

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SAAD DAHLEB de BLIDA -1

**Faculté des sciences
Département de Chimie**



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de **Master en Chimie**

Spécialité: Chimie Appliquée

Présenté par :

ROUIDI ASSIA et CHAABNA IMAN

Intitulé du mémoire

Évaluation chimio informatique et expérimentale de l'activité antioxydante de composés naturels par transfère d'électron et/ou de proton.

Soutenue le 20 Septembre 2021 devant le jury composé de :

M ^{me} N. YAHI.	MCB	USDB1	Présidente
M ^{me} A. BESSI.	MCB	USDB1	Examinatrice
M ^{er} A. Ait yahia.	MAA	USDB1	Promoteur
M ^{me} FELLA ATI	MAA	USDB 1	Co-Promotrice

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

En tout premier lieu, nous voudrions remercier le bon ALLAH EL KARIM le tout Puissant de nous avoir accordé la santé, et qui nous a donné la force et le courage et la volonté pour dépasser toutes les difficultés et d'accomplir et de mener à bien ce travail.

On tient à remercier très sincèrement notre promoteur **Mr AIT YAHIA**, Professeur à l'université de Blida 1, faculté de science, pour l'honneur qu'il nous a fait en dirigeant cette recherche, pour son infinie gentillesse et encouragement et pour sa grande disponibilité. Permettez-nous d'exprimer notre profonde gratitude et notre estime pour nous avoir fait bénéficier de son expérience, sa rigueur scientifique, et surtout ses orientations, Il nous a permis de profiter de l'étendue de ses connaissances.

Mme **Hamza** pour la disponibilité, les encouragements, la confiance, les conseils précieux que vous accordée pour nous.

Mme **ATI** pour la confiance, l'encadrement, la disponibilité et la rigueur scientifique et son sens d'écoute et d'échange.

Nous exprimons notre profond respect aux membres du jury **M^{me} BESSI** et **M^{me} YAHY** pour leur présence et d'avoir accepté d'évaluer et d'examiner ce modeste travail. On vous remercie d'avoir enrichi cette étude par vos expertises et vos expériences respectives.

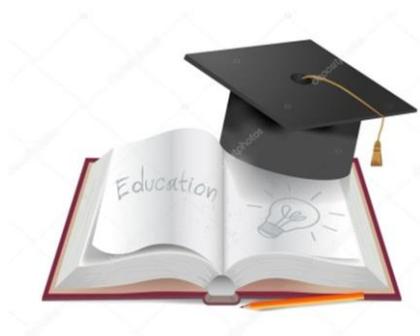
De même, on remercie également l'ensemble de l'équipe du Laboratoire de pavions 5 de l'Université de Saad Dahleb Blida 1 qui nous a bien accueilli ça a été un vrai honneur de travailler au sein de cette équipe dans un environnement dynamique et sérieux.

Enfin, nous aimerons remercier l'ensemble des enseignants de Département de chimie, faculté des sciences en particulier ceux qui ont contribué dans notre formation.

À tous ceux et celles qui nous ont aidés de près ou de loin, par un geste, une parole, ou un conseil, on leur dit merci infiniment.

On ne laissera pas cette occasion passer, sans chaleureusement énoncer un MERCI à nos héros de tous les jours et surtout durant cette circonstance mondiale exceptionnelle: nos parents, grands-parents, médecins, infirmiers, ambulanciers, les urgentistes, les cuisiniers dans les hôpitaux ; nous savons que l'ensemble du personnel soignant de santé et de premiers secours travaille très dur face à cette épidémie Covid-19.

Nous souhaitons beaucoup de courage, force et bon rétablissement à tous les personnes atteintes de ce virus.



Merci.

Dédicace

À l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail, que je dédie:

À ma chère mère "**Fatima el Zahraa**" qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'études, pour son amour infini, soutien et tous ses sacrifices.

À mon cher père "**kaddour**" pour ses patiences, ses conseils et ses encouragements.

À mes très bonnes sœurs **Nour el houda**, **Samia**, et **Nada** pour leurs encouragements. Je leur souhaite tout le bonheur et la réussite.

À mes chers frères : **Nessr el dine** et **Abd el illah**

À tous les membres de ma famille.

Spécialement à mes fidèles amis:

Hanaa, Habiba, Iman, Fella, Assma, Linda, Nessrin, Zakariaa, Hamza et Toufik

À toutes personnes qui m'ont encouragé ou aidé au long de mes études.

ASSIA



Je dédie cette thèse:

A mon très cher père Farid Chaabna:

Qui nous a quitté il y a 9 mois, Tu as toujours été pour moi un exemple de père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation. Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour avoir pitié de toi.

A ma très cher mère Saida Chaabna:

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout-puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A mes chères sœurs Nessrine et Rima :

Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mon futur mari Sid Ahmad: Pour son soutien constant et ses encouragements, à tout moment, merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A toute ma famille Chaabna et Belkessa: Pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire, Merci à tous un par un.

A mes chers amis: Racha Djomana Djamilia Zahra Faiza.

A mon binôme Assia:

Pour tous ces beaux souvenirs avec vous, merci de me soutenir en tout temps

IMAN



Sommaire

Introduction.....	1
Partie Bibliographique	3
Chapitre 1 : Pouvoir antioxydant.....	4
I.1.1 Radicaux libres	5
Type des radicaux libres.....	5
I.1.1.1.1 Espèces réactives d'oxygène (ROS).....	5
I.1.1.1.2 Espèces réactives d'azote (RNS).....	5
I.1.2 Sources de production des radicaux libres.....	5
I.1.3 Le stress oxydatif.....	6
I.1.4 Les conséquences moléculaires du stress oxydatif.....	6
a- Altération des membranes lipidiques.....	7
b- Altération de l'AND.....	7
c- Altération des protéines.....	7
I.1.5 Activité antioxydant	7
I.1.6 Antioxydant	7
I.1.7 Classification des antioxydants	8
a- Antioxydants synthétiques.....	8
b- Antioxydants Naturels.....	8
Chapitre 2 : Les huiles essentielles.....	10
I.2.1 Définition d'une huile essentielle.....	11
I.2.2 Répartition et localisation de l'huile essentielle.....	11
I.2.3 Classification des huiles essentielles.....	12
a- Les composés terpéniques (hydrocarbures).....	12
b- Les composés aromatiques.....	12
I.2.4 Définition de chémotype	14
I.2.5 Activité antioxydant des huiles essentielles.....	14
I.2.6 Domain d'application des huiles essentielles.....	15

Sommaire

Chapitre 3 : La méthode quantique DFT	16
I.3.1 Introduction	17
I.3.2 La chimie quantique	17
I.3.2.2 La théorie de la fonctionnelle de la densité.....	17
I.2.2.3 L'étude théorique de l'activité antioxydante par la DFT	18
PARTIE EXPERIMENTAL	20
Chapitre 1 : Matériels et Méthodes	21
II.1 l'objective de notre travail.....	22
II.1.1 Appareillage et produits chimiques	22
II.1.1.1 Appareils	22
II.1.1.2 Réactifs chimiques	22
II.1.2 Méthodes	23
II.1.2.1 Activité antioxydant des composés volatils	23
II.1.2.1.1 la méthode du piégeage du radical libre DPPH.....	23
II.1.2.1.2 Le test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP)	29
II.1.2.2 Méthodologie des calculs théoriques.....	33
Chapitre 2 : Résultats et discussions	34
II.2.1 Introduction	35
II.2.2 Etude Expérimentale de l'activité Antioxydant.....	36
II.2.2.1 Le test de piégeage du radical DPPH.....	37
II.2.2.2 Test du pouvoir réducteur du Fer(FRAP)	42
II.2.3 Discussion des résultats théoriques	47
1/ Le mécanisme HAT	47
2/ Le Mécanisme SET-PT.....	47
3/ Le mécanisme SPLET	48
Conclusion Général	55
Références	57

Résumé:

Notre travail est une contribution à l'étude de l'activité antioxydante des composés naturels purs et volatils. Ces composés sont : le α -pinène, le Camphor, le Camphène, limonène, p-cymène, limonène, Thymol, 1-naphtol, Menthol, Eugenyl acétat, Eugenol, Ocimène, Guaiacol, Géraniol, Anisole. le BHA, BHT, vitamine C, ont été pris comme référence.

L'estimation expérimentale de cette activité est réalisée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH et le test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP). Etude quantique est effectuée par la méthode DFT en utilisant la base standard 6-311G++ (d,p) en phase gazeuse est se basant sur les trois mécanismes possibles.

Les résultats obtenus par l'estimation expérimental est plus la valeur dEC50 est petite plus l'activité est meilleure, alors que pour la méthode FRAP plus l'absorbance est est important plus le pouvoir réducteur est meilleur. On remarque par la méthode DPPH les composés phénolique présentent des activités semblable à celui de BHT et pour la famille des hydrocarbures aromatique non phénolique la valeur d EC50 de p-cymène est deux fois supérieure a celle du Thymol, est pour la méthode FRAP on remarque que l'activité insensible a la variation de la structure des composés testés.

Les résultats obtenus par l'étude théorique est le mécanisme HAT plus favorable en phase gazeuse que le mécanisme SET, PT et que le mécanisme SPLET.

Mots clés: DFT, DPPH, BDE, FRAP, HAT.

Abstract:

Our work is a contribution to the study of the antioxidant activity of pure and volatile natural compounds. These compounds are: α -pinene, Camphor, Camphene, limonene, p-cymene, Thymol, 1-naphthol, Menthol, Eugenylacetate, Eugenol, Ocimene, Guaiacol, Geraniol, Anisole. BHA, BHT, vitamin C, have been taken as a reference.

The experimental estimation of this activity is carried out by the DPPH free radical trapping method and the Iron Reducing Power Test (FRAP). Quantum study is carried out by the DFT method using the standard base 6-311G++ (d,p) based on the three possible mechanisms.

The results obtained by the experimental estimation is the smaller the valuer dEC50 the better the activity, while for the FRAP method the greater the absorbance, the better the reducing power. It is noted by the DPPH method phenolic compounds have activities similar to that of BHT and for the family of non-phenolic aromatic hydrocarbons the ec50 value of p-cymene is twice higher than that of Thymol, is for the FRAP method it is noted that the activity insensitive to the variation in the structure of the compounds tested.

The results obtained by the theoretical study is the hat mechanism more favorable in the gas phase than the SET, PT mechanism and the SPLET mechanism.

Keywords: DFT, DPPH, BDE, FRAP, HAT.

ملخص:

عملنا هو مساهمة في دراسة النشاط المضاد للأوكسدة من المركبات الطبيعية النقية والمتقلبة هذه المركبات هي :
-بينان، كامفور، كامبفين، ليمونين، بارا سيمان، ناقتول، مانترول، يوجينيل استات، يوجينول، أوسيمين، غوايكول، جيرانول،
 α أنيزول.
وقد اخذنا كمرجع
BHT , BHA , فيتامين سي.

يتم اجراء التقدير التجريبي لهذا النشاط من خلال طريقة محاصرة الجذور الحرة، و اختبار الطاقة للحد من الحديد .
يتم اجراء دراسة الكم من قبل طريقة

DFT

باستخدام قاعدة قياسية 6-311 DFT
في مرحلة الغاز يستند إلى الآليات الثلاث الممكنة.

النتائج التي حصل عليها التقدير التجريبي هي كلما كانت قيمة

dEC50 صغيرة كلما كان النشاط افضل .

في حين ان طريقة

FRAP كلما زاد الامتصاص كلما كانت الطاقة المتناقصة افضل.

و يلاحظ من قبل المركبات الفينولية

DPPH طريقة لها مماثلة لتلك التي من

BHT . و بالنسبة للاسرة من الهيدروكربونات العطرية غير الفينولية قيمة

EC50 لبارا سيمان هو ضعف من ذلك التيمول. اما طريقة

FRAP لوحظ ان النشاط غير حساس للتنوع في هيكل المركبات التي تم اختبارها.

النتائج التي حصلت عليها الدراسة النظرية هي آلية أكثر ملاءمة في مرحلة الغاز من

SET ,PT. و الية SPLET.

الكلمات الرئيسية :

DFT ،DPPH ،BDE ،FRAP ،HAT

Liste des abréviations :

Abs : Absorbance.
ADN : Acide désoxyribonucléique.
BDE : Bande dissociation enthalpie.
BHA : Butyle hydroxyle anisole.
BHT : Hydroxytoluènebutyle.
B3LYP: Becke 3 lee-yang-parr.
C : Concentration.
DPPH : (2,2-diphenyle-1-picryl hydrazyl).
DFT : Théorie de la fonctionnelle de la densité.
FRAP : Pouvoir réducteur du fer.
EA : L'affinité électronique.
PA : Affinité protinique.
ERN : Espèces réactives de l'oxygène.
ERN : Espèces réactives de l'azote.
ETE : Enthalpie de transfère d'électron.
HAT : Transfert d'atome d'hydrogène.
HE : Huile essentielle.
IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50%.
IP : Potentiel d'ionisation.
mg : Milligramme.
ml : Millilitre.
nm : Nanomètre.
OM : Orbitale moléculaire.
PDE : L'enthalpie de dissociation du proton.
PM3 : Méthode semi-empirique.
PM6 : Parametriceméthode 6.
RNS : Espèce réactives de l'azote.
ROS : Espèce réactives del'oxygène.
SET-PT : Transfert d'électrons unique suivi d'un transfert de protons.
SPLET : Transfert d'électron séquentiel de perte de protons.
SOD : La Superoxyde Dismutase.
UV : Ultra- violet.
V : Volume.
µl : Symbole du microlitre.
SM : Solution mères.
% : Pourcentage.
H (H⁺) : Enthalpie du proton.
H (H.): Enthalpie d'un atom H simple.
H(é) : Enthalpie de l'électron.

Liste des figures

Liste des figures:

Figure	Titre	Page
1	Formation des radicaux libres	5
2	Origine des radicaux libres	6
3	Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant	8
4	Un montage d'hydro distillation	11
5	Structure chimique de l'isoprène	12
6	Organigramme du mode opératoire suivi lors du test du piégeage du radical libre DPPH	24
7	Organigramme du mode opératoire suivi lors du test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP)	30
8	Réduction du DPPH par un antioxydant (56).	37
9	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanure Ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH) (62).	43

Liste des tableaux

Liste des tableaux:

Tableau	Titre	Page
1	Principaux antioxydants naturels et sources alimentaires associées	9
2	Propriétés thérapeutiques de quelques huiles essentielles selon la classe de leurs produits majoritaires	13
3	Familles et nomenclature des réactifs chimique utilisés au cours de notre Experimentation	22
4	Classes chimiques, structures, formules brutes et masses molaires des composés volatiles étudiées	25
5	Concentrations de la solution mère, les volumes et concentrations des solutions testées pour chaque composé étudié	28
6	Les différentes valeurs de le concentration et L'ABS et l'activité	31
7	Les sommes d'enthalpies électroniques et thermiques du camphor, comphène, p-cymène et de limonene	35
8	activité antioxydante, EC50 et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active des composés purs.	37
9	activité antioxydante, EC50 et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration des produits de références	42
10	l'absorbance et les courbes de variation de l'absorbance en fonction de la concentration de l'espèce active des composés purs.	43
11	l'absorbance et les courbes de variation de l'absorbance en fonction de la concentration des produits de références.	46
12	Valeurs des EC50 obtenues lors du test du piégeage du radical libre DPPH et les absorbances obtenues a 0.9mmol/L lors du test FRAP.	48
13	Valeurs de BDE (Kcal/mol) des composés étudiés	50
14	les valeurs de l'IP et PDE (Kcal/mol) des composés étudiés	51
15	les valeurs de PA et ETE de composées étudiés :	53

Introduction

Introduction:

Les substances naturelles connaissent un intérêt croissant pour des applications dans de nombreux produits de consommation. En effet, leur utilisation est encouragée car les produits équivalents issus de synthèses chimiques ont, à tort ou à raison, mauvaise presse parmi le grand public. Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps. Il existe donc un besoin de production de substances bioactives isolées, concentrées et purifiées, pour une utilisation dans un large champ d'application (cosmétiques, pharmaceutiques, additifs nutritionnels...) [1].

On retrouve des antioxydants dans toutes les plantes, ils sont qualifiés en métabolites secondaires. Ces composés présentent plusieurs propriétés pharmacologiques, parmi lesquelles nous citerons les propriétés antimicrobienne, anti-inflammatoires, vasodilatatrices, anticancérogène [2].

Notre travail est une contribution dans ce domaine, il vise à utiliser le domaine de l'informatique chimique pour trouver une relation entre la structure chimique des composés volatils de l'huile essentielle et leur activité biologique. Pour cela, nous mesurerons l'activité antioxydant des composés purs volatils par la méthode de piégeage du radical libre DPPH et le Test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP). Ensuite, en utilisant la méthode quantique DFT, nous essayerons de trouver la relation entre la structure de ces composés et leur activité.

Ce travail sera réparti en trois parties:

La première partie sera réservée à l'étude théorique. Elle comportera trois chapitres:

Le premier, contiendra des rappelles sur les radicaux libres, les antioxydants, l'activité antioxydant, les méthodes d'évaluation des propriétés anti-radicalaires.

Le deuxième chapitre, contiendra des rappelles sur les huiles essentielles Répartition et localisation de l'huile essentielle, classification des huiles essentielles, activité antioxydant des huiles essentielles, Domain d'application des huiles essentielles, et le chémotype.

Le troisième chapitre comporte des définitions des méthodes théoriques de fonctionnelles de la densité, les logiciels utilisés et les descripteurs chimiques.

La seconde partie décrira le matériel et les produits utilisés. Aussi, elle résume les démarches méthodologiques suivies.

Dans la troisième partie, nous rapporterons et discuterons les résultats obtenus que ce soit expérimentalement ou théoriquement.

Nous terminons par une conclusion générale.

Partie
Bibliographique

Chapitre 1 :

Pouvoir antioxydant

Partie Bibliographique

I.1.1 Radicaux libres :

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron [3]. Pour rechercher la stabilité, les radicaux libres ont tendance à voler un électron de n'importe quelle molécule qui l'entoure. La molécule qui perd un électron devient à son tour à un radical libre. Par ce fait, les radicaux libres peuvent être la cause d'une réaction en chaîne sans fin [4].

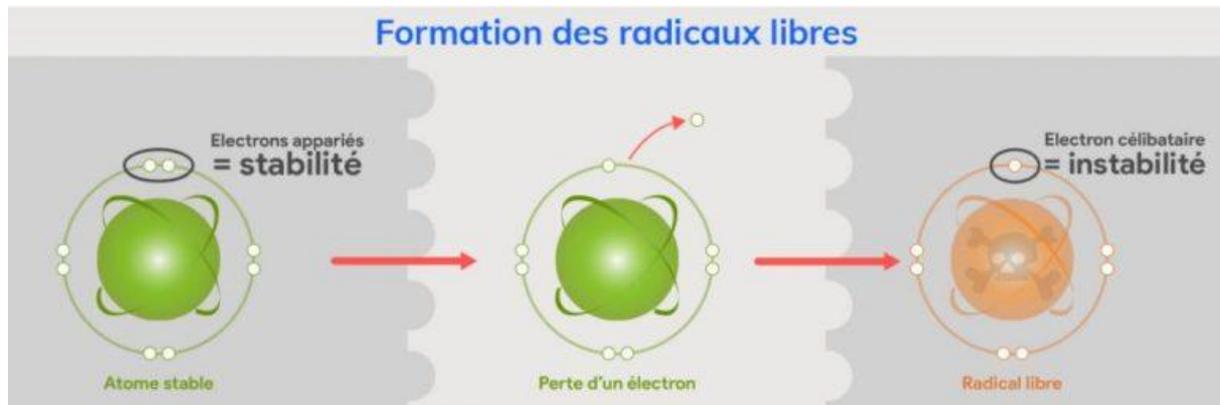


Figure 1 : Formation des radicaux libres [5].

I.1.1.1 Type des radicaux libres :

Les espèces réactives (pouvant être de nature radicalaire ou non) se divisent en deux catégories principales : d'une part les ROS Espèces réactives d'oxygène et d'autre part les espèces réactives de l'azote RNS [6] :

I.1.1.1.1 Espèces réactives d'oxygène (ROS) :

Parmi les espèces radicalaires les plus actives se trouvent les espèces réactives de l'oxygène (ROS) qui sont des radicaux libres qui dérivent de la molécule d'oxygène, par addition d'un électron tels l'anion superoxyde ($\bullet\text{O}=\text{O}^-$) et le radical hydroxyle ($\bullet\text{OH}$) ou non radicalaires tel le superoxyde d'hydrogène ($\text{HO}=\text{OH}$) et L'oxygène singulet ($\bullet\text{O}=\text{O}$), le Hypochloreux HOCL [7].

I.1.1.1.2 Espèces réactives d'azote (RNS) :

L'espèce réactive de l'azote est un agent vasodilatateur. Il est synthétisé par les NO synthèses (NOS). Le monoxyde d'azote $\text{NO}\bullet$ est un radical peu réactif mais peut se lier aux radicaux libres oxygénés ROS pour former des molécules plus toxiques comme les peroxyntrites ($\text{O}=\text{N}=\text{O}=\text{O}^-$) [8].

I.1.2 Sources de production des radicaux libres :

Les êtres humains sont constamment exposés aux radicaux libres. En effet, les sources de radicaux libres sont variées : la pollution atmosphérique, la cigarette, le rayonnement UV, les radiations ionisantes, les radiations cosmiques, le métabolisme cellulaire (activité mitochondriale, réactions enzymatiques), l'inflammation et les métaux toxiques[9]. Une fois

Partie Bibliographique

formés, ces radicaux libres réagissant avec les molécules neutres pour donner d'autres radicaux libres. Une réaction en chaîne est ainsi initiée, qui souvent accroît les effets potentiels nuisibles des radicaux libres dans le corps [10]. La figure 2 schématise l'origine des radicaux libres qui causent un stress oxydatif.

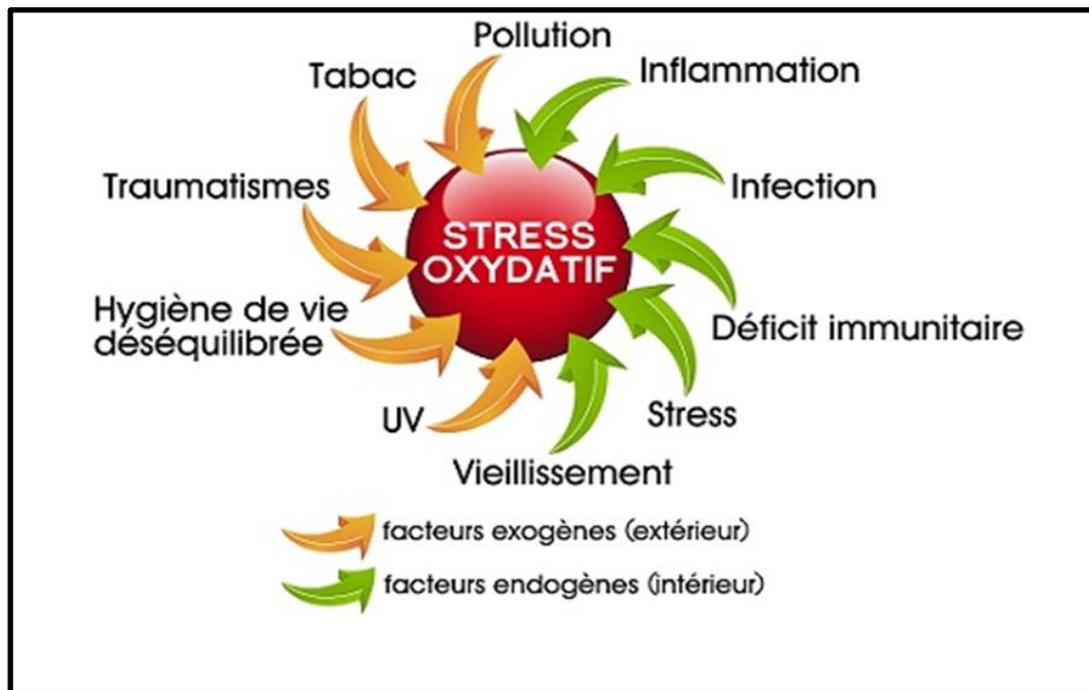


Figure 2 : Origine des radicaux libres [11].

I.1.3 Le stress oxydatif :

Le stress oxydatif, appelé aussi stress oxydant, se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les systèmes oxydants et les capacités antioxydants de l'organisme en faveur des premiers, ce qui conduit à des dommages cellulaires irréversibles [12].

Le stress oxydatif est un fonctionnement de l'organisme qui est normal tant qu'il ne dépasse pas certaines limites. En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène, et dont nos cellules savent normalement très bien se débarrasser [13]. Cette oxydation dénature les protéines, les lipides, sources et l'ADN, et ensuite les membranes cellulaires et les cellules [14].

I.1.4 Les conséquences moléculaires du stress oxydatif :

La production excessive de radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides [15].

Partie Bibliographique

a-Altération des membranes lipidiques :

Lors de la peroxydation lipidique, les radicaux libres peuvent arracher un atome d'hydrogène aux chaînes latérales d'acides gras des lipides pour former des radicaux alkyles. Ceux-ci vont ensuite réagir avec l'oxygène moléculaire pour former des radicaux peroxytes. La peroxydation lipidique entraîne notamment une désorganisation des lipides membranaires, ce qui peut mener à une lyse cellulaire [16].

b-Altération de l'ADN :

Les bases puriques et pyrimidiques de l'ADN ainsi que les désoxyriboses peuvent être la cible des radicaux libres, notamment le radical hydroxyle OH[•]. Par exemple, la guanine peut réagir avec ce radical pour former la 8-OH-désoxyguanosine qui va s'apparier à l'adénine au lieu de s'associer normalement à la cytosine. Cela entraîne des mutations au sein de l'ADN.

Il existe des systèmes de réparation de l'ADN mais lorsqu'ils sont débordés, ces systèmes ne sont plus suffisants et cela entraîne des altérations du matériel génétique qui peuvent engendrer des mutations, des cancers... [17].

c-Altération des protéines :

Les protéines sont formées d'acides aminés qui peuvent réagir avec les radicaux libres. Les acides aminés les plus réactifs sont l'histidine, la proline, le tryptophane, la cystéine et la tyrosine.

Les radicaux libres peuvent interagir avec différents types de protéines : celles de soutien comme le collagène (vieillesse), les protéines circulantes (transferrine, albumine), les enzymes protéiques... les acides aminés les plus sujets à des attaques radicalaires sont ceux possédant des chaînes latérales aromatiques (phénylalanine, tyrosine, histamine, tryptophane) et les acides aminés soufrés (méthionine, cystéine) [18].

I.1.5 Activité antioxydant :

Les antioxydants sont classés selon leur mode d'action : éliminateurs de radicaux libres, chélateurs d'ions métalliques, piègeurs d'oxygène dans des systèmes fermés. Les polyphénols, naturellement présents dans les aliments ou formés au cours des procédés de transformation sont considérés comme éliminateurs des radicaux libres [19].

I.1.6 Antioxydant :

Un antioxydant est défini comme une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir ou d'inhiber le phénomène d'oxydation de ces substrats, comme les protéines, les lipides, et les carbohydrates [20].

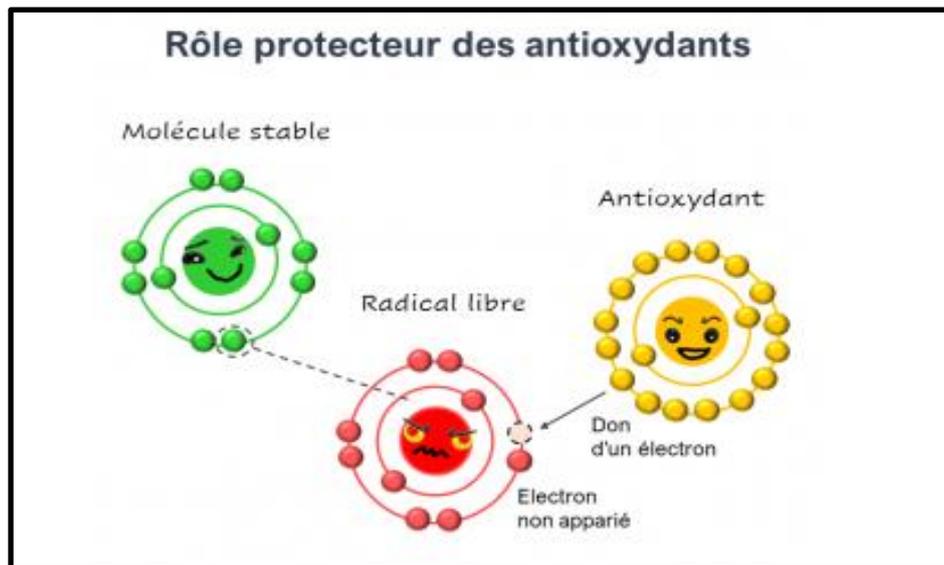


Figure 3 : Neutralisation d'un radical libre par un antioxydant [21].

I.1.7 Classification des antioxydants :

a- Antioxydants synthétiques :

Le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), les esters de l'acide gallique (gallate de propyle, gallate d'octyle et gallate de dodécyle) sont des antioxydants synthétiques lipophiles. Le BHA et le BHT sont des composés aromatiques les plus fréquemment utilisés. Ceux-ci sont principalement employés comme conservateurs, à faible concentration, dans les produits cosmétiques et alimentaires afin de protéger les lipides du rancissement. Néanmoins, leur utilisation reste controversée, les produits de dégradation du BHA et du BHT étant suspectés d'être cancérogènes [22]. De plus, dans le domaine alimentaire, des réactions d'hypersensibilité ont été recensées pour les gallates, le BHA et le BHT. Enfin, des réactions allergiques (de type urticaire) ont été observées chez certains sujets sensibles au BHA et BHT [23]. A ce jour, aucun texte ne mentionne ni ne réglemente l'utilisation de tels antioxydants.

b- Antioxydants Naturels :

Les antioxydants naturels comprennent de nombreux éléments naturellement présents dans nos aliments tels que les fruits et légumes, les oligo-éléments et les plantes qui ont un effet combiné pour aider à protéger les cellules du corps contre l'effet des radicaux libres. les principaux antioxydants et cite des exemples de quelques importantes sources en ces composés naturels Tableau 1.

Partie Bibliographique

Tableau 1 : Principaux antioxydants naturels et sources alimentaires associées [24].

Principaux nutriments antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrume, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron.
Vitamine E	huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, œufs, noix.
β -carotène	les légumes verts, la salade, les carottes, les épinards, l'abricot, la papaye, le melon, le potiron et d'autres fruits jaunes.
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises.
Sélénium	Poisson, œufs, viandes, céréales, Volaille.
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres, produits laitiers.

Chapitre 2 :

Les huiles essentielles

Partie Bibliographique

I.2.1 Définition d'une huile essentielle :

Une huile essentielle ou « essence végétale » est l'essence volatile extraite de la plante par distillation. Il s'agit d'une substance complexe qui contient des molécules aromatiques dont l'action bénéfique sur la santé est étudiée et mise en pratique par l'aromathérapie. Les HE combinent des molécules très variées (en moyenne une centaine de molécules différentes pour une seule essence : terpènes, cétones, alcools, esters, aldéhydes...) [25].

Elles sont obtenues par distillation à la vapeur d'eau ou distillation à sec ou extraction mécanique. Dans ce dernier cas, une certaine ambiguïté existe sur la dénomination d'huile essentielle. Selon l'AFNOR, il faut utiliser le terme d'essence alors que la Pharmacopée française et la Pharmacopée européenne utilisent le terme d'huile essentielle. Le terme d'huile essentielle a été retenu par les spécialistes en pharmacognosie [26].

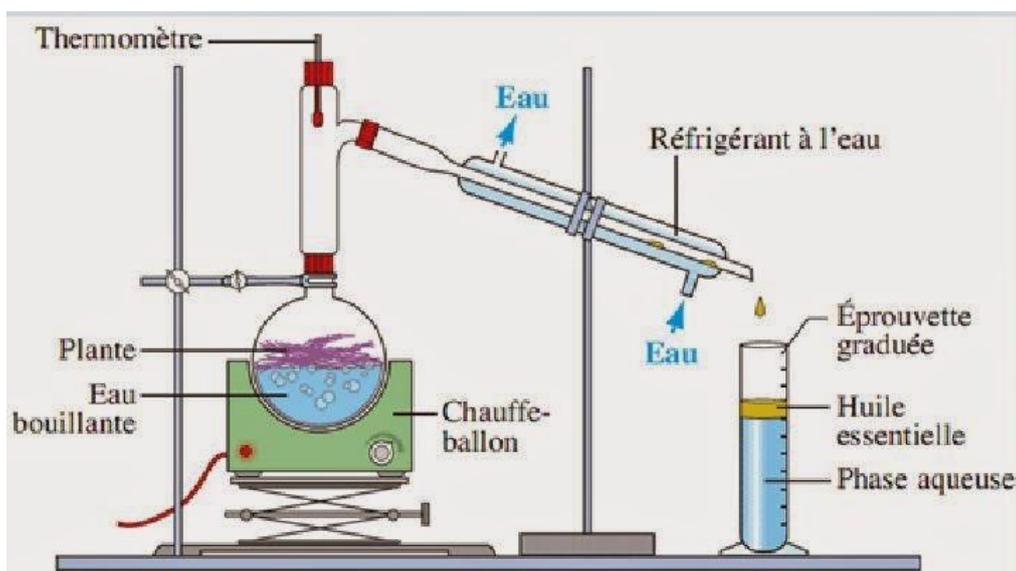


Figure 4 : Un montage d'hydrodistillation [27].

I.2.2 Répartition et localisation de l'huile essentielle :

Les huiles essentielles sont produites par des cellules végétales spécialisées et peuvent être stockées dans tous les organes végétaux [28] :

- les feuilles : eucalyptus, citronnelle, laurier noble...
- les fleurs : camomille, lavande...
- les zestes : citron, orange, bergamote...
- le bois : bois de rose, santal...
- l'écorce : cannelle...
- la racine : vétiver...
- les fruits : anis, badiane...
- les rhizomes : curcuma, gingembre...

- les graines : muscade

I.2.3 Classification des huiles essentielles :

La composition d'une huile essentielle (HE) est souvent très complexe. La plupart du temps, une HE comporte un ou deux composants majoritaires qui vont jouer un rôle central dans ses propriétés thérapeutiques :

a- Les composés terpéniques (hydrocarbures) : Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures, dont le nom se termine par « -ène ». Ils sont produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères et les agrumes. Les terpènes sont des dérivés de l'isoprène C_5H_8 et ont pour formule de base des multiples de celle-ci. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles.

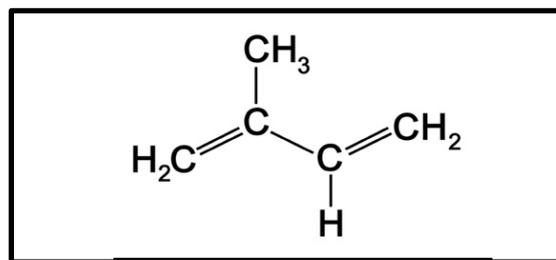


Figure 5 : Structure chimique de l'isoprène [29].

Les terpènes sont divisés en plusieurs classes en fonction des unités penta carbonées ramifiées (C5). On distingue donc monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), triterpènes (C30). Ce sont les molécules les plus fréquemment rencontrés dans les HE.

Les terpènes sont les molécules les plus répandues et connues dans les HE pour leurs nombreuses propriétés thérapeutiques. Les plus importants sont : le limonène, le δ -3-carène, le carotène, le β -pinène et l' α -pinène [30].

b- Les composés aromatiques : Les espèces aromatiques sont retrouvées en grande majorité chez les végétaux supérieurs et dans un nombre limité de familles (Les Lamiacées, Les Myrtacées, Les Rutacées, Les Cupressacées, Les Pinacées, Les Apiacées, Les Astéracées, Les Lauracées, Les Géraniacées, Les Myrtacées...) (31)[32].

D'un point de vue chimique, les composés produits par les plantes sont subdivisés en deux groupes de molécules : les métabolites primaires et les métabolites secondaires :

- **Les métabolites primaires :** se trouvent dans toutes les cellules végétales. Ils sont indispensables pour la vie de la plante : sucre, lipides, protéines, acides aminés.
- **Les métabolites secondaires :** n'ont qu'une répartition limitée dans la plante et ne font pas partie des matériaux de base de la cellule. Ces composés ne se trouvent

Partie Bibliographique

normalement que dans des tissus ou organes particuliers à des stades précis du développement. Il existe différentes classes de métabolites secondaires dont 3 dominent la phytochimie des plantes (Les alcaloïdes, Les terpènes, Les substances phénoliques) [33].

Selon la nature chimique des principes actifs majoritaires d'une huile essentielle, leurs effets biologiques (pharmaceutique/cosmétologique ou phytosanitaires) varient comme le résume le tableau suivant :

Tableau 02 : Propriétés thérapeutiques de quelques huiles essentielles selon la classe de leurs produits majoritaires [34].

Classe de constituant	Huile essentielle	Propriétés thérapeutiques
Les monoterpènes	<ul style="list-style-type: none"> • Citronnier (limonène (60 à 75%) / γ-terpinène (8 à 12%) / β-pinène (10 à 16.5%)). • Mandarine (zeste) (limonène (65 à 75%) / γ-terpinène (16 à 22%) / α et β-pinène (2 à 4%) / myrcène (1.5 à 2%)). • Oranger amer (zeste) (limonène (90 %) / α et β-pinène (1 à 2%) / myrcène (1 à 4%)). 	Puissants, décongestionnants respiratoires, Antiseptiques Cicatrisantes (restructuration du tissu conjonctif, emploi de courte durée sur la peau et les muqueuses si utilisé pur)
Les alcools	<ul style="list-style-type: none"> • Citronnelle de Ceylan (géraniol (20 à 25%) / citronnellol (8.5 à 14%)). • Géranium rosat (Citronnellol (18 à 30%) / géraniol (9 à 17%)). • Lavande aspic (nalol (30 à 40%) / α-terpinéol (1%)). 	Anti-inflammatoires Sédatives Antiallergiques
Les phénols	<ul style="list-style-type: none"> • Cannelle de Ceylan ((feuilles) eugénol (70 à 87%) / isoeugénol (0,15%)). • Origan d'Espagne (carvacrol (67 à 79%) / thymol (0,1 à 10%)). • Sarriette des montagnes (carvacrol (52 à 58%) / thymol (5 à 15%)). 	Puissants antibactériens, Antivirales, Antifongiques Antiparasitaires, Immunostimulantes
Aldéhydes	<ul style="list-style-type: none"> • Cannelle de Chine écorce (cinnamaldéhyde (60 à 90%)). • Cumin officinal (cuminaldéhyde (30 à 35%)). 	Anti-inflammatoires Sédatives
Cétones	<ul style="list-style-type: none"> • Lavande stoechade (fenchone (25 à 42%) / camphre (12 à 28%)). • Romarin officinal CT camphre (camphre (21.6%) / verbénone (1.3%)). 	Mucolytiques Expectorantes Cicatrisantes Antiparasitaires

Partie Bibliographique

Esters	<ul style="list-style-type: none">• Gaulthérie couchée (salicylate de méthyle (> 95%)).• Hélichryse italienne (acétate de néryle (30 à 75%)).• Petit grain de bigarade (Acétate de linalyle (36 à 57%)).	Puissants antispasmodiques, Anti-inflammatoires, Antalgiques, Fongicides, Calmantes, relaxantes, sédatives
Commarines	<ul style="list-style-type: none">• Orange douce (< 0.5% : auraptène, bergaptol).• Mandarine (bergaptène).	Anticoagulantes (efficace même à l'état de trace), Hypotensives Sédatives, hypnotiques
Acides	<ul style="list-style-type: none">• Cannelle de Chine (acide benzoïque / acide cinnamique).• Baumier du Pérou (acide benzoïque / acide cinnamique).• Gaulthérie couchée (acide salicylique).	Puissants anti-inflammatoires Antalgiques

I.2.4 Définition de chémotype :

La notion de chémotype (chimiotype ou encore race chimique) est une notion clé en aromathérapie, officialisée en Union européenne en 2006 avec l'adoption du règlement REACH.

Le concept de chémotype permet de distinguer deux ou plusieurs huiles essentielles majoritaires de composition chimique différente produites à partir de plantes de la même espèce, définie par sa dénomination scientifique et non à partir de sa dénomination commune [35].

Ce terme s'applique à tout type de composés chimiques appartenant au métabolite secondaire. Les huiles essentielles tiennent une place prépondérante dans ce phénomène. Le chimiotype est utilisé en biologie moléculaire surtout dans ses applications médicales (aromathérapie) et agricoles mais également en parfumerie.

Un des exemples les plus courants de chimiotypes est celui du thym (*Thymus vulgaris* L.). On compte pour cette espèce 8 chimiotypes différents : 7 dans les garrigues du sud de la France (à thymol, à carvacrol, à géraniol, à linalol, à alpha-terpénol, à trans-4-thuyanol et à cis-8-myrcénol) et un en Espagne (à cinéol) [36].

I.2.5 Activité antioxydant des huiles essentielles :

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substituant dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir [37].

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation [38]. En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc.

Partie Bibliographique

Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation [39].

I.2.6 Domain d'application des huiles essentielles :

Autrefois réservées à la parfumerie et à la médecine, les huiles essentielles sont aujourd'hui omniprésentes dans notre quotidien : dans des produits cosmétiques, dans des produits d'hygiène ou dans des parfums d'ambiance, dans des huiles aromatiques destinées aux massages bien-être, ou encore c

ommercialisées sous forme de complexes visant à purifier notre air pollué. Elles trouvent également un intérêt grandissant auprès de l'industrie et de l'agroalimentaire [40].

On estime à environ 3000 le nombre d'huiles essentielles connues et autour de 300 celles ayant un intérêt commercial, principalement pour l'industrie du parfum et des arômes. Elles présentent de multiples propriétés exploitables qui leur permettent de trouver des applications dans des domaines très variés. C'est par exemple le cas de l'huile essentielle de menthe poivrée qui est utilisée comme agent de saveur par l'industrie cosmétique dans les dentifrices, mais aussi par l'agroalimentaire dans les liqueurs, chewing-gum, glaces et chocolats. En aromathérapie ce sont ses propriétés antalgiques, anesthésiques, toniques et stimulantes du système nerveux central ainsi que ses propriétés digestives qui sont recherchées. Quant à l'huile essentielle de basilic, elle est utilisée par l'industrie du parfum, dans l'agroalimentaire comme arôme pour sauces et condiments, et en médecine comme antispasmodique et régulateur du système nerveux [41].

Chapitre 3 :
La méthode quantique DFT

I.3.1 Introduction :

Le nombre d'études théorique a fortement augmenté avec le développement des outils informatique dans les 20 dernières années [42][43], parce que dans de nombreux domaines de la chimie, la quantité de données et d'informations produites par la recherche ne peut être traitée et analysée, sauf par les méthodes assistées par ordinateur, ainsi ont été développées la chimie assistée par ordinateur, appelé Chimoinformatique ou (Computational Chemistry), ses applications peuvent être de différente nature, telles que l'élucidation et l'analyse de structure chimique, le traitement d'information chimiques ou encore la chimie théorique[44].

L'utilisation des méthodes théoriques pour l'obtention des modèles qui puissent prédire et comprendre les structures, les propriétés et les interactions moléculaires est connue sous le nom de (Modélisation Moléculaire). Celle-ci permet de fournir des informations qui ne sont pas disponibles par l'expérience et joue donc un rôle complémentaire à celui de la chimie expérimentale [45]. La prédiction de la réactivité et de la sélectivité d'un processus chimique est cruciale. Elle repose essentiellement sur deux modèles qualitatifs, le premier est la théorie des orbitales frontières tandis que le second est celui de la théorie de la fonctionnelle de la densité DFT conceptuelle [46].

I.3.2 La chimie quantique :

La chimie quantique est une branche de la chimie physique qui applique la mécanique quantique aux systèmes moléculaires pour étudier les processus calcul des propriétés structurales (géométries, fréquences de vibration, etc.), énergétiques (énergies de liaison, énergies d'excitation, etc.) et réactionnelles (barrières d'activation, liaisons chimiques, etc.) des molécules en appliquant les lois de la mécanique ondulatoire aux électrons [47].

I.3.2.1. Les méthodes quantiques :

Les méthodes quantiques sont basées sur le calcul des orbitales moléculaires (OM).leur complexité augmente rapidement avec le nombre d'électrons .les principales variantes sont :

- La méthode de champ auto cohérent (self consistent Field, SCF).
- La méthode basée sur la fonctionnelle de la densité (Densityfunctional Theory, DFT) [48].

I.3.2.2 La théorie de la fonctionnelle de la densité :

La DFT (Density Functional Theory) est une méthode de calcul quantique permettant l'étude de la structure électronique, de manière exacte. Elle est actuellement la technique des premiers principes la plus largement utilisée. Elle repose sur les deux théorèmes de Hohenberg et Kohn. Le premier théorème stipule qu'à une densité électronique donnée correspond une fonction d'onde unique. Le second théorème postule que l'énergie, fonctionnelle de la densité électronique, obéit au principe variationnel.

Partie Bibliographique

La densité est calculée à partir d'un déterminant de Slater, ce que nécessite une base d'orbitales atomiques. Des approximations sont nécessaires pour le calcul de l'énergie [49].

Ainsi, selon les deux théorèmes, on peut connaître totalement l'état d'un système électronique en déterminant sa densité électronique et on peut obtenir la densité de l'état fondamental en minimisant l'énergie du système.

Les méthodes DFT ont montré leur efficacité pour le calcul de complexes de grande taille, comportant quelques centaines d'électrons. Ces méthodes donnent dans des temps de calculs relativement raisonnables des résultats assez corrects de mesures de plusieurs grandeurs physico chimiques [50].

1.2.2.3 L'étude théorique de l'activité antioxydante par la DFT

L'activité antioxydante est généralement régie par trois principaux mécanismes :

1/ Céder un atome d'hydrogène (HAT) : lié à un atome de forte électronégativité (liaison fragile). Cette réactivité est régie par l'enthalpie de dissociation de la liaison hydrogène BDE de (l'acronyme anglais Bond Dissociation Enthalpy : BDE)

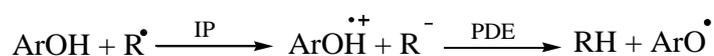


L'enthalpie de dissociation de la liaison O-H (BDE) est calculée par la formule suivante :

$$\text{BDE} = H(\text{ArO}^\bullet) + H(\text{H}^\bullet) - H(\text{ArOH})$$

Plus la BDE est faible plus la molécule a tendance à donner son H pour former un radical stable.

2/ Laisser partir un électron suivi par le départ d'un proton (SET-PT). Cette réactivité liée au potentiel d'ionisation (ionisation potentiel : IP) et l'enthalpie de dissociation du proton (Proton Dissociation Enthalpy : PDE)

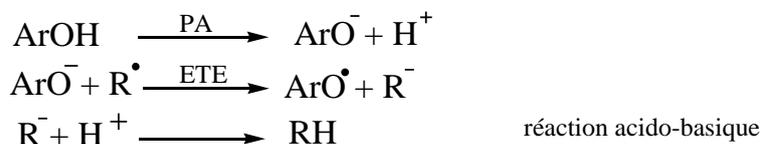


IP et PDE sont calculés par les formules suivantes :

$$\text{IP} = H(\text{ArOH}^{\bullet+}) + H(e^-) - H(\text{ArOH})$$

$$\text{PDE} = H(\text{ArO}^\bullet) + H(\text{H}^+) - H(\text{ArOH}^{\bullet+})$$

3/ Céder un proton suivi d'un électron (SPLET). Cette réactivité est liée à l'affinité protonique (Protonic Affinity : PA) et (Electron Transfer Enthalpy : ETE).



Partie Bibliographique

PA et ETE sont calculés par les formules suivantes :

$$PA = H(ArO^-) - H(H^+) - H(ArOH)$$

$$ETE = H(ArO^\bullet) + H(e^-) - H(ArO^-)$$

Avec H(X) est l'enthalpie du système X dans les conditions standards (T=298.15K, P=1atm).

Les caractéristiques thermochimiques de la première étape de chaque mécanisme déterminent la probabilité du chemin réactionnel.

De plus d'un point de vue thermodynamique l'énergie minimale BDE_{min} pour le mécanisme HAT, la somme (IP+PDE) pour SET-PT et la somme PA+ETE pour SPLET peuvent prédire le site anti radicalaire le plus favorable.

PARTIE
EXPERIMENTAL

Chapitre 1:

Matériels et Méthode

II.1 Objectif:

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de pavions 5 de l'Université Saad Dahleb Blida.

Notre travail expérimental est divisé en deux parties. La première partie a comme objet l'étude de pouvoir antioxydant des composés volatils, à savoir le α -pinène, le Camphor, le Camphène, p-cymène, limonène, Thymol, 1-naphtol, Menthol, Eugenylacétat, Eugenol, Ocimène, Guaiacol, Géraniol, Anisole, BHT, BHA, Vit C par deux méthodes (méthode de piégeage du radical libre DPPH et le test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP)).

Dans une deuxième partie, nous avons réalisé une étude théorique de cette activité par la méthode DFT.

II.1.1 Appareillage et produits chimiques :

II.1.1.1 Appareils :

- Le suivie de l'absorbance dans le domaine UV-visible des produits volatiles étudiés a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre UV- Visible.
- Une balance analytique de marque "EXPLORER" a été utilisée pour Les différentes pesées.
- L'étude des conformations du point de vu énergétique a été réalisée sur le logiciel gaussian 98 et gaussian 09.
- La représentation des molécules est réalisée grâce au logiciel Gauss View 5.0

II.1.1.2 Réactifs chimiques :

L'ensemble des réactifs chimique utilisés au cours de notre expérimentation est présenté dans le tableau 3 ci-dessous :

Tableau 3: familles et nomenclatures des réactifs chimique utilisés dans notre travail.

Famille	Réactifs Chimiques	Nomenclateurs
Hydrocarbures	α -pinène	Triméthyl-2, 6,6-bicyclo [3.1.1] hept-2-ène
	Camphène	2,2-diméthyl-3-méthylène bicyclo, heptane
	Limonène	1-méthyl-4-prop-1-én-2-yl-cyclohexéne
	Ocimène	3,7-diméthyl-1, 3,7-octatriène
	p-cymène	1-méthyl-4-(1-méthyléthyl) benzène
Hydrocarbures oxygénés phénolique	Thymol	5-méthyl-2-(propan-2-yl)-phénol
	Guaiacol	2-Methoxyphenol
	1-naphtol	Naphtalén-1-ol
Hydrocarbures	Camphor	1, 7,7-Trimethylbicyclo [2.2.1] heptan-2-one

Oxygénés non Phénoliques	Menthol	(1R,2R,5R)-5-méthyl-2-(propan-2-yl)cyclohexanol
	Eugényl acetate	(2-methoxy-4-prop-2-enylphenyl) acetate
Phénoliques	Eugenol	2-méthoxy-4-(2-propènyl)-phénol
Oxygène non aromatique	Géraniol	(2E)-3,7-diméthyl-octa-2,6-diène-1-ol
Hydrocarbures aromatique	Anisol	Méthoxybenzène
Antioxydants de synthèse	BHT	2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol
	BHA	2-tert-Butyl-4-hydroxyanisole and 3-tert-butyl-4-hydroxyanisole (mixture)
	VIT C	(5R)-5-((1S)-1,2-dihydroxyéthyl))-3,4-dihydroxy-5-hydrofuran-2-one
Solvant	Ethanol	Ethanol
Radical libre	DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
Réactive	FeCl ₃	Chlorure de fer(III)
	(K ₃ Fe(CN) ₆)	Ferricyanure de potassium
	TCA	Acide trichloracétique

II.1.2 Méthodes :

II.1.2.1 Activité antioxydant des composés volatils :

Pour étudier l'activité anti radicalaire des différents composés volatils, nous avons choisi la méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-Diphényl 2 -picrylHydrazil), et Test du pouvoir réducteur du Fer) FRAP. Cette activité doit être comparée à celle des antioxydants de références tels que le BHA, BHT, Vitamine C et la vitamine E.

II.1.2.1.1 la méthode du piégeage du radical libre DPPH :

Les solutions de nos échantillons sont préparées à des concentrations qui nous permettront d'évaluer la valeur d'EC₅₀, ces intervalles de concentrations ont été déterminés grâce à des tests préliminaires effectués sur chaque échantillon. Le mode opératoire suivie est simplifié dans le schéma suivant:

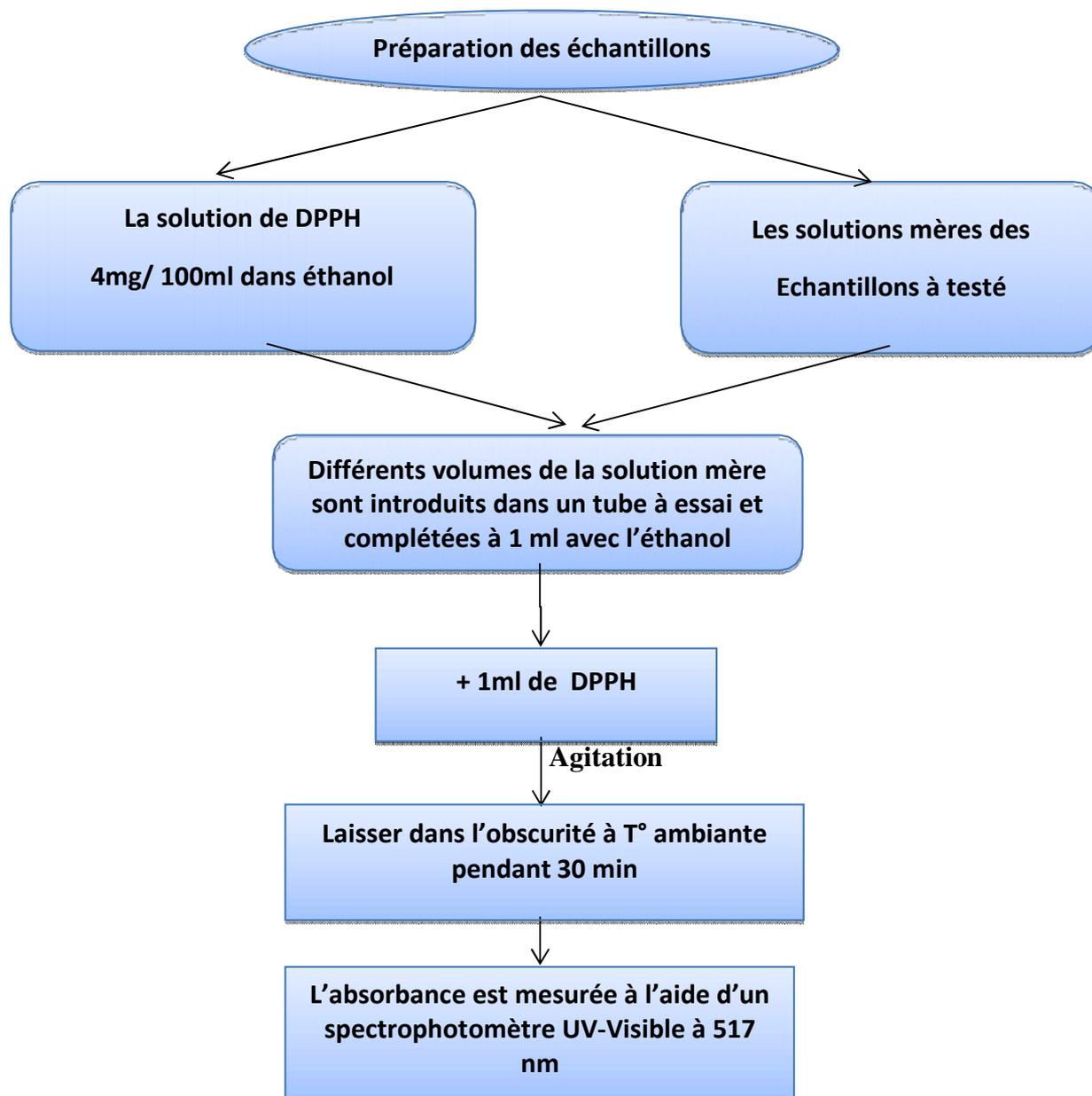


Figure 6: Organigramme du mode opératoire suivi lors du test du piégeage du radical libre DPPH.

L'estimation de l'activité anti-radicalaire (AA) est donnée par la relation suivante :

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

Soit :

ABS_{control} : absorbance à la longueur d'onde de 517 nm de la solution de DPPH dans l'éthanol.

ABS_{échantillon} : absorbance à 517 nm de chaque échantillon.

Les concentrations ainsi que les volumes de chaque échantillon sont donnés dans le tableau 4.

Matériels et méthodes

Les solutions d'antioxydants synthétiques de référence ont été préparées avec des concentrations et des volumes donnés dans le tableau 5.

Tableau 4: Concentration de la solution mère, différents volumes et concentrations des solutions testées pour chaque échantillon.

Composé	[solution mère] mg/ml	Volume prélevé (µl)	[solution fille] (mg/ml)
Carvacrol ou Thymol	10	0	0
		5	0,025
		10	0,05
		20	0,1
		40	0,2
		60	0,3
		80	0,4
		100	0,5
		120	0,6
		150	0,75
		200	1
		300	1,5
		400	2
500	2,5		
1-naphtol	10	0	0
		10	0,05
		15	0,075
		20	0,1
		40	0,2
		60	0,3
		80	0,4
		100	0,5
		120	0,6
		150	0,75
		200	1
400	2		
Comphène	500	0	0
		20	5
		60	15
		80	20
		200	50
		300	75
		400	100
500	125		

Matériels et méthodes

		800	200
Ocimène	500	0	0
		20	5
		30	7,5
		40	10
		50	12,5
		75	18,75
		150	37,5
α-pinène	500	0	0
		20	5
		50	12,5
		100	25
		150	37,5
		200	50
		300	75
500	125		
Menthol	100	0	0
		20	1
		40	2
		80	4
		100	5
		120	6
		150	7,5
		200	10
		400	20
		500	25
		800	40
1000	50		
Eugényl acétate	100	0	0
		5	0,25
		10	0,5
		20	1
		40	2
		60	3
		100	5
		200	10
		300	15
500	25		
Guaiacol	0.081	0	0
		2	0,01
		4	0,02

Matériels et méthodes

		5	0,025
		8	0,04
		10	0,05
		40	0,2
		60	0,3
		500	2,5
		700	3,5
Eugénol	0.013	0	0
		5	0,0025
		10	0,005
		20	0,01
		30	0,015
		40	0,02
		50	0,025
		60	0,03
		70	0,035
		80	0,04
		90	0,045
		100	0,05
		200	0,1
		250	0,125
Anisol	>>200	0	0
		100	25
		200	50
		300	75
		400	100
		500	125
		600	150
		700	175
		800	200
Géranol	>>15	0	0
		2	0,3
		5	0,75
		10	1,5
		40	6
		80	12
		100	15
		150	22,5
		200	30
		250	37,5
p-cymène	0.2	0	0
		50	0,005

Matériels et méthodes

		100	0,01
		200	0,02
		300	0,03
		400	0,04
		500	0,05
		600	0,06
		700	0,07
		800	0,08
Camphor	500	0	0
		20	5
		60	15
		300	75
		500	125
		600	150
		800	200

Tableau 5 : Concentration des solutions antioxydants des références, différents volumes et concentrations des solutions testées de chaque échantillon.

Composé	[solution mère] mg/ml	Volume prélevé (µl)	[solution fille] (mg/ml)
BHA	0,2 (mg/ml)	0	0
		10	0,001
		20	0,002
		40	0,004
		60	0,006
		80	0,008
		100	0,01
		150	0,015
		200	0,02
		250	0,025
BHT	0.2 (mg/ml)	0	0
		40	0,004
		80	0,008
		160	0,016
		200	0,02
		300	0,03
		400	0,04
		500	0,05
		700	0,07
		800	0,08
900	0,09		
Vitamine C	0,2 (mg/ml)	0	0

Matériels et méthodes

		10	0,001
		20	0,002
		30	0,003
		40	0,004
		50	0,005
		60	0,006
		70	0,007
		80	0,008
		100	0,01
		60	0,006
		70	0,007
		80	0,008
		100	0,01

II.1.2.1.2 Le test du pouvoir réducteur du Fer(FRAP) :

Le mode opératoire de cette méthode est résumé dans le schéma suivant :

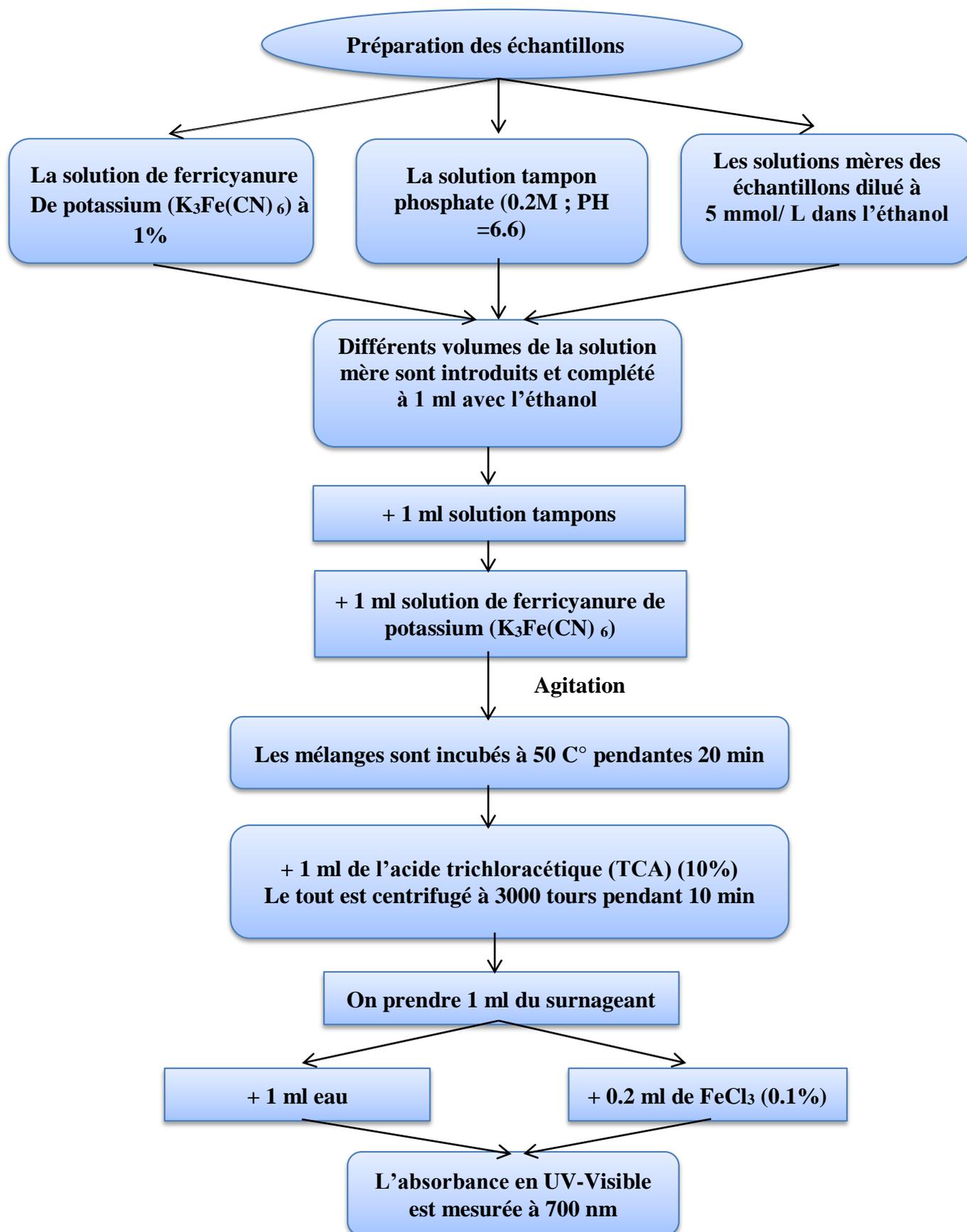


Figure 7 : Organigramme du mode opératoire suivi lors du test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP)

Tableau 06 : Les différents volumes et concentration des solutions filles pour chaque composé avec même Concentration de la solution mère 5 mmol/l.

Composé	Volume prélevé (ml)	[solution fille] (mmol/l)
α- pinène	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
Comphène	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
limonène	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
ocimene	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
p-cyméne	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
Thymol	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
Guiacol	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
1-naphtol	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
camphor	0.4	0.9

Matériels et méthodes

	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
Menthol	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
Eugenyl acétat	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
Eugénole	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
Geraniol	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
Anisol	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
BHT	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
BHA	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
VIT C	0.4	0.9
	0.3	0.68
	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09
VIT E	0.4	0.9
	0.3	0.68

Matériels et méthodes

	0.2	0.45
	0.1	0.22
	0.04	0.09

II.1.2.2 Méthodologie des calculs théoriques :

Nous nous sommes intéressés dans cette partie de notre étude à l'évaluation de l'activité antioxydante des composés volatils en utilisant la méthode DFT (Density functional theory) avec la base 6-311++G(d,p). Les calculs ont été effectués en phase gazeuse et sur les conformations les plus stables des composés naturels étudiés.

Nous avons déterminé la position de la liaison C-H la plus faible en calculant la BDE de toutes les liaisons C-H par la méthode semi-empirique PM6 (Parametric Method 6).

Par la suite tout les descripteurs théoriques de l'activité antioxydante ont été déterminés au niveau B3LYP/6-311++G(d,p) afin de relier le pouvoir antioxydant aux propriétés énergétiques de la molécule.

Nous avons réalisés nos calculs au moyen du Gaussian 09. Les molécules neutres, ont été optimisées par les deux méthodes PM6 et DFT (B3LYP/6-311++G(d,p)) et les structures ont été visualisés avec GaussView5.0.

Le formalisme UHF a été utilisé pour les radicaux et les radicaux cations, de plus, chaque état stationnaire a été caractérisé comme un vrai minimum sur la surface d'énergie potentielle par un calcul de fréquence.

Dans ces calculs, l'enthalpie du proton H^+ , du radical $H\cdot$ et celle de l'électron étant prises des références [51] [52] [53] et valent respectivement: 0.0024 Ha, -0.499 Ha et 0.0012 Ha.

Chapitre 2:

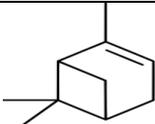
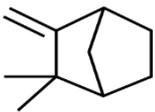
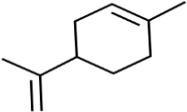
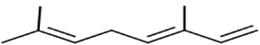
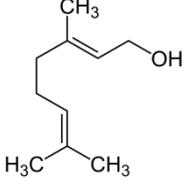
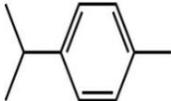
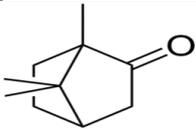
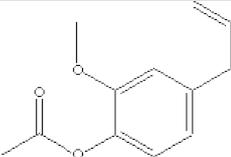
Résultats et Discussions

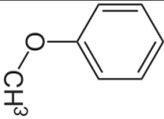
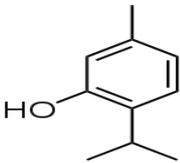
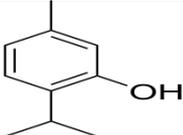
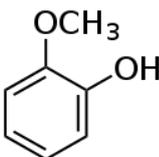
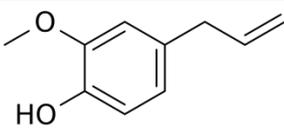
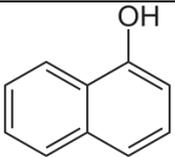
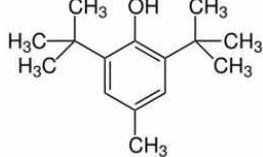
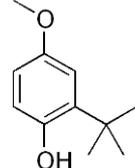
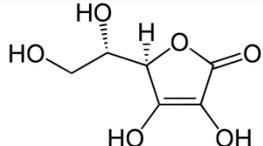
II.2.1 Introduction :

Le but de notre travail est l'étude théorique et expérimentale de l'activité antioxydante de quelques composés volatils. Notre choix est porté sur les composés donnés dans le tableau 7. Ces molécules ont été choisies sur la base de leurs structures :

- Quatre isomères des hydrocarbures non phénoliques
- Un hydrocarbure non phénolique et non oxygéné.
- Quatre composés aromatiques non phénoliques.
- Cinq composés phénoliques.
- Trois antioxydants de référence

Tableau 7: Classes chimiques, structures, formules brutes et masses molaires des composés Volatiles étudiées.

Famille	Composé	Structure	Formule brute	Masse molaire g.mol ⁻¹	
Hydrocarbure non aromatique	α -pinène		C₁₀H₁₆	136,234	
	camphène		C₁₀H₁₆	136.234	
	Limonène		C₁₀H₁₆	136.234	
	Ocimène		C₁₀H₁₆	136,234	
	Géraniol		C₁₀H₁₈O	154,2493	
Hydrocarbure aromatique	Non phénoliques	p-cymène		C₁₀H₁₄	134.222
		Camphor		C₁₀H₁₁O	152.2334
	non	Eugényl acétate		C₁₂ H₁₄ O₃	206.24

Phénolique	Anisole		C_7H_8O	108,1378
	Thymol		$C_{10}H_{14}O$	150.221
	Menthol		$C_{10}H_{20}O$	156,2652
	Guaiacol		$C_7H_8O_2$	124.139
	Eugénol		$C_{10}H_{12}O_2$	164.204
	1-naphtol		$C_{10}H_8O$	144,1699
Antioxydants de références	BHT		$C_{15}H_{24}O$	220,3505
	BHA		$C_{11}H_{16}O_2$	180,2435
	VIT C		$C_6H_8O_6$	176,1241

II.2.2 Etude Expérimentale de l'activité Antioxydant:

L'étude expérimentale de l'activité antioxydant est réalisée par deux méthodes :

-piégeage du radical libre DPPH qui suit un mécanisme de transfère de proton ou d'électron.

Résultats et Discussions

-pouvoir de réduction du fer ferrique FRAP qui se fait selon le mécanisme du transfert d'électron.

II.2.2.1 Le test de piégeage du radical DPPH :

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante. En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité de radical libre stable. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. La présence de ces radicaux DPPH^{*} donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH^{*} par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution [54]. Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminée [55].



Figure 8 : Réduction du DPPH par un antioxydant [56].

Cette méthode a pour avantages d'être relativement simple et peu couteuse [57]. Cependant, elle a pour inconvénients que des antioxydants peuvent rester inertes face au DPPH relativement stable, interférences possibles à 515 nm, forte dépendance au pH et au solvant, radical inexistant in vitro [58].

L'absorbance et les résultats de l'activité de piégeage du radical libre DPPH des composés étudiés en fonction de la concentration [mg/ml] sont regroupés dans le tableau 8 :

Tableau 8 : activité antioxydante, EC50 et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration de l'espèce active des composés purs.

Composé	Activité %	EC50(mg/ml)	Activité (%) = f([concentration massique])
Carvacrol	0	0.382	
	5,69614		
	14,16046		
	25,06592		
	32,6565		
	43,51018		
	51,44587		
	56,32214		
	61,7655		
	65,68262		
	69,48303		
	78,16597		
	82,5099		
	83,88692		

Résultats et Discussions

Thymol	0	0.308				
	7,20842					
	6,71584					
	31,25863					
	40,52148					
	49,71963					
	53,59386					
	58,87					
	65,55556					
	67,42624					
	68,18927					
	75,9278					
	77,73249					
	78,63268					
1-naphtol	0	0.913				
	26,06402					
	29,23793					
	31,39621					
	33,55276					
	41,10178					
	49,01203					
	50,68983					
	51,46888					
	55,66123					
	59,07667					
	80,10815					
	Comphène			0	+	
				9,69917		
14,13969						
16,01363						
22,82794						
25,04259						
27,44697						
25,55366						
30,6644						
Ocimène		0	7.827			
	31,91913					
	48,79182					
	58,5583					
	78,23039					
	80,7033					
	80,95752					

Résultats et Discussions

α-pinène	0	64.01	
	4,7259		
	3,92927		
	11,59136		
	22,59332		
	44,27542		
	54,55249		
	67,57338		
menthol	0	++	
	1,48942		
	3,42813		
	4,14015		
	4,2696		
	4,98162		
	6,08202		
	6,72741		
	7,56889		
	9,83755		
	15,01274		
	20,12507		
eugényl acétate	0	1.451	
	16,34522		
	22,31284		
	46,79893		
	54,00918		
	59,97401		
	67,37001		
	79,24201		
	80,11104		
85,14593			
guaiacol	0	0.081	
	9,76563		
	18,48958		
	34,96094		
	39,84375		
	42,57813		
	77,86458		
	82,03125		
	87,5651		
	88,28125		

Résultats et Discussions

eugénol	0	0.013	
	2,57065		
	9,5353		
	22,49855		
	60,94347		
	62,45236		
	66,9747		
	69,27274		
	70,40751		
	73,31936		
	75,39731		
	83,40575		
	87,38353		
89,01846			
géraniol	0	*	
	12,2102		
	13,06902		
	13,60124		
	14,03076		
	15,6382		
	19,80382		
	11,75481		
	13,7718		
	12,22234		

+ : pour une concentration de 200mg/ml l'activité ne dépasse pas 30.7%

++ : pour une concentration de 50mg/ml l'activité ne dépasse pas 20.3%

* : l'activité ne dépasse pas 19.08% ([] = 15mg/ml)

Composé	Activité %	EC50(mg/ml)	Activité (%) = f([concentration massique])
anisol	0	**	
	0		
	0		
	0		
	0		
	0		
	0		
	0		
	6,26039		
7,3864			

Résultats et Discussions

p-cymène	0	0.064	
	4,71382		
	7,88199		
	18,21484		
	21,30735		
	21,25755		
	34,39227		
	46,90226		
	54,54518		
	60,22655		
camphor	0	***	
	0,55147		
	2,94118		
	16,36029		
	10,47794		
	2,02206		
	3,30882		

** : pour une concentration de 200mg/ml l'activité ne dépasse pas 7.4%

*** : L'activité ne dépasse pas 16.36% ([] = 75mg/ml)

EC₅₀ des espèces chimiques de références

De même que précédemment, les résultats de l'activité antioxydante des composés de références sont résumés dans le tableau 9 :

Résultats et Discussions

Tableau 9 : activité antioxydante, EC₅₀ et courbe de variation de l'activité en fonction de la concentration des produits de références.

Composé	Activité %	EC50(mg/ml)	Activité (%) = f([concentration massique])
BHA	0	0.01	
	6,37714		
	19,14167		
	23,50739		
	36,7932		
	43,37306		
	48,84471		
	58,25585		
	67,82316		
	75,59039		
BHT	0	0.088	
	4,69043		
	6,94184		
	7,50469		
	9,00563		
	15,94747		
	20,07505		
	27,39212		
	35,08443		
	39,96248		
51,59475			
Vit C	0	0.0017	
	31,4501		
	55,8187		
	78,2889		
	88,2281		
	86,32852		
	89,80573		
	90,98938		
	89,26034		
	90,73304		

Résultats et Discussions

I.2.2.2 Test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP) :

La méthode FRAP est basée sur la réduction de l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}). Cette méthode évalue le pouvoir réducteur des composés [59]. La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoque la réduction de Fe^{3+} / complexe ferricyanide à la forme ferreux. Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant et en surveillant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm [60]. En effet, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi quantitative » des concentrations des antioxydants, qui participent à la réaction redox [61].

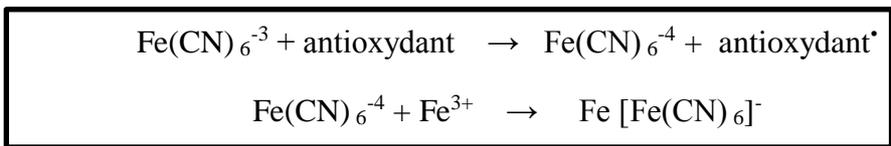


Figure 9 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe ferricyanure Ferrique Fe (III) et un antioxydant (AH) [62].

Tableau 10 : l'absorbance et les courbes de variation de l'absorbance en fonction de la concentration de l'espèce active des composés purs.

Composé	ABS	Absorbance = f([concentration massique])
Thymol	2,385	<p>thymol</p> $y = 0,2637x + 2,2864$ $R^2 = 0,9753$ <p>—◆— thymol: méthode frrap</p> <p>— Linéaire (thymol: méthode frrap)</p>
	2,366	
	2,344	
	2,32	
	2,289	
1-naphtol	2,44	<p>1-naphtol</p> $y = 0,9986x + 2,0567$ $R^2 = 0,9828$ <p>—◆— 1-naphtol</p> <p>— Linéaire (1-naphtol)</p>

Résultats et Discussions

Comphène	2,0313333	<p>comphène</p> $y = 0,9301x + 1,6816$ $R^2 = 0,8141$ <p>—◆— comphène — Linéaire (comphène)</p>
	1,9333333	
	1,9396667	
	1,8346667	
	1,6363333	
ocimène	2,248	<p>ocimène</p> $y = 0,6356x + 1,9948$ $R^2 = 0,9863$ <p>—◆— ocimène — Linéaire (ocimène)</p>
	2,178	
	2,14	
	2,0486667	
	2,0203333	
Alpha-pinène	1,37	<p>alpha-pinène</p> $y = 0,4715x + 1,1864$ $R^2 = 0,9725$ <p>—◆— alpha-pinène — Linéaire (alpha-pinène)</p>
	1,32	
	1,30	
	1,24	
	1,19	
Menthol	2,095	<p>menthol</p> $y = 0,233x + 1,9985$ $R^2 = 0,9603$ <p>—◆— menthol — Linéaire (menthol)</p>

Résultats et Discussions

Eugenyl acétat	2,5016667	<p>eugényl acétate</p> $y = 0,8386x + 2,1559$ $R^2 = 0,9376$ <p>—◆— eugényl acétate</p> <p>— Linéaire (eugényl acétate)</p>
	2,39942	
	2,33112	
	2,2655	
	2,181312	
Guiacol	2,1276667	<p>guiacol</p> $y = 0,2865x + 2,0163$ $R^2 = 0,9827$ <p>—◆— guaiacol</p> <p>— Linéaire (guiacol)</p>
	2,11	
	2,07	
	2,04	
	2,0316667	
Eugenole	2,4346667	<p>eugénol</p> $y = 0,7666x + 2,1186$ $R^2 = 0,9709$ <p>—◆— eugénol</p> <p>— Linéaire (eugénol)</p>
	2,3506667	
	2,24	
	2,215	
	2,15	
Anisol	2,329	<p>anisol</p> $y = 0,4818x + 2,135$ $R^2 = 0,9605$ <p>—◆— anisol</p> <p>— Linéaire (anisol)</p>
	2,287	
	2,21	
	2,2	
	2,15	

Résultats et Discussions

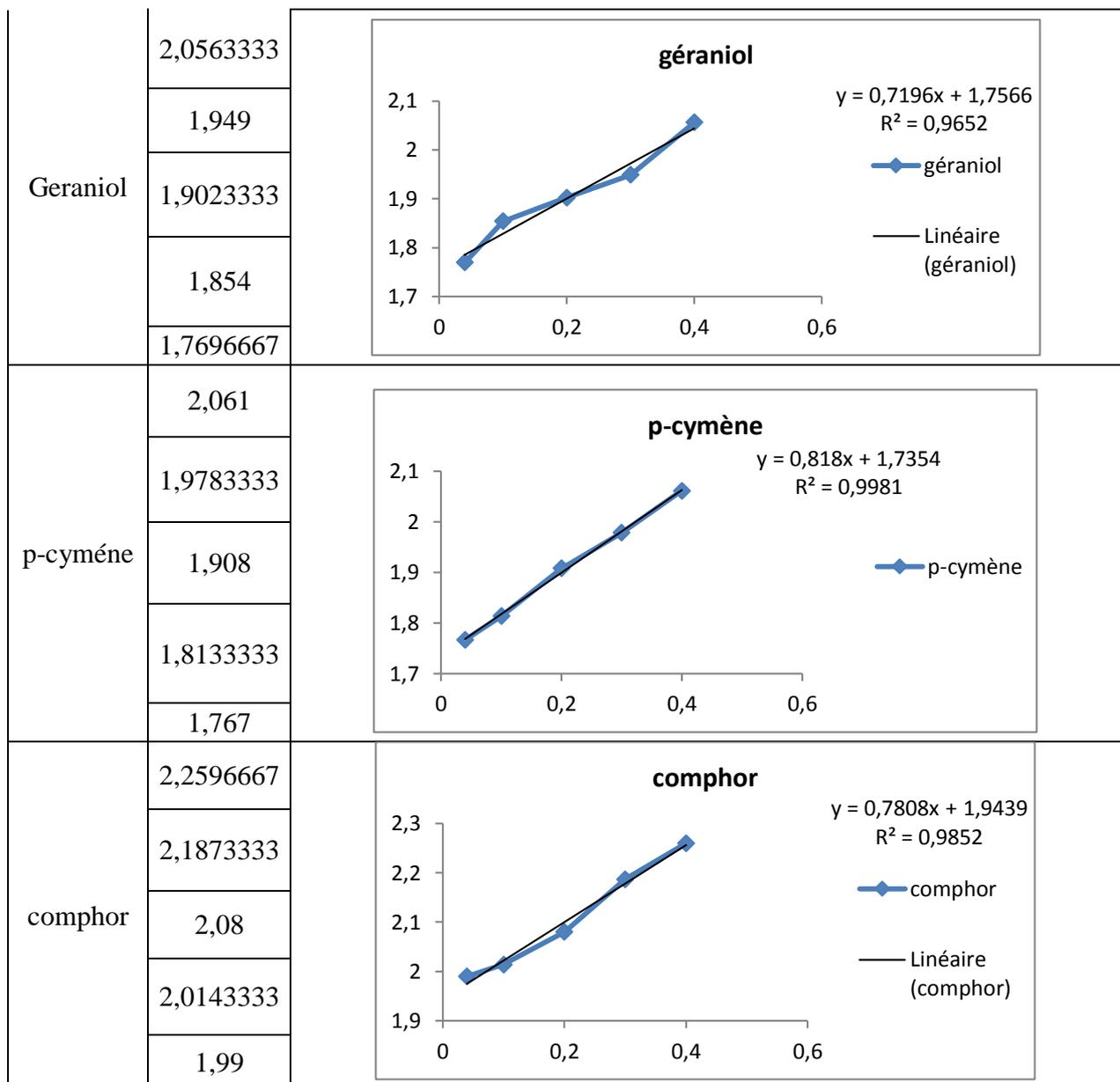
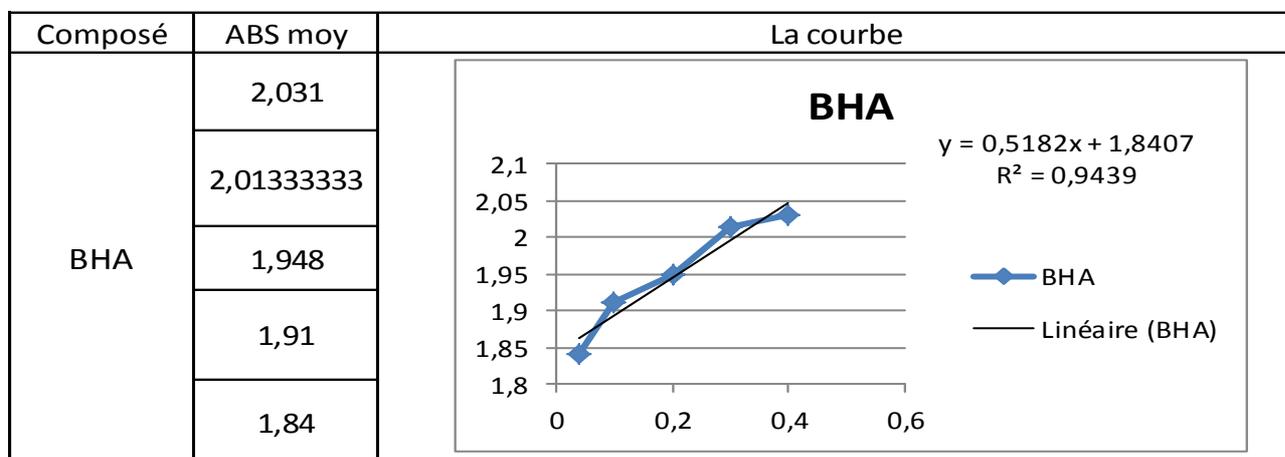
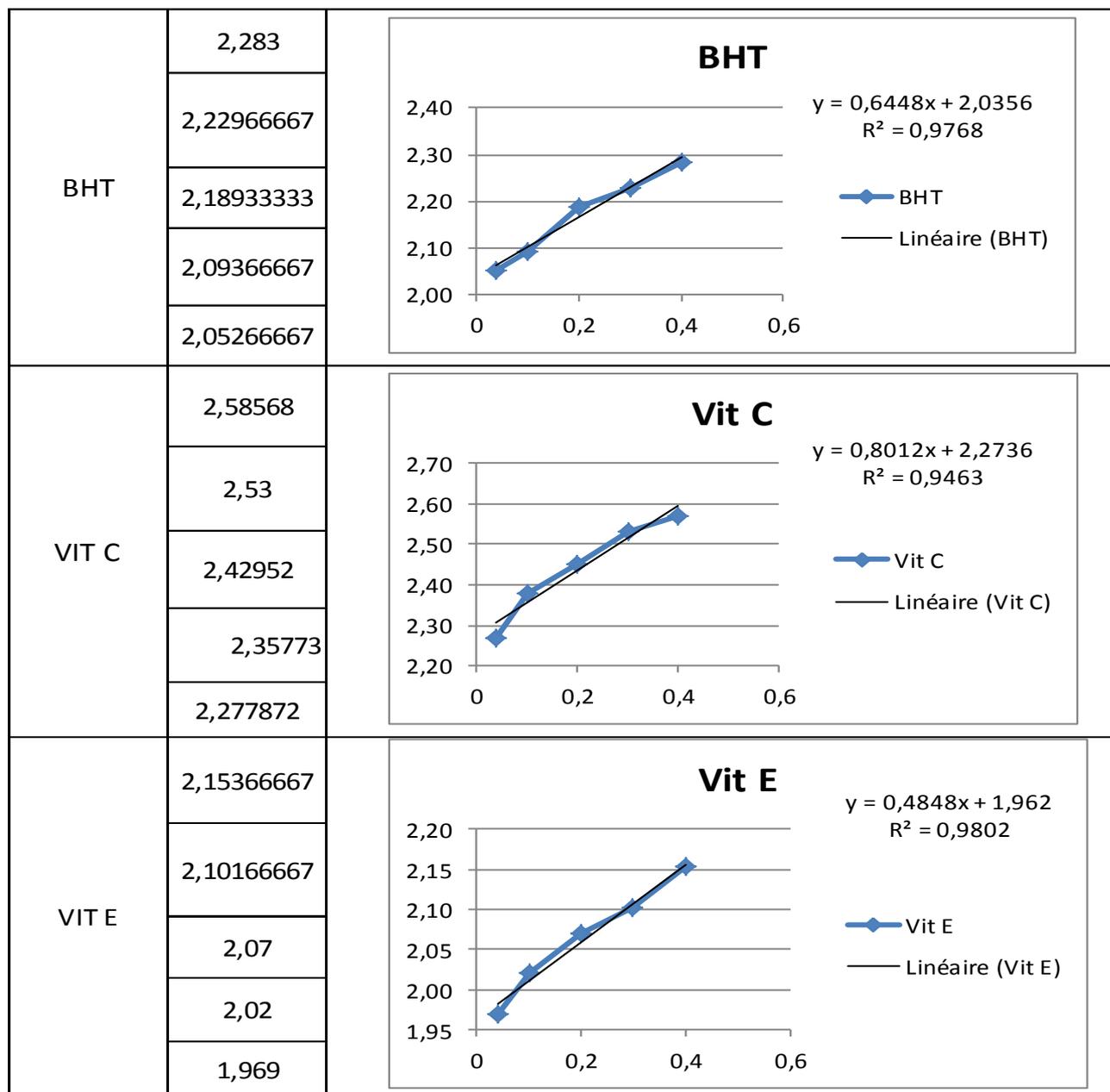


Tableau 11: l'absorbance et les courbes de variation de l'absorbance en fonction de la concentration des produits de références.



Résultats et Discussions

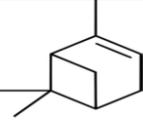
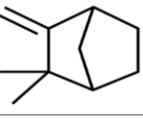
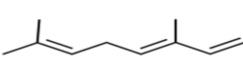
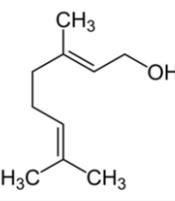
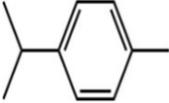
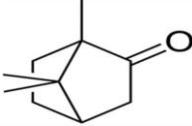
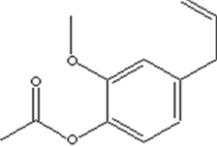
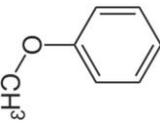
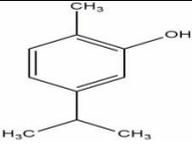
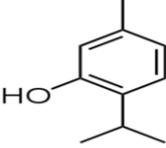
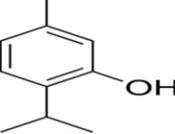


Discussion des résultats expérimentaux :

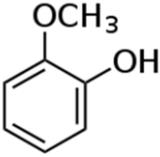
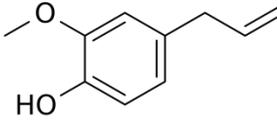
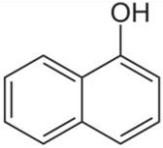
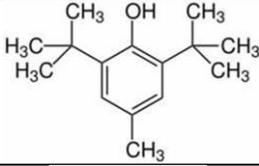
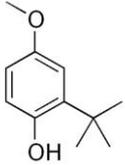
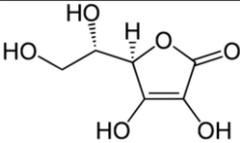
Afin de discuter les résultats de l'activité antioxydante des composés testés ; nous avons regroupé les valeurs d'EC50 obtenus par la méthode du piégeage du radical libre DPPH dans le tableau 12. Aussi nous avons rapporté les valeurs de l'activité du pouvoir réducteur obtenus avec la plus grande concentration testée pour chaque composé.

Résultats et Discussions

Tableau 12: Valeurs des EC50 obtenues lors du test du piégeage du radical libre DPPH et les absorbances obtenues a 0.9 mmol/L lors du test FRAP.

Famille	Composé	Structure	EC50 (mg/mL)	Abs à 0.9 mmol/L	
Hydrocarbure non aromatique	α -pinène		64.01	1.37	
	camphène		/	2.03	
	Ocimène		7.825	2.24	
	Géraniol		/	2.06	
Hydrocarbure non aromatique	Non phénoliques	p-cymène		0.64	2.06
		Camphor		/	2.24
		Eugényl acétate		1.45	2.50
	Anisole		/	2.33	
	Phénolique	carvacrole		0.382	/
		Thymol		0.308	2.385
		Menthol		/	2.095

Résultats et Discussions

		Guaiacol		0.081	2.13
		Eugénol		0.013	2.43
		1-naphtol		0.913	2.44
Antioxydants de références	BHT		0.088	2.28	
	BHA		0.01	2.03	
	VIT C		0.0017	2.58	

Sachant que plus la valeur d' EC_{50} est petite, plus l'activité est meilleure. Alors que, pour la méthode FRAP, plus l'absorbance est importante, plus le pouvoir réducteur est meilleur. On remarque:

- Pour la méthode DPPH, l'activité est très sensible à la structure des composés testés. Comme c'est décrit dans la littérature, les composés phénoliques présentent des activités semblable à celles des antioxydants de références. Tel est le cas du gaïacol avec un EC_{50} semblable a celui du BHT. Aussi on peut mentionner le cas de l'eugénol qui présente une activité meilleure que celle du BHT et semblable à celle du BHA.
- Dans la famille des hydrocarbures aromatiques non phénoliques ; on remarque que la valeur d' EC_{50} du p-cymene est deux fois supérieure a celles du thymol est cela est attribuer à l'absence de la fonction phénolique. La même remarque est observé dans le cas de l'eugenyl acétate où la valeur d' EC_{50} est cent fois supérieure a celle de l'eugénol. Cela est aussi attribuer à l'absence de la fonction phénolique.
- Dans la famille des hydrocarbures non aromatisons l'activité est très faible comparée à celle des antioxydants de référence.

Résultats et Discussions

- Pour la méthode FRAP. L'activité est insensible à la variation de la structure des composés testés. L'exemple est celui de l'ocimène qui présente un pouvoir réducteur proche de celui du BHT et meilleur que celui du BHA.
- On peut citer aussi l'exemple de l'eugényl acétate qui présente un pouvoir réducteur plus important que tous les composés volatiles testés.

II.2.3 Discussion des résultats théoriques:

1/ Le mécanisme HAT

Les résultats des calculs sont résumés dans le tableau 12.

Tableau 13 : Valeurs de BDE (Kcal/mol) des composés étudiés

Composés	BDE (Kcal/mol)
α -pinène	80.52
camphène	95.19
Limonène	80.31
Ocimène	76.85
p-cymène	82.22
Thymol	79.04
Guaiacol	75.05
1-naphtol	75.58
Camphor	95.45
Menthol	95.90
Eugénylacétate	73.25
Eugénol	79.87
Géraniol	97.98
Anisole	94.35
BHT	78.54
BHA	77.17

Les résultats donnés dans le tableau 13 montrent que:

- **Pour les hydrocarbures:** BDEs de (C-H) généralement varient de 76.85 à 95.19 Kcal/mol.

En comparaison avec les résultats obtenus précédemment [63], nos résultats sont en bon accord avec les précédents et donnent l'ordre suivant:

BDE Ocimène < BDE Limonène < BDE α -pinène < BDE p-cymène < BDE Camphène

Ce classement peut être expliqué par la stabilité relative des radicaux formés après le départ de H. Cette stabilité provient du fait que l'abstraction d'un H de la liaison C-H la plus fragile se réalise sur l'atome en position α de la double liaison d'où la formation d'un radical stabilisé par effet de résonance.

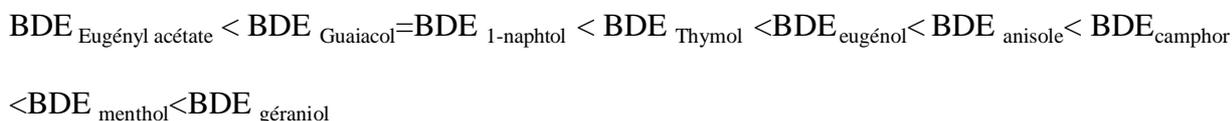
De plus l'analyse de la densité de spin (figure 10) du radical ocimène montre une meilleure

Résultats et Discussions

délocalisation de la densité sur l'ensemble de la molécule par rapport aux autres radicaux.

- **Pour les composés oxygénés:** les valeurs de BDEs de O-H varient de 73.25 à 97.87Kcal/mol.

L'ordre des BDEs est :



Les résultats montrent que les composés: géranol, menthol, camphore et anisole sont caractérisés par des BDEs élevée (> 90 Kcal/mol). Ces composés sont incapables de jouer le rôle d'un antioxydant effectif, ce qui est en bon accord avec le test DPPH.

L'eugényl acétate, le guaiacol et le 1-naphtol sont caractérisés par des BDEs comparables avec le BHA et le BHT.

L'eugényl acétate possède la BDE la plus faible du faite de la stabilité confiée au radical par l'effet de résonance.

- **Pour les antioxydants de synthèse** l'ordre de BDE est :



2/ Le Mécanisme SET-PT

Les résultats des calculs d'IP, PDE de chaque composé sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau 13: les valeurs de l'IP et PDE (Kcal/mol) des composés étudiés

Composés	IP	PDE	IP+PDE
α -pinène	181,11	215,41	396,53
Camphène	191,90	219,30	411,20
Limonèn	186,18	210,13	396,32
Ocimen	179,54	213,31	392,86
p-cymène	188,55	209,67	398,23
Thymol	180,15	214,90	395,05
Guaiacol	175,35	215,70	391,05
1-naphtol	175,38	216,21	391,59
Camphor	192,93	218,53	411,46
Menthol	199,48	212,43	411,91
Eugenylacétat	174,71	214,55	389,26
Eugenol	172,04	223,83	395,87
Géraniol	177,08	236,91	413,99

Résultats et Discussions

Anisole	186.22	224.14	410.35
BHT	165.91	228.64	394.55
BHA	165.13	228.05	393.18

Ces composés sont caractérisés par des IP_s plus élevés que ceux de BHA et BHT. La variation d'IP suit généralement le même ordre de variation que la BDE.

Nous remarquons que l'énergie requise pour ce mécanisme est 4 fois plus grande que l'énergie requise pour le mécanisme HAT. Cela montre que le mécanisme HAT est le plus favorable en phase gazeuse.

3/ Le mécanisme SPLET

Les résultats de calcul de PA et ETE sont rassemblés dans le tableau suivant

Tableau 14: les valeurs de PA et ETE de composés étudiés:

Composés	PA	ETE	PA+ETE
α -pinène	335,36	61,16	396,53
Camphène	411,60	-0,40	411,20
Limonène	382,90	13,42	396,32
Ocimène	364,24	28,62	392,86
p-cymène	382,68	15,55	398,23
Thymol	344,26	50,78	395,05
Guaiacol	348,51	42,54	391,05
1-naphtol	338,74	52,84	391,59
Camphor	409,51	1,95	411,46
Menthol	367,62	44,29	411,91
Eugénylacétat	363,19	26,07	389,26
Eugénol	350,74	0,83	395,87
Géraniol	372,64	41,35	413,99
Anisole	399,59	10,76	410,36
BHT	350,74	43,81	394,55
BHA	348,76	44,42	393,18

À travers les résultats de ce tableau, nous remarquons que la première étape de ce mécanisme nécessite une énergie très élevée par rapport au mécanisme SET-PT et HAT, donc ce mécanisme est peu probable en phase gazeuse.

Conclusion General

Conclusion

Le but de notre travail est de trouver la relation entre l'étude théorique et expérimentale de l'activité antioxydant des composés volatils purs, tel que le α -pinène, le Camphor, le Camphène, p-cymène, limonène, Thymol, 1-naphtol, Menthol, Eugenylacétat, Eugenol, Ocimène, Guaiacol, Géraniol, Anisole, BHT, BHA, Vit C, Vit E.

Dans la première partie du travail, nous avons mesuré expérimentalement l'activité antioxydante de ces composés par deux méthodes : piégeage du radical libre DPPH et Le test du pouvoir réducteur du Fer (FRAP). Ces méthodes ont révélé que le premier test est sensible à la structure des composés testés. Alors que la méthode FRAP présente des résultats aléatoires. On obtenus que plus la valeur d'EC 50 et petite plus l'activité est meilleur, alors que pour la méthode FRAP plus l'absorbance est important plus le pouvoir réducteur est meilleur.

Le teste par la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré l'effet de la fonction phénolique sur l'augmentation de l'activité antioxydante. Aussi l'emplacement des substituant sur le noyau aromatique peut altérer cette activité.

Dans la deuxième partie, nous avons étudié l'activité antioxydant par DFT. Les résultats ont montré que le mécanisme HAT est plus favorable que le mécanisme SET-PT et SPLET.

En perspective: on propose d'étudier l'activité antioxydant par la méthode de blanchiment de la β -carotène.

Références

- (1) Ould Saadi, E., "Contribution a l'évaluation de l'activité antioxydante inter saisonnière des extraits bruts d'une plante endémique et de l'effet hémolytique de l'extrait optimal", MASTER ACADEMIQUE FACULTE DES SCIENCES, université boumerdes, (le 04/07/2016).
- (2) Ould Saadi, E., "Contribution a l'évaluation de l'activité antioxydante inter saisonnière des extraits bruts d'une plante endémique et de l'effet hémolytique de l'extrait optimal", MASTER ACADEMIQUE FACULTE DES SCIENCES, université boumerdes, (le 04/07/2016).
- (3) Mohammedi, Z., " Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie", Thèse de Doctorat en Biologie, Université Abou BekerBelkaid de Tlemcen, (2013).
- (4) Gutteridge, J., M., " Biologicalorigin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection," *Chemico-biological interactions*, 91(2-3), 133-140., (1994).
- (5) Zoé, C., "Intérêt des antioxydants alimentaires dans la lutte radicalaire chez le sportif ", pp. 1-17, (2018).
- (6) Thomas, D., "LES ANTIOXYDANTS DE NOS JOURS : DEFINITION ET APPLICATIONS", THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE, UNIVERSITÉ DE LIMOGES, (le 29 mars 2016)
- (7) Gutteridge and B, C., "Invitedreview free radicals in diseaseprocesses : A compilation of cause and consequence", (1993)
- (8) Mohammedi, Z., " Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie", Thèse de Doctorat en Biologie, Université Abou BekerBelkaid de Tlemcen, (2013).
- (9) Favier, A., "Stress Oxydant et pathologies humaines, *Annals of Pharmacotherapy*" SAGE Journal, Vol 64, pp. 390-396, (2006).
- (10) C, J., "comme exigence partielle de la maitrise en
- (11) <https://www.analyticaltoxicology.com/stress-oxydatif>, en ligne consulté, (09 Avril 2017).
- (12) Pincemail, J., Meurisse, M., Limet, R., et Defraigne, J., O., "L'évaluation du stress oxydatif d'un individu", une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, 4 (5), (1999).
- (13) Chu, W., L., Lim, Y., W., Radhakrishnan, A., K., and Lim, P., E., "Protective effect of aqueousextractfromSpirulinaplatisagainstcelldeathinduced by free radicals", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10 (53), 2-8, (2010).
- (14) BEHADADA, A., "Etude des effets de l'extrait d'Artemisiaabsintium L. chez les rats intoxiqué au plomb. Etude neurocomportementale, biochimique et in silico de composés", Thèse de doctorat en sciences, Biochimie appliquée, Université d'Oran, (24 mai 2017).

- (15) Harris, A.,L., "Hypoxia a keyregulatory factor in tumorgrowth" , Nature Reviews Cancer. Vol 2(1), pp. 38 47, (2002).
- (16) GUILLOUTY, A., "Plantes médicinales et antioxydants", Thèse POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE, UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIERFACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES, (Le 9 décembre 2016).
- (17) HALENG, J., PINCEMAIL, J., DEFRAIGNE, JO., CHARLIER, C., CHAPELLE, JP., "Le stress oxydant", Rev Med Liege. Oct;62(10):628-38, (2007).
- (18) HALENG, J., PINCEMAIL, J., DEFRAIGNE, JO., CHARLIER, C., CHAPELLE, JP., "Le stress oxydant", Rev Med Liege. Oct;62(10):628-38, (2007).
- (19) Chew, H., lee, C., "A propos d'un cas de syndrome compartimentalglutéal après traitement chirurgical d'un anévrisme de l'aorte abdominale", Annles de chirurgie vasculaire, 23 (4), 17 – 21, (2009).
- (20) Park P. J., Jung W. K., Nam K. S., Shahidi, F., and KimS, K., "Purification and characterization of antioxidative peptides fromproteinhydrolysate of lecithin-free eggolk" , Journal of the American oilChemists Society, 78 (6), 651-656, (2001).
- (21) <https://www.coeurnutrition.com/blog/les-antioxydants-vous-seront-efficaces-si?format=amp>.
- (22) Ito, N., Fukushima, S., Hagiwara, A., Shibata, M., and Ogiso, T., " Carcinogenicity of butylatedhydroxyanisole in F344 rats" , Journal of the National Cancer Institute, 70, 343-352, (1983).
- (23) Schrader, T., J., and Cooke, G.,M.," Examination of selectedfood additives and organochlorinefood contaminants for androgenicactivity in vitro "Toxicological Sciences, 53(2), 278-88, (2000).
- (24) Mohammedi, Z., " Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie", Thèse de Doctorat en Biologie, Université Abou BekerBelkaid de Tlemcen, (2013).
- (25) Nouel, O., " Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouilet de persil", Thèse de doctorat en chimie appliquées, université d'Oran 1, (28/04/2015).
- (26) LAURENT, J., "CONSEILS ET UTILISATIONS DES HUILES ESSENTIELLES LES PLUS COURANTES EN OFFICINE", THESE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE, UNIVERSITE PAUL SABATIER TOULOUSE III, (Le 15 décembre 2017).
- (27) <https://images.app.goo.gl/GRKTGThDt2j1rxei6>
- (28) LAURENT, J., "CONSEILS ET UTILISATIONS DES HUILES ESSENTIELLES LES PLUS COURANTES EN OFFICINE", THESE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE, UNIVERSITE PAUL SABATIER TOULOUSE III, (Le 15 décembre 2017).
- (29) Familles de plantes à huiles essentielles [Internet]. Disponible sur: <https://www.compagniedes-sens.fr/familles-plantes-huiles-essentielles/>

- (30) Search — The Plant List [Internet]. Disponible sur: <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q>
- (31) Définition de l'Aromathérapie et des Huiles Essentielles [Internet]. 2009. Disponible sur: <https://www.pranarom.com/blog/a-propos/aromatherapie/definition-de-l-aromatherapie>
- (32) GUERROUF, A., "Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique cas d'un cabinet dentaire", Mémoire MASTER ACADEMIQUE FACULTE DES SCIENCES APPLIQUEES DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES, UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA,.
- (33) Keefover-Ring, K., Thompson, D., Linhart, B., "Beyond six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction", *Flavour and fragrance journal*, 24 : 117-122, (2009).
- (34) Multon, J.L, 1982. Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés :
- (35) Madhavi D. L., Deshpande S. S. & Salunkhe D. K., 1996. Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. P: 65.
- (36) Caillet S. & Lacroix M., 2007. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (RESALA). P :1- 8.
- (37) Burt S. Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in food – a review. *International journal of food microbiology*, 94 : 223-253, 2004.
- (38) Garneau F.X. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique. Corporation Laseve, Université du Québec à Chicoutimi (2005). 185p.
- (39) LAURENT, J., "CONSEILS ET UTILISATIONS DES HUILES ESSENTIELLES LES PLUS COURANTES EN OFFICINE", THESE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE, UNIVERSITE PAUL SABATIER TOULOUSE III, (Le 15 décembre 2017).
- (40) Madhavi D. L., Deshpande S. S. & Salunkhe D. K., 1996. Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. P: 65.
- (41) Garneau F.X. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique. Corporation Laseve, Université du Québec à Chicoutimi (2005). 185p
- (42) Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., and Defraingne, J., O., "Physiological action of antioxidant defences", *Nutrition Clinique et Métabolisme*, vol. 16, no. 4. Elsevier Masson, pp.233-239, 01-Dec-2020.
- (43) " Histoire de la modélisation: un état des lieux", pp. 699-820.
- (44) Wieber, F., and Hocqu, A., "Méthodes de modélisation en chimie computationnelle : pluralisme et pragmatisme, software et benchmarking", 2020.
- (45) Zohra, D., F., "Un modèle chimio –informatique pour une synthèse virtuelle", 2010.

- (46) Antonio, D., "Modélisation de réactions chimiques par des méthodes de chimie quantique : Adsorption du méthanol sur une surface de γ -alumine ; Echange de molécules d'eau dans des complexes hexaquo de rhodium(III) et iridium(III)", Fac. Des Sci., vol. doctorat d, no. 3450, p. 196 p., 2003.
- (47) A, M., "Etude théorique de la structure et de la réactivité des dérivés halogénés de l'ester benzylé du glutaraldéhyde", 2014.
- (48) Pollet, R., "Méthodes de la chimie quantique Epigraphe", pp. 1-44.
- (49) Toulhoat, H., "Modélisation Moléculaire", 2007.
- (50) F. Pate, Structure d'agrégats mixtes impliquant des amides chiraux : Etude par RMN multinoyaux ^1H / ^6Li / ^{13}C / ^{15}N et calculs DFT, (2007).
- (51) Rimarčík, J.; Lukeš, V.; Klein, E.; Ilčin, M., 2010. Study of the Solvent Effect on the Enthalpies of Homolytic and Heterolytic N–H Bond Cleavage in p-phenylenediamine and Tetracyano-p-phenylenediamine. *J. Mol. Struct. THEOCHEM.* 952, 25-30. <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2010.04.002>
- (52) Bartmess, J. E., 1994. Thermodynamics of the Electron and the Proton. *J. Phys. Chem.* 98, 6420-6424. <https://doi.org/10.1021/j100076a029>
- (53) Bizarro, M. M.; Costa Cabral, B. J.; dos Santos, R. M. B.; 1999. Martinho Simões, J. A. Substituent Effects on the O–H Bond Dissociation Enthalpies in Phenolic Compounds: Agreements and Controversies. *Pure Appl. Chem.*, 71, 1249–1256. <http://dx.doi.org/10.1351/pac199971071249>
- (54) Molyneux, P., "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity", *Songklanakarim J. Sci. Technol.*, 26, 211 – 219, (2004).
- (55) Popovici, C., Saykova, I., & Tytkowski, "Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH", *Revue de Génie Industriel*, (4), 1– 8, (2010).
- (56) Congo, M., "Etude des propriétés antiradicalaire et antiproliférative d'extraits de feuilles et de rameaux de *Salvadora Persica* L. (Salvadoraceae)", Thèse de pharmacie, Université d'Ouagadougou Burkina Faso : 42p, (2012).
- (57) Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K., "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolic in foods and dietary supplements", *J. Agric. Food. Chem.*, 53: 4290-302, (2005).
- (58) Huang, D., Ou, B., Prior, R.L., "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays", *J. Agric. Food Chem.*, 53: 1841-1856, (2005).

- (59) Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R., L., "Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe", *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 49, 4619 – 4626, (2001).
- (60) Chung, Y., C., Chang, C., T., Chao, W., W., Lin, C., F., & Chou, S., T., "Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1", *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 50, 2454 – 2458, (2002).
- (61) Amarowicz, R., Pegg, R., B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J., A., "Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies", *Food Chemistry*, 84, 551 – 562, (2004).
- (62) Amarowicz, R., Pegg, R., B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J., A., "Free radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies", *Food Chemistry*, 84, 551 – 562, (2004).
- (63) T. C. Ngo, D. Q. Dao, N. M. Thong and P. C. Nam, Insight of Antioxidant Properties of Non-phenolic Terpenoids Containing in Essential Oils Extracted from the Buds of *Cleistocalyx operculatus*: A DFT study *Adv.*, 2016, DOI: 10.1039/C6RA02683D.
- (64) Houssein Boulebd, Comparative study of the radical scavenging behavior of ascorbic acid, BHT, BHA and Trolox: Experimental and theoretical study, *Journal of Molecular Structure*, Volume 1201.