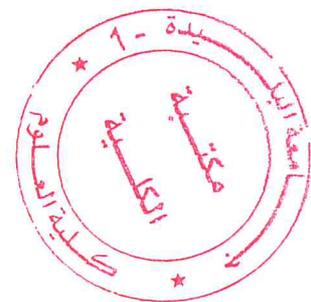
Le changement de quelques paramètres à causé cette réduction car la réaction entre la piperitone et l'hydroxylamine devrait aboutir et la formation d'un produit de condensation appelé oxime.

A partir des testes du pouvoir antimicrobien par la méthode de l'aromatogramme et par la méthode micro atmosphère, on retient que l'HE de l'*Artemisia Judaica* présente une activité antibactérienne et antifongique contre plusieurs type de bactéries et champignons telle que *Staphiloccocus Aureus* et *Aspergillus Brazilia*.

Le cas de la piperitol et le produit de la réaction de W-K est différent, car on a noté que la piperitol possède une activité anti fongique importante que celle de l'HE de l'armoise et celle de du produit de la réaction de W-K.

Ce dernier possédant une activité antimicrobienne faible en comparants les résultats avec ceux de la littérature. Ce changement est du à la réduction de la fonction cétone dans les deux réactions cité en dessus.

Ces résultats nous permettent d'identifier et caractériser l'huile essentielle de la plante *Artemisia Judaica* de la région de Oued talanteneche.



LISTE DES ABREVIATIONS

APG :	Angiosperms Phylogeny Group
BHT :	Hydroxy Toluène Butyle
C :	Concentration
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
CMB :	Concentration Minimale Bactéricide
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
CO₂ :	Dioxyde de carbone
CPG :	Chromatographie en Phase Gazeuse
CG/SM :	Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de masse
D :	Densité optique
DDA :	Diamètre d'Inhibition des Antibiotiques
DNPH :	Di-Nitro-Phéhyle-Hhydrazine
GC :	Chromatographie sur Colone
FTIR :	Transformer de Fourier Infra Rouge
HCl :	Acide Chloridrique
HE :	Huile essentielle
Ir :	Indice de Réention
KBr :	Bromure de potassium
M :	Molarité
MA :	Méthode d'Antibiose
MgSO₄ :	Sulfate de magnésium
ml :	Millilitre
MM :	Méthode de Micro atmosphère
MMPP :	Mono Prétoxy Phtalate de magnésium
MS :	Spectrométrie de Masse
µm :	Micromètre
NaOH :	Hydroxyde de sodium
R :	Rendement

Rf : Facteur de rétention

Ppm : Partie Par Million

UV : Ultra-violet

Vol : Volume

W : Watt

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] .iso.org/obp/.

[2] F.couic-marimier. A.Lobsteins les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine .actualités pharmaceutiques 2013; 52(525);P 18-21.

[3] Agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS).

[4] J. Brunettant pharmacognosie,phytochimie, plante médicinal. 1999, 3 emme édition, Ed. TEC et DOC, Paris.

[5] J.K., Chalchat L. P Carry., C., Menut G., Lamaty R Malhuret. And J. Chopineau Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. J. Essent. Oil Res. 1997; 9: 67-75.

[6] G.Schwedt. Méthodes d'analyse. 1993, Ed. Flammarion.

[7.8] Gherib. Mohamed. Thèse de magister «Etude des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielle et des flavonoides d'*Artemisia herba alba* Asso; *Artemisia judaica* .L. ssp.*sahariensis*; *Artemisia campestris* L; *Herniaria mauritanica* Murb et *Warionia saharae* Benth. et Cou.le p 50 le 11/06/2009

[9] Kahlouche.Riachi Fou²lia, Évaluation chimique et activité antibactérienne de quelque plante médicinale d'Algérie, thèse de doctorat, Université de Constantine 1, soutenue 2013-2014, p 54-59.

[10] westafricanplants.senckenberg..page781.

[11] P.quezet et S.Santa nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridiennes edition du centre nationale de la recherche scientifique 1977 Paris ACNRS.

[12] K.Batanony, F.abdulrahman,S.Benhman ,R.Chemli ,Z.Gherbi, F.Hamouda a guide to medicinal plants in north africa. Edition the international union of conservation of natural resource (UICN) BN2-8317-0893-1-2005.

[13] Armoise. [En ligne] 01/02/2018 wikipedia, l'encyclopedie libre. .

- [13] Armoise. [En ligne] 01/02/2018 wikipedia, l'encyclopédie libre. .
- [14] Cordell.G A, biodiversity and drug discovery –a-symbiotic relationship phytochemistry 55 :2000.463-48.
- [15.16] M.Mucciarelli and M.Maffai *Artémisia* Introduction to the genuorol18 .Edition N.Ncolin in Tylor and Francis .Edition London and new york: 2000 P 10-16.
- [17] Nouveau Larousse illustré, Encyclopédie des plantes médicinales, 2ème édi, Paris;2001, 335p.
- [18] A.Sahki. Et R. le Hoggar : Promenade botanique. Lyon: Edition Esope, 2004.page 312.
- [19] Nouveau Larousse illustré, Encyclopédie des plantes médicinales, 2ème édition, Paris;2001, P 335.
- [20] A.Ouyahia étude phytodermatologique et histologique de quelques Artemisia du bassin méditerranéen occidental, Acta Botanica Malacitana, Biol.
- [21] K.Batanony, F.Abdulrahman, S.Benhamou, R.Chemli, Z.Gharbi, F.Hammouda. And al. A guide to medicinal plants in North Africa.
- [22] A., SivropoulouPapanikolaou E., et *al.* Antimicrobial and cytotoxic activities of organum essential oils. J Food Chem1996; 44: 1202-5.
- [23] A.Sahki. Et R.le Hoggar : Promenade botanique. Lyon: Edition Esope, 2004.page 312.
- [24] Nouveau Larousse illustré, Encyclopédie des plantes médicinales, 2ème édition, Paris;2001, P 335.
- [25] A. Ouyahia étude phytodermatologique et histologique de quelques Artemisia du bassin méditerranéen occidental, Acta Botanica Malacitana, Biol. .
- [26]/[28] Nadji.BELKHEIRI, DERIVES PHENOLIQUES A ACTIVITES ANTIATHEROGENES, thèse de Doctorat, Université de Toulouse soutenue 24 Septembre 2010, p 45/55
- [27] Simon.HADROT, Développements méthodologiques dans la chimie des hydrazones et des isonitriles, Thèse de Doctorat, Ecole polytechnique ENSTA, Soutenue le 7 décembre 2006, p 2.
- [29] Abderrahmane.Benmiloud, Structure, propriété et réactivité des systèmes moléculaires, synthèse et séparation « TLC chiral » des dérivés imino-hesperidine, Mémoire de magister Université d'Oran, Soutenue le 6 mai 2011, p 13.

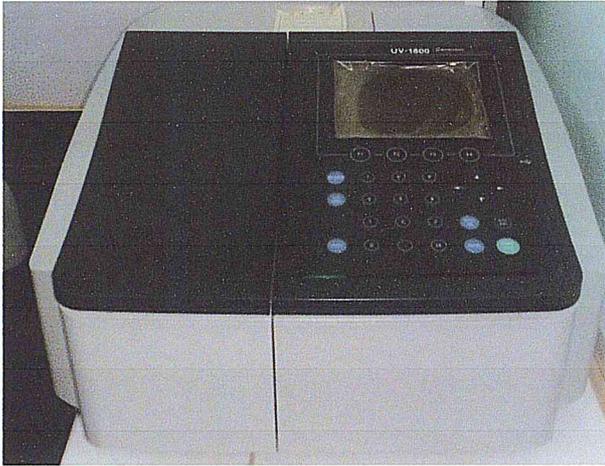
- [30] York.J, Dont C, Dacken A, Aibing X, synthesis characterization and photocatalytic application of novel di 2-pyridyl imin ligends. *Inorganic chemistry communication* vol 13, 2010, p 54.
- [31] Abdullah.Saad.Al-Bogami, Abdullah.Mohammed.Al-Majid, Mohammed.Ali Al-Saad Ahmed.Amine Mousa, Sara.Abdullah Al-Mazroa 2and Hamad Zaid Alkathlan, Cyclization of Hydrazones of 2-Acetyl-1-naphthol and 1-Acetyl-2-naphthol with Triphosgene. *Synthesis of Spiro Naphthoxazine Dimers*, 2009, p 2148.
- [32] Andrade.M.M.,Maria.T.B. J. *Comb. Chem.*2010, vol 12, p 245-247.
- [33] In alcanes, ketones organic chemistry 2, organic reagents by JAMES.
- [34] Simon.Hadrot, *Développements méthodologiques dans la chimie des hydrazones et des isonitriles*, Thèse de Doctorat, Ecole polytechnique ENSTA, Soutenue le 7 décembre 2006 P7.
- [35] Vicini. P.Zani. F.Doytchinova.I. *Hydrazones of 1,2-benzisothiazole hydrazides, synthesis, antimicrobial activity and QSAR investigations*, 2002. Vol 37 P 553-564.
- [36] Metwally.K. A, Abdel-Aziz. L. M, Lashine. E.M, Husseiny. M. I etBadawy. R.H, *Hydrazones of 2-aryl-quinoline-4-carboxylic acid hydrazides synthesis and preliminary evaluation as antimicrobial agents*, 2006, Vol 14, P 8675-8682.
- [37] Rasras .A, Al-Tet, Al-Aboudi.A .F, Al-Qawasmeh. R. A,*Eur. J. Med. Chem, Synthesis and AntimicrobialActivity of Cholic acid hydrazine analogues*. 2010. Vol 45 P 2307–2313.
- [38] Sondhi. S, Dinodia. M.,Kumar. A, *Synthesis, anti-inflammatory and analgesic activity evaluation of some amidine and hydrazine derivatives*.*Bioorg. Med. Chem.* 2006. Vol 14 p 4657–4663.
- [39] Paola.Vicini, Matteo.Incerti, Irini A. Doytchinova, Paolo La Colla, Bernadetta Busonera, Roberta Loddo, *Synthesis and antiproliferativeactivity of benzo[d]isothiazole hydrazones*, 2006, p 626.
- [40] Vi Thuy Dao ; *Le Gossypol Et Ses Nouveaux Dérivés : Synthèse Et Etude d'activité Biologique*. Thèse Docteur Université De Paris-Sud U.F.R Scientifique d'Orsay.2002, P159.

ANNEXES

ANNEXE 1

MATERIELS D'ANALYSE

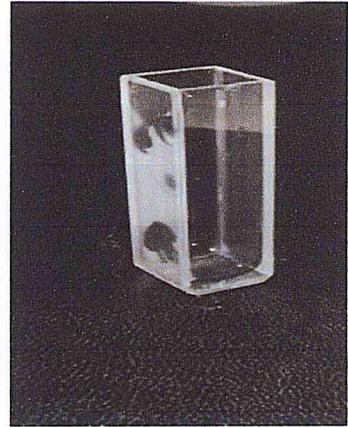
1. Spectrophotomètre UV-Vis



Appareil UV-VIS



La chambre UV



cuve en quartz

2. Spectromètre IR



Appareil FTIR



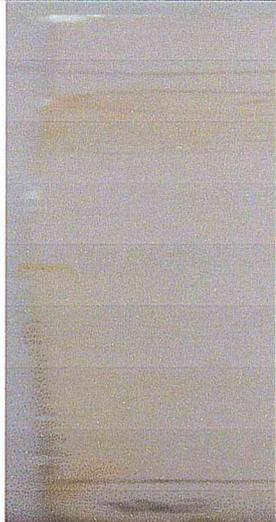
La chambre de la cellule

ANNEXE 2

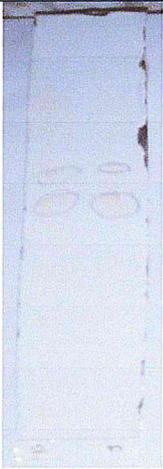
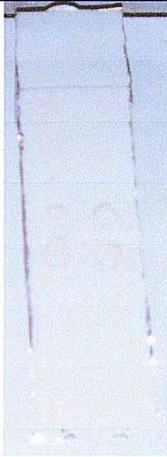
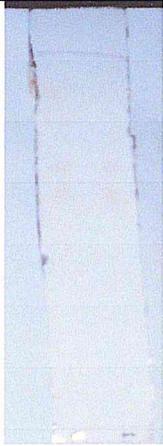
RESULATATS

1. Résultats de l'identification de l'HE et les huiles modifiées par la chromatographie sur couche mince

1.1 L'identification de l'HE

Eluants	Acétate d'éthyle50/ Hexane 50	Acétate d'éthyle70/ Cyclohexane30	Acétate d'éthyle50/ Cyclohexane50	Acétate d'éthyle50/ Hexane 30
Plaques CCM				

a. Identification de l'hydrazone

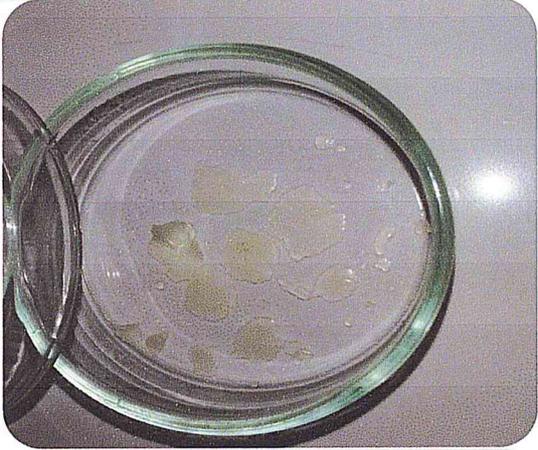
Eluants	Acétate d'éthyle70/ Diéthyle ether 30	Acétate d'éthyle 70/ Cyclohexane30	Acétate d'éthyle 50/ Diéthyle- ether50
Plaques CCM			

3.1 Identification de l'oxime

Eluants	Acétate d'éthyle70/Cylohexane30	Acétate d'éthyle50/ Diéthyle ether50
Plaques CCM		

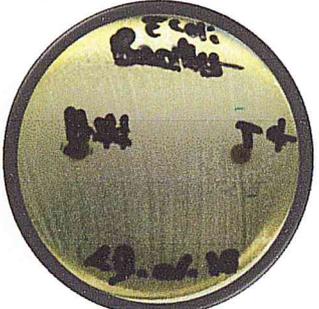
2. Les produits de la modification chimique

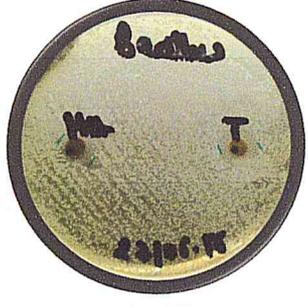
	Le piperitol
Avant la purification	
Après la purification	

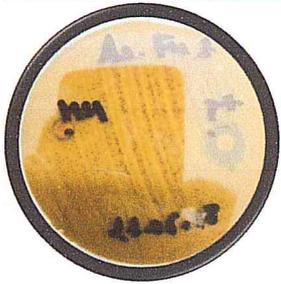
Le produit de la reaction de W-K	
Avant purification	
Après purification	

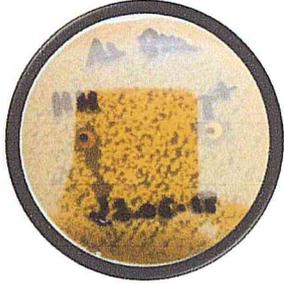
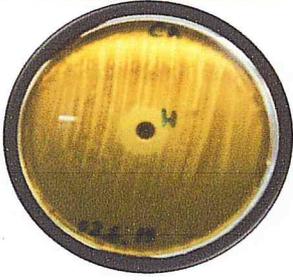
3. Résultats de l'activité antimicrobienne

3.1 Méthode de l'aromatogramme

Les zones d'inhibition			
Les bactéries	Avec l'HE	Avec l'hydrazone	Avec le pipéritinol
<i>E. Coli</i>			
<i>Pseudomonce aeruginosa</i>			
<i>Staphilococcus aureus</i>			

<i>Bacillus</i>			
-----------------	-----------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------

Les zones d'inhibition des champignons			
Champignons	Avec l'HE	Avec l'hydrazone	Avec pipéritinol
Aspergillus Nigéria			
Aspergillus Fuzaria			

Aspergillus Brasilia			
Candidat			

3.2 La méthode de micro-atmosphère

3.2.1 Les zones d'inhibition de l'huile essentielle de l'*Artemisia judaica* sur les bactéries

<i>E.Coli</i>	<i>Pseudomonace aeregenosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus</i>
			

3.2.2 Les zones d'inhibition de l'huile essentielle de l'*Artemisia judaica* sur les champignons

<i>Aspergillus Nigéria</i>	<i>Aspergillus fuzaria</i>	<i>Aspergillus Brasilia</i>	<i>Candidat</i>
			

