

**UNIVERSITE DE BLIDA 1**

**Faculté de Technologie**

**Département de Génie des Procédés**

**THESE DE DOCTORAT LMD**

Spécialité : Génie des Procédés Organique

**THEME**

**EXTRACTION, CARACTERISATION, MODIFICATIONS  
CHIMIQUES DES BIOMOLECULES ET APPLICATIONS**

**Présenté par**

**DRIOUECHE Asma**

Devant le jury composé de :

A.HADJ ZIANE	Professeur	U. BLIDA 1	Présidente de jury
Z.CHEMAT	Professeur	U. BLIDA 1	Examinatrice
K. BOUTEMAK	MCA	U. BLIDA 1	Examinatrice
K. HACHAMA	MCA	U.Khemis Miliana	Examineur
Y. ZOUAMBIA	MCA	U. Médéa	Examinatrice
H.BOUTOUMI	Professeur	U. BLIDA 1	Directeur de thèse

## ملخص

تعتبر الطبيعة مصدرا هاما للمركبات الفعالة بيولوجيا التي يمكن تعديلها كيميائيا لتحسين أنشطتها البيولوجية أو صناعة مواد فعالة جديدة. في هذا السياق، فإن الهدف الرئيسي لهذا العمل هو تركيب مواد آزوتية و/ أو أوكسجينية أو حتى كبريتية نشطة حيويًا لأغراض بيولوجية انطلاقًا من الزيوت الطيارة (العطرية) لأربعة نباتات جزائرية (الفيجل الجبلي، الشيح اليهودي، الكمون والكمون الصوفي) مكونة أساسيا من الكيتونات و الألدهيدات.

كشف التحليل الكيميائي للزيوت العطرية المستخلصة من الفيجل الجبلي بواسطة الكروماتوغرافيا الغازية عن هيمنة الكيتونات الأليفاتية الخطية المركبة من سلاسل ألكيل ذات أطوال مختلفة، حيث مثل ال-2-أنديكانون المكون الرئيسي بنسبة (67%)، من جهة أخرى تم فصل الكزانثوتوكسين من مستخلص هذه النبتة. أثبت التحليل الكيميائي للزيت العطري للشيح اليهودي أن البيبيريتون هو مكونه الرئيسي بمحتوى (86,48%). أما الألدهيدات فتمثلت الأكثرية المكونة للزيوت الطيارة المستخرجة من الكمون والكمون الصوفي بشكل رئيسي: 2-كارين-10-ال (25,91%)، الكومينالديهيد (21,60%) و البيريل الدهيد (48,01%) على التوالي.

في الجزء الثاني من العمل ، تم تركيب فاعلات بالسطح أنيونية طبيعية تنتمي إلى عائلة السلفونات (SHUS)، عن طريق تفاعل بيكبريتات الصوديوم مع (2-undecanone) ؛ وبنفس الطريقة تم تركيب مزيج من المواد الفعالة الخافضة للتوتر السطحي (MSHAS) مكونة من سلاسل ألكيل بأطوال مختلفة انطلاقًا من الزيت العطري للفيجل الجبلي ، وقد تم استخدام المادتين لاحقًا كمستحلبات. إن التأثير التآزري لهذا الأخير أعطاه أداء و كفاءة أفضل من SHUS. أظهرت هذه المواد الفعالة امتزازًا جيدًا في السطح البيئي بين الهواء والماء ، وقد تسبب هذا الامتزاز في انخفاض التوتر السطحي بين السطحين إلى 39,6 و 47,4 ميلي نيوتن.سم<sup>-1</sup> مع تركيز مذيلي حرج يقدر ب 0,8 و 1 ميلي مول/ل لـ MSHAS و SHUS على التوالي.

لقد أدى تفاعل الزيت العطري للشيح اليهودي مع خماسي سولفيد الفوسفور إلى تحويل البيبيريتون. المكون الرئيسي لهذا الزيت الأساسي إلى مشتقاته الثيوببيريتون و الثيوببيريتونيثول. أثبتت تتبع صنوانية (توتوميرية) المركبات المحصل عليها بواسطة مطيافية الأشعة المرئية و فوق البنفسجية ، مطيافية الأشعة تحت الحمراء و عن طريق الكروماتوغرافيا الغازية عن هيمنة شكل الثيون في الحالة الصلبة وسيادة شكل الثيول في المحلول.

تم تحويل الألدهيدات المكونة للزيوت الطيارة للكمون والكمون الصوفي بسهولة إلى ألدازينات متناظرة بفعل الهيدرازين أحادي الاماهة بوجود فائض من الألدهيد في وسط إيثانولي و في درجة حرارة الغرفة ، من ناحية أخرى تطلب الحصول على الكيتازينات وجود حمض الأسيتيك كمحفز تحت التسخين. في هذا السياق ، تم تحويل 2-أنديكانون إلى 2-أنديكانونين بعد 5 ساعات من التسخين ؛ لكن التفاعل على الكيتونات الحلقية كان أكثر صعوبة حيث أدى تسخين الزيت العطري للشيح اليهودي 24 ساعة إلى ارجاع البيبيريتون إلى ألكان وفقًا لتفاعل Wolf-Kishner. تسبب الاستقرار الكبير وموضع مجموعة الكربونيل في الفوروكومارين في تحويل الكزانثوتوكسين إلى هيدرازون فقط بعد 9 ساعات من التسخين.

من أجل تقييم تأثير الاستبدال على النشاط الميكروبيولوجي تم إجراء اختبارات مضادة للبكتيريا و الفطريات. أثبتت النتائج المحصل عليها تحسين فعالية الزيوت الطيارة والفوروكومارين كمضادات حيوية ضد جميع سلالات البكتيريا و الفطريات المختبرة إلى حد كبير بعد تعديل المركبات الأصلية بإدخال ذرات غير متجانسة جديدة ؛ تم تأكيد هذه النتائج عن طريق قياس التركيز المثبط الأدنى للمركبات التي تم اختبارها.

**الكلمات المفتاحية:** استخلاص، الزيوت الطيارة، مركبات الكربويل، تعديلات كيميائية، مؤثر سطحي، النشاط الميكروبيولوجي.

## Résumé

La nature est une source inépuisable de molécules bioactives qui peuvent être modifiées chimiquement dans le but d'améliorer ses propriétés biologiques. Dans ce contexte l'hémi-synthèse de nouvelles molécules bioactives azotées et/ou oxygénées voire soufrées à visée biologique à partir des huiles essentielles chémotypées cétones et aldéhydes, extraites à partir de quatre plantes Algériennes (*Ruta montana* L., *Artemisia judaica* L., *Cuminum cyminum* L. et l'*Ammodaucus leucotrichus*) est l'objectif principale du présents travail.

L'identification des huiles essentielles extraites par hydrodistillation par CPG/SM a révélé la prédominance des cétones aliphatiques linéaires avec des chaînes alkyles de différentes longueurs majoritairement le 2-undécanone (67%) dans l'HE de *Ruta montana* L.; l'HE d'*Artemisia judaica* L. a été identifiée comme chémotype à pipéritone avec une teneur de (86,48%); alors que le *cuminum cyminum* et l'*Ammodaucus leucotrichus* sont des chémotypes à aldéhydes, représentés principalement par: le 2-caréne-10-al (25,91%), le cuminaldéhyde (21,60%) et le périlaldéhydes (48,01%) respectivement.

Dans la deuxième partie du travail, l'hémi-synthèse d'un tensioactif anionique naturel, appartient à la famille des sulfonates utilisé ultérieurement comme émulsifiant H/E par action de l'hydrogénosulfite de sodium sur le 2-undécanone (SHUS) a été réalisée; de la même manière un tensioactif mixte constitué de chaînes alkyles de différentes longueurs (MSHAS) a été synthétisé à partir de l'HE de *Ruta montana* L., l'effet synergique de ce dernier lui a conféré une meilleure performance et efficacité d'adsorption à l'interface air / eau, cette adsorption a provoqué une diminution de la tension superficielle jusqu'à 39,6 et 47,4 mN.cm<sup>-1</sup> avec des CMC de 0,8 et 1 mM pour le MSHAS et le SHUS respectivement.

La thionation de l'HE d'*Artemisia judaica* L. sous l'action de P<sub>2</sub>S<sub>5</sub> a conduit à la conversion du pipéritone à ses dérivées pipérithione et pipérito-ene-thiol; le suivi de la tautomérie thione-thiol des produits obtenus par UV-vis, CG/SM, et IRTF a montré la prédominance de la forme thione en phase solide et de la forme thiol en solution.

Les dérivés carbonylés extraits ont montré différents aspects de réactivité vis-à-vis de l'attaque de l'hydrazine monohydrate. Dans ce contexte, les aldéhydes constituant les HES de cumin et de cumin velu ont été convertis rapidement en aldazines symétriques après agitation à température ambiante, d'un autre côté, et à cause de la stabilité des cétones, le 2-undécanone a été converti en undécanazine après 5h de chauffage en présence de l'acide acétique; la pipéritone a été réduite en p-menthène selon Wolf-Kishner après 24h, et la xanthoxine a été converti en hydrazone uniquement après 9h de chauffage.

Des tests antimicrobiens ont été effectués pour évaluer l'effet de substitution sur l'activité microbiologique. D'après les résultats obtenus une amélioration considérable de l'activité antimicrobienne des extraits volatils et non volatils a été observée en utilisant leurs analogues soufrés et azotés vis-à-vis toutes les souches testées; ces résultats ont été confirmés par la détermination de leurs concentrations minimales inhibitrices.

**Mots clés :** Extraction, Huiles essentielles, Composés carbonylés, Modifications chimiques, Tensioactif, Activité microbiologique.

## Abstract

Nature is an inexhaustible source of bioactive molecules which can be chemically modified in order to enhance their biological properties or to develop new applications. In this context, the hemi-synthesis of nitrogenous and / or oxygenated or even sulfur bioactive molecules from essential oils chemotypes ketones and aldehydes from four Algerian plants (*Ruta montana* L., *Artemisia judaica* L., *Cuminum cyminum* L. and *Ammodaucus leucotrichus*) is the main objective of this work.

The identification of the essential oils extracted by hydrodistillation and analyzed by GC / MS revealed the predominance of linear aliphatic ketones, mainly 2-undecanone (67%) in the essential oil of *Ruta montana* L.; on the other hand, the xanthotoxin has been isolated from its apolar extract. Piperitone has been revealed as the major constituent of the essential oil of *Artemisia judaica* with a content of (86.48%); *cuminum cyminum* and *Ammodaucus leucotrichus* are mainly consisted of aldehydes, represented in: 2-carene-10-al (25.91%), cuminaldehyde (21.60%) and perilaldehydes (48.01%) respectively.

In the second part, the hemi-synthesis of a natural linear alkyl sulfonate-sodium surfactant, subsequently used to stabilize Oil / Water emulsions by the reaction of the sodium bisulfite on 2-undecanone (SHUS) was carried out; in the same way a mixed surfactant system made up of alkyl chains of different lengths (MSHAS) was synthesized from the essential oil of *Ruta montana* L.; the synergistic effect of the latter gave it better performance and efficiency than the SHUS. The obtained surfactants showed a good adsorption at the air / water interface, which caused a decrease in surface tension between the two phases to 39.6 and 47.4 mN.Cm<sup>-1</sup> with CMCs of 0.8 and 1 mM for MSHAS and SHUS respectively.

The thionation of the *Artemisia judaica* L. essential oil using P<sub>2</sub>S<sub>5</sub> has led to the conversion of piperitone to its derivatives piperithione and pipérito-ene-thiol; the study of thione-thiol tautomerism carried out by UV-vis, FTIR and GC/MS showed the predominance of the thione form in solid phase and the thiol in solutions.

The carbonyl derivatives have shown different aspects of reactivity against the attack of hyrazine monohydrate. Aldehydes constituting the essential oils of cumin and hairy cumin were easily converted into symmetrical aldazines under stirring at room temperature; on the other hand, and due to the stability of ketones, 2-undecanone was converted to undecanazine after 5h of heating in the presence of acetic acid; piperitone was reduced to p-menthene according to the Wolf-Kishner reaction after 24 hours of reflux heating, and only xanthotoxin hydrazone was recovered after 9h of xanthotoxin heating.

Antimicrobial tests were carried out in order to evaluate the effect of substitution on microbiological activity. According to the obtained results, a considerable improvement in the antimicrobial activity of essential oils and furocoumarins was observed using their sulfur and nitrogenous analogues against all tested germs, these results were confirmed by the determination of their minimum inhibitory concentrations.

**Key words:** Extraction, Essential oils, Carbonyl compounds, Chemical Modifications, Surfactant, Microbiological Activity.

## Remerciements

Avant tout, mes remerciements infinis sont adressés à mon "Dieu ALLAH le Tout puissant" de m'avoir donné le courage et la santé durant toutes ces longues années d'études afin que je puisse arriver à ce stade.

*اللهم لك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك*

J'adresse mes remerciements particuliers à mon promoteur, le Professeur **BOUTOUMI Hocine**, que j'ai eu la chance de travailler sous sa direction.

Je n'arrive pas à trouver de mots suffisamment forts pour exprimer la reconnaissance que j'ai à l'égard de cet homme de sciences qui a initié et dirigé ce présent travail avec la rigueur scientifique, l'enthousiasme et la persévérance. C'est un homme que j'estime pour son honnêteté et son humanisme. Aussi grande que puisse être ma gratitude, soyez assurée qu'elle ne sera jamais à la hauteur de tous les efforts que vous avez déployés.

Merci pour votre confiance, votre patience, votre gentillesse, votre disponibilité permanente, votre soutien et vos conseils que vous m'avait prodigué tout au long de ce parcours de recherche. Aux tribulations diverses qui auraient pu compromettre la réalisation de ce travail, Vous avez toujours trouvé les solutions qui s'imposaient malgré toutes les difficultés et le manque de moyen. Soyez assurée que j'ai bénéficié de vous l'éducation qui doit animer un chercheur, ce que vous nous avez toujours fait savoir. Travailler avec vous est une expérience enrichissante, J'espère pouvoir encore relever de nombreux autres défis avec vous dans les prochaines années.

Qu'ALLAH vous protège, et je vous souhaite, la prospérité, et la bonne santé durant toute votre vie.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Madame, **Hadj Ziane Amel**. Professeur au département de génie des procédés de l'université de Blida 1. Veuillez bien madame recevoir mes remerciements pour le grand honneur que vous m'avez fait d'accepter de présider le jury de cette thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers Madame, **CHEMAT Zoubida**, Professeur au département de génie des procédés de l'université de Blida 1, ainsi que Madame **BOUTEMAK Khalida**, docteur à l'université de Blida 1 pour avoir accepté de juger ce travail.

Monsieur le docteur **Hachama Kamel**, de l'Université de Djilali Bounaama, Khemis Miliana, et madame **Zouambia Yamina**, docteur à l'université Yahia Fares de Médéa trouvent ici l'expression de mes plus vifs remerciements pour avoir accepté de participer au jury de soutenance et pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce travail

Une grande part de ma reconnaissance s'adresse à monsieur le Professeur **Khodja Mohamed**, qu'il trouve ici mes vives remerciements et ma gratitude pour son accueil au sein du laboratoire de chimie organique, son aide si précieux et pour son encouragement tout le long de mon parcours, ainsi que son équipe de recherche, Mr **LEUTTRECH Hichem** et Dr **CHEURFA Zahia**. Je vous remercie pour votre gentillesse, votre générosité, vos conseils et votre support durant mon parcours. Merci pour tout ce que vous m'avez appris. Travailler à vos côtés aura été un réel plaisir.

Je tiens aussi à remercier tous les enseignants, ingénieurs et techniciens du département de génie des procédés, de université de Blida 1, qui m'ont aidé, guidé et encouragé que je ne saurai assez remercier pour tout ce qu'ils ont fait.

Pour conclure, je souhaite adresser mes remerciements à l'ensemble du personnel du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques (CRAPC) de Bousmail et de Tlemcen où les analyses chromatographiques (CPG et CG/SM) ainsi que la Résonance Magnétique Nucléaire ont été effectuées, je cite spécialement Melle **Mokri Fatma Zohra** et Mr **Laichi Yacine** pour leurs aide et leurs gentillesse. De même, je tiens à remercier le personnel du laboratoire d'hygiène et sécurité de Blida où les analyses microbiologique ont été effectuées.

Enfin, Je tiens à exprimer mes sincères gratitudes à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, je leur adresse mes remerciements les plus sincères.

## **Dédicace**

Je dédie ce modeste travail à

### ***A mes très chers parents Sadok et Nadjya***

Aucun hommage ne saurait transmettre à votre juste valeur, l'amour, le dévouement et le respect que je porte pour vous.

Je vous dédie à mon tour cette thèse qui concrétise votre rêve le plus cher et qui n'est que le fruit de vos conseils et de vos encouragements.

Merci d'avoir été toujours là pour moi, un grand soutien tout au long de mes études, vous m'avez tout donné sans compter.

Puisse Dieu tout puissant vous protéger du mal, vous procurer longue vie, santé et bonheur afin que vous demeuriez le flambeau illuminant mon chemin, et pour que je puisse vous rendre un minimum de ce que je vous dois.

### ***A mes très chères frères et sœurs***

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon amour et mon attachement.

J'implore DIEU qu'il vous apporte bonheur, amour et que vos rêves se réalisent.

### ***A mon cher époux Hichem***

Tu m'as toujours soutenu, compris et réconforté

Merci pour ta tendresse, ton attention, ta patience et tes encouragements; Merci pour tout.

Puisse Dieu nous préserver du mal, nous combler de santé, de bonheur et nous procurer une longue vie pour le service de Dieu.

### ***A mes neveux et nièces***

Avoir un neveu est le plus beau cadeau qu'un frère puisse vous faire.

Vous avez apporté beaucoup de bonheur à notre famille.

Je vous aime.

*A ma chère grand-mère Houria*

Pour votre amour, vos prières et vos encouragements qui m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours. Je suis sûr que vous êtes fières de moi aujourd'hui.

*A la mémoire de mon grand père maternelle,*

*la mémoire de mes grand-parents paternel,*

Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur,

Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

*A mes chers beaux parents Mohamed et Ghaniya*

*A ma grande famille*

Mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins et cousines.

*A mes chères amis et collègues*

A toute la promotion Master MPOI 2016

En souvenir des moments merveilleux que nous avons passés et aux liens solides qui nous unissent.

Avec toute mon affection et estime, je vous souhaite beaucoup de réussite et de bonheur, autant dans votre vie professionnelle que privée.

Je prie Dieu pour que notre amitié et fraternité soient éternelles.

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

## LISTE DES ABREVIATIONS

**ATG** : Analyse thermographique.

**CAMEE** : Ester méthylique d'acide de l'huile essentielle de ricin.

**CAMEES** : Ethoxylate de sulfonate d'acide de l'huile essentielle de ricin

**CCM** : Chromatographie sur couche mince.

**C. cyminum** : Cuminum cyminum.

**CMC** : Concentration micellaire critique.

**CPG/SM** : Chromatographie en Phase Gazeuse couplé à la Spectroscopie de Masse.

**DLS** : Dynamic light Scattering (diffusion de la lumière dynamique).

**HE** : Huile essentielle.

**H/E** : Huile dans l'eau

**HLB** : Balance hydrophile lipophile.

**IRTF** : Infra Rouge à Transformer de Fourier

**MSHAS** : Mélange d'alkyl-2hydroxy-sulfonate de sodium

**NH-HE<sub>Al</sub>** : Azines de l'huile essentielle d'*Ammaudocus leucotrichus*.

**NH-HE<sub>Aj</sub>** : Azine de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* L.

**NH-HE<sub>Cc</sub>** : Azine de l'huile essentielle de *cuminum cyminum* L.

**NH-HE<sub>Rm</sub>** : Azine de l'huile essentielle de *Ruta montana* L.

**P<sub>f</sub>** : Point de fusion.

**R<sub>f</sub>** : Rapport frontal.

**S-HE<sub>AJ</sub>** : Huile essentielle d'*Artemisia judaica* thioné.

**SHUS** : Undecyl-2hydroxy-sulfonate de sodium.

**UV-vis** : Ultra violet- visible.

**W-K** : Wolf-Kishner.

**T °C**: Température par degré celsius.

**t** : Temps.

**Tr** : Temp de rétention.

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 2.1:</b> Composition chimique de l'HE de <i>Ruta montana</i> L. provenant d'Algérie. ...	27
<b>Tableau 2.2 :</b> Composition chimique de l'HE d' <i>Artemisia judaica</i> L. ....	30
<b>Tableau 2.3:</b> composition chimique de l'HE de <i>cuminum cyminum</i> L. ....	32
<b>Tableau 2.4:</b> composition chimique de l'HE d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .....	34
<b>Tableau 4.1:</b> Souches bactériennes. ....	52
<b>Tableau 4.2:</b> Souches fongiques. ....	52
<b>Tableau 4.3:</b> Produits chimiques utilisés. ....	53
<b>Tableau 5.1:</b> Propriétés physiques et organoleptiques de l'HE de <i>Ruta montana</i> L. ....	66
<b>Tableau 5.2:</b> Composition chimique de l'HE de <i>Ruta montana</i> L. ....	68
<b>Tableau 5.3:</b> Activité antimicrobienne de l'HE de <i>Ruta montana</i> L. ....	69
<b>Tableau 5.4:</b> caractéristiques physiques et organoleptiques de l'HE <sub>AJ</sub> .....	70
<b>Tableau 5.5:</b> Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Artemisia judaica</i> L. ....	72
<b>Tableau 5.6:</b> Activité antimicrobienne de l'HE d' <i>Artemisia judaica</i> L. ....	73
<b>Tableau 5.7:</b> Propriétés physiques et organoleptiques de l'HE de <i>Cuminum cyminum</i> L. ...	74
<b>Tableau 5.8:</b> Composition chimique de l'HE de cumin .....	76
<b>Tableau 5.9:</b> Activité antimicrobienne de l'HE de <i>Cuminum cyminum</i> L. ....	77
<b>Tableau 5.10:</b> Propriétés physiques et organoleptiques de l'HE d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> . ....	79
<b>Tableau 5.11:</b> Composition chimique de l'HE de cumin velu .....	81
<b>Tableau 5.12:</b> Activité antimicrobienne de l'HE d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> . ....	82
<b>Tableau 5.13:</b> Propriétés physiques des extraits de la rue des montagnes .....	83
<b>Tableau 5.14:</b> Screening phytochimique des extraits de la rue des montagnes .....	84
<b>Tableau 5.15:</b> Caractéristiques physiques et organoleptiques de Xanthotoxine.....	87
<b>Tableau 5.16:</b> Activité antimicrobienne du xanthotoxine. ....	89
<b>Tableau 5. 17:</b> Les molécules dégradées basé sur la masse moléculaire de différentes dégradations. ....	94
<b>Tableau 5.18:</b> propriétés d'adsorption des tensioactifs.....	96
<b>Tableau 5.19:</b> HLB des surfactants.....	97
<b>Tableau 5.20:</b> Caractéristiques physiques et organoleptiques de S-HE <sub>AJ</sub> . ....	102
<b>Tableau 5.21:</b> Composition chimique d'HE <sub>AJ</sub> et de S-HE <sub>AJ</sub> . ....	106
<b>Tableau 5.22:</b> Activité antimicrobienne de l'HE <sub>AJ</sub> et de S-HE <sub>AJ</sub> . ....	107
<b>Tableau 5.23:</b> Caractéristiques physiques et organoleptiques de NH-HE <sub>CC</sub> . ....	110
<b>Tableau 5.24:</b> Composition et structure chimique des produits obtenus à partir des huiles essentielles modifiées .....	115
<b>Tableau 5.25:</b> Caractéristiques physiques et organoleptiques de NH-HE <sub>Rm</sub> . ....	116
<b>Tableau 5.26:</b> Caractéristiques physiques et organoleptiques de NH-HE <sub>AJ</sub> .....	120
<b>Tableau 5.27:</b> Caractéristiques physiques et organoleptiques de NH-HE <sub>AJ</sub> .....	122
<b>Tableau 5.28:</b> Estimation des conversions des cétones et des aldéhydes étudiées. ....	125
<b>Tableau 5.29:</b> Activité antimicrobienne des HE natives (N) et modifié (M). ....	127
<b>Tableau 5.30:</b> Activité antimicrobienne du xanthotoxine native et modifiée.....	129

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.1</b> : Différents extraits aromatiques obtenus à partir de matières végétales. ....	10
<b>Figure 1.2</b> : Photos à gauche d'une Pelatrice et à droite d'une centrifugeuse séparatrice de l'essence de citrus des eaux résiduelles. ....	12
<b>Figure 1.3</b> : Enfleurage manuelle à froid. ....	12
<b>Figure 1.4</b> : Schéma de l'extraction par Flash Détente.....	14
<b>Figure 1.5</b> : Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore.....	15
<b>Figure 1.6</b> : Exemple d'huiles essentielles issues de différentes parties de la plante.....	16
<b>Figure 1.7</b> : Cellule sécrétrice d'HE dans un rhizome de gingembre [21].....	17
<b>Figure 1.8</b> : Analyse macroscopique et microscopique des poches à HE de citron. ....	17
<b>Figure 1.9</b> : Poches schizogènes de la feuille d'eucalyptus [21]. ....	18
<b>Figure 1.10</b> : Observations en microscopie optique des glandes peltées, sécrétant des huiles essentielles chez <i>Pelargonium</i> sp. (Gx 400) [22].....	18
<b>Figure 1.11</b> : Motif isoprène. ....	19
<b>Figure 1.12</b> : Structures chimiques de quelques monoterpènes présents dans les HEs. ....	20
<b>Figure 1.13</b> : Structures chimiques de quelques sesquiterpènes présent dans les HEs. ....	21
<b>Figure 1.14</b> : Structures chimiques de quelques composés aromatiques présents dans les HEs.....	21
<b>Figure 1.15</b> : Structures chimiques de composés divers présents dans le HEs.....	22
<b>Figure 1.16</b> : Structure chimique de la coumarine .....	23
<b>Figure 1.17</b> : Structures chimiques des furocoumarines.....	23
<b>Figure 1.18</b> : Structures chimiques de quelques composés soufrés présent dans les HEs. ....	24
<b>Figure 2.1</b> : <i>Ruta montana</i> L.....	25
<b>Figure 2.2</b> : Structure générale des alcaloïdes [36].....	26
<b>Figure 2.3</b> : Structure de quelques furocoumarines .....	27
<b>Figure 2.4</b> : <i>Artemisia Judaica</i> L. ....	28
<b>Figure 2.5</b> : Structure de base des flavonoïdes.....	29
<b>Figure 2.6</b> : <i>Cuminum cyminum</i> L. ....	31
<b>Figure 2.7</b> : <i>Ammodaucus leucotrichus</i> subsp. <i>leucotrichus</i> .....	33
<b>Figure 3.1</b> : Réactivité des composés carbonylés .....	36
<b>Figure 3.2</b> : Réaction de thionation de 2-undécanone. ....	36
<b>Figure 3.3</b> : Formes tautomères de thio-2-undécanone. ....	37
<b>Figure 3.4</b> : Thionation du camphre.....	37
<b>Figure 3.5</b> : Réaction de thionation du Citral et du Néral.....	37
<b>Figure 3.6</b> : Réaction de tautomérisation.....	38
<b>Figure 3.7</b> : Azines symétriques (1,3) et azines asymétriques (2,4) .....	39
<b>Figure 3.8</b> : Synthèse des azines asymétriques à partir des coumarines [76]. ....	40
<b>Figure 3.9</b> : Réaction globale de citralthiosemicarbazones. ....	40
<b>Figure 3.10</b> : Réaction globale de pipéritonethiosemicarbazones. ....	41
<b>Figure 3.11</b> : Réaction globale de citronellalthiosemicarbazones.....	41

<b>Figure 3.12:</b> Héli-synthèse de l'imine (1), du benzimidazole (2) et des benzodiazépines (3–4) du constituant principal de l'huile essentielle d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> [83].	42
<b>Figure 3.13:</b> Structure générale d'un tensioactif.	43
<b>Figure 3.14:</b> Tensioactifs dérivés du Sorbitol, Ester de Sorbitane et Polysorbates.	45
<b>Figure 3.15:</b> Structures possibles de différents esters de saccharose.	45
<b>Figure 3.16:</b> Les différents modes d'obtention de tensioactifs à base d'acides aminés [93].	46
<b>Figure 3.17:</b> Réactions de synthèse de l'acide gras de l'ester méthylique.	47
<b>Figure 3.18:</b> Réaction de synthèse de tensioactif.	47
<b>Figure 3.19:</b> CAMEES produit par le bisulfite de sodium.	48
<b>Figure 4.1:</b> Lieu de récolte de <i>Ruta montana</i> L.	49
<b>Figure 4.2:</b> Lieu de récolte d' <i>Artemisia judaica</i> L.	50
<b>Figure 4.3:</b> Lieu de récolte de <i>Cuminum cyminum</i> L.	50
<b>Figure 4.4:</b> Lieu de récolte d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	51
<b>Figure 4.5:</b> Réaction de séchage	54
<b>Figure 4.6:</b> Schéma de la méthode d'Aromatogramme.	62
<b>Figure 4.7:</b> Schéma de la méthode de détermination de la CMI.	63
<b>Figure 5.1:</b> Résumé graphique de l'extraction des HE.	64
<b>Figure 5.2:</b> Représentation des différents rendements en HE de <i>Ruta montana</i> L.	65
<b>Figure 5.3:</b> Chromatogramme de l'HE de <i>Ruta montana</i> L.	67
<b>Figure 5.4:</b> Représentation de l'activité antimicrobienne de l'HE de <i>Ruta montana</i> L.	69
<b>Figure 5.5:</b> Représentation des différents rendements en HE d' <i>Artemisia judaica</i> L.	70
<b>Figure 5.6:</b> Chromatogramme de l'HE d' <i>Artemisia judaica</i> L.	71
<b>Figure 5.7:</b> Représentation de l'activité antimicrobienne de l'HE d' <i>Artemisia judaica</i> L.	73
<b>Figure 5.8:</b> Représentation des différents rendements en HE de <i>Cuminum cyminum</i> L.	74
<b>Figure 5.9:</b> Chromatogramme de l'HE de cumin	75
<b>Figure 5.10:</b> Représentation de l'activité antimicrobienne de l'HE <sub>Cc</sub> .	78
<b>Figure 5.11:</b> Représentation des rendements en HE d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	78
<b>Figure 5.12:</b> Chromatogramme de l'HE de cumin velu	80
<b>Figure 5.13:</b> Représentation de l'activité antimicrobienne de l'HE d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .	82
<b>Figure 5.14:</b> Rendements des extraits de la rue des montagnes.	83
<b>Figure 5.15:</b> Résumé graphique de l'isolation du xanthotoxine.	85
<b>Figure 5.16:</b> Représentation des rendements en xanthotoxine selon le mois de récolte.	86
<b>Figure 5.17:</b> Spectre RMN HSQC du xanthotoxine.	88
<b>Figure 5.18:</b> Résumé graphique de l'hémisynthèse d'un tensioactif naturel.	90
<b>Figure 5.19:</b> Réaction d'hémisynthèse des surfactants.	91
<b>Figure 5.20:</b> Spectres IRTF de SHUS (---) et de 2-undécanone (—).	92
<b>Figure 5.21:</b> Spectre RMN HSQC de 2-hydroxyundécane-2-sulfonate de sodium.	93
<b>Figure 5.22:</b> Analyse thermographique de SHUS.	94
<b>Figure 5.23:</b> Représentation de la conductivité électrique ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) en fonction de la concentration (mM) de SHUS (○) et MSHAS (●).	95
<b>Figure 5.24:</b> Représentation de la tension superficielle ( $\text{mN}\cdot\text{m}^{-1}$ ) en fonction du logarithme de concentration de SHUS (○) et MSHAS (●).	96

<b>Figure 5.25:</b> Images montrant la stabilité des émulsions : a) 5mmol.L <sup>-1</sup> après 24h, b) 10 mmol.L <sup>-1</sup> après 24 h et c) 10 mmol.L <sup>-1</sup> après 72h.....	97
<b>Figure 5.26:</b> Photos microscopiques des émulsions préparées à base d'HE de <i>Ruta montana</i> (1%) et différentes concentrations des surfactants synthétisés.....	98
<b>Figure 5.27:</b> Profile de distribution de la taille des particules des émulsions préparées à base de 10 mM de SHUS (○) et de MSHAS (●). .....	98
<b>Figure 5.28 :</b> Représentation de la distribution de la taille des particules des émulsions indiquant un échantillon polydispersé (A); un échantillon monodispersé (B); un échantillon contenant une population de particules polydispersée (C); et un échantillon contenant une population de particules monodispersé (D).....	99
<b>Figure 5.29:</b> Profile d'évolution de la viscosité avec la contrainte de cisaillement des émulsions H/E (1%, v/v) avec 10 mM de SHUS (○) et MSHAS (●).....	100
<b>Figure 5.30:</b> Résumé graphique de la thionation de l'HE d' <i>Artemisia judaica</i> L.....	101
<b>Figure 5.31:</b> Spectres UV-vis de S-HE <sub>AJ</sub> dans le CS <sub>2</sub> à t= 0 (a), t = 2h (b), t = 4h (c) et t = 6h (d).....	102
<b>Figure 5.32:</b> Spectres UV-vis de l'HE <sub>AJ</sub> (—) et S-HE <sub>AJ</sub> (...). .....	103
<b>Figure 5.33:</b> Spectres IRTF de l'HE <sub>AJ</sub> (a) et de S-HE <sub>AJ</sub> (b). .....	104
<b>Figure 5.34:</b> Chromatogramme de S-HE <sub>AJ</sub> . .....	105
<b>Figure 5.35:</b> Réaction de thionation et l'équilibre thione-thiol de pipéritone. ....	106
<b>Figure 5.36:</b> Formes tautomères de (b).....	107
<b>Figure 5.37:</b> Résumé graphique de l'hémi-synthèse des azines symétrique. ....	109
<b>Figure 5.38:</b> Réaction de synthèse d'aldazines .....	110
<b>Figure 5.39:</b> Spectres UV-vis de l'HE <sub>CC</sub> (a), NH-HE <sub>CC</sub> (b), HE <sub>AI</sub> (c) et NH-HE <sub>AI</sub> (d).....	111
<b>Figure 5.40:</b> Spectres IRTF de l'HE <sub>CC</sub> (a) et NH-HE <sub>CC</sub> (b). .....	112
<b>Figure 5.41:</b> Spectres IRTF de l'HE <sub>AI</sub> (a) et NH-HE <sub>AI</sub> (b). .....	113
<b>Figure 5.42:</b> Chromatogramme de l'HE <sub>CC</sub> . .....	114
<b>Figure 5.43:</b> Chromatogramme de NH-HE <sub>AI</sub> . .....	114
<b>Figure 5.44:</b> Réaction d'hémi-synthèse de cétazines, n= 8 : 2-undécanone, n= 6-10 : <i>Ruta montana</i> L. ....	116
<b>Figure 5.45:</b> Spectres UV-vis de l'HE <sub>Rm</sub> (—) et 2-undécanazine (...). .....	117
<b>Figure 5.46:</b> Spectres IRTF de 2-undécanone (a) et 2-undécanazine (b).....	118
<b>Figure 5.47:</b> Chromatogramme de 2-undécanazine.....	119
<b>Figure 5.48:</b> Réduction de Wolff-Kishner du pipéritone.....	119
<b>Figure 5.49:</b> Spectres UV-vis de HE <sub>AJ</sub> (—) et NH-HE <sub>AJ</sub> (...). .....	120
<b>Figure 5.50:</b> Spectres IRTF de HE <sub>AJ</sub> (a) et NH-HE <sub>AJ</sub> (b).....	121
<b>Figure 5.51:</b> Réaction d'hémi-synthèse de xanthotoxine hydrazone.....	122
<b>Figure 5.52:</b> Spectres UV-vis du xanthotoxine (—) et de l'hydrazone (...). .....	122
<b>Figure 5.53:</b> Spectres IRTF de Xanthotoxine (a) et de xanthotoxine hydrazone (b).....	123
<b>Figure 5.54:</b> Spectre RMN <sup>1</sup> H du xanthotoxine hydrazone. ....	124
<b>Figure 5.55:</b> Mécanisme de la réaction de synthèse des hydrazones et des azines.....	125
<b>Figure 5.56:</b> Protonation de cétone.....	126
<b>Figure 5.57:</b> Mécanisme de réduction de Wolff Kishner.....	126

## Table des matières

RESUME	
REMERCIEMENTS	
LISTE DES ABBREVIATIONS, DES SYMBOLES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
INTRODUCTION .....	8
I - PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE 1 GÉNÉRALITÉ SUR LES HUILES ESSENTIELLES .....	10
1.1 Définition .....	10
1.2 Méthodes d'extraction.....	10
1.2.1 Techniques conventionnelles d'extraction.....	11
1.2.2 Extraction par des techniques innovantes .....	13
1.3 Localisation dans la plante .....	16
1.3.1 Les cellules sécrétrices isolées.....	16
1.3.2 Les poches sécrétrices.....	17
1.3.3 Les poils sécréteurs .....	18
1.3.4 Les canaux sécréteurs .....	18
1.4 Composition chimique .....	19
1.4.1 Les composés terpéniques .....	19
1.4.2 Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane .....	21
1.4.3 Les composés d'origine divers .....	22
1.4.4 Les coumarines .....	23
1.4.5 Les composés soufrés .....	24
1.5 Notion de chémotype .....	24
CHAPITRE 2 MONOGRAPHIE DES ESPÈCES ÉTUDIÉES .....	25
2.1 <i>Ruta montana</i> L.....	25
2.1.1 Description botanique .....	25
2.1.2 Systématique.....	26
2.1.3 Répartition géographique de la plante .....	26
2.1.4 Composition chimique .....	26
2.2 <i>Artemisia judaica</i> L.....	28
2.2.1 Description botanique .....	28

2.2.2	Systématique .....	28
2.2.3	Répartition géographique de la plante .....	29
2.2.4	Composition chimique .....	29
2.3	<i>Cuminum cyminum</i> .L .....	30
2.3.1	Description botanique .....	30
2.3.2	Systématique .....	31
2.3.3	Répartition géographique de la plante .....	31
2.3.4	Composition chimique .....	31
2.4	<i>Ammodaucus leucotrichus</i> sups <i>leucotrichus</i> .....	32
2.4.1	Description botanique .....	32
2.4.2	Systématique .....	33
2.4.3	Répartition géographique de la plante .....	33
2.4.4	Composition chimique .....	34
<b>CHAPITRE 3 HÉMI-SYNTHÈSE DE MOLÉCULES BIOACTIVE A PARTIR DE BIOMOLECULES.....</b>		<b>35</b>
3.1	Introduction .....	35
3.2	Réactivité des aldéhydes et cétones .....	35
3.3	Hémi-synthèse des composé soufrés.....	36
3.3.1	Thionation des huiles essentielles.....	36
3.4	Hémi-synthèse des composés azotés.....	38
3.4.1	Synthèse des azines symétriques et asymétriques .....	38
3.4.2	Hémi-Synthèse des Thiosemicarbazones Trypanocides à partir de trois huiles essentielles riches en composés carbonylés.....	40
3.4.3	Hémi-synthèse d'imine chirale, de benzimidazole et de Benzodiazépines à partir d'huile essentielle d' <i>Ammodaucus leucotrichus</i> .....	41
3.5	Hémi-synthèse des tensioactifs à partir des produits naturels.....	43
3.5.1	Les tensioactifs naturels.....	43
3.5.2	Système mixte.....	43
3.5.3	La synergie des mélanges de tensioactifs .....	44
3.5.4	Tensioactifs préparés à base d'une tête polaire naturelle .....	44
3.5.5	Tensioactifs préparés à base d'une queue hydrophobe naturelle.....	47
<b>II - PARTIE EXPERIMENTALE</b>		
<b>CHAPITRE 4 MATÉRIELS ET MÉTHODES.....</b>		<b>49</b>
4.1	Matériels.....	49

4.1.1	Matériels végétal.....	49
4.1.2	Matériels biologique .....	51
4.1.3	Produits chimiques.....	52
4.2	Méthodes.....	53
4.2.1	Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation .....	53
4.2.2	Caractéristiques organoleptiques .....	54
4.2.3	Détermination des indices physiques des huiles essentielles.....	54
4.2.4	Extraction des furocoumarines .....	55
4.2.5	Screening phytochimique .....	56
4.2.6	Modification chimique.....	57
4.2.7	Méthodes de caractérisation et d'analyses.....	59
4.2.8	Etude des propriétés des tensioactifs .....	59
4.2.9	Préparation des émulsions .....	57
4.2.10	Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles en milieu solide.....	62
CHAPITRE 5 RÉSULTATS ET DISCUSSION .....		64
5.1	Extraction des huiles essentielles .....	64
5.1.1	Introduction.....	64
5.1.2	Huile essentielle de <i>Ruta montana</i> L. ....	65
5.1.3	Huile essentielle d' <i>Artemisia judaïca</i> L.....	70
5.1.4	Huile essentielle de <i>Cuminum cyminum</i> L.....	74
5.1.5	Huile essentielle d' <i>Ammodaucus leucotrichus subsp. leucotrichus</i> .....	78
5.2	Extraction des furocoumarines à partir de la plante <i>Ruta montana</i> L.....	83
5.2.1	Rendement et propriétés des extraits .....	83
5.2.2	Etude phytochimique .....	83
5.2.3	Isolation du Xanthotoxine.....	85
5.3	Valorisation des huiles essentielles par hémi-synthèse.....	90
5.3.1	Hémi-synthèse d'un tensioactif naturel à partir de <i>Ruta montana</i> L. ....	90
5.3.2	Thionation de l'huile essentielle d' <i>Artemisia judaïca</i> L.....	101
5.3.3	Hémi-synthèse des azines symétriques à partir de biomolécules .....	109
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES .....		130
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE		
ANNEXES		

## INTRODUCTION

Les produits chimiques constituent la base de tout ce qui existe sur Terre, et la fabrication de la quasi-totalité des produits implique actuellement l'utilisation des substances dérivées du pétrole. De nos jours de nombreux facteurs économiques et environnementaux, comme l'instabilité du prix du pétrole brut et le coût des différentes étapes de fabrication ; ainsi que la faible biodégradabilité et la toxicité élevée de certains composés synthétiques ont favorisé la production de nouveaux produits d'origine naturels, surtout végétale dans la formulation des parfums [1], des pesticides [2], des tensioactifs [3] et surtout de molécules bioactives [4]. L'hémi-synthèse est un cas particulier de synthèse chimique, où la molécule de départ est issue directement de substances naturelles et correspond quasiment dans sa structure à la molécule que l'on souhaite produire. L'enjeu d'une hémi-synthèse est une légère modification afin de faire acquiescer à la molécule ciblée des propriétés qu'elle n'avait pas, ou la rendre plus assimilable pour un consommateur; l'exemple de médicament hémi-synthétique le plus connu, le plus courant et le plus ancien est l'aspirine (acide acétylsalicylique) synthétisé la première fois en 1897 à partir de l'acide salicylique isolé du Saule blanc [5]; beaucoup d'autres médicaments ont été hémi-synthétisés par la suite à partir des biomolécules extraites des plantes, comme le taxol qui a été hémi-synthétisé à partir de la 10-désacétylbaccatine, présent dans l'If européen et qui a été développé par la suite en tant que médicament anticancéreux [6].

Dans le but d'apporter une contribution à la valorisation du potentiel aromatique et médicinal Algérien, qui représente une source de richesse en biodiversité très importante, nous nous sommes intéressés dans le cadre du présent travail à une étude pluridisciplinaire, aux dimensions phytochimique et chimique mais aussi biologique, de quelques espèces de plantes poussant en Algérie. L'hémi-synthèse de molécules bioactives azotées et/ou oxygénées voir sulfurées à visée biologique à partir des huiles essentielles chénotypées cétone et aldéhyde est l'objectif principal de notre travail. Les huiles essentielles sont constituées de divers composés avec différents niveaux insaturés et des groupements fonctionnels, qui peuvent être isolés par distillation puis utilisés comme des substrats renouvelables pour des synthèses ciblées dans le but d'obtenir de nouvelles biomolécules. Notre choix s'est porté sur les plantes suivantes : *Ruta montana* L., *Artemisia judaica* L., *Cuminum cyminum* L. et *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur.

Le critère de sélection le plus important pour le choix de ces plantes est la composition chimique de ces huiles essentielles et leurs richesses en composés carbonylés (cétones et aldéhydes) [7-10], qui représentent le point de départ pour la mise au point de nouvelles structures plus complexes et plus actives. La polarisation de la double liaison carbonyle (C=O) rend désormais cette dernière sensible aux attaques nucléophiles, de plus l'existence de doublets non liants sur l'atome d'oxygène du groupement carbonyle confère aux dérivés carbonylés des propriétés basiques impliquées dans de multiples mécanismes.

Ce manuscrit s'articule autour de trois parties :

La première partie propose une mise au point bibliographique sur les différentes notions abordées dans ce travail : des généralités sur les huiles essentielles suivies par des données bibliographiques concernant les plantes étudiées ; l'intérêt des huiles essentielles en hémisynthèse et les différents travaux publiés dans ce domaine ont été présentés par la suite.

Dans la seconde partie, l'outil méthodologique et les modes opératoires utilisés dans cette étude seront développés tout au long de cette partie baptisée : matériel et méthodes.

Dans la troisième partie, les résultats obtenus lors de cette étude seront discuté en deux tranches complémentaires :

La première tranche est consacrée à l'extraction et l'évaluation des propriétés microbiologiques des huiles essentielles des espèces étudiées. Une étude physicochimique permettant l'établissement des compositions chimiques des huiles essentielles obtenues par les analyses chromatographiques, et spectroscopiques et la recherche de principes actifs (2-undécane, pipéritone, cuminaldéhyde et du périllaldéhyde) dans ces huiles essentielles.

Dans la deuxième tranche, nous aborderons le volet des essais de valorisation à la lumière des résultats de la première partie. Dans un premier temps, une valorisation par voie de synthèse organique par transformation des constituants majoritaires qui pourraient constituer de nouvelles molécules susceptibles de présenter des propriétés émulsifiantes et biologiques intéressantes, suivi d'une étude comparative de leurs propriétés spécifiques par rapport aux huiles essentielles natives.

Enfin, le manuscrit est achevé par une conclusion générale constituée des résultats pertinents et importants ainsi que des recommandations et des perspectives permettant la poursuite de ce travail dans le but de concrétiser les informations obtenus et d'élargir le domaine d'utilisation de ces nouveaux produits. En y ajoutant la liste des références bibliographiques consultées et les annexes renfermant les informations complémentaires sur ce travail.

## CHAPITRE 1 : GÉNÉRALITÉ SUR LES HUILES ESSENTIELLES

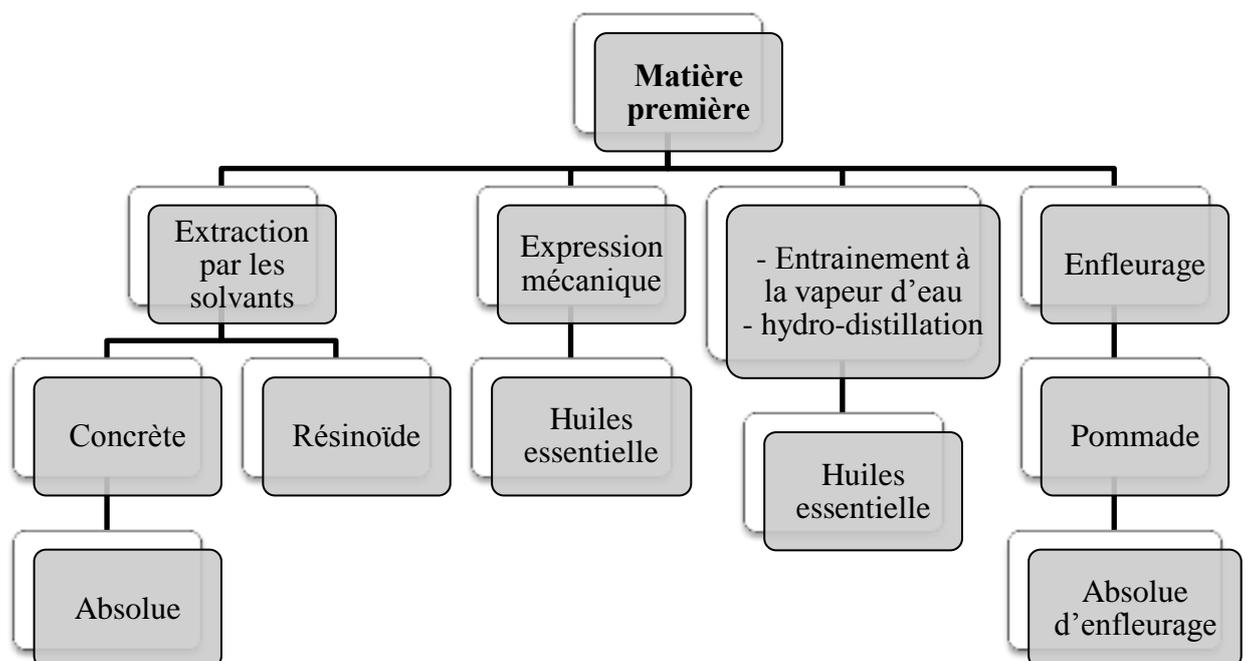
### 1.1 Définition

Les huiles essentielles et l'aromathérapie sont utilisées depuis des siècles par de nombreuses civilisations, remontant à la Chine et à l'Égypte anciennes.

Selon la norme AFNOR NT 75-006 (FEV 2006) « Une huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par un entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par des procédés mécaniques à partir de l'épisperme des Citrus ; l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ».

### 1.2 Méthodes d'extraction

Il existe quatre procédés de traitement des matières premières aromatiques : la distillation à la vapeur d'eau, l'expression mécanique, l'enfleurage et l'extraction par les solvants volatils. Pour l'usage aromathérapique, seuls les huiles essentielles obtenues par distillation et par expression mécanique satisfont aux normes d' « huiles essentielles aromatiques à usage thérapeutique » [11].



**Figure 1.1:** Différents extraits aromatiques obtenus à partir de matières végétales.

## 1.2.1 Techniques conventionnelles d'extraction

### 1.2.1.1 Hydrodistillation

L'hydro-distillation est l'un des procédés les plus simples et le plus ancien [12]. Il repose sur le fait que la plupart des matières odorantes peuvent être entraînées à la vapeur d'eau. Cette méthode est réalisée en 2 étapes :

- La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau et quelques morceaux de pierre ponce pour assurer le brassage de la solution. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. La condensation des vapeurs d'eau et d'huile essentielle se fait en passant dans un réfrigérant, où il est possible de distinguer 2 phases bien distinctes: l'huile essentielle en dessous, et l'eau aromatique (ou hydrolat) chargée d'espèces volatiles contenues dans la plante et ayant une densité plus élevée.
- Après avoir récupéré les 2 phases huile essentielle / hydrolat, dans une ampoule à décanter et laissé reposer le contenu quelques secondes jusqu'à ce que les deux phases soient bien distinctes, l'hydrolat est ensuite éliminé dans un premier flacon et il ne reste alors que récupéré l'huile essentielle restante dans l'ampoule à décanter [13].

### 1.2.1.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, les techniciens ont mis au point le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche.

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées.

### 1.2.1.3 Extraction par solvant volatil

Cette méthode est utilisée pour obtenir des huiles florales extrêmement parfumées. La plante et le solvant sont placés dans des cuves appelées extracteurs et chauffés ; on effectue ainsi plusieurs lavages successifs pour favoriser l'extraction des huiles par le solvant. La mixture ainsi obtenue est ensuite filtrée et devient ce que l'on appelle une «concrète», qui est alors mélangé à de l'alcool, refroidi et filtré. Après évaporation de l'alcool, reste l'huile

très parfumée, appelée «absolue» [14]. En fonction de la technique et du solvant utilisé on obtient: des hydrolysats, alcoolats, teintures, résinoïdes, oléorésines et des concrètes.

#### 1.2.1.4 Expression à froid

Cette technique d'extraction ne s'applique que pour l'obtention des essences d'agrumes (*Citrus spp.*) où les huiles essentielles sont contenues dans le zeste. Le procédé consiste à exercer sous un courant d'eau une action abrasive sur toute la surface du fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation [15]. La plupart des installations industrielles permettent en fait la récupération simultanée ou séquentielle des jus de fruits et de l'huile essentielle.



**Figure 1.2:** Photos à gauche d'une Pelatrice et à droite d'une centrifugeuse séparatrice de l'essence de citrus des eaux résiduelles.

#### 1.2.1.5 Enfleurage

La technique de l'enfleurage se rapproche de l'extraction par solvants volatils mais dans ce cas on utilise des graisses comme solvant, cette méthode repose sur le pouvoir des corps gras à absorber naturellement les odeurs. Elle peut être pratiquée, selon la différence de résistance des plantes à la chaleur, à chaud ou à froid, et on obtient ainsi des absolues de pommade [16].



**Figure 1.3:** Enfleurage manuelle à froid.

## 1.2.2 Extraction par des techniques innovantes

Plusieurs méthodes d'extraction qui répondent aux exigences actuelles en termes de durabilité, de respect de l'environnement, de vitesse et d'automatisation ont été développées.

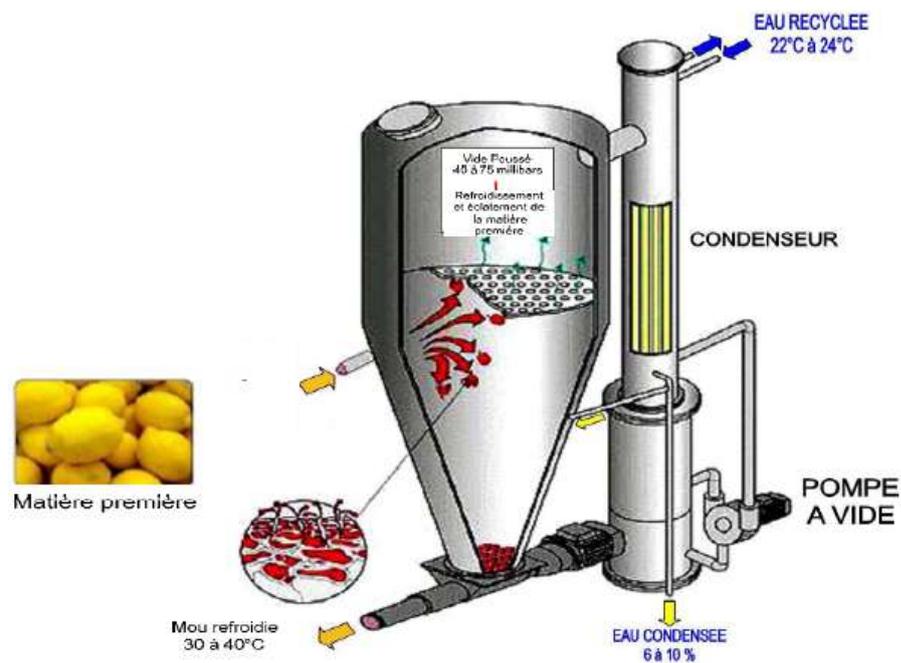
### 1.2.2.1 Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

C'est une nouvelle technologie utilisée industriellement qui fait encore l'objet de nombreuses recherches. L'originalité de cette technique repose sur le comportement du solvant utilisé sous des conditions particulières puisque au-delà d'un certain point, dit point critique, caractérisé par une température ( $T_c$ ) et une pression ( $P_c$ ), les corps purs se trouvent dans un état particulier dit supercritique. Dans leurs conditions d'utilisation, les fluides supercritiques ont une masse volumique voisine de celle des liquides, une viscosité proche de celle des gaz et une diffusivité intermédiaire ; leur polarité est modifiée par rapport à l'état liquide. Leur pouvoir dissolvant dépend fortement de la température et de la pression [17]. Le fluide supercritique le plus utilisé est le dioxyde de carbone [18,19]. Le CO<sub>2</sub> est thermodynamiquement stable, insipide, inodore et incolore, il est ininflammable mais peut être asphyxiant à haute concentration. Son point critique est de  $P_c = 73,6$  bar et  $T_c = 31,4$  °C. Dans cet état, l'extrait devient insoluble dans le CO<sub>2</sub> et précipite au fond de l'enceinte. Le gaz carbonique est ensuite liquéfié et peut être à nouveau utilisé. L'extrait récupéré ne contient aucune trace de solvant résiduel qui est facilement éliminé sous forme gazeuse. Le CO<sub>2</sub> est ensuite recyclé et ramené à l'état supercritique. Afin d'extraire les composés les plus volatils dont la composition est de type « *huiles essentielles* », on utilise des pressions d'extraction modérées (entre 80 et 100 bar). A des pressions plus élevées (200 à 280 bar), on extrait également des composés plus lourds dont la composition est de type « *concrètes* ».

### 1.2.2.2 Extraction par Détente Eclair (Flash-Détente)

La Flash-Détente brevetée par l'INRA en 1993, est un procédé multiusages, multi-effets [20]. Cette technique se réalise en deux étapes, la première consiste à étuver la matière végétale à 85 – 90°C par l'utilisation d'une vis à injection de vapeur. La seconde est une détente avec introduction brutale sous vide (environ 30 mbar) du matériel végétal (fruits, légumes, plantes, etc.). La température d'ébullition de l'eau dans ces conditions de vide se situe entre 27 et 30°C. Cette mise sous vide instantanée provoque donc l'évaporation

brutale d'une partie de l'eau de constitution du matériel végétal étuvé (environ 10 % de la masse humide initiale) et une chute brutale de la température du milieu. Cette perte d'eau instantanée engendre un broyage fin dû à la création de micro-canaux intercellulaires. Ce bouleversement et cette explosion cellulaire confèrent aux produits des qualités physico-chimiques, rhéologiques et organoleptiques bien particulières. Les eaux d'évaporation sont récupérées séparément par condensation : ces eaux, particulièrement riches en composés volatils aromatiques, sont appelées eaux aromatiques et pourront être réintroduites dans les produits après l'extraction par Flash- Détente [21].

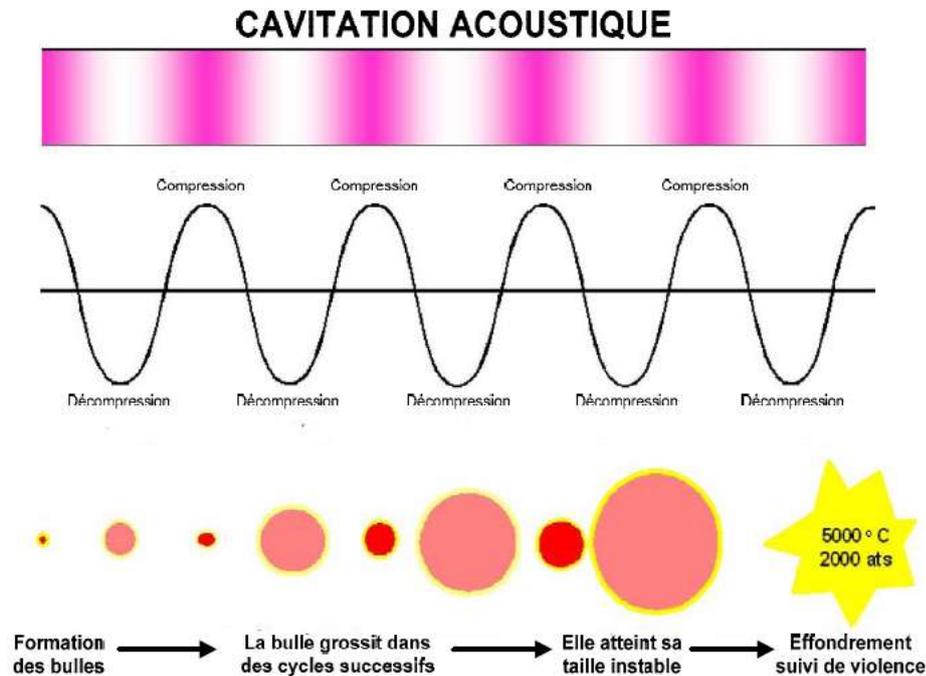


**Figure 1.4:** Schéma de l'extraction par Flash Détente

### 1.2.2.3 Extraction assistée par ultrasons

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons (20 – 100 kHz) est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant. Elle est facile à mettre en oeuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie [22]. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des composés aromatique ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique [23-25]. Pendant la sonication, les ondes sonores utilisées induisent des vibrations mécaniques dans le solide, le liquide ou le gaz, à travers

une succession de phases d'expansion et de compression, comme au cours d'un phénomène de cavitation. Les bulles, formées par l'expansion, vont se développer puis dégonfler. Si ces bulles se situent près d'une surface solide, alors le dégonflement sera asymétrique, ce qui produira des jets de liquide ultra-rapides (Figure 1.5).



**Figure 1.5:** Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore.

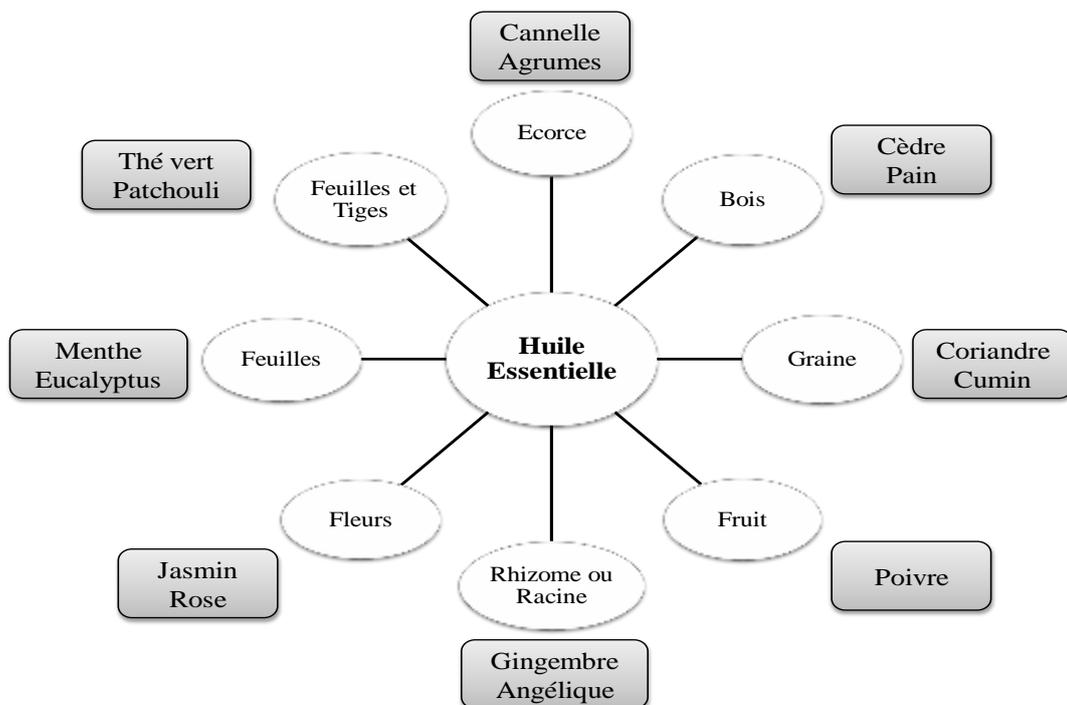
#### 1.2.2.4 Extraction assistée par Micro-ondes

Le transfert de chaleur par micro-ondes représente une propriété intéressante et est donc utilisé dans le domaine de l'extraction des huiles essentielles. En effet, contrairement à un chauffage classique, c'est le produit traité qui est la source de chaleur. Le dégagement de chaleur s'effectue de l'intérieur vers l'extérieur, tout le contraire d'un chauffage classique. Il n'est alors plus nécessaire de faire chauffer le récipient. Le matériel végétal est chauffé de manière directe. Cela est rendu possible par la rotation dipolaire. Le champ magnétique haute fréquence (2,45 GHz) appliqué dans le four micro-ondes permet un échauffement, un frottement entre les dipôles, qui conduit ensuite à un dégagement de chaleur. La méthode d'extraction par solvant assistée par micro-ondes a été mise au point par l'équipe canadienne de Paré et *al.* [26].

### 1.3 Localisation dans la plante

La synthèse des essences se fait au sein de différents tissus sécréteurs présents dans tous les organes de la plante : les fleurs (bergamotier), les feuilles (menthe poivrée), mais aussi dans des écorces (cannelier de Ceylan), des bois (santal), des racines (angélique), des rhizomes (gingembre), des fruits (badiane), ou encore des graines (muscade).

Ces tissus peuvent également produire des résines, de composition chimique proche des huiles essentielles et également insoluble dans l'eau, mais non volatiles.

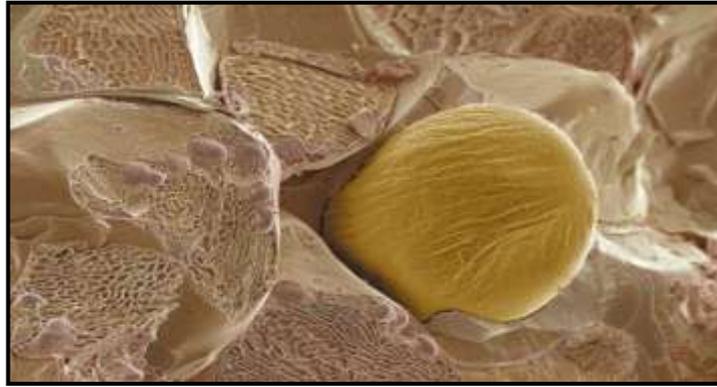


**Figure 1.6 :** Exemple d'huiles essentielles issues de différentes parties de la plante.

On retrouve 4 structures sécrétrices [27] :

#### 1.3.1 Les cellules sécrétrices isolées

Ces cellules peuvent se retrouver dans tous les tissus de la plante mais c'est au niveau de l'épiderme qu'elles sont les plus fréquentes, principalement au niveau des feuilles et des organes floraux. L'essence produite ne reste pas à l'intérieur de la cellule mais s'accumule généralement dans une vacuole extracytoplasmique. De telles cellules existent par exemple dans les organes floraux des *Rosaceae* ou les organes souterrains du gingembre (*Zingiber officinale* Roscoe).

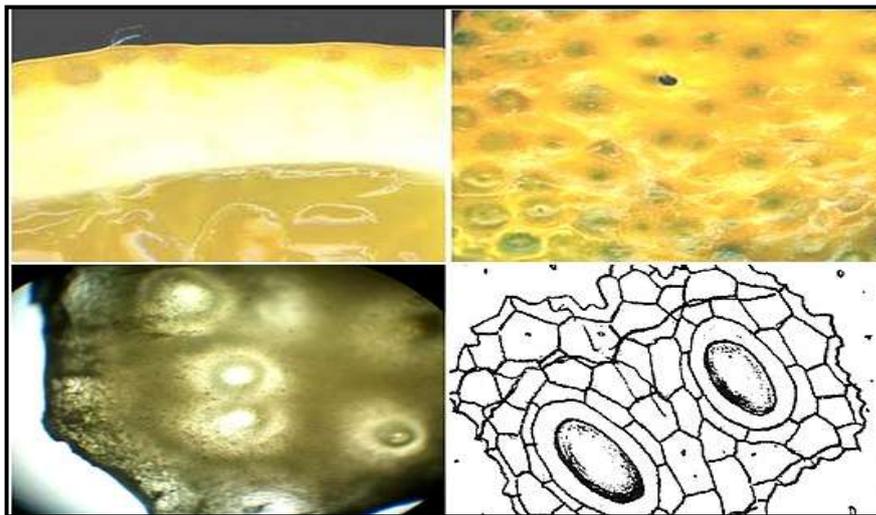


**Figure 1.7:** Cellule sécrétrice d'HE dans un rhizome de gingembre [27].

### 1.3.2 Les poches sécrétrices

#### 1.3.2.1 Les poches schisolysigènes

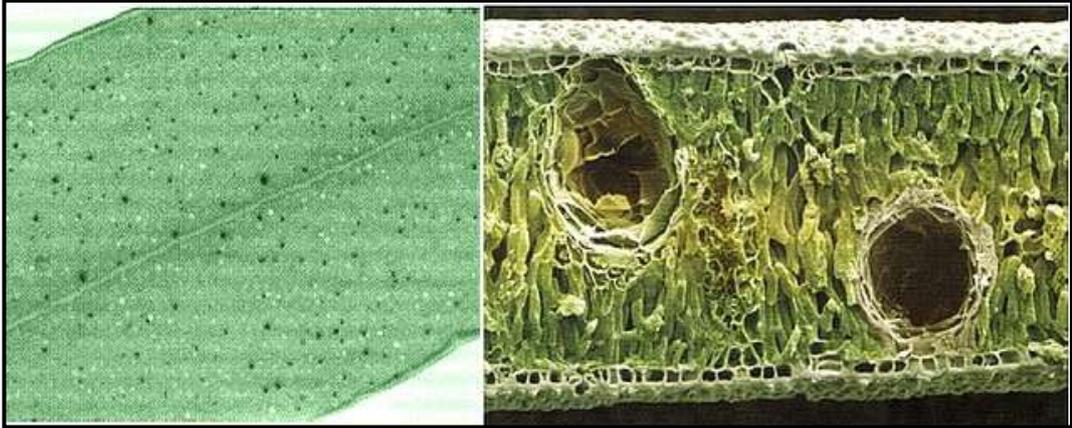
Les poches schisolysigènes se trouvent essentiellement chez les *Rutacées* et en particulier chez les *Citrus* où l'on retrouve le citron, la mandarine et l'orange. Ces poches sont aisément visibles au niveau de l'épiderme des fruits. La figure 1.8 montre une coupe de cet épiderme chez le citron.



**Figure 1.8:** Analyse macroscopique et microscopique des poches à HE de citron.

#### 1.3.2.2 Les poches schizogènes

Ce type des poches est très présent dans la famille des *Myrtacées* (*Melaleuca*, *Myrtus*...), mais également chez les *Rutacées*, les *Hypéricacées* et les *Pinacées*. A l'œil nu, on peut observer ces poches, ce sont les trous blancs dans les feuilles d'eucalyptus que l'on voit sur la photo de la figure 1.9.



**Figure 1.9:** Poches schizogènes de la feuille d'eucalyptus [27].

### 1.3.3 Les poils sécréteurs

Ce sont des structures très variables, uni- ou pluricellulaires, résultant de la différenciation de cellules épidermiques. Ils sont ancrés par une cellule dite basale, surmontée d'une ou plusieurs cellules sécrétrices. L'essence produite par le cytoplasme s'accumule entre la membrane et la cuticule. On retrouve ces structures dans de nombreuses familles comme les *Lamiaceae* ou les *Solanaceae*.



**Figure 1.10:** Observations en microscopie optique des glandes peltées, sécrétant des huiles essentielles chez *Pelargonium* sp.(Gx 400) [28].

### 1.3.4 Les canaux sécréteurs

Leur origine est proche de celle des poches schizogènes, mais ils viennent d'une file de cellules et non d'une unique cellule. En s'écartant, ces cellules ne forment plus une poche mais un canal qui recueille les sécrétions. Ces canaux sont par exemple présents dans le

fruit de l'anis (*Pimpinella anisum* L.). En effet, les organites participant à la sécrétion des essences restent très peu connus [29].

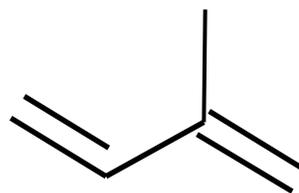
#### 1.4 Composition chimique

Les huiles essentielles sont des extraits végétaux aromatiques très complexes et très concentrés. Elles peuvent contenir plus d'une centaine de molécules aromatiques dans des proportions très variables. Ce sont ces différentes combinaisons de molécules qui donnent des propriétés si particulières aux huiles essentielles et qui sont responsables de leur odeur caractéristique.

##### 1.4.1 Les composés terpéniques

Les terpénoïdes forment un vaste groupe de produits naturels. Leurs structures sont très variables mais tous sont issus de l'assemblage de sous-unités isopréniques, issues du métabolisme du glucose. Leur classification est basée sur le nombre d'unités isoprène (molécule pentacarbonée) qui les compose : hémiterpènes ( $C_5$ ), monoterpènes ( $C_{10}$ ), sesquiterpènes ( $C_{15}$ ), diterpènes ( $C_{20}$ ), sesterpènes ( $C_{25}$ ), triterpènes ( $C_{30}$ ), caroténoïdes ( $C_{40}$ ) et les polyisoprènes ( $C_n$ ).

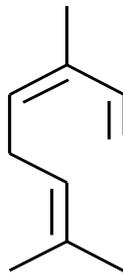
Le mot « terpène » vient de la térébenthine, oléorésine issue notamment de plantes du genre *Pinus* et qui contient certains hydrocarbures initialement nommés « terpènes », nom qui sera conservé pour désigner les molécules de structures voisines par la suite [30].



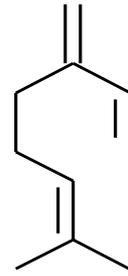
**Figure 1.11:** Motif isoprène.

En général, seuls les molécules de poids moléculaire faible, c'est-à-dire comprenant de 10 à 20 atomes de carbones, sont présents dans les huiles essentielles. Les composés plus lourds sont en effets difficilement entraînés lors de l'extraction. Les monoterpènes sont de loin les plus représentés, suivis des sesquiterpènes [31].

### Monoterpènes acycliques

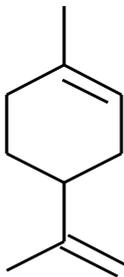


Ocimène (basilic)

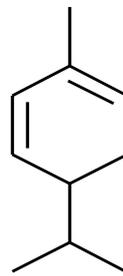


Myrcène (laurier)

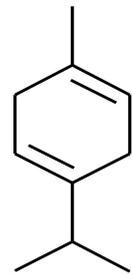
### Monoterpènes monocycliques



Limonène (citron)

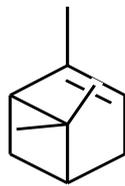


α-Phellandrène (angélique)

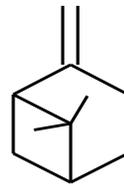


Terpinène (mandarine)

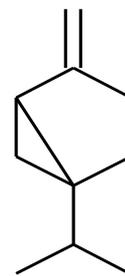
### Monoterpènes bicycliques



α-pinène (Thérébentine)



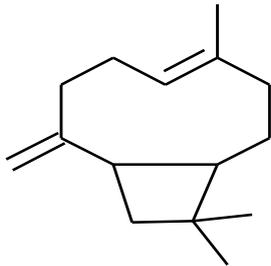
β-pinène



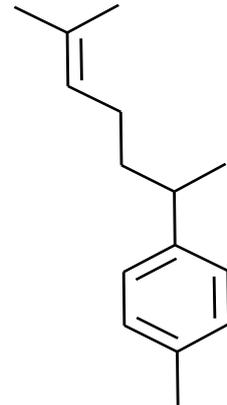
Sabinène (sabine)

**Figure 1.12:** Structures chimiques de quelques monoterpènes présents dans les HEs.

## Sesquiterpènes



Caryophyllène

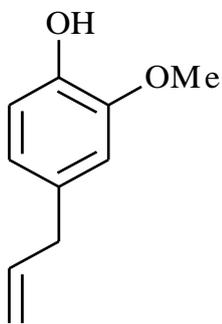
 $\alpha$  - Curcumene

**Figure 1.13:** Structures chimiques de quelques sesquiterpènes présent dans les HEs.

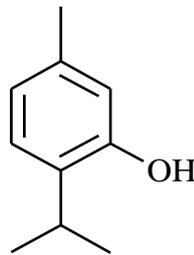
### 1.4.2 Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Ces composés sont bien moins fréquents que les terpènes et se retrouvent généralement en plus petite quantité dans les huiles essentielles. Il existe cependant des exceptions, comme l'eugénol qui compte pour 70 à 90% de la composition de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum* L.) [32, 33].

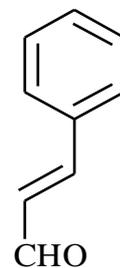
## Composés aromatiques



Eugénol (girofle)



Thymol (thym)



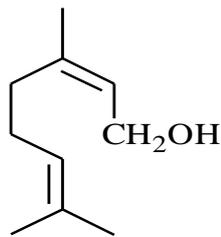
Aldéhyde cinamique (cannelle)

**Figure 1.14:** Structures chimiques de quelques composés aromatiques présents dans les HEs.

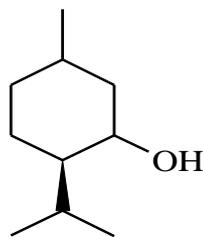
### 1.4.3 Les composés d'origine divers

Un certain nombre de composés de nature totalement différente se retrouvent dans les huiles essentielles. On trouve parmi ces composés des acides gras mais surtout des produits issus de la transformation de molécules non volatiles. Certains sont obtenus après dégradation des acides gras. La peroxydation des acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique aboutit à leur coupure et à la formation d'acides en C<sub>9</sub> ou C<sub>12</sub>, puis des alcools, aldéhydes et autres esters correspondants.

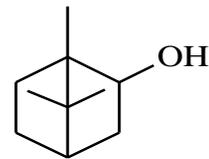
#### Alcools



Géraninol (Rose)

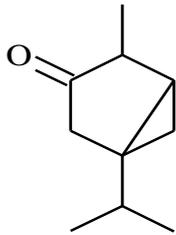


Menthol (menthe poivrée)

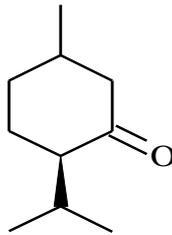


Bornéol (lavande aspic)

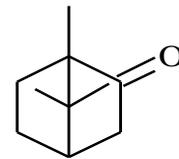
#### Cétones



Tuyone (thuya)

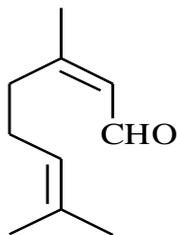


Menthone (menthe poivrée)

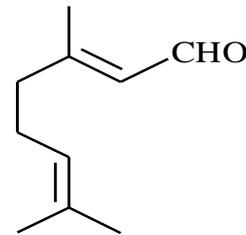


Camphre (camphrier)

#### Aldéhyde



Citral (citron, mélisse verveine)



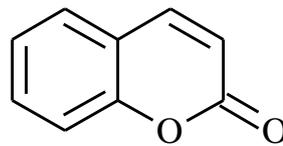
Néral

**Figure 1.15:** Structures chimiques de composés divers présents dans le HEs.

#### 1.4.4 Les coumarines

Les coumarines sont des molécules dérivées de la coumarine ou 1,2-benzopyrone, qui tire son nom d'un arbre de la famille des fabacées (papilionacées ou légumineuses) le coumarou, encore appelé gaiac de Cayenne (*dipteryx odorata*) qui pousse en Amérique centrale ou en Amérique du sud et dont la graine odorante appelée fève de tonka en contient.

Les coumarines ne se retrouvent que dans les HE de quelques familles de botaniques, citons: les *Apiaceae*, les zestes des *Rutaceae* et les *Asteraceae* [34, 35]. Ce sont de puissantes sédatives nerveuses, anticonvulsivantes, elles sont hypotensives et anticoagulantes.



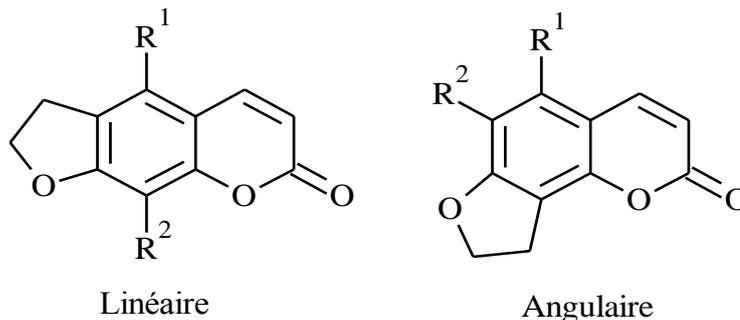
**Figure 1.16:** Structure chimique de la coumarine

##### 1.4.4.1 Les furocoumarines

Les furocoumarines, ou encore furanocoumarines, sont des molécules tricycliques, résultant de la condensation d'un cycle furane sur un noyau coumarine (noyau benzo-a-pyrone). Selon la position du noyau furane, on distingue les furanocoumarines linéaires (psoralène et dérivés) ou angulaires (angélicine et dérivés).

Les plantes qui contiennent les furocoumarines sont attribuées essentiellement dans 4 familles : *Rutaceae*, *Moraceae*, *Apiaceae* et *Leguminosae* [36].

Les furocoumarines sont des molécules photosensibilisants; elles sont anticonvulsives [37], antispasmodiques [38], hypotensives [39] et anticancéreuses [40].



**Figure 1.17:** Structures chimiques des furocoumarines.

#### 1.4.5 Les composés soufrés

Relativement rares dans les HE, ces composés sont l'apanage d'un petit nombre de famille botanique : on les rencontre en quantité notable dans quelques *Apiaceae* (genre *Ferula*) [41], dans les plantes de la famille des *Liliaceae* ainsi que chez les *Brassicaceae*. [42] Ce sont en général des anti-infectieux efficaces, mais ils sont fortement dermocaustiques.



Allylpropyle disulfide (ail)



Diallyle disulfide (oignon)

**Figure 1.18:** Structures chimiques de quelques composés soufrés présent dans les HEs.

#### 1.5 Notion de chémotype

Les Huiles Essentielles ChemoTypées sont une forme de classification chimique, botanique et biologique de la molécule présente en majorité dans une huile essentielle. Cinq chémotypes d'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* (Lamiaceae) ont été identifiés et classés comme suit en fonction de leurs principaux composants: type Estragole; type linalool / estragole; type méthyleugénol; type méthyleugénol / t-anéthole; type tanethole. Les expériences microbiologiques *in vitro* ont révélé que uniquement le méthyleugénol et méthyleugénol / t-anéthole étaient actifs contre les champignons et les bactéries testés [43]. Il est donc préférable de choisir une huile essentielle chémotypé lorsqu'on utilise les huiles essentielles en thérapeutique.

## CHAPITRE 2

### MONOGRAPHIE DES ESPÈCES ÉTUDIÉES

#### 2.1 *Ruta montana* L.

##### 2.1.1 Description botanique

*Ruta* vient du grec « rhyté » qui signifie sauvé, prévenir, ou de « reô » qui signifie qui coule faisant certainement référence à ses vertus emménagogues.

La rue des montagnes (synonymes : *Ruta legitima* Jacq. ; *Ruta tenuifolia* Gouan) ou bonne rue [44], appelée vulgairement en Algérie : *fidjlet el-djbel* ou *Fidjela*, a une odeur fétide très intense [45]. C'est une plante herbacée vivace, appartenant à la famille des *Rutacées*. Plante annuelle (Figure 2.1) qui fleurie de juin à septembre, les feuilles sont glauques de couleur verte plus ou moins jaunâtres, sa tige est grêle, ses feuilles sont finement découpées en segments linéaire et ses fleurs plus petite de 5-6 mm à pétales denticulées sur les marges très brièvement pédicellées. Fruits aigus acuminés de 6 à 9 mm en grappe fructifères étalées, leur saveur est amère, herbacée, acre. En médecine elle a des vertus emménagogue, antispasmodique, antiépileptique, vermifuge et sudorifique [46].



**Figure 2.1:** *Ruta montana* L.

#### **Classification**

**Nom scientifique :** *Ruta montana* L.

**Nom commun :** Rue des montagnes (Français) ; Aourmi (Berber) ; fidjlet el-djbel (Arabe).

### 2.1.2 Systématique

Règne : *Plantea*.

Ordre : *Spindales (Rutales)*

Sous-règne : *Tracheobionata*.

Famille : *Rutaceae*

Division : *Magnoliophyta*.

Genre : *Ruta* L.

Classe : *Magnoliopsidae*.

Espèce : *Ruta montana* L.

Sous-classe : *Rosidae*.

### 2.1.3 Répartition géographique de la plante

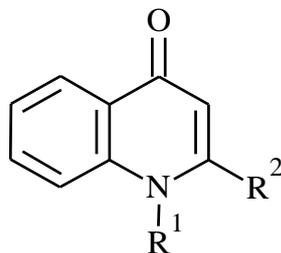
C'est une plante herbacée vivace, originaire de la région méditerranéenne, se trouve sur les coteaux arides et dans les endroits secs et pierreux de la région méditerranéenne [45].

### 2.1.4 Composition chimique

*Ruta montana* L. est une source riche en métabolites secondaires importants. Plusieurs études réalisées sur la plante ont clairement indiqué que son utilisation en thérapeutique était justifiée en raison de sa composition. Le screening phytochimique des différentes parties de *Ruta montana* a révélé la présence essentiellement :

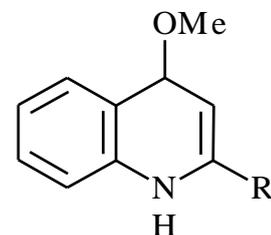
- **Des alcaloïdes :**

Les alcaloïdes ont été détecté avec environ une teneur moyenne de 0,4 à 1,4% ; avec principalement (les quinoline alcaloïdes, les furoquinoline alcaloïdes, les furoquinoline alcaloïdes et les quinazoline alcaloïdes) [47].



R<sup>1</sup>: H, Me

R<sup>2</sup>: (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CO-CH<sub>3</sub>; (CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-CO-CH<sub>3</sub>

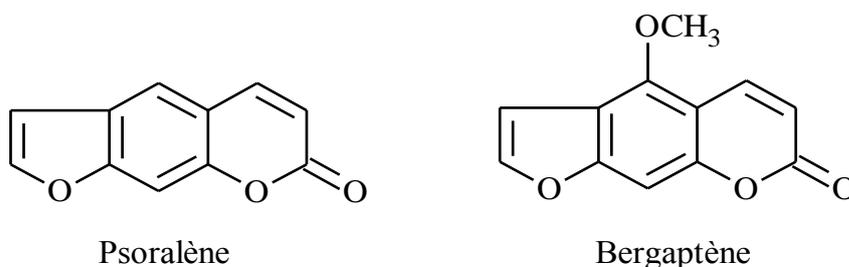


R: (CH<sub>2</sub>)<sub>7</sub>-CO-CH<sub>3</sub>

**Figure 2.2:** Structure générale des alcaloïdes [47]

- **Des coumarines :**

Quelque furocoumarines comme : (xanthoxine, bergaptène, chalepénine, isopimpinelline, et le psoralène), ainsi que des coumarines glucosidiques (la rutarensine, et la daphnorétine) ont été détecté dans les extraits de cette plante [48, 49].



**Figure 2.3:** Structure de quelques furocoumarines

- **Des huiles essentielles :**

*Ruta montana* L., est une plante aromatique largement exploitée pour ces huiles essentielles. La composition chimique ainsi que le rendement des huiles essentielles de cette espèce varie avec le lieu et la période de récolte (tableau 2.1) ; il a été rapporté que l'huile essentielle provenant de Tipaza a été caractérisée par 84% de cétones aliphatiques avec des chaînes alkyles de C<sub>6</sub>-C<sub>13</sub>, majoritairement le 2-undécanone avec 67% [50], ce dernier était le plus abondant dans les huiles essentielles récoltées en Tunisie (86,7%), au Maroc (63,97%) et en Turquie (84,20%) [51-53]. Il a été rapporté que les plus grandes teneurs en 2-undécanone ont été obtenues à partir de la rue des montagnes récoltée au moment de floraison (Juin-Septembre), où l'HE de cette plante récoltée à la montagne de Tessala a révélé le 2-undécanone comme composé majoritaire avec des teneurs de 20,9 % au printemps, 70,1% en été et 61,1 % en automne [54].

**Tableau 2.1:** Composition chimique de l'HE de *Ruta montana* L. provenant d'Algérie.

Nom du composé	Structure	Teneur en %		
		Médéa [7]	Constantine [55]	Blida [56]
2-nonanone		0,1	0,67	2,11
2-décanone		3,3	0,77	5,36
2-undécanone		94	37,74	71,37
2-dodécanone		1	0,21	8,08
2-tridécanone		0,2	-	10,47

## 2.2 *Artemisia judaica* L.

### 2.2.1 Description botanique

C'est un semi-arbuste *vivace* apparaissant parfois comme une herbe, densément ramifié, entre 50 à 80 cm de haut. Il forme de grosses touffes vertes bleutées (Figure 2.4). Les tiges sont plus ou moins ligneuses. Il a des capitules jaunes bombés, jaunes pâles, assez grosses. Les feuilles sont petites, alternes, sessiles et disséquées, densément couvertes de poils blanchâtres fines qui donnent à la plante un aspect argenté. Les fleurs sont groupées en jaune pâle, discoïdes, têtes hémisphériques 5-10 mm de diamètre, entourées de bractées laineux et contenant 10 à 20 fleurons. Les fruits sont des akènes petits ne dépassant pas 5 mm en taille. Le feuillage de la plante produit une odeur agréable quand on les écrase. Il fleurit au début du printemps [46].



**Figure 2.4:** *Artemisia Judaica* L.

### 2.2.2 Systématique

D'après Quezel et Santa (1963) et Dupont (2004) [46, 57] la classification qu'occupe l'*Artemisia judaica* L. ssp. *sahariensis* est la suivante:

**Embranchement:** Phanérogames ou Spermaphytes.

**Sous-embranchement:** Angiospermes.

**Classe:** Eudicots.

**Sous classe:** Asteridées

**Ordre:** Asterales.

**Famille:** Astéracées.

**Genre:** *Artemisia*.

**Espèce:** *Artemisia judaica* L

**Sous espèce:** *Artemisia judaica* L ssp. *Sahariensis*.

### Noms vernaculaires:

- **Nom scientifique:** *Artemisia judaïca* L ssp. *sahariensis*
- **En Targui:** téharagélé
- **En Arabe:** Chouihiya, baatharam
- **En Français:** Armoise de Judée

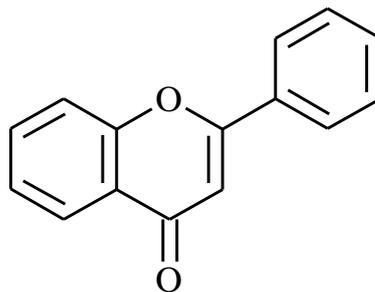
### 2.2.3 Répartition géographique de la plante

L'*Artemisia judaïca* L. se développe largement dans le désert du sud de l'Algérie, en Egypte (désert et côte) et au Moyen-Orient (péninsule du Sinaï, Jordanie et Arabie saoudite [46, 58, 59]. Elle est répandue au Sahara Oriental, très présente au Sahara Central (Elle pousse en masse à Tamanrasset et à In-Amenas : villes situées à 1900 km au sud d'Alger), mais elle se fait plus rare dans l'Est du Sahara septentrionale [59, 60].

Au Sahara central, l'*Artemisia judaïca* L. subsp. *Sahariensis* pousse dans la chaîne montagneuse du Hoggar de 1 200 à 1 800 mètres d'altitude. Elle a une très forte odeur qui embaume les lieux et se reconnaît parfois à plusieurs kilomètres. Elle est l'une des 11 espèces représentantes du genre *Artemisia* L. en Algérie où elle était connue chez les Touaregs sous le nom berbère « Teherégélé » [60, 46, 59]. Ce petit arbuste se développe dans des conditions désertiques avec une moyenne de 100 mm pluie par an. Dans le Tassili, il ne pousse pas au-dessus de 1800 m. L'*Artemisia judaïca* L. est rencontrée dans les lits sablonneux et sablonneux- limoneux des oueds dans l'étagetropicale, elle monte parfois jusqu'à l'étage méditerranéen inférieur [60, 46, 59].

### 2.2.4 Composition chimique

L'analyse phytochimique de cette plante a montré sa richesse en flavonoïde et en lactones sesquiterpènes [61, 62].

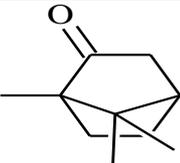
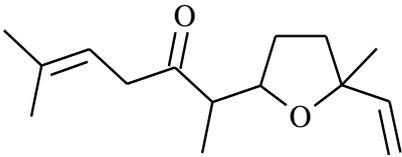
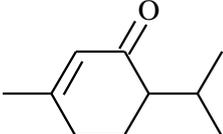


**Figure 2.5:** Structure de base des flavonoïdes.

- **Les huiles essentielles**

L'analyse chimique de l'huile d'*Artemisia judaica* L. ssp. *Saharensis* a fait l'objet de plusieurs travaux permettant d'identifier les différents types chimiques constituant l'HE. Des travaux réalisés en Egypte [63], en Jordanie [64] et en Arabie Saoudite [65] ont montré la richesse de cette HE en pipéritone et en dérivés de cinnamate. En Algérie, le pipéritone a été révélé comme composé majoritaire de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* avec des teneurs très élevées, d'autres cétones comme (le camphre et le davanone) ont été détectés en faibles teneurs [66,67], les teneurs en pipéritone varient avec la période de récolte, il a été révélé que les teneurs les plus élevées en pipéritone ont été obtenues à partir de la plante récoltée au stade de croissance végétative qu'au stade de floraison (Tableau 2.2).

**Tableau 2.2:** Composition chimique de l'HE d'*Artemisia judaica* L.

Nom du composé	Structure	Teneur en %			
		croissance végétative [67, 8]		Floraison [64, 68]	
Camphre		-	-	0,19	0,6
Davanone		-	-	12,58	-
Pipéritone		72,68	71,1	65,88	61,9

### 2.3 *Cuminum cyminum*.L

#### 2.3.1 Description botanique

Le cumin (*Cuminum cyminum* L.) est une plante à fleurs annuelle herbacée appartenant à la famille des Apiacées, avec une tige mince et ramifiée de 20 à 30 cm de hauteur, des feuilles de 5 à 10 cm de longueur, pennées ou bipennées, en forme de folioles filiformes et des petites fleurs blanches ou roses portées en ombelles. Le fruit est un achène latéral, fusiforme ou ovoïde, de 4 à 5 mm de longueur contenant une seule graine [69].



**Figure 2.6:** *Cuminum cyminum* L.

### 2.3.2 Systematique

Ordre : *Apiales*

Classe : *Magnoliopsida*

Famille : *Apiaceae*

Sous-classe : *Rosidae*

Règne : *Plantae*

Nom : cumin blanc, cumin ou même  
sillon

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

### 2.3.3 Répartition géographique de la plante

Le cumin est originaire d'Égypte, du Turkistan et de l'est de la Méditerranée, mais il est cultivé en Iran, en Chine, en Inde, au Maroc, dans le sud de la Russie, au Japon, en Indonésie, en Algérie et en Turquie [69].

### 2.3.4 Composition chimique

Les graines de cumin contiennent approximativement 10% d'huile fixe, de protéine, de la cellulose, des sucres, des éléments minéraux et des huiles volatiles (1-5%) avec une odeur caractéristique de la plante, cette odeur et faveur est du principalement aux aldéhydes présent [70].

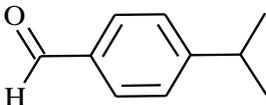
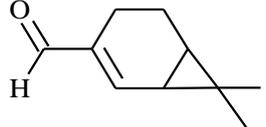
- **Les huiles fixes**

Le rendement en huile des graines de *Cuminum cyminum* L. extraite par solvant était de 18,7%. Cette huile est riche en hydrocarbures 1%, esters de cire 1%, esters de stérols 25%, triglycérides 55%, 1,3 diglycérides 1%, 1,2 diglycérides 1%, monoglycérides 2%, acides gras libres 10%, phosphatidyl-éthanolamines 2,0 %, phosphatidylcholine 1,2%, lysophosphatidyl éthanolamines 0,6% et en phosphatidyinositol 0,2%. La composition en acides gras de toutes les classes de lipides neutres et polaires a été déterminée par l'application de la chromatographie sur couche mince, en phase gazeuse et liquide. L'huile est considérée comme une source de marchandises d'acide pétrosélinique (51,7%) dans la composition en acides gras. La gamme des acides gras a été trouvée de C<sub>10</sub> à C<sub>20</sub> [71].

- **Les huiles essentielles :**

L'étude de la composition chimique de l'huile de graines de cumin provenant d'Algérie, de la Tunisie, du Mexique et de l'Iran a montré la présence des hydrocarbures terpéniques, principalement représentés par le  $\beta$ -pinène, le  $\gamma$ -terpinène et p-cymène, des alcools et des aldéhydes ; le cuminaldéhyde a été révélé en grandes teneurs surtout dans l'HE de graines de cumin provenant d'Algérie et de la Tunisie (tableau 2.3) [9, 72-74].

**Tableau 2.3:** composition chimique de l'HE de *cuminum cyminum* L.

Nom du composé	Structure	Teneur en %			
		[9]	[72]	[73]	[74]
Cuminaldéhyde		65,98	39,48	22,03	19-21
2-caréne-10-al		-	7,93	12,89	1-2

## 2.4 *Ammodaucus leucotrichus* sups *leucotrichus*

### 2.4.1 Description botanique

Petite plante annuelle glabre à tiges dressées, rameuses, finement striées, feuilles très divisées à lanières étroites, un peu charnues, ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très divisées [75]; fleurs blanches, toutes égales. Méricarpes allongés 6-9 x 4-5mm, à côtes

secondaires couvertes de longs poils soyeux très denses, crépus, jaune roux à la base, puis blancs et longs de 8-10mm. Cette plante est très appréciée et ramassée, ce qui tend à la raréfier. C'est une plante à très forte odeur d'anis [46].

#### 2.4.2 Systématique

**Embranchement :** *Magnoliophyta*

**Sous ordre :** *Aralianae*

**Classe :** *Rosopsida*

**Famille :** *Apiaceae*

**Sous-classe :** *Cornidae*

**Genre :** *Ammodaucus*

**Ordre :** *Araliales*

**Espèce :** *leucotrichus* [46].

#### **Appellations :**

Nom Arabe : El mesoufa- El kemoun el soufi.

Nom Berbère : Akaman.

Nom Français : cumin velu, cumin de sahara.

Nom anglais: Hairy cumin.

Nom vernaculaire: Nessoufa-Moudrayga [76].



**Figure 2.7:** *Ammodaucus leucotrichus* subsp. *leucotrichus*

#### 2.4.3 Répartition géographique de la plante

La distribution entière est basée au nord de l'Afrique (Algérie, Maroc, Tunisie, Libye, elle s'étend jusqu'à l'Égypte et l'Afrique tropicale) [77]. Elle est assez commune dans tout le pâturage désertique.

#### 2.4.4 Composition chimique

Selon des études récente en utilisant des réactions colorimétriques ; les flavonoïdes, les tanins condensés et hydrolysables, les coumarines, les alcaloïdes, et les terpénoïdes ont été trouvés dans l'extrait aqueux d'*Ammodaucus leucotrichus* algérien obtenu par décoction et dans l'extrait hydrométhanolique [78].

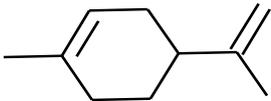
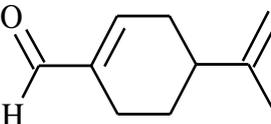
Les résultats des études des extraits hydroéthanoliques concernant leurs composés phénoliques par HPLC-DAD-ESI / MSn indiquent un contenu élevé des glucides (glucose et saccharose) et des niveaux significatifs de protéines et de minéraux. L'acide malique était le principal acide organique aux côtés de l' $\alpha$ -tocophérol, et MUFA. Les dérivés flavonoïdes étaient le groupe le plus abondant, avec principalement la lutéoline-O-(malonylglucoside) [79].

- **Les huiles essentielles**

La séparation des huiles essentielles à partir de la plante (fruit) d'*Ammodaucus leucotrichus* par hydrodistillation, et l'identification de sa composition chimique par la chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectroscopie de masse a montré la présence des monoterpènes et des sesquiterpènes ainsi que d'autres composants.

Une étude comparative entre différents échantillons de fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* récolté à différentes régions du désert Algérien et du Maroc représenté dans le tableau 2.4, a montré la prédominance du périllaldéhyde et du limonène avec des teneurs de (58,3 - 88,72%) et de (8,26% - 26,99%) respectivement [10, 71, 80].

**Tableau 2.4:** composition chimique de l'HE d'*Ammodaucus leucotrichus*

Nom du composé	Structure	Teneur en %			
		[10] Sude d'Algérie	[81] Ghardaya Algérie	[80] Mkaimima Maroc	[80] El galta Maroc
Limonène		26,99	23,33	16,62	8,26
Périllaldéhyde		64,66	58,3	69,88	88,72

## CHAPITRE 3

### HÉMI-SYNTHÈSE DE MOLÉCULES BIOACTIVE A PARTIR DE BIOMOLECULES

#### 3.1 Introduction

La recherche de nouvelles molécules d'origine naturelle, biodégradables et douées d'activités physiques, biologiques et chimiques est un défi nécessitant l'investissement du génie et le balayage du tiroir matériel local.

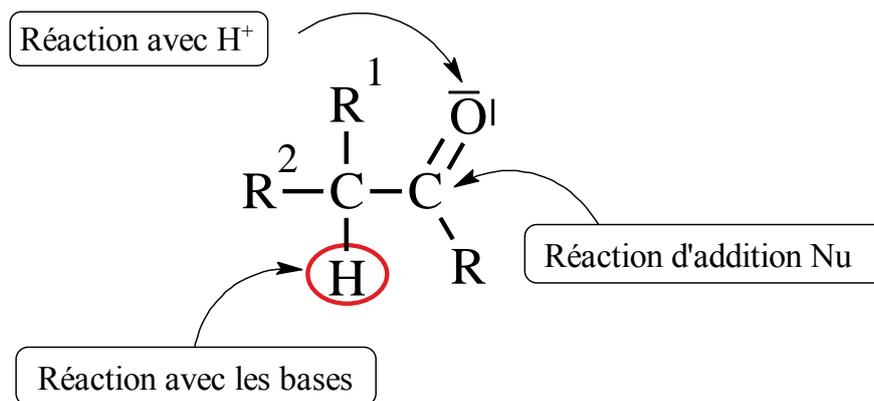
On le sait bien que les huiles essentielles ont une composition très complexe, une huile essentielle est composée de nombreuses molécules chimiques, lui conférant ses principes actifs, ces derniers sont considérés comme source prometteuse des structures stéréospécifiques qui peuvent être utilisés comme substrats en héli-synthèse de nouvelles biomolécules. On peut diviser ces composants en 12 grandes familles: les terpènes, les alcools, les aldéhydes, les carbures, les cétones, les coumarines, les esters, les éthers, les lactones, les oxydes, les phénols et enfin les phthalides.

A cause de la réactivité des composés carbonylés (aldéhydes et cétones) dû à l'effet attracteur de l'atome d'oxygène (différence d'électronégativité entre l'oxygène et le carbone), ils sont très utilisés pour la synthèse de nouveaux dérivés soufrés ou azotés.

#### 3.2 Réactivité des aldéhydes et cétones

Dans la fonction carbonyle, un carbone trigonal plan ( $sp^2$ ) est connecté à un oxygène porteur de paires d'électrons libres, la liaison double qui les lie comporte des électrons  $\pi$  mobiles et des électrons  $\sigma$  fermement localisés.

Les composés carbonylés réagissent avec les nucléophiles par un mécanisme en deux étapes. La première est une étape de type addition : le nucléophile attaque le carbone du carbonyle, formant un intermédiaire tétraédrique, cette réaction peut être accélérée en conditions acides, ce qui rend le carbonyle plus électrophile, ou basiques, ce qui rend le nucléophile plus anionique et donc plus réactif. La seconde étape est du type élimination : l'intermédiaire tétraédrique contient un substituant attaché au carbone central qui peut agir comme nucléofuge. Ainsi, aussitôt formé, l'intermédiaire tétraédrique se décompose, recréant une liaison double C=O et en éjectant le nucléofuge.

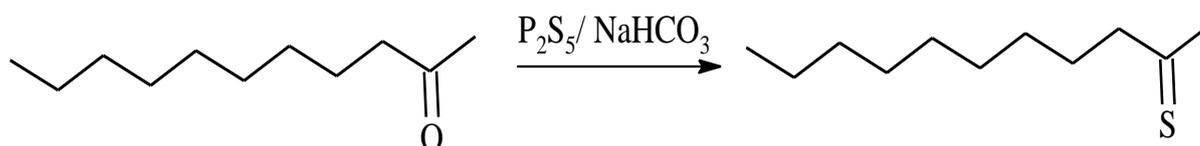


**Figure 3.1:**Réactivité des composés carbonylés

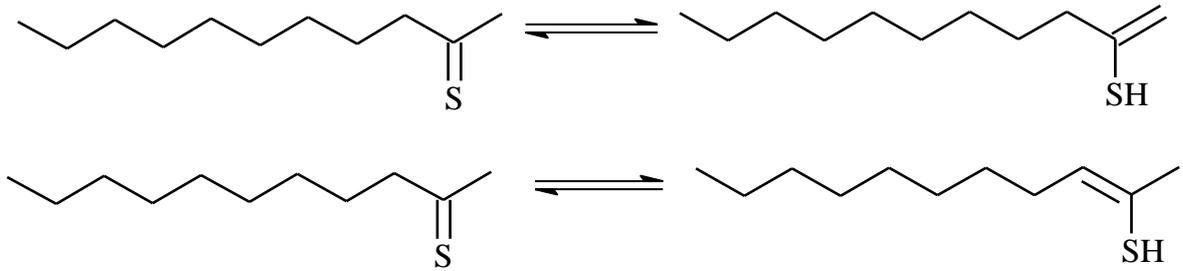
### 3.3 Hémi-synthèse des composés soufrés

#### 3.3.1 Thionation des huiles essentielles

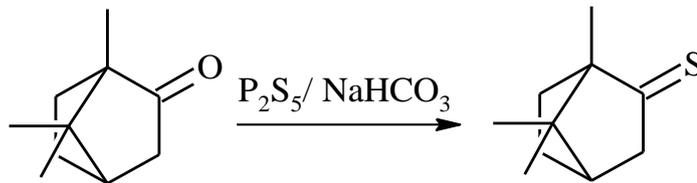
La chimie des thiocétones et thioaldéhydes a été largement étudié ; la thionation est la voie la plus commune pour l'incorporation de l'atome de soufre dans la synthèse des thiocétones, thioaldéhydes ou des hétérocycles [82, 83]. Cependant la thionation des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et de *Ruta montana* L. constituées principalement de composés cétoniques; monoterpènes cétones bicycliques et aliphatiques acycliques respectivement par action de pentasulfure de phosphore a été réalisée. L'identification des huiles essentielles natives et modifiées a montré la conversion des composés carbonylés, principalement le 2-undécanone dans l'HE de *Ruta montana* L. et du camphre dans l'HE d'*Artemisia herba alba* à leurs analogues thione selon les réactions (Figures 3.2 et 3.4) ; il a été rapporté aussi la présence des formes thiol en solution selon la réaction (Figure 3.3) [56].



**Figure 3.2:** Réaction de thionation de 2-undécanone.

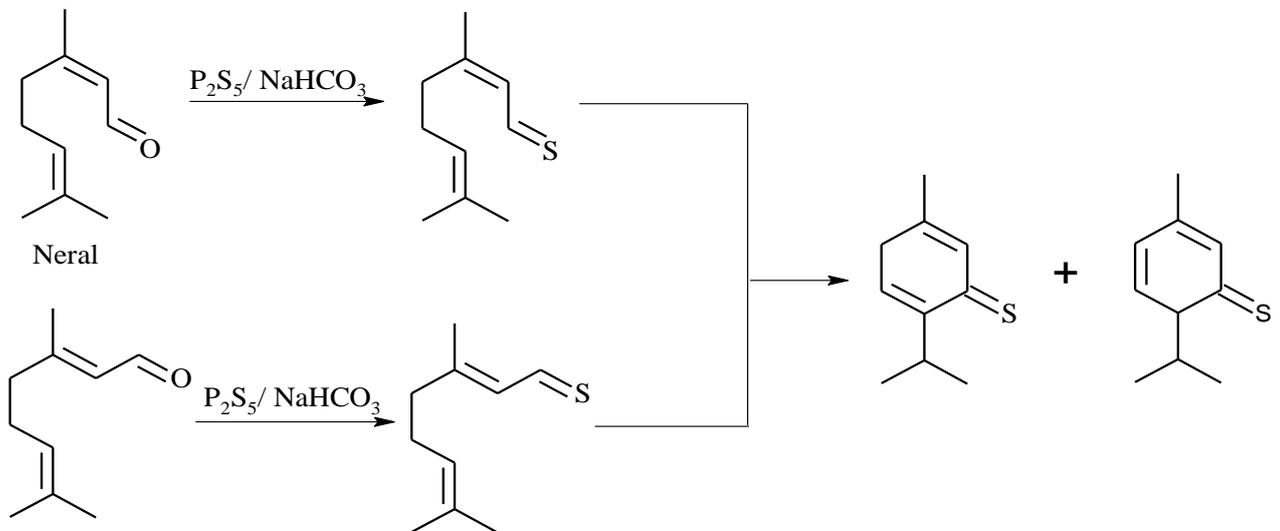


**Figure 3.3:** Formes tautomères de thio-2-undécanone.

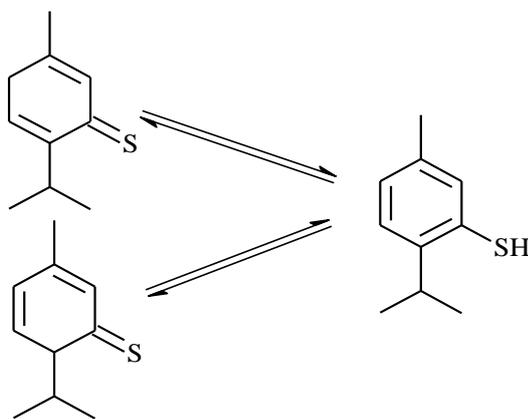


**Figure 3.4:** Thionation du camphre.

L'huile essentielle de *Lippia citriodora* extraite par hydrodistillation à partir des feuilles sèches et constituée principalement de néral et de géranial en proportions appréciables a été thionée par action de pentasulfure de phosphore ; a cause de leurs grandes réactivités les aldéhydes à savoir le néral et le géranial ont été transformés par cyclisation en enethiol et thione (Figures 3.5). Il faut ajouter qu'en solution la fonction thione se transforme en fonction thiol par tautomérie irréversible [84] selon la figure 3.6.



**Figure 3.5:** Réaction de thionation du Citral et du Néral.



**Figure 3.6:** Réaction de tautomérisation.

### 3.3.1.1 Activité biologique

Les huiles essentielles natives et modifiées (thionées) ont été examinées pour leurs activités microbiologiques. Les résultats ont montré que ces propriétés sont dépendantes de la structure. L'activité antibactérienne et surtout antifongique des huiles essentielles ont été fortement améliorée grâce au changement de la composition chimique des huiles essentielles via la réaction de thionation par formation de nouveaux composés soufrés avec des fonctions thiols et thiones et par conséquent l'augmentation du caractère hydrophobe et de la volatilité de la composition chimique de l'huile. L'effet insecticide de l'HE de *Ruta montana* L. et de *Lippia citriodora* thionées était hautement significatif par rapport aux huiles natives, mais celui de l'*Artemisia herba alba* thionée a été diminué [56,84].

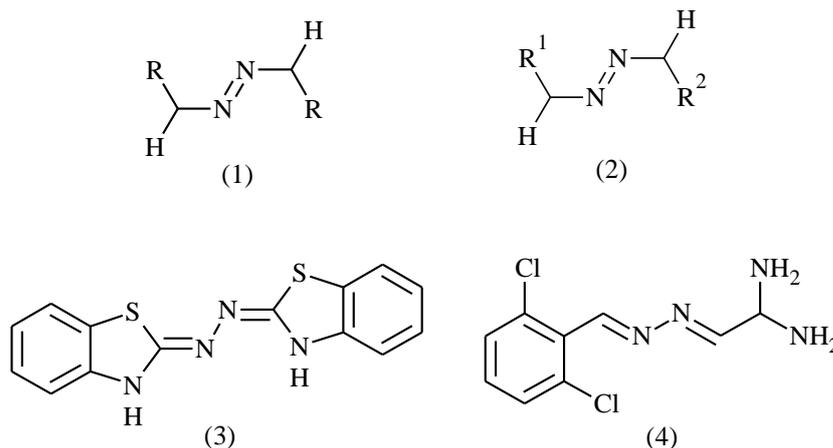
## 3.4 Hémi-synthèse des composés azotés

### 3.4.1 Synthèse des azines symétriques et asymétriques

Le terme azine a deux significations en chimie: en chimie hétérocyclique, les azines sont des cycles aromatiques à six chaînons contenant une (pyridine) à six atomes d'azote N (hexazine). En chimie alicyclique, les azines sont des composés qui portent l'unité fonctionnelle  $C = N - N = C$ , résultant de la réaction de deux molécules de composés carbonylés identiques (azines symétriques 1,3) ou, plus communément, de la réaction de deux différents composés carbonylés (azines asymétriques 2,4) avec l'hydrazine (Fig. 3.7). Les composés sont appelés aldazines ou cétazines selon la nature du composé carbonylé (aldéhyde ou une cétone, respectivement) [85].

Dans un passé récent, les azines ont reçu une attention accrue en raison de la reconnaissance de leurs propriétés biologiques, chimiques et des matériaux. Les azines

sont classiquement synthétisées par condensation de l'hydrazine avec des cétones et des aldéhydes, d'autres itinéraires sont également disponibles [86].

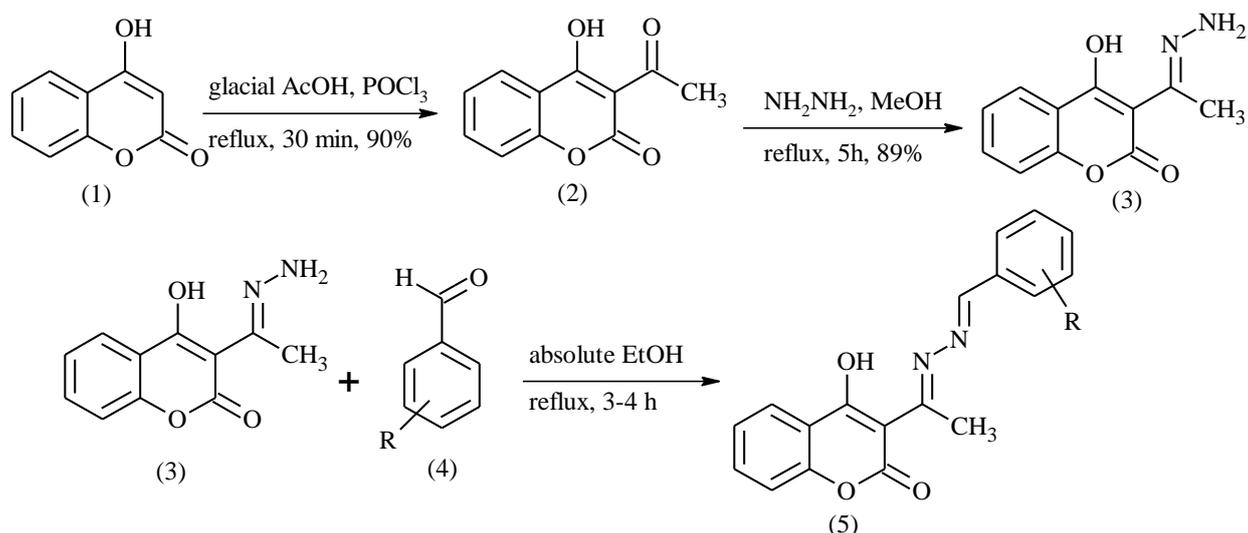


**Figure 3.7:** Azines symétriques (1,3) et azines asymétriques (2,4)

#### 3.4.1.1 Synthèse des azines asymétriques contenant le motif coumarine

La coumarine cétone de départ (2), était obtenue par l'acétylation de la 4-hydroxycoumarine réalisée avec l'acide acétique glacial en présence de  $\text{POCl}_3$  comme catalyseur. Deux façons possibles d'atteindre les azines asymétriques ciblés ont été considérés: soit directement en une seule étape de condensation, contrôle de la formation de l'hydrazone initiale et par la suite de l'azine d'un mélange de deux composés carbonylés, ou en deux étapes distinctes où l'hydrazone serait isolée et purifiée et puis soumis à la réaction avec un de plus équivalent d'un composé carbonylé. De manière attendue, la première approche a donné des mélanges de produits qui se composent de l'azine symétrique, d'aldéhydes aromatiques, de l'hydrazone de la 3-acétyl-4-hydroxycoumarine (3), et une quantité variable de l'azine asymétrique. Pratiquement pas d'azine symétrique de la coumarine dérivé pourrait être détecté (Figure 3.8) [87].

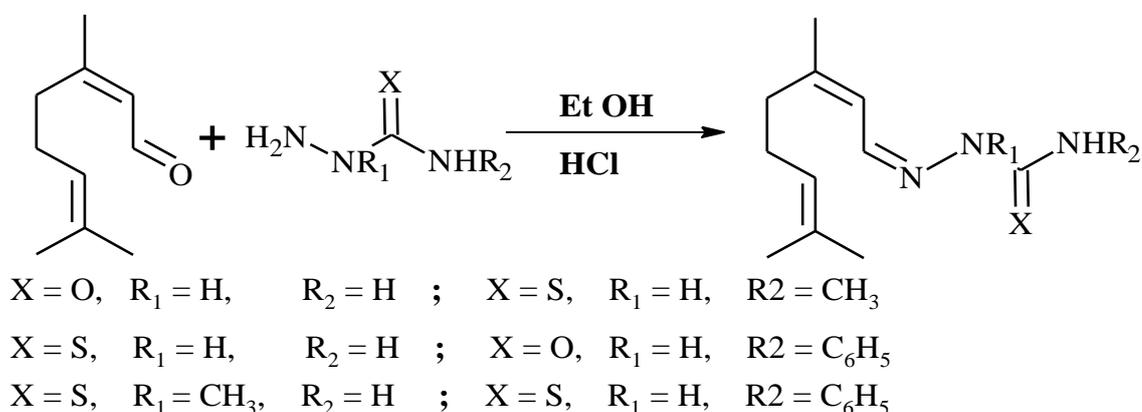
La formation de l'hydrazone (3) et pas d'azine symétrique, peuvent s'expliquer éventuellement par la faible réactivité du composé (2) (plus électrophile), par rapport aux aldéhydes [87].



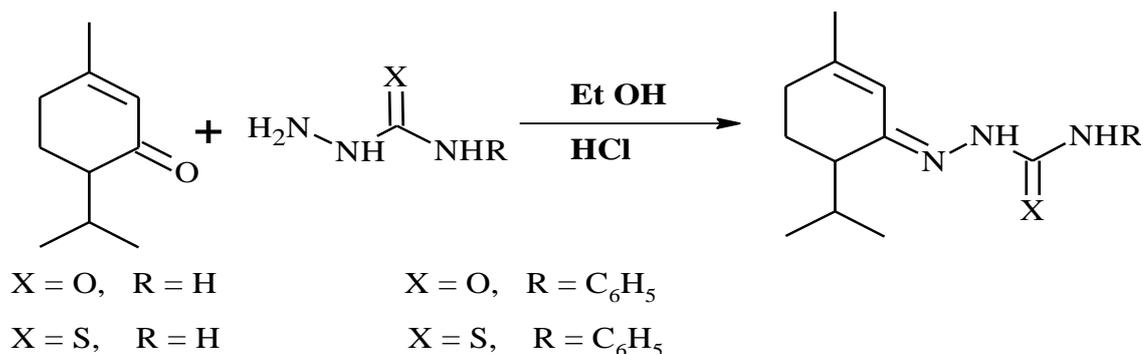
**Figure 3.8:** Synthèse des azines asymétriques à partir des coumarines [87].

### 3.4.2 Hémi-Synthèse des Thiosemicarbazones Trypanocides à partir de trois huiles essentielles riches en composés carbonylés

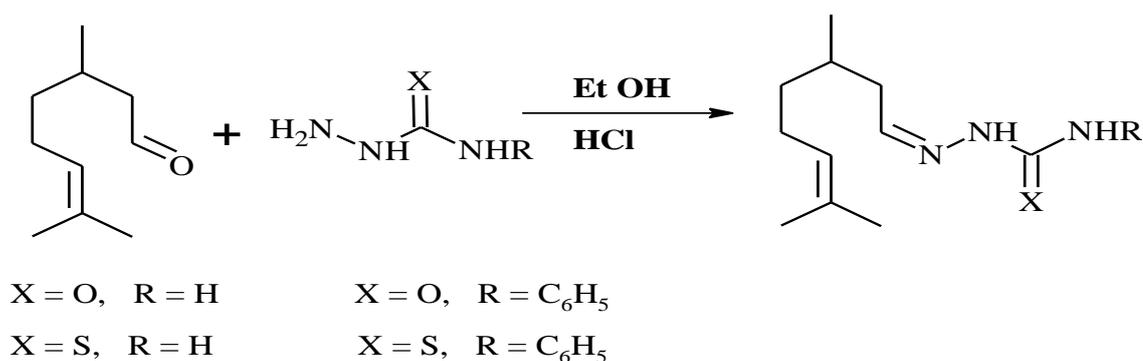
Parmi les molécules de synthèse actives, les thiosemicarbazones sont très convoités comme molécules de chimie pharmaceutique en raison de leurs nombreuses propriétés biologiques intéressantes. Dans ce contexte quatorze thiosemicarbazones ont été hémi-synthétisées par condensation de composés carbonylés avec des thiosemicarbazides ; trois huiles essentielles riches en composés carbonylés : Les huiles essentielles de *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon schoenanthus* et *Eucalyptus citriodora* constituées respectivement du citral (aldéhyde: 72,91%) de pipéritone (cétone: 68,2%) et citronellal (aldéhyde: 67,5%) ont été utilisés en tant que substrats pour les réactions d'hémisynthèse selon les schémas des figures 3.9,3.10 et 3.11 [88].



**Figure 3.9:** Réaction globale de l'hémisynthèse des citralthiosemicarbazones.



**Figure 3.10:** Réaction globale de l'hémisynthèse des pipéritonethiosemicarbazones.



**Figure 3.11:** Réaction globale de l'hémisynthèse des citronellalthiosemicarbazones.

#### 3.4.2.1 Propriétés pharmacologique

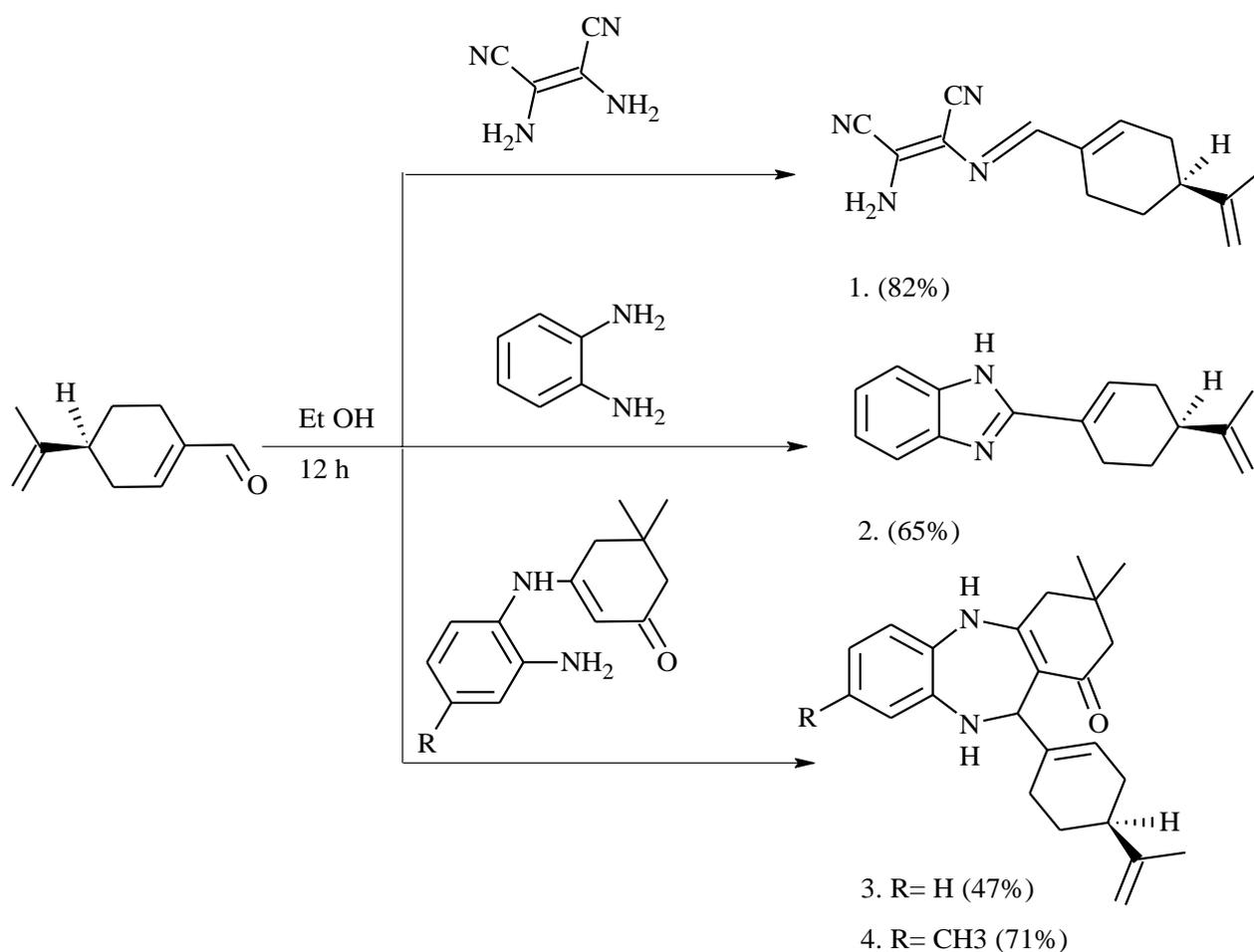
Les testes de toxicité et antitrypanosomien des thiosemicarbazones des huiles essentielles ont été évalués sur les larves de crevettes et les indices de sélectivité ont été déterminés. Le thiosemicarbazone citral (IS = 51.27) et le citral-4-phényl-3-thiosemicarbazone (IS = 36.07) ont révélé une sélectivité impressionnante. La sélectivité de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* était également intéressante (IS = 11 47) [88].

#### 3.4.3 Hémi-synthèse d'imine chirale, de benzimidazole et de Benzodiazépines à partir d'huile essentielle d'*Ammodaucus leucotrichus*

Généralement les aldéhydes sont utilisés dans la synthèse de nombreuses molécules intéressantes comme les imines, les hydrazones et les benzodiazépines. La préparation des imines par condensation de différents aldéhydes avec des amines aliphatique ou aromatique a été rapportée dans la littérature [89,90]. Ces molécules sont connues par leurs propriétés biologiques comme antitumoral, insecticide, antibactérienne, anti-tuberculose, antimicrobienne et anticonvulsant. Les benzodiazépines représentent une classe connue des anti-convulsant, anti-inflammatoires, analgésique et antidépressive [91]. Ces molécules ont

été synthétisées par la condensation des aldéhydes avec différents composés hétérocycliques [92, 93].

L'hémi-synthèse des structures chirales de l'imine, du benzimidazole et des benzodiazépines a été rapportée par la condensation du (S) (-)-perillaldéhyde, le constituant principal de l'huile essentielle de *Ammodaucus leucotrichus*, avec différents dérivés d'amine de 2,3-diaminomalononitrile, o-phénylènediamine et 3 - [(2-aminoaryl) amino] dimédone (Figure 3.12). La réaction se déroule à température ambiante sans isolement préalable du (S) (-)-perillaldéhyde naturel. Les produits finaux précipitent dans le milieu réactionnel éthanolique. Les analyses ont confirmé la formation d'énantiomères et de mélanges de diastéréomères uniques [94].

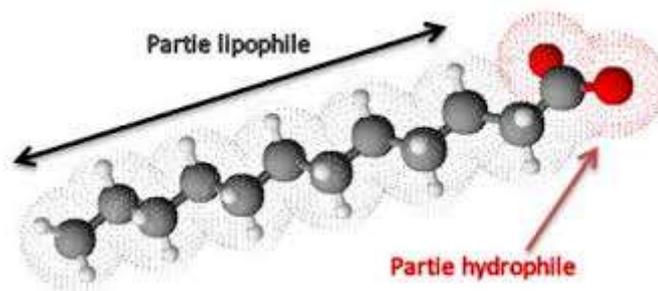


**Figure 3.12:** Hémi-synthèse de l'imine (1), du benzimidazole (2) et des benzodiazépines (3–4) du constituant principal de l'huile essentielle d'*Ammodaucus leucotrichus* [94].

### 3.5 Hémi-synthèse des tensioactifs à partir des produits naturels

#### 3.5.1 Les tensioactifs naturels

Le terme «tensioactif naturel» n'est pas sans ambiguïté. Pris strictement, un tensioactif naturel est un tensioactif pris directement d'une source naturelle. La source peut être d'origine végétale ou animale et le produit devrait être obtenu par une sorte de procédure de séparations telles que l'extraction, la précipitation ou la distillation. Aucune synthèse organique ne devrait être impliquée, pas même un post-traitement. Il n'y a en fait pas beaucoup de tensioactifs en usage aujourd'hui qui répondent à ces exigences. La lécithine, obtenue à partir de soja ou de jaune d'œuf est probablement le meilleur exemple d'un véritable tensioactif. La principale raison pour laquelle les tensioactifs naturels dans le réel sens du mot sont si rares n'est pas un manque de disponibilité, le facteur qui joue contre la production de véritables tensioactifs naturels est le coût de la préparation. Les produits sont généralement présents en petites quantités et le processus de séparation a tendance à être fastidieux. Dans la plupart des cas le coût de l'isolement de séparation sera de loin dépasser le coût de fabrication d'un équivalent tensioactif synthétique. Le terme «tensioactif naturel» est souvent utilisé dans un sens plus large que celui discuté ci-dessus, cependant, les tensioactifs synthétisés à partir de matières premières naturelles sont généralement appelés tensioactifs naturels [3].



**Figure 3.13:** Structure générale d'un tensioactif.

#### 3.5.2 Système mixte

Au cours de cette dernière décennie, un intérêt considérable et croissant est observé dans la littérature pour les travaux consacrés à l'étude des propriétés des mélanges binaire d'agent tensioactifs [95, 96]. L'intérêt de ces systèmes est lié au fait que leurs propriétés sont généralement plus performantes que celles d'un seul des composants pris séparément [97-98] ainsi ils sont plus efficaces dans plusieurs domaines d'application [99].

### 3.5.3 La synergie des mélanges de tensioactifs

Généralement, lorsqu'on réalise un mélange d'agents tensioactifs, on recherche les conditions optimums permettant d'obtenir une synergie, sachant que dans ce cas les propriétés du mélange sont supérieures à celles des différents composants purs. En fait la synergie s'explique par le renforcement de certaines propriétés des systèmes pur telles que la cmc, la tension superficielle minimum, ect....

Le phénomène de synergie est quantifiable par l'évaluation du paramètre d'interaction intramicellaire  $\beta^m$  entre les molécules de chaque type de surfactant. En effet, l'interaction entre les molécules tensioactives peut être estimée quantitativement à travers le calcul de ce paramètre lié aux coefficients d'activité de chacun des composés dans le mélange. Plus celui-ci est négative, plus l'interaction attractive entre les deux tensioactifs est forte est donc la synergie sera importante [100].

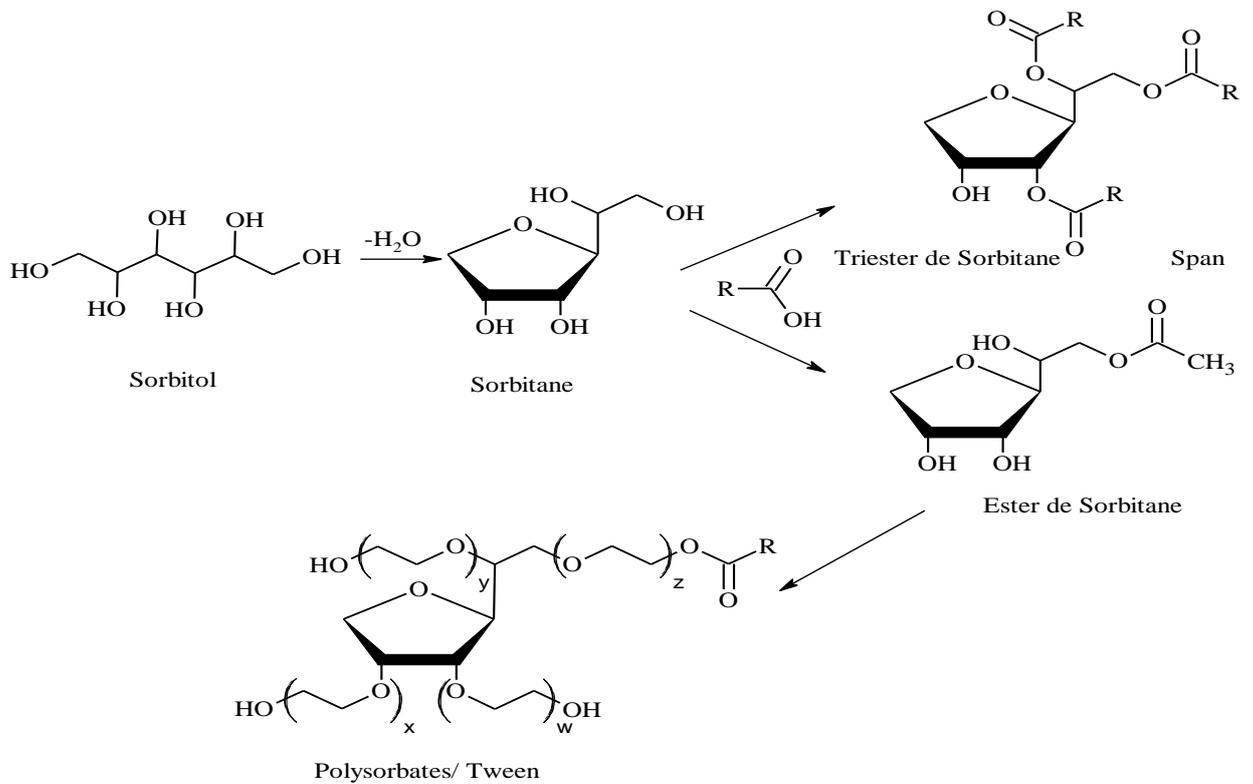
### 3.5.4 Tensioactifs préparés à base d'une tête polaire naturelle

#### 3.5.4.1 Tête polaire à base de sucre

Différents types de sucres ou de polyols dérivés de sucre ont été utilisé comme tête polaire de surfactant pendant de nombreuses années.

##### 3.5.4.1.1 Dérivés du sorbitane

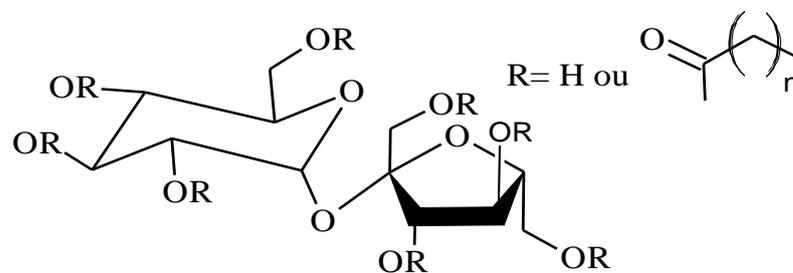
Le sorbitane est un polyol issu de la déshydratation du sorbitol, autrefois produit à partir de l'hydrogénation du saccharose ; actuellement il est produit par hydrogénation du d-glucose, dérivé du sirop du maïs. L'origine du nom de la famille des composés vient du « sorbier », une plante arbustive dont les baies permirent d'isoler le composé à la fin du XIX siècle [101]. L'ester de sorbitane et les polysorbates, bien connus sous les noms commerciaux de Span et Tween respectivement, ont été connus et utilisés depuis longtemps en émulsions pharmaceutique, suspensions orale ainsi qu'en cosmétique. La figure 3.14 montre un schéma simplifié de la production des esters de sorbitane et des polysorbates [101, 102].



**Figure 3.14:** Tensioactifs dérivés du Sorbitol, Ester de Sorbitane et Polysorbates.

### 3.5.4.1.2 Esters du saccharose

La réaction du saccharose avec un acide gras (estérification) produit des esters de saccharose avec des propriétés tensioactives. Parmi les 8 groupes hydroxyles, 3 sont très réactif. C'est pourquoi lors de l'estérification on peut obtenir facilement des mono, di et triesters. Des esters avec des substitutions plus élevé peuvent être obtenus mais ils sont utilisés comme substituts de matières grasses et non comme tensioactifs [101, 102].

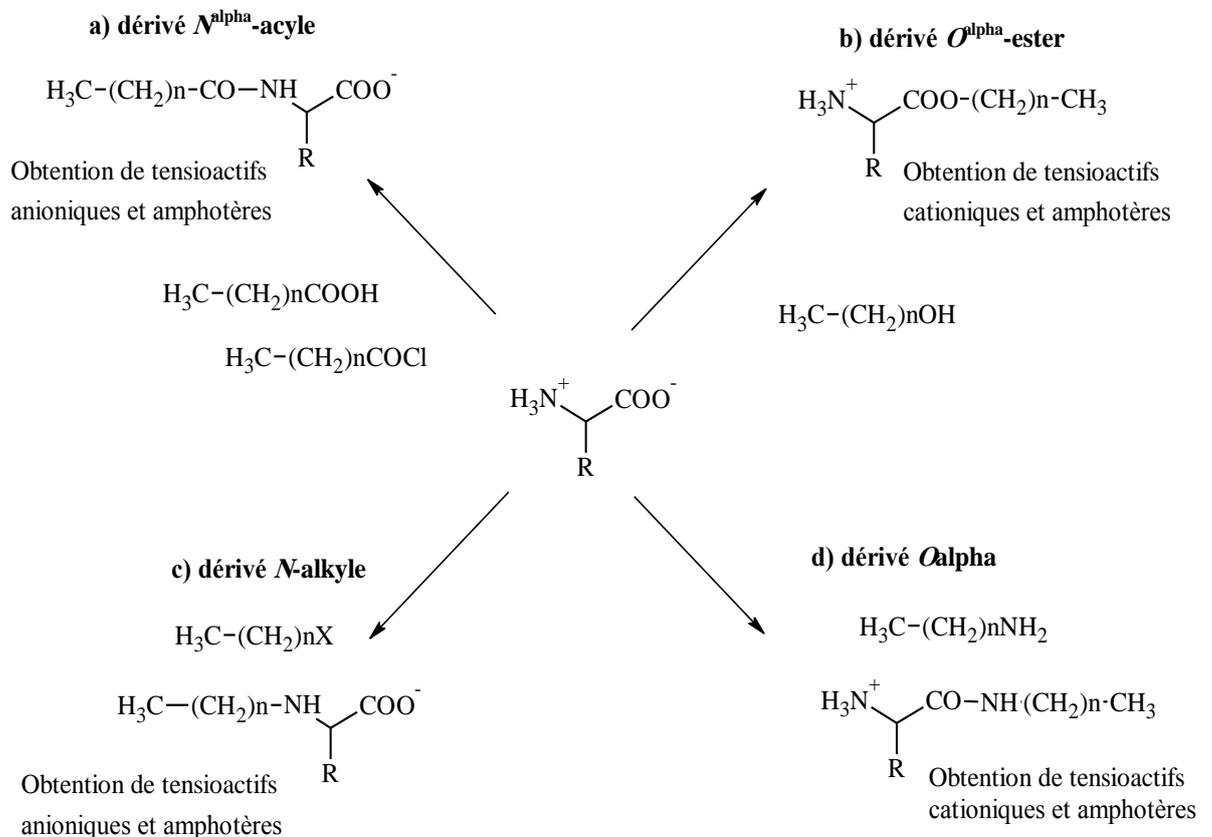


**Figure 3.15:** Structures possibles de différents esters de saccharose.

### 3.5.4.2 Tête polaire à base d'acide aminé

Les acides aminés et les petits peptides constituent une alternative intéressante aux sucres. En effet, l'association d'un acide aminé ou d'un peptide polaire et d'un composé à longue chaîne non polaire, pour construire des structures amphiphiles, permet l'obtention de molécules ayant une activité de surface élevée [103, 104]. Leurs propriétés permettent donc d'envisager leur utilisation dans les produits pharmaceutiques, cosmétiques, ménagers et alimentaires. Ils sont dérivés d'acides aminés basiques, neutres, acides ou d'hydrolysats de protéine. Les méthodes de préparations incluent des procédés chimiques, enzymatiques et chemo-enzymatiques, avec un net avantage pour les procédés chimiques, en raison de leur coût de production relativement faible.

De part la multifonctionnalité des acides aminés et des peptides, la chaîne lipophile peut être greffée selon des mécanismes différents (acylation, estérification, alkylation ou amidation) (Figure 3.16) [103].



**Figure 3.16:** Les différents modes d'obtention de tensioactifs à base d'acides aminés

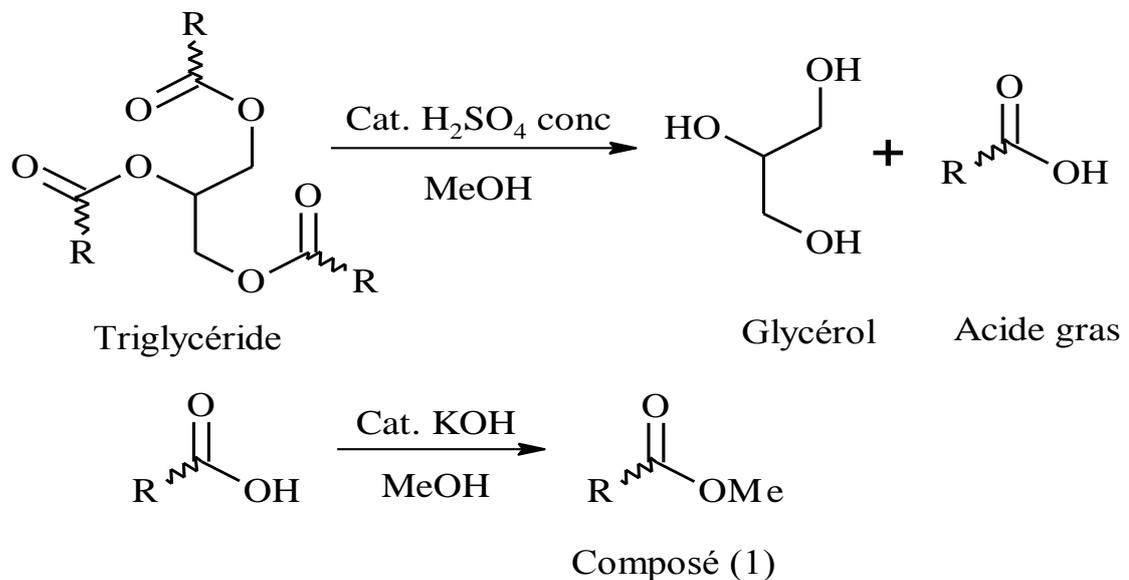
[103].

### 3.5.5 Tensioactifs préparés à base d'une queue hydrophobe naturelle

#### 3.5.5.1 Queue hydrophobe à base d'acide gras

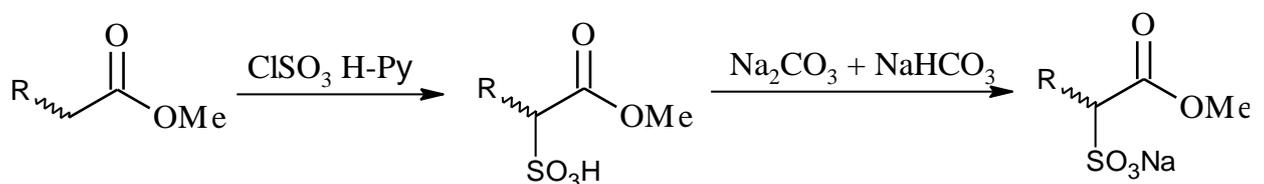
##### 3.5.5.1.1 Synthèse d'un tensioactif naturel à partir de *Sapindus laurifolius*

L'huile végétale obtenue à partir de la noix de savonnier d'inde a été estérifiée à l'aide d'un acide et une base comme catalyseurs dans le méthanol. La réaction d'alcoolyse dans la (Figure 3.17) était réversible, donc un excès d'alcool a été utilisé pour décaler l'équilibre de la réaction dans la direction de la formation du produit. L'huile de *Sapindus laurifolius* utilisée dans le processus trans-estérifié a été prétraitée pour éliminer la teneur en acide gras libre. Le produit intermédiaire (composé 1) obtenu dans la réaction de trans-estérification était utilisé pour synthétiser le tensioactif souhaité par sulfonation de l'ester méthylique de l'huile de noix de savon en ajoutant l'acide chlorosulfonique [105].



R: chaîne alkyl des différents acides gras

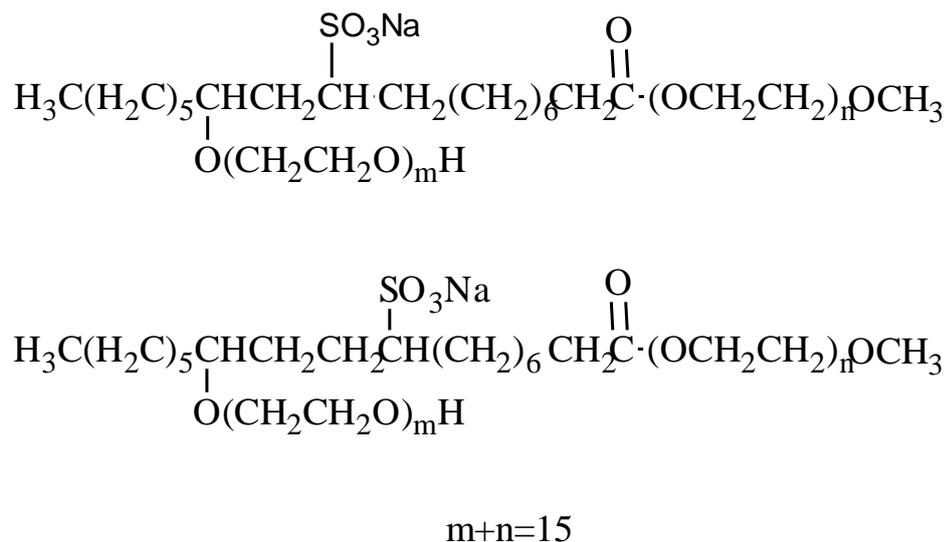
**Figure 3.17:** Réactions de synthèse de l'acide gras de l'ester méthylique.



**Figure 3.18:** Réaction de synthèse de tensioactif.

### 3.5.5.1.2 Synthèse d'un tensioactif a base de l'huile de ricin

L'ester méthylique d'éthoxylate de sulfonate d'acide de l'huile de ricin (CAMEES) est un nouveau tensioactif anionique-non ionique polyfonctionnel à trois groupes hydrophiles ; ce dernier a été synthétisé par réaction de l'ester méthylique d'acide de l'huile de ricin (CAMEE) avec du bisulfite de sodium en présence de peroxybenzoate de tert-butyle en tant que catalyseur et le chlorure ferrique en tant que co-catalyseur en solution d'eau et d'isopropanol. Le groupement sulfonate possède un effet important sur les propriétés physicochimiques du surfactant. Comparé à CAMEE, le CAMEES présente une meilleure stabilité et de meilleurs propriétés d'émulsification, de détergence et moussante [106].



**Figure 3.19:** CAMEES produit par le bisulfite de sodium.

### 3.5.5.1.3 Queue hydrophobe à base de stérol

Les tensioactifs à base de stérol présentent un grand intérêt en raison de leurs groupes hydrophobes important d'origine entièrement naturelle qui, en raison de sa structure plutôt circulaire à quatre anneaux, induit un bon emballage aux interfaces. Les éthoxylates de phytostérol ont été traités par des auteurs [107, 108] ; les Phytostérols sont des stérols d'origine végétale et leur structure est semblable à celle du cholestérol, ces derniers contiennent un groupe hydroxyle secondaire pouvant être éthoxylé.

## CHAPITRE 4

### MATÉRIELS ET MÉTHODES

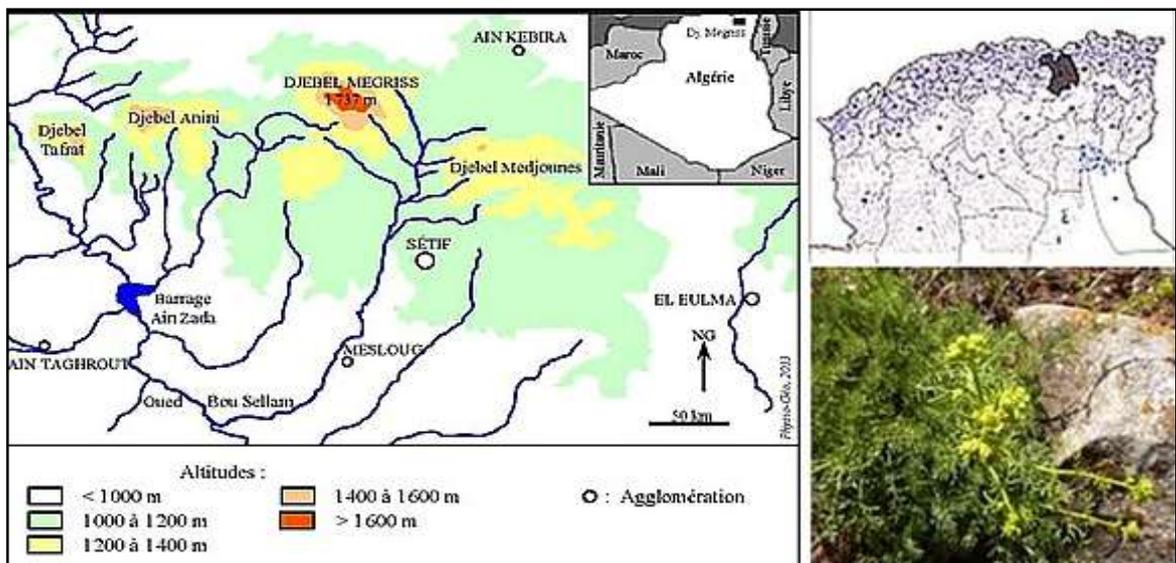
#### 4.1 Matériels

##### 4.1.1 Matériels végétal

##### 4.1.1.1 Présentation des plantes étudiées et lieux de récolte

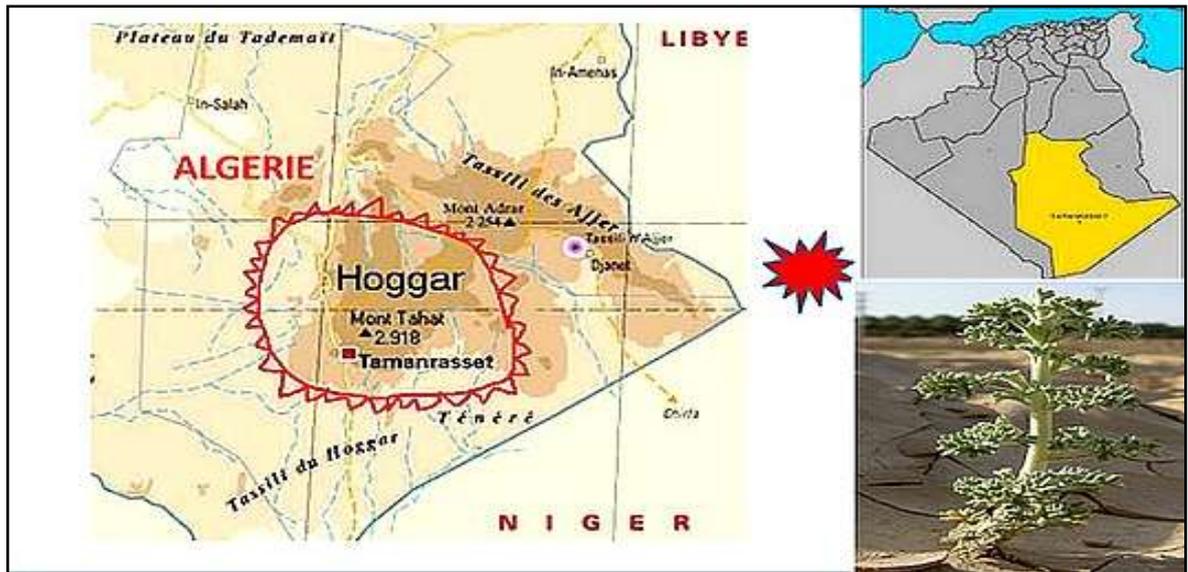
Quatre plantes locales identifiées au niveau de département de génie des procédés et au département de l'agronomie de l'université de BLIDA 1 ont été utilisées dans notre travail, il s'agit des plantes suivantes :

- ***Ruta montana* L. ou la rue des montagnes** : Les échantillons de *Ruta montana* ont été récoltés à différentes saisons (2017-2018) dans la région montagneuse de la wilaya de Sétif située dans le Nord-est algérien, à 217 km à l'est-sud-est d'Alger.



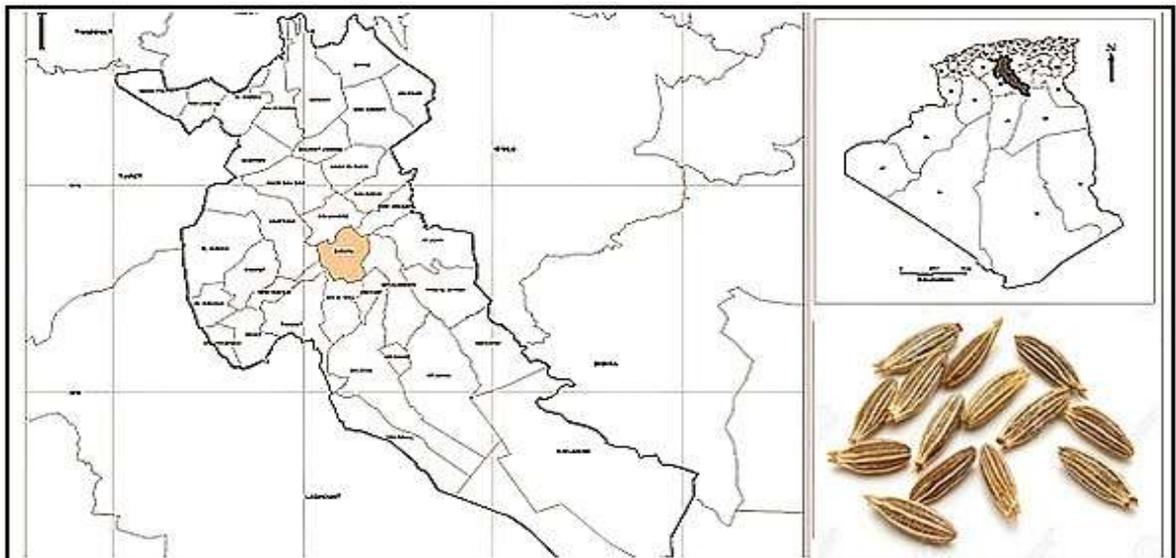
**Figure 4.1:** Lieu de récolte de *Ruta montana* L.

- ***L'Artemisia Judaica* ou l'Armoise de Judée** : La partie aérienne de la plante a été récoltée en novembre 2016 dans la région d'oued Talanteneche située à 6 km du Nord-est de la ville de Tamanrasset, localisée dans le Sud du Sahara algérien, à 1 900 km au sud d'Alger, dans la chaîne montagneuse du Hoggar à 1 400 mètres d'altitude. Tamanrasset possède un climat désertique chaud, hyper-aride et extrêmement sec toute l'année.



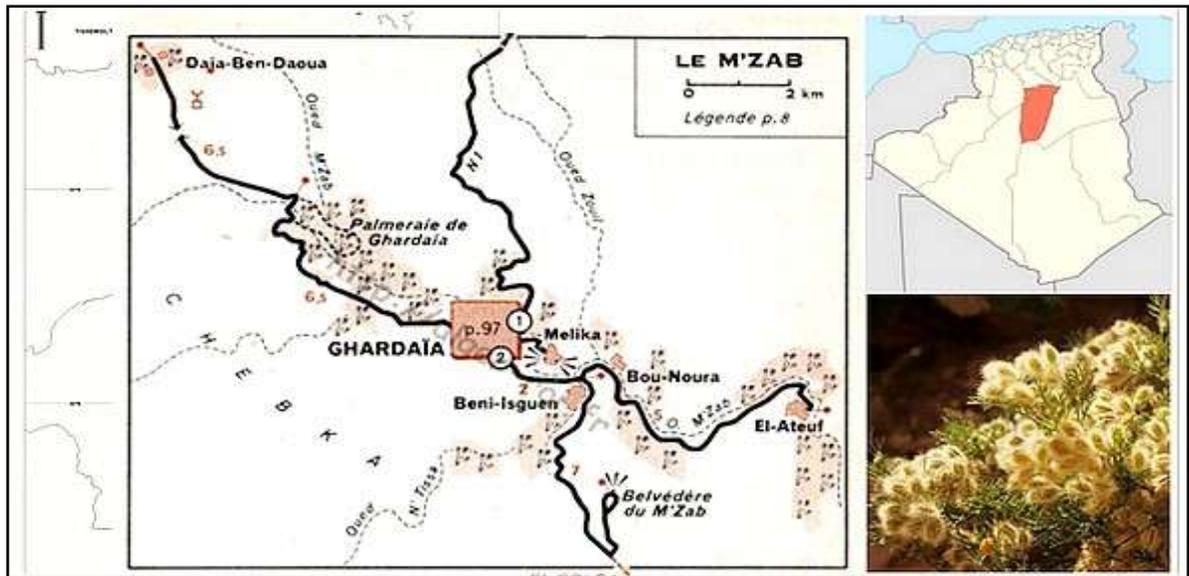
**Figure 4.2:** Lieu de récolte d'*Artemisia judaica* L.

- **Le *Cuminum cyminum* L. ou le cumin:** Les graines de cumin de provenance de la wilaya de Djelfa située dans les hauts-plateaux, au pied de l'Atlas saharien, à 300 km au sud d'Alger, ont été récoltés en Février-Mars 2018.



**Figure 4.3:** Lieu de récolte de *Cuminum cyminum* L.

- **L'*Ammodaucus leucotrichus* ou le cumin velu:** Les fruits du cumin velu ont été récoltés dans la région de Ghardaya située au centre de la partie Nord du Sahara algérienne En 2018.



**Figure 4.4:** Lieu de récolte d'*Ammodaucus leucotrichus*

Les parties aériennes constituées des feuilles, fleurs et des tiges ont été séchées à l'ombre à l'abri de l'humidité et à température ambiante pendant quelques jours avant l'utilisation.

#### 4.1.2 Matériels biologique

##### 4.1.2.1 Milieus 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.

###### ➤ Sabouraud

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

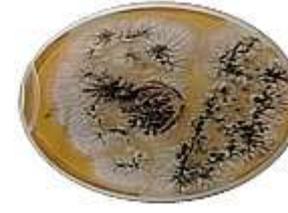
##### 4.1.2.2 Micro-organismes

Des souches bactériennes gram+ et gram-, et 4 souches fongiques référencées selon la norme ATCC (*American Type Culture Collection* ou Collection de culture de type américain), représentées dans les tableaux 4.1 et 4.2 ont été utilisées pour tester le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles natives et modifiées.

**Tableau 4.1:** Souches bactériennes.

Les bactéries à gram négatif		Les bactéries à gram positif	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6050	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 2785
			

**Tableau 4.2:** Souches fongiques.

<i>Aspergillus fusarium</i> ATCC 4620	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Aspergillus niger</i> ATCC 1015	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404
			

#### 4.1.3 Produits chimiques

Les solvants et les réactifs utilisés dans les différentes investigations, ainsi que leurs origines et pureté, sont présentés dans le Tableau 4.3.

**Tableau 4.3:** Produits chimiques utilisés.

Réactifs	Formule chimique	Pureté (%)	Firme
Ethanol	$C_2H_5OH$	96	Sigma-Aldrich
Méthanol	$CH_3OH$	99,8	Sigma-Aldrich
Ether de pétrole 40-60 °C	$CH_3-(CH_2)_n-CH_3$	95	Sigma-Aldrich
Acide acétique	$CH_3COOH$	98	Sigma-Aldrich
Sulfure de carbone	$CS_2$	99,5	RIEDEL-DEHAENAG
Diméthyl sulfoxide	$(CH_3)_2SO$	99	Panreac
Acétate d'éthyle	$CH_3-COOC_2H_5$	99,5	Sigma –Aldrich
n-Hexane	$CH_3-(CH_2)_4-CH_3$	95	Sigma –Aldrich
Cyclohexane	$C_6H_{12}$	99,8	Sigma –Aldrich
Dichlorométhane	$CH_2Cl_2$	99,9	Sigma –Aldrich
Pentasulfure de phosphor	$P_4S_{10}$	99	Sigma –Aldrich
Bicarbonate de sodium	$NaHCO_3$	99	Biochem
Bisulfite de sodium	$NaHSO_3$	50% (E/v)	VWR Chemicals
Hydrazine monohydrate	$NH_2NH_2 \cdot H_2O$	98%	Sigma –Aldrich
2-undecanone	$CH_3-(CH_2)_8-COCH_3$	( $\geq 98\%$ ),	Sigma-Aldrich

## 4.2 Méthodes

### 4.2.1 Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

#### 4.2.1.1 Choix des méthodes d'extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des huiles essentielles. En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter et de la localisation de l'huile essentielle dans le végétale (graines, feuilles, ramilles), du rendement en huile essentielles, de la nature chimique et de la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées.

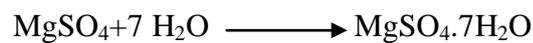
#### 4.2.1.2 Hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles des plantes étudiées a été effectuée par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger, où 100 jusqu'à 200 g de matière végétale sèche

sont introduites avec 1 L d'eau dans un ballon de 2 L. Après installation et fermeture du montage, la mise en marche du chauffe ballon est effectuée avec un réglage optimum du chauffage pour permettre une stabilité de l'extraction à une vitesse constante et bien maîtrisée pendant 2 à 3 heures, sa dépend de la masse et de la nature du végétal introduite dans le ballon (jusqu'à ce qu'on obtienne plus d'HE).

La vapeur chargée d'huile essentielle arrive dans le condenseur. L'huile essentielle se distingue de l'hydrolat (eau aromatique) par sa différence de densité et de couleur.

Une fois l'extraction terminée, les huiles essentielles sont séparées de leurs hydrolats par décantation, séchées avec le sulfate de magnésium anhydre ensuite conservées dans des flacons de couleur brune, hermétiquement fermés et stockés dans un endroit frais (4°C) à l'abri de la lumière.



**Figure 4.5:** Réaction de séchage.

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé pour cent. Après récupération des huiles essentielles, le rendement de chaque extraction a été calculé selon la loi suivante :

$$R(\%) = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad (1)$$

R : rendement en huiles essentielles (%).

$m_1$  : masse de l'huile obtenue (g)

$m_2$  : masse initiale du végétale (g)

#### 4.2.2 Caractéristiques organoleptiques

Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, d'odeurs aromatiques, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont plus ou moins colorées [109]. Dans certains cas, on trouve des huiles de couleur jaunâtre (huile d'Armoise blanche) [110], bleue (huile essentielle de camomille) [111] et verte (huile d'absinthe) [112]. Cette observation est liée à des substances particulières qui lui confèrent ces couleurs.

#### 4.2.3 Détermination des indices physiques des huiles essentielles

La connaissance d'indices physiques est importante puisqu'elle permet de caractériser, voire d'identifier une huile essentielle.

#### 4.2.3.1 Calcul de la densité (AFNOR NF T 75-006)

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, le corps de référence est l'eau pure. La densité est une grandeur sans dimension et sa valeur s'exprime sans unité de mesure.

La densité relative est donnée par l'expression suivante :

$$d^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \quad (2)$$

**m<sub>0</sub>** : Masse du pycnomètre vide en gramme.

**m<sub>1</sub>** : Masse du pycnomètre rempli d'eau distillée en gramme.

**m<sub>2</sub>** : Masse du pycnomètre rempli d'huile essentielle en gramme.

#### 4.2.3.2 Détermination de l'indice de réfraction (norme NF T 75 – 112)

L'indice de réfraction a été déterminé par la lecture directe de l'angle de réfraction à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe CARL ZEISS JENA, en employant la lumière d. 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° C  $\eta_D^{20}$  est déterminée par la formule suivante :

$$\eta_D^{20} = \eta_D^{t'} + 0,0004 (t' - 20) \quad (3)$$

$\eta_D^{t'}$  : 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.

#### 4.2.4 Extraction des furocoumarines

L'extraction des furocoumarines à partir de l'espèce *Ruta montana* L. épuisée des huiles essentielles a été réalisée par un appareil de type soxhlet.

La matière végétale est introduite dans une cartouche d'extraction en cellulose haute performance, Whatman, épaisseur 1 mm puis placée dans le soxhlet surmonté d'un réfrigérant ; le corps de l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction (éther de pétrole et méthanol). Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvants passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans

le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles. La taille du corps en verre étant limitée, il peut être nécessaire de réaliser plusieurs extractions successives pour récupérer une quantité suffisante d'extraits.

Après refroidissement du solvant, un produit blanc commence à précipiter (identifié par la suite : Xanthotoxine); ce dernier a été filtré, lavé par l'éthanol plusieurs fois, séché, pesé et le rendement a été calculé selon la relation (4).

$$R(\%) = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad (4)$$

R : rendement en furocoumarine (%);  $m_1$  : masse du produit pure obtenue (g) et  $m_2$  : masse initiale du végétale (g).

#### 4.2.5 Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les deux extraits de *Ruta montana* L. préparés. Les extraits obtenus ont été soumis à divers tests phytochimiques en vue de mettre en évidence les différents métabolites secondaires sont présents par des réactions de coloration, de précipitation et des observations sous lumière ultra-violet.

##### 4.2.5.1 Les alcaloïdes

0,5 mL du réactif de Mayer a été mis en contact avec 0,5 mL de chaque extrait. La formation d'un précipité blanc ou brun, indique la présence des alcaloïdes. Ce test a été répété trois fois [113].

##### 4.2.5.2 Flavonoïdes

Dans un tube à essai, 1 ml d'HCl concentré a été mis en contact avec 1 mL de l'extrait, en suite 3 copeaux de Magnésium ont été ajouté pour chaque tube. La présence de flavonoïdes a été révélée par l'apparition de coloration : rouge, orange ou rose [113].

##### 4.2.5.3 Tannins

2 ml de chaque extrait a été ajouté à 0,5 ml de  $\text{FeCl}_3$  (1 %). La présence des tanins a été dévoilée par l'apparition d'une coloration verdâtre ou bleu-noir après incubation pendant 15 min à température ambiante [114].

#### 4.2.5.4 Les coumarines

1 mL de l'extrait a été gardé comme témoin et 1 mL a été mis en contact avec 0,1 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (10%). Ensuite a partir de chaque préparation une tache a été mise sur un papier filtre et examinée sous la lumière UV. Leur présence est révélée par une fluorescence intense [114].

#### 4.2.6 Modifications chimiques

##### 4.2.6.1 Synthèse des tensioactifs

(1g) de 2-undécanone ou de l'huile essentielle de *Ruta montana* L. a été additionné à une solution aqueuse de bisulfite de sodium (50% solution aqueuse de  $\text{SO}_2$ ) dans 30 ml d'éthanol avec agitation magnétique à température ambiante pendant 30 min. après cristallisation du produit, les cristaux ont été lavés avec l'éthanol, filtrés et séchés à l'étuve.

##### 4.2.6.2 Thionation

Dans un ballon de 50 mL, 4,7 mmol de  $\text{P}_2\text{S}_5$  et 5,2 mmol de bicarbonate de sodium ont été additionnées à 1,43g d'HE préalablement séchée et dissoute dans 30 ml de disulfure de carbone ; le mélange réactionnel a été mis sous chauffage à reflux et agitation. A la fin de la réaction le  $\text{P}_2\text{S}_5$  a été filtré et le solvant a été évaporé avec un évaporateur rotatif [56].

##### 4.2.6.3 Synthèse des azines symétriques

Dans un ballon de 50 mL accordé à un montage à reflux mis sous chauffage et agitation, 20 mmol de cétones ou d'aldéhydes (HE) ont été solubilisés dans 20 ml d'éthanol, ensuite 12 mmol d'hydrazine monohydrate ont été égouttés. Une fois la réaction est achevée, le solvant est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Le temps de chauffage des réactions chimiques a été estimé par le contrôle des réactions par CCM

#### 4.2.7 Méthodes de caractérisation et d'analyses

##### 4.2.7.1 Point de fusion :

Les points de fusion des produits solides obtenus ont été déterminés à l'aide d'un fusiomètre de marque Fisher Jhones à lamelle équipé d'un microscope optique Rathenow 6,3 / 0,15 v.

#### 4.2.7.2 Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été utilisée à fin de suivre les réactions des modifications chimique des huiles essentielle et identifier leurs produits majoritaires ; en utilisant une phase stationnaire en gel de silice sur des plaques de marque FLUKA dont les dimensions sont de 2 × 10 cm avec 1 cm sur la ligne du dépôt.

Le système du solvant utilisé est une variation de mélange de solvants de différentes proportions à fin d'obtenir une bonne séparation des taches.

Après migration, la révélation a été faite sous la lumière UV. Les substances peuvent être identifiées en calculant la valeur  $R_f$  selon la relation (5), cette valeur peut être comparée à celles des étalons.

$$R_f = \frac{x}{y} \quad (5)$$

#### 4.2.7.3 Spectrophotométrie UV-Visible

Tous les produits natifs et modifiés ont été analysés avec un spectrophotomètre UV-Visible de marque JASCO, après leurs dilutions dans un solvant approprié.

#### 4.2.7.4 Spectrométrie Infra Rouge

Les spectres IRTF ont été obtenus on utilisant deux spectrophotomètres Infra-rouge de marques : JASCO de type 4100 et PARAGON 1000 pc.

#### 4.2.7.5 Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse CG/MS

Les huiles essentielles d'*Artemisia judaica* L. native et thionée ont été solubilisées dans le méthanol puis analysés par un chromatographe en phase gazeuse **Agilent HP 6890** couplé à un spectrophotomètre de masse **Quadripôle**, Equipé d'une colonne de Type : RTX-5Ms avec une longueur 30 m, D int 0.25 mm et une épaisseur film 0.25 µm. Le Volume injecté est 01µl. Le mode d'injection est Splitless. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium pur avec un Débit (GV) de 1 ml/min. La température de la colonne est programmée de 60 à 250 °C à raison d'une montée de 2 °C/min, isotherme pendant 10 min. Les spectres ont été obtenus en mode impact électronique avec énergie d'ionisation de 70 eV. Le secteur analyseur de masse a été réglé pour numériser de 40 à 550 Scan.

L'identification des huiles essentielles restantes a été réalisée par couplage d'un chromatographe en phase gazeuse de marque BrukerSciionSQ à un spectromètre de masse à

un seul quadripôle (SQ : singlequadripole) muni d'une colonne capillaires de type DB-5 qui possèdent les caractéristiques suivantes (longueur : 25 m, diamètre interne : 0.220 mm, épaisseur de film : 0.25  $\mu\text{m}$ ). La température de la source d'ions est fixée à 280°C. La température de la colonne est programmée 50°C pendant 10 min, après 50 à 250°C à raison d'une montée de 2°C/min puis elle est maintenue à 250°C pendant 15 min. La température de l'injecteur est fixée à 250°C. Le mode d'injection est Split (rapport de division de 1 : 100). Le débit de gaz vecteur (Hélium) est fixé à 1ml/min. le volume de l'échantillon injecté est 0.2 $\mu\text{l}$ . La fragmentation est effectuée en impact électronique sous un champ de 70 eV, scanning 35-600 Da.

#### 4.2.7.6 Résonance Magnétique Nucléaire

Les spectres RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , APT, HMBC et HSQC des produits synthétisés ont été obtenus avec un appareil RMN de marque Bruker –Ascendi 400 MHz après la solubilisation des produits a analysé dans le DMSO- $d_6$ .

#### 4.2.7.7 Analyse thermographique (ATG/DSC)

L'analyse thermographique a été réalisée en utilisant un calorimètre d'analyse thermique STD TA instruments, avec un cycle thermique de 50-400°C et une vitesse de chauffage de 10 °C/ min sous atmosphère inerte ( $\text{N}_2$ ) à 100 ml/min. Les résultats obtenus ont été traités avec le logiciel TA Universal Analysis.

#### 4.2.8 Etude des propriétés des tensioactifs

##### 4.2.8.1 Mesure de la concentration micellaire critique (CMC)

###### 4.2.8.1.1 Par conductimétrie

La conductivité électrique des solutions aqueuses des tensioactifs préparées a différentes concentrations a été mesurée en utilisant un conductimètre Hanna EC 2015 à 20°C

###### 4.2.8.1.2 Par tensiométrie

La tension superficielle des solutions aqueuses contenant différentes concentrations des tensioactifs synthétisés a été mesurée avec un tensiomètre à plaque de Wilhelmy de marque GIBERTINI TDS mode numérique, en utilisant une lame en verre 24×24×0,15 mm à 20°C.

#### 4.2.8.2 Comportement d'adsorption à l'interface eau-air

L'excès de surface (The maximum surface excess concentration) ( $\Gamma_{max}$ ) et la surface minimale occupé par tête polaire (minimum surface area per surfactant headgroup) ( $A_{min}$ ) sont des paramètres importants pour le calcul du degré d'adsorption des molécules de surfactant à l'interface de l'air. L'excès de surface ( $\Gamma_{max}$ ) est obtenu en ( $\text{mol.L}^{-1}$ ) en utilisant l'isotherme de Gibbs [115] (équation 6):

$$\Gamma_{max} = -\frac{1}{2.303 nRT} \left( \frac{d\gamma}{d \log C_T} \right) \quad (6)$$

où  $\mathbf{R}$  représente la constante des gaz parfaits ( $R = 8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ),  $\mathbf{T}$  représente la température mesuré en  $\mathbf{K}$ ,  $\mathbf{C}$  est la concentration en  $\text{mol.L}^{-1}$  du surfactant dans la phase aqueuse et  $\mathbf{n}$  étant égale à 1 pour un tensioactif non ionique et 2 pour un surfactant ionique. La surface minimale occupée par tête polaire ( $A_{min}$ ) a été calculée en ( $\text{nm}^2$ ) selon l'équation (7) [106] :

$$A_{min} = \frac{10^6}{N_A \Gamma_{max}} \quad (7)$$

$N_A$  représente la constante d'Avogadro.

Le  $pC_{20}$  présente l'efficacité d'adsorption du tensioactif à l'air / eau interface. Ceci est défini comme le logarithme négatif de la concentration molaire de surfactant nécessaire pour abaisser la tension superficielle de l'eau de  $20 \text{ mN.m}^{-1}$  [115].

$$pC_{20} = -\log C \quad (8)$$

$\pi_{cmc}$  indique la valeur minimale de la tension superficielle causée par la dissolution des molécules de tensioactif, elle représente donc l'efficacité du tensioactif de réduire la tension superficielle du solvant. C'était calculé on appliquant l'équation (9) [105]:

$$\pi_{cmc} = \gamma_0 - \gamma_{cmc} \quad (9)$$

Où  $\gamma_{cmc}$  et  $\gamma_0$  représentent la tension superficielle de la solution à la CMC et celle du solvant pur respectivement.

La HLB (hydrophile-lipophile balance, ou équilibre hydrophile-lipophile) permet de classer les tensioactifs suivant leurs parties hydrophile et lipophile.

Les valeurs de HLB du tensioactif pur et des différents tensioactifs constituant le mélange ont été calculées en prenant en considération les masses moléculaires des parties hydrophiles et les masses moléculaires des molécules selon la formule (10), et celle du mélange a été calculée selon [116] en approximation par la relation linéaire (11)

$$HLB = 20 \times \frac{\text{Masse moléculaire de la partie hydrophile}}{\text{Masse moléculaire de la molécule}} \quad (10)$$

$$HLB_{mix} = X_1HLB_1 + X_2HLB_2 + \dots \quad (11)$$

Où les indices 1 et 2 font référence aux émulsifiants 1 et 2 respectivement, et  $X_1$  et  $X_2$  représentent les fractions de masse de l'émulsifiant correspondant.

#### 4.2.9 Préparation des émulsions

Des émulsions H/E ont été préparées par la dispersion de l'huile essentielle de *Ruta montana* L. dans des solutions aqueuses préparées avec différentes concentrations des tensioactifs synthétisés, les mélanges ont été homogénéisés à l'aide d'un secoueur à balancement pendant 24h dans le but d'obtenir des émulsions stables.

##### 4.2.9.1 Examen microscopiques des émulsions

L'examen microscopique des émulsions a été effectué à l'aide d'un fusiomètre de marque Fisher Jhones à lamelle équipé d'un microscope optique Rathenow 6,3 / 0,15 v.

##### 4.2.9.2 Mesure de la viscosité

Les comportements rhéologiques des émulsions préparées ont été effectuées avec un rhéomètre à contrainte et déformation imposés de marque MCR 302 Anton Paar Physica (Anton Paar, GmbH, Germany) dans un système de mesure de type plan-plan avec  $\Phi=8\text{mm}$  à 20 °C, on imposant une rampe de vitesse croissante de  $0,001\text{s}^{-1}$  à  $1000\text{s}^{-1}$ . Les résultats expérimentaux ont été traités par un logiciel Rheoplus US200.

##### 4.2.9.3 Mesure de la taille des particules par la diffraction de la lumière diffusée (DLS)

La taille des particules des émulsions a été mesurée on utilisant la technique de diffusion de la lumière statique à l'aide d'un instrument de la gamme (SZ-100, HORIBA scientifique) avec un angle de diffusion 90°. L'analyse granulométrique des émulsions préparées a été effectuée par diffusion dynamique de la lumière ou DLS avec une plage dynamique comprise entre 0,3 nm et 8  $\mu\text{m}$  à 25°C.

#### 4.2.10 Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles en milieu solide

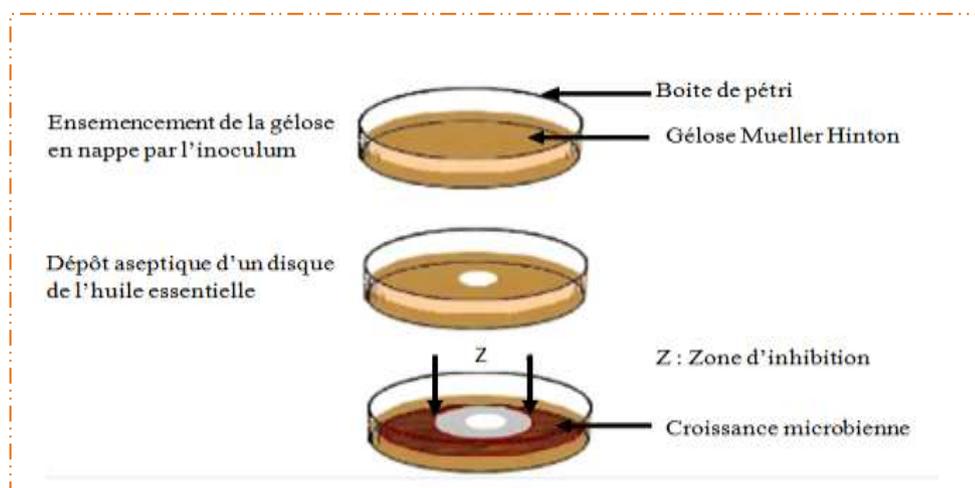
##### 4.2.10.1 Méthode Micro-atmosphérique

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

Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture approprié sontensemencées par les bactéries et les champignons par écouvillonnage. D'un autre côté 5 µl d'HE sont déposésur un disque de papier filtre, au fond et au centre du couvercle de la boîte de Pétri. Après incubation des boîtes avec leurs couvercles à 37° pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour les champignons, la lecture des résultats a été faite par observation croissance ou non des germes-cibles [117-118].

##### 4.2.10.2 Méthode de diffusion sur disques (l'aromatogramme)

Cette technique consiste à couler 20 ml de milieu gélosé dans des boîtes de Pétri puis lesensemencé par les germes à tester ; des disques de papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre imbibés de 15 µL des produits à tester sont déposés à la surface de ces boîtes. Des témoins positifs et négatifs ont été réalisés : un témoin négatif avec 15 µL de DMSO, des disques d'antibiotiques (Gentamicine, Cephalexine) et des disques d'antifongiques (Flazol, Terbinafine) comme témoins positifs. Les boîtes sont laissées 1 heure à température ambiante puis retournées et incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures. Après incubation, les diamètres d'inhibition ont été mesurés en millimètres, disque inclus. Chaque test a été réalisé trois fois au cours de trois expériences successives [119]. Les tests d'activité antimicrobienne ont été réalisés au sein de laboratoire d'hygiène et sécurité de Blida.



**Figure 4.6:** Schéma de la méthode d'Aromatogramme.

#### 4.2.10.3 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

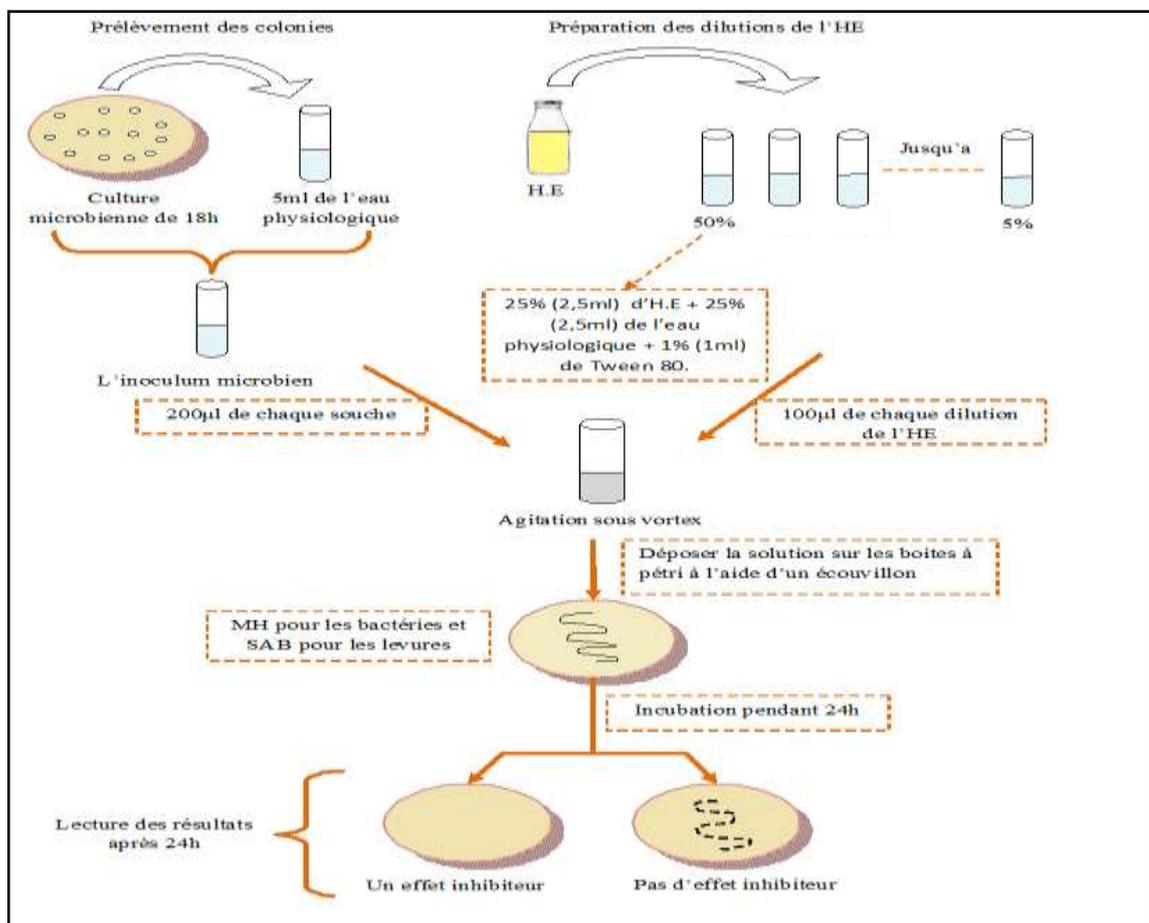
##### 4.2.10.3.1 Technique de macro dilution en milieu solide :

Cette valeur est définie comme étant la concentration minimale de l'HE qui inhibe toute croissance visible après 18 à 24 heures d'incubation à 37 °C. En effet, la CMI est une valeur indicatrice du pouvoir bactériostatique d'un antibactérien.

100 µL de l'huile essentielle à tester sont placés dans un flacon stérile contenant 50 ml de milieu MH à chaud, supplémenté en Tween 80 (0,01 %, v/v). Une dilution en cascade est effectuée dans du milieu MH-Tween 80 (0,01 %, v/v), de manière à obtenir une gamme de concentration comprise entre 20 mg. mL<sup>-1</sup> et 0,3 mg. mL<sup>-1</sup>.

L'ensemble est homogénéisé, mis dans des boîtes de Pétri, puisensemencé par 13 µL d'un inoculum bactérien, lesquels sont ensuite placés, incubés à 37°C pendant 24 heures.

Les valeurs de la CMI ont été déduites à partir de la première boîte de la gamme dépourvue de croissance bactérienne [120].



**Figure 4.7:** Schéma de la méthode de détermination de la CMI.

## CHAPITRE 5

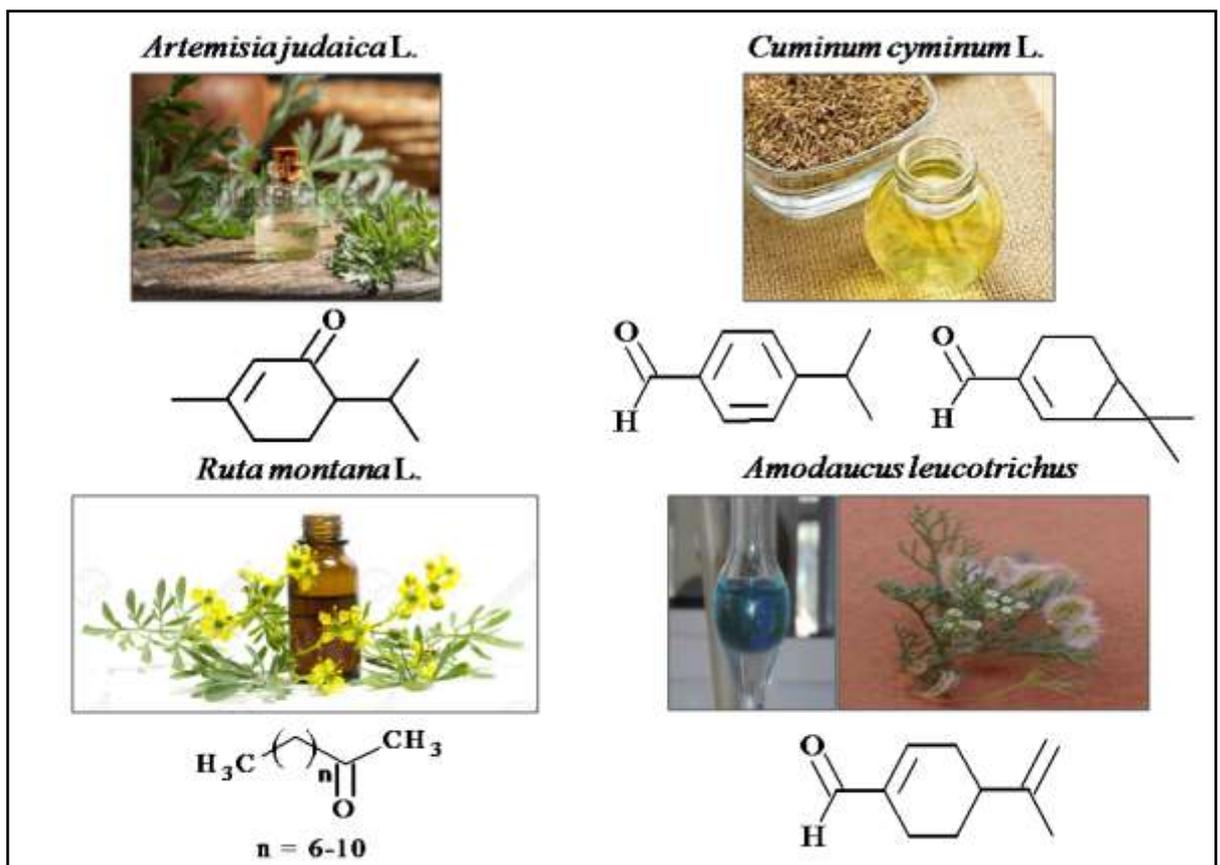
### RÉSULTATS ET DISCUSSION

#### 5.1 Extraction des huiles essentielles

##### 5.1.1 Introduction

La première partie de ce chapitre est consacrée à l'extraction et l'identification des huiles essentielles de quatre plantes locales, utilisées ultérieurement comme produits de départ pour l'hémi-synthèse de nouvelles molécules bioactives. Les molécules biologiquement actives (médicaments par exemple) tirent leurs propriétés de leurs structures, mais aussi des fonctions organiques qu'elles possèdent ; dans ce contexte l'extraction de quatre huiles essentielles riche en composés carbonylés, qui peuvent être substituées par d'autres groupements, conférant à ces huiles essentielles de nouvelles propriétés a été réalisée.

Notre choix s'est porté sur deux huiles essentielles chémotypées cétones ; « l'HE de *Ruta montana* L. et d'*Artemisia judaica* L. » ainsi que deux autres chémotypées aldéhydes ; « l'HE de *Cuminum cyminum* L. et d'*Ammodaucus leucotrichus* ».

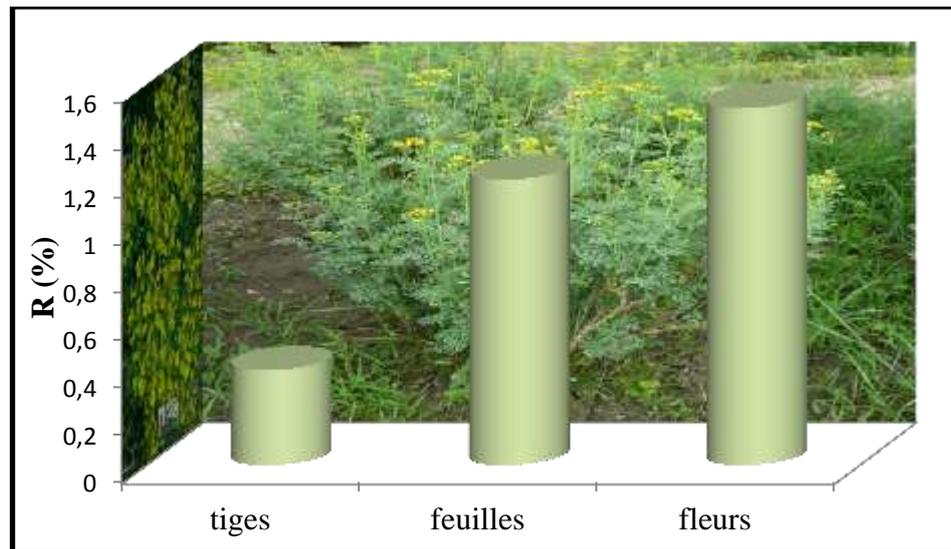


**Figure 5.1:** Résumé graphique de l'extraction des HE.

## 5.1.2 Huile essentielle de *Ruta montana* L.

### 5.1.2.1 Rendement

L'extraction de l'HE de différentes parties (tiges, feuilles et fleurs) de la plante *Ruta montana* a fourni un rendement moyen de 1,1% ; il a été remarqué que le rendement d'extraction d'HE varie en fonction de la partie aérienne du matériel végétale sèche. Les rendements moyens en HE calculés en fonction de la masse de la partie aérienne du matériel végétal sèche, sont représentés dans la figure 5.2 :



**Figure 5.2:** Représentation des différents rendements en HE de *Ruta montana* L.

L'estimation du rendement massique en huile essentielle obtenu révèle une valeur comprise entre 0,5-1,5% (Figure 5.2), La lecture dans les résultats du rendement d'extraction d'HE de *Ruta montana* L. de différentes régions d'Algérie obtenues par hydrodistillation rapporté dans la littérature montre d'une manière générale que le rendement obtenu est en accord avec les rendements mentionnés dans la littérature. Notre rendement en huile essentielle est comparable à celui de la rue des montagnes provenant de Tipaza 0,9 % [50] et de Blida (1,8 %) [56]. D'après les résultats de la figure 5.2, il est intéressant de remarquer que la concentration en huile essentielle est plus importante dans les fleurs (1,5%) que dans les feuilles (1,3%) que dans les tiges (0,5 %). Une étude physicochimique de l'HE de *Ruta chalepensis* de Tlemcen (Algérie) a montré la richesse de ses fleurs en HE par rapport aux feuilles et aux tiges [121].

### 5.1.2.2 Détermination des caractéristiques physiques et organoleptiques

L'examen organoleptique de l'HE de la rue des montagnes a donné les résultats suivants :

**Tableau 5.1:** Propriétés physiques et organoleptiques de l'HE de *Ruta montana* L.

	Couleur	Odeur	$\eta_D^{20}$	$d^{20}$	$R_f$ CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> (2:1 v/v)
<b>HE de <i>Ruta montana</i> .L</b>	Jaune foncé	Forte, piquante	1,4351	0,831	0,78

On note que notre huile essentielle a un aspect liquide, une odeur propre à la matière végétale (forte), et jaune foncé.

### 5.1.2.3 Caractérisation par UV-vis et IRTF

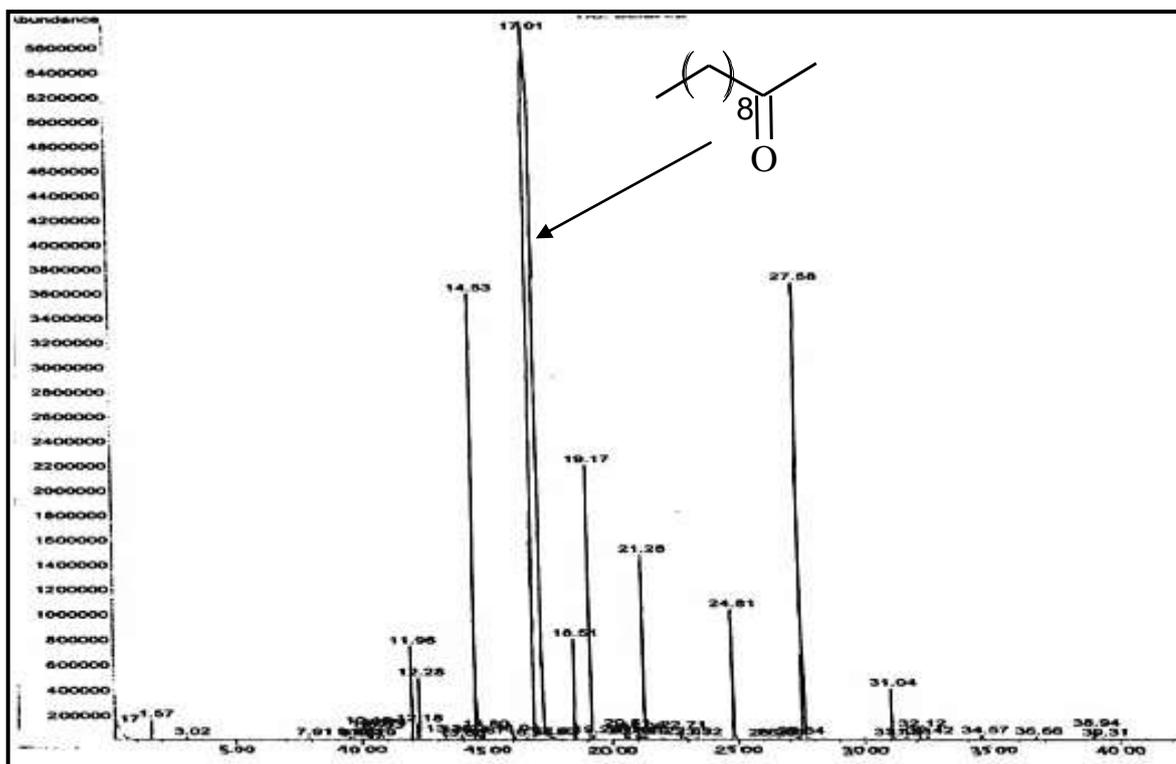
La bande apparue à 218 nm dans le spectre UV-vis (Annexe 1) de l'HE de *Ruta montana* L. soluble dans le méthanol est relative à la transition électronique  $\pi \rightarrow \pi^*$  de la double liaison (-C=C-) des composés alcènes constituent l'huile essentielle comme le p-cymène ; d'un autre côté la bande caractéristique de la fonction (C=O) des cétones située à 280 nm correspond à la transition électronique  $n \rightarrow \pi^*$ .

Le spectre IRTF de l'HE de la rue des montagnes (Annexe 1) est caractérisé par deux pics situés à 2955 cm<sup>-1</sup> et 2926 cm<sup>-1</sup> responsables à la vibration d'élongation de la liaison C-H relatifs aux groupements méthyle et méthylène, un pic de forte intensité, très pointue correspondant à la vibration d'élongation du groupement carbonyle (C=O) des cétones aliphatiques est situé à 1718 cm<sup>-1</sup>, confirmant la richesse de cette HE en cétones; le spectre montre aussi des pics de déformation vers 1500 cm<sup>-1</sup>.

### 5.1.2.4 Caractérisation par CPG/SM

L'analyse chimique de l'huile essentielle de *Ruta montana* L. par CG/SM a donné le chromatogramme représenté dans la figure 5.3.

Les différents constituants de l'huile essentielle ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés de la base de données Nist 98 du spectromètre de masse CG/SM (Annexe 1).



**Figure 5.3:** Chromatogramme de l'HE de *Ruta montana* L.

Au total, 14 composés de l'HE ont été identifiés. Les composés majoritaires sont principalement des cétones aliphatiques avec des chaînes alkyles de différentes longueurs : le 2-undécane (67%), le 2-nonane (1,1%), le 2-décane (9%), le 2-dodécane (4%) et le 2-tridécane 2,7% ; d'autres composés carbonylés ont été détectés en quantités moins importantes comme le 2-phényloctane (1,6%), 6-(3',5'-benzodioxyl)-2-hexane (6,3%) et 6-(3',5'-benzodioxyl)-2-octane (0,5%) ; la présence des monoterpènes hydrocarbonés comme le p-cymène et le D-limonène a été aussi observée mais en faibles teneurs (tableau 5.2).

La composition chimique des huiles essentielles varie avec le lieu de récolte. Il a été rapporté que le 2-undécane représentait le constituant majoritaire de l'huile essentielle de *Ruta montana* L. provenant du Maroc, de la Tunisie et de l'Algérie (Tipaza), mais avec des teneurs différentes : 63,97% ; 86,77% et 67% respectivement [122, 123, 50].

Les profils de composants avec les pourcentages et les temps de rétention sont représentés dans le tableau 5.2.

**Tableau 5.2:** Composition chimique de l'HE de *Ruta montana* L.

Composés	Tr (min)	Teneurs (%)
(Z)-3-hexen-1-ol-acetate	6,76	0,3
p-cymène	10,27	0,1
D-limonène	10,38	0,1
2-nonanone	11,97	1,1
Nonanal	12,29	1,0
1-nonanol	13,96	0,6
2-décanone	14,50	9,0
2-undécanone	17,02	67,0
1-undécanol	18,51	1,0
2-dodécanone	19,17	4,0
2-tridécanone	21,28	2,7
2-phényloctanone	24,81	1,6
6-(3',5'-benzodioxyl)-2-hexanone	27,55	6,3
6-(3',5'-benzodioxyl)-2-octanone	31,04	0,5

#### 5.1.2.5 Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Ruta montana* L.

##### 5.1.2.5.1 Méthode Micro-atmosphère

Les résultats des testes antimicrobiens de l'HE de *Ruta montana* L. par la technique micro-atmosphérique représentés dans le tableau 5.3 montre l'efficacité de cette dernière contre tous les germes testés.

##### 5.1.2.5.2 Méthode d'Aromatogramme

L'activité antimicrobienne de l'HE de *Ruta montana* L. a été aussi évaluée par la méthode de diffusion sur disque, et les résultats relatifs à l'activité d'HE envers les bactéries et les champignons sont rapportés dans le tableau 5.3. Quatre témoins positifs ont été utilisés ; la Gentamicine et la Céfalexine comme antibiotiques de référence des bactéries, le Flazol et la Terbinafine comme antifongiques de contrôle. Les diamètres des zones d'inhibition nous ont permis d'évaluer la sensibilité ou la résistance des germes-ciblés vis-à-vis des antibiotiques de référence et de l'HE de *Ruta montana* L.

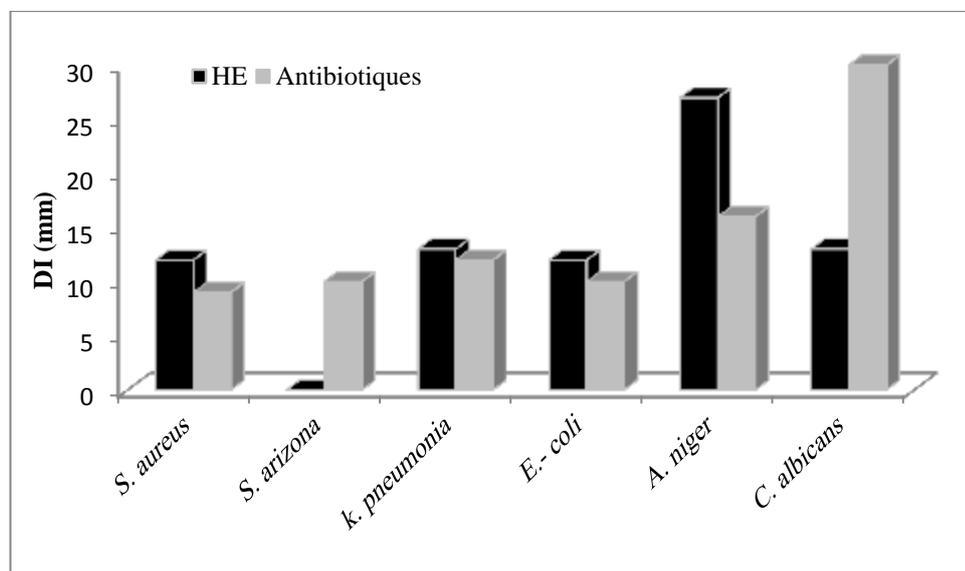
**Tableau 5.3:** Activité antimicrobienne de l'HE de *Ruta montana* L.

Microorganismes MM	MM	MA (mm)	DDA <sub>1</sub>	DDA <sub>2</sub>
Bactéries			(mm)	(mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	12	28	09
<i>Salmonella arizonae</i>	-	-	37	10
<i>klebsiella pneumoniae</i>	-	13	21	12
<i>Escherichia- coli</i>	-	12	30	10
Champignons			DDA <sub>3</sub>	DDA <sub>4</sub>
<i>Aspergillus niger</i>	-	27	16	16
<i>Candidat albicans</i>	-	13	-	30

**MM:** Méthode de Micro-atmosphère, **MA:** Méthode d'aromatogramme, **DDA :** Diamètre d'inhibition des antibiotiques de référence (1 Gentamicine, 2 Cephalexine: bactéries ; 3 Flazol, 4 Terbinafine : champignons)

- : absence de la croissance bactérienne ; + : Présence de la croissance bactérienne

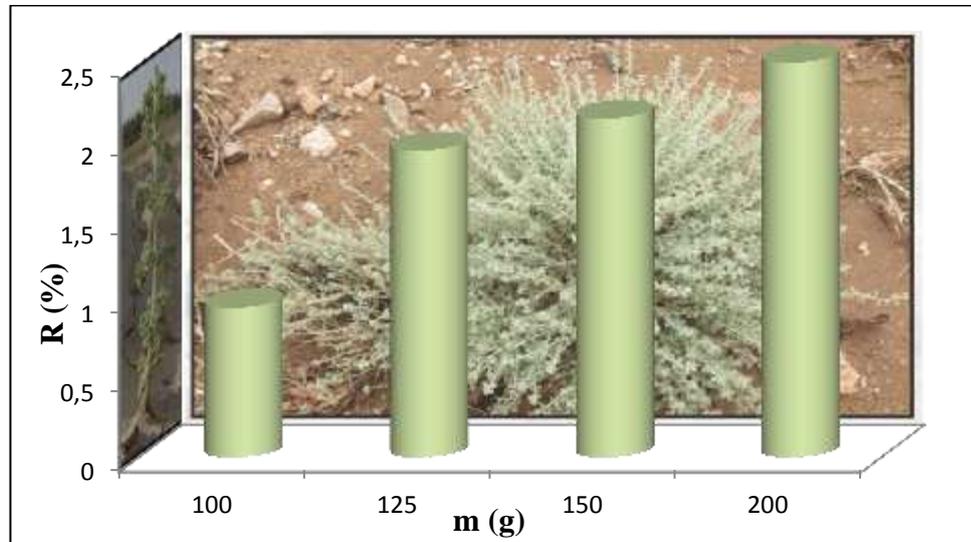
Les diamètres d'inhibition des bactéries, générés par l'HE, sont inférieurs à ceux produits par la gentamicine mais comparable à ceux de la céfalexine, avec des diamètres d'inhibition de 12 mm contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia- coli*, et 13 mm contre *klebsiella pneumonia*. La souche Gram - *klebsiella pneumonia* s'est avéré la plus résistante à l'HE. L'HE de *Ruta montana* L. présentait une forte action antifongique contre *Aspergillus niger* (27 mm), supérieur à celle des antifongiques de référence mais une activité moyenne contre *Candidat albicans* (13mm).

**Figure 5.4:** Représentation de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Ruta montana* L.

### 5.1.3 Huile essentielle d'*Artemisia judaica* L.

#### 5.1.3.1 Rendement

Les rendements d'HE d'*Artemisia judaica* L. obtenus par hydrodistillation en fonction de la matière végétale sont représentés dans la figure 5.5 :



**Figure 5.5:** Représentation des différents rendements en HE d'*Artemisia Judaica* L.

Le rendement d'extraction de l'HE d'*Artemisia Judaica* L. varie en fonction de la quantité et de la partie aérienne du végétale. La présence des tiges en quantité importante que celle des feuilles influe sur le rendement d'HE, où les rendements les plus élevés ont été obtenus avec les extractions contenant majoritairement les feuilles. Une étude sur l'influence de la masse et le temps d'extraction sur le rendement a été réalisée où le rendement atteint son maximum avec 200 g de la plante sèche avec un rendement d'environ (2,5%). L'*Artemisia judaica* L. provenant de Tamanrasset au moment de croissance a fourni un rendement en HE plus élevé (2-3,5%) par rapport à celle récoltée au moment de floraison (0,96-1,6%) [67, 66, 124].

#### 5.1.3.2 Détermination des caractéristiques physiques et organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques d'HE<sub>AJ</sub> sont représentées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 5.4:** caractéristiques physiques et organoleptiques de l'HE<sub>AJ</sub>

	Couleur	Odeur	$\eta_D^{20}$	$d^{20}$	$R_f$ CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> (1:1 v/v)
HE <sub>AJ</sub>	Jaune foncé	caractéristique de la plante	1,4818	0,942	0,71

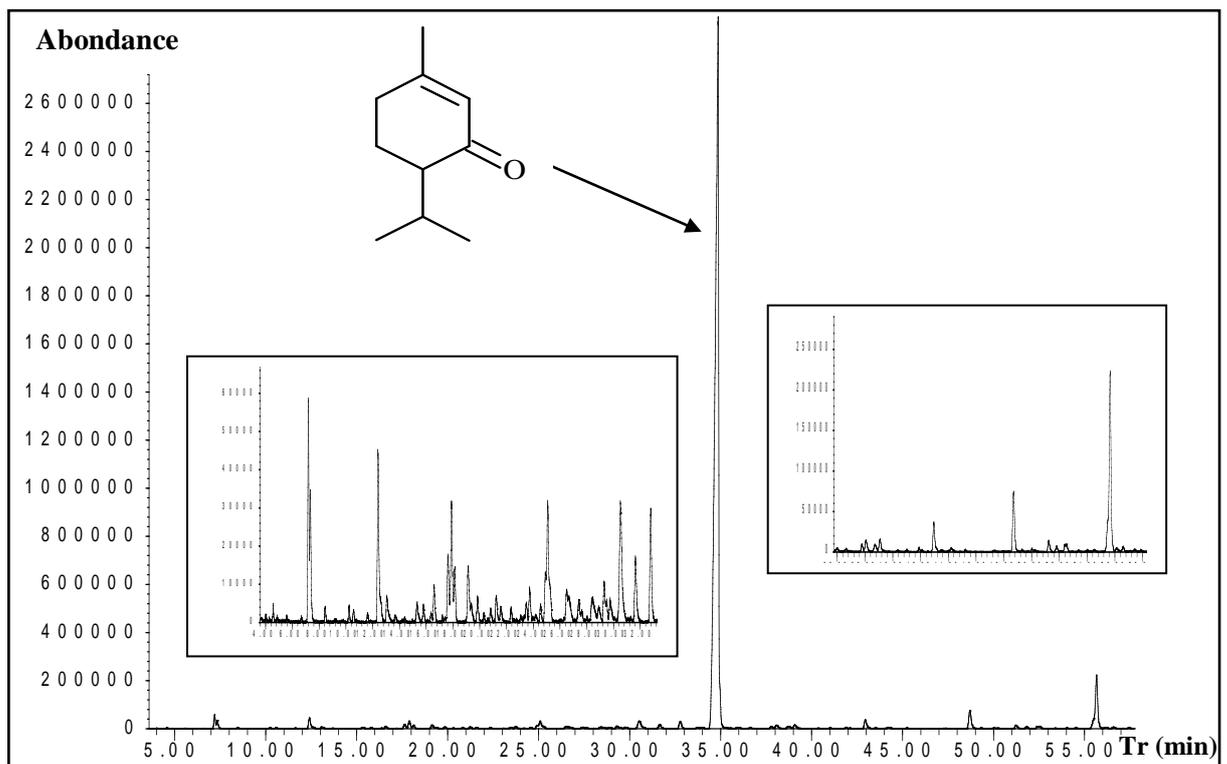
### 5.1.3.3 Caractérisation par UV-vis et IR

Le spectre UV-Vis (Annexe 2) de l'HE d'*Artemisia judaica* L. 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 (-C=C-) présente au sein des constituants de l'HE. Cependant, le deuxième pic situé à 276 nm caractéristique de la transition électronique  $n \rightarrow \pi^*$  est relative au groupement (C=O) des cétones.

Le spectre IRTF (Annexe 2) de l'HE d'*Artemisia judaica* L. est caractérisé par la présence d'une bande située à  $3481,43 \text{ cm}^{-1}$  responsable de la vibration d'élongation de la fonction OH ; trois pics situés à  $2871$  ;  $2934$  et  $2959 \text{ cm}^{-1}$  responsables de la vibration d'élongation de la liaison -C-H des groupements CH, CH<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub> respectivement ainsi que la liaison =C-H à  $3029 \text{ cm}^{-1}$  ont été détectés ; des pics caractéristiques de la fonction (C=O) des cétones cycliques à  $1665$  et  $1720 \text{ cm}^{-1}$ , et des esters à  $1767$ ,  $1718$  et  $1630 \text{ cm}^{-1}$  ont été détectés, ce qui indique que l'HE est riche en composés carbonylés.

### 5.1.3.4 Caractérisation par CPG/SM

Le chromatogramme de l'armoise de judée représenté dans la figure 5.6 montre que cette HE comporte un seul composé majoritaire à environ 35 min.



**Figure 5.6:** Chromatogramme de l'HE d'*Artemisia judaica* L.

L'identification de l'HE d'*Artemisia judaica* L. rapportée dans le tableau 5.5 a révélé la prédominance des cétones cycliques, majoritairement le pipéritone (91,77%) suivi par le davanone (5,20%); on remarque aussi la présence des esters terpéniques comme l'isovalérate d'éthyle (0,43%) et le cinnamate d'éthyle (1,63%); d'autres composés ont été détectés en faibles teneurs tel que le p-cymène (0,66%) et le davana ether (0,31%).

Ces résultats sont en accord avec la littérature où l'analyse chimique de l'HE d'*Artemisia judaica* L. a fait l'objet de plusieurs travaux permettant l'identification de cette HE dans le monde, En Algérie, le pipéritone a été révélé comme composé majoritaire dans cette espèce, récoltée à Tamanrasset, avec des teneurs plus élevées dans la période de croissance végétative (72.68%), qu'au moment de floraisons (65,88% et 66,17%) [67, 66, 124].

Les spectres de masses des différents constituants de l'HE sont représentés dans l'Annexe 2.

**Tableau 5.5:** Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* L.

Composés	Tr (min)	Teneurs (%)
Isovalérate d'éthyle	7,18	2,16
p-cymène	17,89	1,62
Pipéritone	34,67	86,48
Cinnamate d'éthyle	48,69	3,24
Davanone	55,67	6,48

### 5.1.3.5 Activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* L.

#### 5.1.3.5.1 Méthode Micro-atmosphère

L'HE d'*Artemisia judaica* L. présentait une forte activité antibactérienne par la méthode micro-atmosphérique contre tous les germes testés (tableau 5.6).

#### 5.1.3.5.2 Méthode d'Aromatogramme

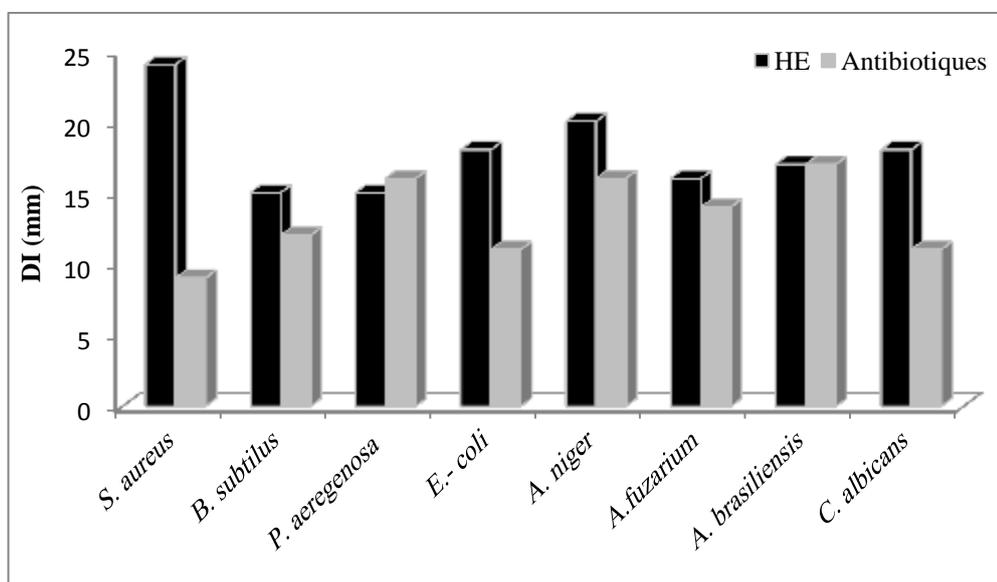
Les résultats de l'aromatogramme représentés dans le tableau 5.6 montrent l'efficacité de l'HE d'*Artemisia judaica* L. en tant qu'agent antibactérien avec des diamètres d'inhibition de 18 mm contre *Eschérichia coli*, 24 mm contre *staphylococcus aureus* et 15 mm contre *Bacillus subtilis* et *Pseudomonace aeregenosa*, cette HE a fourni aussi une forte activité antifongique contre toutes les souches fongiques testés avec des diamètres d'inhibition de 16- 20 mm.

**Tableau 5.6:** Activité antimicrobienne de l'HE d'*Artemisia judaïca* L.

Microorganismes MM	MM	MA (mm)	DDA <sub>1</sub> (mm)	DDA 2 (mm)
Bactéries				
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	24	09	12
<i>Bacillus subtilis</i>	-	15	12	13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	15	16	07
<i>Escherichia- coli</i>	-	18	11	11
Champignons				
<i>Aspergillus niger</i>	-	20	16	10
<i>Aspergillus fuzarium</i>	-	16	14	10
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	-	17	17	15
<i>Candidat albicans</i>	-	18	11	07

**MM:** Méthode de Micro-atmosphère, **MA:** Méthode d'aromatogramme, **DDA :** Diamètre d'inhibition des antibiotiques de référence (Cephalexine 1 : bactéries, metronidazole 2 : champignons) ; - : absence de la croissance bactérienne + : Présence de la croissance bactérienne.

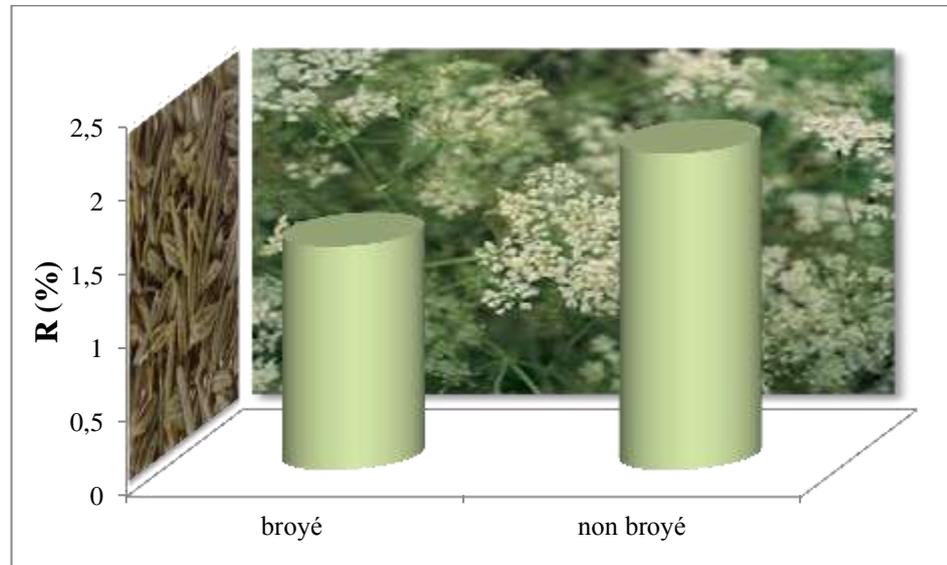
Les diamètres d'inhibition générés par l'HE sont comparables à ceux des antibiotiques de références, cette activité est dû essentiellement à la présence de pipéritone en quantité importante dans l'HE, ce dernier est connu pour son activité antimicrobienne déjà étudiée [125], ainsi que pour l'effet synergique d'autres constituants de l'HE.

**Figure 5.7:** Représentation de l'activité antimicrobienne de l'HE d'*Artemisia judaïca* L.

#### 5.1.4 Huile essentielle de *Cuminum cyminum* L.

##### 5.1.4.1 Rendement

Les rendements moyens en huile essentielle des graines de cumin sèche, obtenus par hydrodistillation sont représentés dans la figure 5.8.



**Figure 5.8:** Représentation des différents rendements en HE de *Cuminum cyminum* L.

L'hydrodistillation des graines de cumin a fourni une HE de couleur jaunâtre avec un rendement moyen de (2,15%), la teneur des graines non broyées en HE était plus élevée par rapport à celle obtenue à partir des graines broyées (1,52%) ; ceci peut être attribué à la grande volatilité de cette HE. Ces résultats restent en accord avec ceux cités dans la littérature, du fait le rendement en HE du cumin semble plus important que celui mentionné en Algérie [126] (1,02%), et inférieur à celui trouvé au Maroc (5,27%) [127].

##### 5.1.4.2 Caractéristiques physiques et organoleptiques

Les caractéristiques physiques et organoleptiques des graines de cumin sont rapportées dans le tableau 5.7.

**Tableau 5.7:** Propriétés physiques et organoleptiques de l'HE de *Cuminum cyminum* L.

HE	Couleur	Odeur	$\eta_D^{20}$	$d^{20}$
<i>C. cyminum</i> . L	Jaune claire	anisée	1,5184	0,942

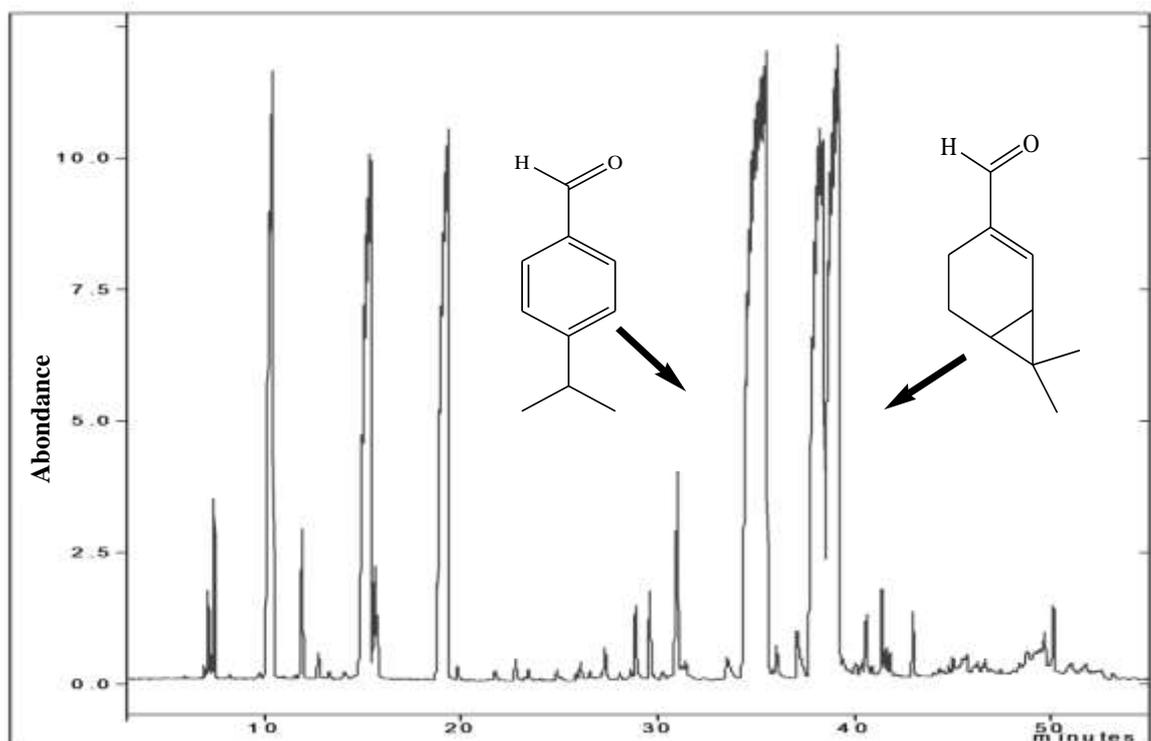
#### 5.1.4.3 Caractérisation par UV-vis et IRTF

Le spectre UV-Vis de l'HE de *Cuminum cyminum* (Annexe 3) montre la présence d'un pic de forte intensité localisé à 200 nm attribué à l'excitation électronique  $\pi \rightarrow \pi^*$  de la fonction alcène (-C=C-), un deuxième pic d'intensité moyenne est situé à 255 nm caractéristique de la transition électronique  $n \rightarrow \pi^*$  du groupement carbonyle C=O des aldéhydes, cependant un pic situé à 315 nm spécifique à l'excitation électronique  $n \rightarrow \pi^*$  est relative à un système conjugué d'un noyau aromatique.

Le spectre IRTF de l'HE de *Cuminum cyminum* L. (Annexe 3) montre la présence de trois pics responsables de la vibration d'élongation de la liaison C-H situés à 2961, 2929 et 2871  $\text{cm}^{-1}$  relatifs aux groupements  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  et CH respectivement, la présence des aldéhydes insaturés a été démontrée par la présence de deux pics de forte intensité relatifs à la vibration d'élongation de la liaison C=O à 1689  $\text{cm}^{-1}$  et 1700  $\text{cm}^{-1}$ , ainsi par la présence d'un pic faible de la liaison CH (aldéhyde) à 2717  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 5.1.4.4 Caractérisation par CPG/SM

Le chromatogramme de l'HE de cumin représenté dans la figure 5.9 montre la richesse de cette dernière en constituents.



**Figure 5.9:** Chromatogramme de l'HE des graines de cumin

L'identification de l'HE de *Cuminum cyminum* par CPG/SM selon leurs spectres de masse (Annexe 3) a permis l'identification de 17 composés, représentés avec leurs indices de rétention dans le tableau 5.8. Les aldéhydes représentent la classe la plus dominante des composés de l'HE (47,61%), où le 2-carén-10-al (25,91%), le cuminaldéhyde (21,60%), ainsi que le phellandral (0,1 %) étaient les principaux composants ; leurs abondances relatives étaient suivies d'alcools (30,84%) ; quelques monoterpènes sont aussi présents comme le  $\alpha$  et le  $\beta$ -pinène (1,06% ; 2,93%), le p-cymène (6,48%), le limonène (0,91%) et le  $\delta$ -terpinène (7,88%).

Des études antérieures ont trouvé des compositions chimiques similaires pour cette HE, le cuminaldéhyde a été révélé comme constituant principale de l'HE de cumin provenant de la Chine (36,3%), du Mexique (22,03%) et de la Tunisie (39,48%) [128, 73, 129].

**Tableau 5.8:** Composition chimique de l'HE de cumin

Composés	Tr (min)	Teneurs (%)
$\alpha$ -Thujène	7,14	0,44
$\alpha$ -Pinène	7,48	1,06
$\beta$ - Pinène	10,22	2,93
Camphène	11,94	1,31
p-Cymène	15,41	6,48
D-Limonène	15,74	0,91
$\gamma$ - Terpinène	19,00	7,88
$\delta$ -Carène	22,77	0,20
trans-2,4-Nonadiène	27,31	0,35
(cis)-p-Mentha-2,8-diène-1-ol	28,87	0,73
Terpinène-4-ol	29,58	0,86
(cis)-p-Mentha-1,5-diène-8-ol	31,01	2,67
Cuminaldéhyde	34,48	21,60
o-Cuménol	36,03	0,26
Phellandral	37,04	0,10
2-Carène-10-al	38,54	25,91
$\alpha$ -2-Propényl-benzène-méthanol	39,14	26,32

#### 5.1.4.5 Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cuminum cyminum* L.

##### 5.1.4.5.1 Méthode Micro-atmosphère

L'HE de *Cuminum cyminum*. L. présentait une très forte activité antibactérienne par la méthode micro-atmosphérique contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia-coli* ; par contre les souches *Pseudomonace aeregenosa* et *Candidat albicans* sont avérées résistantes (tableau 5.9).

##### 5.1.4.5.2 Méthode d'Aromatogramme

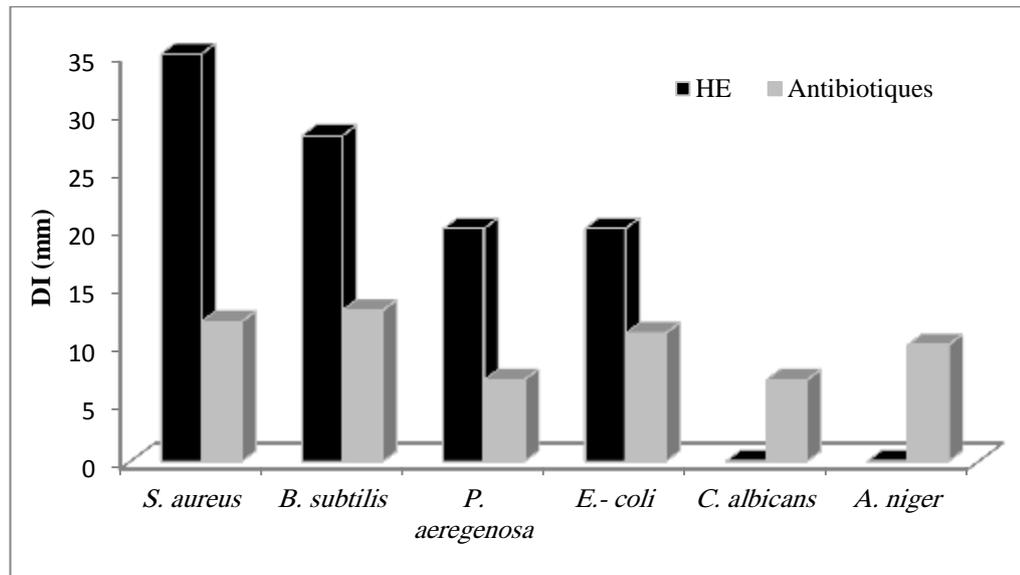
Les résultats de l'aromatogramme représentés dans le tableau 5.9 montrent que l'HE des graines de cumin possède une forte activité antibactérienne, spécialement contre les souches Gram+, où le plus grand diamètre d'inhibition a été observé (35 mm) contre la souche *Staphylococcus aureus* ; les souches Gram- *Pseudomonas aerogenosa* et *Escherichia- coli* ont été moins sensible avec des diamètres d'inhibition de 20 mm ; d'un autre côté, aucune activité antifongique n'a été observée vis-à-vis les souches fongiques *candida albicans* et *Aspergillus niger* qui ont montré une résistance envers cette HE.

**Tableau 5.9:** Activité antimicrobienne de l'HE de *Cuminum cyminum* L.

<b>Microorganismes MM</b>	<b>MM</b>	<b>MA (mm)</b>	<b>DDA 1 (mm)</b>	<b>DDA 2 (mm)</b>
<b>Bactéries</b>				
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	35	09	12
<i>Bacillus subtilis</i>	-	28	12	13
<i>Pseudomonace aeregenosa</i>	+	20	16	07
<i>Escherichia- coli</i>	-	20	11	11
<b>Champignon</b>				
<i>Aspergillus niger</i>	+	-	16	10
<i>Candidat albicans</i>	+	-	11	07

**MM:** Méthode de Micro-atmosphère, **MA:** Méthode d'aromatogramme, **DDA :** Diamètre d'inhibition des antibiotiques de référence (Cephalexine 1 : bactéries, metronidazole 2 : champignons) ; - : absence de la croissance bactérienne + : Présence de la croissance bactérienne.

Les zones d'inhibition générées par l'HE des graines de cumin illustrées dans la Figure 5.10 sont nettement supérieures à ceux générées par la Céphalexine, spécialement contre la souche *Staphilococcus aureus*.

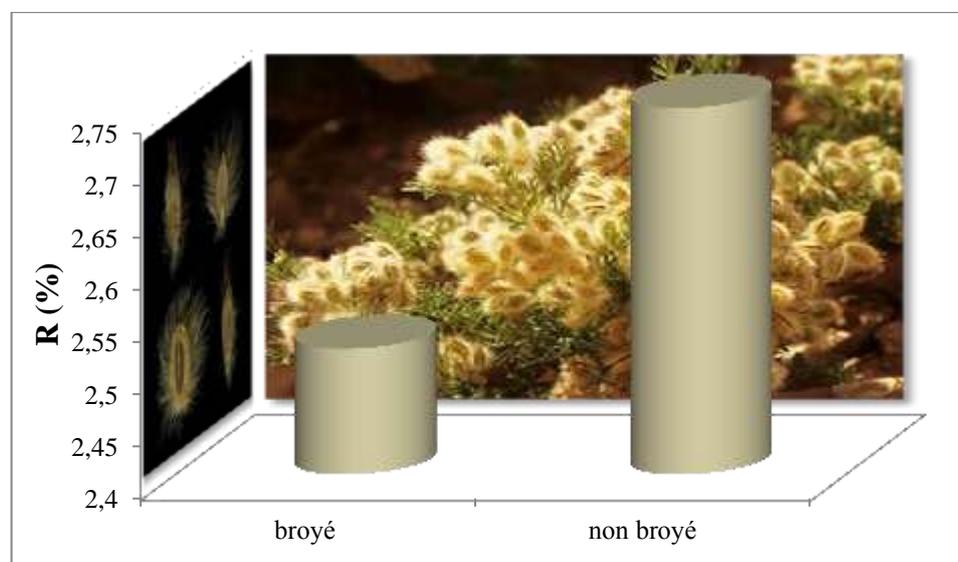


**Figure 5.10:** Représentation de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Cuminum cyminum* L.

### 5.1.5 Huile essentielle d'*Ammodaucus leucotrichus* subsp. *leucotrichus*

#### 5.1.5.1 Rendement

Le rendement d'extraction de l'HE de fruit de cumin velu par hydrodistillation a été calculé et représenté dans la figure 5.11.



**Figure 5.11:** Représentation des rendements en HE d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Les fruits de cumin velu ont fourni une HE de couleur bleu avec un rendement moyen estimé de 2,4 %. Nos résultats sont en accord avec plusieurs travaux cités dans la littérature, où les fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* récoltés dans trois régions d'Algérie ont fourni des huiles essentielles avec des rendements de 2,1 ; 2,0 et 1,3% dans le Debdeb (Illizi), la région de Messaad (Djelfa) et Ghardaya respectivement en fonction du poids sec de l'échantillon [130,81]. Il a été observé que l'extraction de l'HE à partir des fruits broyés a permis de récupérer une quantité aussi importante (2,52 %) par rapport à l'extraction à partir des fruits non broyés (2,27 %) pour la même espèce.

#### 5.1.5.2 Caractéristiques physiques et organoleptiques

Le tableau 5.10 représente les caractéristiques physiques et organoleptiques de l'HE de cumin velu.

**Tableau 5.10:** Propriétés physiques et organoleptiques de l'HE d'*Ammodaucus leucotrichus*.

HE	Couleur	Odeur	$\eta_D^{20}$	$d^{20}$
<i>A. leucotrichus</i>	Bleu	anisée	1,5004	0,937

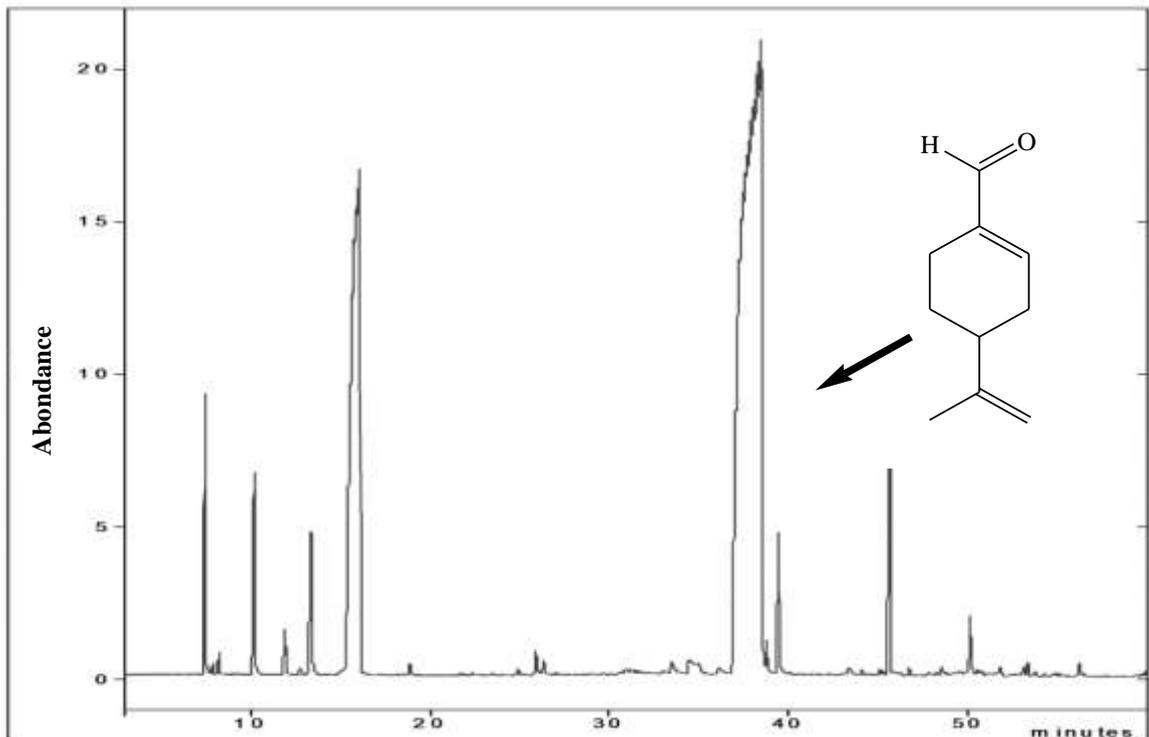
#### 5.1.5.3 Caractérisation par UV-viset IRTF

Le spectre UV-Vis de l'HE d'*A.leucotrichus* (Annexe 4) montre la présence d'un fort pic localisé à 210 nm attribué à l'excitation électronique  $\pi \rightarrow \pi^*$  de la fonction alcène, un deuxième pic situé à 275 nm caractéristique de la transition électronique  $n \rightarrow \pi^*$  est attribué au groupement carbonyle C=O des aldéhydes présents dans l'HE.

Le spectre IRTF de l'HE d'*A.leucotrichus* (Annexe 4) est caractérisé par la présence d'un pic d'élongation de faible intensité relatif à la liaison (=CH) situé à  $3081 \text{ cm}^{-1}$  et de la liaison (C=C) à  $1643 \text{ cm}^{-1}$ , deux pics de vibration d'élongation de la liaison C-H situés à  $2965$  et  $2920 \text{ cm}^{-1}$  relatifs aux groupements  $\text{CH}_3$  et  $\text{CH}_2$  respectivement, un aldéhyde insaturé est caractérisé par un pic fort d'élongation de la liaison C=O à  $1682 \text{ cm}^{-1}$  et un pic faible de la liaison CH (aldéhyde) à  $2717 \text{ cm}^{-1}$ .

#### 5.1.5.4 Caractérisation par CPG/SM

Le chromatogramme de l'HE de cumin velu obtenu par chromatographie en phase gazeuse et représenté dans la figure 5.12 montre la présence d'un seul composé majoritaire situé à 48,01 min.



**Figure 5.12:** Chromatogramme de l'HE de cumin velu

A partir des données recueillies du chromatogramme (Figure 5.12) et des spectres de la spectrométrie de masse (Annexe 4) et après traitement des résultats représentés dans le tableau 5.11, nous avons pu mettre en évidence 9 composés chimiques dans l'huile essentielle des fruits d'*Ammodaucus leucotrichus*, majoritairement le périllaldéhyde (48,01%) suivi par le limonène (19,62%) ; d'autre monoterpène sont aussi présent comme le  $\alpha$  et le  $\beta$ -pinène (5,96%, 5,72%) et le camphène (1,48%). Il a été aussi remarqué la présence de quelques alcools comme: le cis-p-Mentha-1(7),8-dièn-2-ol et le Périllalcool (0,59 et 4,75%); le Méthyl perillate est aussi present avec une teneur de (8,42 %).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés dans la littérature où l'HE de cumin velu récolté au désert Algérien est connu par sa richesse en périllaldéhyde et en limonène.

- L'HE d'*Ammodaucus leucotrichus* récolté en février du Sahara algérien contenait 64,8% de monoterpènes oxygénés et 34,86% d'hydrocarbures monoterpènes. Il a été remarqué que le constituant principal était le périllaldéhyde (64,66%), suivi du D- limonène (26,99%) [10].
- Les principaux composés de trois échantillons de la même HE récolté en novembre de la région de Béni-Abbés (Béchar) étaient le périllaldéhyde (87,0-87,9%) et le limonène (7,4-8,2%) [131].

**Tableau 5.11:** Composition chimique de l'HE de cumin velu

Composés	Tr (min)	Teneurs (%)
$\alpha$ -Pinène	7,48	5,96
$\beta$ - Pinène	10,22	5,72
Camphène	11,94	1,48
$\alpha$ -Phellandrène	13,33	5,46
D-Limonène	15,74	19,62
cis-p-Mentha-1(7),8-dièn-2-ol	25,9	0,59
Périllaldéhyde	37,21	48,01
Périllalcool	39,44	4,75
Méthyl périllate	45,64	8,42

#### 5.1.5.5 Activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Ammodaucus leucotrichus*

##### 5.1.5.5.1 Méthode Micro-atmosphère

L'HE d'*Ammodaucus leucotrichus*. présentait une forte activité antibactérienne par la méthode micro-atmosphérique contre les souches *Staphilococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia- coli* ; mais n'a montré aucune efficacité contre *Pseudomonace aeregenosa* ni contre les souches fongiques testés *Aspergillus niger* et *Candidat albicans*, ces résultats sont représentés dans le Tableau 5.12.

##### 5.1.5.5.2 Méthode d'Aromatogramme

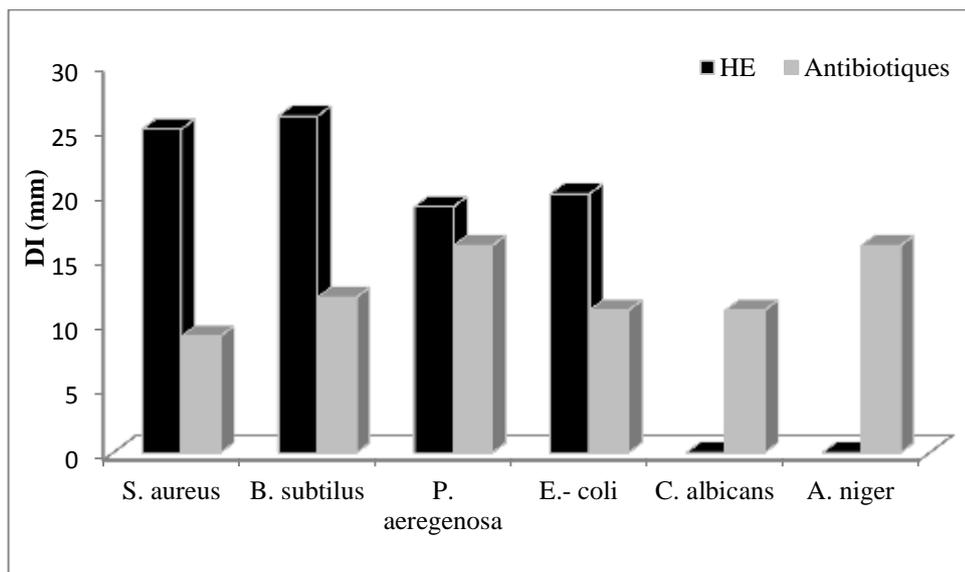
Les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE de cumin velu par la méthode de diffusion en milieu gélosé représentés dans le tableau 5.12 montre son efficacité au tant qu'agent antibactérien contre toutes les bactéries testées, en effet la souche Gram+ *Staphilococcus aureus* s'est avérée la plus sensible avec un diamètre de 25 mm, tandis que des diamètres de 19 et 20 mm ont été obtenus contre les souches Gram- *Pseudomonace aeregenosa* et *Escherichia- coli*. Les souches fongiques *Candidat albicans* et *Aspergillus niger* étaient résistantes vis-à-vis cette HE.

**Tableau 5.12:** Activité antimicrobienne de l'HE d'*Ammodaucus leucotrichus*.

Microorganismes MM	MM	MA	DDA 1	DDA2
Bactéries		(mm)	(mm)	(mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	25	09	12
<i>Bacillus subtilis</i>	-	26	12	13
<i>Pseudomonace aeregenosa</i>	+	19	16	07
<i>Escherichia- coli</i>	-	20	11	11
Champignon				
<i>Aspergillus niger</i>	+	-	16	10
<i>Candidat albicans</i>	+	-	11	07

**MM:** Méthode de Micro-atmosphère, **MA:** Méthode d'aromatogramme, **DDA :** Diamètre d'inhibition des antibiotiques de référence (Cephalexine 1 : bactéries, metronidazole 2 : champignons) ; - : absence de la croissance bactérienne + : Présence de la croissance bactérienne.

L'HE d'*Ammodaucus leucotrichus* a exhibé des zones d'inhibition supérieures à ceux exhibé par les antibiotiques de référence contre toutes les bactéries testées ; mais n'a montré aucun effet antifongique contre *Candidat albicans* et *Aspergillus niger*.

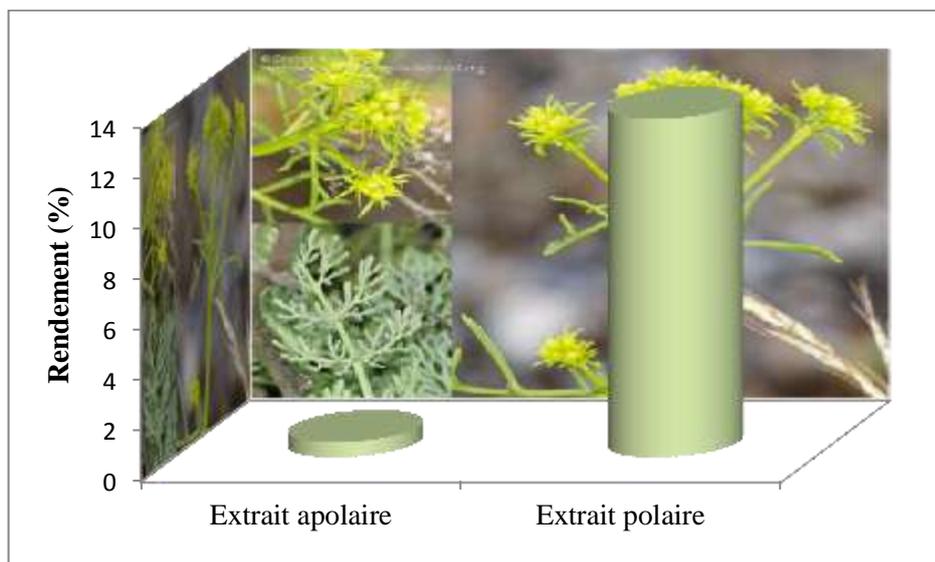
**Figure 5.13:** Représentation de l'activité antimicrobienne de l'HE d'*Ammodaucus leucotrichus*

## 5.2 Extraction des furocoumarines à partir de la plante *Ruta montana* L.

Les furocoumarines ont été obtenus à partir de la plante *Ruta montana* L. épuisée d'HE en utilisant deux solvants de polarité différente (l'éther de pétrole et le méthanol).

### 5.2.1 Rendement et propriétés des extraits

Les rendements moyens des extraits bruts polaire et apolaire de *Ruta montana* L. calculés après évaporation des solvants sont représentés dans la figure 5.14.



**Figure 5.14:** Rendements des extraits de la rue des montagnes.

L'extraction avec le méthanol a fourni une pâte noire avec un rendement moyen de (13,40 %), plus élevé par rapport à ce obtenu avec l'éther de pétrole (0,60 %).

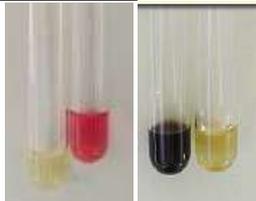
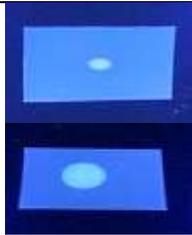
**Tableau 5.13:** Propriétés physiques des extraits de la rue des montagnes

Extrait	Aspect	Couleur	Rendement %
apolaire	Pâte huileuse	Vert foncé	0,60
polaire	Pâte collante	Noire	13,40

### 5.2.2 Etude phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les deux extraits de *Ruta montana* L. préparés en utilisant des réactifs spécifiques de révélation, des réactions de décoloration, de précipitation et des observations sous lumière ultra-violet. Les résultats sont rapportés dans le tableau 5.14.

**Tableau 5.14:** Screening phytochimique des extraits de la rue des montagnes

Métabolites secondaires	Extrait polaire	Extrait apolaire	Photos
Alcaloïdes	++	-	
<u>Les polyphénols</u> Flavonoïdes Tanins	++ +	- -	
Coumarines	++	+++	

+++ : Fortement positif, ++: Moyennement positif, +: Faiblement positif, - : Négatif.

Les tests phytochimiques réalisés nous ont permis de mettre en évidence la richesse de cette plante en différents métabolites secondaires. Les résultats obtenus ont révélé la présence de trois familles chimiques dans l'extrait polaire de *Ruta montana* L., les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes et tannins) et les coumarines. Cependant, nous observons l'absence des alcaloïdes et des polyphénols dans l'extrait apolaire, d'un autre côté les coumarines ont été détectées en quantité plus importante dans l'extrait apolaire par rapport à l'extrait polaire, ceci a été observé par l'apparition des taches fluorescentes sous la lumière UV.

Les résultats des screening phytochimiques des extraits des espèces de *Ruta* étudiés par des auteurs montre la présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, de coumarines, de tanins, de glycosides, de stérols et de triterpènes comme constituants actifs possibles [132-134].

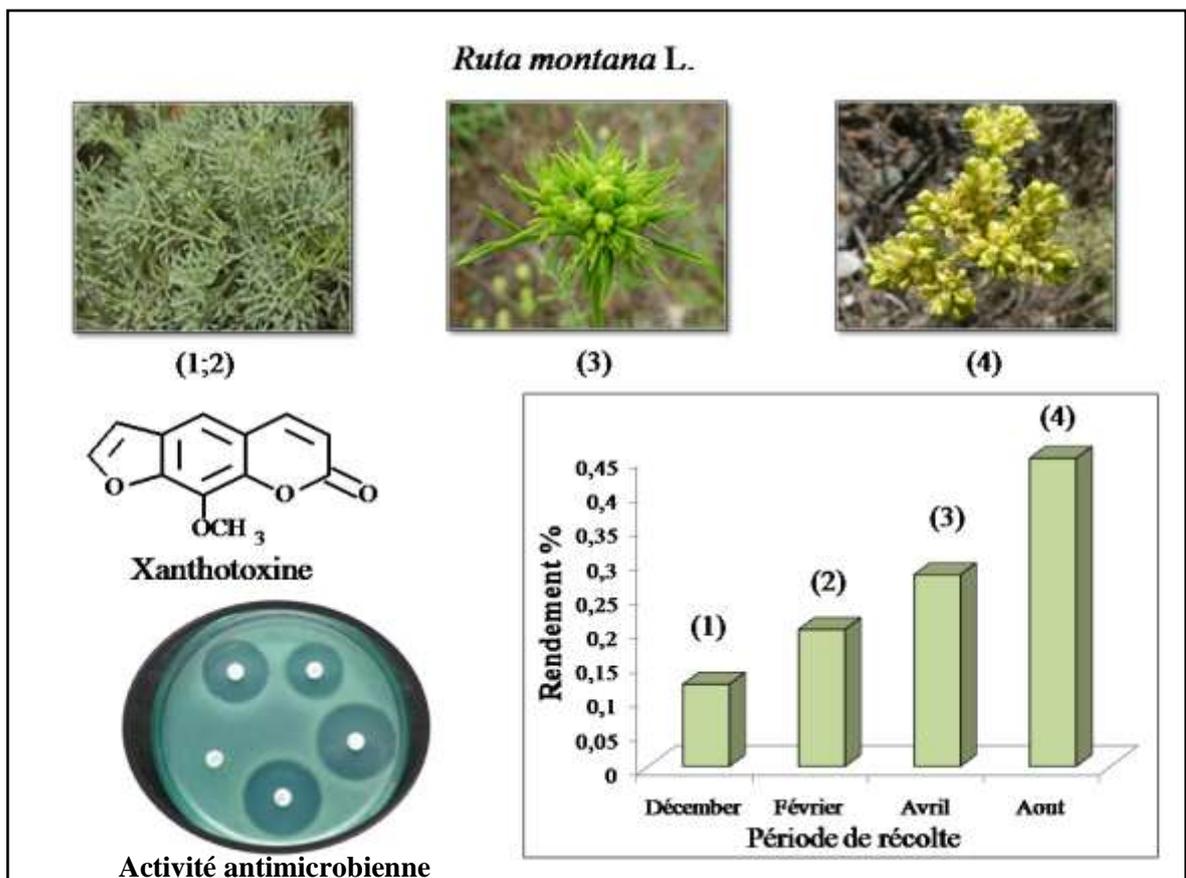
### 5.2.3 Isolation du Xanthotoxine

#### 5.2.3.1 Introduction

Les furocoumarines sont une classe de composés chimiques aux propriétés phototoxiques, anti-inflammatoires, antioxydantes, anticancéreuses, antibactériennes, et antifongiques [135-139]; on les trouve naturellement dans de nombreuses espèces végétales, y compris les *ombellifères*, les *rutacées*, les *légumineuses* et les *mimosas* [140].

*Ruta chalepensis*, *R. angustifolia*, *R. graveolens* et *R. montana* (Rutaceae) ont été étudiées pour évaluer leur potentiel de production de furanocoumarines (psoralène, xanthotoxine, bergaptène, isopimpinelline) [141-145]; il a été rapporté que l'espèce *Ruta* contenait de 4 à 17 mg. g<sup>-1</sup> poids sec de furanocoumarines; ces concentrations étaient plus élevées que celles trouvées dans d'autres familles connues pour produire les mêmes composés [146].

Dans ce contexte, la xanthotoxine a été isolée à partir des parties aériennes de *Ruta montana* L. récoltées en Algérie et l'effet de la saison sur le rendement a été étudié. L'activité antimicrobienne de la xanthotoxine identifiée par les différentes méthodes spectroscopiques a été évaluée vis-à-vis trois souches microbiennes et quatre champignons.

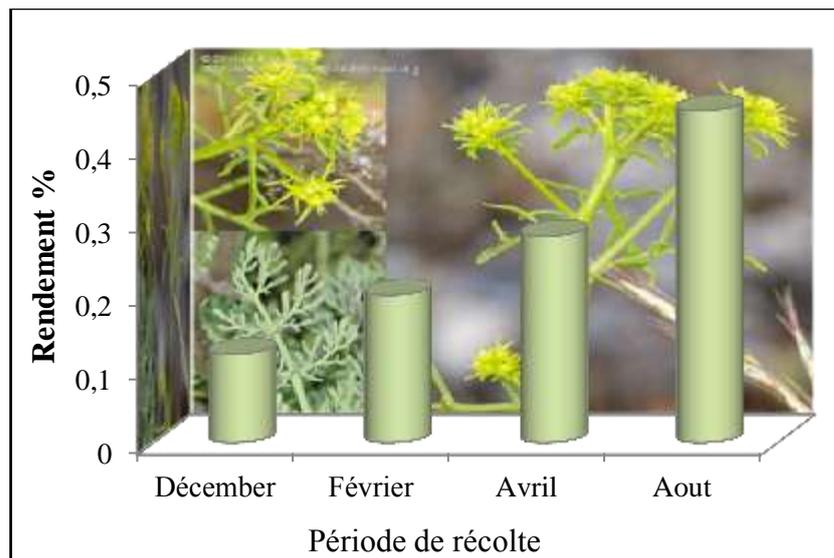


**Figure 5.15:** Résumé graphique de l'isolation du xanthotoxine.

### 5.2.3.2 Rendements en furocoumarines

Il a été remarqué, la formation d'un précipité blanc dans l'extrait apolaire de *Ruta montana* L., après diminution du volume de solvant d'extraction (éther de pétrole), et refroidissement du mélange ; ce précipité (xanthotoxine, identifié par la suite) a été filtré, purifié puis caractérisé par les différentes méthodes spectroscopiques.

Les rendements en xanthotoxine varient en fonction de la période de récolte, ces rendements ont été calculés et représentés dans la figure 5.16.



**Figure 5.16:** Représentation des rendements en xanthotoxine selon le mois de récolte.

La xanthotoxine a été obtenue avec un faible rendement qui varie entre 0,12 et 0,45%, le rendement le plus élevé (0,45%) a été obtenu au mois d'Aout (floraison) alors que le plus faible rendement (0,12%) a été obtenu en Décembre.

Généralement la teneur en furocoumarines est fonction de l'état physiologique de la plante, notamment chez certaines *Ombellifères*. Innocenti et al (1976) [147] ont enregistré chez le persil (*Petroselinum sativum*) des teneurs en furocoumarines totales variant de 20 à 200 ppm selon le mois de récolte. Les plantes récoltées en automne et ayant subi les fortes températures estivales présentaient les concentrations les plus fortes, montrant, de fait, que les furocoumarines sont produites de manière plus intensive quand la plante est soumise à certains facteurs de stress (déficit hydrique). Chaudhary et al (1985) [148] ont enregistré des teneurs en furocoumarines totales jusqu'à 5 fois plus fortes pour *Apiumgraveolens* (céleri) infesté par un *Sclerotinia* par rapport à des individus sains. Le même phénomène a été observé chez le panais, *Pastinaca sativa* [149] attaqué par les *Ceratocystis*. Il semble

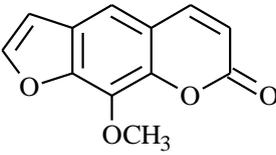
que les furocoumarines linéaires (psoralènes, 5MOP, 8MOP et 5-8MOP) soient particulièrement impliquées dans la défense de la plante contre certains pathogènes chez les *Ombellifères* et jouent donc le rôle de phytoalexines [150,151].

### 5.2.3.3 Caractérisation du xanthotoxine

#### 5.2.3.3.1 Caractéristiques physiques et organoleptiques

La xanthotoxine, méthoxsalène ou 8-méthoxy-psoralène a cristallisé sous forme de poudre incolore avec un point de fusion entre 145 à 147 °C, comme représenté dans le tableau 5.15.

**Tableau 5.15:** Caractéristiques physiques et organoleptiques de Xanthotoxine.

Produit	Aspect	Couleur	P <sub>f</sub> (°C)	R <sub>f</sub> CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> / C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> (7 :3 V/V)	Structure
Xanthotoxine	Solide	Blanc	144	0,46	

#### 5.2.3.3.2 Caractérisation par UV-viset IRTF

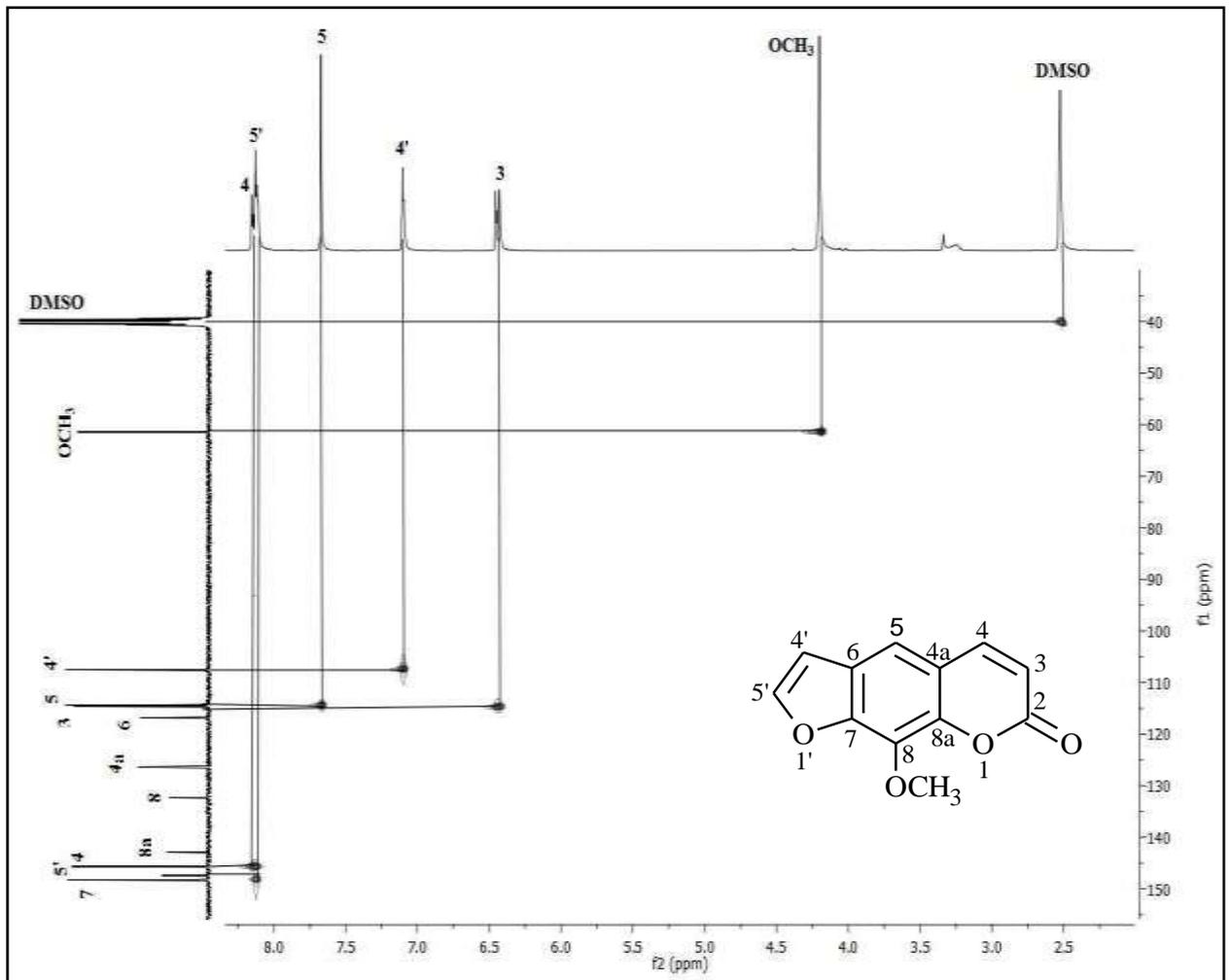
Le xanthotoxine présentait une fluorescence jaune sous la lumière UV (365 nm), les coumarines généralement présentes des spectres UV-vis avec 4 maximums à 210-350 nm [152, 153], donc le spectre UV-vis du xanthotoxine isolée (Annexe 5), solubilisée dans le méthanol, caractérisé par les bandes ( $\lambda = 205, 244, 293$  et  $333$  nm) indique la présence du noyau coumarine.

Le spectre infrarouge du xanthotoxine (Annexe 5) est caractérisé par la présence d'un pic caractéristique de la vibration de la liaison =CH aromatique à  $3117\text{ cm}^{-1}$  relatif au noyau benzène, la présence d'un fort pic d'absorption à  $1705\text{ cm}^{-1}$  caractéristique de la fonction carbonyle C=O est relative au pyrone-carbonyle ( $\alpha$ -pyrone), tandis que la forte absorption à  $1681\text{ cm}^{-1}$  est dû à la fréquence d'étirement de la liaison C = C du noyau pyrone. Les pics à  $1332, 1150$  et  $1098\text{ cm}^{-1}$  sont considérés d'être des vibrations d'étirement de la liaison C-O caractéristiques au noyau furane et celle de noyau coumarine.

### 5.2.3.3 Caractérisation par RMN :

Le spectre RMN  $^1\text{H}$  de la xanthotoxine (Annexe 5) définit les 8 protons de la molécule. Les deux doublets situés à 6,42 et 8,15 ppm ( $J = 9,5$  Hz) sont typiques d'un noyau de coumarine non substitué dans le pyrone, et sont attribués aux protons H-3 et H-4 de ce cycle. Ceci est encore corroboré par la présence d'un singulet à un proton à 7,65 relatifs au proton H-5. Le signal composé de trois protons à 4,20 ppm est affecté à un groupement méthoxy situé sur C-8, et les deux doublets situés à 7,15 et 8,13 ( $J = 2,5$  Hz) sont attribués aux protons H-4' et H-5' de cet anneau. Les signaux obtenus étaient pratiquement identiques à ceux obtenus par d'autres chercheurs [154, 155].

La structure chimique exacte du xanthotoxine a été confirmée par le spectre RMN HSQC (figure 5.17) qui permet d'attribuer les hydrogènes aux carbones qui sont directement liés.



**Figure 5.17:** Spectre RMN HSQC du xanthotoxine.

**RMN <sup>1</sup>H** (DMSO<sub>d6</sub>, 400 MHz) δ/ppm: 4,20 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6,42 (d, *J*=9,5 Hz, 1H, H-3), 7,15 (d, *J*=2,0 Hz, 1H, H-4'), 7,65 (s, 1H, H-5), 8,13 (d, *J*=2,0 Hz, 1H, H-5'), 8,15 (d, *J*=10,0 Hz, 1H, H-4)

**RMN <sup>13</sup>C** δ/ppm: 61,58 (OCH<sub>3</sub>), 107,72 (C-4), 114,01 (C-5), 114,64 (C-3), 116,92 (C-6), 125,96 (C-4a), 132,51 (C-8), 142,26 (C-8a), 145,72 (C-4), 147,32 (C-5), 147,89 (C-7), 160,18 (C-2)

#### 5.2.3.4 Activité antimicrobienne du xanthotoxine

Les résultats de l'activité antimicrobienne du xanthotoxine représentés dans le tableau 5.16 montrent l'efficacité du xanthotoxine comme agent antimicrobien. La xanthotoxine a exhibé une activité importante contre la bactérie *Bacillus subtilis* à partir de 50 mg avec des diamètres d'inhibition entre 16-33 mm ; et contre *Pseudomonace aeregenosa* à partir de 80 mg. La croissance fongique a été significativement inhibée contre tous les champignons d'*Aspergillus* testé à partir de 80 mg ; les diamètres d'inhibition les plus importants ont été observés contre la levure *Candidat albicans* (15-28 mm). Ces diamètres augmentent avec l'augmentation des concentrations.

Les coumarines sont des métabolites secondaires de grande valeur possédant un large spectre de propriétés pharmacologiques [156, 137]. Selon leurs structures, certaines coumarines présentent une forte activité antibactérienne et antifongique [157, 158] ; la xanthotoxine et d'autres furocoumaines isolés à partir de *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (*Apiaceae*) ont montrés une forte activité antimicrobienne [139].

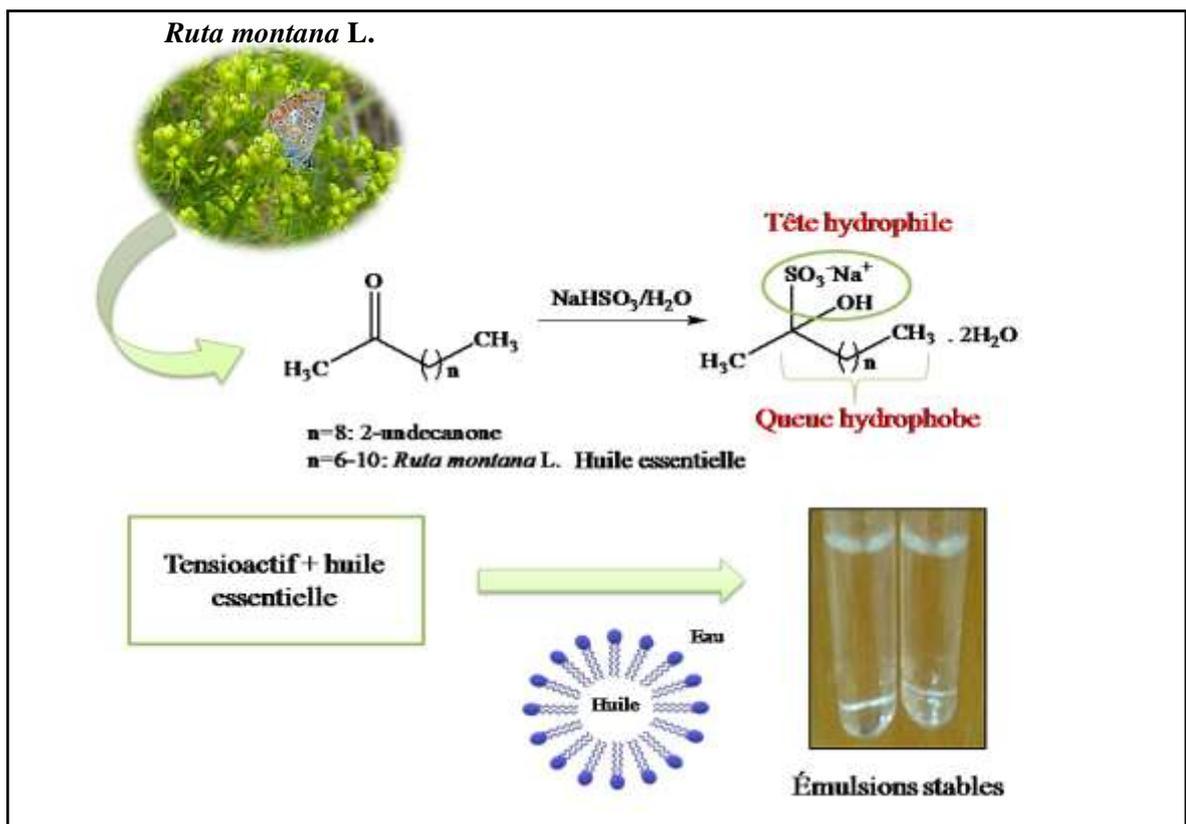
**Tableau 5.16:**Activité antimicrobienne du xanthotoxine.

Microorganismes	Xanthotoxine				Cephalexine	Flazol
	50 mg	80 mg	100 mg	150 mg	20 mg	20 mg
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	11	15	10	12
<i>Bacillus subtilis</i>	16	20	25	33	22	13
<i>Pseudomenas aeregenosa</i>	-	13	18	25	16	07
<b>Champignons</b>						
<i>Aspergillus niger</i>	-	11	14	16	15	10
<i>Aspergillus flavus</i>	-	16	18	22	12	15
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	-	12	15	18	14	10
<i>Candidat albicans</i>	15	18	22	28	-	07

### 5.3 Valorisation des huiles essentielles par héli-synthèse

#### 5.3.1 Héli-synthèse d'un tensioactif naturel à partir de *Ruta montana* L.

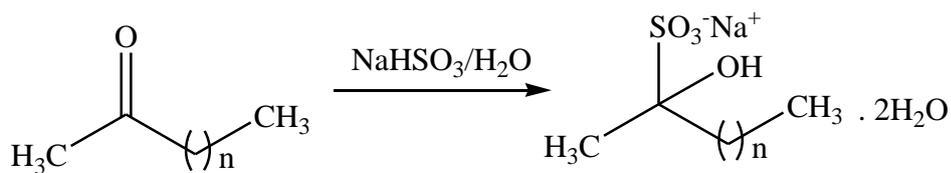
A cause des problèmes de solubilité et de volatilité des huiles essentielles, ils sont généralement utilisés dans de nombreuses applications en émulsions dans l'eau stabilisées par des émulsifiants ou une combinaison d'émulsifiants ; dans ce contexte un grand intérêt a été apporté à la recherche de développer de nouveaux agents tensioactifs, capables de s'auto-assembler sous forme de micelles permettant de solubiliser les principes actifs insolubles. De nos jours de nombreux facteurs favorisent la synthèse de nouveaux agents tensioactifs d'origine naturelle comme les facteurs économiques (instabilité du prix du pétrole brut) et les facteurs environnementaux (biodégradabilité faible et toxicité élevée de certains composés). Dans ce contexte l'hémisynthèse d'un système de tensioactif mixte, biodégradable, à base d'une queue hydrophobe naturelle à partir de l'huile essentielle de *Ruta montana* L. constituée principalement de cétones aliphatiques linéaires avec des chaînes alkyles de différentes longueurs (de C<sub>9</sub>-C<sub>13</sub>) a été effectuée ; la performance et les propriétés émulsifiantes de ce mélange de tensioactif ont été étudiées et comparées avec ceux d'un tensioactif synthétisé à base de 2-undécanone (le constituant majoritaire de cette huile essentielle) de la même manière.



**Figure 5.18:** Résumé graphique de l'hémisynthèse d'un tensioactif naturel.

### 5.3.1.1 Réaction avec l'hydrogénosulfite de sodium

Dans le présent travail le 2-hydroxyundecane-2-sulfonat de sodium (SHUS) a été synthétisé à partir du 2-undecanone dans une solution d'hydrogénosulfite de sodium; les cétones et les aldéhydes réagissent avec l'hydrogénosulfite de sodium pour donner un sel monoanionique [159], de la même manière un mélange de 2-hydroxyalkyl-2-sulfonat de sodium a été obtenu (MSHAS) par action de la solution d'hydrogénosulfite de sodium sur l'HE de *Ruta montana* L. constituée principalement de cétones aliphatiques avec des chaînes alkyles de différentes longueurs (C<sub>9</sub>-C<sub>13</sub>), majoritairement le 2-undécane. Les tensioactifs obtenus ont été étudiés autant que des alkyl sulfonates comportant un groupement hydroxyle OH.



n=8 : 2-undécane

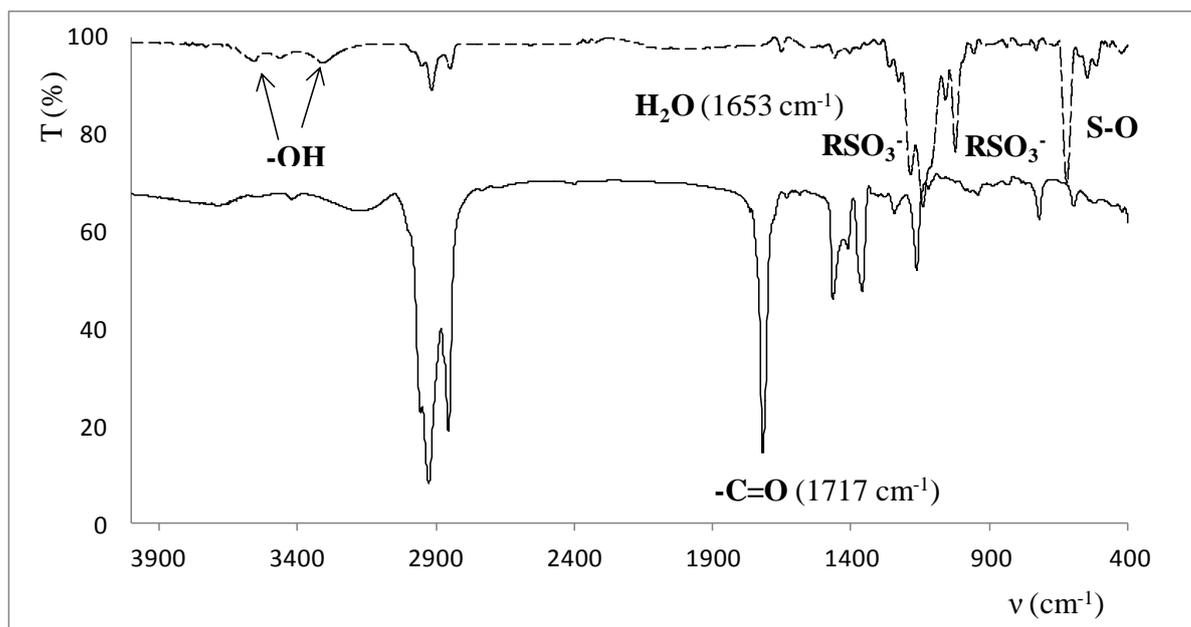
n=6-10 : HE de *Ruta montana* L.

**Figure 5.19:** Réaction d'hémisynthèse des surfactants.

Le SHUS et le MSHAS ont été obtenus sous formes de poudre blanche avec des rendements de 92% et de 84% respectivement.

### 5.3.1.2 Caractérisation par IRTF

Le spectre IRTF (Figure 5.20: —) de 2-undecanone est caractérisé par la présence d'un pic intense situé à 1717 cm<sup>-1</sup> spécifique de la vibration de la fonction carbonyle (C=O) d'une cétone qui disparaît totalement lors de la formation de SHUS (Figure 5.20: ---). Deux nouveaux pics de faibles intensités apparaissent sous formes de bandes aux environs de 3500 et 3350 cm<sup>-1</sup> attribués aux vibrations de la fonction OH de l'alcool et de l'eau de cristallisation. L'eau de cristallisation est confirmée par la présence d'un pic de déformation de la liaison OH à 1653 cm<sup>-1</sup>. La sulfonation de 2-undecanone est caractérisée par l'apparition de deux pics spécifiques aux groupements sulfonates RSO<sub>3</sub><sup>-</sup> à 1144 et 1027 cm<sup>-1</sup> respectivement, en plus d'un pic caractéristique de la liaison sulfite situé à 624 cm<sup>-1</sup> [160].



**Figure 5.20:** Spectres IRTF de SHUS (---) et de 2-undecanone (—).

### 5.3.1.3 Caractérisation par RMN

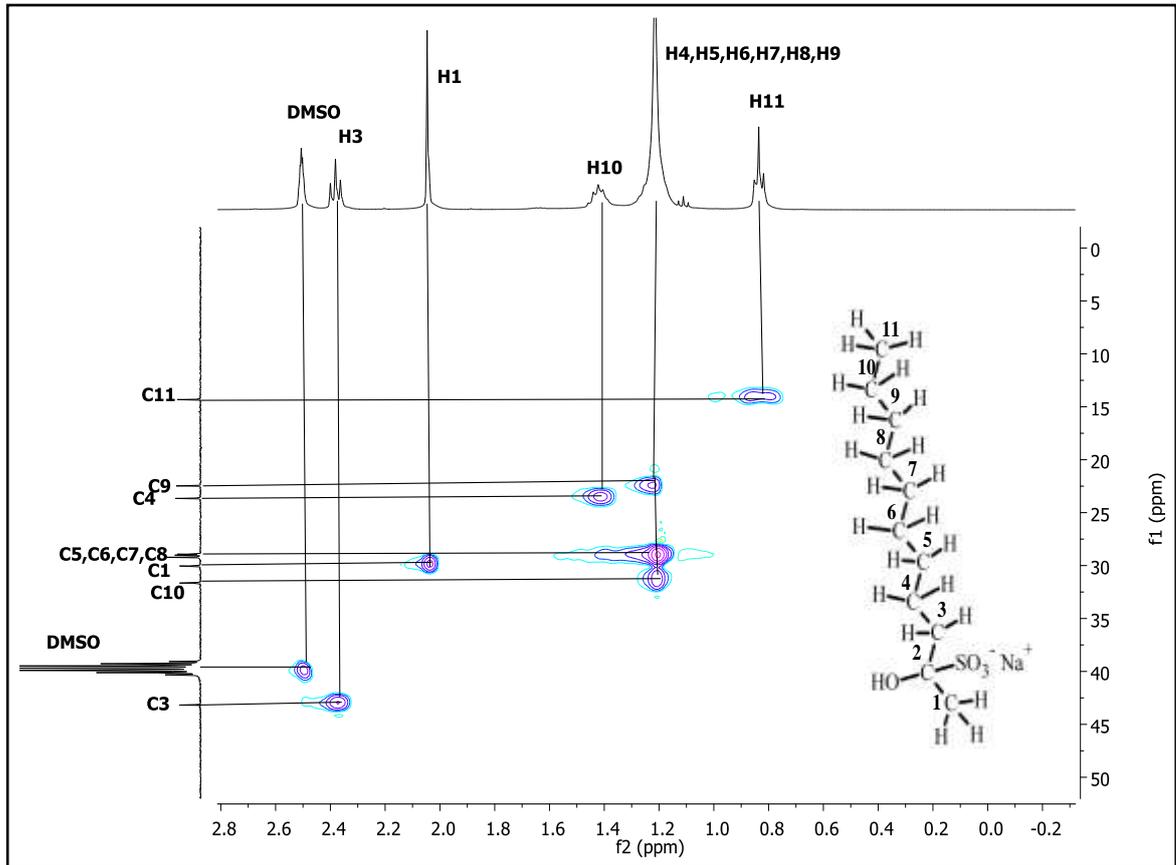
Le spectre RMN du proton  $^1\text{H}$  (Annexe 6) confirme l'apparition de la fonction alcool par l'intermédiaire du proton sous forme d'un singulet à 9,91 ppm et par conséquent l'introduction du groupement sulfonate sur le même atome de carbone.

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  : 0,84 (3 H, t,  $J=7,0$  Hz) ; 1,22 (12 H, quint) ; 1,42 (2 H, quint) ; 1,42 (2 H, quint,  $J=7,0$  Hz) ; 2,05 (3H, s) ; 2,38 (2 H, t,  $J=7,2$  Hz) ; 9,91 (1H, s).

Les spectres  $^{13}\text{C}$  RMN ainsi que celui de la DEPT (Annexe 6) permettent de localiser tous les atomes de carbone de SHUS. A partir du spectre DEPT (Annexe 6), le carbone quaternaire localisé sur le spectre RMN  $^{13}\text{C}$  à 209,63 ppm est absent permettent ainsi de confirmer la transformation de la fonction cétone et l'insertion des 2 fonctions à savoir la fonction alcool et sulfonate sur le même atome de carbone. En plus, la DEPT a permis de distinguer entre les carbone hybridé  $\text{sp}^3$  (méthyle) dirigé vers le bas et les groupements méthylènes ( $\text{CH}_2$ ) dirigé vers le haut.

RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  : 14,33 ( $\text{CH}_3$ ) ; 22,47 ( $\text{CH}_2$ ) ; 23,66 ( $\text{CH}_2$ ) ; 28,93 ( $\text{CH}_3$ ) ; 29,09 ( $\text{CH}_2$ ) ; 29,22 ( $\text{CH}_2$ ) ; 30,04 ( $\text{CH}_2$ ) ; 31,66 ( $\text{CH}_2$ ) ; 36,84 ( $\text{CH}_2$ ) ; 43,18 ( $\text{CH}_2$ ) ; 209,63 ( $-\text{C}(\text{OH})(\text{SO}_3^-\text{Na}^+)-$ ).

Le spectre RMN HSQC (figure 5.21) permet d'attribuer les hydrogènes aux carbones qui sont directement liés et par conséquent de confirmer la structure du 2-hydroxyundeca-2-sulfonate de sodium.



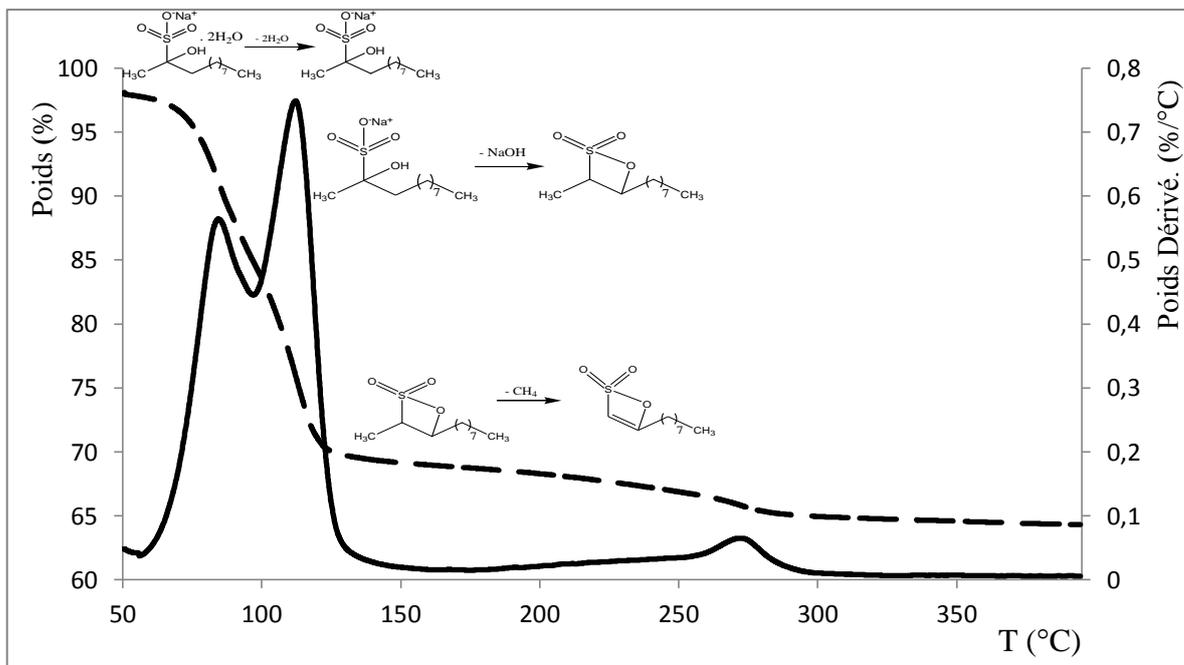
**Figure 5.21:** Spectre RMN HSQC de 2-hydroxyundecane-2-sulfonate de sodium.

#### 5.3.1.4 Etude du comportement thermique par ATG

Le comportement thermique du SHUS a été effectué lors de son traitement par incinération sous atmosphère inerte. La dégradation du tensioactif synthétisé s'effectue en 3 étapes principales montrées dans la Figure 5.22.

L'analyse thermographique montre une perte de masse à 84,22°C correspond à la perte de 2 molécules d'eau, ce qui indique que la molécule est 2 fois hydratée; on peut voir aussi un changement de masse à environ 112,01°C et à 275 °C, les molécules dégradées proposées selon les pertes de masses et leurs masses moléculaires pour les différentes étapes de dégradation sont représentées dans le Tableau 5.17.

A la fin de l'analyse thermogravimétrique, un résidu est obtenu correspond à une perte de masse de l'ordre de 64,38 % à 300 °C.



**Figure 5.22:** Analyse thermographique de SHUS.

**Tableau 5.17:** Les molécules dégradées basé sur la masse moléculaire de différentes dégradations.

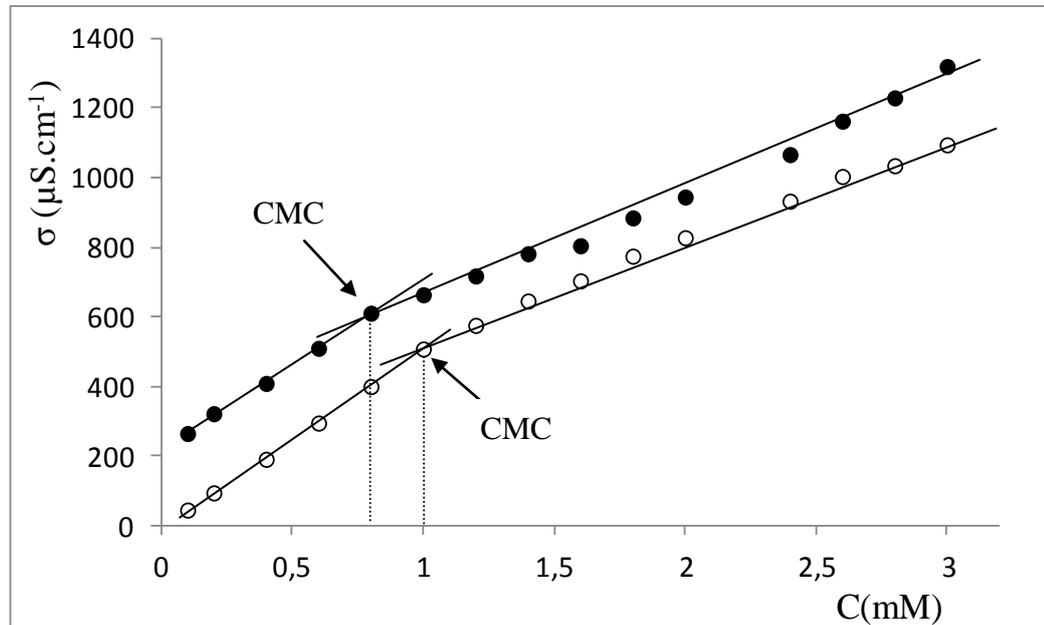
Composé	M	T/°C	Masse perdu /% Trouvé (Calculé)	Résidu/ % Trouvé (Calculé)
<b>2.H<sub>2</sub>O</b>	36	84,22	13,23 (11,61)	86,77 (88,39)
<b>NaOH</b>	40	112,01	15,82 (14,60)	70,95 (73,79)
<b>CH<sub>4</sub></b>	64	272,15	4,18 (6,84)	64,38 (66,95)

### 5.3.1.5 Mesure de la concentration micellaire critique

La concentration micellaire critique des tensioactifs synthétisés a été déterminée par deux méthodes, par conductimétrie et par tensiométrie. Il s'agit de préparé des solutions aqueuses avec l'eau distillé dé-ionisé contenant différentes concentrations de tensioactif et mesuré leurs conductivités et leurs tensions superficielle.

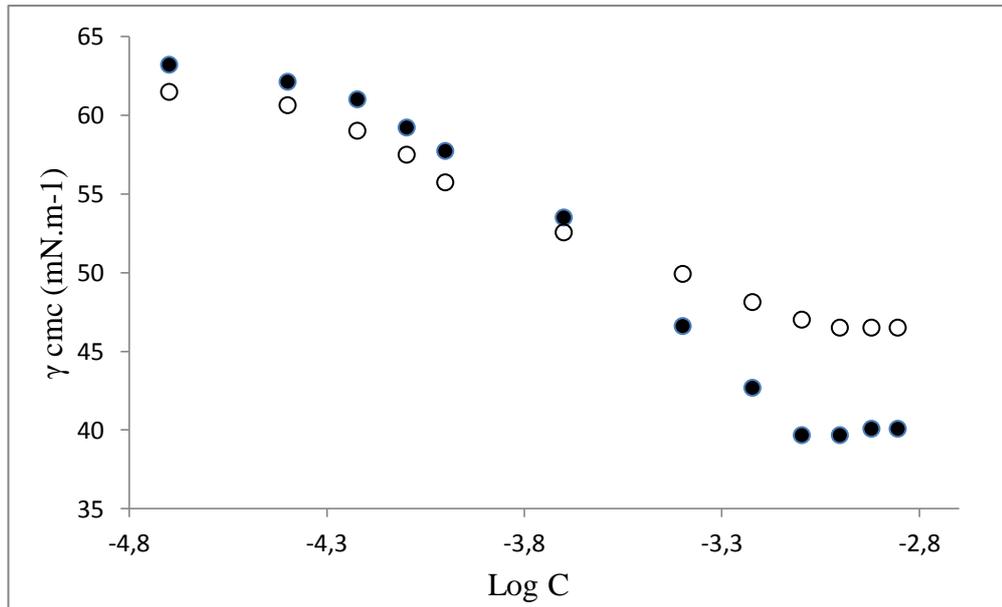
La Figure 5.23 représente la variation de la conductivité spécifique en fonction de la concentration des tensioactifs synthétisés. L'augmentation de la conductivité en fonction de la concentration du surfactant a été observée dans les deux cas avec des valeurs plus importantes dans le cas du mélange, ce ci est expliqué par l'augmentation du nombre des contre- ions libéré dans la solution avec l'augmentation de la concentration. Avant la CMC la conductivité varie linéairement et elle se comporte comme un électrolyte fort ; la

concentration micellaire critique est la concentration à la quelle le tensioactif commence à former des micelles, à ce point là un changement brusque de la conductivité est observé car la formation des micelles réduit le nombre de contre-ions libre qui deviennent une partie des micelles, ce qui réduit l'augmentation de la conductivité [161].



**Figure 5.23:** Représentation de la conductivité électrique ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) en fonction de la concentration (mM) de SHUS (○) et MSHAS (●).

La variation de la tension superficielle de SHUS et de son mélange naturel (MSHAS) a été mesurée, comparée et représentée en fonction de leurs concentrations dans la Figure 5.24. La tension superficielle des solutions diminue avec l'augmentation de la concentration puis elle se stabilise à une valeur minimale à partir de la quelle le tensioactif commence à former des micelles. La concentration micellaire critique de SHUS et de MSHAS était 1 mM et 0,8 mM respectivement; la valeur de la tension superficielle atteinte à la CMC est beaucoup plus basse dans le cas du mélange (39,6 mN/m) que dans le cas de tensioactif anionique individuel (47,4 mN/m) ce ci est dû à l'effet synergétique du mélange [162]. Les valeurs de CMC et d'autres paramètres d'adsorption ont été calculées et rassemblées dans le tableau 5.12. Les résultats de la conductimétrie et de la tensiométrie sont comparables avec des valeurs de la CMC et qui sont pratiquement les mêmes.



**Figure 5.24:** Représentation de la tension superficielle ( $\text{mN.m}^{-1}$ ) en fonction du logarithme de concentration de SHUS (○) et MSHAS (●).

### 5.3.1.6 Comportement d'adsorption à l'interface air-eau

La valeur de  $\pi_{CMC}$  pour MSHAS comparée à celle de SHUS signifie que le système mixte montre une meilleure efficacité d'abaisser la tension superficielle que le surfactant unique, comme le montre le tableau 5.18, la concentration micellaire critique (CMC) et la tension superficielle à la CMC ( $\gamma_{CMC}$ ) du mélange sont plus basses par rapport à ceux du SHUS ; en accord avec la théorie d'absorption de Gibbs, une tension superficielle inférieure indique une  $\Gamma_{max}$  supérieure pour le mélange [106]. Du Tableau 5.18, nous pouvons voir que la valeur  $pC_{20}$  de MSHAS est supérieure à celle du tensioactif unique (SHUS), indiquant que le système du mélange montre une meilleure efficacité d'adsorption à l'interface air / eau grâce à l'effet synergique du mélange.

**Tableau 5.18:** propriétés d'adsorption des tensioactifs.

Tensioactifs	CMC ( $\text{mmol.L}^{-1}$ )	$\gamma_{CMC}$ ( $\text{mN.m}^{-1}$ )	$\pi_{CMC}$ ( $\text{mN.m}^{-1}$ )	$\Gamma_{max}$ ( $\mu\text{mol. m}^{-2}$ )	$A_{min}$ ( $\text{nm}^2$ )	$pC_{20}$
SHUS	1	47,4	21	8,747	0,018	3,01
MSHAS	0,8	39,6	28,8	0,139	0,011	3,39

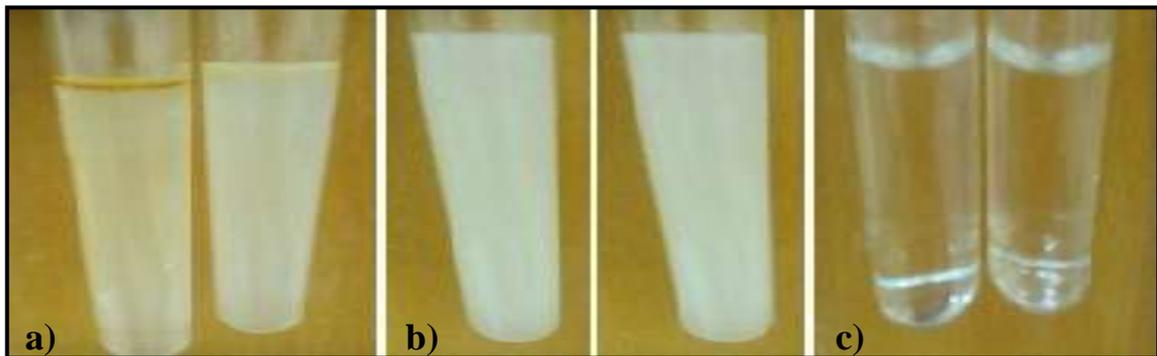
### 5.3.1.7 Formation et stabilité des émulsions

D'après les valeurs des HLB trouvées et citées dans le tableau 5.19, le SHUS et le MSHAS sont classés comme des émulsifiants H/E avec des  $HLB > 8$ .

**Tableau 5.19:**HLB des surfactants

Tensioactifs	HLB
SHUS	8,75
MSHAS	8,64

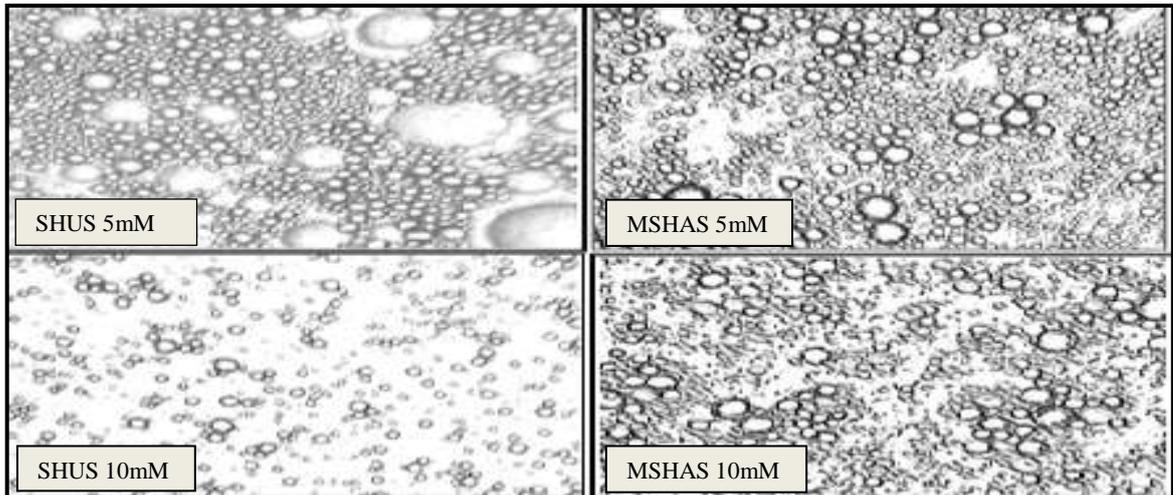
Dans le but d'évaluer les propriétés émulsifiantes des surfactants obtenus ; des émulsions de l'HE de *Ruta montana* L. dans l'eau, stabilisées par le SHUS et d'autres par le MSHAS à différentes concentrations ont été préparées ; il a été remarqué que des dispersions stables, troubles et fugaces apparaissent à partir de 10 mM de surfactant. Après 72 h, les dispersions troubles s'éclaircissent, deviennent transparentes et indéfiniment stables (Figure 5.25). La caractérisation des émulsions a été évaluée avec différentes méthodes.



**Figure 5.25:** Images montrant la stabilité des émulsions : a) 5mmol. L<sup>-1</sup> après 24h, b) 10 mmol.L<sup>-1</sup> après 24 h et c) 10 mmol.L<sup>-1</sup> après 72h.

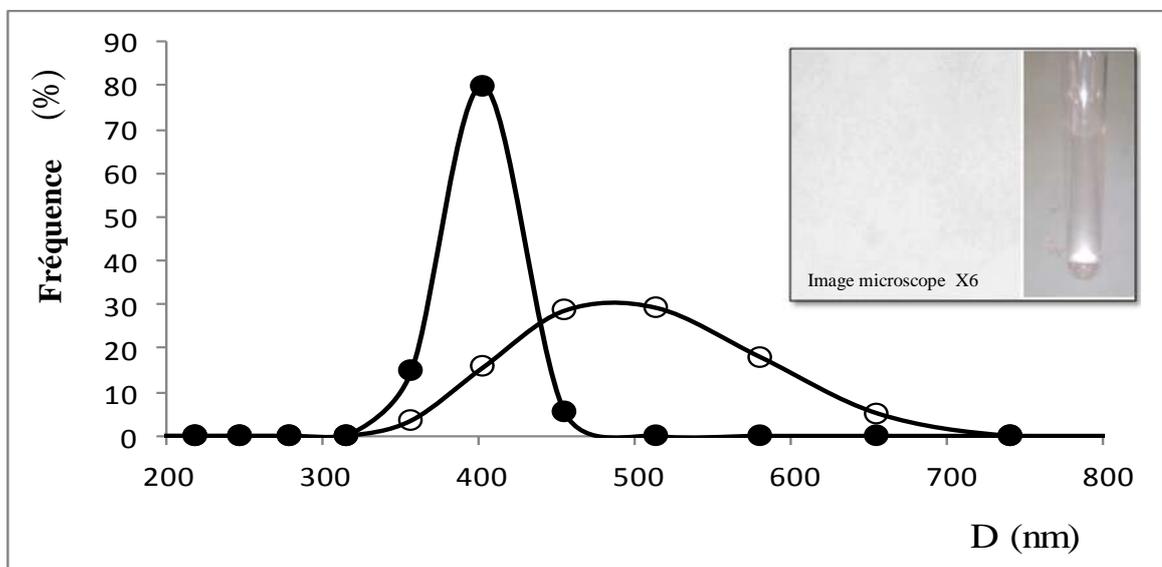
#### 5.3.1.7.1 Morphologie des émulsions et la taille des particules

Les émulsions préparées à base de 5 mM et 10 mM en tensioactif ont été analysées au microscope optique juste après l'étape de l'émulsification ; la taille des gouttelettes dépend essentiellement de la nature et de la concentration du surfactant, l'observation au microscope optique de la microstructure des échantillons présentés dans la Figure 5.26 montrent une diminution de la taille des gouttelettes d'huile avec l'augmentation des concentrations de tensioactif [163]. En outre, les gouttelettes formées ont un contour de gouttes sphériques et bien défini, sauf pour les échantillons à faible concentration en tensioactifs (5 mM). On remarque que les émulsions du mélange (MSHAS) sont de forme plus sphérique et la dispersion est plus homogène dans la phase continue que ceux du SHUS. Après 72 h, la dispersion trouble s'éclaircit, devient transparente et indéfiniment stable, cette phase dispersée n'apparaît plus au microscope optique.



**Figure 5.26:** Photos microscopiques des émulsions préparées à base d'HE de *Ruta montana* (1%) et différentes concentrations des surfactants synthétisés.

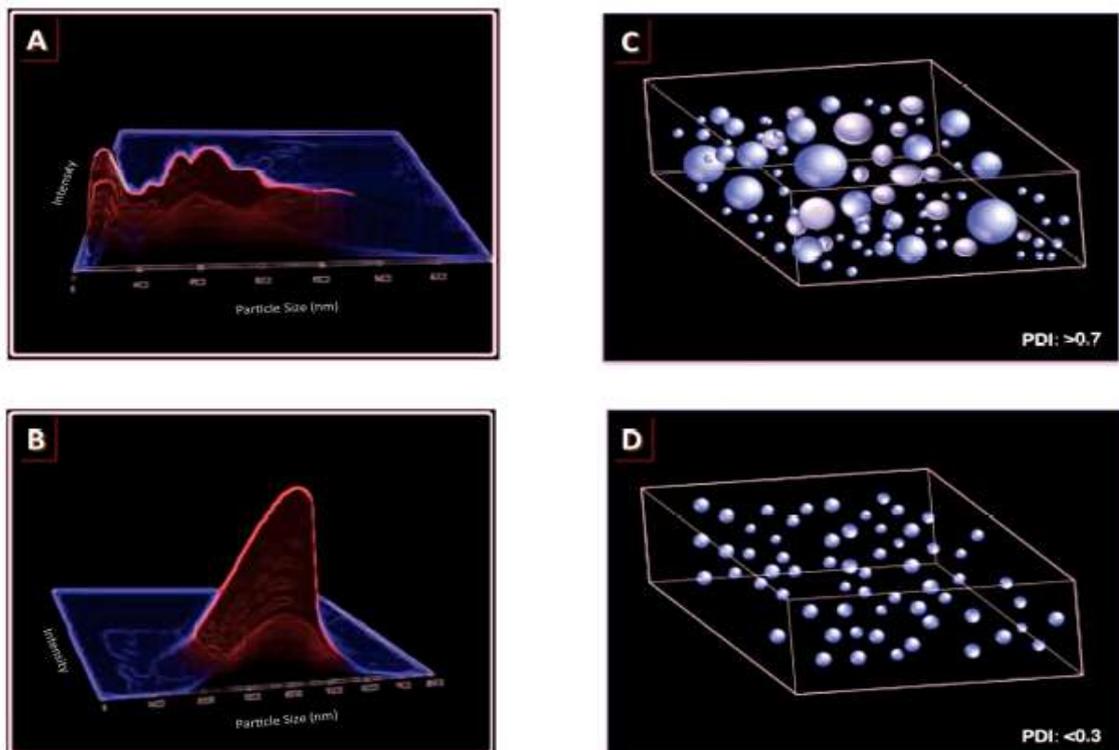
L'aspect des émulsions dépend de trois paramètres essentiels : de la taille des gouttelettes de la phase dispersée ; de la concentration en tensioactif et du rapport d'indice de réfraction entre la phase dispersante et la phase dispersée [164]; ce qui explique le déplacement de la distribution de la taille des gouttelettes présentes dans la phase dispersée des émulsions transparentes obtenues par granulométrie après repos et réarrangement, vers des valeurs nanométriques démontrées dans le profil de distribution représenté dans la Figure 5.27. La taille des gouttelettes possède un grand impact sur la turbidité d'une émulsion ; en fonction de la taille des gouttelettes, la lumière est plus ou moins transmise. Les émulsions peuvent donc avoir un aspect totalement translucide pour des gouttelettes de faibles tailles de l'ordre du nanomètre [165].



**Figure 5.27:** Profil de distribution de la taille des particules des émulsions préparées à base de 10 mM de SHUS (○) et de MSHAS (●).

La distribution granulométrique (Figure 5.27) obtenue permet ainsi de caractériser plus spécifiquement les émulsions. Deux émulsions monodispersés ont été obtenues, la distribution est monomodale dans les deux émulsions avec une meilleure uniformité et homogénéité observé dans le cas d'utilisation du mélange MSHAS avec un diamètre des gouttelettes moyen plus petite (376 nm) que ce obtenu à partir du SHUS (418,3 nm).

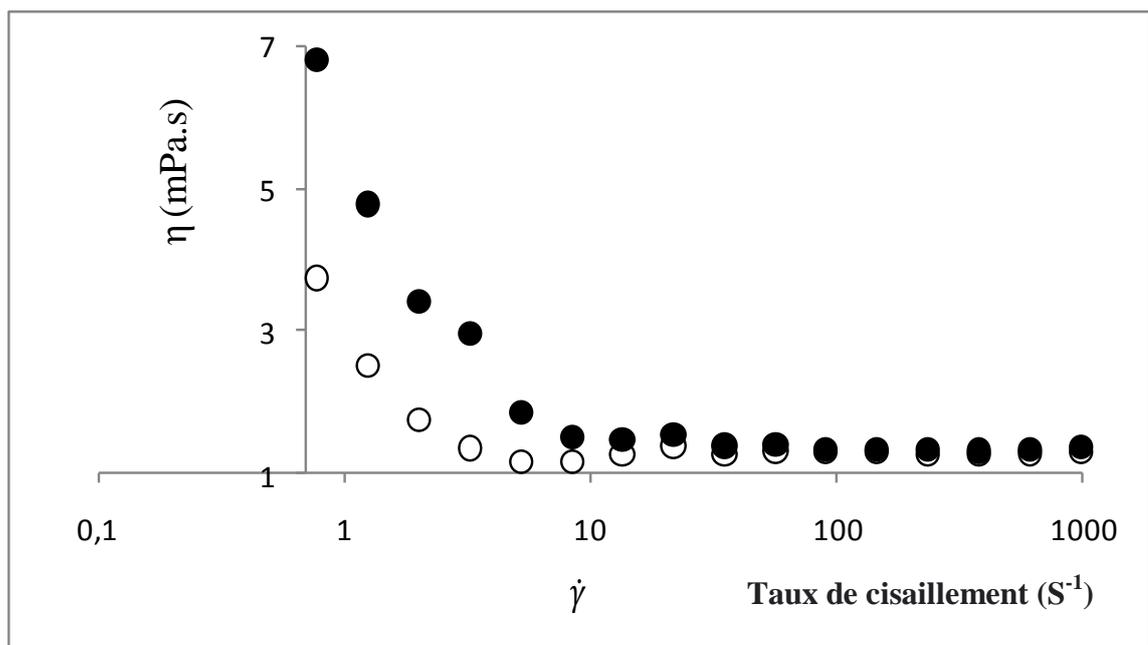
Généralement si la distribution de taille des gouttelettes ou distribution granulométrique est monomodale, les diamètres se distribuent en un pic unique, dans certains cas, on observe des distributions bimodales. Si la distribution est resserrée, on parle d'émulsion homogène ou monodisperse, sinon d'émulsion hétérogène ou polydispersée [164] comme le montre aussi la figure 5.28. De là, on déduit que l'émulsion préparé à base de MSHAS est monomodale, monodispersé, et plus homogène que celle obtenue à base de SHUS. L'utilisation d'un mélange de surfactants avec des chaînes alkyles de différentes longueurs et de la même taille des molécules présentes au sein de la matrice de l'huile essentielle a diminué la taille des gouttelettes et la distance moyenne de séparation entre les gouttelettes, où la distribution devient plus uniforme.



**Figure 5.28 :** Représentation de la distribution de la taille des particules des émulsions indiquant un échantillon polydispersé (A); un échantillon monodispersé (B); un échantillon contenant une population de particules polydispersée (C); et un échantillon contenant une population de particules monodispersé (D) [164].

### 5.3.1.7.2 Etude de la viscosité

L'incorporation du SHUS dans l'eau avec une concentration équivalente à la CMC provoque une augmentation importante de la viscosité et un changement du comportement plus ou moins marqué. Cependant, la formation d'une émulsion de ces composés avec l'huile essentielle de *Ruta montana* L. conduit à un changement de l'allure de la courbe ou le comportement non Newtonien devient plus visible et la viscosité passe de 1 à 2.80 mPa.s. D'une autre part, l'émulsion préparée avec le mélange de composés bisulfurés comme tensioactifs avec la même huile essentielle dans l'eau a provoqué un changement important au niveau du comportement non Newtonien assez marqué, une plus grande résistance au cisaillement et une viscosité assez élevée de 4.90 mPa.s a été obtenue ; la variation des viscosités des émulsions en fonction de la force de cisaillement est représentée dans la figure 5.29. La diminution de la taille des gouttelettes a diminué la distance moyenne entre eux, dans ce cas là il y aura plus de formation de floccs avec un emballage plus ouvert ce qui a causé une augmentation de la viscosité [166, 167]. Selon [168], l'augmentation de la viscosité de l'émulsion diminue le risque de formation de gouttelettes (coalescence) et l'amélioration de la stabilité de l'émulsion. Pour cela les émulsions préparées à partir du mélange sont plus visqueuses et plus stables.



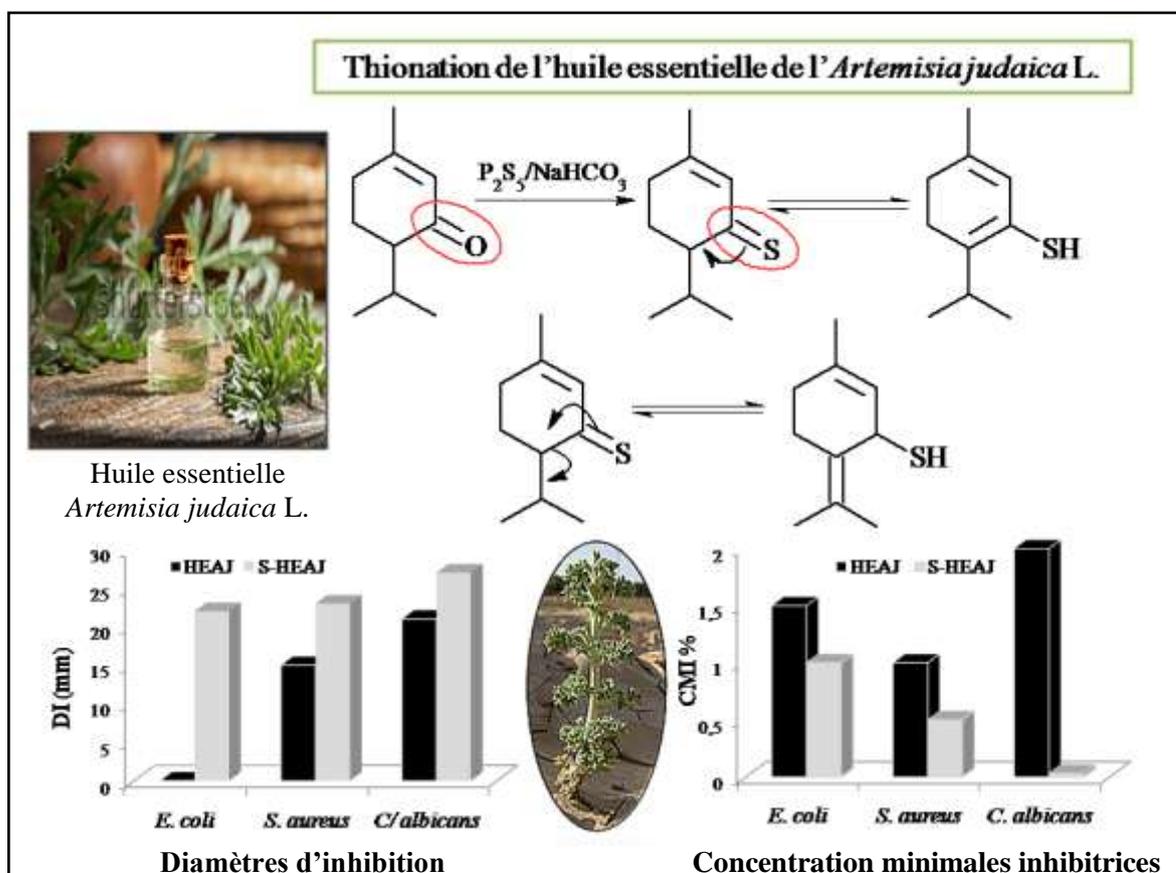
**Figure 5.29:** Profil d'évolution de la viscosité avec la contrainte de cisaillement des émulsions H/E (1%, v/v) avec 10 mM de SHUS (○) et MSHAS (●).

### 5.3.2 Thionation de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* L.

#### 5.3.2.1 Introduction

Le remplacement de l'atome d'oxygène des groupements carbonyles des cétones et des aldéhydes par un atome de soufre, permet d'obtenir des composés thiocarbonylés, plus volatils et plus hydrophobes possédant plusieurs activités biologiques. Les composés contenant du soufre, en particulier les thiocarbonylés, sont des intermédiaires ou précurseurs très polyvalent, qui trouvent de nombreuses applications en chimie synthétique et biologique [169-171]. Ce grand répertoire d'applications attire une attention particulière pour développer les méthodes de thionation efficaces largement appliquées pour la synthèse de composés organosulfurés.

Dans cette partie, la thionation de l'HE d'*Artemisia judaica* L. constituée principalement du pipéritone a été réalisée par action de  $P_2S_5$  dans le disulfure de carbone ; l'activité microbiologique de cette dernière a été évaluée et comparée avec celle de l'HE native.



**Figure 5.30:** Résumé graphique de la thionation de l'HE d'*Artemisia judaica* L.

### 5.3.2.2 Caractéristiques physiques et organoleptiques

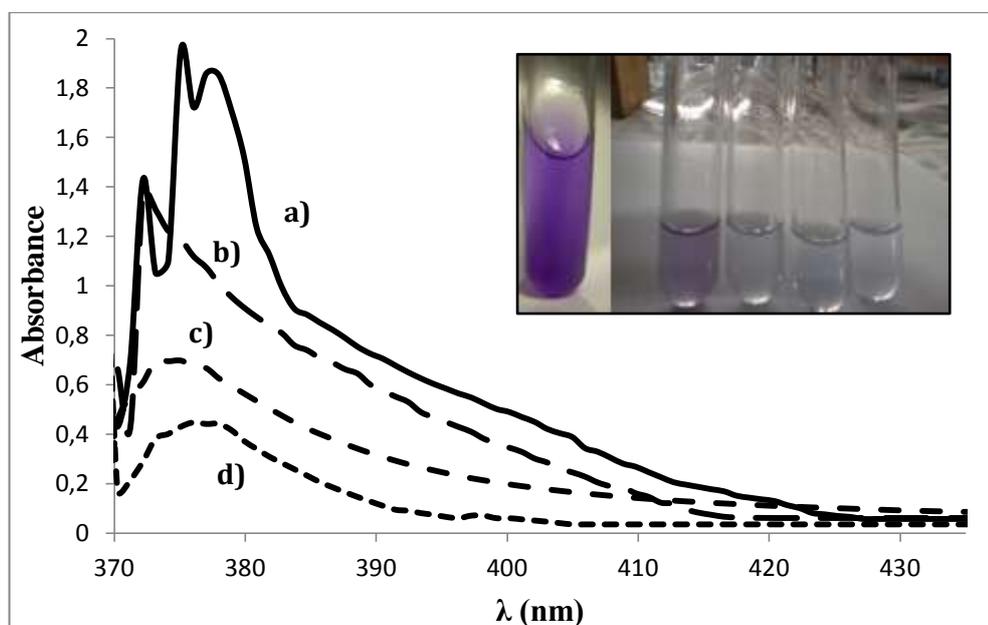
La thionation de l'HE d'*Artemisia judaica* L. a fourni une huile bleu-violet semi-solide avec un rendement de 80%, cette couleur diminue en fonction du temps jusqu'à sa disparition totale ; cette diminution a été suivie par UV-vis et représenté dans la figure 5.30.

**Tableau 5.20:** Caractéristiques physiques et organoleptiques de S-HE<sub>AJ</sub>.

Produit	Aspect	Couleur	R <sub>f</sub> CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> (1:1 v/v)	R %
S-HE <sub>AJ</sub>	Semi-solide	Bleu-violet	0,84	80

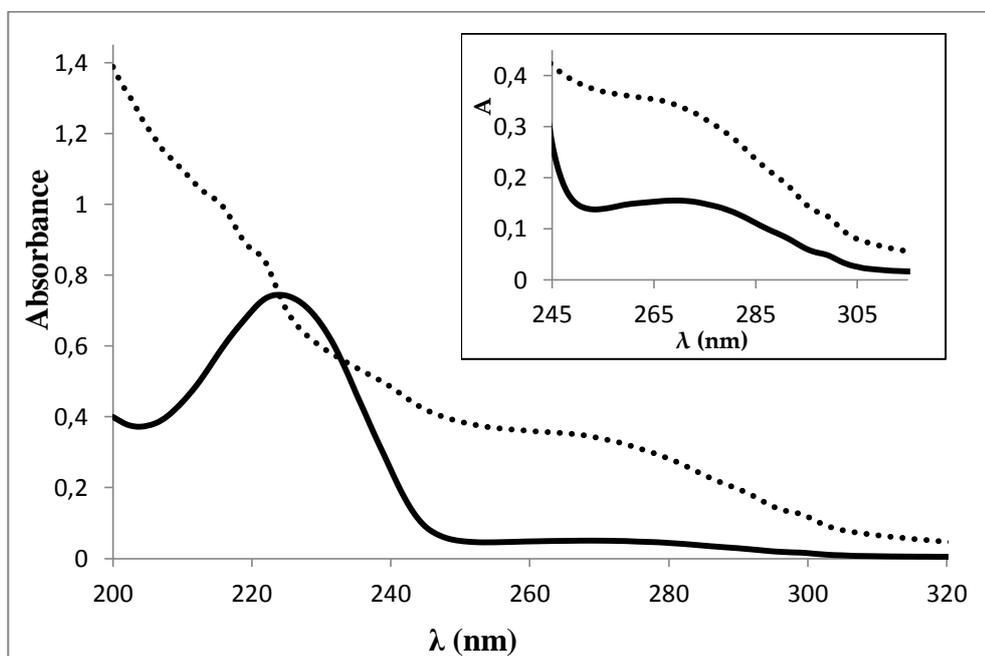
### 5.3.2.3 Caractérisation par UV-vis

La mesure de l'absorbance  $\lambda_{\max}$  de l'HE d'*Artemisia judaica* thionée (S-HE<sub>AJ</sub>) solubilisée dans le CS<sub>2</sub> en fonction du temps représentée dans la (figure 5.31) montre un décalage hypsochromique de 3 nm de la longueur d'onde de la bande d'absorption située à 378 nm attribué à la transition électronique  $n \rightarrow \pi^*$  correspondante au groupement thiocarbonyle (C = S) après 2 heures; l'éclaircissement de cette solution a été accompagné par un effet hypochrome de la bande situé à 375 nm jusqu'à sa disparition totale au bout de 12 h, Cependant, la bande d'absorption du groupe alcène a été maintenue et est devenue plus intense en raison de la transition  $n \rightarrow \sigma^*$ , résultant du tautomère énethiol de la thiocétone coexistant.



**Figure 5.31:** Spectres UV-vis de S-HE<sub>AJ</sub> dans le CS<sub>2</sub> à t=0 (a), t=2h (b), t=4h (c) et t=6h (d).

La conversion des cétones, principalement le pipéritone en thiocétones a été confirmée par la disparition de la bande située à 271 nm correspondante à la transition électronique  $n \rightarrow \pi^*$  caractéristique de la fonction (C=O) démontrée dans le spectre UV-vis de l'HE d'*Atemisia judaica* L. thionée (S-HE<sub>AJ</sub>) dans la figure 5.32.



**Figure 5.32:** Spectres UV-vis de l'HE<sub>AJ</sub> (—) et S-HE<sub>AJ</sub> (...).

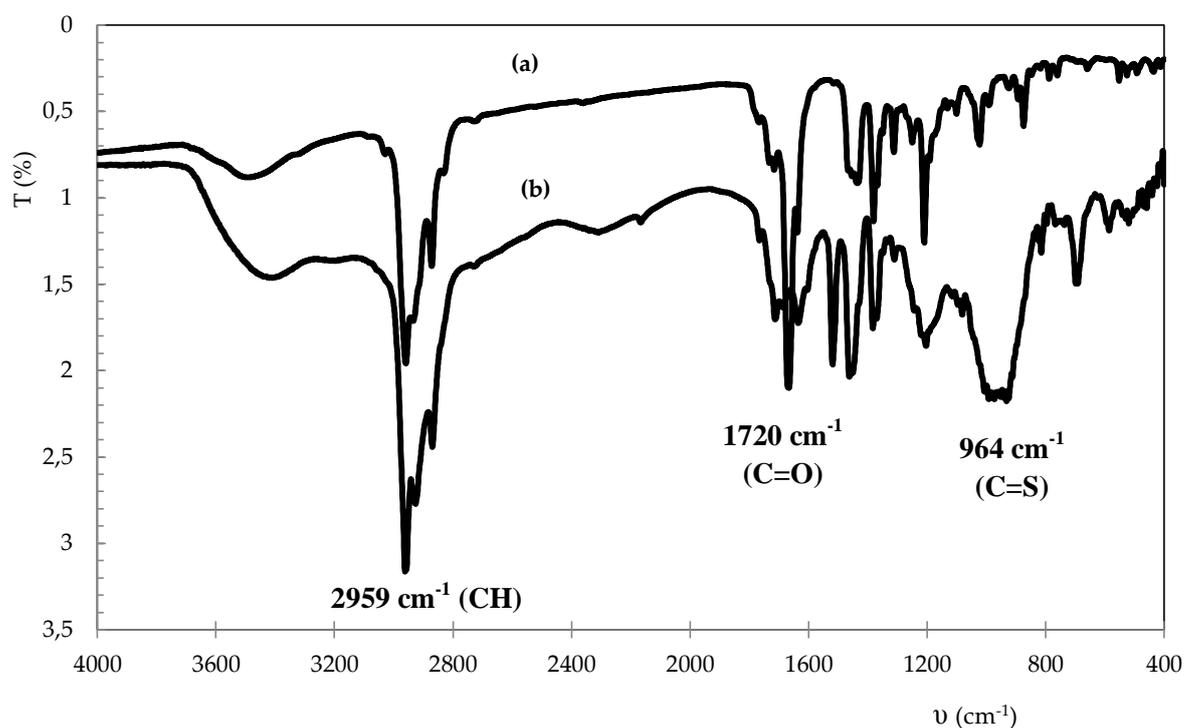
Ces résultats indiquent que la pipéritone thionylée (6-isopropyl-3méthylcyclohex-2-énéthione) peut exister sous ses deux formes tautomères (thione et enethiol) et que le groupement thione (C = S) est relativement instable dans les solvants organique, et il se rend à stabiliser par formant une liaison simple stable (C-S). Pour un tel groupe, il y a la possibilité de porter les électrons  $\pi$  vers l'état excité  $\pi^*$ , comme pour une oléfine, pour donner lieu à une transition  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

La tautomérie est l'une des caractéristiques des composés carbonylés portant des atomes d'hydrogène en  $\alpha$  du carbonyle, Dans la plupart des cas, la réaction se produit par migration d'un atome d'hydrogène accompagnée d'un changement de localisation d'une double liaison ; ainsi pour les composés thiocarbonylés cette propriété a été observée et largement étudié par des auteurs [172].

La possibilité de tautomérie thione-thiol des solutions de des 2- et 4-mercaptopyridines, 2-mercaptopyrimidine et 4,6-diméthyl-2-mercaptopyrimidine étudiée par spectroscopie d'absorption UV-vis a révélé la prédominance de la forme thiol dans les solvants apolaire [173].

### 5.3.2.4 Caractérisation par IRTF

Les huiles essentielles d'*Artemisia judaica* native et thionée ont été caractérisées par IRTF et leurs spectres sont superposés dans la figure 5.33.

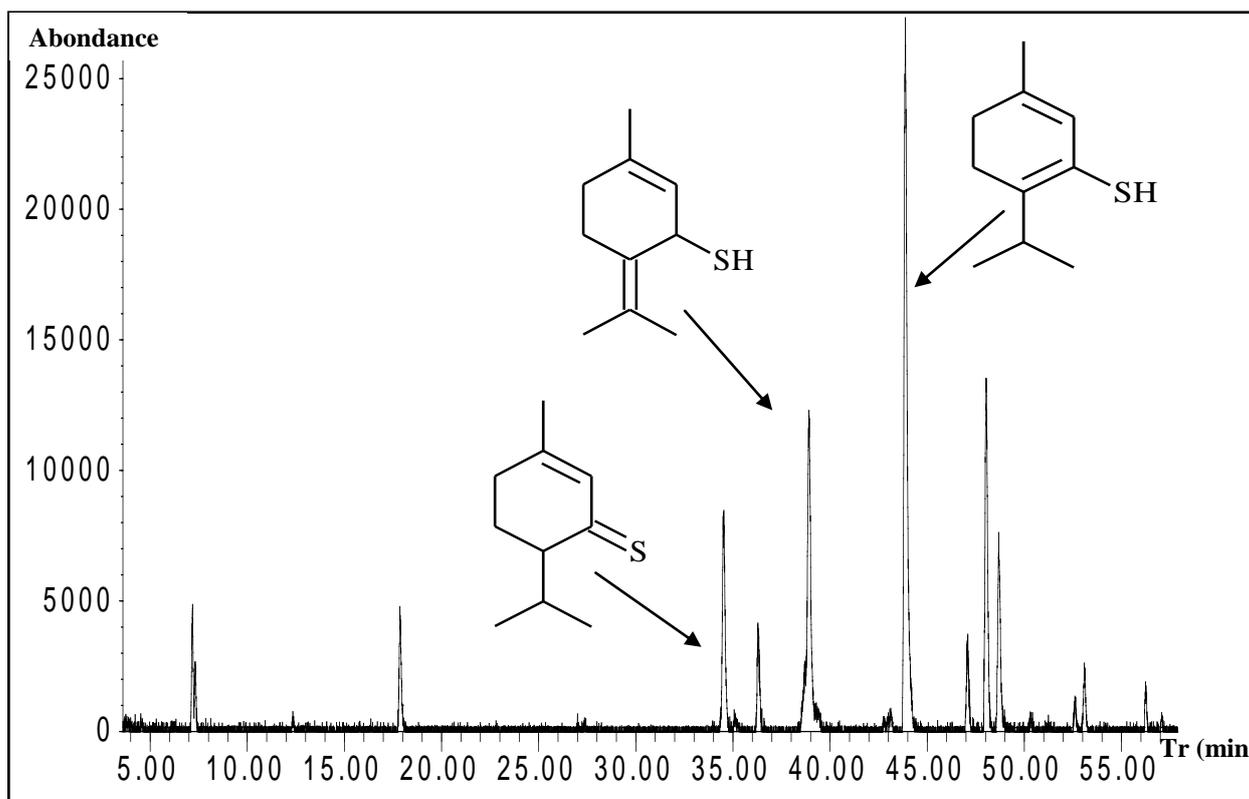


**Figure 5.33:** Spectres IRTF de l'HE<sub>AJ</sub> (a) et de S-HE<sub>AJ</sub> (b).

Le spectre IRTF de l'HE d'*Artemisia judaica* L. thionée est caractérisé par la disparition des pics caractéristiques de la fonction carbonyle (C=O) des cétones cycliques situés à 1665 et 1720 cm<sup>-1</sup> sur l'IRTF d'HE d'*Artemisia judaica* L. et l'apparition d'un nouveau pic situé à 964 cm<sup>-1</sup> responsable de la fonction (C=S), ce qui confirme la conversion totale des cétones en thiocétones ; les pics caractéristiques des liaisons CH à 2959, 2925 et 2869 cm<sup>-1</sup> et de la fonction (C=O) des esters à 1767, 1718 et 1630 cm<sup>-1</sup> ont été conservés. Il a été aussi remarqué l'absence de la bande d'absorption de la liaison -SH du groupement thiol située habituellement au environ de 2550-2800 cm<sup>-1</sup>, ce qui indique que la forme thione est prédominante en phase solide.

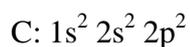
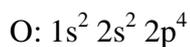
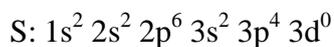
### 5.3.2.5 Caractérisation par CG/MS

Le chromatogramme de l'HE d'*Artemisia judaica* L. thionée, représentée dans la figure 5.34 montre l'apparition de nouveaux pics élués à des temps de rétentions supérieures à ce du pipéritone et leurs spectres de masses (Annexe 7) sont caractérisés par des pics parents additionnés de 16 à cause du remplacement de l'oxygène par le soufre ; ces dernier correspond aux nouveaux produits thionés.



**Figure 5.34:** Chromatogramme de S-HE<sub>AJ</sub>.

L'action de penta-sulfure de phosphore sur l'HE d'*Artemisia judaica* L. a provoqué une transformation des cétones constituant cette HE en leurs analogues thiocarbonylés identifiés par leurs spectres de masse (Annexe 7). La pipéritone, qui représente le constituant majoritaire de cette HE a été converti à son analogue thione (b), ce dernier est relativement instable dans les solvants organiques à cause de la grande énergie des orbitales p du soufre.



De plus, la faible polarité de la liaison C=S, dû à une différence d'électronégativité plus petite entre ces deux atomes réduit la sélectivité en cas d'addition nucléophile.

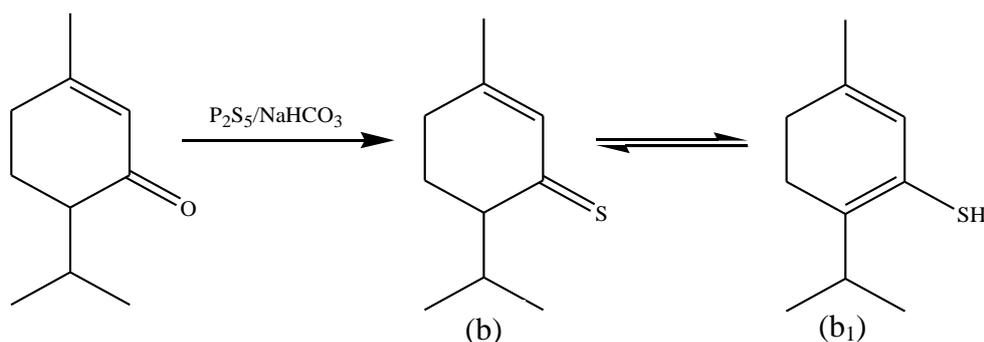
$$\Delta \text{C-O} = 0,89 ; \Delta \text{C-S} = 0,03$$

Le tableau 5.21 représente les teneurs exactes des constituants de l'HE avant et après la thionation. Il a été rapporté que le thiopipéritones, ainsi que ses formes tautomères ont été obtenus avec des teneurs de 6,16; 48,81 et 24,47% respectivement; l'isovalérate d'éthyle et le Cinnamate d'éthyle non pas subit une transformation à cause de leurs stabilités.

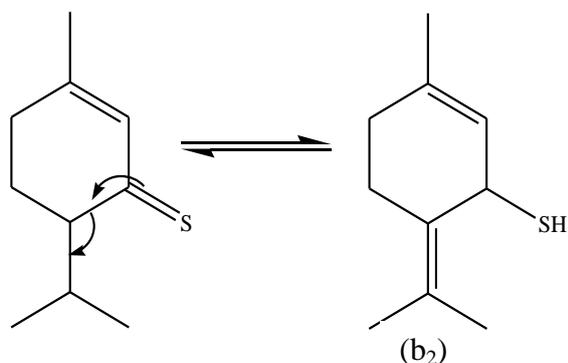
**Tableau 5.21:** Composition chimique de l'HE d'*Artemisia judaica* (HE<sub>AJ</sub>) et d'*Artemisia judaica* thionée (S-HE<sub>AJ</sub>).

Composés	M (g.mol <sup>-1</sup> )	Tr (min)	Teneurs (%)	
			HE <sub>AJ</sub>	S-HE <sub>AJ</sub>
Isovalérate d'éthyle	130	7,2	0,43	0,43
p-Cymène	134	17,9	0,66	0,66
Pipéritone	152	34,8	91,77	12,33
6-Isopropyl-3-méthyl-cyclohex-2- énone (b)	168	36,3	-	6,16
6-Isopropylidene-3-méthyl-cyclohex-2- énothiol (b2)	166	38,9	-	24,47
2-Isopropyl-5-méthyl-cyclohexa-1,5- diénothiol (b1)	168	43,9	-	48,81
Davana ether	234	47,1	0,31	0,31
6-Méthyl-2-(5-méthyl-5-vinyl-tétrahydro- furan-2-yl)-hept-5-ène-3-thione (a)	252	48,0	-	5,20
Cinnamate d'éthyle	176	48,8	1,63	1,63
Davanone	236	55,7	5,20	-

La prédominance de la forme thiol dans la solution de l'HE thionée analysée par CG/SM, confirme les résultats des analyses UV-vis qui ont montrées la disparition de la fonction thione en fonction du temps avec l'augmentation de la fonction énothiol, dans ce cas là, le groupement thione se rend à stabilisé par la formation d'une simple liaison (C-S) ; les résultats obtenus montre la prédominance de deux formes tautomères du thiopipéritone (b1 et b2), identifiées par leurs spectres de masses et représentées dans les figures 5.35 et 5.36. De là on peut dire que la forme thiol est prédominante en phase liquide et gazeuse.



**Figure 5.35:** Réaction de thionation et l'équilibre thione-thiol de pipéritone.



**Figure 5.36:** Formes tautomères de (b).

### 5.3.2.6 Activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Artemisia judaica* thionée

Cette étude a pour but d'évaluer l'activité antibactérienne et antifongique de l'HE d'*Artemisia judaica* L. modifiée par thionation, L'activité a été comparée à celle de l'HE native dans le but de déterminer l'influence de la substitution du groupement carbonyle par un thiocarbonyle sur cette activité. Les tests ont été menés au laboratoire d'hygiène et de sécurité de Blida.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sont présentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 5.22:** Activité antimicrobienne de l'HE<sub>AJ</sub> et de S-HE<sub>AJ</sub>.

		Bactéries		Champignon
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536 G (-)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 G (+)	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
<b>1</b>	HE <sub>AJ</sub>	-	-	-
	S-HE <sub>AJ</sub>	19	12	15
<b>5</b>	HE <sub>AJ</sub>	-	12	13
	S-HE <sub>AJ</sub>	20	15	23
<b>10</b>	HE <sub>AJ</sub>	-	15	16
	S-HE <sub>AJ</sub>	22	23	27
<b>100</b>	HE <sub>AJ</sub>	18	20	18
	S-HE <sub>AJ</sub>	25	30	>40
<b>CMI</b> <b>(mg/ml)</b>	HE <sub>AJ</sub>	>1	1	>2
	S-HE <sub>AJ</sub>	1	0,5	0,031

L'introduction du soufre à la place de l'oxygène au sein de la matrice de l'HE<sub>AJ</sub> a provoqué une amélioration remarquable de son activité antibactérienne et antifongique par rapport à l'HE<sub>AJ</sub> native contre tous les germes testés, spécialement contre la souche gram - *Escherichia coli* où l'HE thionée, diluée dans le DMSO (1, 5 et 10%) a fourni des zones d'inhibition de 19-22 mm, contrairement à l'HE native diluée qui été inactif contre cette souche; il a été rapporté que la souche fongique *candidat albicans* s'est avérée la plus sensible où les plus grands diamètres d'inhibition ont été notés, ces diamètres augmente avec l'augmentation de la concentration de l'huile.

Ces résultats on été confirmés par l'étude de la CMI, ou l'S-HE<sub>AJ</sub> a donné les concentrations les plus basses.

Les composés organosulfurés et spécialement les thiocétones possèdent un grand spectre d'activités biologiques largement étudié par des auteurs [174, 175]; ces composés se trouve naturellement dans plusieurs plantes; il a été rapporté que des thiocétones phényl isolés à partir de Jonc de mer *Cymodocea serrulata* ont exprimé une activité modérée contre des agents pathogènes humains cliniquement isolées Gram-positifs et Gram-négatifs, qui étaient au moins résistants à cinq antibiotiques à une concentration minimale de 10 µg [176]. A cause de leur grande importance démontrée, de nombreux dérivés thionés ont été synthétisés et ont montrés une forte activité antimicrobienne [177]. L'amélioration de l'activité antimicrobienne des composés cabonylés (cétones et aldéhydes) issus des huiles essentielles par substitution de leurs groupement carbonyle par un thioarbone a été récemment étudiée par des auteurs [56, 84].

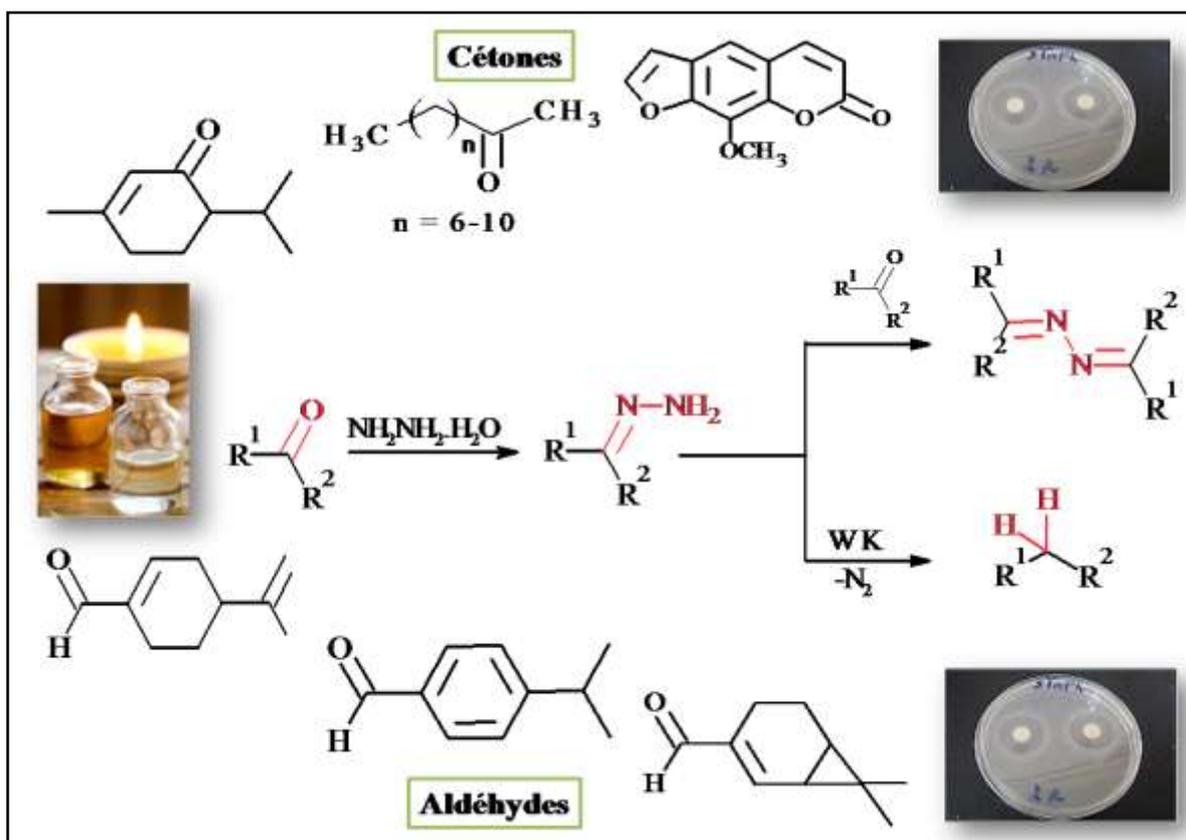
Dans la littérature il a été déjà mentionné que le groupement thione exhibe une inhibition de l'activité de l'uréase (enzyme catalysant la réaction de transformation de l'urée en Il a été mentionné aussi que le soufre est capable de chélater les atomes de fer présents dans dioxyde de carbone et en ammoniac). Cette enzyme est présente dans la plupart des souches bactériennes. Il a été mentionné aussi que le soufre est capable de chélater les atomes de fer présents dans l'hémoglobine bactérienne d'une part. Et d'autre part la thionation d'un composé accroît sa lipophilie et de ce fait, elle permet au composé de traverser plus facilement les membranes dans les milieux biologiques et accroît sa biodisponibilité. En comparaison avec leurs homologues cétones.

### 5.3.3 Hémi-synthèse des azines symétriques à partir de biomolécules

#### 5.3.3.1 Introduction

Les azines ou 2,3-diaza-1,3-butadiènes ( $R_2C=N - N=CR_2$ ), symétriques et asymétriques ont reçu une grande attention en raison de leur importance en chimie organique et biologique; ils étaient généralement synthétisés par réaction entre deux molécules de composés carbonylés (cétones ou aldéhydes) identiques ou différentes et l'hydrazine [178, 179]. Ces composés constituent une classe importante de composés azotés qui ont été largement utilisés comme matières de départ dans la synthèse d'hydrazones et de composés hétérocycliques [180-182]. Les azines, en particulier les azines cycliques, sont connues pour leurs activités antimicrobienne, antitumorale et anticholinestérase [87,183-185], elles ont également été étudiées pour leur utilisation comme colorant antipaludique [186].

Dans ce contexte des essais d'hémisynthèse des aldazines et des cétazines symétriques à partir des cétones et des aldéhydes naturels issus des plantes aromatiques ont été réalisés, puis leur activité microbiologique a été évaluée contre des souches bactériennes et fongiques et comparées avec celle des produits natives.

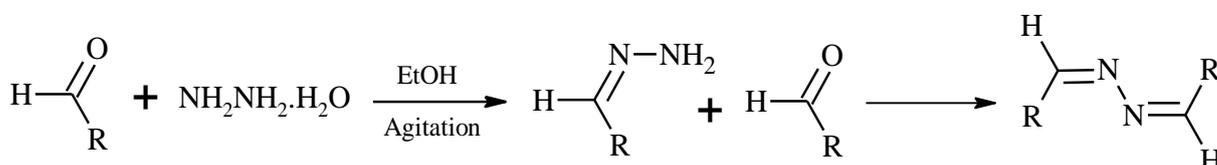


**Figure 5.37:** Résumé graphique de l'hémi-synthèse des azines symétriques.

### 5.3.3.2 A partir des huiles essentielles chémotypées aldéhydes

Le formaldéhyde azine, l'azine la plus simple, a été préparé en 1959 par Neureiter [187]. Le taux de réaction de l'hydrazine avec divers composés carbonylés diminuent dans l'ordre suivant: aldéhyde > dialkyl cétone > alcaryl cétone > diaryl cétone [182]. La réaction des aldéhydes et des dialkylcétones avec l'hydrazine dans l'eau ou un milieu alcoolique produisent l'hydrazone ou l'azine [188]. Les aldazines se forment plus rapidement que les cétazines. En fait, la réaction d'hydrazones d'aldéhyde avec une deuxième molécule d'aldéhyde est plus rapide que la réaction avec l'hydrazine elle-même; Donc, l'aldazine est le produit normal. D'un autre côté, les cétazines exige la présence d'un excès de cétone avec l'acide acétique ou l'acide formique comme catalyseur [189].

L'action de l'hydrazine monohydrate sur les aldéhydes et les cétones constituant les huiles essentielles extraites conduit à leur conversion à leurs analogues hydrazones, l'hydrazine subit parfois une double condensation du composé carbonylé pour former une azine [188].



**Figure 5.38:** Réaction de synthèse des aldazines

#### 5.3.3.2.1 Caractéristiques physiques et organoleptiques

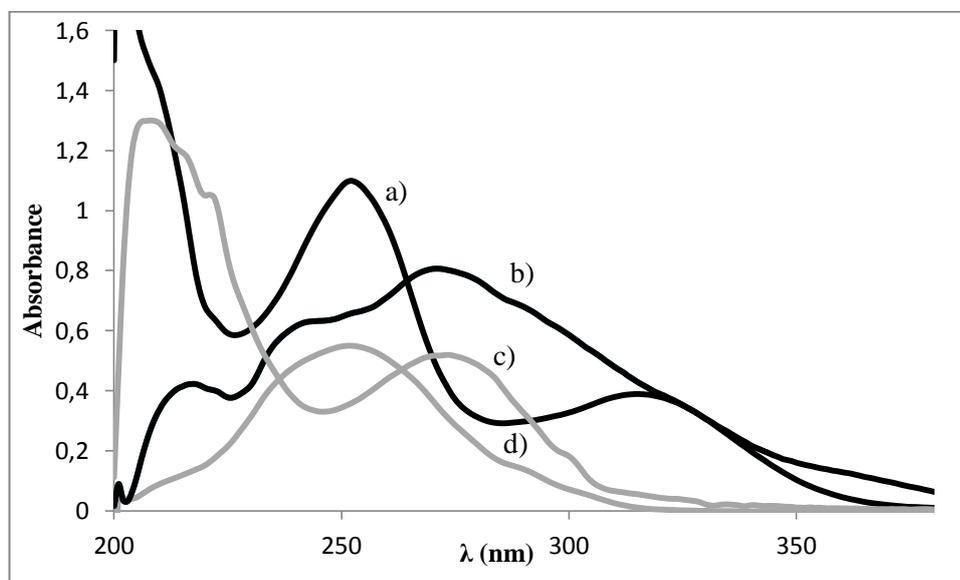
Après 2h 30 d'agitation des mélanges réactionnels de l'HE des graines de cumin et celle de cumin velu avec l'hydrazine monohydrate dans l'éthanol, et évaporation du solvant, une huile jaune orangé (NH-HE<sub>Cc</sub>) et une huile bleu vert (NH-HE<sub>Al</sub>) avec des rendements de 86% et de 92% ont été récupérées; leurs propriétés physiques et organoleptiques sont représentées dans le tableau 5.23.

**Tableau 5.23:** Caractéristiques physiques et organoleptiques de NH-HE<sub>Cc</sub>.

Produit	Aspect	Couleur	$\eta_D^{20}$	R %
NH-HE <sub>Cc</sub>	Liquide	Jaune orangée	1,5624	86
NH-HE <sub>Al</sub>	Liquide	Bleue vert	1,5464	92

### 5.3.3.2.2 Caractérisation par UV-vis

Les huiles essentielles de *cuminum cyminum* L. et d'*Ammodaucus leucotrichus* natives (HE<sub>CC</sub> et HE<sub>Al</sub>) et modifiées (NH-HE<sub>CC</sub> et NH-HE<sub>Al</sub>) dissoutes dans le méthanol, ont été caractérisées par UV-visible et leurs spectres sont représentés sur la figure 5.39



**Figure 5.39:** Spectres UV- vis de l'HE<sub>CC</sub> (a), NH-HE<sub>CC</sub> (b), HE<sub>Al</sub> (c) et NH-HE<sub>Al</sub> (d).

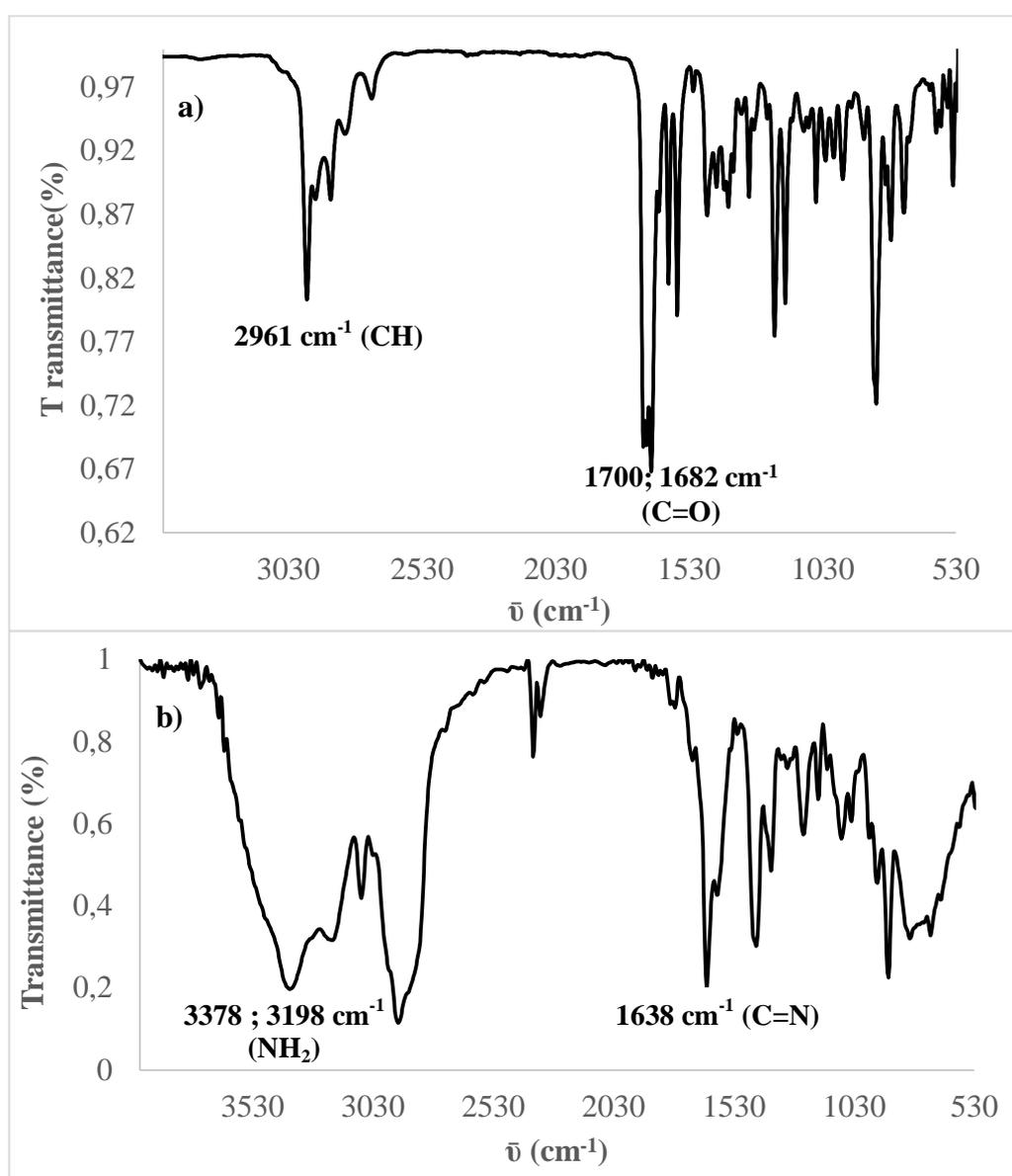
Il a été rapporté que les azines symétriques dérivés de l'huile essentielle de graines de cumin sont caractérisées par l'apparition de nouvelles bandes à 214 nm, 238 nm et une large bande située entre 260-383 nm; d'une autre part la perillaldazine, synthétisée à partir de l'huile essentielle de cumin velu se caractérise par une large bande à 224-289 nm avec un épaulement à 289 nm.

Les molécules d'azines sont plus larges, et la conjugaison est plus étendue, dans ce cas là, la délocalisation du nuage  $\pi$  va abaisser l'énergie, de plus les nouvelles molécules formées comporte deux hétéroatomes à doublet libre (azote) ce qui ajoute des délocalisations supplémentaires et déplacera le spectre vers les grandes longueurs d'onde (effet bathochrome).

L'étude des données spectrales d'absorption électronique de la benzaldazine, de la salicylaldazine, de la m-hydroxybenzaldazine et de la p-hydroxybenzaldazine dans divers solvants révèle que trois systèmes de bandes apparaissent à 200-225 nm, 289-307 nm et 352-375 nm, influencés par la position des substitutants (hydroxyle) dans le cycle benzénique et le solvant [190].

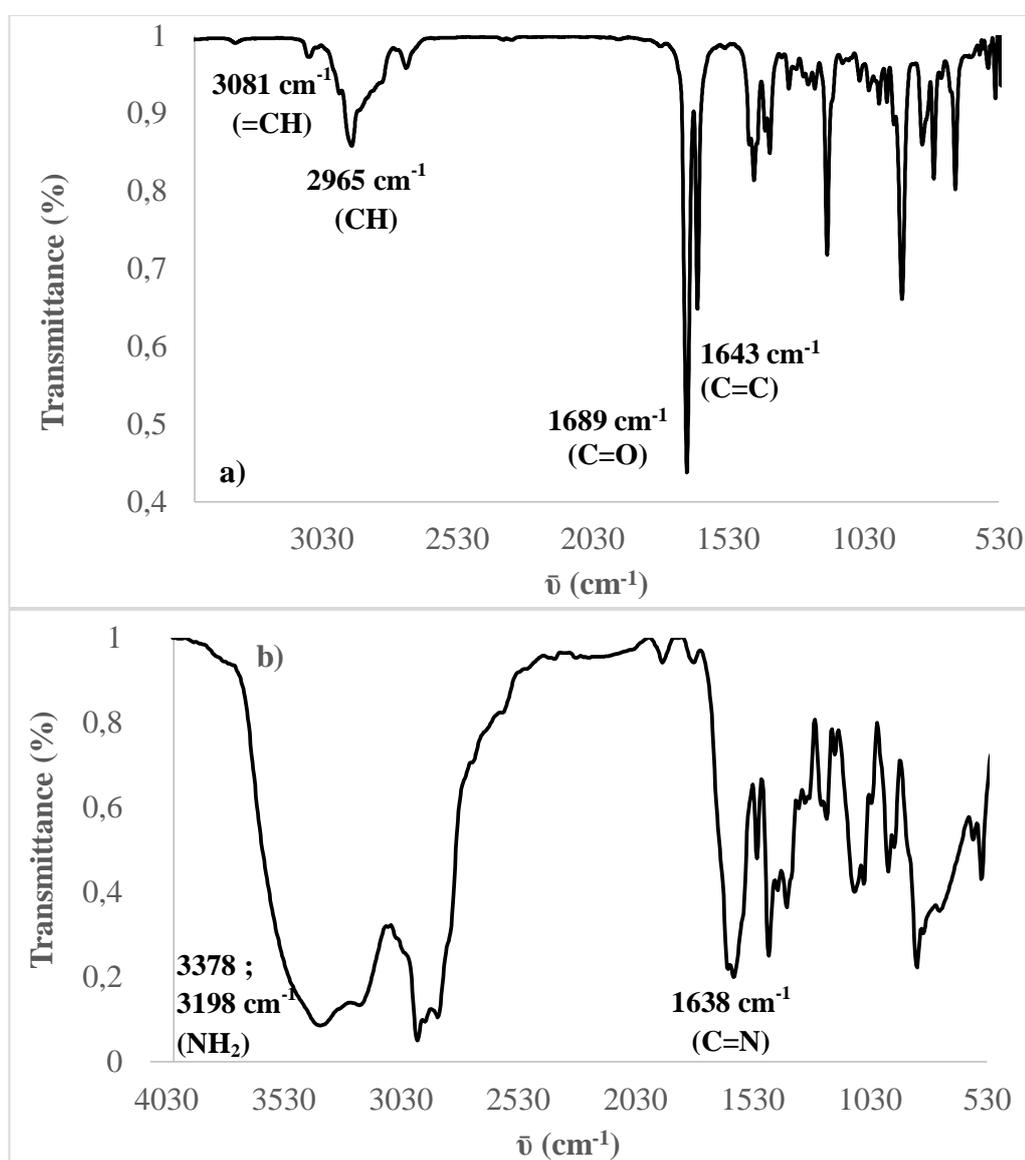
### 5.3.3.2.3 Caractérisation par IRTF

Le spectre IRTF de l'HE de *C.cyminum* modifiée (NH-HE<sub>CC</sub>) représenté dans la figure 5.40 montre la disparition des pics caractéristiques du groupement (C=O) des aldéhydes situés à 1700 et 1682  $\text{cm}^{-1}$  (cuminaldéhyde, phellandral et 2-caréne-10-al) et l'apparition de deux bandes situées à 3198 et 3378  $\text{cm}^{-1}$  correspondantes à la vibration d'élongation du groupe NH<sub>2</sub>. Un pic situé à 1638  $\text{cm}^{-1}$  de forte intensité attribué à la vibration d'élongation des liaisons C=N a été observé avec la conservation des pics d'élongation de la liaison C-H situés à 2961, 2929 et 2871  $\text{cm}^{-1}$  relatifs aux groupements CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub> et CH respectivement, ces résultats confirment la conversion totale des aldéhydes constituant l'HE.



**Figure 5.40:** Spectres IRTF de l'HE<sub>CC</sub> (a) et NH-HE<sub>CC</sub> (b).

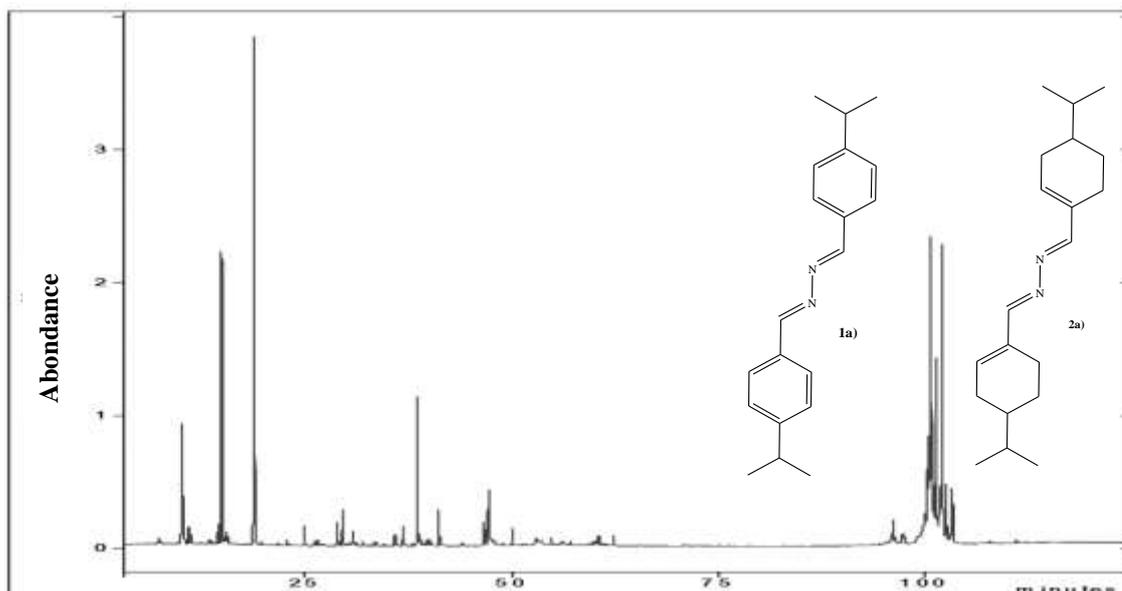
Les spectres IRTF de l'HE d'*A.leucotrichus* native et modifiée (NH-HE<sub>AI</sub>) superposés dans la figure 5.41 sont caractérisés par la présence d'un pic de faible intensité situé à 3081 cm<sup>-1</sup> et un pic à 1643 cm<sup>-1</sup> relatifs aux vibrations d'élongation de la liaison (=CH) et de la liaison (C=C) respectivement, ainsi par deux pics d'élongation de la liaison C-H situés à 2965 et 2920 cm<sup>-1</sup> relatifs aux groupements CH<sub>3</sub> et CH<sub>2</sub> respectivement ; la modification de l'HE d'*A.leucotrichus* a provoqué la disparition totale des pics caractéristiques de la fonction carbonyle (C=O) et de la liaison CH de l'aldéhyde situés à 1689 et 2717 cm<sup>-1</sup> respectivement, avec l'apparition de deux bandes situées à 3198 et 3378 cm<sup>-1</sup> correspondent à la vibration d'élongation de la liaison NH du groupement NH<sub>2</sub> et d'un pic situé à 1638 cm<sup>-1</sup> d'intensité moyenne attribué à la vibration d'élongation de la liaison C=N, ce qui confirme la conversion totale des l'aldéhydes présent dans l'HE.



**Figure 5.41:** Spectres IRTF de l'HE<sub>AI</sub> (a) et NH-HE<sub>AI</sub> (b).

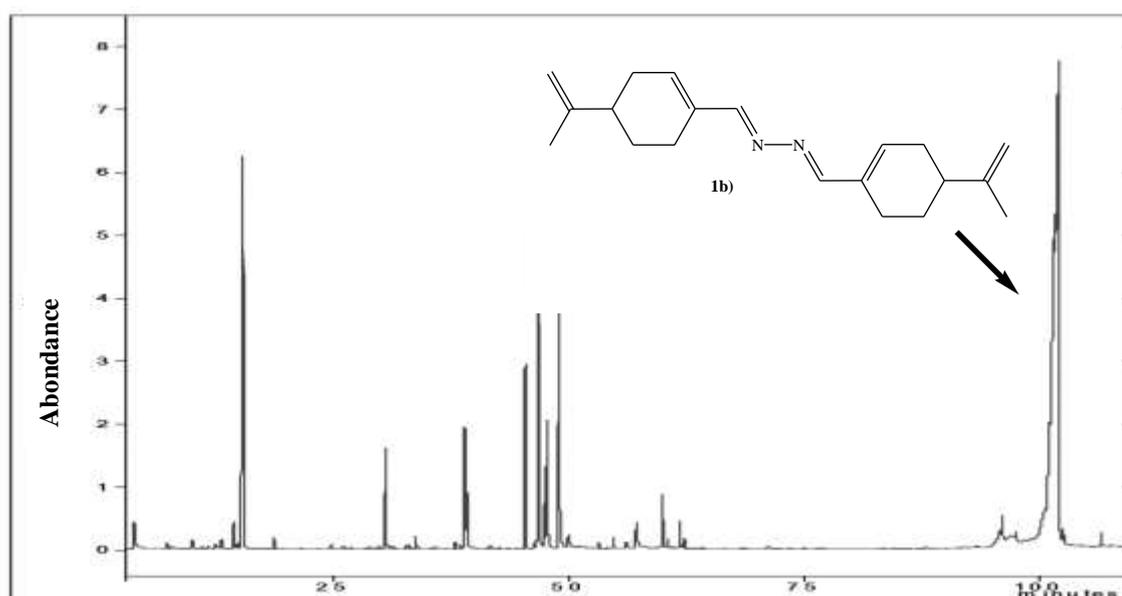
### 5.3.3.2.4 Caractérisation par CPG/SM

Le chromatogramme de NH-HE<sub>CC</sub> représenté dans la figure 5.42 montre la disparition totale des pics caractéristiques des aldéhydes situés à 34,72 ; 37,14 et 38,27 min relatifs aux cuminaldéhyde, phellandral et au 2-carène 10-al respectivement et l'apparition de nouveaux pics aux environs de 100 min.



**Figure 5.42:** Chromatogramme de l'HE<sub>CC</sub>.

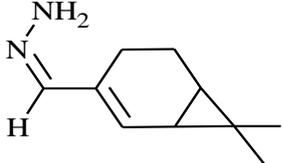
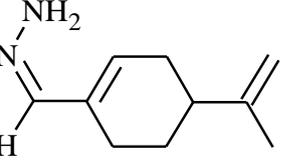
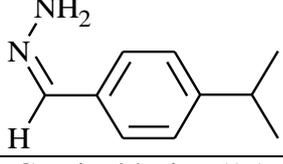
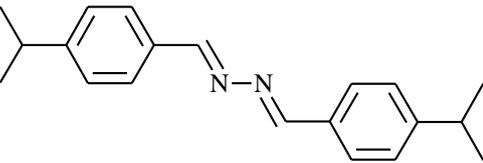
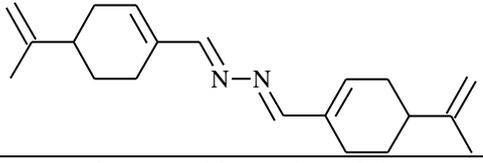
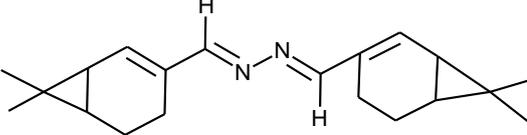
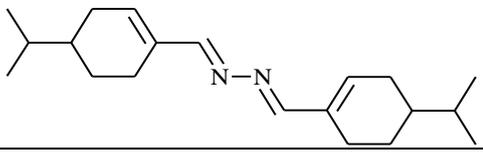
Le chromatogramme de NH-HE<sub>Al</sub> (Figure 5.43) montre la disparition totale du pic correspondant au périllaldéhyde situé à 37,21 min et l'apparition d'un pic fort à 101,90 min et un autre pic de faible intensité à 49,05 min.



**Figure 5.43:** Chromatogramme de NH-HE<sub>Al</sub>.

L'identification par CPG/SM de nouveaux produits formés montre la conversion totale des aldéhydes en azines symétriques ; les hydrazones restantes ont été aussi détectées en faibles quantités. Les nouveaux composés obtenus, identifiés par leurs spectres de masse (Annexe 8), sont représentés avec leurs teneurs dans le tableau 5.24.

**Tableau 5.24:** Composition et structure chimique des produits obtenus à partir des huiles essentielles modifiées.

Composés	Tr (min)	<i>A.leucotrichus</i>	<i>C. cyminum</i> L.
2-careen-10-alhydrazone 	47,185	-	3,60
Perillaldehydehydrazone 	49,090	18,71	-
Cuminaldehydehydrazone 	50,055	-	0,99
Cuminaldazine (1a) 	100,808	-	12,78
Perillaldazine (1b) 	102,080	24,04	-
2-careen-10-alazine (3a) 	102,183	-	20,74
Phellandralazine (2a) 	103,404	-	0,10

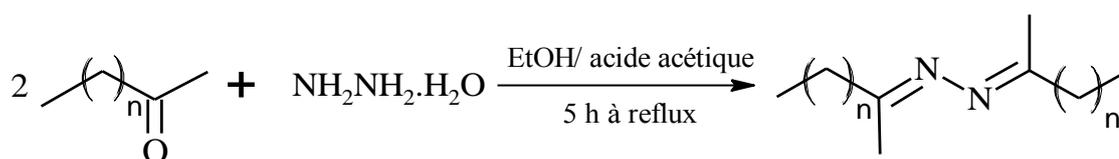
### 5.3.3.3 Hémi-synthèse des azines à partir des huiles essentielles chémotypées cétone

A cause de la stabilité des cétones par rapport aux aldéhydes, leur conversion en azines symétriques exige la présence d'un excès de cétone avec l'acide acétique ou l'acide formique comme catalyseur [189].

Dans cette partie des essais d'hémi-synthèse de cétazines symétriques à partir de cétones aliphatiques linéaires et cycliques extraites des huiles essentielles ont été réalisés.

#### 5.3.3.3.1 A partir de *Ruta montana* L.

En premier lieu, l'hémi-synthèse de cétazine à partir de 2-undécanone, le constituant majoritaire de l'HE de *Ruta montana* L., a été réalisée par son chauffage en présence d'acide acétique pour obtenir l'azine correspondante selon la réaction (Figure 5.44), la réaction a été suivie par CCM, jusqu'à la disparition totale de la tache du produit initial ; cette réaction a été achevée après 5 heures de chauffage.



**Figure 5.44:** Réaction d'hémi-synthèse de cétazines, n= 8 : 2-undécanone, n= 6-10 : *Ruta montana* L.

#### 5.3.3.3.1.1 Caractéristiques physiques et organoleptiques

Après 5 heures sous chauffage à reflux et évaporation du solvant, le 2-undécanazine a été obtenu comme un liquide jaune avec un rendement de 96%.

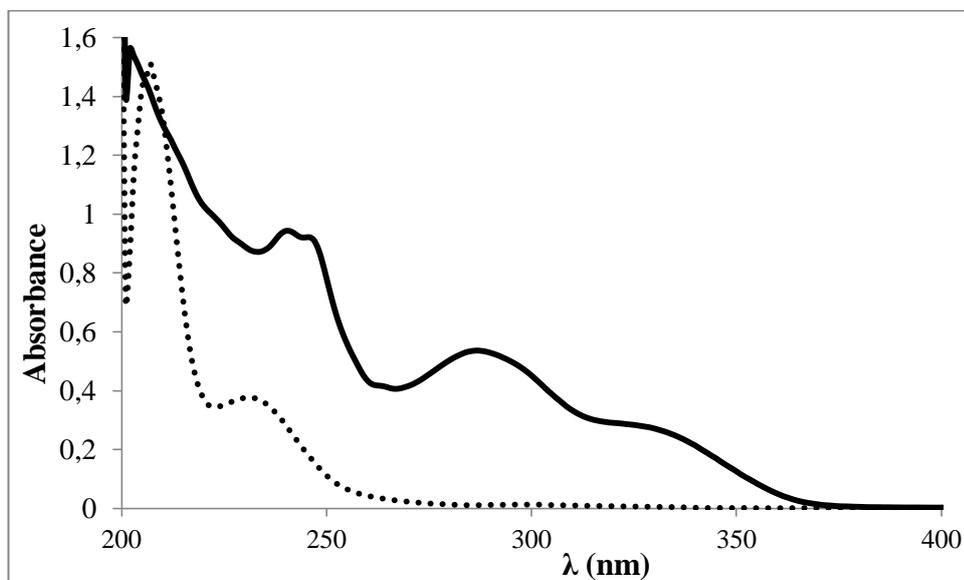
Toutes leurs propriétés physiques et organoleptiques sont représentées dans le tableau 5.25:

**Tableau 5.25:** Caractéristiques physiques et organoleptiques de NH-HE<sub>Rm</sub>.

Produits	Aspect	Couleur	$\eta_D^{20}$	R %	R <sub>f</sub> CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> (2 :1 V/V)
<b>2-undécanazine</b>	liquide	jaune	1,4142	96	0,54

### 5.3.3.3.1.2 Caractérisation par UV-vis

Le spectre UV-vis de 2-undécazine synthétisé superposé à ce de 2-undécanone sont représentés dans la Figure 5.45.

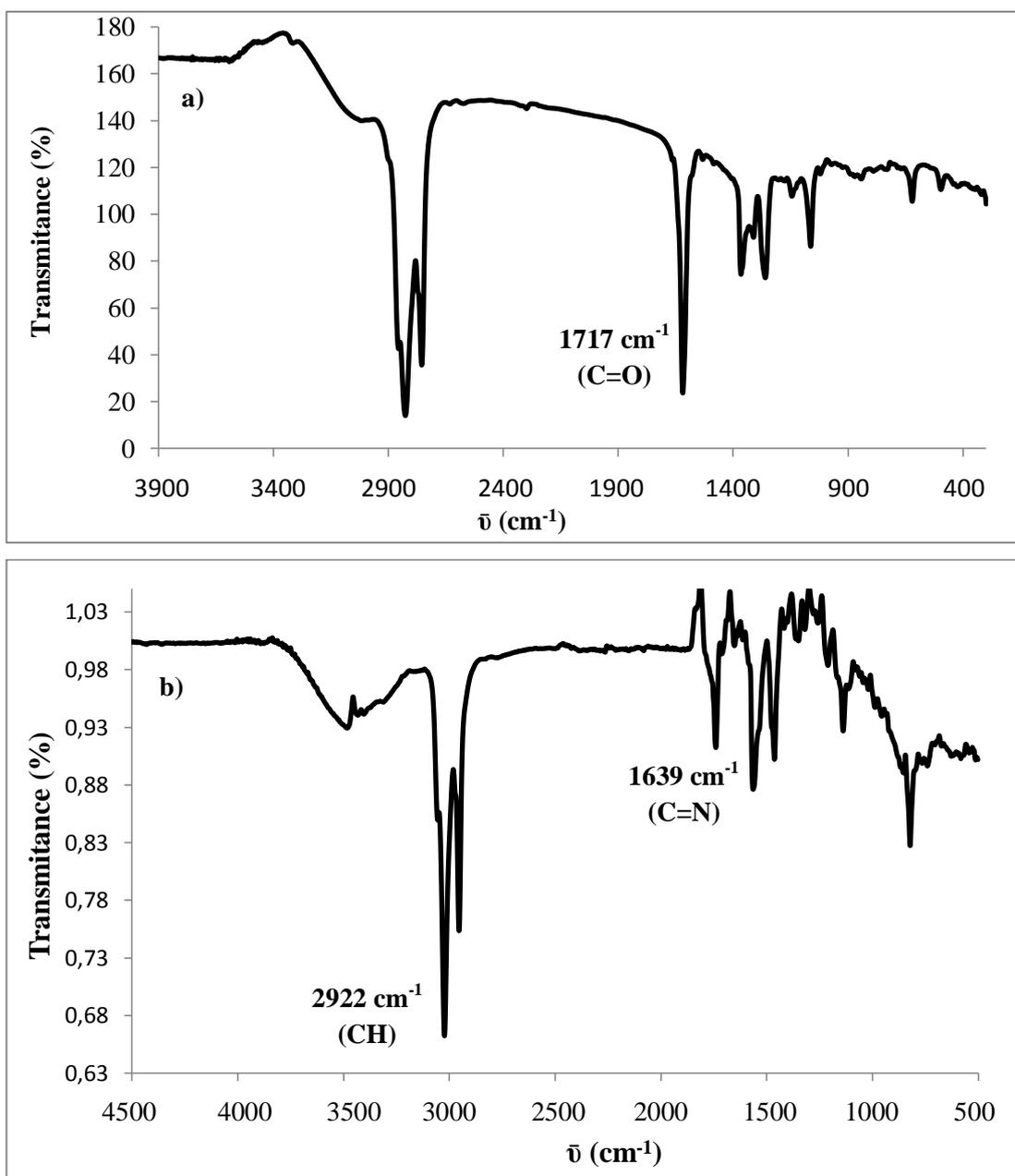


**Figure 5.45:** Spectres UV-vis de l'HE<sub>Rm</sub> (—) et 2-undécanezine (...).

Il a été observé, la disparition totale de la bande d'absorption située à 284 nm responsable de l'excitation électronique  $n \rightarrow \pi^*$ , relative à la fonction carbonyle C=O confirmant la conversion totale des cétones, avec un déplacement de l'absorption situé à 195 nm relatif à l'excitation électronique  $\pi \rightarrow \pi^*$  vers 211 nm, ce qui indique l'augmentation de la partie alcène c'est-à-dire l'augmentation du nombre d'insaturations causé par la délocalisation du nuage  $\pi$ , résultante des délocalisations supplémentaires de 2-undécanezine par rapport au 2-undécanone ; il a été aussi remarqué la présence d'une bande à 232 nm.

### 5.3.3.3.1.3 Caractérisation par IRTF

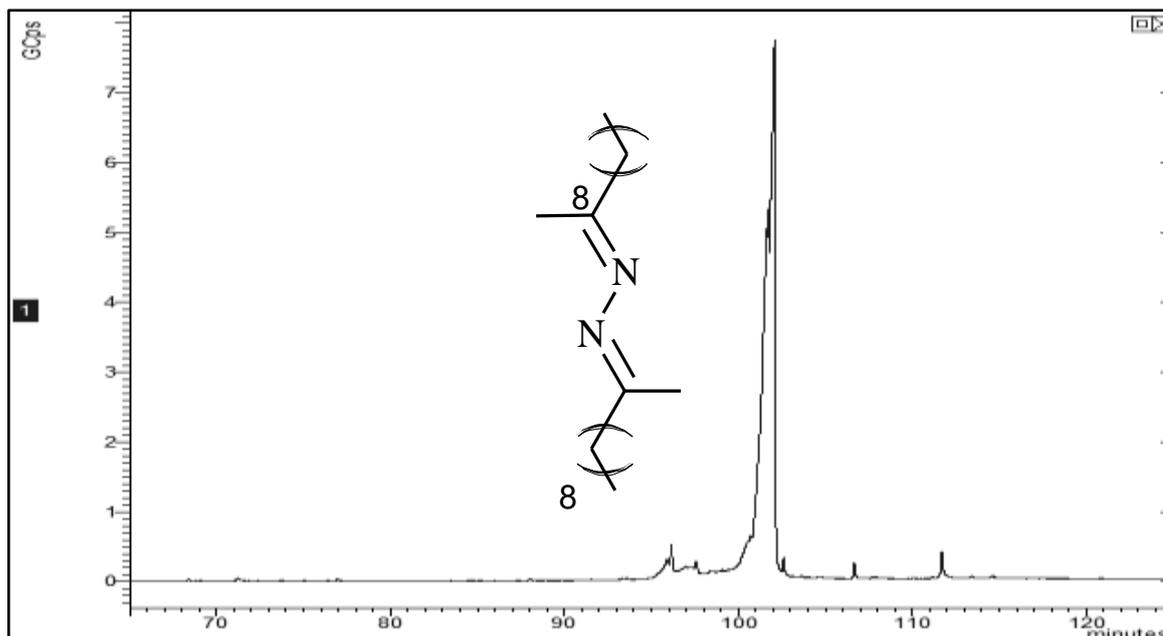
La conversion de 2-undécanone en 2-undécanezine a conduit à un changement remarquable de son spectre IRTF représenté dans la figure 5.46 ; ce dernier a été caractérisé par la disparition totale du pic caractéristique de la fonction C=O des cétones aliphatique situé à  $1718 \text{ cm}^{-1}$ , avec la conservation des pics d'absorption de la liaison CH situés à  $2853$ ,  $2922$  et  $2954 \text{ cm}^{-1}$  relatifs aux groupements CH, CH<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub> respectivement ; il a été remarqué l'apparition du pic d'absorption de la liaison C=N à  $1639 \text{ cm}^{-1}$ , ce qui confirme la conversion totale de 2-undécanone en 2-undécanezine.



**Figure 5.46:** Spectres IRTF de 2-undécanone (a) et 2-undécanazine (b).

#### 5.3.3.3.1.4 Caractérisation par CPG/SM

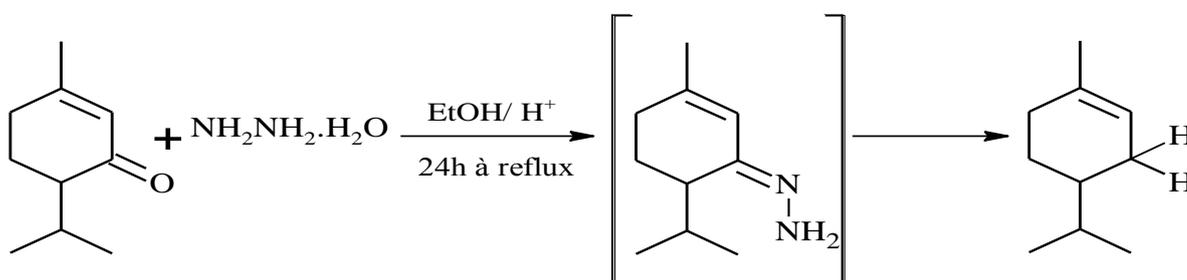
Le chromatogramme de 2-undécanazine représenté dans la figure 5.47 montre l'apparition d'un nouveau pic élué à 102 min, relatif à un spectre de masse (Annexe 8) caractérisé par un pic parent de 336 g/mol, correspond à la masse molaire de 2-undécanazine, avec la disparition totale du pic relatif au 2-undécanone qui été détecté à 35,12 min dans son chromatogramme (Annex 1), ce qui confirme que le 2-undécanone a été totalement converti à son azine correspondant.



**Figure 5.47:** Chromatogramme de 2-undécanezine.

#### 5.3.3.3.2 A partir de l'*Artemisia judaica* L.

Le suivi de la réaction de l'HE d'*Artemisia judaica* L. avec l'hydrazine monohydrate par CCM n'a montré la disparition de la tache du produit initial qu'après 24h de chauffage du mélange réactionnel, ceci a conduit à la réduction de pipéritone en 1-méthyl-4-(propan-2-yl) cyclohexène (p-menthène) en deux étapes selon la réaction schématisée dans la figure 5.48. La condensation du groupement carbonyle avec de l'hydrazine permet la formation d'une hydrazone intermédiaire, qui est ensuite déprotonée sous l'action d'une base forte pour conduire à l'hydrocarbure saturé attendu.



**Figure 5.48:** Réduction de Wolff-Kishner du pipéritone.

La réduction des groupements carbonyles en hydrocarbures à partir de leurs hydrazones correspondants a été rapportée la première fois par Kishner en 1911 [191] et peut après par Wolff en 1912.

### 5.3.3.3.2.1 Caractéristiques physiques et organoleptiques

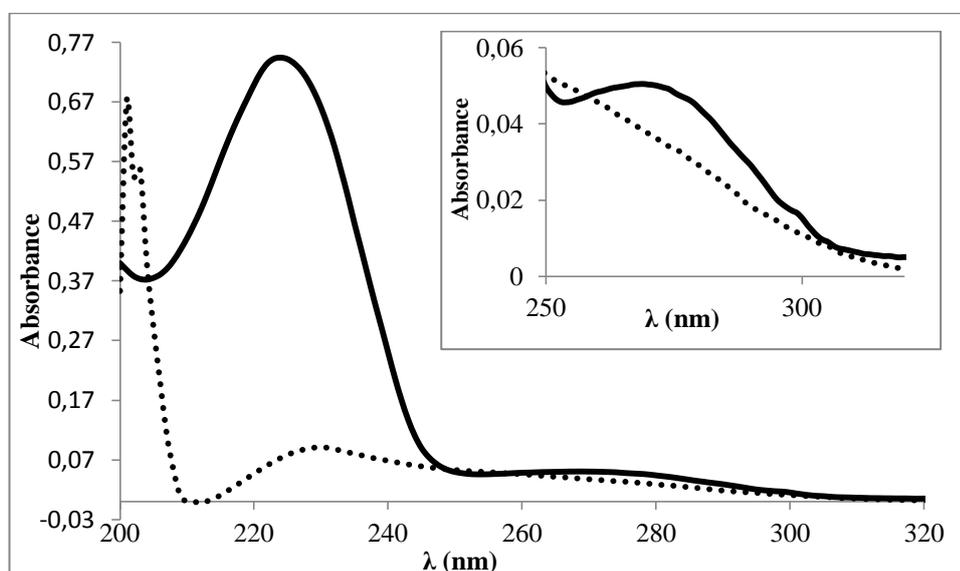
À la fin de la réaction, un produit semi-solide qui possède les propriétés représentées dans le tableau 5.26 a été récupéré.

**Tableau 5.26:** Caractéristiques physiques et organoleptiques de NH-HE<sub>AJ</sub>.

Produit	Aspect	Couleur	P <sub>f</sub> (°C)	R %	R <sub>f</sub> CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> / C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> (7:3)
NH-HE <sub>AJ</sub>	Semi-solide	Blanche	43	45	0,5

### 5.3.3.3.2.2 Caractérisation par UV-Vis

Le spectre UV-Vis de l'HE d'*Artemisia judaica* L. modifiée représenté dans la figure 5.49 montre la présence d'un seul pic intense situé à 200 nm spécifique à l'excitation électronique  $\pi \rightarrow \pi^*$  d'une double liaison alcène, indiquant la disparition de tous les groupements fonctionnels, ce qui confirme la réduction de pipéritone en hydrocarbure (1-méthyl-4-(propan-2-yl) cyclohexène) selon la réaction de W-K.

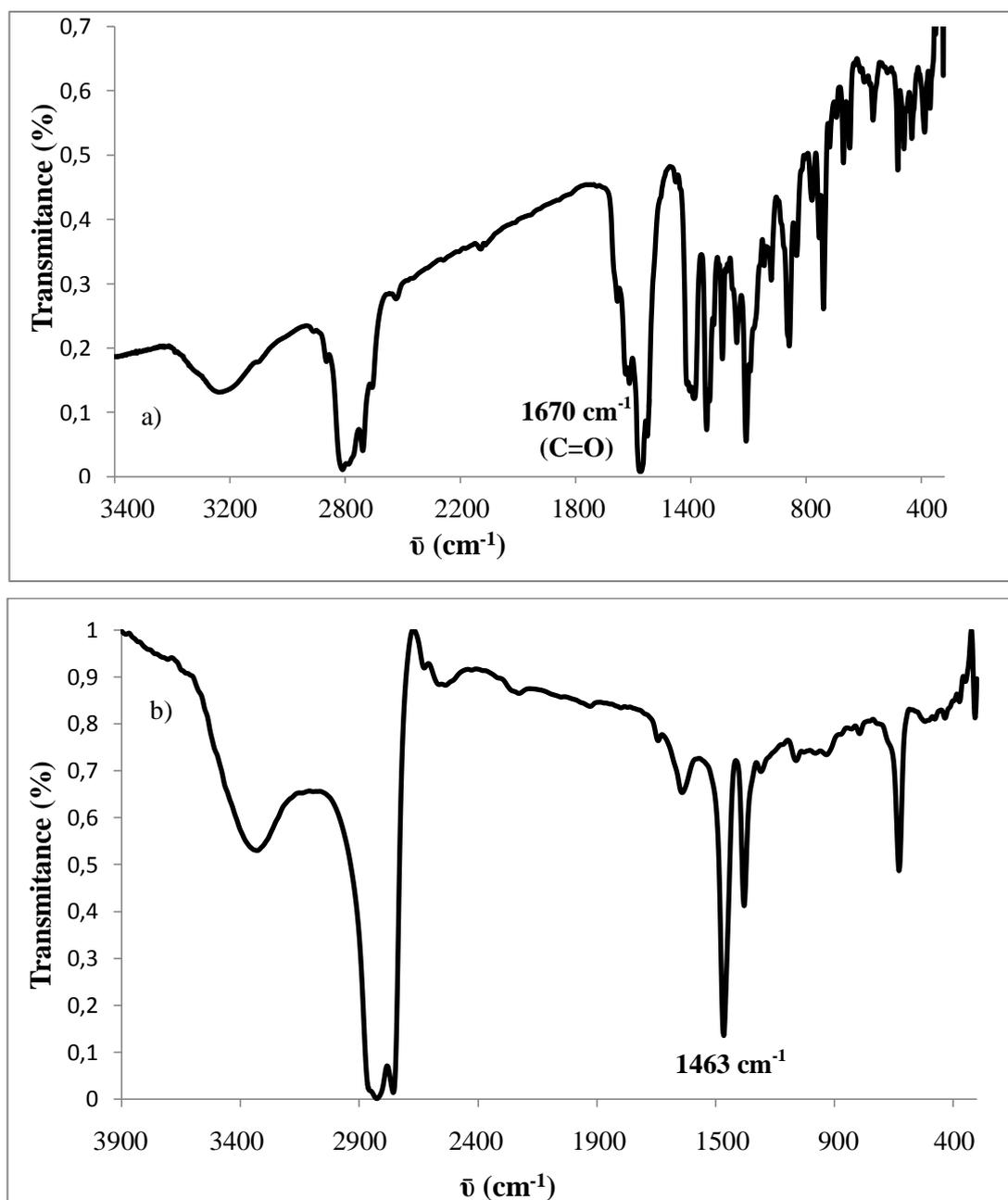


**Figure 5.49:** Spectres UV-vis de HE<sub>AJ</sub> (—) et NH-HE<sub>AJ</sub> (...).

### 5.3.3.3.2.3 Caractérisation par FTIR

La réduction du pipéritone selon Wolff-Kishner a été confirmée par la spectroscopie IR, où la disparition de tous les pics caractéristiques du groupement carbonyle (C=O) situés entre 1665 jusqu'à 1767 cm<sup>-1</sup> a été observée, sans apparition de nouveaux pics.

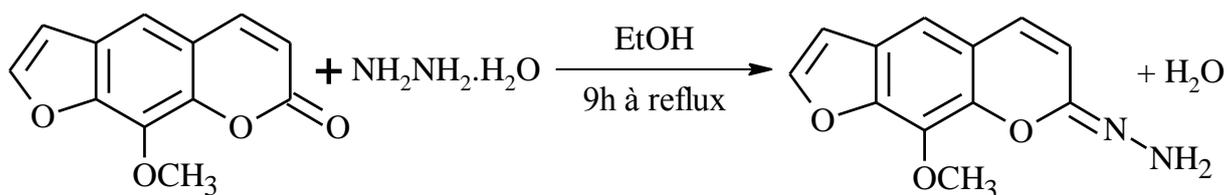
Les pics d'élongation caractéristiques de la liaison C-H situés à 2871, 2934 et 2959 cm<sup>-1</sup> relatifs aux groupements CH, CH<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub> respectivement ont été conservés, ainsi que le pic de déformation situé à 1463 cm<sup>-1</sup>.



**Figure 5.50:** Spectres IRTF de HE<sub>AJ</sub> (a) et NH-HE<sub>AJ</sub> (b).

#### 5.3.3.4 A partir de furocoumarine (Xanthotoxine)

L'action de l'hydrazine monohydrate sur la xanthotoxine a conduit à la formation de l'hydrazone correspondant uniquement, après 9h de chauffage selon la réaction de la figure 5.51., pas d'azine symétrique ont été détectées. Ceci peut être expliqué par leurs stabilité (plus électrophile) par rapport aux aldéhydes où le groupement NH<sub>2</sub> est moins nucléophile dans les hydrazones des furocoumarine, de plus le noyau de coumarine pourrait retarder la formation de l'azine [87].



**Figure 5.51:** Réaction d'hémi-synthèse de xanthotoxine hydrazone.

Récemment, des essais pour la synthèse directe des azines dérivées des coumarines par condensation en une seule étape en présence de l'hydrazine monohydrate et des aldéhydes aromatiques a donné un mélange de produits composé de l'azine symétrique de l'aldéhyde aromatique, d'hydrazone de la coumarine, et une quantité variable de l'azines asymétrique. Pratiquement pas d'azine symétrique dérivés de la coumarine pourrait être détecté [87].

#### 5.3.3.4.1 Caractéristiques physiques et organoleptiques

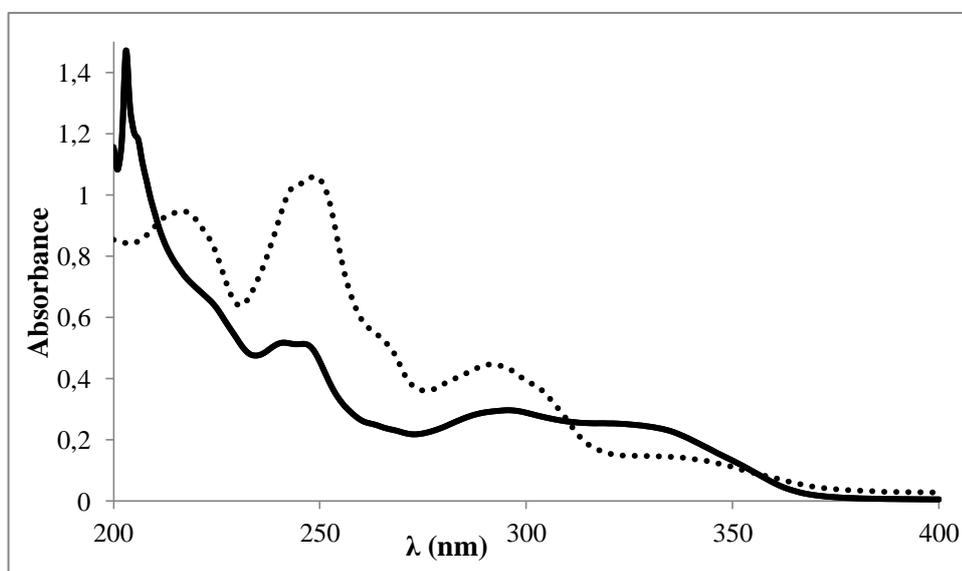
A la fin de la réaction, un produit solide qui possède les propriétés représentées dans le tableau 5.27 a été récupéré.

**Tableau 5.27:** Caractéristiques physiques et organoleptiques de NH-HE<sub>AJ</sub>.

Produit	Aspect	Couleur	P <sub>f</sub> (°C)	R %	R <sub>f</sub> CH <sub>3</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> / C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> (7:3 V/V)
Xanthotoxine hydrazone	Solide	Jaune	110	84	0,17

#### 5.3.3.4.2 Caractérisation par UV-Vis

La conversion du xanthotoxine en hydrazone à été mené par un changement de son spectre UV-vis représenté dans la figure 5.52.

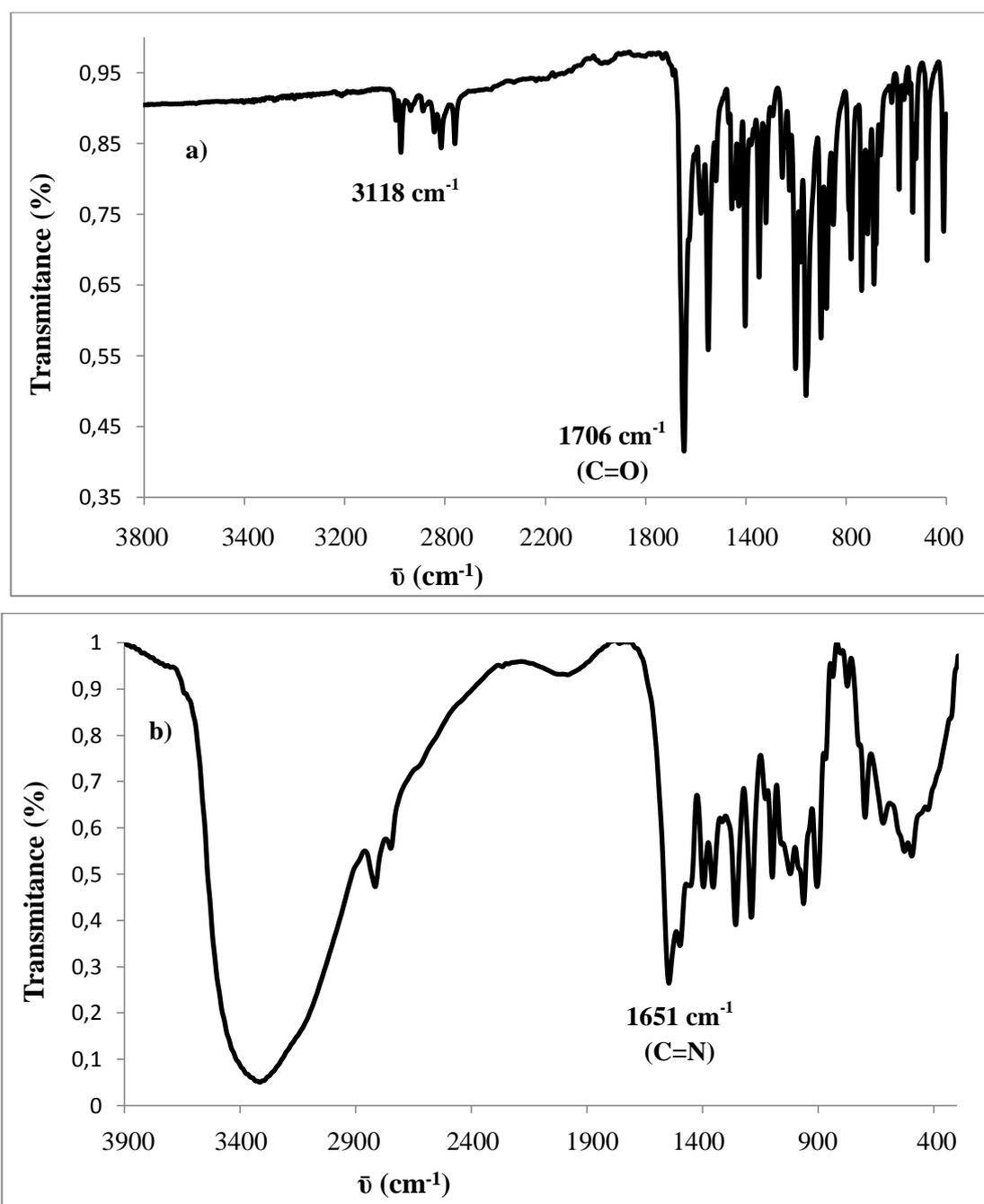


**Figure 5.52:** Spectres UV-vis du xanthotoxine (—) et de l'hydrazone (...).

Un effet bathochrome de la bande relative à la transition électronique  $\pi \rightarrow \pi^*$  de 204 à 218 nm, a été observé sur le spectre UV-vis de l'hydrazone ; ce dernier est caractérisé aussi par la présence d'une bande forte situé à 250 nm, avec un épaulement à 265 nm ; d'autres faibles bandes ont été observées à 295 et à 348 nm.

#### 5.3.3.4.3 Caractérisation par FTIR

La xanthotoxine hydrazone a été également caractérisée par la spectroscopie infra-rouge et son spectre IRTF est représenté dans la figure 5.53.



**Figure 5.53:** Spectres IRTF du xanthotoxine (a) et de xanthotoxine hydrazone (b).

Le spectre IRTF de l'hydrazone xanthotoxine est caractérisé par la disparition du pic d'absorption de la fonction C=O à  $1706\text{ cm}^{-1}$  et l'apparition d'un pic fort à  $1651\text{ cm}^{-1}$  responsable de la vibration d'élongation de la liaison C=N ; une large bande forte située à  $3400\text{-}3520\text{ cm}^{-1}$  couvrant la fonction OH ainsi que le groupement  $\text{NH}_2$  de l'hydrazone a été observée avec l'augmentation du pic caractéristique de la liaison C=C situé à  $1603\text{ cm}^{-1}$  ce qui indique que le xanthotoxine a été convertie à son analogue hydrazone et que la molécule est hydratée.

#### 5.3.3.4.4 Caractérisation par RMN

La structure chimique du xanthotoxine hydrazone a été confirmée par l'apparition d'un pic singulet à 1,89 ppm dans le spectre RMN  $^1\text{H}$  relatif au groupement  $\text{NH}_2$ , l'interprétation du spectre d'intégrale de ce pic permet de définir 2 protons présents dans ce groupement. Un pic fort large a été observé à 3,38 ppm relatif à la molécule d' $\text{H}_2\text{O}$ , détecté habituellement aux environs de 3,33 dans le  $\text{DMSO}_{d6}$  [192], ce qui confirme que la molécule est hydratée (Figure 5.54).

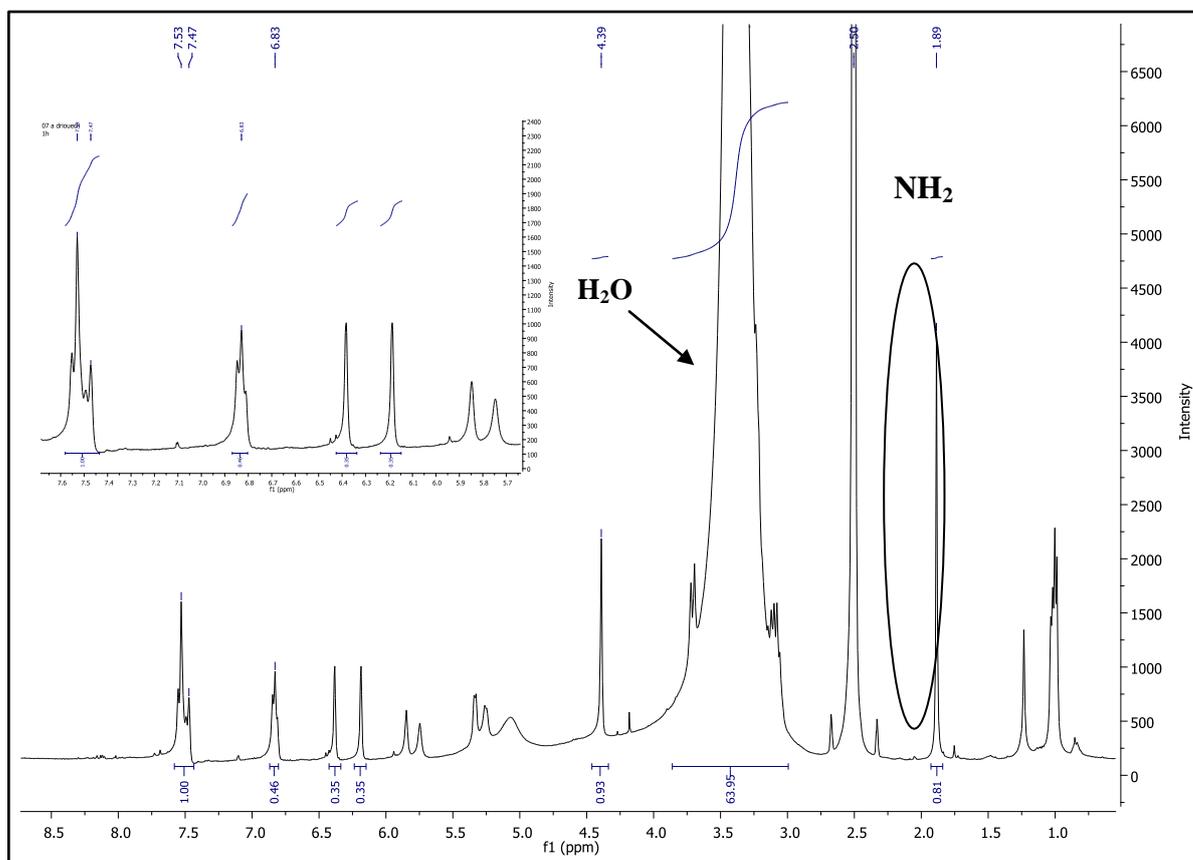


Figure 5.54: Spectre RMN  $^1\text{H}$  du xanthotoxine hydrazone.

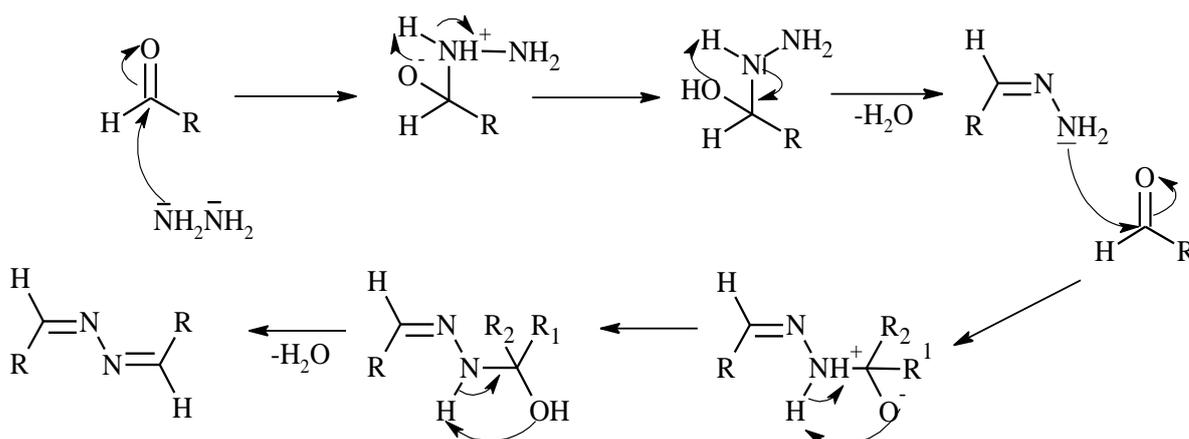
### 5.3.3.5 Discussion

Dans cette étude des essais pour l'hémi-synthèse d'aldazines et de cétazines symétriques à partir des aldéhydes et des cétones naturelles issus de quatre plantes aromatiques étudiées auparavant, par l'action de l'hydrazine monohydrate en une seule étape ont été réalisés, et les taux de conversion de différentes molécules sont représentés dans le tableau 5.28 ; Selon la structure et la réactivité des molécules, différents résultats ont été obtenus :

**Tableau 5.28:** Estimation des conversions des cétones et des aldéhydes étudiées

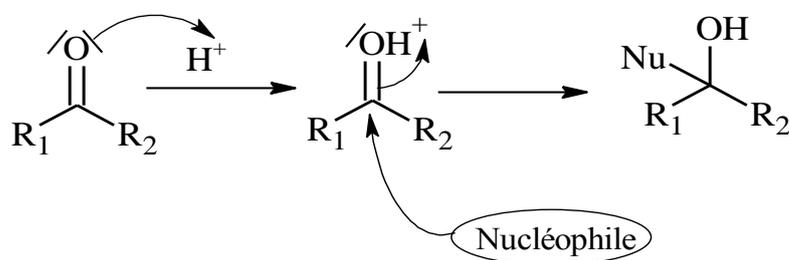
Composés	Temps de chauffage	Taux de conversion en hydrazone (%)	Taux de conversion en azine (%)	Taux de conversion en alcane (%)
Cuminaldéhyde	Sans chauffage	36,25	63,75	-
Phellandral	Sans chauffage	-	100	-
Périllaldéhyde	Sans chauffage	10,96	89,04	-
2-Carén-10-al	Sans chauffage	6,06	93,94	-
2-undécanone	5 h	-	96	-
Pipéritone	24 h	-	-	45
Xanthotoxine	9 h	84	-	-

La conversion des aldéhydes en aldazines symétriques avec des teneurs élevées étaient facile par simple agitation à température ambiante; La réaction de l'hydrazine monohydratée avec les aldéhydes constituant les HE dans l'éthanol forme des hydrazones, les aldéhydes en excès ont été condensés avec leurs hydrazones formées pour obtenir des azines symétriques. En fait, la réaction des hydrazones d'aldéhyde avec une deuxième molécule d'aldéhyde est plus rapide que la réaction avec l'hydrazine elle-même.



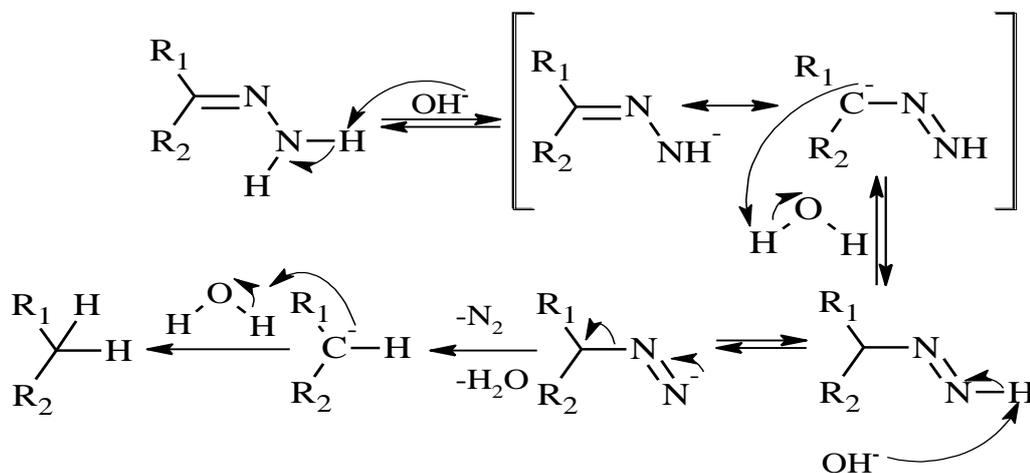
**Figure 5.55:** Mécanisme de la réaction de synthèse des hydrazones et des azines.

Ce qui était pas le cas avec les cétones, où la réaction nécessiterait le chauffage pendant des heures en présence d'un catalyseur acide (l'acide acétique). Les groupements donneurs d'électrons des cétones rendent le carbone du carbonyle plus nucléophile, et par conséquent l'attaque d'un nucléophile sur ce carbone serait plus difficile. Dans ce cas là, le catalyseur acide sert à activer la fonction carbonyle par protonation, et la rendant plus électrophile. Le 2-undécanazine a été obtenu après 5 heures de chauffage.



**Figure 5.56: Protonation de cétone**

Cette réaction était plus compliquée en utilisant des cétones cycliques, plus stable ; où les réactions nécessitent plus de température et de temps de chauffage, ces conditions drastiques ont conduit à la réduction du pipéritone en alcane selon la réaction de Wolff Kishner :



**Figure 5.57: Mécanisme de réduction de Wolff Kishner.**

Les furocoumarines sont des molécules relativement très stables, même à très haute température. La réaction de la xanthotoxine avec l'hydrazine a donné l'hydrazone correspondant après 9 heures de chauffage ; ceci peut être expliqué par sa grande stabilité (plus électrophile) où le groupement  $\text{NH}_2$  est moins nucléophile dans l'hydrazone de xanthotoxine, de plus le noyau de coumarine pourrait retarder la formation de l'azine. Dans ce cas là, la réaction du xanthotoxine avec l'hydrazine est plus rapide que la réaction d'hydrazone avec une deuxième molécule de xanthotoxine et donc pas d'azines symétriques ont été formées.

### 5.3.3.6 Activité antimicrobienne des azines

L'étude de l'activité antibactérienne et antifongique des azines hémisynthétisées contre quatre souches bactériennes et deux souches fongiques a été évaluée et comparée à celle des huiles essentielles natives, dans le but de valoriser les nouveaux produits obtenus et faire la relation entre la structure et l'activité. Les tests ont été menés au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Faubourg de Blida.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles natives et modifiés sont présentés dans le tableau 5.29 :

**Tableau 5.29:** Activité antimicrobienne des HE natives (N) et modifiées (M).

Microorganismes / Activité		Bactéries				Champignons	
		<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus niger</i>
HE <sub>Cc</sub>	DD (mm) 100 %	35	30	20	20	-	-
	DD (mm) 50 %	12	14	15	14	-	-
	<b>CMI (mg/mL)</b>	<b>1,4</b>	<b>0,42</b>	<b>0,5</b>	<b>1,0</b>	-	-
NH-HE <sub>Cc</sub>	DD (mm) 100 %	+40	35	+40	+40	30	25
	DD (mm) 50 %	19	16	17	15	12	10
	<b>CMI (mg/mL)</b>	<b>0,83</b>	<b>0,22</b>	<b>0,16</b>	<b>0,5</b>	<b>0,33</b>	<b>0,62</b>
HE <sub>Al</sub>	DD (mm) 100 %	25	18	20	19	-	-
	DD (mm) 50 %	13	11	19	13	-	-
	<b>CMI (mg/mL)</b>	<b>1,33</b>	<b>0,95</b>	<b>0,5</b>	<b>0,9</b>	-	-
NH-HE <sub>Al</sub>	DD (mm) 100 %	33	30	+40	+40	30	20
	DD (mm) 50 %	17	14	13	29	17	12
	<b>CMI (mg/mL)</b>	<b>1,06</b>		<b>0,23</b>	<b>0,63</b>	<b>1,1</b>	<b>1,5</b>
HE <sub>Rm</sub>	DD (mm) 100 %	12	14	12	11	13	27
	DD (mm) 50 %	-	-	-	-	12	10
	<b>CMI (mg/mL)</b>	<b>2,87</b>	<b>1,45</b>	<b>1,77</b>	<b>2,90</b>	<b>1,63</b>	<b>1,32</b>
NH-HE <sub>Rm</sub>	DD (mm) 100 %	30	29	40	28	36	36
	DD (mm) 50 %	11	10	15	16	17	14
	<b>CMI (mg/mL)</b>	<b>1,23</b>	<b>1,30</b>	<b>0,75</b>	<b>1,28</b>	<b>0,89</b>	<b>1,88</b>
HE <sub>Aj</sub>	DD (mm) 100 %	24	15	18	15	18	20
	DD (mm) 50 %	20	10	18	13	13	12
	<b>CMI (mg/mL)</b>	<b>1,00</b>	<b>1,93</b>	<b>1,22</b>	<b>2,11</b>	<b>2,31</b>	<b>2,10</b>
NH-HE <sub>Aj</sub>	DD (mm) 100 %	/	/	/	/	/	/
	DD (mm) 50 %	08	09	10	10	08	09
	<b>CMI (mg/mL)</b>	<b>2,9</b>	<b>2</b>	<b>2,45</b>	<b>2,50</b>	<b>2,85</b>	<b>1,95</b>

DD : diamètre d'inhibition ; CMI : concentration minimale inhibitrice.

Une amélioration considérable des diamètres des zones d'inhibition a été observée en utilisant les HEs modifiées, causée par la substitution des groupements carbonyle des aldéhydes et des cétones par un groupement azométhine.

La conversion des aldéhydes constituant ces huiles essentielles en leurs analogues azines a conduit à une augmentation considérable des zones d'inhibition modérées et à une diminution des valeurs de la concentration minimale inhibitrice, notamment contre les bactéries Gram négatives; Où des zones d'inhibitions > 40 mm ont été observées contre toutes les souches en utilisant les huiles modifiées pures; Des zones de (15-17 mm) en utilisant 50% d'HE de graines de cumin modifiée et (13-29 mm) en utilisant 50% d'HE de cumin velu modifiée ont été signalées; En revanche, ces huiles essentielles modifiées ont fourni une activité antifongique importante contre les champignons *Candida albicans* et *Aspergillus niger* qui était résistante aux huiles essentielles natives.

L'HE de *Ruta montana* était inactif à 50% contre toutes les bactéries testé, alors que les azines dérivent de cette HE ont exhibé des diamètres d'inhibition de 10 mm contre *Bacillus subtilis* jusqu'à 16 mm contre *Pseudomonas aeruginosa*; d'un autre côté, l'activité antifongique modérée établie par l'HE de *Ruta* native contre les deux souches fongiques testées a été augmentée de 10 jusqu'à 14 mm contre *Aspergillus niger* et de 12 à 17 mm contre *Candida albicans*

Plusieurs études ont prouvé l'importance du groupement fonctionnel azine (> C = N-N =C) dans les composés antimicrobiens [193]. L'activité antimicrobienne d'une série d'aldazines aromatiques acycliques symétriques contre 10 espèces bactériennes et 3 fongiques a montré l'efficacité de onze composés en tant qu'agent antibactérien avec des diamètres d'inhibition bonne à modéré selon la structure chimique et la nature des substituents, tandis que seulement quatre azines bicycliques possédaient des activités antifongiques significatives [194]

Les diamètres d'inhibition les plus faibles ont été obtenus à partir de l'HE d'Armoise de judée modifiée; dans ce cas là, l'activité antibactérienne et antifongique a été diminuée par rapport à celle obtenu à partir de l'HE native, ces résultats peuvent être causés par la structure de cette HE, où les cétones de cette HE ont été réduites en alcane comme expliqué précédemment. La polarité du composé et la présence des hétéroatomes sont très importants pour l'activité à observer. La pénétration dans les cellules bactériennes est conditionnée par l'augmentation de la lipophilie et de la structure spatiale.

L'activité antimicrobienne du xanthotoxine et de son analogue hydrazone solubilisé dans le DMSO à différentes concentrations est représentait dans le tableau 5.30

**Tableau 5.30:** Activité antimicrobienne du xanthotoxine native et modifiée.

Microorganismes	Xanthotoxine			Xanthotoxine hydrazone		
	50 mg	80 mg	100 mg	50 mg	80 mg	100 mg
<b>Bactéries</b>						
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	15	11	12	21
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	13	20	10	16	24
<i>Bacillus subtilis</i>	16	20	25	20	25	33
<b>Champignons</b>						
<i>Aspergillus niger</i>	-	11	14	09	14	19
<i>Aspergillus flavus</i>	-	16	18	15	21	26
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	-	12	15	10	16	20
<i>Candidat albicans</i>	15	18	22	17	20	28

Les diamètres des zones d'inhibition modérées du xanthotoxine ont été augmentés considérablement en utilisant son analogue hydrazone. Il a été remarqué aussi que la xanthotoxine était inactive à 50 mg pratiquement contre tous les microorganismes testés, à part *Bacillus subtilis* et *Candidat albicans* ; la même dose d'hydrazone xanthotoxine a exhibée une activité modérée contre toutes les souches testées, avec des zones d'inhibition de 9-17 mm, cette activité augmente avec l'augmentation de la concentration.

D'après les résultats de l'activité antifongique, il a été rapporté que la souche *Candidat albicans* s'est avéré la plus sensible avec des diamètres d'inhibition de 17-28 mm et *Aspergillus niger* est la souche la plus résistante.

La xanthotoxine hydrazone a montré une forte activité antibactérienne contre toutes les bactéries testées ; les diamètres les plus importants ont été obtenus contre *Bacillus subtilis*. Les hydrazones sont connus pour leurs fortes activités antibactériennes et antifongique largement étudiées par des auteurs [195].

L'activité biologique des coumarines est plus significative par la substitution des divers carbones du système bi-cyclique. Les propriétés pharmacologiques et biochimiques et les applications thérapeutiques des coumarines simples dépendent du motif de substitution. Par conséquent, il est nécessaire de mener une attention particulière à l'étude de la SAR des coumarines.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

L'objectif majeur du présent travail était l'introduction de nouvelles fonctions chimiques plus performantes aux constituants majoritaires des huiles essentielles riches en composés carbonylés (cétones et aldéhydes), extraites à partir de quatre plantes médicinales Algérienne à savoir la *Ruta montana* L., l'*Artemisia judaica* L., le *Cuminum cyminum* L. et l'*Ammodaucus leucotrichus* sups *leucotrichus* afin d'atténuer les résistances exercées sur les molécules précurseurs par l'amélioration de leurs activités biologiques.

Les huiles essentielles de divers organes de ces plantes obtenues par hydrodistillation possèdent les propriétés suivantes :

L'HE de *Ruta montana* L. obtenue avec un rendement quantitatif de 1,1% est constituée exclusivement de cétones aliphatiques linéaires (83,8%) avec des chaînes alkyles de différentes longueurs (C<sub>9</sub>-C<sub>13</sub>), majoritairement de 2-undécanone (67%). Cependant, un fort photosensibilisant (la xanthotoxine) a été isolé à partir de l'extrait apolaire de la même plante.

En revanche, les cétones cycliques étaient prédominantes dans l'HE d'*Artemisia judaica* L. extraite avec un rendement appréciable de 2,5% et représentées majoritairement par la pipéritone avec une forte teneur de 86,48%.

L'hydrodistillation des graines de *Cuminum cyminum* L. et des fruits d'*Ammodaucus leucotrichus* a fourni des huiles essentielles, avec des rendements quantitatifs et appréciables respectifs de 2,15% et de 2,52%. La caractérisation chimiques de ces deux huiles essentielles a révélée la prévalence des fractions importantes d'aldéhydes, respectivement de 47,61 et 48,01%; où le cuminaldéhyde, le phellandral et le 2-carène-10-al ont été détectés avec des teneurs élevées (21,60 ; 0,1 et 25,91%) dans l'huile essentielle des graines de cumin, et le périllaldéhyde a été identifié comme le constituant principal (48,01%) de l'huile essentielle de cumin velu.

Les huiles essentielles extraites ont fourni une activité antimicrobienne plus ou moins importante, dépendante de la composition chimique de l'HE utilisée et de la résistance des souches bactériennes et fongiques étudiées ; il a été observé que les huiles essentielles chémotypées aldéhydes ont fourni les plus fortes diamètres d'inhibition contre les bactéries étudiées mais elles étaient inactif vis-à-vis les champignons.

Nos efforts ont été portés par la suite sur leurs valorisations par hémisynthèse et par le biais de la mise en évidence de leurs nouvelles propriétés.

En effet, après avoir démontré dans la première partie, la richesse de l'HE de *Ruta montana* L. en cétones aliphatiques linéaires à chaînes alkyles de différentes longueurs et en raison de l'intérêt industriel réservé à ces biomolécules, surtout dans l'hémi-synthèse des tensioactifs à base de chaîne hydrocarbonée naturel; l'hémisynthèse d'un mélange de tensioactifs avec des chaînes alkyles de différentes longueurs, nommé (MSHAS) utilisé plus tard comme émulsifiant H/E par action de l'hydrogénosulfite de sodium sur l'HE de *Ruta montana* L. a été réalisée ; en parallèle et de la même manière mais seulement à partir du constituant majoritaire de cette HE à savoir le 2-undécanone, un tensioactif anionique nommé (SHUS) a été synthétisé. Les tensioactifs obtenus ont montrés de bonnes propriétés tensioactives avec une meilleur performance et efficacité d'adsorption à l'interface air / eau dans le cas du mélange MSHAS par rapport au SHUS, ces dernier ont atteint des valeurs de CMC de 0,8 et 1 mM. L<sup>-1</sup> et des tensions de surface à la CMC ( $\gamma_{\text{CMC}}$ ) de l'ordre de 39,6 et 47,4 mN.cm<sup>-1</sup> respectivement.

Nos études sur quelques systèmes de l'HE de *Ruta montana* L. dispersée dans l'eau, stabilisés par les émulsifiants hémisynthétisés confirment les résultats cités précédemment; où les émulsions stabilisées par le mélange de tensioactifs MSHAS était visiblement plus stables par rapport à ceux obtenus à base du tensioactif unique SHUS. Les résultats de l'analyse granulométrique sont toutes a fait comparable à ceux de l'étude rhéologique, ce qui nous a permet de confirmer l'augmentation de la viscosité avec la réduction de la taille des gouttelettes.

Dans un 2<sup>ème</sup> volet, nous avons entamé l'hémi-synthèse de molécules bioactives azotées et/ou oxygénées voir soufrées à visée biologique à partir des huiles essentielles obtenus.

Dans cette optique, la thionation de l'HE d'*Artemisia Judaica* L. sous l'action de P<sub>2</sub>S<sub>5</sub> a provoqué la conversion de la pipéritone, molécule précurseur et constituant majoritaire, à ses dérivées pipérithione et pipérito-ene-thiol. La tautomérie de ces derniers a été observée lors du suivi de la disparition de la couleur des solutions des produits de thionation en fonction du temps par UV-Vis et par les résultats de l'analyse chromatographique GC-MS ; les résultats obtenus montrent la prédominance de la forme thione en phase solide et la forme ene-thiol en solution. La substitution de l'oxygène par l'atome de soufre a conduit à une augmentation de la volatilité et du caractère hydrophobe de cette HE, responsables de leurs nouvelles performances et activités biologiques.

Dans le même ordre d'idée, des essais pour l'hémisynthèse d'une série d'aldazines et de cétazines symétrique à partir des huiles essentielles étudiées auparavant par action de l'hydrazine monohydrate dans l'éthanol ont été réalisés et de nouveaux produits dérivés ont été identifiés.

A la lumière des travaux réalisés, il est important de mentionner les différents aspects de la réactivité des cétones cycliques, acycliques et des aldéhydes ; dans ce sens :

- Les aldéhydes constituant l'HE de cumin et de cumin velu ont été convertis en aldazines par une simple agitation à froid.
- La stabilité des cétones par rapport aux aldéhydes a exigé le chauffage de la réaction dans l'acide acétique ; dans ce cas là le 2-undécanone a été converti totalement en undécanazine après 5h de chauffage.
- Les cétones cycliques étaient plus stables où la pipéritone a été réduite en 1-méthyl-4-(propan-2-yl) cyclohexène (p-menthène) selon la réaction de Wolf-Kishner après 24h de chauffage à reflux et le chauffage de la xanthotoxine pendant 9h en milieu acide a donné uniquement l'hydrazone correspondant.

Dans la dernière partie du travail, une étude comparative du pouvoir antimicrobien des extraits volatils et non volatils des espèces étudiées natives et modifiées chimiquement, contre des souches bactériennes et fongiques, a montré que l'introduction des hétéroatomes comme le soufre et l'azote au sein des huiles essentielles provoque une grande amélioration de leurs activités antimicrobiennes contre toutes les souches testées, par contre la réduction de ces composés carbonyles en alcanes simples, comme dans le cas de la pipéritone, a conduit à une diminution remarquable des diamètres des zones d'inhibition. Ces résultats confirment l'intérêt de la présence des groupements fonctionnels caractéristiques au sein des entités moléculaires sur l'activité antimicrobienne.

Les résultats encourageants obtenus sont prometteurs et méritent d'être poursuivis dans le but de concrétiser les objectifs ciblés par cette recherche et en particulier, l'élaboration de formulations à base des tensioactifs hémisynthétisés en utilisant des plans d'expérience dans le domaine de la récupération du pétrole, en cosmétique et comme inhibiteur de corrosion. Il serait également intéressant de démontrer le caractère biodégradable de ces formulations et par conséquent remplacer les tensioactifs non ioniques qui provoquent des problèmes environnementaux et néfastes sur la santé par ces nouveaux tensioactifs hémisynthétiques de sources naturels modifiés.

Les spectres d'activités des nouvelles molécules obtenues par insertion du soufre ou de l'azote à la place de l'atome d'oxygène doivent être élargis ; de plus ces molécules peuvent être utilisées comme précurseurs pour la synthèse d'autres molécules par des protocoles beaucoup plus simples et quantitatifs.

Et enfin le domaine d'utilisation de la xanthotoxine native et modifiée peut être étendu pour l'exploitation de leurs propriétés photosensibilisantes dans la dépollution de l'eau et la préparation des formulations anti-UV en cosmétique.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Caniard, A. ; Zerbe, P. ; Legrand, S. ; Cohade, A. ; Valot, N. ; Magnard, J.L. ; Bohlmann, J. ; Legendre, L. « Discovery and functional characterization of two diterpene synthases for sclareol biosynthesis in *Salvia sclarea* (L.) and their relevance for perfume manufacture », *BMC Plant Biology*, vol. 12, n°1, **(2012)**, 119.
2. Guo, Y. ; Liu, Z. ; Hou, E. ; Ma, N. ; Gen, Y. ; Che, P. ; Yang, R. « Application of natural products as insecticide candidates: Semisynthesis and biological evaluation of some novel osthole-based esters », *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 30, n° 15, **(2020)**, 127260.
3. Krister, H., « Natural surfactants », *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, vol. 6, n° 2, **(2001)**, 148-159.
4. Szychowski, J. ; Truchon, J.F. ; Bennani, Y.L. « Natural Products in Medicine: the Transformational Outcome of Synthetic Chemistry », *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 57, n° 22, **(2014)**, 9292-308.
5. Montinari, M.R. ; Minelli, S. ; De Caterina, R. « The first 3500 years of aspirin history from its roots – A concise summary », *Vascular Pharmacology*, vol. 113, **(2018)**, 1-8.
6. Guéritte-Voegelein, F. ; Sénilh, V. ; David, B. ; Guénard, D. ; Potier, P. « Chemical studies of 10-deacetyl baccatin III: Hemisynthesis of taxol derivatives », *Tetrahedron*, vol. 42, n° 16, **(1986)**, 4451-4460.
7. Hazzit, M. ; Benchabane, A. ; Baaliouamer, A. ; Alloun, K. ; Kaci, M. « Composition Chimique et Activité Antimicrobienne de L'extrait Non Volatil et des Huiles Essentielles de la Rue des Montagnes (*Ruta montana* L.) », *Recherche Agronomique*, vol. 27, **(2015)**, 118-129.
8. Bankaddour, Z. ; Kadda, Hachem. ; Noureddine, H. ; Khaled, K. « Essential Oil from *Artemisia judaica* L. (ssp. *sahariensis*) Flowers as a Natural Cosmetic Preservative: Chemical Composition, and Antioxidant and Antibacterial Activities », *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 22, n° 4, **(2019)**, 1-10.

9. Ben Miri, Y. ; Djenane, D. « Evaluation of Protective Impact of Algerian *Cuminum cyminum* L. and *Coriandrum sativum* L. Essential Oils on *Aspergillus flavus* Growth and Aflatoxin B1 Production », *Pakistan Journal of Biological Sciences*, vol. 21, n° 2, **(2018)**, 67-77.
10. Benchikha, N. ; Rebiai, A. ; Brahmia, O. ; Neghmouche, N. S. ; Ben Amor, M. L. « Chemical Composition, Antimicrobial, Antioxidant and Anticancer Activities of Essential Oils From *Ammodaucus leucotrichus* Cosson & Durieu (Apiaceae) Growing in South Algeria », *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, vol. 33, n° 3, **(2019)**, 541-549.
11. Grosjean, N. « L'Aromathérapie : santé et bien être par les huiles essentielles », Albin Michel, Ed Romart, Nice. **(1993)**, 323p.
12. Meyer-Warnod, B. « Natural essential oils: extraction processes and application to some major oils »; *Perfume, Flavorist*, vol. 9, **(1984)**, 93-104.
13. Moro Buronzo, A. « Le Grand Guide des Huiles Essentielles: Santé, Beauté, Bien être », Hachette Pratique, **(2008)**, 14- 43.
14. Werner, M. « Les Huiles Essentielles: réveil du corps et de l'esprit », Vigot, Collection Santé Bien- Etre, **(2002)**, 60-95.
15. Wilson, R. « Aromatherapy: Essential oils for Vibrant Health and Beauty », Penguin, illustrée, révisée, **(2002)**, 1- 24.
16. Lardry, J. M. « Les Huiles Essentielles: Introduction à l'Aromathérapie », *Kinesitherapy Reviews*, vol. 61, **(2007)**, 14-7.
17. Perrut, M. « Extraction par fluide supercritique », *Les techniques de l'ingénieur*, J 2 770. **(1999)**.
18. Pellerin, P. « Spercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavor andperfume industry ». *Perfumer Flavorist*, vol. 16, **(1991)**, 37 – 39.
19. Pellerin, P. « Extraction par le CO<sub>2</sub> à l'état supercritique. Annales des falsifications et de l'expertise chimique et toxicologique », vol. 94, n° 954, **(2001)**, 51-62.
20. Brat, P. « Application of flash-release, a new extraction procedure (juice, pulp, essential oil) ». *Fruitrop (English ed.)*. Journée professionnelle Techno fruits 2001, Montpellier, France, vol. (85), **(5 Septembre 2001)**, 11-13.
21. . Bousbia, N. « Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires ». THESE pour obtenir le grade de Docteur en Sciences, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Spécialité : Chimie, **(2011)**, p: 19.

22. Chemat, F. ; Tomao, V. ; Viot, M. « Ultrasound-assisted extraction in food analysis », In Handbook of Food Analysis Instruments by Semith ötles, Boca Raton, Florida, USA : CRC Press. **(2008)**, 85 – 103.
23. Chemat, F. ; Smadja, J. ; Lucchesi, M. E. « Lösungsmittelfreie Mikrowellen-Extraktion von flüchtigen Naturstoffen », *Brevet Européen*, **(2004)**, EP 1 439 218 A1.
24. Salisova, M. ; Toma, S.; Mason, T. J. « Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis* », *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 4, n° 2, **(1997)**, 131 – 134.
25. Vinatoru, M. « An overview of ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs », *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 8, n°3, **(2001)**, 303-313.
26. Paré, J. R. J. ; Sigouin, M. ; Lapointe, J. « Extraction de produits naturels assistée par micro-ondes », *Brevet européen*, **(1990)**, EP 398798.
27. Svoboda, K. P. ; Svoboda, T. G. ; Syred, A. « A Closer Look: Secretory structures of aromatic and medicinal plants », Microscopix Publications, American Botanical Council, vol. 53, **(2001)**, 34-43.
28. Hazzoumi, Z. ; Moustakime, Y. ; Amrani Joutei, K. « Essential Oil and Glandular Hairs: Diversity and Roles », Chapter, **(2019)**, DOI: 10.5772/intechopen.86571
29. Caissard, J.C. ; Joly, C. ; Bergougnoux, V. ; Hugueney, P. ; Mauriat, M. ; Baudino, S. « Secretion mechanisms of volatile organic compounds in specialized cells of aromatic plants », *Recent Research Developments in Cell Biology*, vol. 2, **(2004)**, 1-15.
30. Breitmaier, E. « Terpenes : Flavors, Fragrances, Pharmaca, Pheromones », Weinheim : Wiley. Wiley-VCH, Applied Organometallic Chemistry **(2007)**; vol. 21: 377, 214 pp.
31. Thormar, H. « Lipids and essential oils as antimicrobial agents », Halldor Thormar, Wiley. **(2011)** : 315.
32. Bakour, M. ; Soulo, N. ; Hammas, N. ; El fatemi, H. ; Aboulghazi, A. ; Taroq, A. ; Abdellaoui, A. ; Al-waili, N. B. ; Lyoussi, B. « The Antioxidant Content and Protective Effect of Argan Oil and *Syzygium aromaticum* Essential Oil in Hydrogen Peroxide-Induced Biochemical and Histological Changes », *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, n° 2, **(2018)**, 610.

33. Kaur, K. ; Kaushal, S. « Phytochemistry and pharmacological aspects of *Syzygium aromaticum*: A review », *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, vol. 8, n°1, (2019), 398-406.
34. Walasek, M. ; Grzegorzczak, A. ; Malm, A. ; Skalicka-Woźniak, K. « Bioactivity-guided isolation of antimicrobial coumarins from *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (*Apiaceae*) fruits by high-performance counter-current chromatography », *Food Chemistry*, vol. 186, (2015), 133-138.
35. Dugrand-Judek, A. ; Olry, A. ; Hehn, A. ; Costantino, G. ; Ollitrault, P. ; Froelicher, Y. ; Bourgaud, F. « The Distribution of Coumarins and Furanocoumarins in Citrus Species Closely Matches Citrus Phylogeny and Reflects the Organization of Biosynthetic Pathways», *PLOS ONE*, vol. 10, n° 11(2015).
36. Millesi, S. « Etude de la production de furocoumarines par la Rue officinale (*Ruta graveolens* L.) : cultures de plantes au champ et cultures *in vitro* ». *Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Docteur de l'INPL, Institut National Polytechnique de Lorraine*, (2002), p: 22.
37. Łuszczki, J.J. ; Andres-Mach, M. ; Gleńsk, M. ; Skalicka-Woźniak, K. « Anticonvulsant effects of four linear furanocoumarins, bergapten, imperatorin, oxypeucedanin, and xanthotoxin, in the mouse maximal electroshock-induced seizure model: a comparative study », *Pharmacological Reports*. vol. 62, n° 6, (2010), 1231-1236.
38. Skalicka-Woźniak, K. ; Mendel, M. ; Chłopecka, M. ; Dziekan, N. « Isolation and evaluation of the myorelaxant effect of bergapten on isolated rat jejunum », *Pharmaceutical Biology*, vol. 54, n° 1, (2016), 48-54.
39. Yan Zhang, Y. ; JunCao, Y. ; Zhuan Zhan, Y. ; Duan, H. ; He, L.C. « Furanocoumarins-imperatorin inhibits myocardial hypertrophy both in vitro and in vivo », *Fitoterapia*, vol. 81, n° 8, (2010), 1188-1195
40. Sumorek-Wiadro, J. ; Zając, A. ; Maciejczyk, A. ; Jakubowicz-Gil, J. «Furanocoumarins in anticancer therapy – For and against », *Fitoterapia*, vol. 142, (2020), 104492.
41. Saba, S. ; Gholam-Reza, A. ; Salehi-Sourmaghia, M. H. ; Schneiderb, B. ; Lorenzb, S. ; Iranshahic, M. « Sulfur-containing compounds from the roots of *Ferula latisecta* and their cytotoxic activities », *Fitoterapia*, vol. 124, (2018), 108–112.

42. Radulović, N. S. ; Miltojević, A. B. ; Stojković, M. B. ; Polina, D. ; Blagojević, P. D. « New volatile sulfur-containing compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L., *Liliaceae*) », Food Research International, vol. 78, (2015), 1–10.
43. Koba, K. ; Poutouli, P.W. ; Raynaud, C. ; Chaumont, J. P. ; Sanda, K. « Chemical composition and antimicrobial properties of different basil essential oils chemotypes from Togo », Bangladesh Journal of Pharmacologie, vol. 4, (2009), 1-8.
44. Bonnier, G. ; Douin, R. « La Grande Flore en Couleur », Bellin :Tom 3, (1990), 205-206.
45. Baba Iassa, F. « Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb », Librairie Moderne –Rouiba, Algérie, (1999), pp: 243-244.
46. Quezel, P. ; Santa, S. « Nouvelle Flore De l'Algérie Et Des Régions Désertiques Méridionales », CNRS, Paris, France. (1963), vol. 1-2.
47. Touati, D. ; Atta-ur-Rahmanb ; Ulubelenc, A. « Alkaloids from *Ruta montana* », Phytochemistry, vol. 53, n° 2, (2000), 277-279.
48. Ekierte, H. ; Kisiel, W. « Coumarins and Alkaloids in shoot culture of *Ruta graveolens* L. », Acta societatis batanicorum poloniae, vol. 66, n° 3-4, (1997), 329-332.
49. Benkiki, N. ; Benkhaled, M. ; Kabouche, Z.; Bruneau C. « Heraclenol and Isopimpinellin: Two Rare Furocoumarins from *Ruta montana* », Biodiversity. Springer, Boston, MA. (2002), 303-304.
50. Boutoumi, H. ; Moulay, S. ; Khoudja, M. « Essential Oil from *Ruta montana*L. (*Rutaceae*) ChemicalComposition, Insecticidal and Larvicidal Activities », Journal of Essential Oil Bearing Plants, vol. 12, n° 6, (2009), 714 - 721.
51. Bejaoui, Y.; Abderrabba, M. « Biological Study from *Ruta* Plants Extracts Growing in Tunisia », Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, vol. 38, n° 2, (2019).
52. Benali, T. ; Habbadi, K. ; Khabbach, A. ; Marmouzi, I. ; Zengin, G. ; Bouyahya, A. ; Chamkhi, I. ; Chtibi, H. ; Aanniz, T. ; Achbani, E. ; Hammani, K. « GC–MS Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Achillea Odorata* Subsp. *Pectinata* and *Ruta Montana* Essential Oils and Their Potential Use as Food Preservatives », Foods, vol. 9, n° 5, (2020), 668.
53. Ferhat, M. ; Kabouche, A. ; Kabouche, Z. « Comparative compositions of essential oils of three *Ruta* species growing in different soils », Journal of Materials and Environmental Science, vol. 5, n° 3, (2014), 735-738.

54. Bennaoum Z. H.B. ; Falconieri, D. ; Piras, A. ; Procedda, S. « Chemical Variability in Essential Oils from *Ruta* Species among Seasons, and Its Taxonomic and Ecological Significance », *Natural Product Research*, vol. 31, n° 19, (2017), 2329-2334.
55. Djarri, L. ; Ferhat, M. ; Merabet, G. ; Chelghoum, A. ; Laggoune, S. ; Semra, Z. ; Smati, F. ; Kabouche, Z. « Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ruta montana* from Constantine (Algeria) », *Der Pharmacia Lettre*, vol. 5, n° 4, (2013), 70-73
56. Fekhar, N. ; Boutoumi, H. ; Krea, M. ; Moulay, S. ; Driouèche, A. ; Benmaamar, Z. « Thionation of Essential Oils of *Artemisia Herba-helba* L. and *Ruta montana* L. : Impact on Their Antimicrobial and Insecticidal Activities », *Chemistry Journal of Moldova, General, Industrial and Ecological Chemistry*. vol. 12, n° 2, (2017), 50-57.
57. Guignard, J. L. ; Dupont, F. « Botanique - Systématique Moléculaire », Masson, (2004), 110-125.
58. Tackholm, V. « Student Flora of Egypt », Cairo University Press, 2nd ed. Cooperative printing Co, Beirrut, Lebanon, (1974), vol. 581, 88pp.
59. Ozenda, P. « Flore du Sahara Septentrional et Central », Centre national de la recherche scientifique, Paris, (1985), 86-88.
60. Maie, R. « Etude sur la Flore et la Végétation du Sahara Central: Mission du Hoggar », Mémoires de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord, tome 25, Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord, Alger. (1934).
61. Saleh, N.A.M. ; El-Ghazooly, S.I. ; Abou-Zaid, M. M. « Flavonoid of *Artemisia judaica*, *A. monosperma* and *A. herba-alba* », *Phytochemistry*, vol. 26, (1987), 3059–3064.
62. Khafagy, S.M. ; El-Din, A. A. ; Jakupovic, J. ; Zdero, C. ; Bohlmann, F. «Glaucolide-like sesquiterpene lactones from *Artemisia judaica* », *Phytochemistry*, Vol. 27, (1988), 1125–1128.
63. Hany, K. A. « Insecticidal Activity and Chemical Composition of Essential Oil From *Artemisia Judaica* L. Against *Callosobruchus Maculatus* (F.) (COLEOPTERA: BRUCHIDAE) », *Journal of plant protection research*, vol. 52, n° 3, (2012), 347–352.
64. Abu Darwish, M.S ; Cabra, C. ; Gonçalves, M.J. ; Cruz, M.T. ; Zulfiqar, A. ; Khan, I. A. ; Efferth, T. ; Salgueiro, L. « Chemical composition and biological activities

- of *Artemisia judaica* essential oil from southern desert of Jordan », Journal of Ethnopharmacology, vol. 15, n° 191, (2016), 161-168.
65. Naser Al-Wahaibi, L.H.; Mahmoud, A.; Khan, M.; Alkhatlan, H. Z. «Comparative Study on the Essential Oils of *Artemisia judaica* and *Artemisia herba-helba* from Saudi Arabia », The Arabian Journal of Chemistry, vol. 13, n° 1, (2020), 2053-2065.
66. Ghanai, R.; Houmani, Z.; Houmani, N. « Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Artemisia campestris* ssp. *glutinosa* (J. Gay) Batt. And *A. judaica* ssp. *sahariensis* (Chev.) Species Endemic to the Algerian Sahara », Journal of Essential Oil Bearing Plants, vol. 21, n° 3, (2018), 779 – 788.
67. Benmansour, N. ; Benmansour, A. ; El Hanbali, F. ; González-Mas, M.C. ; Blázquez, M.A. ; El Hakmaouib, A. ; Akssirab, M. « Antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia judaica* L. from Algeria against multi-drug resistant bacteria from clinical origin », Flavour and Fragrance Journal, vol. 31, (2016), 137–142.
68. Dob, T. ; Chelghoum, C. « Chemical composition of the essential oil of *Artemisia judaica* L. from Algeria », Flavour and Fragrance Journal, vol. 21, (2006), 343–347
69. Tuncturk, R.; Tuncturk, M. « Effects of different phosphorus levels on the yield and quality components of cumin (*Cuminum cyminum* L.) », Research Journal of Agriculture and Biological Sciences. vol. 2, (2006), 336–340.
70. Nanasombat, S.; Lohasupthawee, P. « Antibacterial activity of crude ethanolic extract and essentials oils of spices against salmonellae and other enterobacteria », KMITL Science and Technology Journal. vol. 5, n° 3, (2005), 527-538.
71. Shahnaz, H. ; Hifza, A. ; Bushra, K. ; Khan, J. I. « Lipid studies of *Cuminum cyminum* fixed oil », Pakistan Journal of Botany. vol. 36, n° 2, (2004), 395- 401.
72. Hajlaoui, H. ; Mighri, H. ; Noumi, E. ; Snoussi, M. ; Trabelsi, N. ; Ksouri, R. ; Bakhrouf, A. « Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. Strains », Food and Chemical Toxicology. vol. 48, (2010), 2186–2192.
73. Martinez-Velazquez, M. ; Castillo-Herrera, G. A. ; Rosario-Cruz, R. ; Flores-Fernandez, J. M. ; Lopez-Ramirez, J. ; Hernandez-Gutierrez, R. ; Lugo-Cervantes, E. D. C. « Acaricidal effect and chemical composition of essential oils extracted from *Cuminum cyminum*, *Pimenta dioica* and *Ocimum basilicum* against the cattle

- tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) », The journal Parasitology Research. vol. 108, (2011), 481–487.
74. Taghizadeha, S. F. ; Rezaeeb, R. ; Mehmandoustf, M. ; Madarshahif, F. S. ; Tsatsakisg, A. ; Karimia, G. « Coronatine elicitation alters chemical composition and biological properties of cumin seed essential oil », Microbial Pathogenesis, vol. 130, (2019), 253–258.
75. Ozenda, P. « Flore de Sahara septentrional et central », 2<sup>ème</sup> édition, Centre national de la recherche scientifique, Paris, (1977).
76. Velasco-Negueruela, A.; Pérez-Alonso, M. J.; Pérez de Paz, P. L.; Palà-Paül J., Sanz, J. « Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of the volatiles from the eruits of *Ammodaucus leucotrichus* subsp. *leucotrichus* and subsp. *Nanocarpus* grown in NorthAfrica and the Canary Islands, respectively », Journal of chromatography A. vol. 1108, n° 2, (2006), 273-275.
77. Beltàn Tejera, E. « Un nuevo Taxon del género *Ammodaucus* *Cosson & Durieu* (*Apiaceae*) en el Archipiélago Canario », Candollea. vol. 38, n° 1, (1983), 131.
78. Halla, N. ; Boucherit, K. ; Boucherit-otmani, Z. ; Zohra, F. ; Rahmani, N. «*Ammodaucus leucotrichus* and *Citrullus colocynthis* from Algerian Sahara: Ethnopharmacological application, phytochemical screening, polyphenols content and antioxidant activity of hydromethanolic extracts », Journal of King Saud University Science, vol. 31, n°4, (2018).
79. Ziania, B. E.C. ; Rached, W. ; Bachari, K. ; Alvesa, M. J. ; Calhelhaa, R. C. ; Barrosa, L. ; Ferreira, I. C.F.R. « Detailed chemical composition and functional properties of *Ammodaucus leucotrichus* Cross. & Dur. and *Moringa oleifera* Lamarck », Journal of Functional Foods, vol. 53, (2019), 237–247.
80. Alaoui Moulay, S. B. ; Satrani, B. ; Ghanmi, M. ; Aafi, A. ; Amusant, N. ; Al Antry, S. ; Chaouch, A. « Bioactivity and Chemical Quality of *Ammodaucus leucotrichus* ssp. *leucotrichus* Coss. & Durieu essential Oils From Morocco », Natural products Indian journal, vol.10, n° 6, (2014), 208-214.
81. Sadaoui, N. ; Bec, N. ; Barragan-Montero, V. ; Kadri, N. ; Cuisinier, F. ; Larroque, C. ; Arab, K. ; Khettal, B. « The essential oil of Algerian *Ammodaucus leucotrichus* Coss. & Dur. and its effect on the cholinesterase and monoamine oxidase activities», Fitoterapia. vol. 130, (2018), 1–5.
82. Duus F. « Comprehensive Organic Chemistry », Vol 3, ed D H R Barton and W D Ollis, Pergamon, Oxford. (1979), p 373

83. McGregor, W. M. ; Sherrington, D. C. « Some Recent Synthetic Routes to Thioketones and Thioaldehydes », *Chemical Society Reviews*, n° 3, **(1993)**, 199-204.
84. Benoua, F.Z. ; Brada, M. ; Boutoumi, H. ; Bezzina, M. ; Driouche, A. ; Boucherit, A. ; Fauconnier, M. L. ; Lognay, G. « Antimicrobial Activity of the Thio-Cyclized *Lippia citriodora* Leaf Essential Oil Cultivated in Algeria », *Journal of Biologically Active Products from Nature*, vol.9, n° 4, **(2019)**, 250-259.
85. Rosini, G. ; Soverini M. ; Ballini, R. « Azines from erythro-1,2-diaryl-2-(2-tosylhydrazino)-ethan-1-ol Derivatives by Acide Treatment », *Synthesis*, vol.11, **(1983)**, 909–910.
86. Chourasiya S. S. ; Kathuria, D. ; Wani, A. A. ; Bharatam, P. V. « Azines: Synthesis, Structure, Electronic Structure and their Applications », *Organic & Biomolecular Chemistry*. vol.17 n° 37, **(2019)**, 8486-8521.
87. Ristić, M. N. ; Radulović, N. S. ; Dekić, B. R. ; Dekić, V. S. ; Novica R. Ristić, N. R. ; Stojanović-Radić, Z. « Synthesis and Spectral Characterization of Asymmetric Azines Containing a Coumarin Moiety: The Discovery of New Antimicrobial and Antioxidant Agents », *Chemistry & Biodiversity*, vol.16, **(2019)**, e1800486.
88. Sakirigui, A.; Fatondji, H. R.; Gbaghidi, A. F.; Kpoviessi, D. S. S.; Poupaert, J.; Leclercq, J.; Accrombessi, C. G. « Hemi-Synthesized of Trypanocidal Thiosemicarbazones in Three Essential Oils Rich in Carbonyl Compounds », *International Journal of Chemical and Physical Sciences*, vol.5, n° 5, **(2016)**.
89. Appelt, H. R. ; Oliveira, J. S. ; Santos, R. C.V. ; Rodrigues, O. E. D. ; Santos, M. Z. ; Heck, E. F. ; Rosa, L. C. R. « Synthesis and Antimicrobial Activity of Carbohydrate Based Schiff Bases: Importance of Sugar Moiety », *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, vol. 3, **(2013)**, ID 320892.
90. Kundu, A.; Shakil, N. A.; Saxena, D. B.; Pankaj Kumar, J.; Walia, S. « Microwave assisted solvent-free synthesis and biological activities of novel imines (Schiff bases) », *Journal of Environmental Science and Health*. vol.44, n° 5, **(2009)**, 428-434.
91. Missaoui, B. E.; Ouahrani, M. R.; Kouadri, Y.; Chebrouk, F.; Gherraf, N. « Synthesis of Novel Heterocyclic Compounds Containing 1,5-Benzodiazepine », *Asian Journal of Chemistry*, vol. 27, n° 6, **(2015)**, 2175-2177.

92. Kolos; N. N.; Yurchenko, E. N.; Orlov, V. D.; Shishkina, S. V.; Shishkin, O. V. «Investigation of the products of interaction of cyclic diketones with nitrogen-containing 1,4-binucleophiles », *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, vol. 40, (2004), 1550-1559.
93. Gupta, S.; Gupta, P.; Sachar, A.; Sharma, R. L. « Facile and one pot synthetic routes for various novel, differently fused and promising heteropolycycles », *Journal of Heterocyclic Chemistry*, vol. 47, n° 2, (2010), 334-349.
94. Chebrouk, F.; Madani, K.; Cherfaoui, B.; Boukenna, L.; Válega, M.; Mendes, R. F.; Paz, F. A. A.; Bachari, K.; Talhi, O.; Silva, A. M. S. « Hemi-Synthesis of Chiral Imine, Benzimidazole and Benzodiazepines from Essential Oil of *Ammodaucus leucotrichus* subsp. *Leucotrichus* », *Molecules*, vol. 24, n° 5, (2019), 975.
95. Szymczyk, K. Broislaw, J. « The wettability of polytetrafluoroethylene by aqueous solution of cetyltrimethylammonium bromide and Triton X-100 mixtures », *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 303, n° 1, (2006), 319-325.
96. Kharitonova, T. V.; Ivanova, N. I.; Summ, B. D. « Adsorption and Micellization in Solutions of Dodecylpyridinium Bromide–Nonionic Surfactant Mixtures », *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 64, (2002), 224-231.
97. Yiv, S.; Zana, R.; Ulbricht, W.; Hoffman H. « Effect of alcohol on the properties of micellar systems: II. Chemical relaxation studies of the dynamics of mixed alcohol surfactant micelles », *Journal of Colloid and Interface Science*, vol.80, n° 1, (1981), 224-236.
98. Hato M., Tahara M. and Suda Y. « Colloidal properties of aqueous bivalent metal dodecylpoly (oxyethylene) sulphates and hexadecylpoly (oxyethylene) sulfates », *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 72, n°485, (1979).
99. Fainerman, V. B.; Zholob, S. A.; Leser, M. E.; Michel, M.; Miller, R. «Competitive Adsorption From Mixed Nonionic surfactant/protein Solutions », *The Journal of Physical Chemistry B*. vol. 274, n° 2, (2004), 496-501.
100. Rosen, M. J. « Synergism in mixtures containing zwitterionic surfactants», *Langmuir*, vol.7, n° 5, (1991), 885-888.
101. Whitehurst, R. J. « Emulsifiers in food technology », John Wiley & Sons, (2004).
102. Hasenhuettl, G. L.; Hartel, R. W. « Food Emulsifiers and Their Applications », Springer, New York, (2008), 11-37.

103. Infante, M. R.; Pinazo, A.; Seguer, J. « Non-conventional Surfactants from Amino Acids and Glycolipids: Structure, Preparation and Properties », *Colloids and Surfaces, A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 123-124, (1997), 49-70.
104. Infante, M. R.; Perez, L.; Pinazo, A.; Clapes, P.; Moran, M. C.; Angelet, M.; Garcia, M.T.; Vinardell, M.P. « Amino acid-based surfactants », *Comptes Rendus Chimie*, vol. 7, n° 6-7, (2004), 583.
105. Saxena, N.; Pal, N.; Ojha, K.; Deyb, S.; Mandal, A. « Synthesis, characterization, physical and thermodynamic properties of a novel anionicsurfactant derived from *Sapindus laurifolius* », *RSC Advances*, vol.8, n° 43, (2018), 24485-24499.
106. Zhou, J.; Sun, Y.; Zhu, K.; Di Serio, M.; Zhang, Y.; Sun, J.; Wu, H.; Ding, L.; Liang, H. « Influence of sulfonic acid group on the performance of castor oil acid based methyl esterethoxylate sulfonate », *Journal of Dispersion Science and Technology*, vol. 39, n° 12, (2018), 1693-1698.
107. Folmer, B. M.; Svensson, M.; Holmberg, K.; Brown, W. « The physico-chemical behavior of phytosterol ethoxylates », *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 213, n° 1, (1999), 112-120.
108. Folmer, B. M.; Nyd'en, M. « Structure and dynamics in the micellar and cubic phase of an ethoxylated phytosterol surfactant. *Langmuir* (submitted) », vol. 24, n° 13, (2008), 6441-6446.
109. Association française de normalisation, «Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analys Monographies relatives aux huiles essentielles», Tome 2 ed, Paris, France, (2000).
110. Benarab, H. ; Fenni, M. ; Louadj, Y. ; Boukhalti, H. ; Ramdani, M. «Allelopathic activity of essential oil extracts from *Artemisia herba-alba* Asso. on seed and seedling germination of weed and wheat crops », *Acta Scientifica Naturalis*, vol.7, n° 1, (2020), 86–97.
111. Stanojevic, L.P. ; Marjanovic-Balaban, Z.R. ; Kalaba, V.D. ; Stanojevic, J.S. ; Cvetkovic, D.J. « Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Chamomile Flowers Essential Oil (*Matricaria chamomilla* L.) », *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, vol. 19, n° 8, (2016), 2017-2028,
112. Rizvi, S.A.H. ; Lin, T. ; Zeng, X. « Chemical Composition of Essential Oil Obtained From (*Artemisia Absinthium* L.) Grown Under the Climatic Condition of

- Skardu Baltistan of PAKISTAN », *Pakistan Journal of Botany*, vol. 50, n° 2, (2018), 599-604.
113. Karumi, Y.; Onyeyili, P. A.; Ogugbuaja, V. O. « Identification of actives principles of *M. balsamia* (Balsam Apple). Leaf Extract », *Journal of Medical Sciences*. vol.4, n° 3, (2004), 179-182.
114. Bidie, A. P.; Guessan, B. B.; Yapo, A. F.; Guessan, J. D.; Djaman, A. J. «Activités anti-oxydantes de dixplantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne», *Science et nature*, vol.8, n° 1, (2006), 1-11.
115. Liang, Y.; Li, H.; Li, M.; Mao, X.; Li, Y.; Wang, Z.; Xue, L.; Chen, X.; Hao, X. « Synthesis and Physicochemical Properties of Ester-Bonded Gemini Pyrrolidinium Surfactants and a Comparison with Single-Tailed Amphiphiles », *Journal of Molecular Liquids*, vol. 280, n° 15, (2019), 319–326.
116. Miraglia, D. B.; Rodríguez, J. L.; Minardi, R. M.; Schulz, P. C. « Critical Micelle Concentration and HLB of the Sodium Oleate Hexadecyltrimethylammonium Bromide Mixed System », *Journal of Surfactants and Detergents*, vol. 14, (2010), 401- 408.
117. Lopéz, P.; Sanchez, C.; Batlle, R.; Nerin, C. « Solid- and vaporphase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains », *The Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 53, n°17, (2005), 6939–6946.
118. Becerril, R.; Gómez-Lus, R.; Goñi, P.; López, P.; Nerín, C. « Combination of analytical and microbiological techniques to study the antimicrobial activity of a new active food packaging containing cinnamon or oregano against *E. coli* and *S. aureus* », *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 388, n° 5-6, (2007), 1003–1011.
119. Cimanga, K., Kambu, K.; Tona, L.; Apers, S.; De Bruyne, T.; Hermans, N.; Totté, J.; Pieters, L.; Vlietinck, A. J. « Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo », *Journal of Ethnopharmacology*. vol.2, n° 79, (2002), 213-220.
120. SimiÇ, A.; SokoviÇ, M. D.; RistiÇ, M.; GrujiÇ-JovanoviÇ, S.; VukojeviÇ, J.; Marin, P. D. « The Chemical Composition of some Lauraceae Essential Oils and Their Antifungal Activities », *Phytotherapy Research*, vol. 18, n° 9, (2004), 713–717.

121. Merghache, S.; Hamza, M.; Tabti, B. « Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie », *Afrique SCIENCE*, vol. 5, n° 1, (2009), 67 – 81.
122. Benali, T. ; Habbadi, K. ; Khabbach, A. ; Marmouzi, I. ; Zengin, G. ; Bouyahya, A. ; Chamkhi, I. ; Chtibi, H. ; Aanniz, T. ; Achbani, E. ; Hammani, K. «GC–MS Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Achillea Odorata* Subsp. *Pectinata* and *Ruta Montana* Essential Oils and Their Potential Use as Food Preservatives », *Foods*, vol. 9, n° 5, (2020), 668.
123. Bejaoui, Y.; Manef, A. « Biological Study from *Ruta* Plants Extracts Growing in Tunisia », *Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*. vol. 38, n° 2, (2019), 85-89.
124. Ramdane, F. ; El Ouassis, D., Hammami, M. ; Essid, R. ; Sobti, A. ; Hrizat, N. ; Ben Amara, S. ; Fares, N. ; Hadj Mahammed, M. ; Ould Hadj Mohamed, D. ; Limam, F. « Chemical Composition and Biological Effects of Essential oil of *Artemisia judaica* an endemic plant from central Sahara of Algeria Hoggar », *International Journal of Biosciences*, vol. 10, n° 1, (2017), 16-23.
125. Abdelgaleil, S. A. M. ; Abbassy M. A. ; Belal, A.H. ; Abdel Rasoul, M. A. A. « Bioactivity of two major constituents isolated from the essential oil of *Artemisia judaica* L. », *Bioresource Technology*, vol. 99, n° 13, (2008), 5947-5950.
126. Yezza, S. ; Djedjai, R. « Analyse physico-chimique et activités biologiques des huiles essentielles de quelques épices », *Mémoire de Master Académique, Université Kasdi Merbah Ouargla*, (2016).
127. Abdellaoui, M. ; Kasrati, A. ; Allaoui, A. ; El Rhaffari, L. « Caractérisations Agronomiques et Activités anti Oxydantes des Huiles essentielles des Populations Locales du Cumin (*Cuminum Cyminum*) Conduit sous des Conditions de Production Biologique dans la Réserve de Biosphère des Oasis du Maroc », *European Journal of Scientific Research*, vol. 137, (2016), 11-25.
128. Rong, L. ; Zi-Tao, J. « Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. from China », *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 19, n° 4, (2004), 311–313.
129. Hajlaoui, H. ; Mighri, H. ; Noumi, E. ; Snoussi, M. ; Trabelsi, N. ; Ksouri, R. ; Bakhrouf, A. « Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. Strains», *Food and Chemical Toxicology*, vol. 48, n° 8-9, (2010), 2186–2192.

130. Dahmane, D.; Dob, T.; Krimat, S. Nouasri, A.; Metidji, H.; Ksouri, A. «Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils of medicinal plant *Ammodaucus leucotrichus* from Algeria », *Journal of Essential Oils Research*, vol. 29, n°1, (2017), 48-55.
131. El-Hacia, I. A.; Bekhechia, C.; Atik-Bekkaraa, F.; Mazaria, W.; Gheriba, M.; Bighellib, A.; Casanovab, J. Tomib, F. « Antimicrobial Activity of *Ammodaucus leucotrichus* Fruit Oil from Algerian Sahara », *Natural Product Communications*, vol. 9, n° 5, (2014), 711-2.
132. Mansour, S.S. ; Tarik, M.Y. ; Rafatullah, M.A.S. ; Ginnawi, O.T. ; Ageel, A.M. « Studies on *Ruta chalepensis*, an ancient medicinal herb still used in traditional medicine », *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 28, n° 3, (1990), 305–312.
133. Kacem, M.; Kacem, I.; Simon G.; Ben Mansour, A.; Chaabouni, S.; Elfeki, A.; Bouaziz, M. « Phytochemicals and biological activities of *Ruta chalepensis* L. growing in Tunisia », *Food Bioscience*, vol.2, n° 2, (2015), 73-83.
134. El Guiche, R. ; Tahrouch, S. ; Amri, O. ; El Mehrach, K. ; Hatimie, A. «Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of 30 medicinal and aromatic plants located in the South of Morocco », *International Journal of New Technology and Research*, vol. 1, n° 3, (2015), 7–11.
135. Messer, A.; Raquet, N.; Lohr, C.; Schrenk, D. « Major furocoumarins in grapefruit juice II: Phototoxicity, photogenotoxicity, and inhibitory potency vs. cytochrome P450 3A4 activity », *Food and Chemical Toxicology*. vol. 50, n° 3–4, (2012), 756-760.
136. Mahendra, C.K. ; Hern,T.L.T. ; Lee, W.L. ; Yap, W.H. ; Pusparajah, P. ; Low, L.E. ; Ying, P.T.S. ; Chan, K.G. ; Lee, L.H. ; Goh. B.H. « Angelicin—A Furocoumarin Compound With Vast Biological Potential. *Frontiers in Pharmacology* », vol. 11, (2020), 366.
137. Senol, F. S.; Skalicka-Woz´niak, K.; Khan, M. T. H.; Orhan, I. E.; Sener, B., Głowniak, K. « An in vitro and in silico approach to cholinesterase inhibitory and antioxidant effect of the methanol extract furanocoumarin fraction, and major coumarins of *Angelica officinalis* L. fruits », *Phytochemistry Letters*, vol. 4, n° 4, (2011), 462–467.
138. Ahmed, S. ; Khan, H. ; Aschner, M. ; Mirzae, H. ; Akkol, E.K.A. ; Capasso, R. « Anticancer Potential of Furanocoumarins: Mechanistic and

- Therapeutic Aspects. International Journal of Molecular Sciences », vol. 21, n° 16, (2020), 5622.
139. Walasek, M.; Grzegorozyk, A. Malm, A. Skalicka- Woz'niak, K. «Bioactivity- guided isolation of antimicrobial coumarins from *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier (Apiacea) fruits by high-performance counter-current chromatography », Food Chemistry, vol. 186, (2015), 133–138.
140. Patbak, M. A. ; Daniels, F. ; Fitzpatrick, T. B. « The presently known distribution of furocoumarins (psoralens) in plants », The Journal of investigative dermatology. vol. 39, n° 3, (1962), 225-239.
141. Diwan, R. ; Malpathak, N. « Furanocoumarins: Novel topoisomerase I inhibitors from *Ruta graveolens* L. », Bioorganic & Medicinal Chemistry, vol. 17, n° 19, (2009), 7052–7055.
142. Emam, A.M. ; Swelam, E.S. ; Megally, N.Y. « Furocoumarin and Quinolone Alkaloid with Larvicidal and Antifeedant Activities Isolated from *Ruta chalepensis* Leaves », Journal of Natural Products, vol. 2, (2009), 10-22.
143. Bekiki, N. ; Benkhaled, M. ; Kabouche, Z. ; Bruneau, C. « Heraclenol and isopimpinellin: Two rare furocoumarin from *Ruta Montana* », Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Inovative Utilization, Springer, (2003), 303-304.
144. Ulubelen, A. ; Güner, H. « Isolation of Dihydromoskachan C from *Ruta chalpensis* var.latifolia », Journal of Natural Products, vol. 51, n° 5, (1988), 1012-1013.
145. Kabouche, Z. ; Benkiki, N. ; Seguin, E. ; Bruneau, C. « A new dicoumarinyl ether and two rare furocoumarins from *Ruta montana* », Fitoterapia, vol. 74, n° 1-2, (2003), 194–196.
146. Milesi, S. ; Massot, B. ; Gontier, E. ; Bourgaud, F. ; Guckert, A. « *Ruta graveolens* L.: a promising species for the production of furanocoumarins », Plant Science, vol. 161, n° 1, (2001), 189–199.
147. Innoceti, G. ; Dall'acqua, F. ; Caporale, G. « Investigations of the content of furocounarins in *Apium graveolens* and in *Petroselinurn sativurn* », Planta Medica, vol. 29, n° 2, (1976), 165-170.
148. Chaudhary, S. K.; Warrington, P.; Ashwood-Smith, H. M. J. « Increased of furanocoumarin content of celery during storage », Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 33, n° 6, (1985), 1153-1157.

149. Johnson, C.; Brannon, D. R.; Kuc, J. « Xanthotoxin: a phytoalexin of *Pastinaca sativa* roots », *Phytochemistry*, 12, (1970), 2961-2962.
150. Beier, R. C.; Oertli, E. H. « Psoralen and other linear furocoumarins in celery », *Phytochemistry*. vol. 22, n° 11, (1983), 2595-2597.
151. Surico, G.; Varvaro, L.; Solfrizzo, M. « Linear furocoumarin accumulation in celery infected with *Erwinia carotovora* », *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. vol. 35, n° 3, (1987), 406-409.
152. Harborn, J. B. « Phytochemical Methods », London: Chapman & Hall. (1998), 54-57.
153. Murray, R. D. H.; Mendez, J.; Brown, S. A. « The natural coumarins: Occurrence Chemistry and Biochemistry », Bristol: John Wiley & Sons Ltd. (1982), 27.
154. Finkelstein, N.; Albrecht, C.F.; Van Jaarsveld, P.P. « Isolation and structure elucidation of xanthotoxin, a phototoxic furanocoumarin, from *Peucedanum galbanum* », *The South African Journal of Botany*, vol. 59, n° 1, (1993), 81 – 84.
155. Sajjadi, S.E.; Noorozi, P. « Isolation and identification of Xanthotoxine (8-methoxypsoralen) from the Fruits of *Heracleum persicum* Desf. Ex Fischer », *Research in pharmaceutical sciences*, vol. 2, (2007), 13-16.
156. Budzyn´ska, B.; Boguszewska-Czubara, M.; Kruk-Słomka, M.; Skalicka-Woz´niak, K.; Michalak, A.; Musik, I.; Białá, G.; Główniak, K. « Effects of imperatorin on nicotine-induced anxiety-and memory-related responses and oxidative stress in mice », *Physiology & Behavior*, vol. 2, n° 122, (2013), 46–55.
157. Kayser, O.; Kolodziej, H. « Antibacterial activity of simple coumarins: Structural requirements for biological activity », *Zeitschrift für Naturforschung*, vol. 54, n° 3-4, (1999), 169–174.
158. Kayser, O., & Kolodziej, H. « Antibacterial activity of extracts and constituents of *Pelargonium sidoides* and *Pelargonium reniforme* », *Planta Medica*. vol. 63, n°6, (1997), 508–510.
159. Furigay, M. H.; Boucher, M. M.; Mizgier, N. A.; Brindle, C. S. « Separation of Aldehydes and Reactive Ketones from Mixtures Using a Bisulfite Extraction Protocol », *Journal of Visualized Experiments*. vol. 2, n° 134, (2018), 57639.

160. Pretsch, E.; Beuhlmann, P.; Badertscher, M. « Structure Determination of Organic Compounds », 4th ed. Springer, New York, (2009), p 11.
161. Abram, T.; Chfaira, R. « Etude de la Solubilisation Micellaire Ionique D'un Polluant Organique, Cas du Ph\_enol (Study of Micelle Solubilization Ionic of an Organic Pollutant Case of Phenol) », Journal of Materials and Environmental Science vol. 6, n° 2, (2015), 491–498.
162. Sjöbom, M. B. ; Edlund, H. « Dependence of Alkyl Chain Asymmetry on the Phase Equilibria of Three Catanionic Surfactant Mixtures Containing Dodecyltrimethylammonium Chloride\_Sodium Alkylcarboxylate\_Water», Langmuir, vol. 18, n° 22, (2002), 8309–8317.
163. Nesterenko, A. ; Drelich, A. ; Huiling, L. ; Clause, D. ; Pezron, I. «Influence of a Mixed Particle/Surfactant Emulsifier System on Water-in-Oil Emulsion Stability », Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, vol. 457, n°1, (2014), 49-57.
164. Doumeix, O. « Opérations unitaires en génie biologique Tom 1: Les émulsions », CRDPd'Aquitaine, Bordeaux: SCÉRÉN-CNDP-CRDP, Collection biologie technique, (2011), p: 14,16
165. Caillet, L. ; Dos Santos, A. ; Knipper, G. ; Margaux Rusalen, M. ; Marie Seigneur, M. « Projet Professionnel: Les émulsions alimentaires et cosmétiques », (2017-2018), p: 17, 18.
166. McClements, D. J. « Food Emulsions: principles Practice and Techniques », CRC Press: Boca Raton, FL. (1999).
167. Youcef-Ettoumi, K. ; Zouambia, Y. ; Moulai-Mostefa, N. « Effects of Ascorbic Acid on the Physicochemical, Rheological and Antioxidant Properties of Citrus Essential Oil-Based Emulsion Stabilized by Pectin », Journal of Dispersion Science and Technology, vol.38, n° 1, (2017), 26-32.
168. Qiao, X.; Wang, L.; Shao, Z.; Sun, K.; Miller, R. « Stability and Rheological Behaviors of Different Oil/Water Emulsions Stabilized by Natural Silk Fibroin. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects », vol. 475, n° 20, (2015), 84–93.
169. Dahmani, L.A. « Sulfur-containing Drugs and Related Organic Compounds- Chemistry Biochemistry and toxicology », Ellis Harwood: Chichester, UK, (1989), 280 p.

170. Cremlyn, R.J. « An Introduction to Organosulfur Chemistry », John Wiley: New York, NY, (1996); 262 p.
171. Polshettiwar, V.; Kaushik, M.P. « Recent advances in thionating reagents for the synthesis of organosulfur compounds », *Journal of Sulfur Chemistry*, vol. 27, n° 4, (2006), 353-386.
172. Murai, T. « The Construction and Application of C=S Bonds. Topics in Current Chemistry », vol. 376, n° 4, (2018).
173. Liu, X.; Wei, X.; Zhou, H.; Meng, S.; Zhao, Y.; Xue, J.; Zheng, X. « UV and Resonance Raman Spectroscopic and Theoretical Studies on the Solvent-Dependent Ground and Excited-State Thione → Thiol Tautomerization of 4,6-Dimethyl-2-mercaptopyrimidine (DMMP) », *Journal of Physical Chemistry A*. vol. 122, n° 26, (2018), 5710–5720.
174. Bayrak, H.; Demirbas, N.; Demirbas, N.; Karaoglu, S.A. « Synthesis of some new 1,2,4-triazoles starting from isonicotinic acid hydrazide and evaluation of their antimicrobial activities », *European Journal of Medicinal Chemistry*. vol. 44, (2009), 4362e4366.
175. Pavelyev, R. S.; Vafina, R. M.; Balakin, K. V.; Gnezdilov, O. I.; Dobrynin, A. B.; Lodochnikova, O. A.; Musin, R. Z.; Chmutova, G. A.; Lisovskaya, S. A.; Nikitina, L. E. « Synthesis and Antifungal Activity of  $\beta$ -Hydroxysulfides of 1,3-Dioxepane Series », *Journal of Chemistry*, Article ID 3589342, (2018), 1-14.
176. Gnanambal, K.M.E.; Patterson, J.; Patterson E.J.K. « Isolation of a Novel Antibacterial Phenyl Thioketone from the Seagrass, *Cymodocea serrulata* », *Phytotherapy Research*, vol. 29, n° 4, (2015), 554–560.
177. Plech, T.; Wujec, M.; Kosikowska, U.; Malm, A. « Synthesis and Antibacterial Activity of 4,5-disubstituted-1,2,4-triazole-3- thiones », *Letters in Drug Design & Discovery*, (2003), vol. 10, n° 10, (2015), 917 – 922.
178. Nanjundaswamy, H. M., Pasha, M. A. « Rapid, Chemoselective and Facile Synthesis of Azines by Hydrazine/ I<sub>2</sub> », *Synthetic Communications: An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry*, vol. 37, n° 19, (2007), 3417-3420.
179. Lee, B., Lee, K.H., Cho, J., Nam, W., Hur, N.H. « Synthesis of Azines in Solid State: Reactivity of Solid Hydrazine with Aldehydes and Ketones », *Organic Letters*, vol. 13, n° 24, (2011), 6386–6389.

180. Manikannan, R.; Venkatesan, R.; Muthusubramanian, S.; Yogeewari, P.; Sriram, D. « Pyrazole Derivatives from Azines of Substituted Phenacyl Aryl/Cyclohexyl Sulfides and Their Antimycobacterial Activity », *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, vol. 20, n° 23, (2010), 6920–6924.
181. Shridevi, D. D.; Ningaiah, S.; Kuduva, N. U.; Yhya, R. K.; Lokanatha Rai, K. M. « Solvent-Free Green Synthesis of Azines and Their Conversion to 2,5-Disubstituted-1,3,4-Thiadiazoles », *Synthetic Communications*, vol. 45, n° 4, (2015), 2869–2875.
182. Safari, J.; Gandomi-Ravandi, S.; Ghotbinejad, M. « Ultrasound- Promoted Synthesis of Novel Fused Heterocycles by Criss-Cross Cycloaddition », *Journal of Saudi Chemical Society*, vol. 20, n° 1, (2016), 20–23.
183. Lasri, J., Aly, M.M., Eltaher Eltayeb, N., Babgi, B.A. « Synthesis of symmetrical and asymmetrical azines from hydrazones and/or ferrocenecarboxaldehyde as potential antimicrobial, antitumor agents », *Journal of Molecular Structure*, vol. 1164, n° 15, (2018), 1-8.
184. Figueredo, A.S., Queiroz, J.E., Dias, L.D., Vidal, H.D.A., Machado, I.V., Vila Verde, G.M., Aquino, G.L.B. « Synthesis and Anticholinesterase Activity Evaluation of Asymmetric Azines », *Pharmaceutical Chemistry Journal*, vol. 53, n° 6, (2019), 544–549.
185. Bondock, S.; Gieman, H.; El-Shafei, A. « Selective Synthesis, Structural Studies and Antitumor Evaluation of Some Novel Unsymmetrical 1-Hetaryl-4-(2-Chloroquinolin-3-yl) Azines », *Journal of Saudi Chemical Society*, vol. 20, n° 6, (2016), 695–702.
186. Vennerstrom, J.L., Makler, M.T., Angerhofer Cindy, K., Williams, J.A. « Antimalarial Dyes Revisited: Xanthenes, Azines, Oxazines, and Thiazines », *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 39, n° 12, (1996), 2671–2677.
187. Neureiter, T. P. Monometric « Formaldazine-synthesis of 1,3,4-Thiadiazolidine-A New Heterocycle », *Journal of the American Chemical Society*, vol. 81, n° 11, (1959), 2910.
188. Satsumabayashi, S.; Motoki, S.; Nakano, H. « Reactions of azines with diphenylketene », *Journal of Organic Chemistry*, vol. 41, n° 1, (1976), 156–157.
189. Barluenga, J.; Fustero, S.; Gómez, N.; Gotor, V. « A New Method for the Synthesis of Unsymmetric Azines: Alkylidene Group Exchange between Azines and Imines », *Synthesis*, vol. 11, (1982), 966-967.

190. Chljkwuemeka Okafor. E. « Aspects of acyclic azine chemistry-I. The effect of structure and solvents on the electronic absorption spectra of benzaldazine, o-, m- and phydroxybenzaldazines », *Spectrochimica Acta*. vol. 36, n° 2, (1997), 207-212.
191. Kishner, N. *Journal of the Russian Physicochemical Society*, vol. 43, n° 582(1911).
192. Gottlieb, H.E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. « NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities », *Journal of Organic Chemistry*, vol. 62, n° 21, (1997), 7512-7515.
193. Ganesan, G., Kotwal, N.K., Dasgupta, S. « Comparative study of antimicrobial activities of azines and 1,4-diazabutadienes to establish the pharmacophore in the lead », *International Journal of Life Sciences Research*, vol. 7, n° 2, (2019), 279-282.
194. Kurteva, V. B.; Simeonov, S. P.; Stoilova-Disheva, M. « Symmetrical Acyclic Aryl Aldazines with Antibacterial and Antifungal Activity », *Pharmacology & Pharmacy*, vol. 2, n° 1, (2011), 1-9.
195. Popiołek, L. « Hydrazide–hydrazones as potential antimicrobial agents: overview of the literature since 2010 », *Medicinal Chemistry Research*, vol. 26, n° 2, (2017), 287–301.

## ANNEXE 1 : Caractéristiques chimiques de l'HE de *Ruta montana* L.

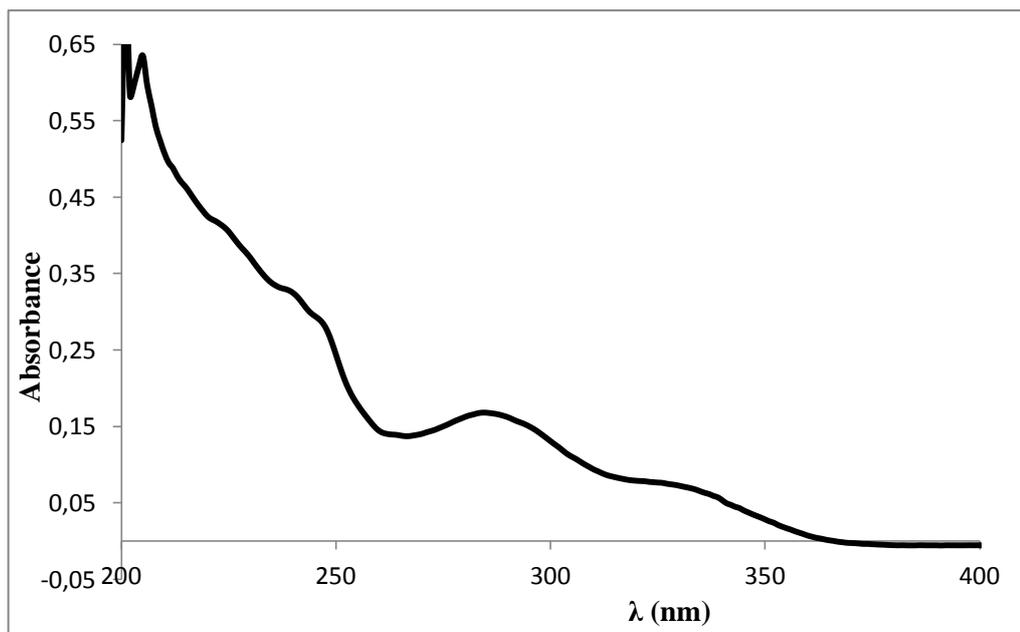


Figure 1 : Spectre UV-vis de l'HE de *Ruta montana* L.

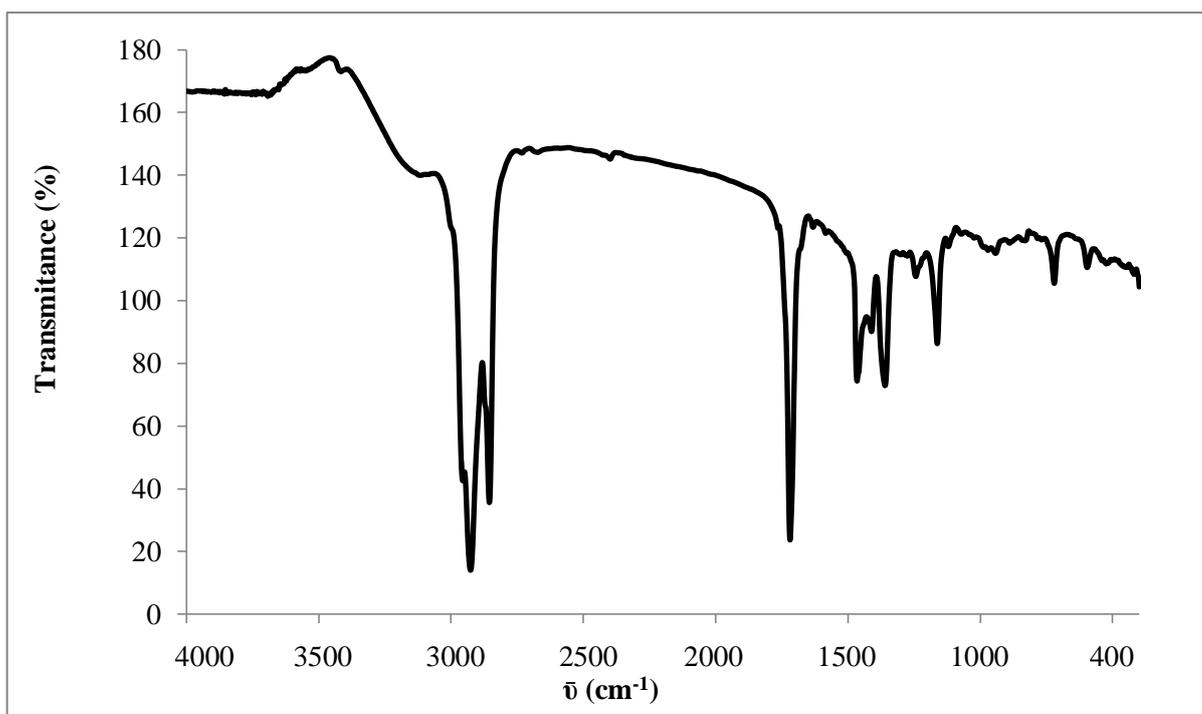


Figure 2 : Spectre IRTF de l'HE de *Ruta montana* L.

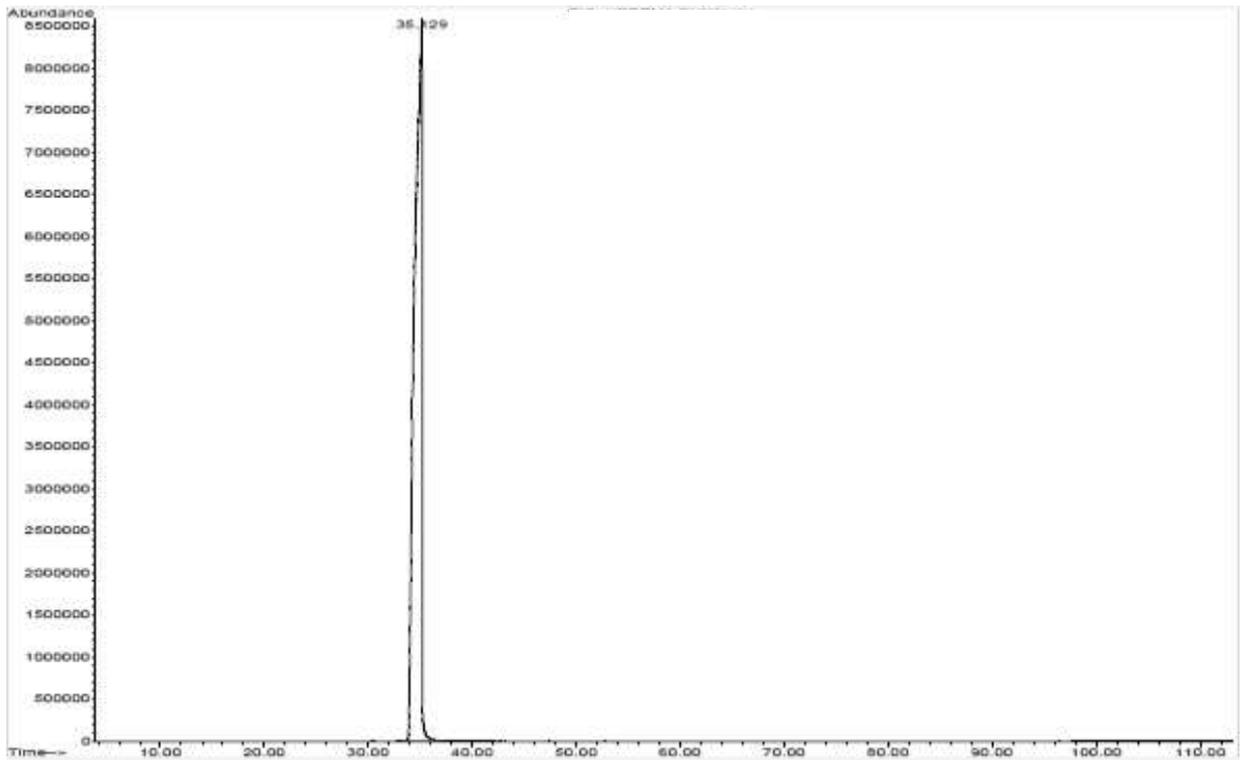


Figure 3: Chromatogramme de 2-undécانونe.

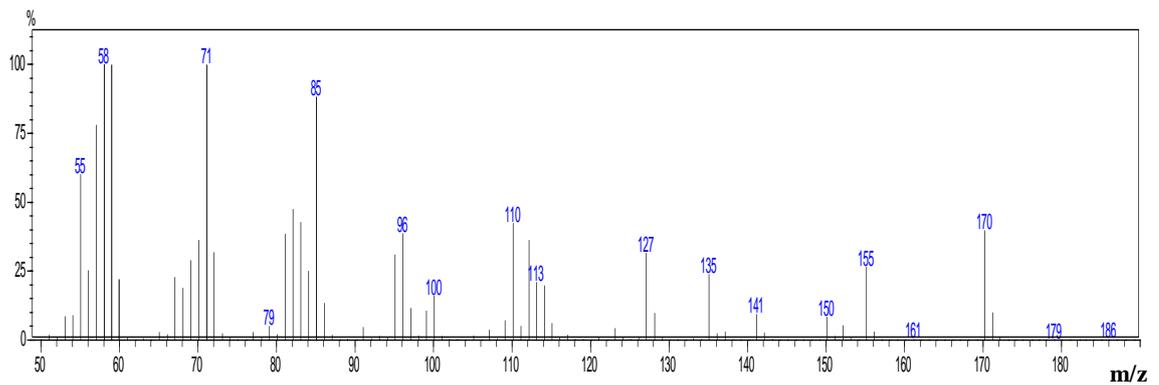


Figure 4: Spectre de masse de 2-undécانونe.

## ANNEXE 2 : Caractéristiques chimiques de l'*Artemisia judaica* L.

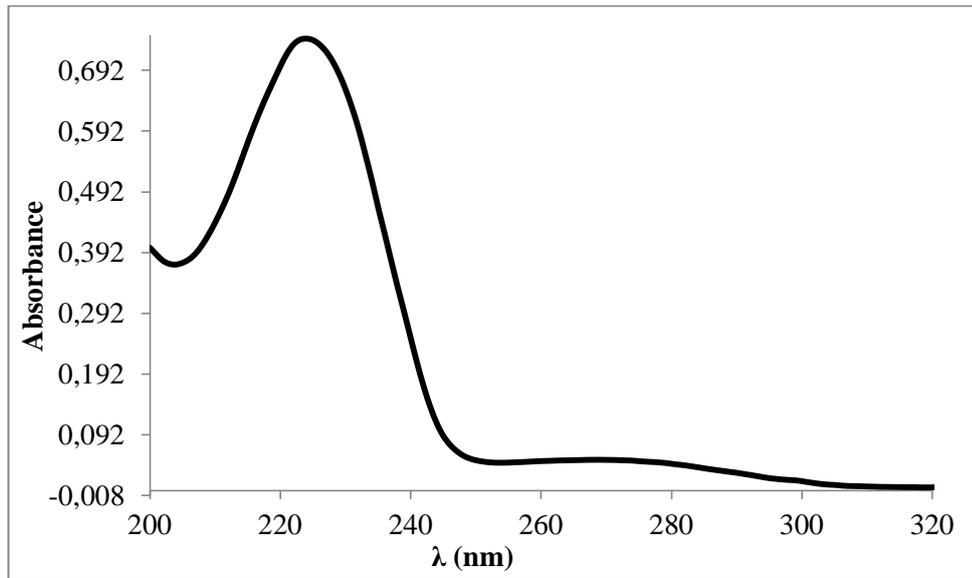


Figure 5 : Spectre UV-vis de l'HE d'*Artemisia judaica* L.

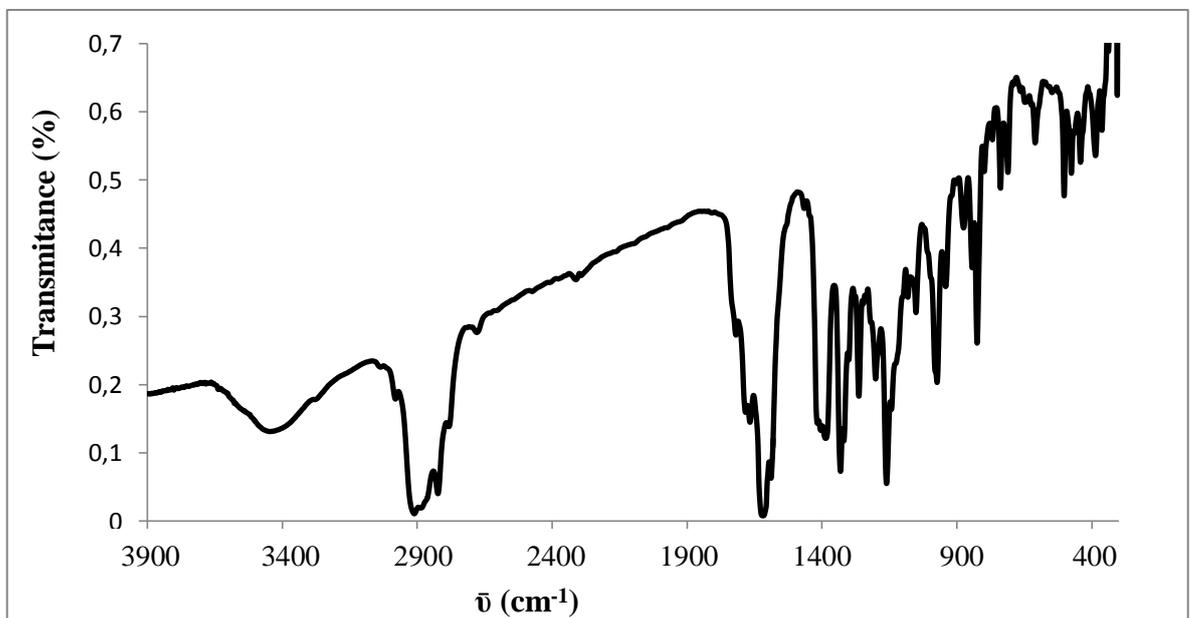


Figure 6 : Spectre IRTF de l'HE d'*Artemisia judaica* L.

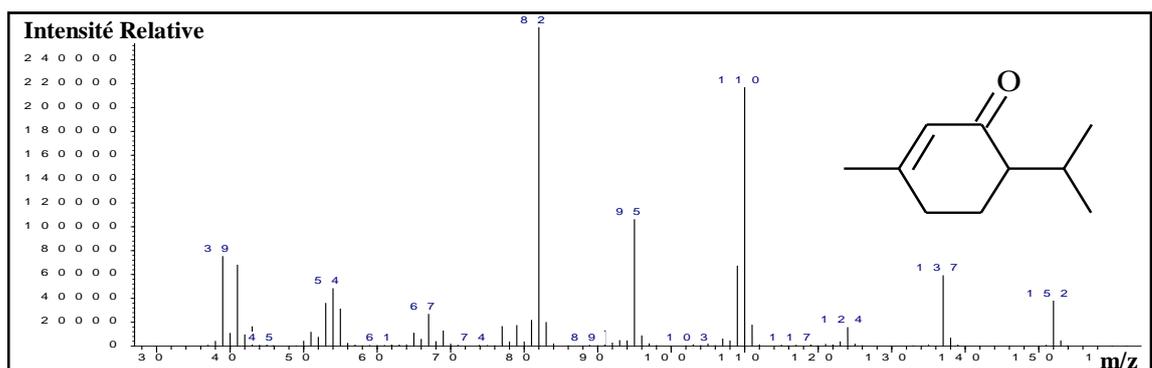


Figure 7 : Spectre de masse de pipéritone.

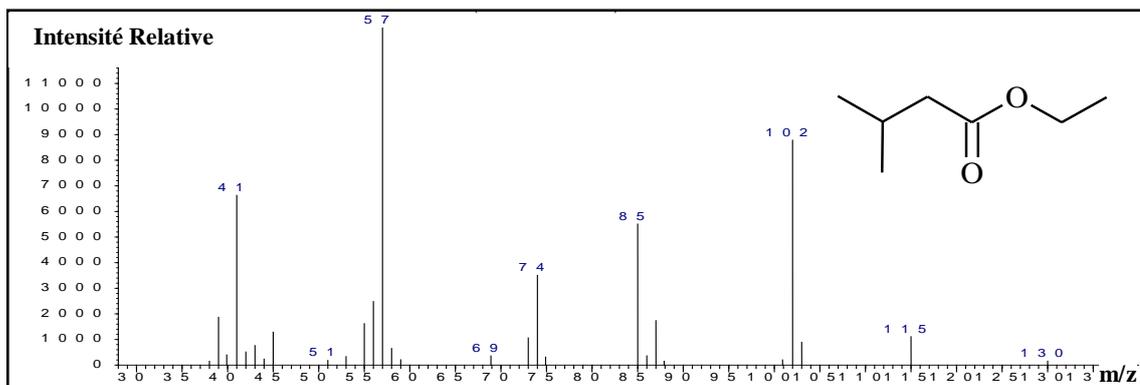


Figure 8 : Spectre de Masse de l'Isovalerate d'éthyle.

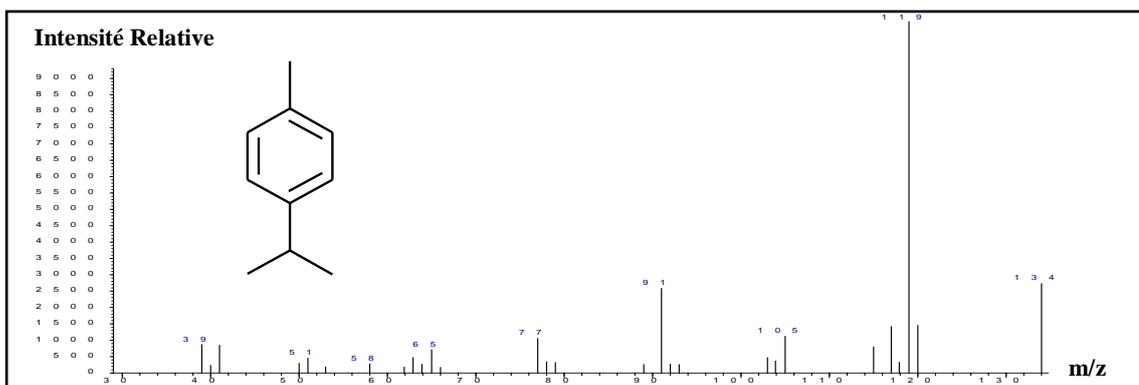


Figure 9: Spectre de Masse de P-cymène.

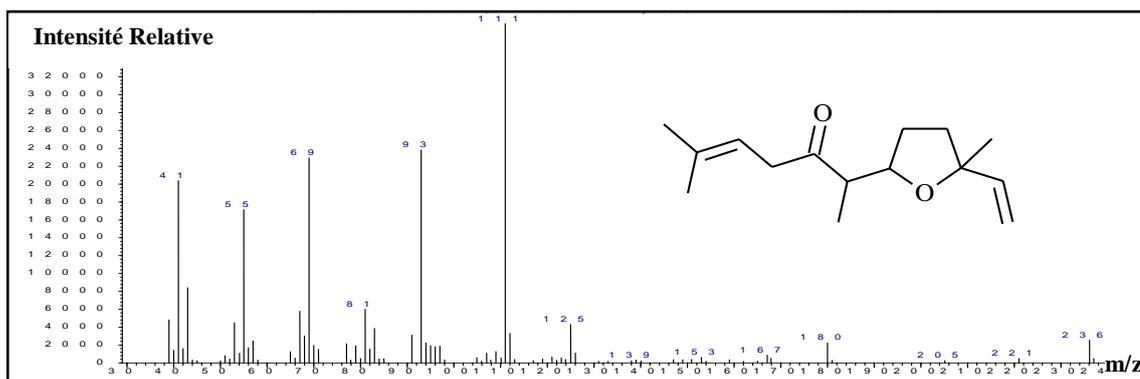


Figure 10: Spectre de Masse de Davanone.

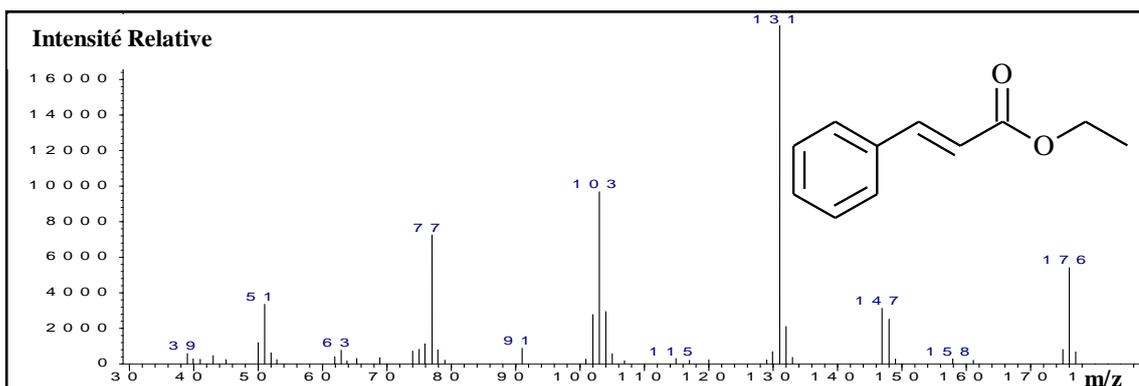


Figure 11: Spectre de Masse de cinnamate d'éthyle.

**ANNEXE 3 : Caractéristiques chimiques de l'HE de *Cuminum cyminum* L.**

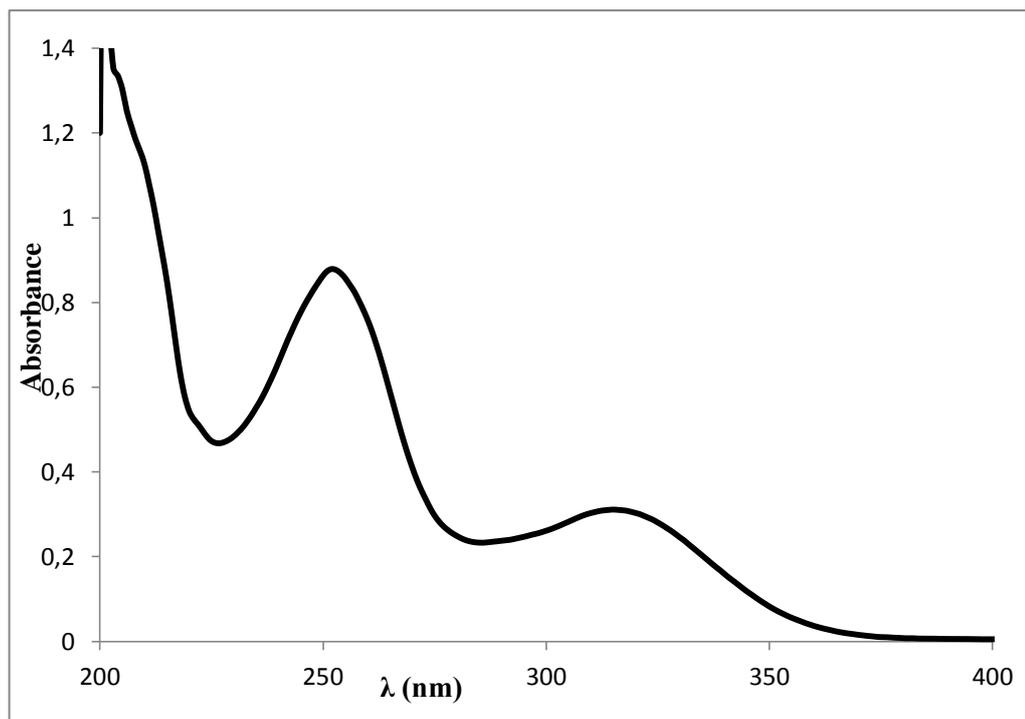


Figure 12 : Spectre UV-vis de l'HE de *Cuminum cyminum* L.

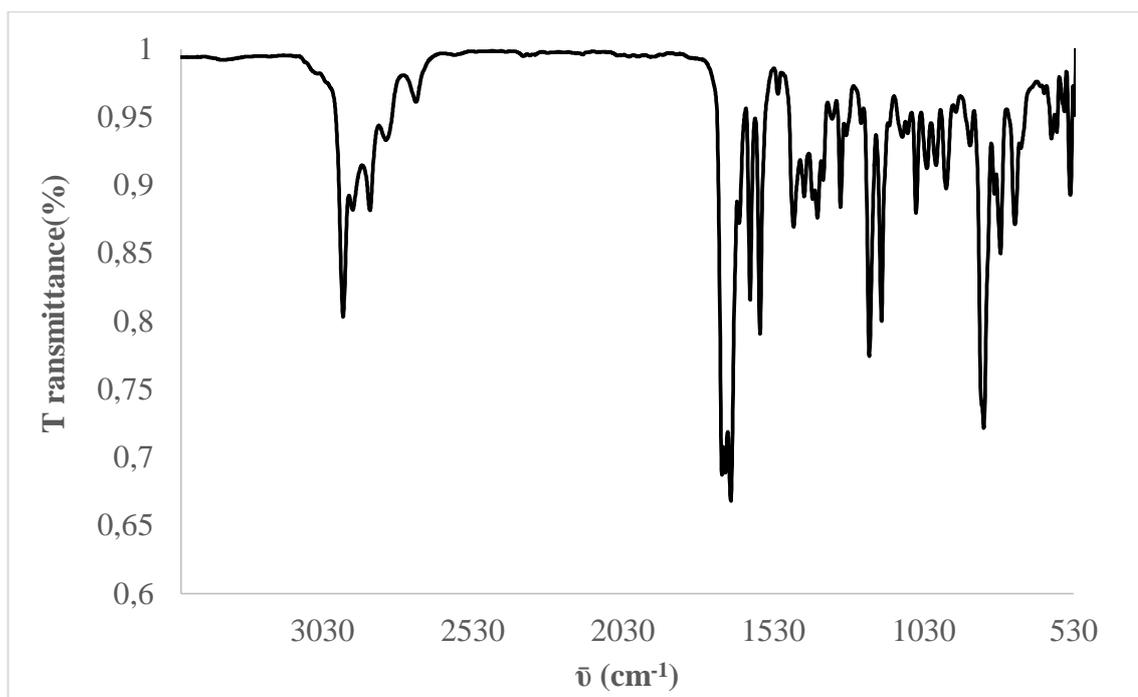


Figure 13 : Spectre IRTF de l'HE de *Cuminum cyminum* L.

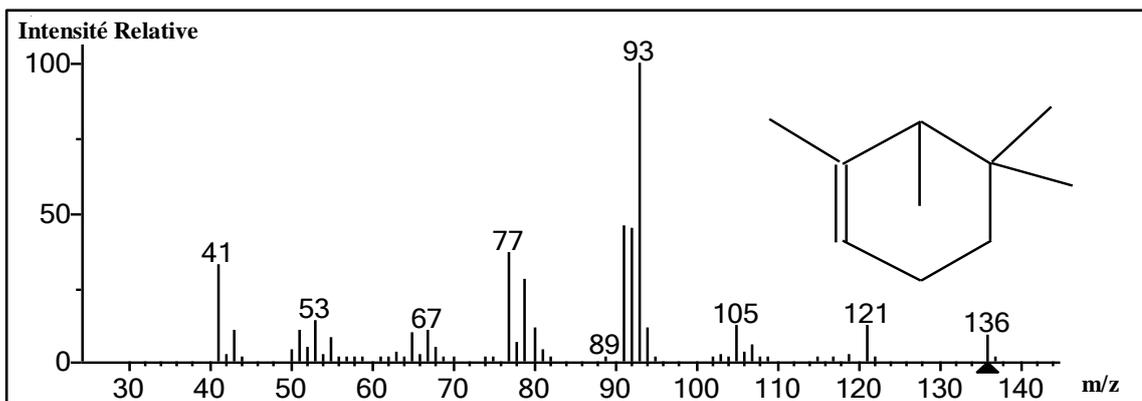


Figure 14 : Spectre de masse de  $\alpha$ -pinène.

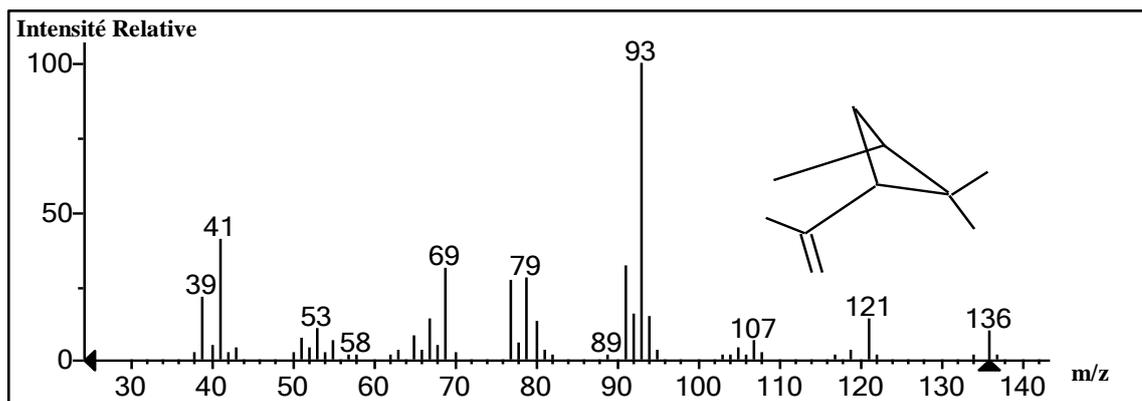


Figure 15: Spectre de masse de  $\beta$ -pinène.

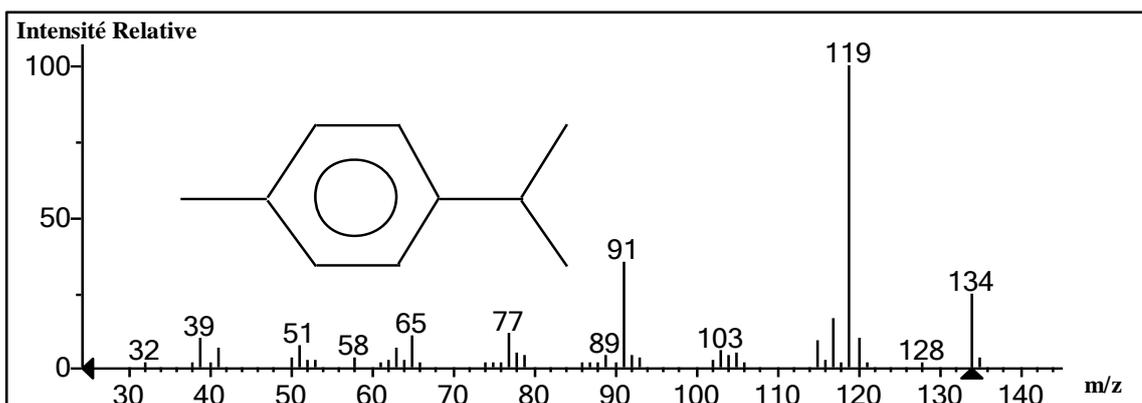


Figure 16: Spectre de masse de p-cymène.

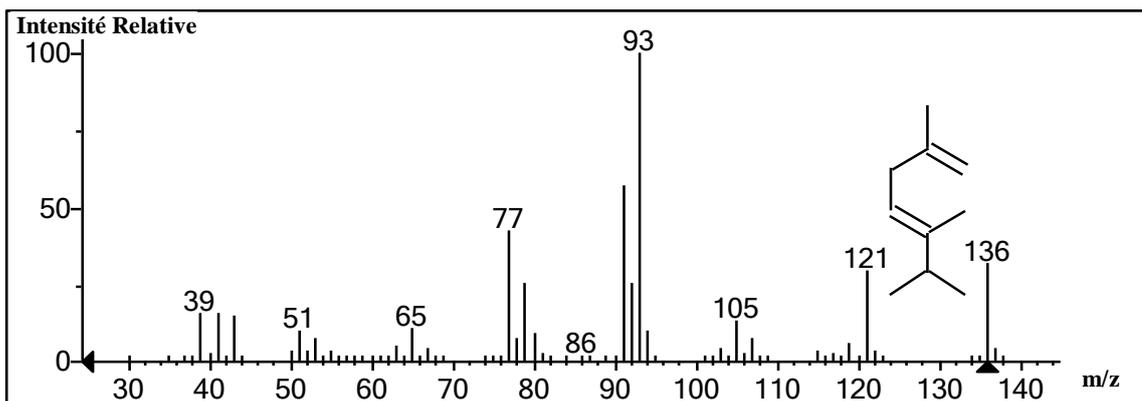
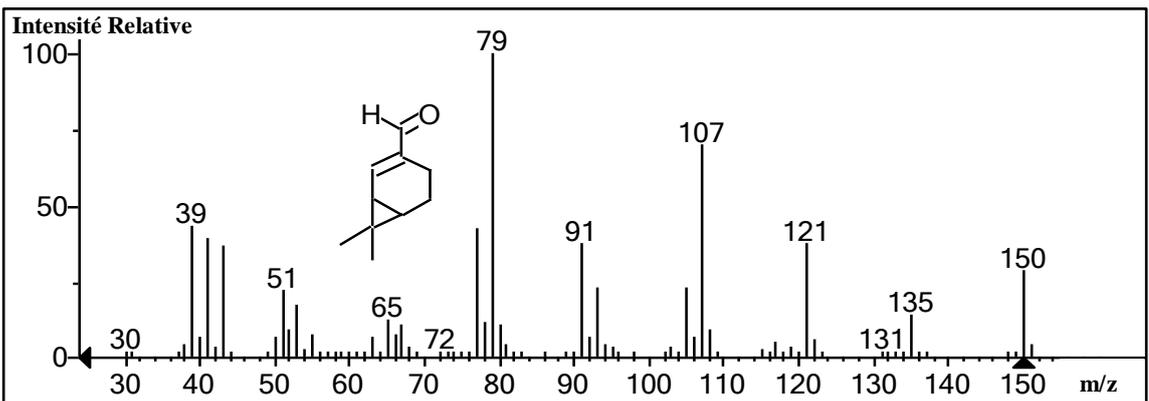
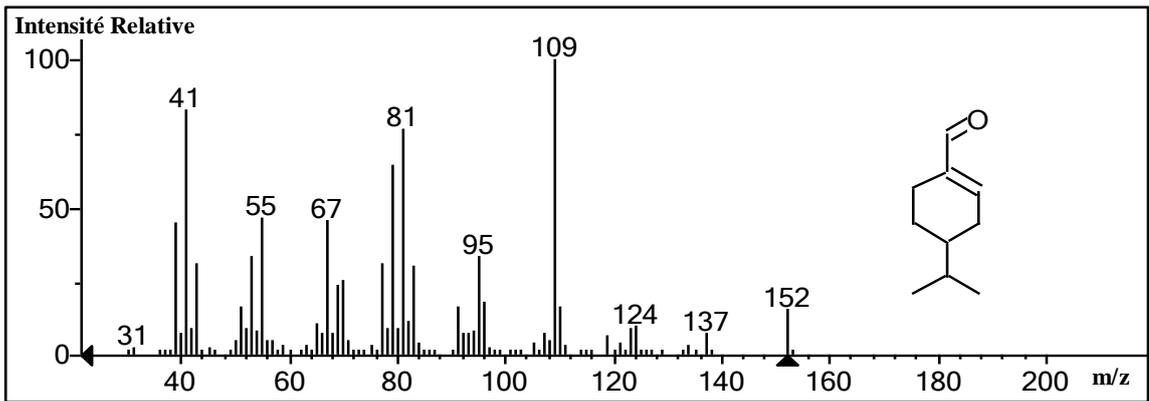
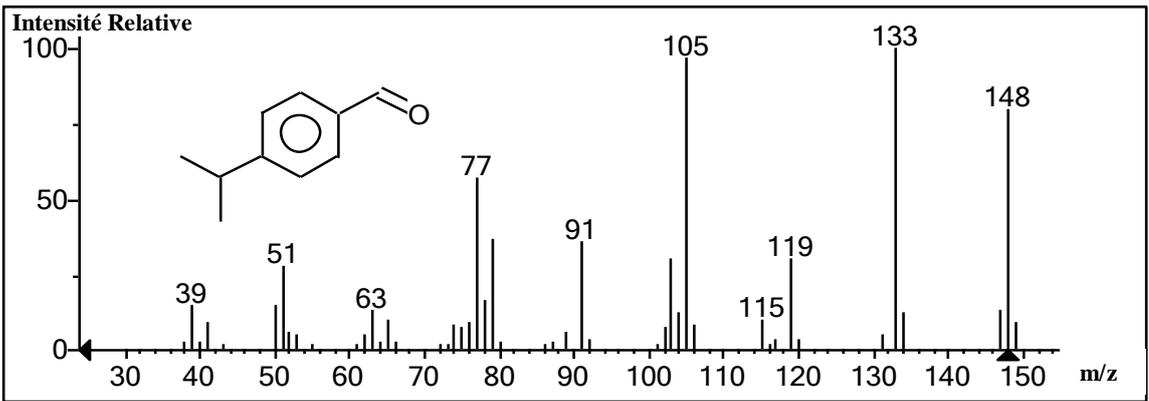
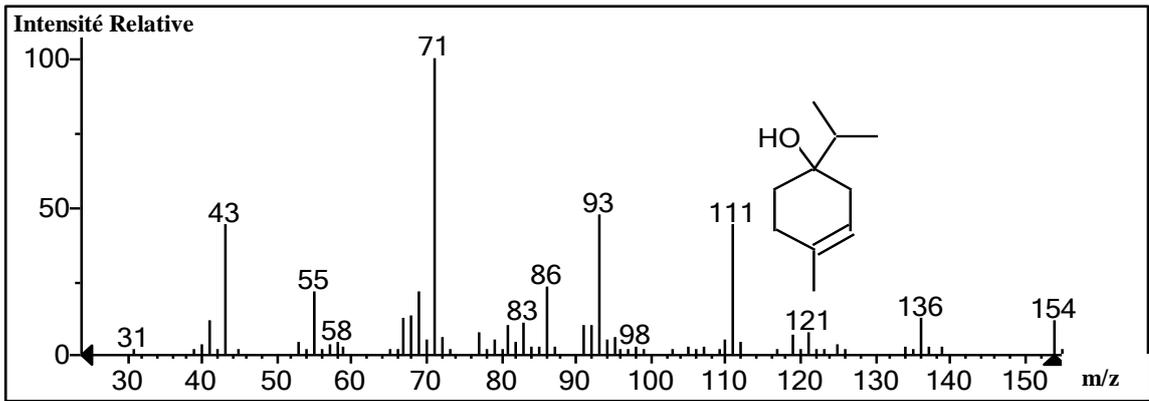


Figure 17: Spectre de masse de  $\delta$ -terpinène.



ANNEXE 4 : Caractéristiques chimiques de l'HE d'*Ammodaucus leucotrichus*

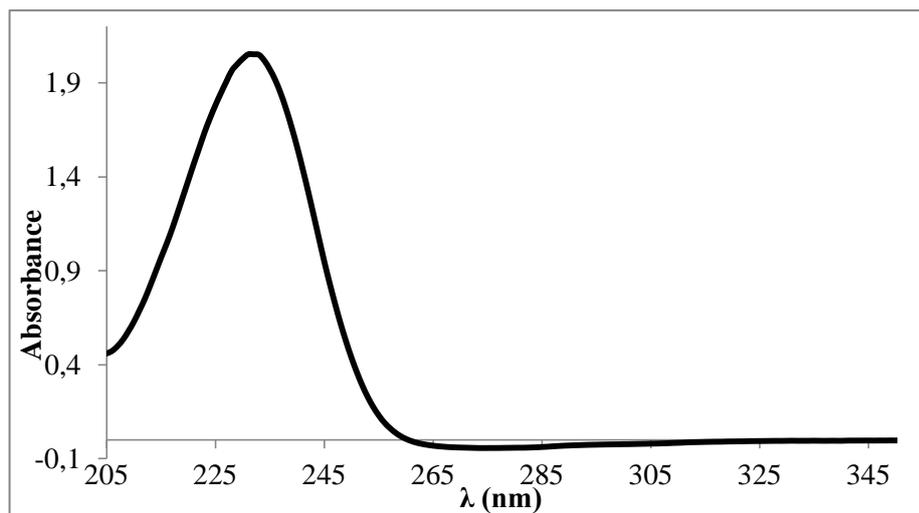


Figure 22: Spectre UV-vis de l'HE d'*Ammodaucus leucotrichus*.

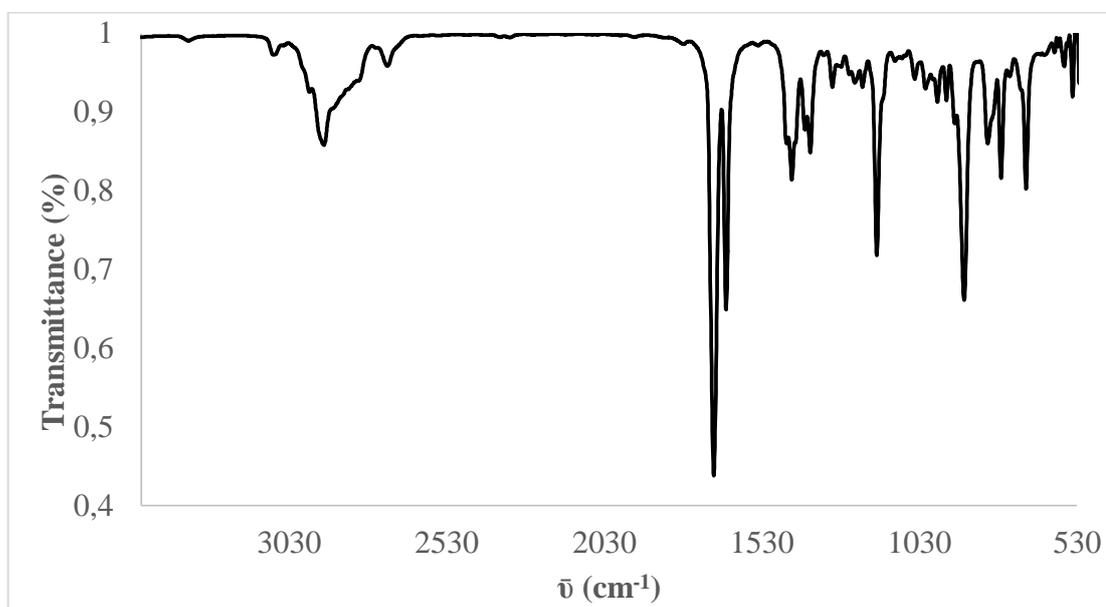


Figure 23: Spectre IRTF de l'HE d'*Ammodaucus leucotrichus*.

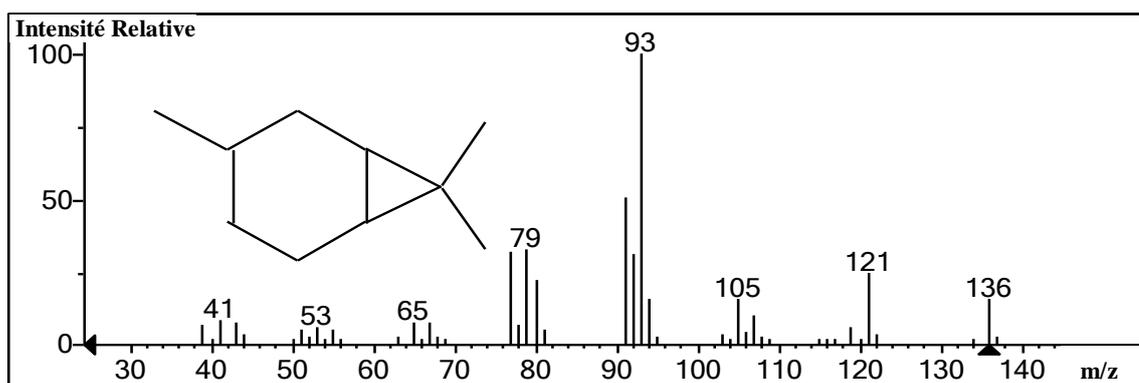


Figure 24: Spectre de masse de  $\delta$ -carène.

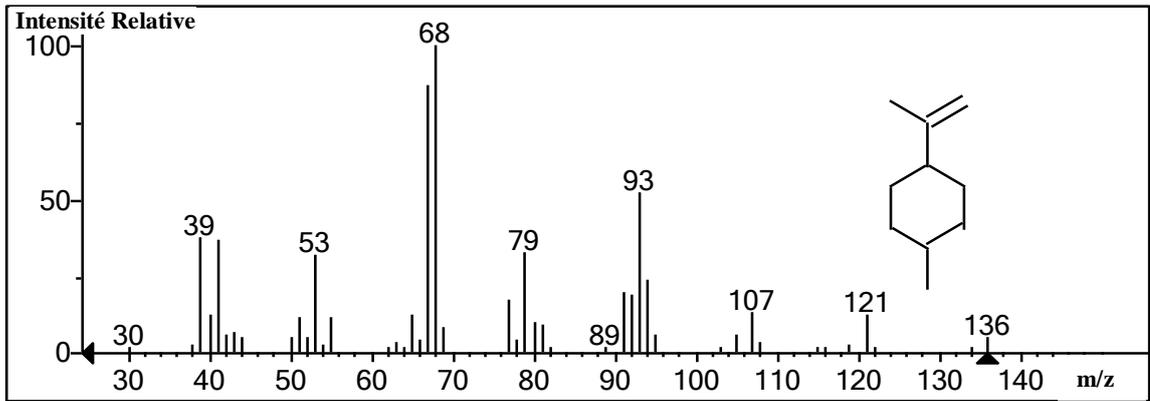


Figure 25: Spectre de masse de limonène.

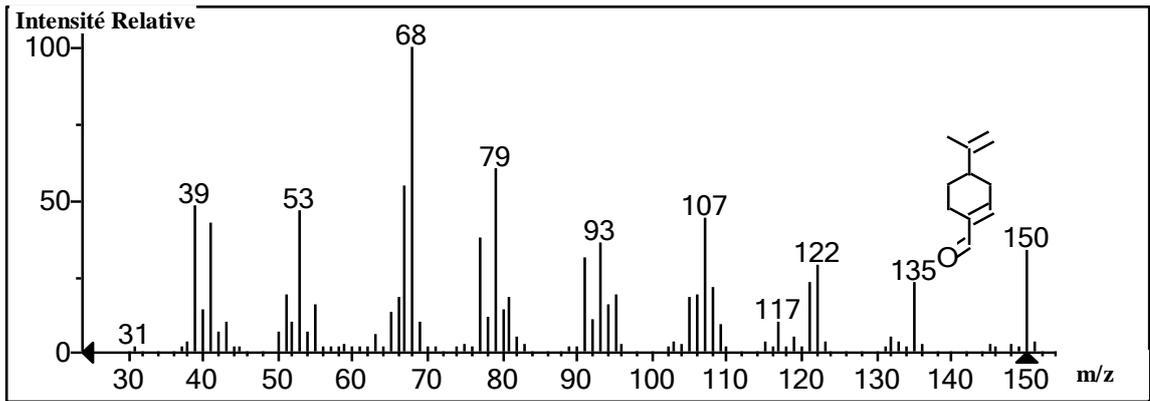


Figure 26: Spectre de masse de périllaldéhyde.

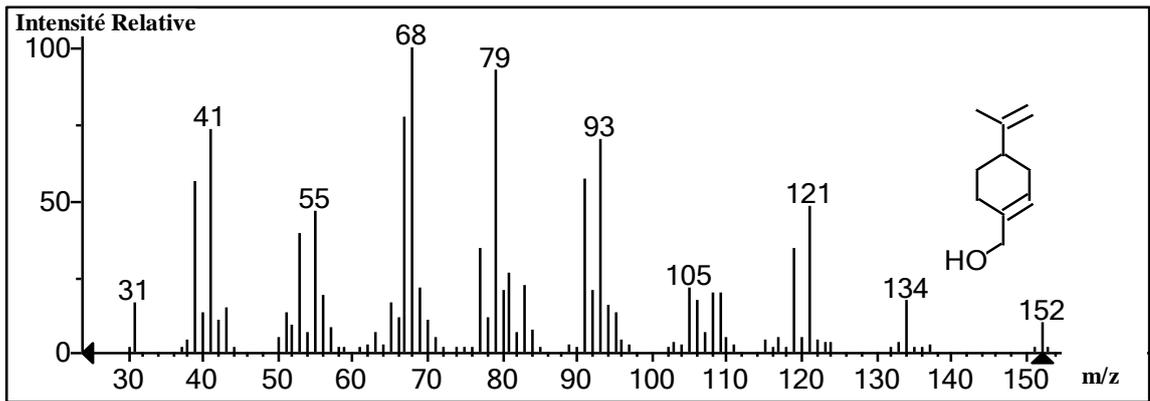


Figure 27: Spectre de masse de périllalcool.

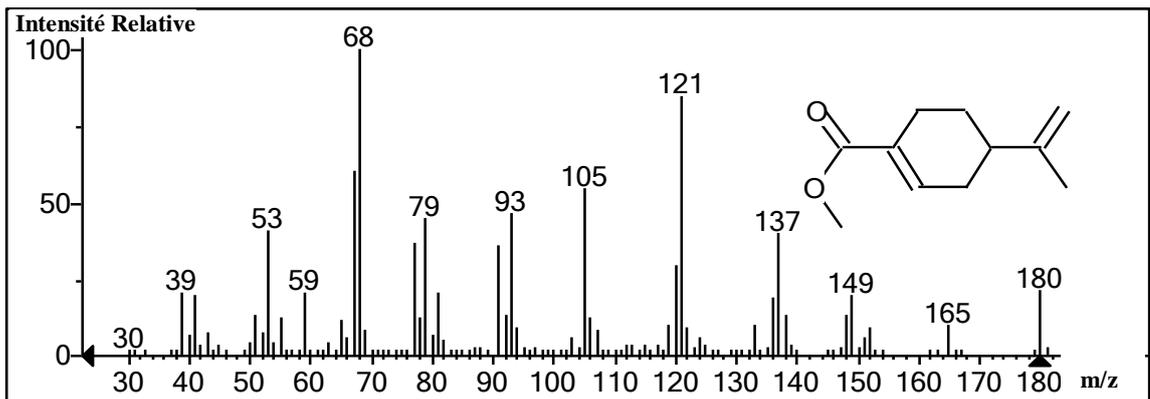


Figure 28: Spectre de masse méthyl périllate.

## ANNEXE 5 : Caractéristiques chimiques des furocoumarines

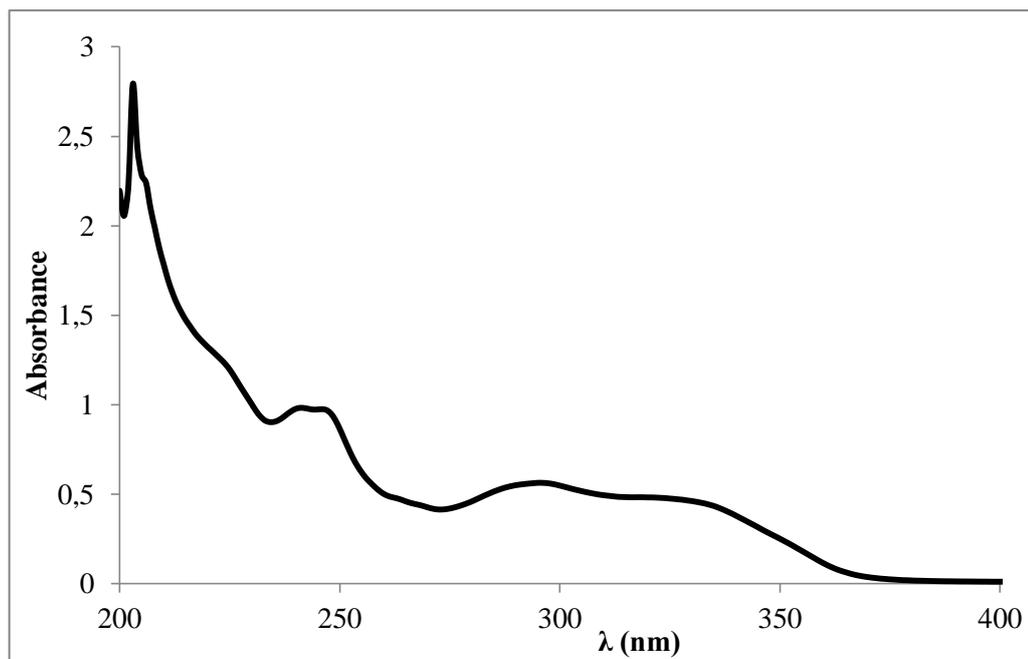


Figure 29: Spectre UV-vis de xanthotoxine.

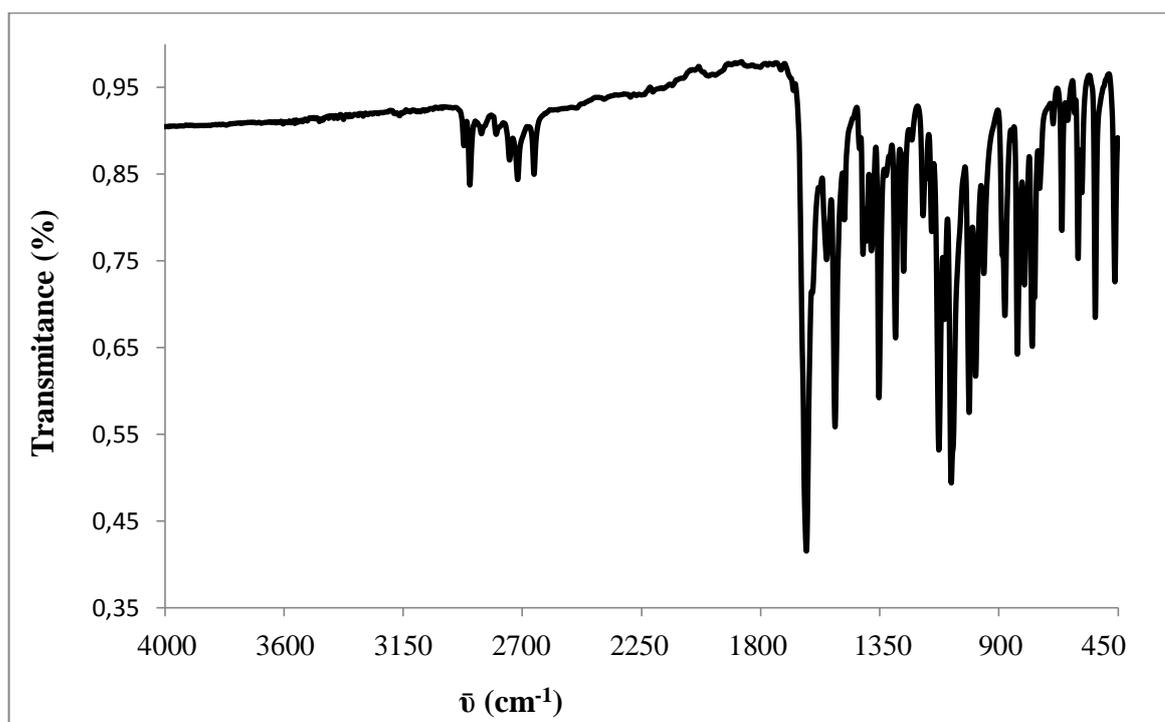


Figure 30 : Spectre IRTF du xanthotoxine.

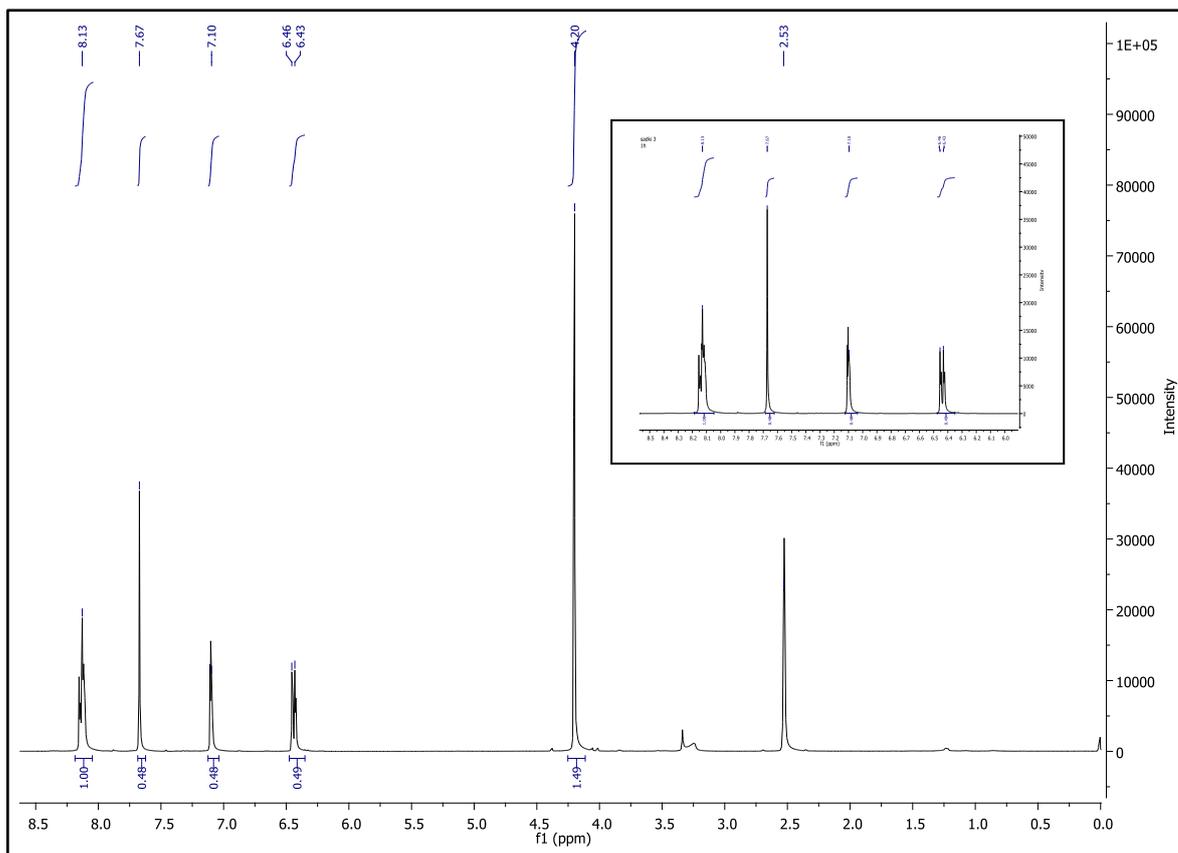


Figure 31: Spectre RMN  $^1\text{H}$  de xanthotoxine.

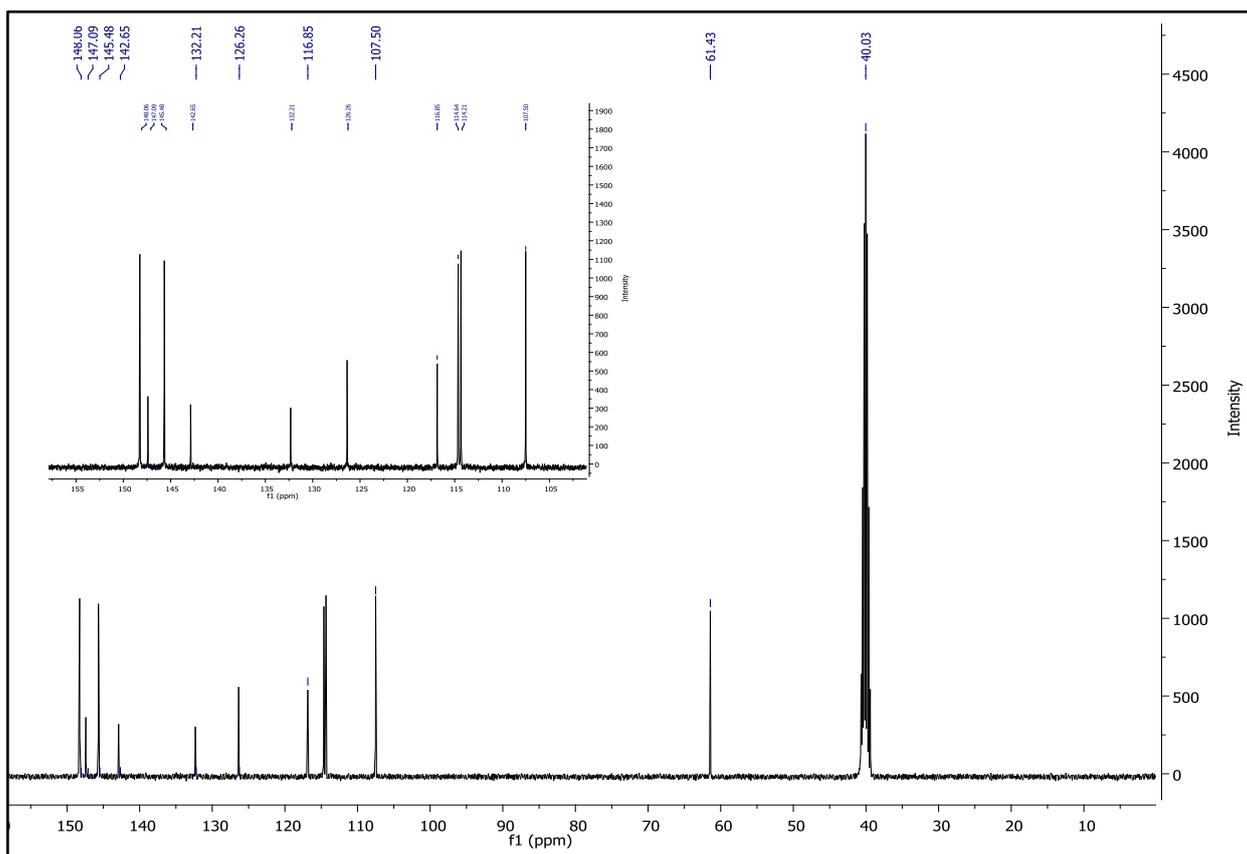


Figure 32: Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de xanthotoxine

## ANNEXE 6 : Spectres RMN de SHUS

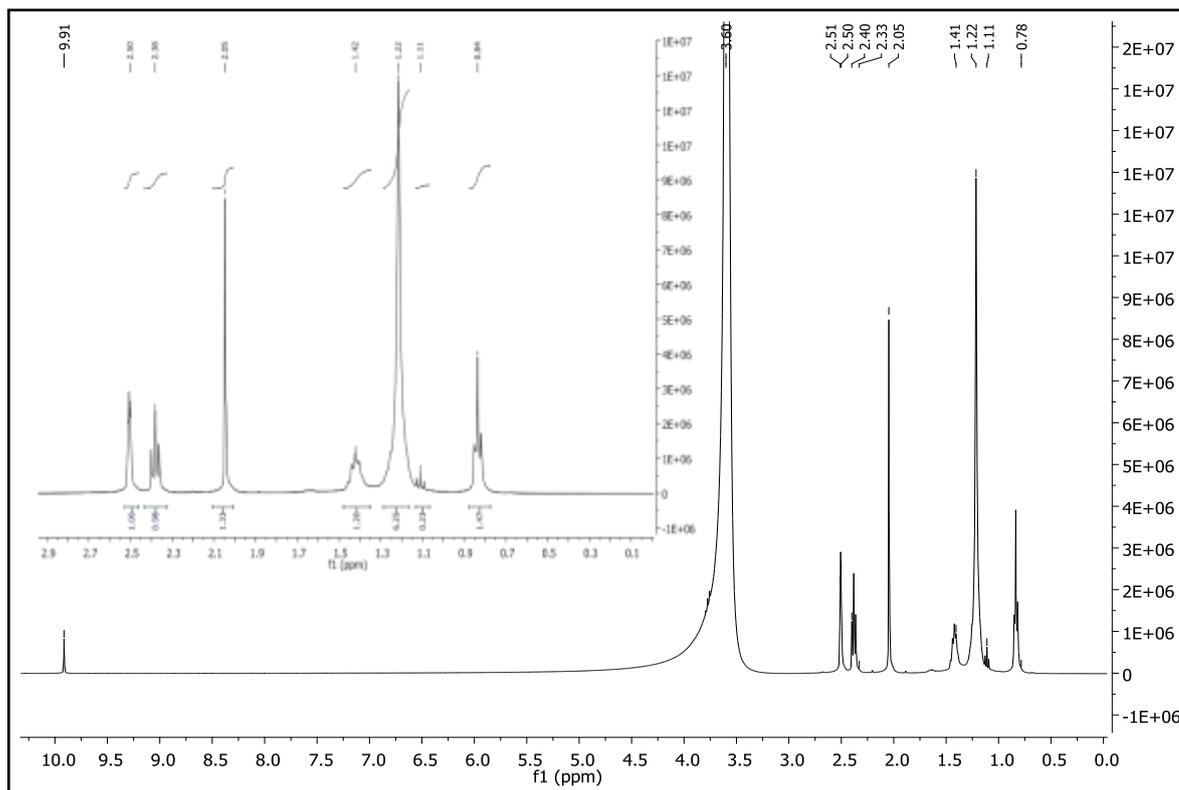


Figure 33: Spectre RMN  $^1\text{H}$  de SHUS.

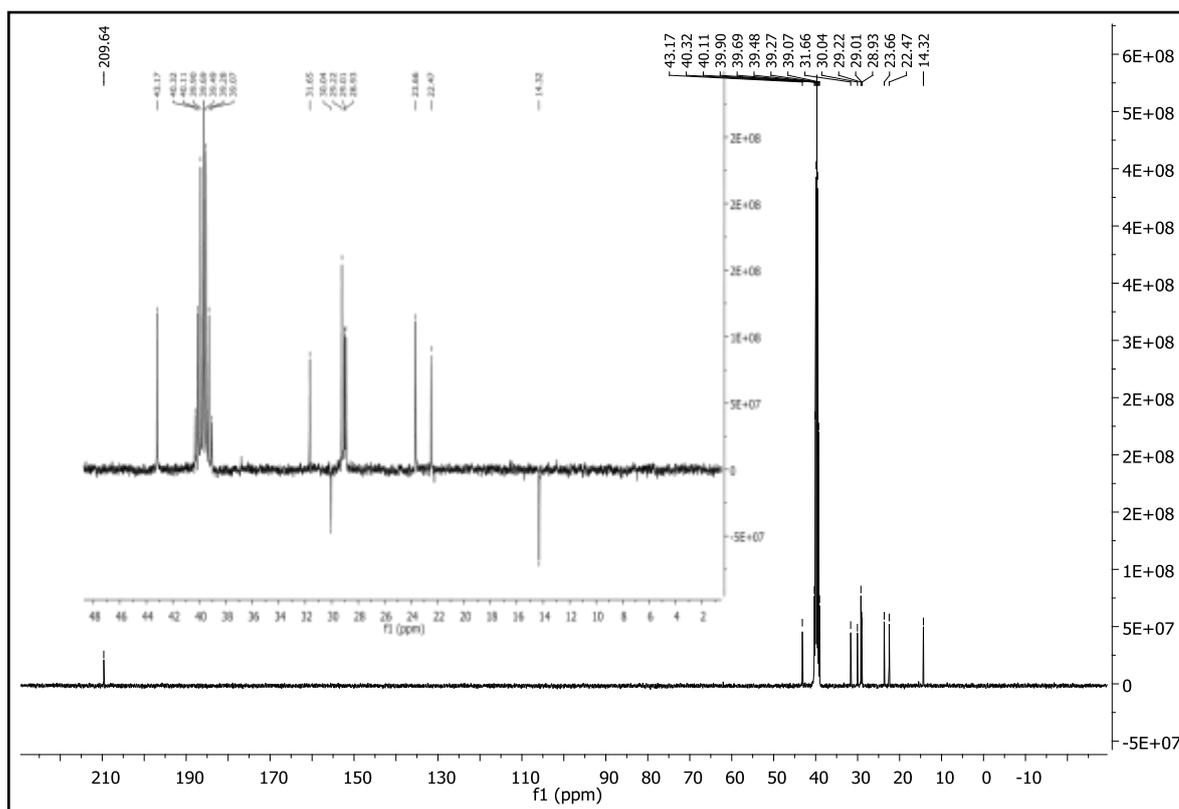


Figure 34: Spectre RMN  $\text{C}^{13}$  et APT de SHUS.

## ANNEXE 7 : Spectres de masse de l'HE d'*Artemisia judaica* L.thionée

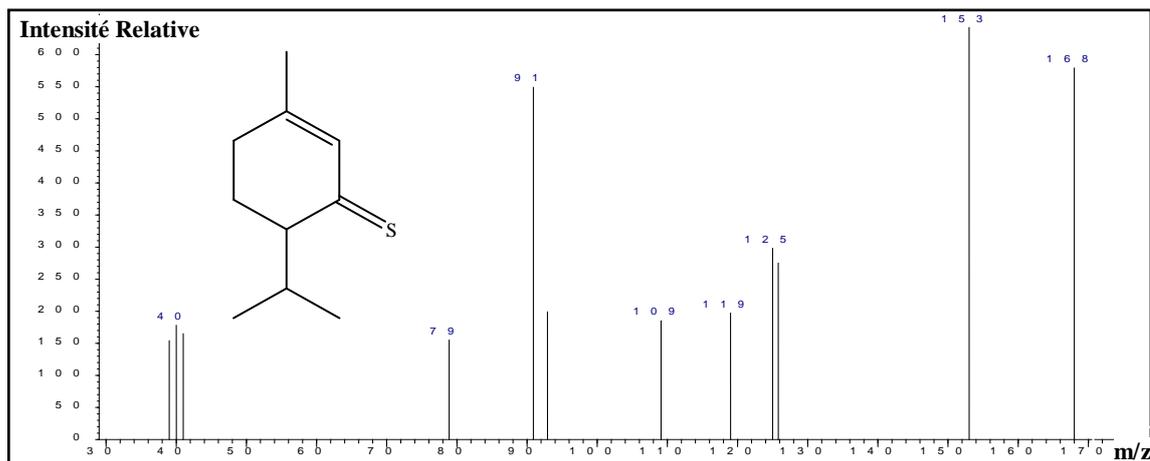


Figure 35: Spectre de masse de 6-Isopropyl-3-methyl-cyclohex-2-énthione.

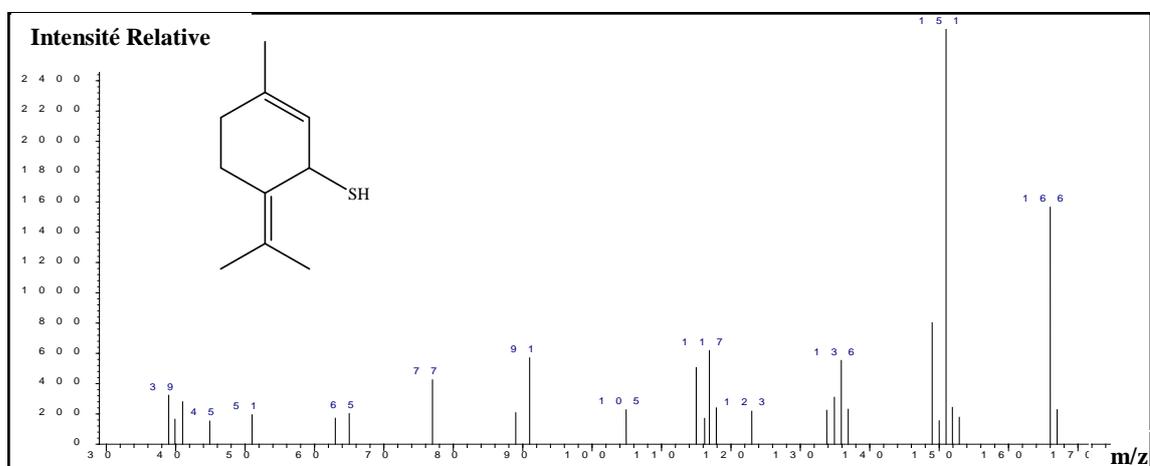


Figure 36: Spectre de masse de 6-Isopropylidene-3-methyl-cyclohex-2-énethiol.

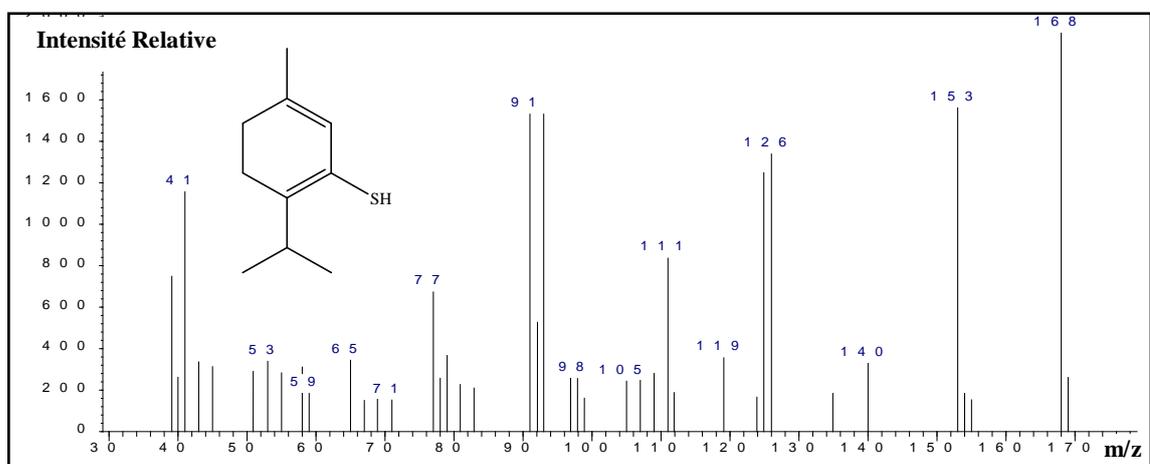


Figure 37: Spectre de masse de 2-Isopropyl-5-methyl-cyclohexa-1,5-diéthiol.

## ANNEXE 8 : Spectres de masse des azines hémi-synthétisées.

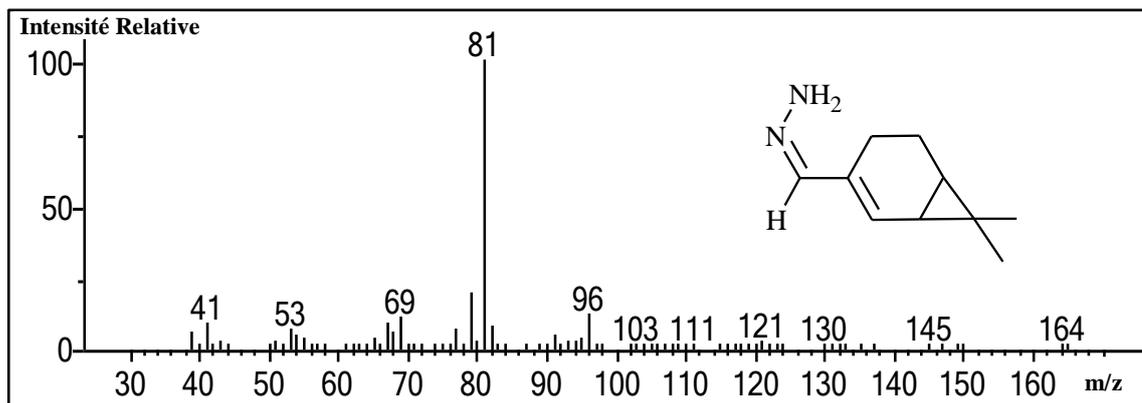


Figure 38 : Spectre de masse de 2-car n-10aldehyde hydrazone.

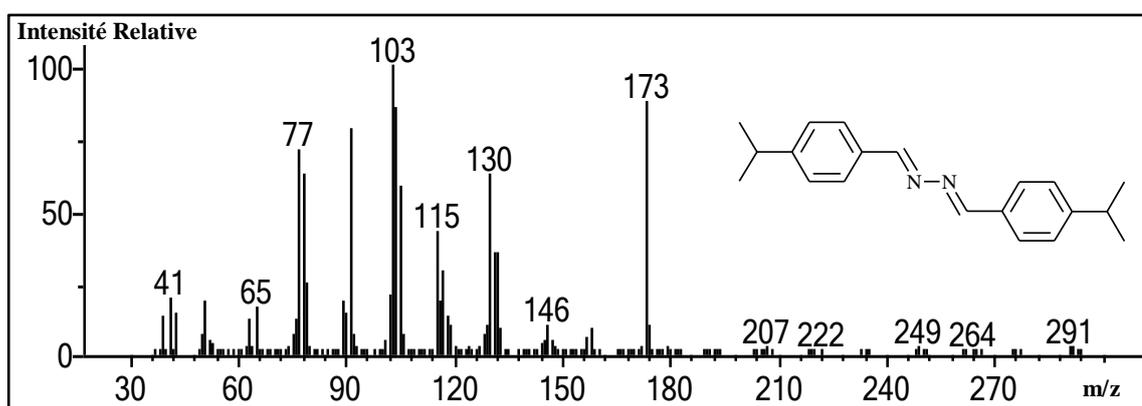


Figure 39 : Spectre de masse de cuminaldazine.

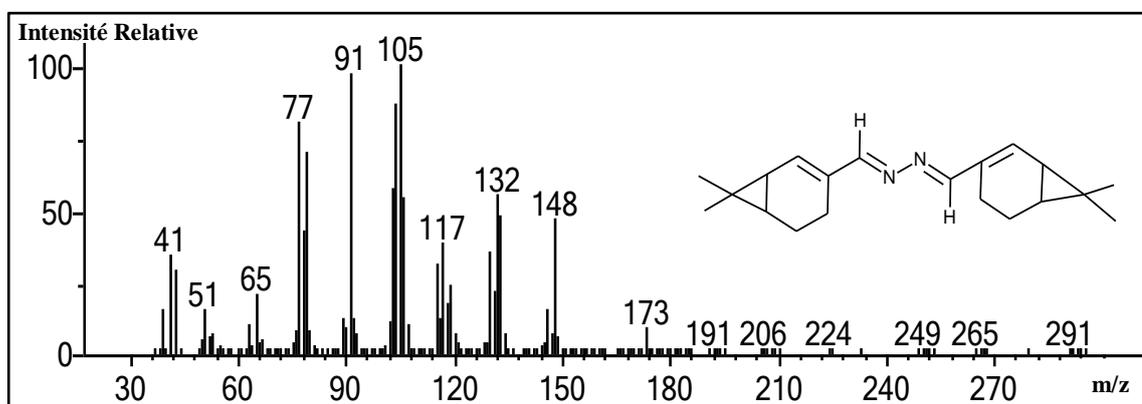


Figure 40 : Spectre de masse de 2-car n-10alazine.

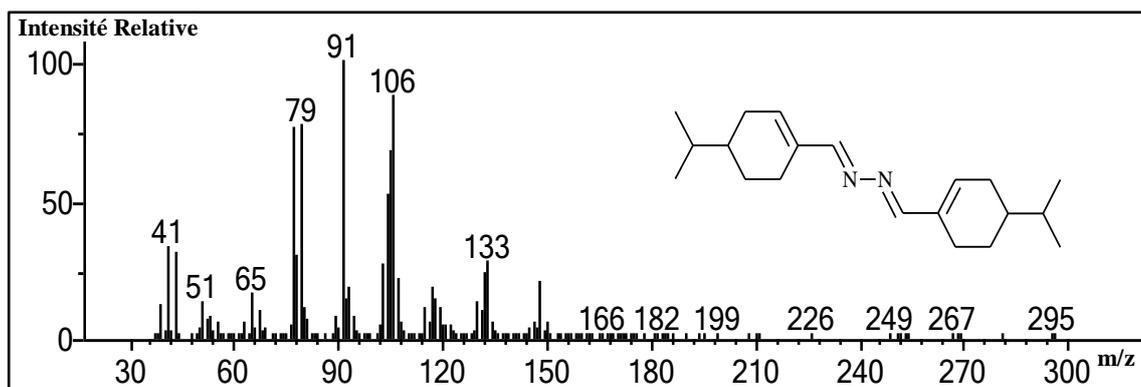


Figure 41 : Spectre de masse de phellandralazine.

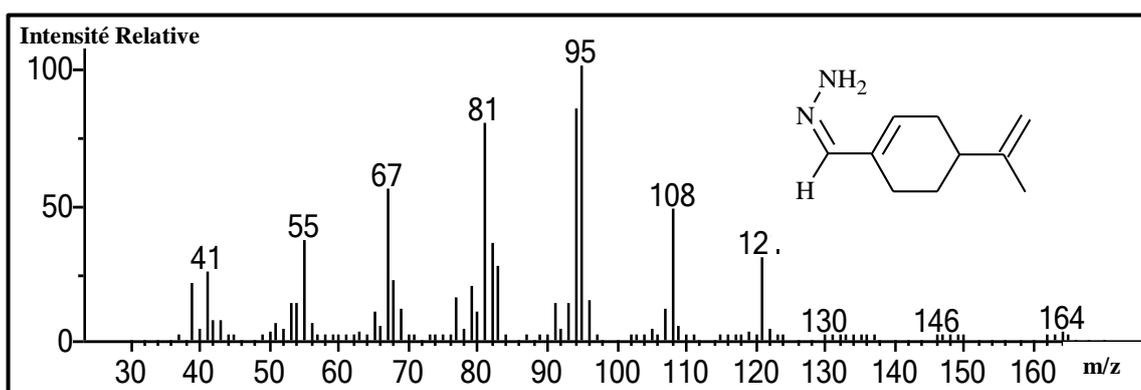


Figure 42 : Spectre de masse de Périllaldehydhydrazone.

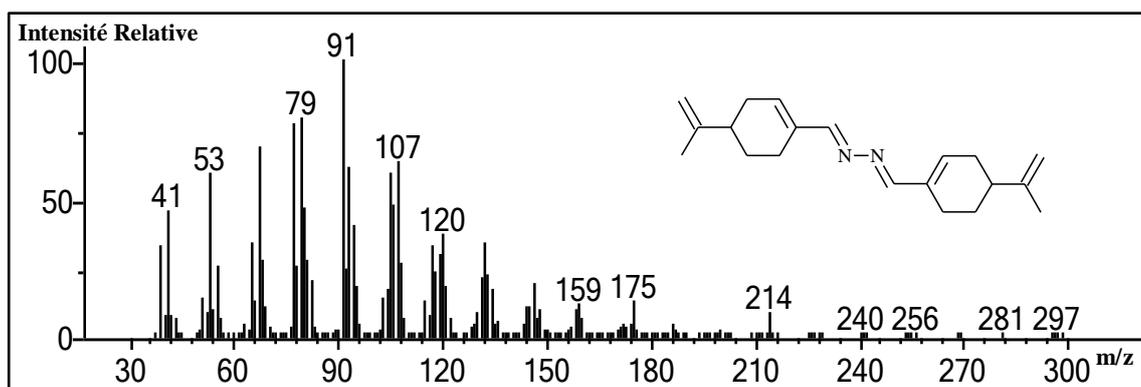


Figure 43 : Spectre de masse de Périllaldazine.

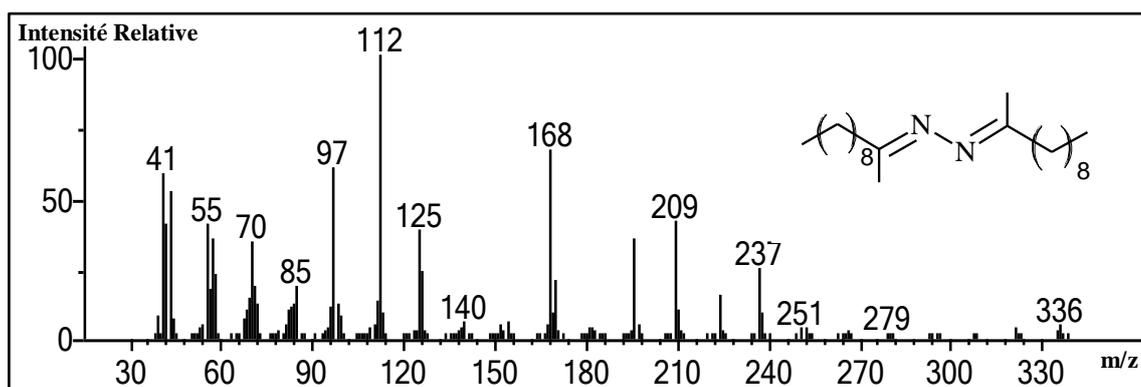


Figure 44 : Spectre de masse de 2-undécanezine.