

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Matériaux et Produits Organique et Industrielle

Intitulé du mémoire

**Valorisation biologique des huiles essentielles de
Ruta montana et d'*Artemisia herba alba* modifiés
par thionation**

Présenté par :

DRIOUECHE Asma

MAHI Yasmina

Encadré par :

Mr. H.BOUTOUMI

Année universitaire 2015/2016

Résumé

Plusieurs travaux de recherche ont été concentrés sur les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques. Les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques.

Dans ce contexte, nous avons essayé de modifier les huiles essentielles de la rue de montagne et de l'armoise blanche par thionation dans le but d'augmenter leur hydrophobie et leur volatilité et d'évaluer l'activité antibactérienne et insecticide de ces huiles essentielles avant et après modification chimique.

L'extraction a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau, le rendement a été voisin de 0,63 % pour la rue de montagne et 1,22% pour l'armoise blanche.

La réaction de thionation a été réalisée d'abord sur des molécules model ensuite sur la matrice des huiles essentielles en utilisant le P₂S₅ avec le bicarbonate de sodium dans le CS₂.

Les analyses FTIR ont montré la disparition de la bande d'absorption de la fonction carbonyle situé à 1716 cm⁻¹ pour les cétones aliphatique dans l'huile essentielle de la rue et à 1742 cm⁻¹ des cétones cyclique dans l'huile essentielle de l'armoise et l'apparition de nouveau pic situé à 1024 cm⁻¹ dans l'HE de la rue responsable de la vibration de la fonction thiocétone aliphatique et 1017 cm⁻¹ de la fonction thiocétone cyclique dans l'HE de l'armoise.

Les analyses GCMS montre l'apparition de nouvelles molécules thionée identifié par les spectres de masse.

Les huiles essentielles thionée ont donnée des activités microbiologique et insecticide plus importante que celle des huiles essentielles natives.

Mots clé : huile essentielle, armoise blanche, rue de montagne, thionation, P₂S₅, activité antibactérienne, activité insecticide.

Abstract :

Several research studies have focused on the essential oils extracted from aromatic plants. The different results published indicate that they are endowed with several biological properties.

In this context, we tried to change the essential oils of *Ruta montana* and *Artemisia herba alba* by thionation in order to increase their hydrophobicity and their volatility and evaluate the antibacterial and insecticidal activity of these essential oils before and after chemical modification.

The extraction was performed by steam distillation of water, the yield was close to 0.63% for the *Ruta* and 1.22% for *Artemisia*.

The thionation reaction was carried out first on model molecules then on the essential oils matrix using P_2S_5 with the Sodium bicarbonate in the CS_2 .

FTIR analysis showed the disappearance of the absorption band of the carbonyl function located at 1716 cm^{-1} for the aliphatic ketone in the essential oil of *Ruta* and 1742 cm^{-1} for cyclic ketones in the essential oil of *Artemisia* and the appearance of new peak at 1024 cm^{-1} in the HE responsible of vibration of aliphatic thioketone and 1017 cm^{-1} for of the cyclical thioketone function. The GCMS analysis shows the appearance of new thiomolecules identified by mass spectra.

The modified essential oils have given greater microbiological and insecticide activity than the native essential oils.

Key words : essential oil, *Ruta montana*, *Artemisia herba alba*, thionation, P_2S_5 , antibacterial activity, insecticidal activity

ملخص

ركزت العديد من الدراسات البحثية على الزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات العطرية. وتشير نتائج مختلفة نشرت أنعم يمتلكون العديد من الخصائص البيولوجية.

في هذا السياق، و من أجل زيادة مفعول الزيوت الأساسية للسذاب الجبلي و للشيح حاولنا تعديل الزيوت الأساسية بإجراء تفاعل thionatin من أجل زيادة خصائصها الطيارة وتقييم النشاط المضاد للجراثيم والحشرات لهذه الزيوت الأساسية قبل وبعد التفاعل الكيميائي.

تم إجراء الاستخراج عن طريق التقطير بالبخار من الماء، وكان المرود العائد على مقربة من 0.63% للسذاب الجبلي و 1.22% للشيح.

تم إجراء تفاعل thionation أولاً على مركبات نموذجية ثم على الزيوت الأساسية باستخدام المتفاعل P2S5 مع بيكربونات الصوديوم في CS₂ وأظهر تحليل FTIR اختفاء وظيفة الكربونيل للكيتونات الأليفاتية وتقع في 1716 سم⁻¹ في الزيت العطري من السذاب الجبلي ووظيفة الكربونيل للكيتونات الحلقية المتمركزة في 1742 سم⁻¹ للزيت الأساسي للشيح وظهور ذروة جديدة في الاهتزاز 1024 سم⁻¹ الخاص بوظيفة الثيوكربونيل أليفاتية وإهتزاز 1-1017 الخاص بوظيفة الثيوكربونيل الحلقية، ويؤكد تحليل GCMS ظهور جزيئات ثيوكيتونية جديدة.

تم إجراء تقييم للنشاط ضد البكتيريا والحشرات للزيوت الأساسية، والمعالجة، وأظهرت النتائج أن للزيوت المعالجة أكثر فاعلية من الزيوت الأساسية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، السذاب الجبلي، الشيح، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للحشرات
thionation, P₂S₅,

Remerciement

En premier lieu, je remercie Dieu le tout puissant pour m'avoir accordé le courage, la volonté, la force et la patience de bien mener ce modeste travail.

On tient à exprimer nos sincères gratitudees à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nous adressons notre profonde gratitude et nos plus vifs remerciements à notre encadreur Dr.BOUTOUMI Houcine maître de conférences à l'université de BLIDA 1, pour avoir accepté de diriger ce travail et pour ses orientations dont on a bénéficié. Il nous a réservé des moments précieux de discussion et nous a facilité toutes les conditions pour mener à bien ce travail, malgré ses multiples obligations ; qu'il soit assuré de toute notre gratitude.

Notre reconnaissance va également envers tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous ont prodigué au cours des années passées à l'université, pour leurs efforts, conseils, et leurs patience.

On remercie vivement les membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail.

A notre Président de jury de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse

On remercie vivement les membres de laboratoire de Bactériologie de l'hôpital de Boufarik qui nous a accueillis afin de réaliser la partie de l'activité antibactérienne, et les responsables de laboratoire de chimie organique à l'université de BLIDA 1

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes très chers parents qui ont toujours été la pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. J'espère qu'ils trouveront dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.

A tous ceux qui me sont chers :

Mes frères Fayçal et Mohamed

Mes sœurs Houria, Leila et Mounia

A ma grande mère et mes tantes

Yasmina et Zineb

A toute mes chères copines et toute ma famille

Asma

Dédicaces

Je voudrai adresser tout d'abord un immense merci à mes parents pour tout ce qu'il ont fait , et pour le soutien qu'ils m'ont apporté durant toutes mes études qui ont toujours été présent lorsque j'en ai eu besoin, en particulier ma sœur Nacera à qui je dois beaucoup ainsi que mes deux frères Mohamed , Yacine sans oublier ma nièce Meriem .

Je voudrai adresser un grand merci à ma chère binôme Asma.

Je tiens à mercier : Zahia , Samira , Lamía , Khadîdja et Lyes .

Ainsi que mes amies : Souad, Fatima, Ibtissem , Zineb, Amina .

aussi mes camarades de MPOI.

Yasmina

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Condition opératoire de l'IR.....	22
Tableau 2 Condition opératoire du GCMS - HE de l'armoise blanche	22
Tableau 3 Condition opératoire du GCMS - 2-undecanone.....	23
Tableau 4 Condition opératoire du GCMS - HE de la rue de montagne.....	23
Tableau 5 Réactifs utilisé	23
Tableau 6 Solvants utilisé	24
Tableau 7 Les microorganismes testés	24
Tableau 8 Thionation des molécules modele.....	28
Tableau 9 Thionation des HEs	28
Tableau 10 Propriété de l'HE de la rue de montagne	34
Tableau 12 composition de 2-undecanone modifié	42
Tableau 13 Composition chimique de l'HE de l'armoise blanche	46
Tableau 14 Composition chimique de l'HE de la rue de montagne modifié	49
Tableau 16 Les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) par la méthode de disques des HEs à différentes concentrations	52

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Principales opération industrielles d'extraction [13].....	4
Figure 2 Structure générale des thiocétones	12
Figure 3 Thionation avec le sulfure d'hydrogène.....	14
Figure 4 Structure chimique du P ₄ S ₁₀	15
Figure 5 Structure chimique de l'HMDO.....	15
Figure 6 Réactif zwitterionique du P ₄ S ₁₀ dans la pyridine.....	16
Figure 7 Réactif de Lawesson; 2,4-disulfure de 2,4-bis (4-méthoxyphényl)-1,3-dithia-2,4-diphosphétane	17
Figure 8 Mécanisme de réaction avec LR	17
Figure 9 Réactif de Belleau.....	18
Figure 10 Structure chimique de réactif de Davy	19
Figure 11 Mécanisme de réaction avec le réactif de Davy	19
Figure 12 Armoise blanche	20
Figure 13 La rue de montagne.....	21
Figure 14 Bactéries et levure vue sous microscope	24
Figure 15 Cycle de vie de la Sitophilus oryzae	25
Figure 16 Montage de l'extraction par entrainement à la vapeur	26
Figure 17 Principe de la méthode de diffusion par disque.....	30
Figure 18 Boîte pour l'application insecticide	32
Figure 19 Bande d'absorption IR de la Rue de montagne.....	34
Figure 20 Bande d'absorption IR de 'HE de l'armoise blanche	35
Figure 21 Réaction de thionation du camphre	35
Figure 22 Spectre IRTF du camphre natif	36
Figure 23 Spectre IR du thiocamphor par la variante A	36
Figure 24 Réaction de thionation de l'α-thujone	37
Figure 25 Spectre IRTF de l'α- thujone	37
Figure 26 Bande IR de l'α- thiotujone.....	38
Figure 27 Réaction de thionation de 2-undécane.....	38
Figure 28 Spectre IRTF de 2-undécane natif.....	39
Figure 29 Bande IR du thio-2-undécane.....	39
Figure 30 Chromatogramme de Thio-2-undécane	40
Figure 31 Spectre de masse de thio-3-undécane.....	41
Figure 32 Spectre de masse de thio-2-undécane.....	41

Figure 33 Spectre de masse de 2-undec-2-enthinol	41
Figure 34 Tautomérie.....	42
Figure 35 Spectre IR de l'HE de l'armoise blanche modifié	43
Figure 36 Chromatogramme de l'HE de l'armoise modifiée	44
Figure 37 Spectre de masse du thiofilifolone	45
Figure 38 Spectre de masse de thio- α -thujone.....	45
Figure 39 Spectre de masse de thio- β -thujone.....	45
Figure 40 Spectre de masse de thiocamphor	45
Figure 41 Spectre de masse de thiononanone	50
Figure 42 Spectre de masse de thiodécanone	50
Figure 43 Spectre de masse de thio-2-undécanone.....	50
Figure 44 Spectre de masse de thio-3-undécanone.....	50
Figure 45 Spectre de masse de thiododécanone	50
Figure 46 Spectre de masse de thiotridecanone.....	50
Figure 47 Résultats de l'activité de l'armoise modifiée.....	51
Figure 48 Résultats de l'activité de la rue modifiée	51

LISTE DES GRAPHIQUES

Graphique 1 Représentation des différents rendements en huile essentielle de la rue de montagne	33
Graphique 2 Représentation des différents rendements en huile essentielle de l'armoise blanche...	33
Graphique 3 Activité antibactérienne de l'HE de la rue de montagne.....	52
Graphique 4 Activité antibactérienne de l'HE de l'armoise blanche	53
Graphique 5 Variation du taux de mortalité des insectes traité par l'HE de la rue native et modifié on fonction du temps.....	54
Graphique 6 Variation du taux de mortalité des insectes traité par l'HE de l'armoise native et modifié on fonction du temps.....	55

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Association française de normalisation

CS₂ : disulfure de carbone

DMSO : dimethylsulfoxyde

E-coli : Escherichia coli

HE : huile essentielle

HMDO : hexaméthylidisilxane

IR : infrarouge

IRTF : spectroscopie Infra-Rouge à Transformé de Fourier

G- : gram négative

G+ : gram positive

GCMS : Analyse par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

LR : réactif de Lawesson

MH : Muler Hinton

P₂S₅ : pentasulfure de phosphore

S.oryzae : sitophylusoryzae

T_R : Temps de rétention

Table de matière

INTRODUCTION

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 LES HUILES ESSENTIELLES.....	3
1.1 Définitions.....	3
1.2 Choix de la méthode d'extraction	4
1.3 Composition chimique des huiles essentielles	5
1.4 Fonctions biologiques des huiles essentielles	6
CHAPITRE 2 THIONATION DES HUILES ESSENTIELLES	12
2.1 Modification chimique des huiles essentielle :	12
2.2 Généralité sur la thionation :.....	12
2.3 Méthode de synthèse :.....	14
2.3.1 Réaction avec du sulfure d'hydrogène :	14
2.3.2 Réaction avec du pentasulfure de phosphore :.....	15
2.3.3 Réaction avec le réactif de Lawesson	16
2.3.4 Réactif de Belleau :.....	18
2.3.5 Réactifs de Davy :.....	19

PARTIE MATERIELS ET METHODES

1 Matériels.....	20
1.1 Matériel végétale :.....	20
1.2 Matériels de caractérisation :	21
1.3 Réactifs et Solvants	23
1.4 Matériel biologique	24
2 Méthode	26
2.1 Extraction des huiles essentielles:.....	26
2.2 Thionation des molécules modèle	27
2.3 Thionation des huiles essentielles	28
2.4 Activité antibactérienne	29
2.5 Etude de l'activité insecticide:	31

PARTIE RESULTATS ET DISCUSSION

1	Extraction des huiles essentielle	33
2	Résultat de la thionation	35
2.1	Thionation des molécules modèle :	35
2.2	Thionation des huiles essentielle :	43
3	Résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne	51
4	Résultats de l'évaluation de l'activité insecticide	54
	Conclusion	55
	Références bibliographique	

INTRODUCTION

Depuis deux décennies, des études ont été menées sur l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles. De nouvelles applications ont été développées dans le domaine biologique. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, anti-oxydantes, antibactériennes, antifongiques et insecticides. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses.

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large, leurs activités biologique sont principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs.

L'Algérie, de part sa position géographique, présente une large gamme d'étages bioclimatiques, induisant une biodiversité de plantes utilisées comme condiments, aliments naturels et pour des buts thérapeutiques [1]. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve l'armoise blanche et la rue de montagne.

La caractéristique principale de ces huiles est la grande richesse en cétones qui représentent 25 - 90 % de ces huiles [2].

Les composés soufrés sont très rares dans les huiles essentielles, et n'existent pas dans les huiles essentielles de la rue de montagne et de l'armoise blanche. Le soufre en tant qu'élément chimique tient une place particulière en chimie organique, son nombre d'oxydation peut varier entre -2 et $+6$ ce qui lui permet d'être présent dans des fonctions équivalentes aux fonctions oxygénées classiques, telles que les thiols, les sulfures et les thiocarbonyles. La présence d'un ou plusieurs atomes de soufre au sein d'une molécule est souvent synonyme d'activité biologique voire de toxicité. Son action est reliée à sa réactivité propre ou bien se limite à un rôle purement structural [3].

Dans le présent travail notre objectif fut alors de modifier la matrice de ces deux huiles essentielles par thionation des composés carbonylés présents et d'étudier son activité antimicrobienne vis-à-vis des souches bactériennes et des espèces fongiques avant et après modification. Dans un deuxième volet, nous nous sommes intéressés à étudier aussi l'activité insecticide de ces huiles essentielles pour pouvoir valoriser la réaction de thionation et tirer ultérieurement les meilleures informations possibles sur la relation entre la structure et l'activité.

Ainsi ce manuscrit s'articule autour de trois parties :

Dans la première partie, une étude bibliographique est menée sur : la présentation générale de la chimie des huiles essentielles et de ses applications biologiques, ensuite on présentera les matières végétale, leurs composition chimique et les différents travaux dont elle a fait l'objet, le deuxième chapitre est consacré à la thionation des huiles essentielle.

Dans la seconde partie, nous détaillerons l'outil méthodologique utilisé :

- L'extraction des huiles essentielles de la Rue de montagne et de l'Armoise blanche par entraînement à la vapeur d'eau.
- La caractérisation physico-chimique et organoleptique des huiles essentielles.
- La thionation de 2-undécanone, le composé majoritaire de l'huile essentielle de la rue.
- La thionation du camphre et du α -thujone, composés constituant l'huile essentielle de l'armoise
- La thionation des huiles essentielles de la rue de montagne et de l'armoise blanche.
- L'analyse des produits obtenus par les différentes techniques chromatographiques et spectroscopiques afin d'élucider leurs structures chimiques.
- L'étude du pouvoir antibactérien et du pouvoir insecticide des huiles essentielles avant et après thionation.

Dans la troisième partie, nous discutons les résultats obtenus lors de cette étude.

Partie

Bibliographique

1 CHAPITRE 1

LES HUILES ESSENTIELLES

1.1 Définitions

Selon Durvelle (1930, 1893) [4-5], les essences ou huiles essentielles, connues également sous le nom d'huiles volatiles, sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, incolores ou jaunâtres, inflammables qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à température ordinaire ; quelques unes sont solides ou en partie cristallisées ; elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité. Leur odeur est plus ou moins forte, suave, piquante ou désagréable. Elles ont la propriété de ne pas laisser de tache durable sur le papier.

L'Association Française de Normalisation (AFNOR, Edition 2000) [8], a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques.

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique [9]. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits [10], mais également à partir de gommés qui s'écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation, ou par expression à froid comme les agrumes [10].

De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression [11] ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes [12].

1.2 Choix de la méthode d'extraction

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte.

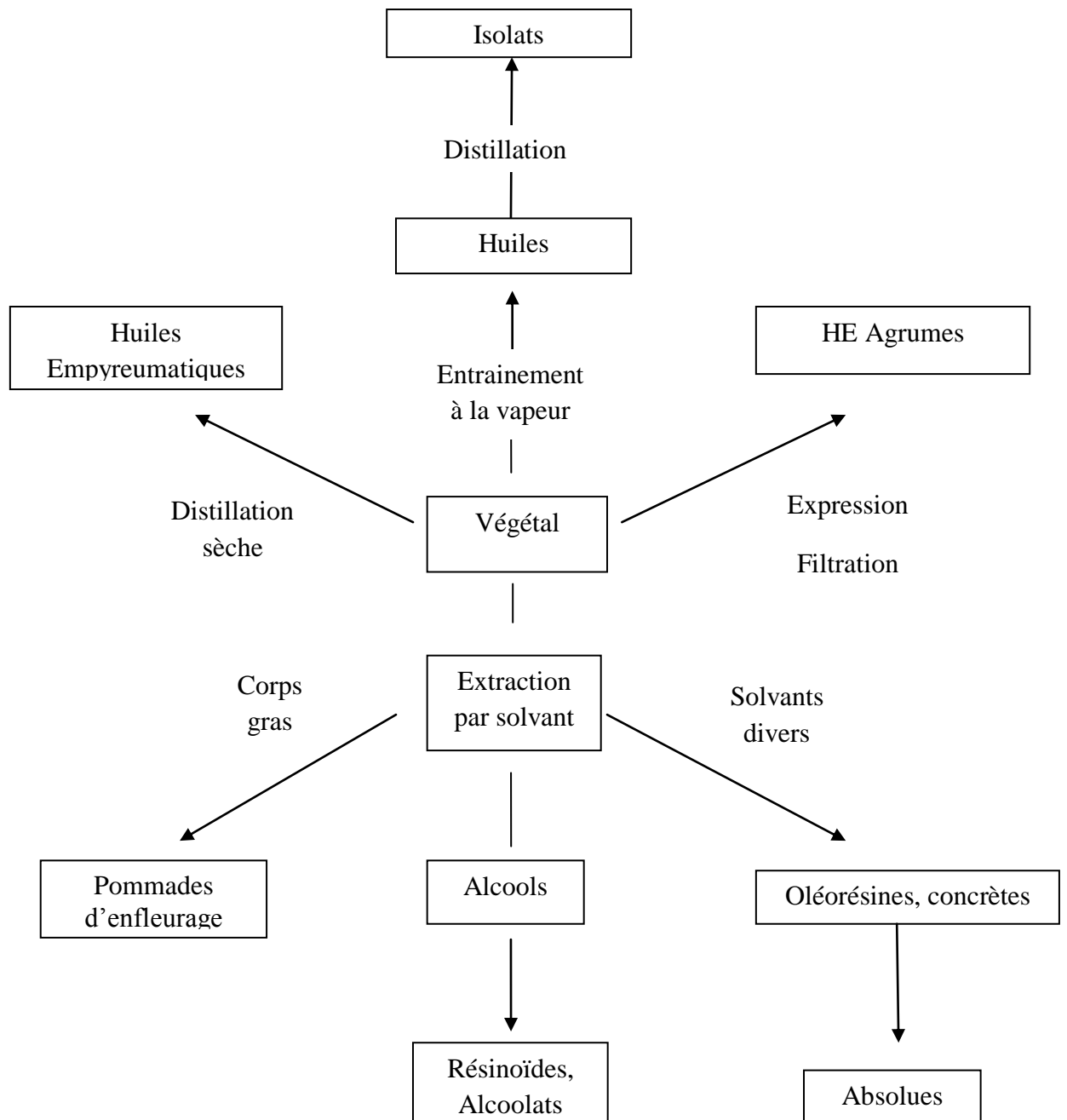


Figure 1 Principales opération industrielles d'extraction [13]

1.3 Composition chimique des huiles essentielles

Les plantes vertes sont des véritables petites usines chimiques [14]. Dans le cas des huiles essentielles seuls sont rencontrés les terpènes les plus volatils c'est-à-dire ceux dont le poids moléculaire n'est pas élevé [15], on distingue deux types d'HE :

- a) Mélange des terpènes et sesquiterpènes contenant de petites quantités des autres classes chimiques.
- b) Mélange des composés aromatiques.

D'une manière générale, Les constituants plus couramment représentées sont les terpénoïdes et les composés aromatiques, mais on y trouve rarement d'autres composants d'origines diverses (dérivés soufrés, nitriles, thiocyanates...) [16].

1.3.1 Composition chimique de l'armoise blanche:

L'analyse chimique des huiles essentielles *d'Artemisia herba alba* a fait l'objet de plusieurs travaux, permettant d'avancer l'existence de différents types chimiques de cette espèce selon les composés majoritaires identifiés lors de l'étude de la variabilité de cette HE.

Akrout et al., [17] ont étudié l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba* Asso de la région de Matmata Tunisie, la composition chimique de cette huile essentielle est constituée principalement de α thujone (43,85%) suivie par trans-acétate de sabinyle (17,46 %) et β thujone (10,10 %), accompagné de faible quantité de 1,8-cineole (3,30 %), chrysanthénone (2,32 %) et acétate de chrysanthényle (3,93 %). En Jordanie **Hudaib et al., 2006 [18]** ont mis en évidence les principaux composés: α thujone (16,20 %), β thujone (8,50 %), alcool santolina (13 %), camphre (12,4 %), trans-Pinocarveole (3,9 %), acétate artemisyle (3,7 %), acétate de sabinyle (5,4 %), D-germacrene (2,6 %), uedesmol (2,2 %) et acétate caryophyllene (5,7 %).

L'analyse chimique de l'huile essentielle *d'Artemisia herba alba* Asso récoltée dans la région de Msila (Algérie) [19] révèlent la présence d'un composé majoritaire: Camphre (19,4 %) suivie par trans- pinocarveole (16,9 %), chrysanthénone (15,8 %) et β thujone (15%)

D'autres études ont montré que le composant majoritaire est le α thujone (44%) [20].

1.3.2 Composition chimique de la Rue

« La rue », est une plante aromatique largement exploitée pour ces huiles essentielles destinées à la parfumerie et l'industrie agroalimentaire [21].

La composition chimique des huiles essentielles varie avec le lieu de récolte. Il a été rapporté que le 2-undécanone est le constituant majoritaire de l'huile essentielle de la rue de provenance l'Argentine (38.1%), la Turquie (66.5%), l'Iran (52.5%) et l'Inde (4.3 - 67.8%) [22-26].

Quant à l'huile essentielle de l'Arabie Saoudite, le pourcentage en 2-undécanone est inférieur ou égal à 4.5% [11]. Cependant l'huile essentielle de provenance l'Italie contient deux constituants majoritaires le 2-nonanone (49.9 %) et le 2-undécanone (30.0 %) [27].

20 composés représentant 64.66 - 93.99% de l'huile essentielle de la plante provenant de l'Algérie ont été identifiés et, comme composé majoritaire le 2-undécanone (20.40 - 82.74%) [28].

1.4 Fonctions biologiques des huiles essentielles

Bien que de nombreuses hypothèses aient été avancées pour expliquer les raisons de la synthèse de l'essence par la plante, personne ne sait avec exactitude pourquoi la plante fabrique son essence. Mais ce qui est probable c'est que le rôle des huiles essentielles au niveau du matériel végétal est intimement lié à leur situation [29].

Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement. Par exemple, ces huiles confèrent un rôle défensif contre les champignons et microorganismes et attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs. Un feuillage renfermant une teneur élevée en essences végétales (Ex : laurier) le protège contre les herbivores. Le rôle des huiles essentielles au niveau des racines, des écorces et du bois confère à la plante un effet antiseptique vis-à-vis des parasites telluriques [30].

Il est toutefois vraisemblable que ces huiles interviennent aussi bien dans les interactions végétal-végétal (inhibition de la germination et de la croissance) que dans les interactions végétal-animal.

1.4.1 Activités biologiques des huiles essentielles

Les vertus des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises. De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche ont porté sur les activités antimicrobiennes et anti-oxydantes des huiles essentielles des plantes aromatiques. Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses.

En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires [31] ou au niveau de la microflore vaginale [32-33] et d'origine fongique contre les dermatophytes [34] Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques [35] qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans les domaines phytosanitaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes [36] et en agroalimentaire, contre les microorganismes contaminant les denrées alimentaires [37]

1.4.2 Utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides

1.4.2.1 Introduction

L'utilisation répandue des insecticides synthétiques a mené à beaucoup de conséquences négatives (c.-à-d., résistance des insecticide, toxicité sur la faune auxiliaire, problèmes de résidu, pollution environnemental) ayant pour résultat l'attention croissante étant donnée aux produits naturels [38]. Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents actuellement utilisés contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produits chimiques bioactifs. Beaucoup d'effort ont été donc concentré sur les matériaux dérivés de plante pour les produits potentiellement utiles en tant qu'agents commerciaux de lutte contre les insectes [39]. Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes [40].

1.4.2.2 Activité insecticide des huiles essentielles

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide. Beaucoup de travaux indiquent que les huiles essentielles extraites de plantes odorantes ont une activité insecticide indéniable vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus* F [41-42]. Ces huiles essentielles agissent par diffusion, c'est ce qui leur permet d'atteindre toutes les interstices dans la masse de graines stockées. Elles peuvent donc être utilisées en fumigation et leur emploi est facile. Les huiles essentielles des plantes appartenant aux genres *Chenopodium*, *Eucalyptus*, ont témoigné de leur efficacité insecticide, la poudre de *Chenopodium ambrosioides* était testée sur six ravageurs de denrées stockées, *Callosobruchus maculatus*, *C.chinensis*, *Acanthoscelides obtectus*, *sitophilus granarius*, *S.zeamais* et *Prostephanus truncatus*, une concentration de 0,4% provoqua la mortalité de plus de 60% des bruches après deux jours de traitements [43].

En 2003, Tapondjou et al.[44] montrèrent l'efficacité de l'huile essentielle de la même plante, en plus de celle d'*Eucalyptus saligna* sur *Callosobruchus maculatus*, et *C. ambrosioides*. Ces deux huiles exercent également un effet répulsif sur le bruche de niébé.

1.4.3 Activité antibactérienne des huiles essentielles

Depuis l'antiquité, les extraits aromatiques de plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme les médicaments et la parfumerie [45]. Les huiles essentielles ont été considéré comme agents antimicrobiens les plus efficaces dans ces plantes.

Lorsque nous parlons d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets: une activité létale ou bactéricide et une inhibition de la croissance ou activité bactériostatique. Le plus souvent l'action des huiles essentielles est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides.

Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, la première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix [46]. Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes [47].

1.4.3.1 Activité antibactérienne de l'armoise:

L'huile essentielle de l'armoise présente, *in vitro*, une activité antibactérienne et antifongique intéressante. Les composants majeurs comme la β -thujone, le camphre et le 1,8 cinéole peuvent être responsable de la différenciation de l'activité antimicrobienne. D'ailleurs, tous ces composés sont bien connus pour leurs propriétés antimicrobiennes [48].

1.4.3.2 Activité antibactérienne de la Rue :

La rue est une plante à effet thérapeutique de la racine à la tige, des feuilles aux fleurs, prometteuse pour ses activités antimicrobienne et antioxydante, qui lui confèrent toutes les propriétés pharmacologiques qui date de l'ère Hippocratique.

A cette époque déjà elle était utilisée comme abortif, emménagogue et contre des maladies pulmonaires, soit par administration interne par tremper de la plante dans le vin, le miel ou ses dérivés, soit par voie externe. Ce qui est le plus utilisé actuellement, à cause de sa toxicité [49].

Plusieurs études ont montrés l'efficacité des extraits et de l'HE de la rue sur des souches microbiennes tels : L'activité antifongique d'extrait éthanolique de la Rue a été démontrée par les travaux de LAUK et al, 2000 [50]. Il existe aussi d'autres travaux sur l'activité antimicrobienne d'extraits et même d'huile essentielles des espèces proches (*Ruta montana* et *Ruta graveolens*) [51-52]. Malgré que nous n'ayons pas trouvé dans la littérature beaucoup des études sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de la rue mais celons des auteurs la présence de composés cétoniques, de mono et sesquiterpènes révèle aux huiles essentielles des espèces de *Ruta* (*chalepensis*, *graveolens* et *montana*) leurs activités antibactériennes et antifongiques [52 ;53 ;54 ;55].

1.4.4 Facteurs déterminants le degré d'activité des huiles essentielles

Plusieurs facteurs influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation antimicrobienne, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganisme ciblés et leur éventuelle adaptation aux huiles essentielles.

1.4.4.1 Activité liée à la composition chimique

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa Composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires [56].

Une même plante aromatique présentera une composition différente en HEs, suivant les parties utilisées, la période de cueillette, la localisation géographique et même suivant le protocole d'extraction ou le mode d'utilisation [57]. C'est la notion de chemotype qui présente de grandes variabilités, quantitatives et qualitatives et qui explique les divergences des résultats rapportés pour une plante donnée [58].

Le principal facteur modulant le spectre d'activité des HEs est le type et la structure moléculaire des composants actifs présents dans les HEs. La structure moléculaire semble présenter un rôle aussi important que le degré d'oxydation de la molécule de terpène : la caractéristique lipophile du squelette hydrocarboné ainsi que la propriété hydrophile des groupes fonctionnels sont déterminantes vis-à-vis de l'activité antimicrobienne des terpénoïdes [59].

Lahlou (2004) [60] a montré que les activités antimicrobiennes, antivirales, insecticides, larvicides des extraits totaux des HEs sont supérieures à celle des composés majoritaires testés séparément. Ces données ont été confirmées par **Rota et al (2008)** [61] dans une étude in vitro sur les microbes pathogènes isolés des aliments.

1.4.4.2 Classe de microorganismes :

Un autre paramètre important déterminant l'activité antimicrobienne des HEs est le type de microorganismes ciblés, c'est ce qu'on appelle le spectre d'activité. En général les différents microbes n'ont pas une sensibilité similaire vis-à-vis des HEs [62]. Car une HE peut être biocide vis-à-vis de certaines souches et biostatique en vers d'autre ou n'avoir aucun effet [60]. Donc il est important de mentionner la dénomination complète: le Gram des microorganismes ainsi que l'espèce botanique et le chemotype des HEs [62].

Généralement les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'action des HE, par rapport aux bactéries à Gram négatif. Cela peut être expliqué par la présence de la membrane externe chez les bactéries à Gram négatif, elle représente en effet une barrière capable de diminuer la perméabilité des composés hydrophobes [63-64].

1.4.5 Mode d'action des huiles essentielles

1.4.5.1 Mode d'action contre les bactéries:

Plusieurs théories sont proposées pour expliquer le mécanisme par lequel les HE exercent leur activité antimicrobienne. La composition complexe des HEs tend à prouver que cette activité serait due à plusieurs mécanismes d'action différents, liés à la nature chimique de ces composés [65 ;66 ;67].

La plupart des mécanismes d'action sont attribués à l'interaction des composants des HE avec la membrane cellulaire [68]. Les HE sont constituées de molécules lipophiles capables de pénétrer la double couche phospholipidique, leur accumulation entre les phospholipides entraîne alors un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire, perturbant ainsi le transport membranaires des substances nutritives [69-70]. Les HE peuvent aussi perturber le gradient ionique de la membrane cytoplasmique ce qui diminue la stabilité membranaire et perturbe aussi le transport membranaire.

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules [71].

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacteraerogenesa* aussi été rapportée [72]. Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides [73].

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et Aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable [74].

1.4.5.2 Mode d'action contre les champignons

L'étude de l'effet fongicide et fongistatique des huiles essentielles vis-à-vis de champignons pathogènes a fait l'objet de plusieurs travaux [75]. L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure [73]. Les groupes moléculaires avec les plus puissantes actions antibactériennes sont également des antifongiques efficaces [75].

CHAPITRE 2

THIONATION DES HUILES ESSENTIELLES

2.1 Modification chimique des huiles essentielle :

A l'heure actuelle, le contexte social, économique et réglementaire pousse l'industrie chimique à concentrer ses efforts dans l'optique d'un développement durable. De nouveaux défis qui s'imposent aux chimistes, comme l'utilisation de ressources renouvelables ou le choix de procédés plus respectueux de l'environnement. Dans cette équation complexe, notre étude vise à proposer des modification chimique des huiles essentielles. Cette étude doit nous permettre de sélectionner une voie de fonctionnalisation des huiles essentielles selon les critères suivants :

- La disponibilité, la toxicité ainsi que le cout des réactifs
- L'adaptabilité de la synthèse à la variabilité des molécules
- La pertinence par rapport à la propriété intellectuelle et aux travaux déjà publiés

Un des intérêts majeurs de la fonctionalisation chimique des huiles essentielles c'est la possibilité de prédéfinir et de réaliser une grande diversité de structures et d'architectures. Cela permet d'élargir les investigations scientifiques et éventuellement de définir des solutions optimales dans divers domaines d'applications.

2.2 Généralité sur la thionation :

2.2.1 Définition :

La thionation est la conversion d'un groupement carbonyle en un thiocarbonyle. Les thio-analogues des composés carbonylés tel que les thiocétones, les thioesters, les thioamides et les thiolactames sont des intermédiaires importants pour la synthèse de différents composés organosulfurés d'activité biologique intéressante [76-77].

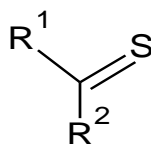


Figure 2 Structure générale des thiocétones

2.2.2 Nomenclature :

Le nom se déduit de celui de l'hydrocarbure correspondant en ajoutant la terminaison thione, précédé du numéro du carbone fonctionnel (le plus petit possible). Si le groupe thione n'est pas prioritaire, il est désigné par le préfixe thioxo [78].

2.2.3 Intérêt :

La thionation est l'une des possibilités de modification chimique qui peut influencer sur les activités des composés.

Deux différences principales différencient les thiocétones des autres carbonyles : la double liaison (C=S) entre le carbone et le soufre utilise des orbitales de tailles très différentes (2p sur du charbon et 3p sur le soufre), qui ne se chevauchent pas bien à cause des plus hautes énergies des orbitales p du soufre, Les doubles liaisons entre le carbone et le soufre sont relativement inhabituelles, le groupe thiocarbonyle est plus réactif et a tendent à s'oligomériser et/ou à se polymériser [79].

- S : $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^4 3d^0$
 - O : $1s^2 2s^2 2p^4$
 - C : $1s^2 2s^2 2p^2$

De plus, la double liaison entre le carbone et le soufre est moins polarisé du fait d'une différence d'électronégativité plus petite entre ces 2 atomes Ceci réduit la sélectivité en cas d'addition nucléophile [79].

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

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

La fonction thiocarbonyle est isoélectronique de la fonction cétone. La double liaison C=S est formée par le recouvrement de l'orbitale 2p du carbone avec l'orbitale 3p du soufre. Elle présente un degré de recouvrement plus faible que la liaison C=O du fait de la différence de symétrie spatiale et de densité entre les orbitales. En conséquence, les dérivés thiocarbonylés présentent une réactivité supérieure et sont moins stables que d'atomes ou de groupements fonctionnels.

De plus, le caractère moins électronégatif du soufre par rapport à l'oxygène, la forte polarisabilité de la liaison C=S et la participation éventuelle des orbitales 3d vacantes sont autant de facteurs qui par leurs effets propres ou cumulés, apportent à la fonction thiocarbonyle une réactivité chimique bien distincte de la fonction cétone [80].

La plus grande instabilité et réactivité des dérivés thiocarbonylés peut expliquer que d'une façon générale ils aient été beaucoup moins étudiés que leurs homologues carbonylés. C'est bien sur plus particulièrement vrai de la fonction thioaldéhyde. Il convient d'ajouter à ces effets, purement structuraux des effets secondaires liés à l'environnement immédiat : les dérivés thiocarbonylés possèdent une odeur forte et désagréable qui a pu dissuader, directement ou indirectement, des équipes de chercheurs à travailler dans ce domaine [80].

Seuls, les dérivés possédant des substituants à effets électroniques stabilisants sont bien connus. Si des voies de synthèse de dérivés non stabilisés sont connues, elles ne semblent toutefois pas suffisamment générales et efficaces pour que la fonction thiocarbonyle puisse être considérée à l'image de la fonction carbonyle, comme une pierre angulaire en synthèse organique. Sa potentialité existe pourtant et l'on constate dans la littérature récente un intérêt renouvelé pour cette chimie [80].

2.3 Méthode de synthèse :

Plusieurs méthodes sont annoncées dans la littérature pour la thionation des composées organique.

2.3.1 Réaction avec du sulfure d'hydrogène :

L'utilisation de sulfure d'hydrogène en présence d'un catalyseur acide, en général de l'acide chlorhydrique, est une méthode classique. La réaction consiste en une activation du groupe carbonyle via une protonation qui permet la formation d'un hémiacétal mercapto hydroxyle suivie d'une élimination [81].

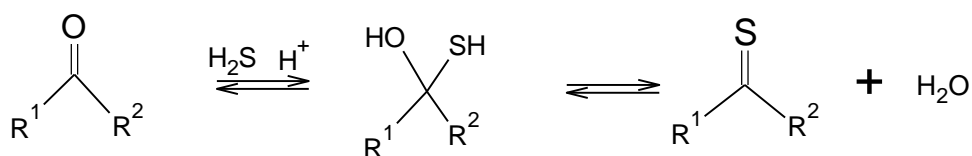


Figure 3 Thionation avec le sulfure d'hydrogène

- **Inconvénient**

Le risque de polymérisation est élevé et les réactions ont généralement lieu à basse températures.

2.3.2 Réaction avec du pentasulfure de phosphore :

2.3.2.1 Introduction :

En 1869 le pentasulfure de phosphore était le premier réactif de thionation annoncé par Henry [82] et Wislicenus [83].

Il est connu également sous sa forme P_4S_{10} . Il permet la thionation à des températures plus élevées que le sulfure d'hydrogène. L'inconvénient de ce réactif est sa faible solubilité dans les solvants organiques. Les solvants les plus utilisés dans cette voie de synthèse sont le benzène, la pyridine et le 1,2-dichlorobenzène. La stabilité thermique de ce réactif peut être une de ses plus importantes caractéristiques. Ceci permet de le manipuler à des hautes températures dans la gamme 165-175°C [84].

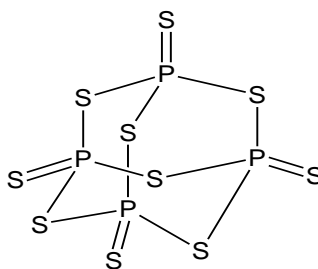


Figure 4 Structure chimique du P_4S_{10}

2.3.2.2 Combinaison de pentasulfure de phosphore et de l'hexaméthylidisiloxane :

Récemment Curphey [85-86] a montré que la combinaison de P_4S_{10} et de l'hexaméthylidisiloxane convertit efficacement les esters, les lactones, les amides, les lactames et les cétones à leurs dérivés thiono correspondant avec des rendements comparables ou supérieurs à ceux obtenus avec le réactif de Lawesson. Le procédé présente l'avantage que les sous-produits réactifs dérivés peuvent être éliminés par un traitement hydrolytique simple ou par filtration à travers du gel de silice [87].

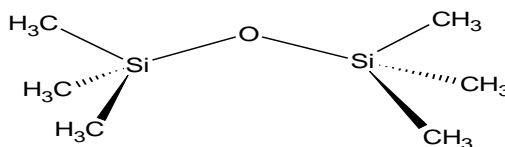


Figure 5 Structure chimique de l'HMDO

2.3.2.3 Thionation avec le complexe P_4S_{10} – pyridine dans des solvants :

Bien que le P_4S_{10} dans la pyridine a été utilisé pour thioner les composés carbonylés pendant des années, sa structure n'a été déterminée que récemment. Il réagit facilement avec de la pyridine à chaud pour former un zwitterion [88-89]. Dans d'autres travaux, il a été évoqué que le P_4S_{10} peut être solubilisé dans l'acétonitrile et même dans le DMSO.

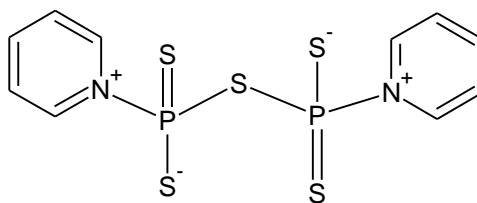


Figure 6 Réactif zwitterionique du P_4S_{10} dans la pyridine

2.3.2.4 Thionation avec le pentasulfure de phosphore dans l'Alumine :

Une méthode simple, efficace et nouvelle a été développée pour la synthèse de thiocétones par thionation de cétones en utilisant P_4S_{10} / Al_2O_3 dans l'acétonitrile. Il a été trouvé que la combinaison de $Al_2O_3 / P_4S_{10} / Al$ concerne un procédé simple et commode pour la synthèse de thiocétones.

Dans les années récentes L'utilisation de réactifs et des catalyseurs supportés sur des supports solides a reçu beaucoup d'attention. De tels réactifs non seulement simplifie les processus de purification aussi aider à prévenir la libération de résidus de réaction dans l'environnement Cela a conduit à une croissance dans le domaine des réactifs solides supportés sur de l'alumine [90].

Kauslik et al. Ont développé une nouvelle thionation par encapsulation de pentasulfure de phosphore dans l'Aluminium basique.

La thionation des cétones selon le procédé utilisant P_4S_{10} / Al_2O_3 le à permis d'obtenir des produits avec très bon rendements mais l'interprétation de l'effet de sur le déroulement de la réaction de thionation avec P_4S_{10} n'est pas assez claire.

La réaction (P_4S_{10} / Al_2O_3) a été effectuée dans l'acétonitrile et a donnée des très bon rendements mais cette méthode nécessite plus d'étude.

2.3.3 Réaction avec le réactif de Lawesson

2.3.3.1 Introduction :

C'est un composé chimique organique utilisé comme agent de thionation. Il a été introduit par Sven-Olov Lawesson. Il est synthétisé pour la première fois en 1956 [91-92]. Ce réactif versatile et efficace de thionation est utilisé pour des nombreux composés carbonyles aromatiques, aliphatiques, insaturés et carboxamides hétérocycliques. Il a été signalés qu'il se décompose à des températures supérieures à $110^\circ C$ [93-94].

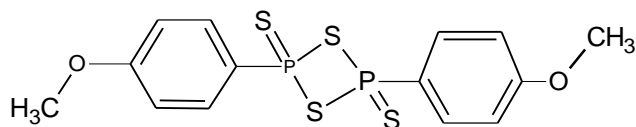
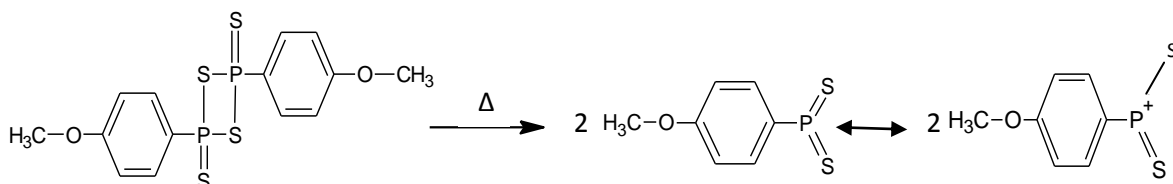


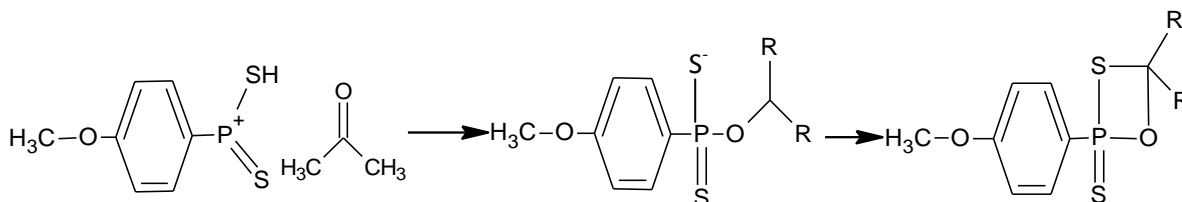
Figure 7 Réactif de Lawesson; 2,4-disulfure de 2,4-bis (4-méthoxyphényl)-1,3-dithia-2,4-diphosphétane

2.3.3.2 Mécanisme :

Les sites actifs de la molécule sont activés par l'ouverture du cycle central formé par les phosphores et les soufres [95]. Cette ouverture se fait principalement par voie thermique:



Les ylures de dithiophosphines aussi mis à jour peuvent réagir avec le groupe carboxyle pour former un intermédiaire thiaoxaphosphétane:



La formation d'une double liaison stable P=O déplace la réaction vers la droite et conduit à la séparation de l'intermédiaire:

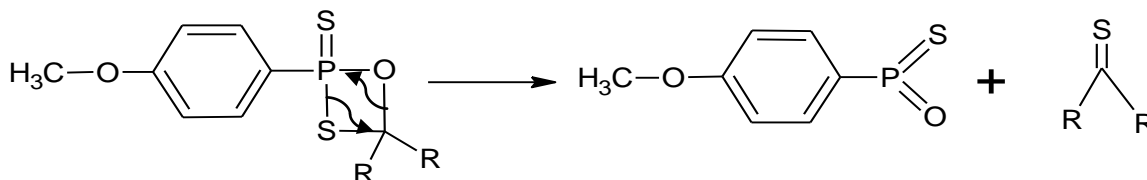


Figure 8 Mécanisme de réaction avec LR

Cette réaction ressemble à la réaction de Wittig et est valable pour les cétones, les amides et les lactames. Les esters réagissant dans des conditions réactionnelles plus agressives, il est possible d'effectuer des thionations sélectives [81].

- **Avantage :**

- Fort rendement.
- Réaction douce, réalisé à des températures plus basse par rapport qu'avec le pentasulfure de phosphore.

- **Inconvénient :**

- Cout élevé des réactifs.
- Formation de sous produits et stabilité des hétérocycles intermédiaire.
- Les sous produits qui dérive de réactif lui même ne peuvent pas généralement être éliminée par simple extraction.

Pour ce qui est du réactif de Lawesson, malgré son coût élevé, il a pu ces dernières années remplacer le P_4S_{10} . Il est considéré comme un réactif de choix pour de nombreuses thionations. Les propriétés de cette dernière ont été d'abord étudiées par Schumacher [96] à la fin des années 1960. Mais, le champ d'application et les limites du réactif ont été largement inconnus pendant assez longtemps alors que des travaux d'un groupe danois ont attiré l'attention généralisée à l'utilité de ce réactif. La littérature montre que le réactif de Lawesson est le meilleur agent de thionation pour la fonction carbonyle, ainsi que pour les amides, aussi il est plus sélectif que le P_4S_{10} en cas d'amides primaires [97].

2.3.4 Réactif de Belleau :

Il est moins réactif comme agent de thionation. Sa structure est identique à celle du réactif de Lawesson dans laquelle les substituants méthoxyyles sont remplacés par des groupes phénoxyyles [98].

Sa structure est identique à celle du réactif de Lawesson dans laquelle les substituant méthoxyyles sont remplacés par des groupes phénoxyyles [98].

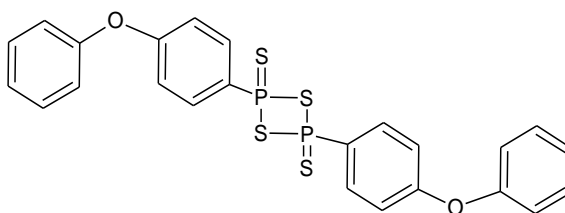


Figure 9 Réactif de Belleau

2.3.4.1 Mécanisme :

Les sites actifs de la molécule sont activés par l'ouverture du cycle central formé par les phosphores et les soufres. Cette ouverture se fait principalement par voie thermique.

2.3.5 Réactifs de Davy :

2.3.5.1 Introduction :

C'est une famille de composés chimiques organiques utilisés comme agents de thionation. Ils sont composés d'un centre 2,4-disulfure de 1,3-dithia-2,4-diphosphétane et de deux extrémités qui sont des groupes thioalkyles où les alkyles sont un méthyle, éthyle, isopropyle ou butyle. Ils sont beaucoup plus réactifs que les réactifs de Lawesson' et Belleau [98].

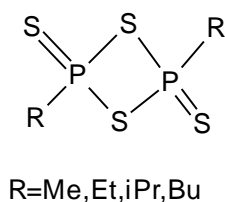


Figure 10 Structure chimique de réactif de Davy

2.3.5.2 Mécanisme :

Les sites actifs de la molécule sont activés par l'ouverture du cycle central formé par les phosphores et les soufres. Cette ouverture se fait principalement par voie thermique [97; 98].

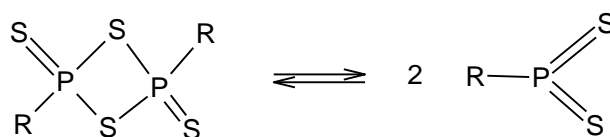


Figure 11 Mécanisme de réaction avec le réactif de Davy

Ces différents réactifs agissent selon le même mécanisme, mais en fonction des différents substituant qui les composent, ils réagissent de manière plus ou moins rapide. Par un judicieux choix du réactif, une thionation sélective de certains groupes est possible. Le réactif de Lawesson est le plus utilisé actuellement pour la thionation des groupes carbonyles. Il occupe la position intermédiaire dans l'échelle de réactivité derrière les réactifs de Davy qui sont considérés comme les moins sélectifs, mais devant le réactif de Belleau [99-100-101].

Partie

Matériels et

méthodes

1 Matériels

1.1 Matériel végétale :

Ce travail a porté sur 2 espèces de plantes à huiles essentielles suivantes :

1.1.1 Armoise blanche:

Est une plante appartenant à la famille des Astéracées, ligneux bas tous jours verts, dont la croissance végétative a lieu à l'automne (feuilles de grande taille) puis dès la fin de l'hiver et au printemps (feuilles plus petites). Riche en huiles essentielles, cette espèce a des vertus purgatives évidentes jouant un grand rôle dans le contrôle des vers intestinaux, en particulier des ovins, mais pouvant également entraîner la mort de jeunes agneaux. Les feuilles de cette espèce sont utilisées en médecine traditionnelle pour soigner le diabète, bronchite, abcès, diarrhée et comme vermifuge [102].

Noms vernaculaires:

Nom Français: Armoise blanche

Nom Arabe: Chih, Gaisoum, Chih korassani.

Nom scientifique : *Artemisia herba alba* Asso [103].

Nous avons utilisé la partie aérienne de (tiges et feuilles) pour l'extraction de l'huile essentielle de cette espèce.

La partie aérienne de l a été récoltée au mois de Mars 2016.



Figure 12 Armoise blanche

1.1.2 Rue de montagne:

Ruta montana : c'est la rue des montagnes (synonymes : Ruta legitima Jacq. ; Ruta tenuifolia Gouan) ou bonne rue [104], appelée vulgairement en Algérie : fidjlet el-djbel (Fidjela), a une odeur fétide très intense, se trouve sur les coteaux arides et dans les endroits secs et pierreux de la région méditerranéenne [105].

Les échantillons de la partie aérienne (tiges, feuilles et fleurs) de la Rue ont été récoltés au mois de Mars 2016.



Figure 13 La rue de montagne

1.2 Matériels de caractérisation :

1.2.1 Indice de réfraction

1.2.1.1 Principe

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.

1.2.1.2 Protocole :

Les indices de réfraction sont mesurés par la lecture directe de l'angle de réfraction à l'aide d'un Réfractomètre d'Abbe de marque Carl Zeiss à la température ambiante puis ramenés à 20°C par la formule :

$$\eta_d^{20} = \eta_d^{t'} + 0,00045 (T' - T)$$

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

1.2.2 Spectrophotométrie infrarouge

Les spectres infrarouges sont enregistrés sur un appareil de marque JASCO. Les nombres d'onde sont exprimés en cm^{-1} .

Tableau 1 Condition opératoire de l'IR

Information de programme		Information de mesure	
Type	Linear data array	Model FT/IR-4200 type A	
Horizontal	Wavenumber [cm^{-1}]	Nombre de série B024961018	
Vertical	%T	Détecteur	TGS
		Accumulation	40
		Résolution	4 cm^{-1}
		Détecteur	TGS

1.2.3 Analyse par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CG/SM)

Chromatographe : HP 6890

Spectromètre de masse : Quadripôle

1.2.3.1 Conditions opératoire

Les produits ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse, dans les conditions opératoire suivantes :

Tableau 2 Condition opératoire du GCMS - HE de l'armoise blanche

Injecteur	Colonne	Détecteur de masse
Température : 250°C Mode d'injection : Splitless Volume injecté : 01 μl	Type : HP-5Ms Dimensions : long 30 m, D int 0.25 mm, épaisseur film 0.25 μm Température du four : 60°C pendant 8min, pallier 02 °C/min jusqu'à 250°C, isotherme pendant 10 min. Temps d'analyse : 113min Gaz vecteur : Hélium pure Débit GV : 0.5ml/min	Mode d'analyse : Scan (de 35 à 550) Solvant utilisé : méthanol Délai du solvant : 3.5min Température de l'interface : 280 °c Type d'ionisation : Impact électronique Intensité du filament : 70 év Température de la source : 230 °c

Tableau 3 Condition opératoire du GCMS - 2-undécanone

Injecteur	Colonne	Détecteur de masse
Température : 250°C Mode d'injection : Split 50:1 Volume injecté : 0.2 µl	Type : HP-5MS Dimensions : long 30 m D int 0.25 mm épaisseur film 0.25 µm Température du four : 60°C pendant 8 min, 2°C/min jusqu'à 250°C. isotherme pendant 10 min. Durée d'analyse : 113 min Gaz vecteur : Hélium pureté : N 6 Débit GV : 0.5 ml/min	Mode d'analyse : Scan TIC (de 40 à 550) Solvant utilisé : méthanol Délai du solvant : 3.5 min Température de l'interface : 270 °c Type d'ionisation : Impact électronique Intensité du filament : 70 év Température de la source : 230 °c

Spectromètre de masse : Quadripôle TQ8030

Tableau 4 Condition opératoire du GCMS - HE de la rue de montagne

Injecteur	Colonne	Détecteur de masse
AOC-20i Température : 250°C Mode d'injection : splitless	GC-2010 Débit GV : 1 ml/min Température du four : 60°C Durée d'analyse : 47 min	Délai du solvant : 3 min Température de l'interface : 270 °c Température de la source : 200 °C

1.3 Réactifs et Solvants

Les solvants, les réactifs et produits chimiques utilisés sont présentés dans les tableaux 5,6.

Tableau 5 Réactifs utilisés

Produit chimique	M (g/mol)	Marque	Pureté %	Point de fusion °C	Point d'ébullition °C
Camphre	152,24	Chiminova	–	180	204
2-undécanone	170,29	SIGMA- ALDRICH	≥ 98	15	231
P ₂ S ₅	222,27	SIGMA- ALDRICH	99	288	515
LR	404,467	A-ALDRICH	97	229	–
Bicarbonate de Na	84,01	Biochem	99	50	–

Tableau 6 Solvants utilisé

Produit chimique	M (g/mol)	Marque	Pureté %	Point de fusion °C	Point d'ébullition °C
Dichlorométhane	84,933	Panreac		39,6	-96,7
CS ₂	76,139	RIEDEL- DEHAENAG	99,5	46,3	-110,8
DMSO	78,13	Panreac	99	189	19

1.4 Matériel biologique

1.4.1 Souches bactériennes et fongiques étudiées

Pour la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de l'armoise blanche et de la rue de montagne, deux souches bactériennes (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) et une levure ont été choisies. Ces bactéries sont pathogènes et sont connues pour leur forte antibiorésistance et leur pouvoir invasif et toxique chez l'Homme. Les souches pathogènes utilisées sont présentées dans le tableau.

Tableau 7 Les microorganismes testés

Bactéries
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram⁺)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 5144402(Gram⁻)
Levures
<i>Candida albicans</i>

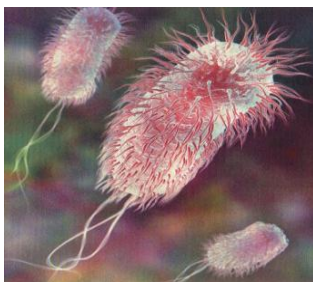
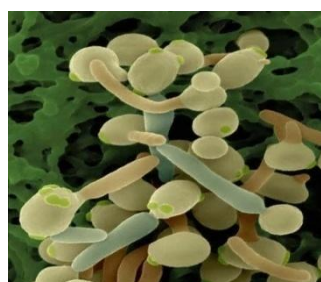
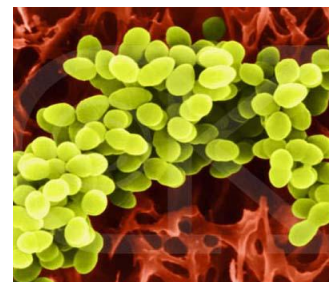
*Escherichia coli**Staphylococcus aureus**Candida albicans*

Figure 14 Bactéries et levure vue sous microscope

1.4.2 Milieux de culture

Suivant les méthodes employées dans l'essai et selon les souches, nous avons utilisée les milieux de culture:

- **Gélose nutritive** En biologie, la gélose nutritive ou gélose nutritive ordinaire (*GNO*) ou encore gélose ordinaire est un milieu d'isolement non-sélectif.

L'isolement est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne (pur s'il y a un type de colonie sur la gélose) ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée.

L'isolement permet de séparer des micro-organismes différents dans un mélange qui pourront être ainsi étudiés individuellement.

Sur cette gélose nutritive on observe le nombre de colonies différentes (nombre de type de colonies) et on fait une description des colonies isolées.

- **Muller Hinton (MH)**

La gélose Mueller–Hinton est un milieu riche, standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens (la réalisation de l'antibiogramme).

- **Sabouraud**

Le milieu de Sabouraud (ou gélose de Sabouraud) est un milieu de culture acide favorisant la culture et l'isolement des champignons et des moisissures.

1.4.3 Souche de *Sitophilus oryzae*

Les insectes proviennent d'une souche isolée à partir des grains de blé infestés par *S. oryzae*. Cette souche est mise en élevage au laboratoire, dans une salle aérée où la température varie entre 24 et 28°C et une humidité de 70%, sur le blé dur, dans un flacon en verre.

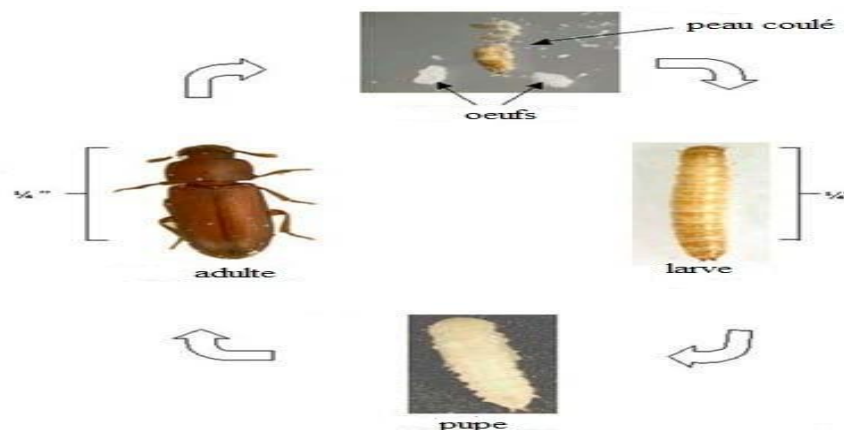


Figure 15 Cycle de vie de la *Sitophilus oryzae*

2 Méthode

2.1 Extraction des huiles essentielles:

2.1.1 Procédé d'extraction :

Nous avons utilisé la distillation par entraînement à la vapeur d'eau pour l'extraction des huiles essentielles.

2.1.2 Méthode :

Les produits à distiller (fleurs, tiges, feuilles) sont chargés dans le ballon, l'eau contenue dans la chaudière est portée à ébullition. Lorsque l'eau atteint 100°C, elle se transforme en vapeur et entraîne les espèces volatiles dans un circuit de refroidissement (réfrigérant à eau au laboratoire). La vapeur chargée des composés volatiles est condensée en passant dans le serpentín réfrigérant.

A la sortie du ballon une ampoule à décanter récupère l'huile essentielle qui flotte à la surface de l'eau de distillation. Le distillat obtenu est récupéré dans une burette dans lequel il va se décanter : l'**hydrolat** (également appelé eau de distillation ou eau florale), de densité supérieure, est entraîné au fond tandis que les huiles essentielles, plus légères et insolubles dans l'eau, sont recueillies à la surface.



Figure 16 Montage de l'extraction par entraînement à la vapeur

2.1.3 Précaution :

La période de l'extraction doit allonger à une certaine période de temps pour extraire toute les composées de l'huile essentielle de la plante et extraire le maximum de l'huile.

2.1.4 Le rendement

Le rendement en HE est définie comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse sèche du végétale à traiter. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$Rd(\%) = \frac{m}{m_0} \times 100$$

m : mass en gramme d'huile essentielle.

m_0 : masse en gramme de la matière végétale sèche.

2.2 Thionation des molécules modèle

La réaction va être réalisée premièrement sur des molécules modèles : le camphre et l' α -thujone qui sont des constituants de l'HE de l'armoise ainsi que le 2-undécanone qui est le composant majoritaire de l'HE de la rue.

2.2.1.1 Mode opératoire

➤ Variante A

Dans un ballon de 100 ml muni d'un réfrigérant et d'une agitation magnétique, 4 mmoles de cétone sont dissous dans 20 ml de dichlorométhane. Ensuite 4,5 mmoles du RL sont ajoutés à la solution de départ. Le tout est porté dans un bain marie à 45°C. Après refroidissement, le solvant est chassé par un évaporateur rotatif.

➤ Variante B

Dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant et d'une agitation magnétique, sont additionnés 4 mmoles de cétone, 4,5 mmol de RL et 10 ml de toluène. Le mélange réactionnel est porté dans un bain d'huile sous agitation. Après refroidissement, on évapore le solvant par évaporateur rotative.

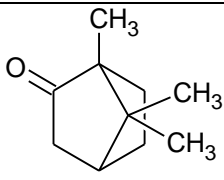
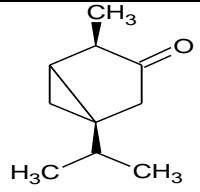
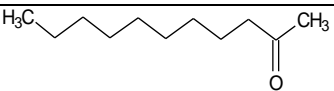
➤ Variante C

Dans un ballon de 100 ml muni d'un réfrigérant et d'une agitation magnétique, 4 mmoles de cétone sont dissous dans 10 ml de disulfure de carbone. Ensuite, 4,5 mmoles du RL sont ajoutés à la solution de départ. Le tout est porté dans un bain marie à 45°C. Après refroidissement. Le solvant est chassé par un évaporateur rotatif.

➤ Variante D

Dans un ballon de 100 ml équipé d'un réfrigérant et d'une agitation magnétique, sont additionnés 0,315 mmoles de cétone, 1,58 mmol de P_2S_5 , 40ml de CS_2 et 1,73 mmoles de bicarbonate de sodium. Le mélange réactionnel est porté dans un bain marie à $45^\circ C$ sous agitation. Après refroidissement, On filtre puis on évapore le solvant par évaporateur rotative.

Tableau 8 Thionation des molécules modele

Produit	Mode	Durée	
	Camphre	A	13h
	Camphre	B	7h
	Camphre	C	13h 30min
	Camphre	D	6h
	α -Thujone	D	7h
	2-undecanone	D	10h

2.3 Thionation des huiles essentielles

2.3.1 Mode opératoire

L'huile essentielle préalablement séchée est dissout dans 30ml de disulfure de carbone. Ensuite 2,1 g de P_4S_{10} et 0,438g de bicarbonate de sodium sont additionnées. La réaction est portée à reflux dans un bain marie à 45 jusqu'à $50^\circ C$. Après filtration, on évapore le solvant par évaporateur rotative.

Tableau 9 Thionation des HEs

Produits	Quantité (g)	Durée (h)
HE de l'armoise	1,43	6
HE de la rue	1,59	11

2.4 Activité antibactérienne

Les tests d'activité antimicrobienne ont été réalisés au sein de laboratoire microbiologique de l'hôpital de BOUFARIK.

2.4.1 Préparation des solutions test

Les solutions testées sont préparées par dissolution des huiles essentielles de la Rue de la montagne et de l'armoise blanche natives et modifiées dans le DMSO. Les doses choisies pour effectuer le test de toxicité sont : 2/100, 1/100, 0.5/100 et 0.25/100.

2.4.2 Techniques d'étude du pouvoir antibactérien

Lors de cette étude, nous avons testé l'action des huiles essentielles natives et modifiée des différentes espèces vis-à-vis des souches bactériennes par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) [106].

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée « antibiogramme » ou « méthode par diffusion en milieu gélosé » ou encore « méthode des disques ».

2.4.2.1 Principe

La technique consiste à utiliser des disques de papier absorbants stériles (de 8 mm de diamètre) imprégnés d'une quantité d'huile essentielle pure et déposés à la surface d'une gélose inoculée et uniformémentensemencée par la suspension bactérienne à étudier. La diffusion de l'HE à partir du disque au sein de la gélose détermine un gradient de concentration.

Les micro-organismes poussent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'huile essentielle suffisante pour inhiber leur croissance dont on observe après incubation tout autour des disques une zone circulaire claire indemne de colonies, appelée « zone d'inhibition ».

Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'huile essentielle. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante [107].

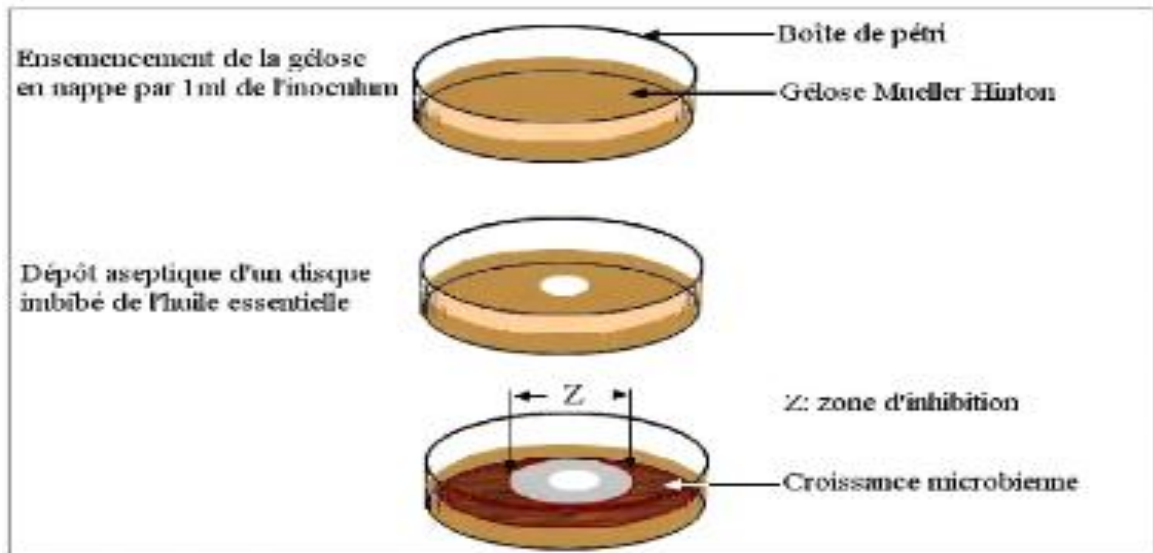


Figure 17 Principe de la méthode de diffusion par disque

2.4.2.2 Protocole expérimental

➤ Préparation de l'inoculum

Les suspensions bactériennes ont été réalisées par prélèvement de 3 à 5 colonies bien isolées et identique d'une culture jeune de 18h pour les bactéries et 48h pour les levures, les mettre ensuite dans 9 ml d'eau physiologique stérile, puis agiter au vortex pendant quelques secondes.

La lecture de la densité optique est effectuée en utilisant un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm ; et doit être comprise entre 0.22 et 0.32 pour les bactéries sauf pour *Staphylococcus aureus* qui doit être comprise entre 0.3 et 0.4 ; et entre 2 et 3 pour les levures, ce qui correspond à une concentration optimale de 10^7 à 10^8 germes/ml.

➤ Préparation des milieux de culture

- Verser les milieux gélosés déjà liquéfiés dans un bain marie (Muller-Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures) sur des boîtes de pétri à raison de 15 ml par boîte.

- Ensemencer les milieux de culture avec 200 μ L de chaque suspension.

➤ Dépôt des disques

Les disques en cellulose stériles, imbibés d'une quantité d'huile essentielle, sont déposés sur la surface de la gélose, puis laisser diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. L'incubation s'effectue à 37°C pendant 24 H pour les bactéries et 25°C pendant 48 H pour les levures.

2.4.2.3 Lecture

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halotranslucide autour du disque, identique à la gélose stérile, dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle en (mm). Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle [108].

D'après **Ponce et al. (2003) [105][108]**, la sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensible (-) pour les diamètres moins de 8mm ;
- Sensible (+) pour des diamètres de 8 à 14mm ;
- Très sensible (++) pour des diamètres de 15 à 19mm ;
- Extrêmement sensible (+++) pour les diamètres plus de 20mm.

2.5 Etude de l'activité insecticide:

2.5.1 Méthodes d'application des huiles essentielles

Les méthodes d'application d'insecticide sont variées et elles dépendent surtout de la nature de l'insecte et la nature de produit a protégés.

Dans notre cas les solutions des huiles essentielles sont testées par fumigation pour favoriser leur diffusion dans le milieu traité.

2.5.1.1 Méthode d'application des huiles essentielles par fumigation sur les adultes de *Sitophilus oryzae*

La fumigation avec les huiles essentielles a été effectuée dans des boites en verre, hermétiques et transparentes, de capacité de 0,25L comme chambre d'exposition pour tester la toxicité de l'huile essentielle contre les adultes du *S. oryzae*. La charge d'huile essentielle est déposée sur une rondelle de papier filtre puis placée dans le couvercle qui est ensuite vissée sur le flacon.

Chaque flacon contient 30 insectes, un témoin est réalisé dans les mêmes conditions avec une rondelle du papier filtre non chargée. Le contrôle de mortalité s'est fait par dénombrement d'insectes morts chaque 1h du premier jour de traitement jusqu'à la mort de tous les individus sans ouvrir les flacons.



Figure 18 Boite pour l'application insecticide

2.5.1.2 Correction de la mortalité

L'efficacité d'un produit est évaluée par la mortalité. Le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tué par ce toxique

Les pourcentages de mortalité des individus tués par les huiles essentielles des cinq plantes sont corrigés par la formule de *Schneider Orelli* qui tient compte de la mortalité naturelle (témoin)

$$M_c (\%) = \frac{M - M_t}{100 - M_t}$$

M_c : le pourcentage de mortalité corrigé.

M : le pourcentage de morts dans la population traitée.

M_t : le pourcentage de morts dans la population témoin

Partie

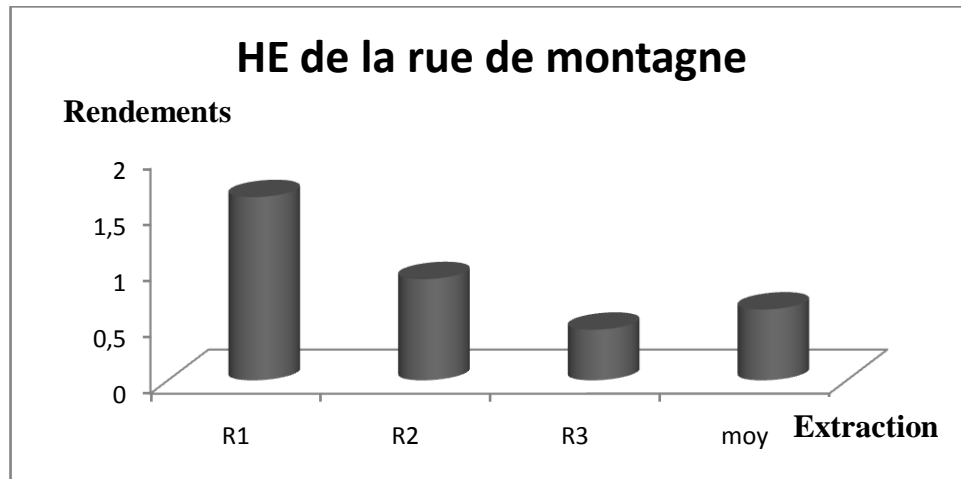
Résultats et

Discussions

1 Extraction des huiles essentielle

1.1 Rendements en huile essentielle

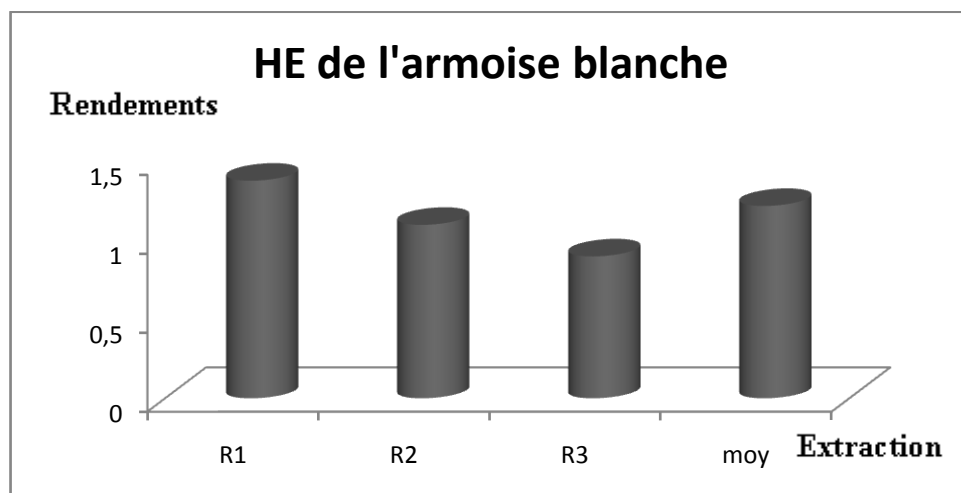
Les rendements moyens en huile essentielle, qui sont calculés en fonction de la masse du matériel végétal sèche, pour les espèces : *artemisia herba alba* et *ruta montana* sont représentés dans les figures suivantes :



Graphique 1 Représentation des différents rendements en huile essentielle de la rue de montagne

L'extraction de l'HE de la rue de montagne effectué par entrainement à la vapeur d'eau a fourni un rendement moyen de 0,63%

Notre rendement en huile essentielle est comparable à celui de la rue de montagne provenant de Constantine 0.62 % [109], mais faible comparativement à celui de *Ruta chalpensis* provenant de nord de Tunisie (5.51%) [110].



Graphique 2 Représentation des différents rendements en huile essentielle de l'armoise blanche

L'extraction de l'HE de l'armoise blanche effectué par entrainement à la vapeur d'eau a fourni un rendement moyen de 1,22%

La teneur en huiles essentielles peut être considérée comme moyenne par rapport à 18 provenances d'armoise blanche en Tunisie (0,68-1,93%) [111]. La même variation infra spécifique du rendement d'armoise blanche a été notée en Espagne (0.41-2.30%) pour 16 échantillons de 4 provenances [112].

1.2 Propriétés physique et organoleptique:

L'examen organoleptique des huiles essentielles de la rue de la montagne et de l'armoise blanche a donné les résultats suivants :

Tableau 10 Propriété de l'HE de la rue de montagne

HE	Couleur	Odeur	Indice de réfraction
Rue de montagne	Jaune	Désagréable	1,4351
Armoise blanche	Jaune pale	Herbacée camphrée	1,4691

1.3 Caractérisation des huiles essentielles par IR :

La figure représente les bandes d'absorption IR de l'huile essentielle de la rue.

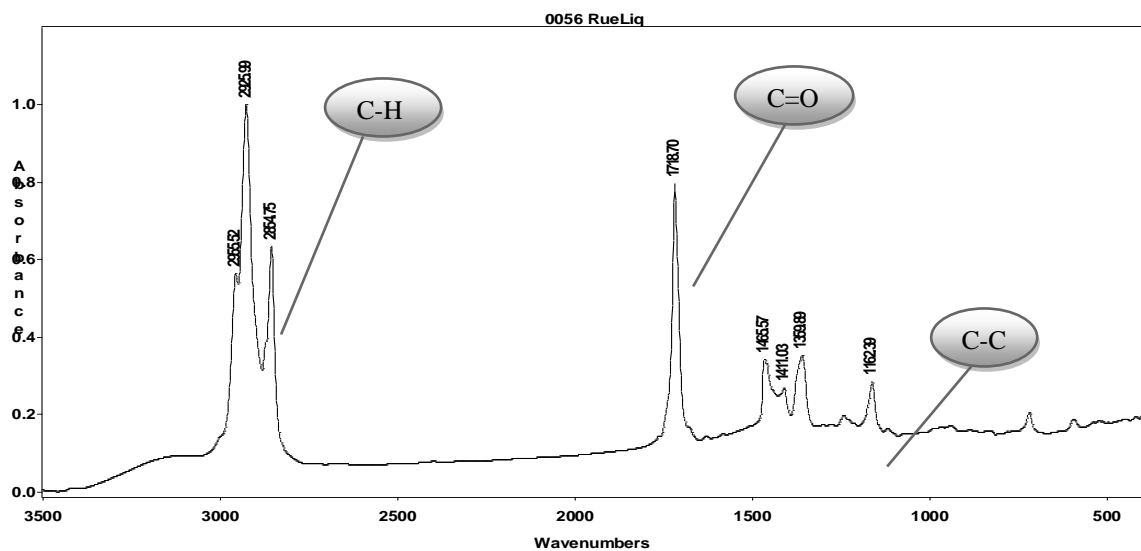


Figure 19 Bande d'absorption IR de la Rue de montagne

Le spectre IRTF de l'HE de la rue de montagne est caractérisé par deux pics situés à 2955 cm⁻¹ et 2926 cm⁻¹ responsable de la vibration de la liaison C-H relatif aux groupements méthyle et méthylène, un pic de forte intensité, très pointue correspondant à l'absorption du groupement carbonyle (C=O) présent dans les cétones est situé à 1718 cm⁻¹, ce spectre montre aussi des pics de déformation vers 1500 cm⁻¹.

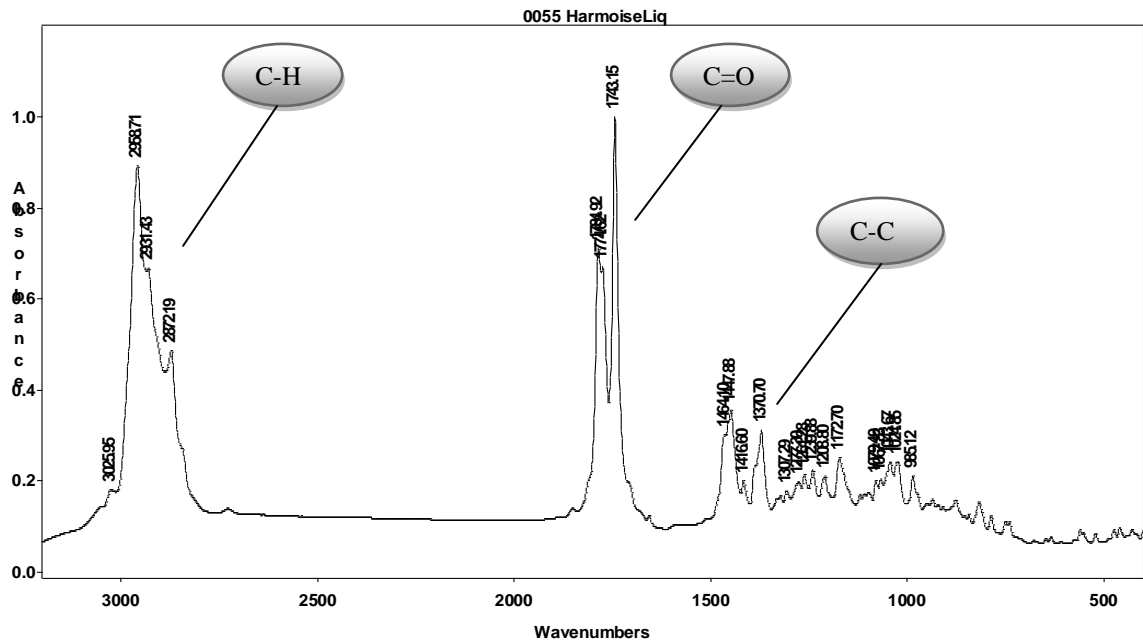


Figure 20 Bande d'absorption IR de l'HE de l'armoise blanche

Sur le spectre IRTF de l'HE de l'armoise on observe une forte bande d'élongation à 2958 cm^{-1} , qui correspond à l'absorption du groupement $-\text{CH}_3$, elle est épaulé d'une autre bande à 2931 cm^{-1} qui confirme la présence des groupements $-\text{CH}_2-$, suivi d'une bande moins prononcée vers 2872 cm^{-1} du groupement $(-\text{C}-\text{H})$. Un faible pic est localisé à 3025 cm^{-1} montre la présence d'une double liaison alcène dans l'huile. Trois autres pics localisés à 1743 cm^{-1} , 1774 cm^{-1} et 1785 cm^{-1} spécifique à la vibration du groupement carbonyle présent dans la fonction cétones cyclique de trois molécules différentes. Ce spectre montre aussi des pics de déformation vers 1500 cm^{-1} .

2 Résultat de la thionation

2.1 Thionation des molécules modèle :

2.1.1 Thiocamphor :

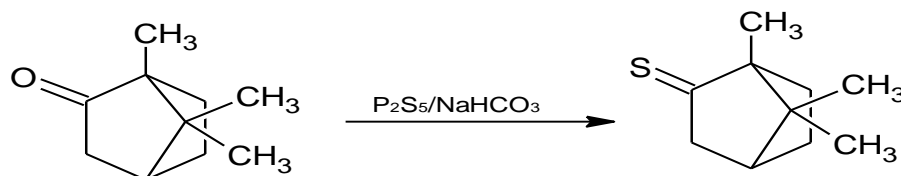


Figure 21 Réaction de thionation du camphre

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{S}$ (PM = 168 g/mole)

2.1.1.1 Caractérisation par IR :

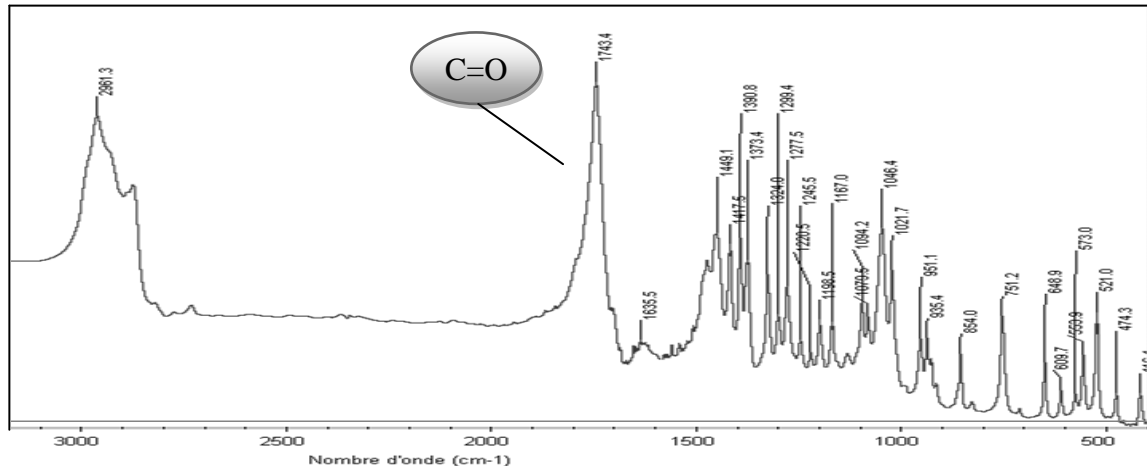


Figure 22 Spectre IRTF du camphre natif

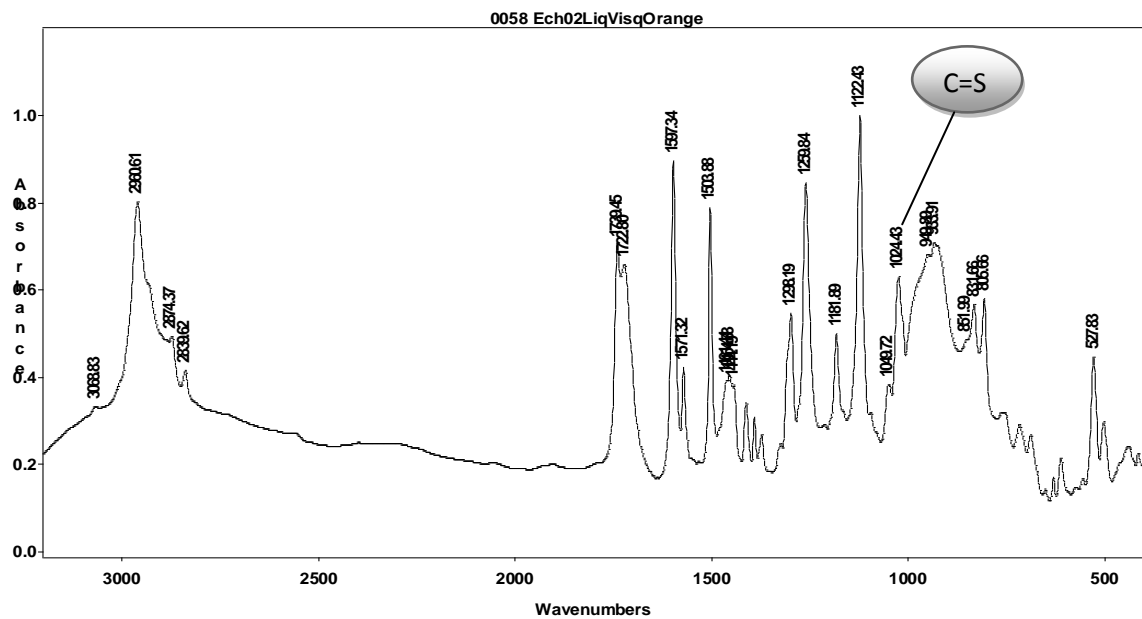


Figure 23 Spectre IR du thiocamphor par la variante A

Sur le spectre IRTF du thiocamphor on observe une forte bande d'élongation à 2960 cm^{-1} qui correspond à l'absorption des groupements ($-\text{CH}_3$) suivi d'une bande moins prononcée vers 2874 cm^{-1} des groupements ($-\text{CH}_2$), une bande correspondant à l'absorption du groupement carbonyle ($\text{C}=\text{O}$) situé à 1718 cm^{-1} , plus faible que dans le spectre du camphre, on remarque aussi l'apparition d'un nouveau pic localisé à 1024 cm^{-1} de la liaison relative à la fonction $\text{C}=\text{S}$, ce dernier est absent sur le spectre du camphre. le produit est impur on remarque d'autres pics des impuretés.

2.1.2 Thiothujone :

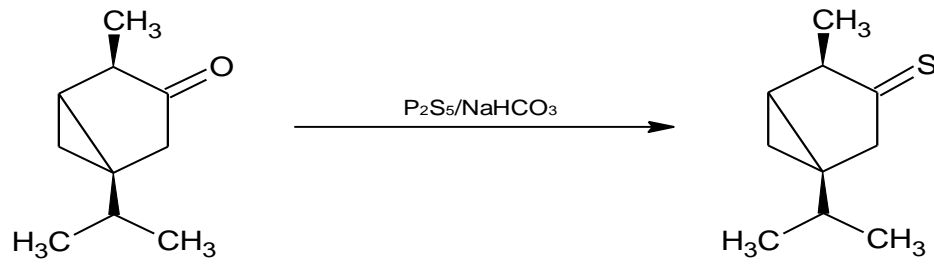


Figure 24 Réaction de thionation de l' α -thujone

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{S}$ (PM 168 g/mol)

Aspect : liquide orange.

Indice de réfraction : 1,4703

Indice de réfraction du produit de départ : 1,449

2.1.2.1 Caractérisation par IR

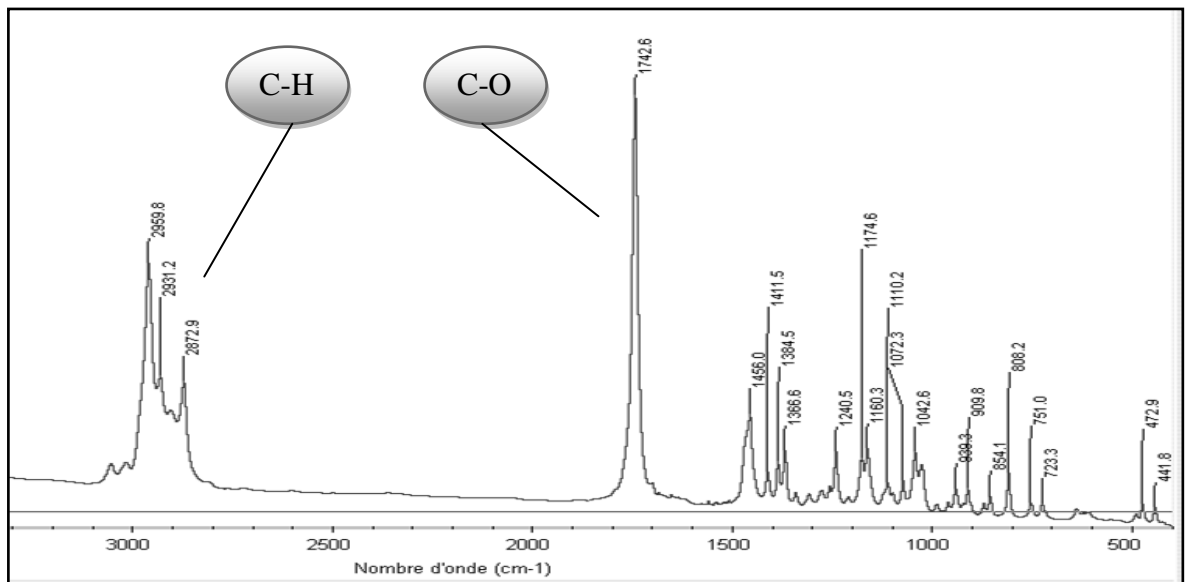


Figure 25 Spectre IRTF de l' α - thujone

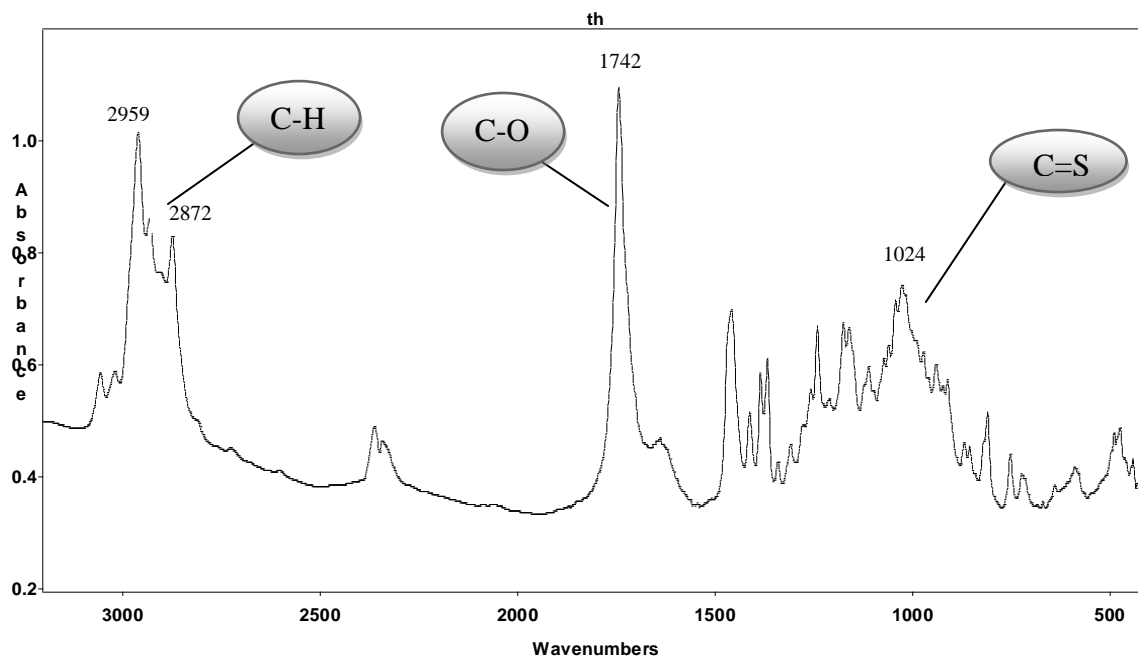


Figure 26 Bande IR de l' α - thiotujone

La ressemblance entre le spectre de l' α -thujone et l' α -thiothujone est remarquable, ils sont caractérisés par des bandes d'élongation pointue entre 2959 et 2872 cm^{-1} des groupements méthylique (-CH₃) et (-CH₂-), le spectre IRFT de l' α -thiothujone se distingue par un nouveau pic localisé à 1024 cm^{-1} relative à la fonction thiocarbonyle (C=S) et la diminution de la bande situé à 1742 cm^{-1} qui correspond à la fonction carbonyle (C=O).

2.1.3 Thio 2-undécanone :

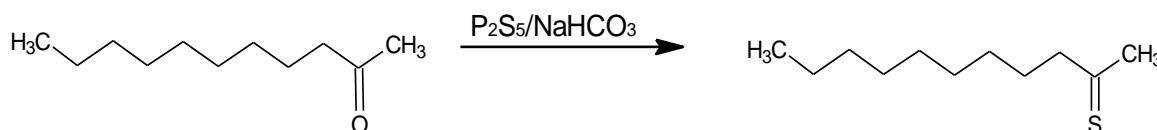


Figure 27 Réaction de thionation de 2-undécanone

$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{S}$ (PM= 186 g/mol)

Aspect : liquide jaune.

Indice de réfraction : 1,5401

Indice de réfraction du produit de départ : 1,4301

2.1.3.1 Caractérisation par IR

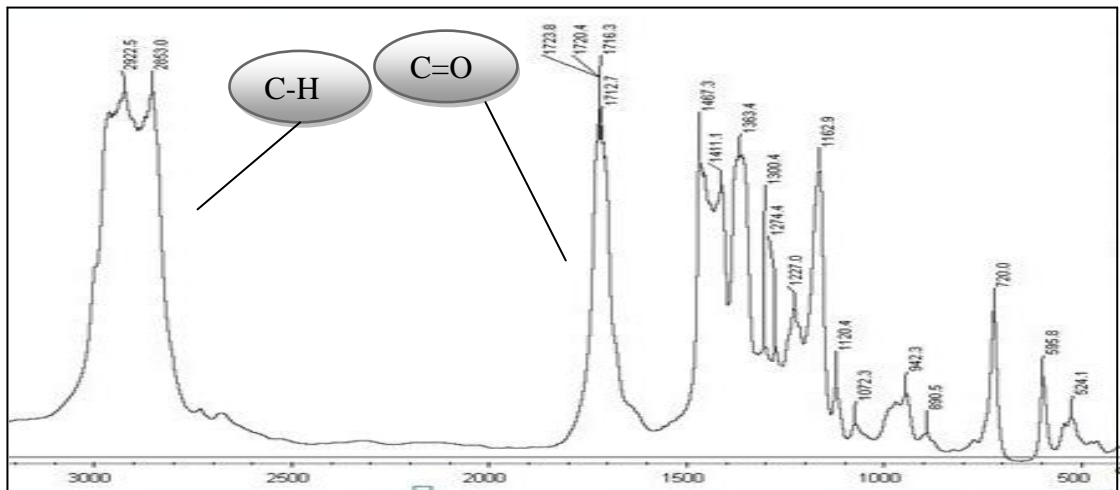


Figure 28 Spectre IRTF de 2-undécanone natif

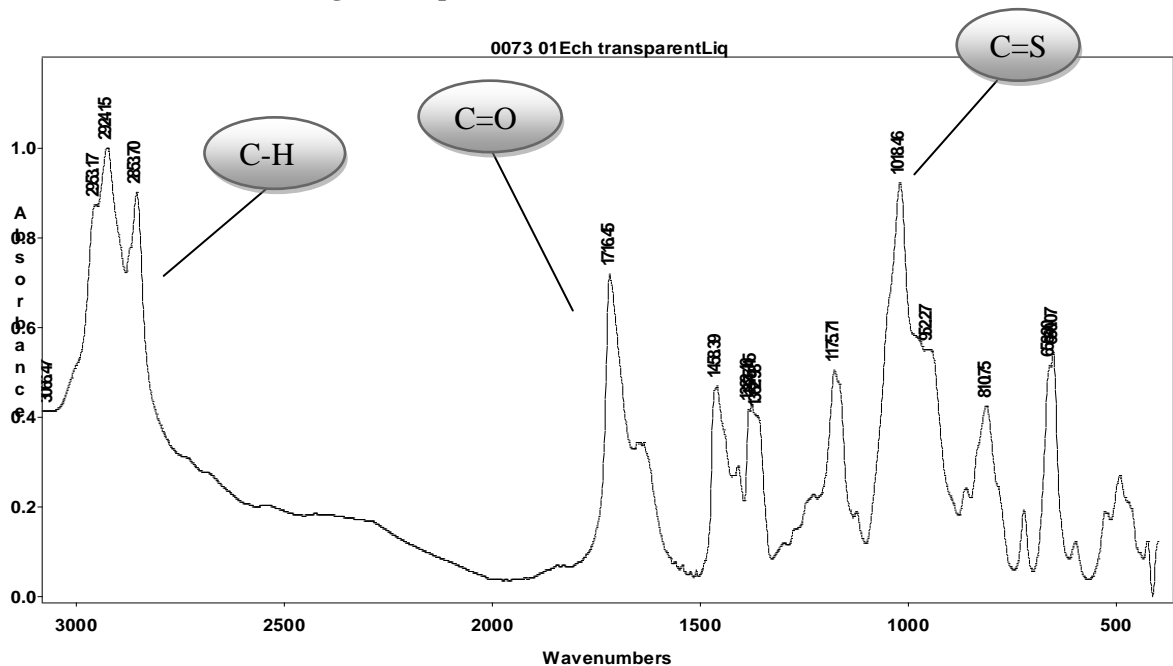


Figure 29 Bande IR du thio-2-undécanone

Les spectres IRFT de 2-undécanone et de thio-2-undécanone sont très similaires, on observe respectivement les mêmes bandes à 2922 cm^{-1} et à 2853 cm^{-1} de la liaison C-H des groupements $-\text{CH}_3$ et $-\text{CH}_2$, la bande du groupement carbonyle C=O vers 1716 cm^{-1} , cette dernière est moins intense dans le cas de thio-2-undécanone, on remarque aussi l'apparition d'un nouveau pic situé à 1018 cm^{-1} responsable de la vibration de la liaison thiocarbonyle C=S, cette bande est absente sur le spectre de 2-undécanone.

2.1.3.2 Caractérisation par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Le chromatogramme du 2-undécanone montre la présence d'un pic identifié par spectre de masse avec une masse de 170 g (annexe 1).

L'analyse chromatographiques de 2-undécanone modifié a donné le chromatogramme suivant :

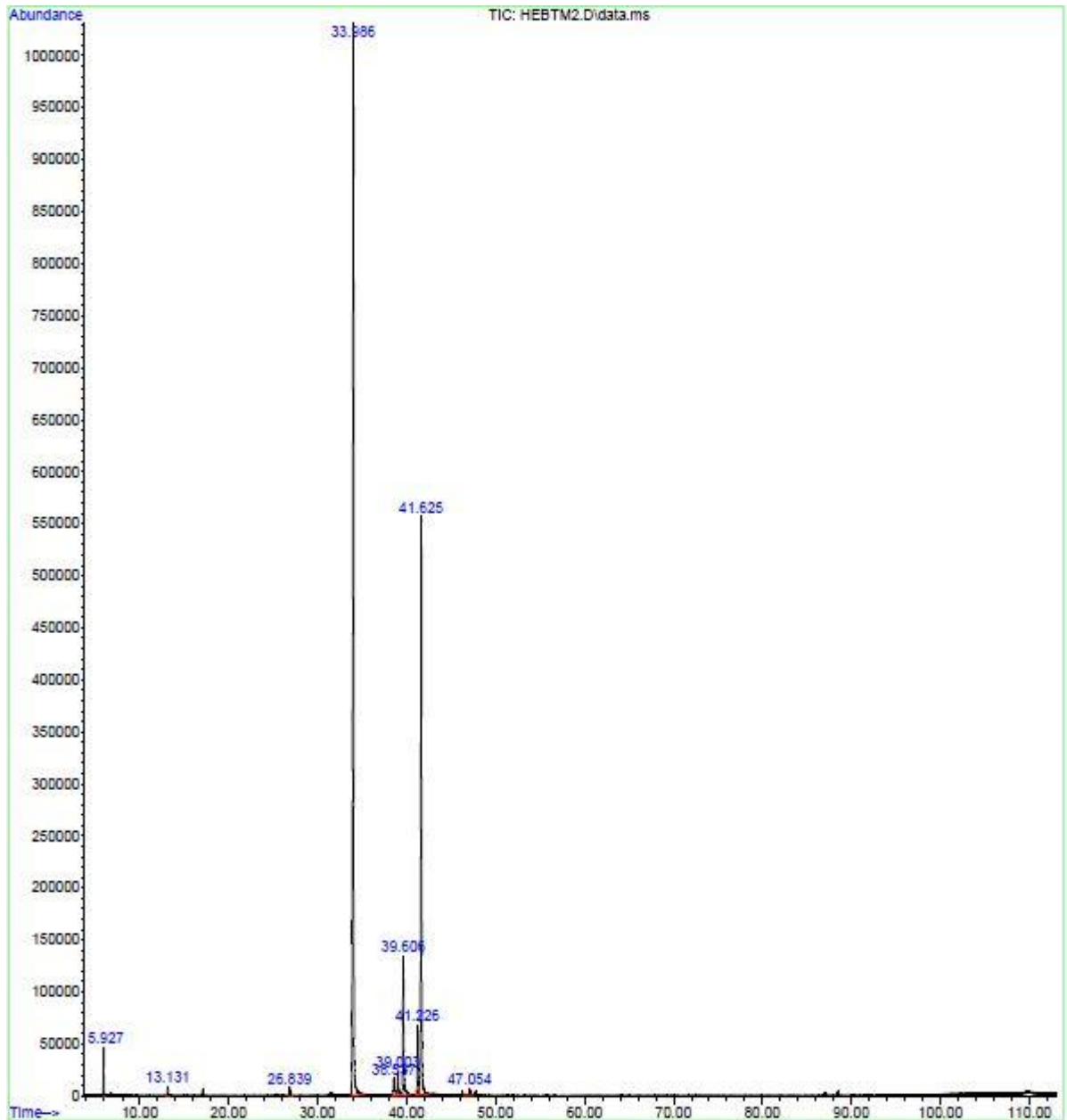


Figure 30 Chromatogramme de Thio-2-undécanone

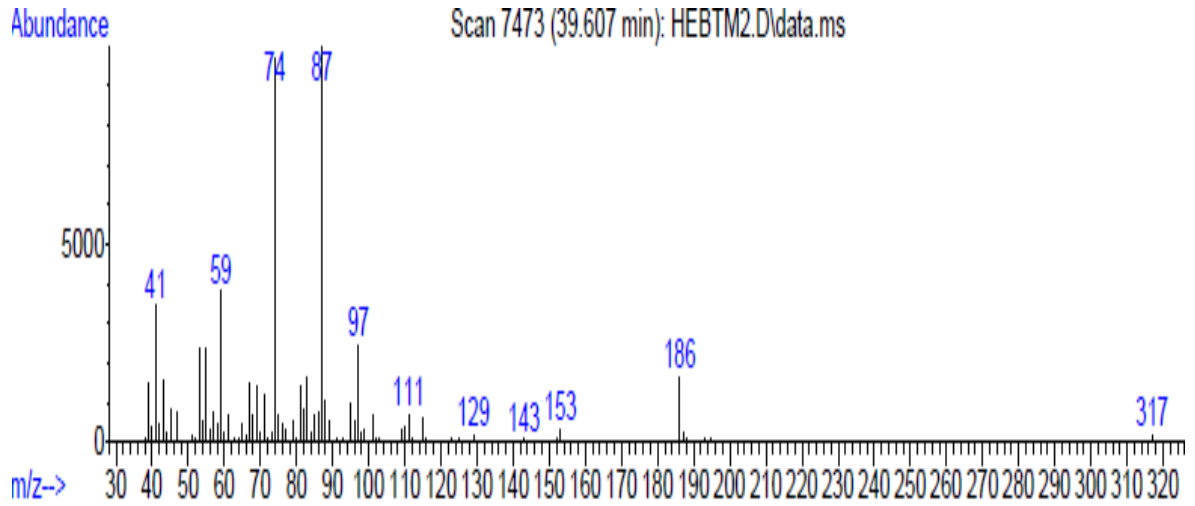


Figure 31 Spectre de masse de thio-3-undecanone

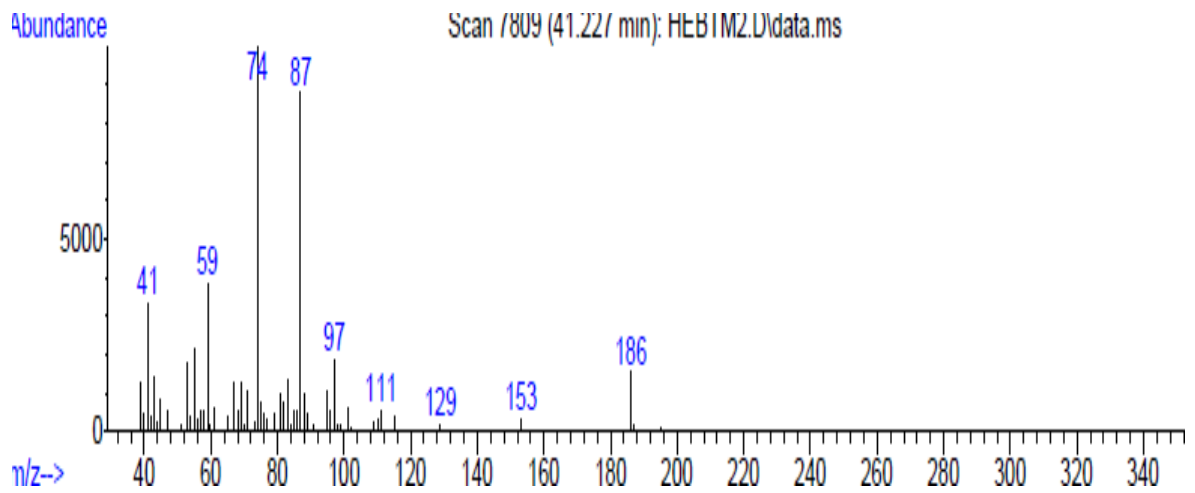


Figure 32 Spectre de masse de thio-2-undécane

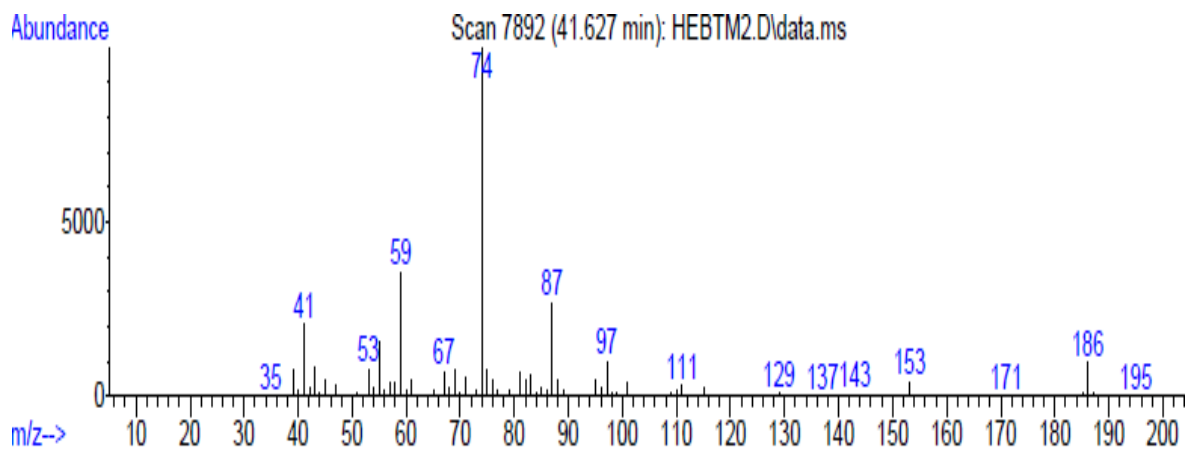
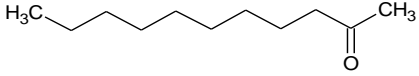
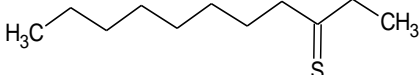
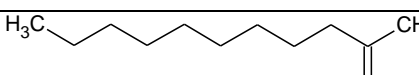
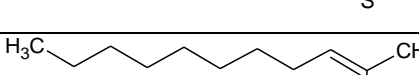


Figure 33 Spectre de masse de 2-undec-2-enthionol

L'analyse par CG/SM dans les conditions citées auparavant a permis l'identification des composés regroupés dans le tableau suivant.

Tableau 11 composition de 2-undécane modifié

composé	Formule	T _R (min)	Teneur (%)
2-undécane		33,986	54,78
thio-3-undécane		39,606	7,40
thio-2-undécane		41,226	3,83
2-undec-2-enthionol		41,625	28,95

Le chromatogramme obtenu après thionation du 2-undécane montre la présence de 3 pics identifiés par le spectre de masse et possèdent une masse de 186 g spécifique à la présence du soufre à la place de l'oxygène, en plus de 2-undécane restant. Le premier pic à 41,625 min possède une masse de 186 g mais un spectre de masse différent des deux autres pics à 41,226 et 39,606. Les fragments fils de ces derniers pics sont identiques par contre le pic de base pour le pic de 41,625 min à une masse de 74 g attribué au fragment de la forme ene-thiol conditionné par la formation du 2-undec-2-enthionol obtenu par dissolution du thio-2-undécane dans le méthanol par effet tautomère. Les 2 autres pics sont attribués respectivement au thio-3-undécane et thio-2-undécane.

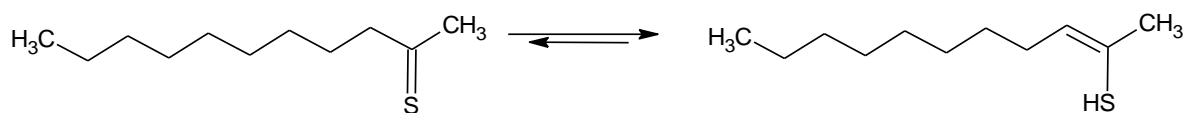


Figure 34 Tautomérie

2.2 Thionation des huiles essentielle :

2.2.1 Huile essentielle de l'armoise

Aspect : liquide rouge.

2.2.1.1 Caractérisation par IR :

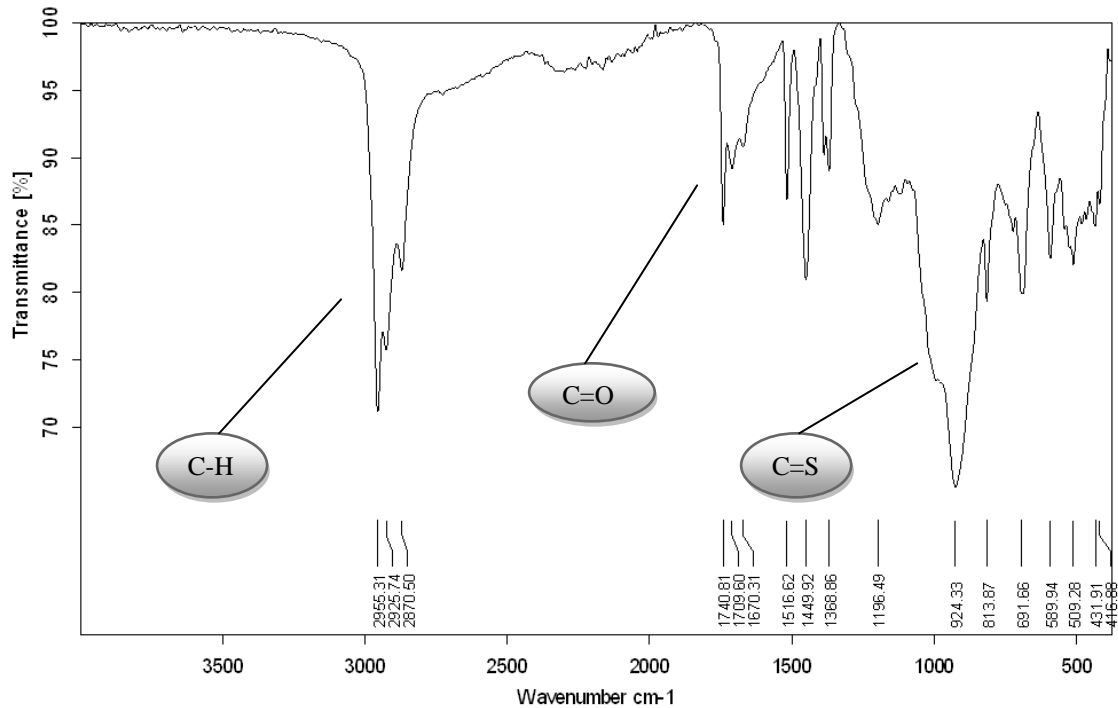


Figure 35 Spectre IR de l'HE de l'armoise blanche modifié

Sur le spectre de l'HE de l'armoise modifié, on observe respectivement les mêmes bandes de l'HE de l'armoise (figure), on remarque l'apparition d'un nouveau pic à 1024 cm⁻¹ après thionation, ce dernier correspond à l'absorption du groupement C=S, cette bande est absente sur le spectre de l'armoise par conséquent on observe la diminution du pic responsable de la vibration de la fonction cétone situé à 1740 cm⁻¹.

2.2.1.2 Etude analytique de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

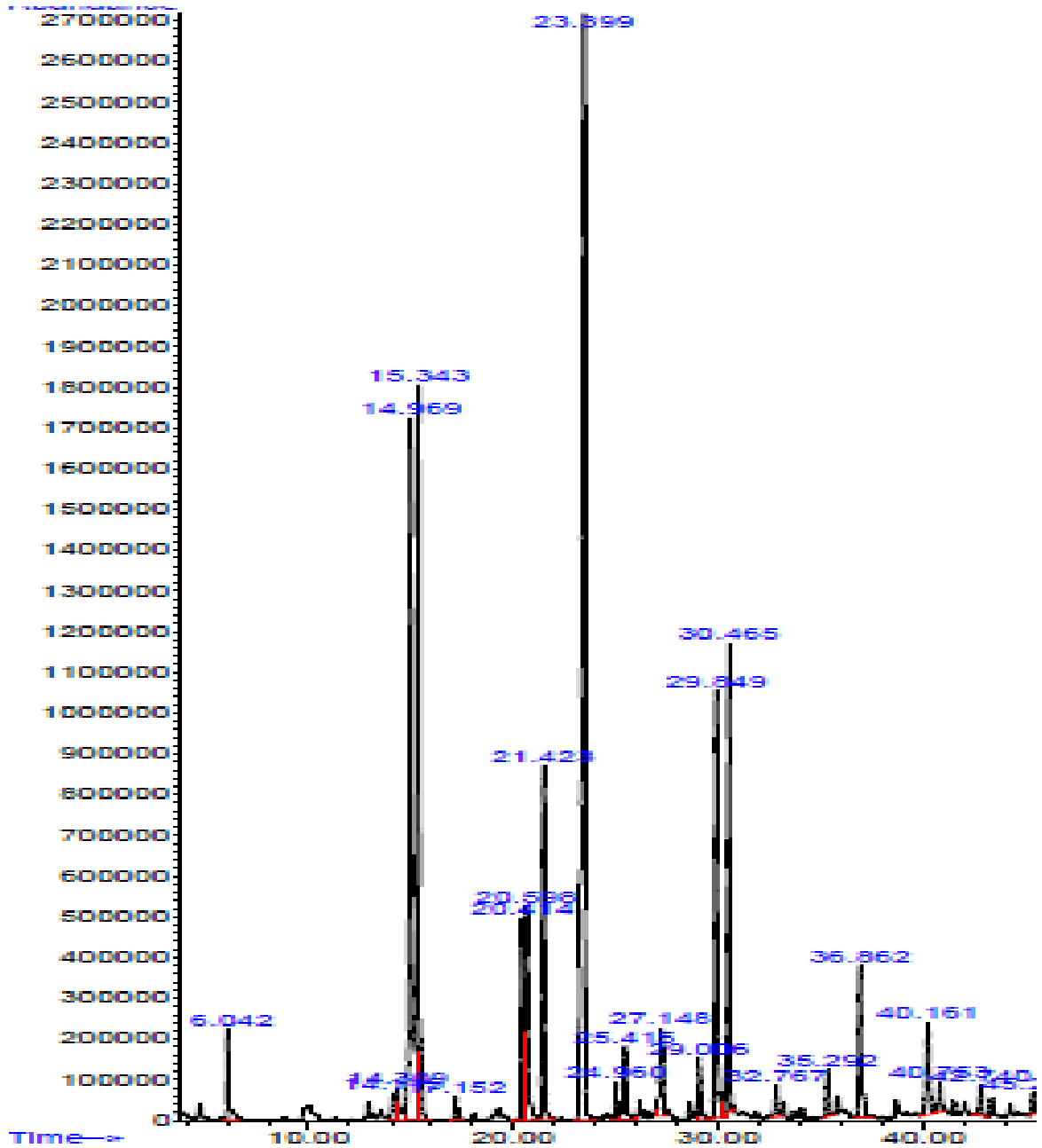


Figure 36 Chromatogramme de l'HE de l'armoise modifiée

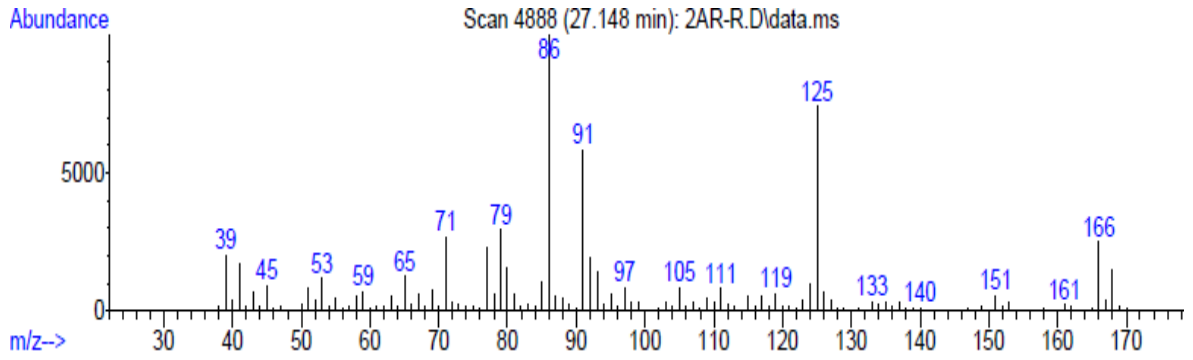


Figure 37 Spectre de masse du thiofilifolone

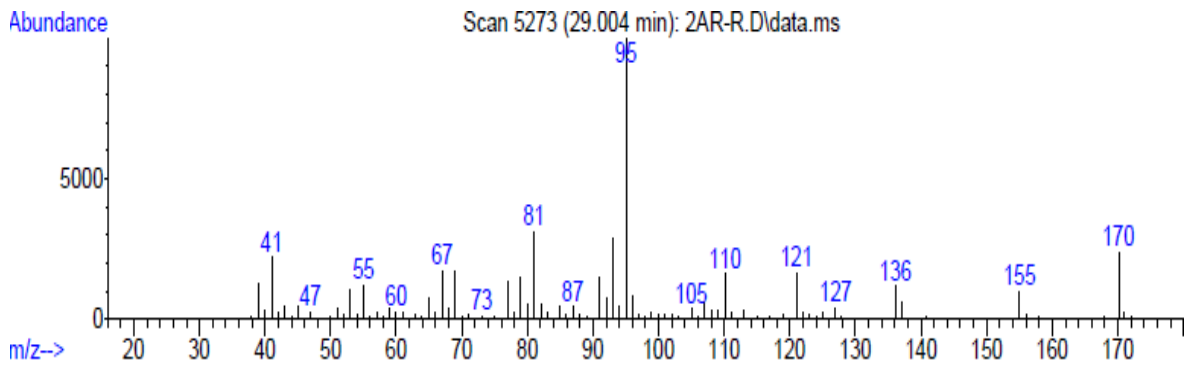


Figure 38 Spectre de masse de thio- α -thujone

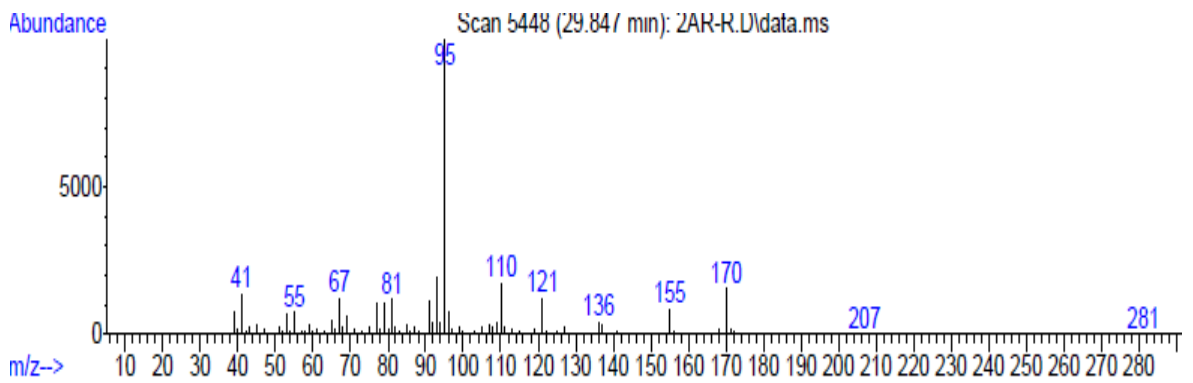


Figure 39 Spectre de masse de thio- β -thujone

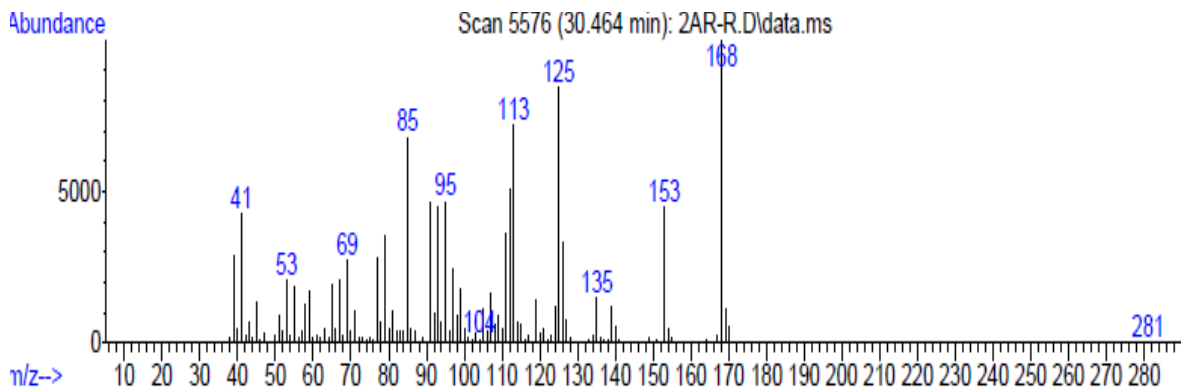
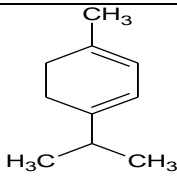
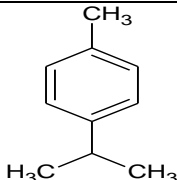
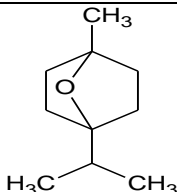
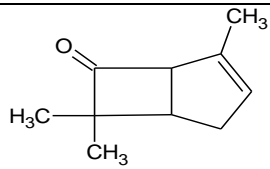
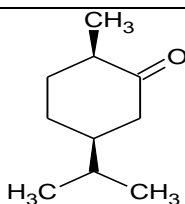
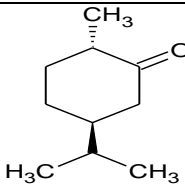
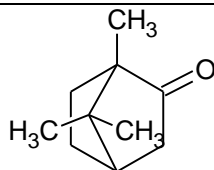
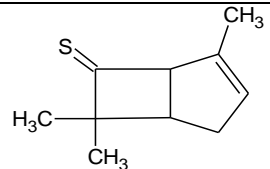
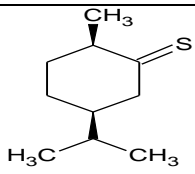
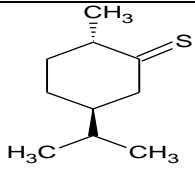
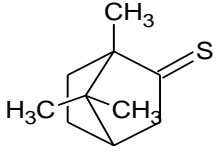


Figure 40 Spectre de masse de thiocamphor

L'analyse par CG/SM dans les conditions citées auparavant a permis l'identification des composés regroupés dans le tableau.

Tableau 12 Composition chimique de l'HE de l'armoise blanche

composé	Formule	T _R (min)	Teneur (%)
α -terpinène		14,30	0,58
p-cymene		14,969	14,18
1,8-cineole		15,343	14,91
Filifolone		20,414	4,09
α -thujone		20,598	4,38
β -thujone		21,423	7,18
Camphre		23,399	22,36
Thiofilifolone		27,148	1,9

composé	Formule	T _R (min)	Teneur (%)
Thio- α -thujone		29,006	1,32
Thio- β -thujone		29,849	8,62
Thiocamphor		30,465	9,64

La classification des composants identifiés est basée sur les groupements fonctionnels, les résultats chromatographique montre la présence de monoterpènes thionés, Thiofilifolone (1.9%), Thio- α -thujone (1.32%), Thio- β -thujone (8.62%) et le Thiocamphor (9.64%), nous constatons que la conversion n'été pas totale, par conséquence des monoterpènes oxygénés sont présent dans l'huile essentielle, le camphre qui est le constituant majoritaire (22.36%), le filifolone (4.09%), l' α -thujone (4.38%) et le β -thujone (7.18%). Ils sont accompagnés d'autres monoterpènes hydrocarbonés tels que le α -terpinéne (0.58%) et le p-cymene (14.18%).

2.2.2 Huile essentielle de la Rue :

Aspect : liquide jaune foncé.

Indice de réfraction : 1,5

2.2.2.1 Etude analytique de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

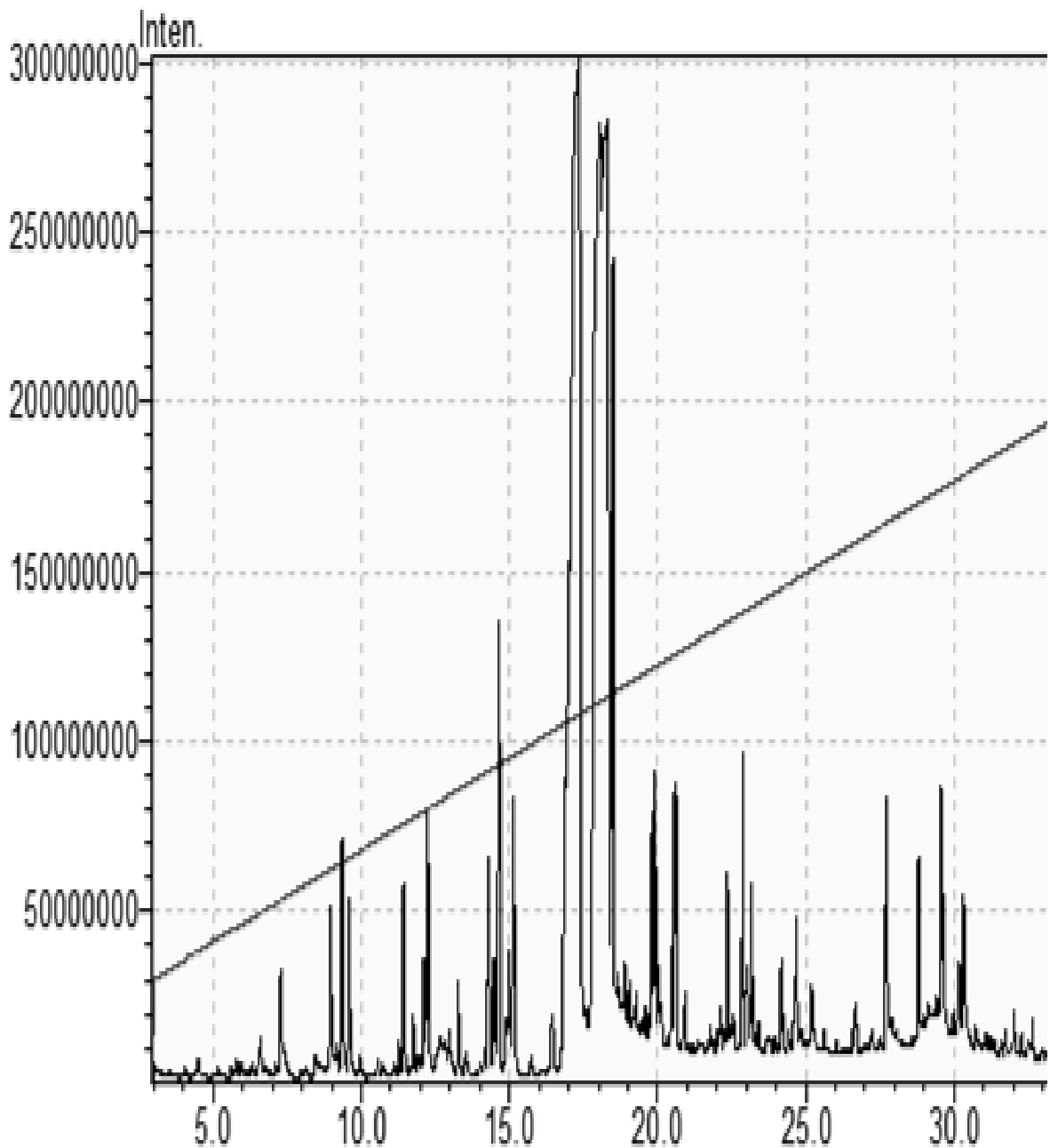
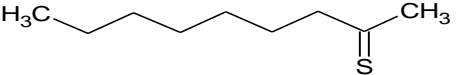
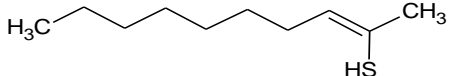
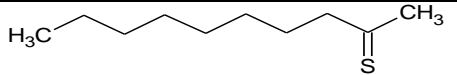
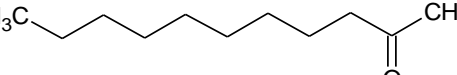
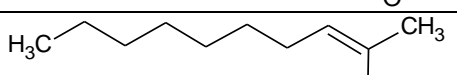
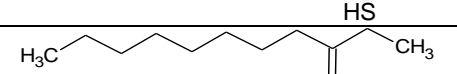
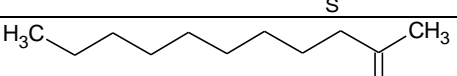
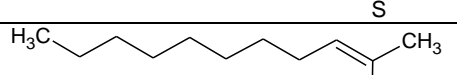
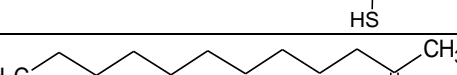
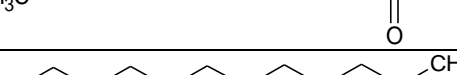
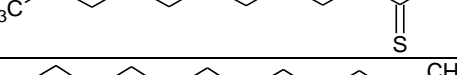
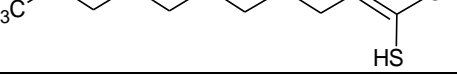
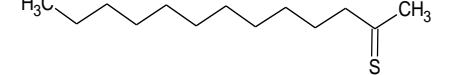


Figure 31 : Chromatogramme de l'HE de la rue modifié

Tableau 13 Composition chimique de l'HE de la rue de montagne modifié

Composé	Formule	T _R (min)	Teneur (%)
2-Thiononanone		11,42	2,89
nonan-2enethiol		12,28	3,68
2-Thiodecanone		14,25	3,16
2-undecanone		14,63	6,58
Decane-2enthio		15,21	3,93
3-thioundecanone		17,97	14,74
2-thioundecanone		18,27	13,88
Undecan-2-enthio		18,67	11,84
2-dodecanone		18,88	1,57
2-thiododecanone		19,81	3,68
Dodecan-2-enthio		20,51	4,21
2-thiotridecanone		23,04	1,58
Tridecane-2-enthio		23,18	2,89

- **Interprétation**

Le chromatogramme de l'huile essentielle après thionation montre la présence d'un nombre élevé de pics, ces derniers possèdent des spectres de masse des cétones de l'huile essentielle avant modification : le 2-undecanone (6,58%) et le 2-dodecanone (1,57%), et des nouveaux thiocétone obtenus le 2-Thiononanone (2,89%) le 2-Thiodecanone (3,16%), le 2-thioundecanone (13,88%) ainsi que son isomère qui possède la même masse molaire et un spectre de masse similaire le 3-thioundecanone (14,74%), le 2-thiododecanone (3,68%) et le 2-thiotridecanone (1,58%) ainsi que les formes ene-thiol obtenu par tautomérie.

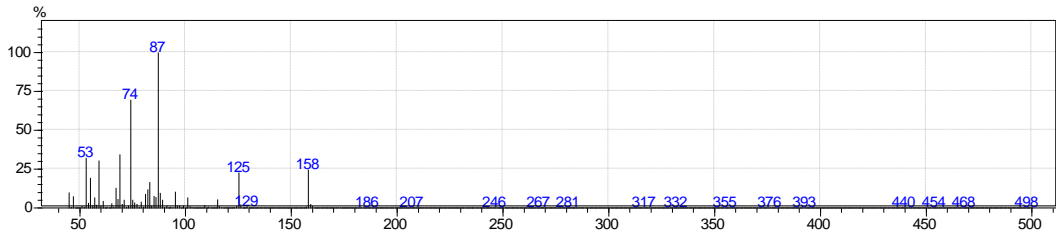


Figure 41 Spectre de masse de thiononanone

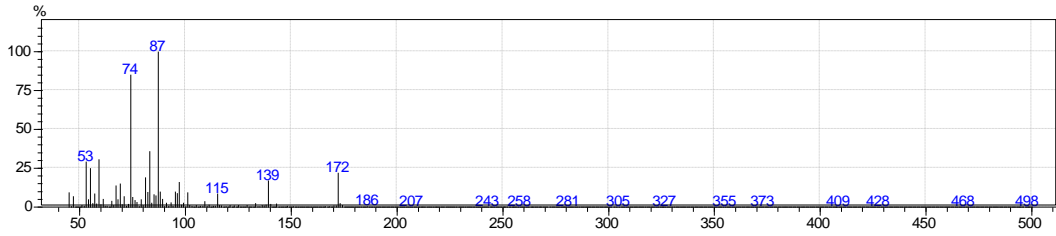


Figure 42 Spectre de masse de thiodecanone

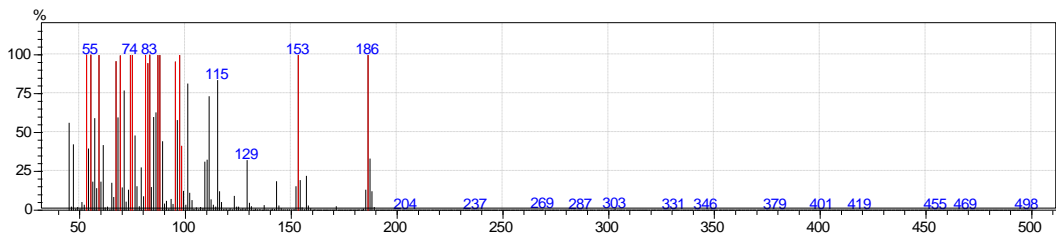


Figure 43 Spectre de masse de thio-2-undecanone

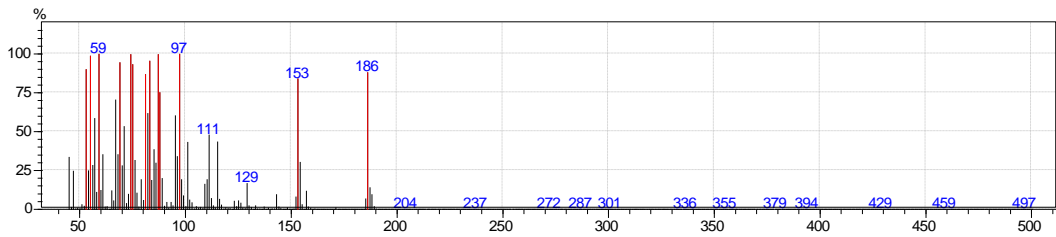


Figure 44 Spectre de masse de thio-3-undecanone

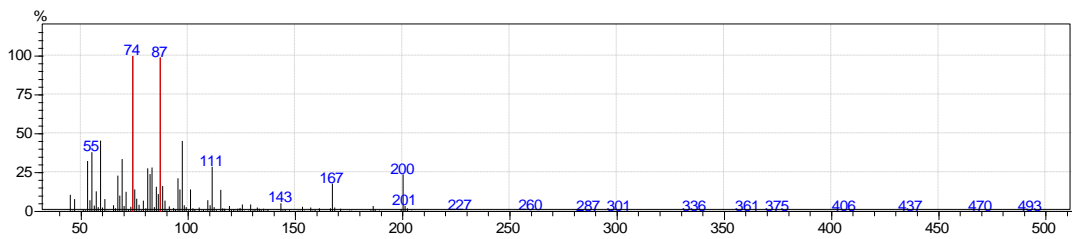


Figure 45 Spectre de masse de thiododecanone

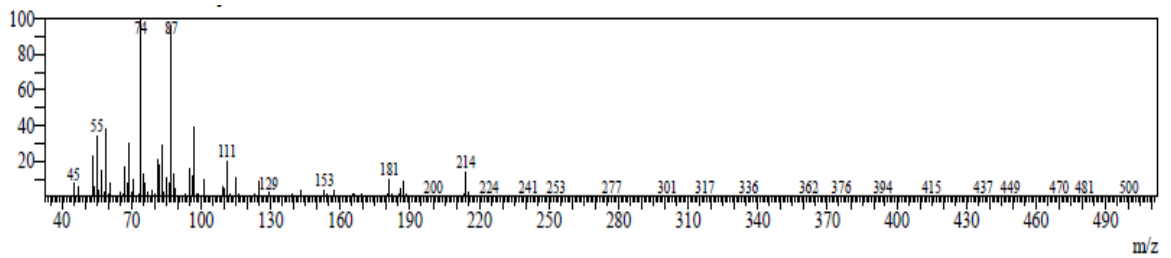


Figure 46 Spectre de masse de thiotridecanone

3 Résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne

Nous avons testé les huiles essentielles avant et après modification chimique vis-à-vis de souches bactériennes et moisissures citées précédemment en appliquant la méthode de diffusion sur disque qui nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des huiles essentielles.

3.1 Détermination de l'activité antimicrobienne:

La détermination de l'activité antibactérienne se fait par la méthode de diffusion par disques (aromatogramme). Nous rapportons dans le tableau les diamètres des zones d'inhibition des huiles essentielles de l'armoise blanche et de la rue de montagne, natif puis modifiée.

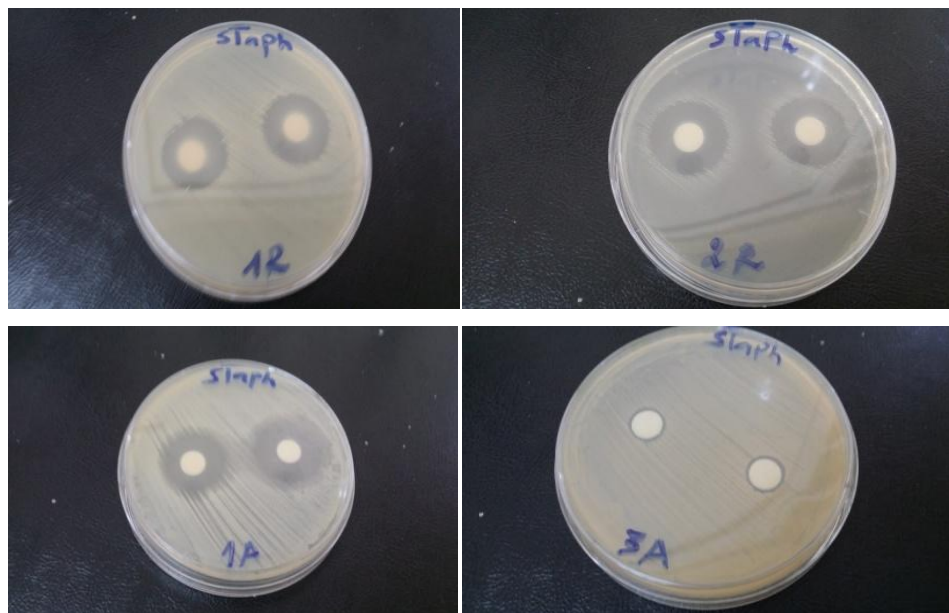


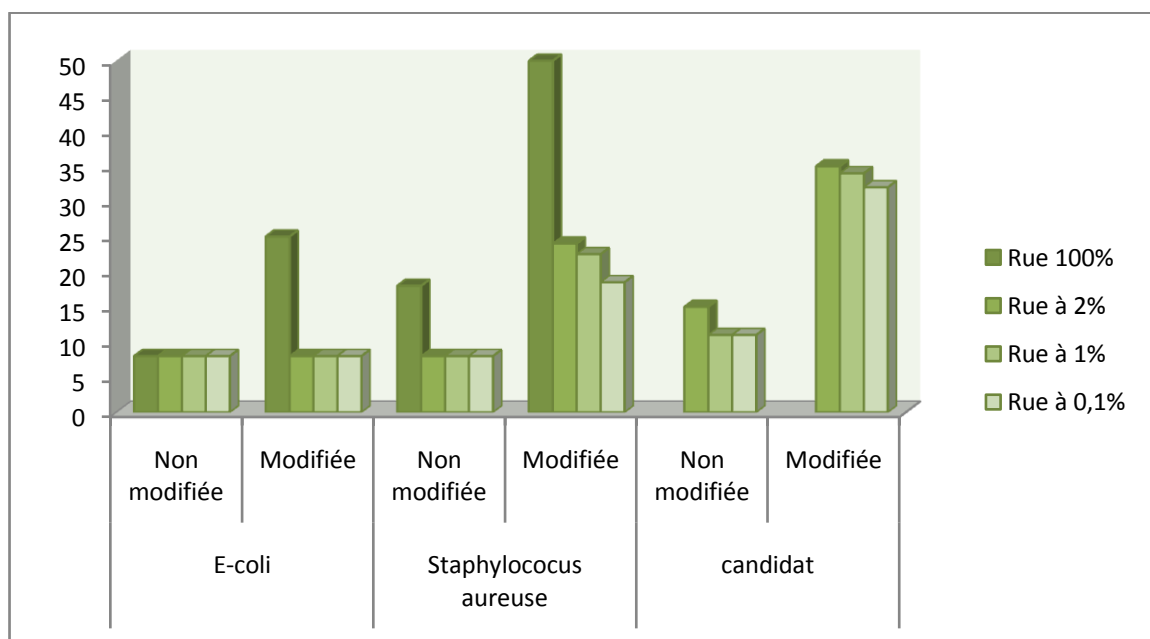
Figure 47 Résultats de l'activité de l'armoise modifiée



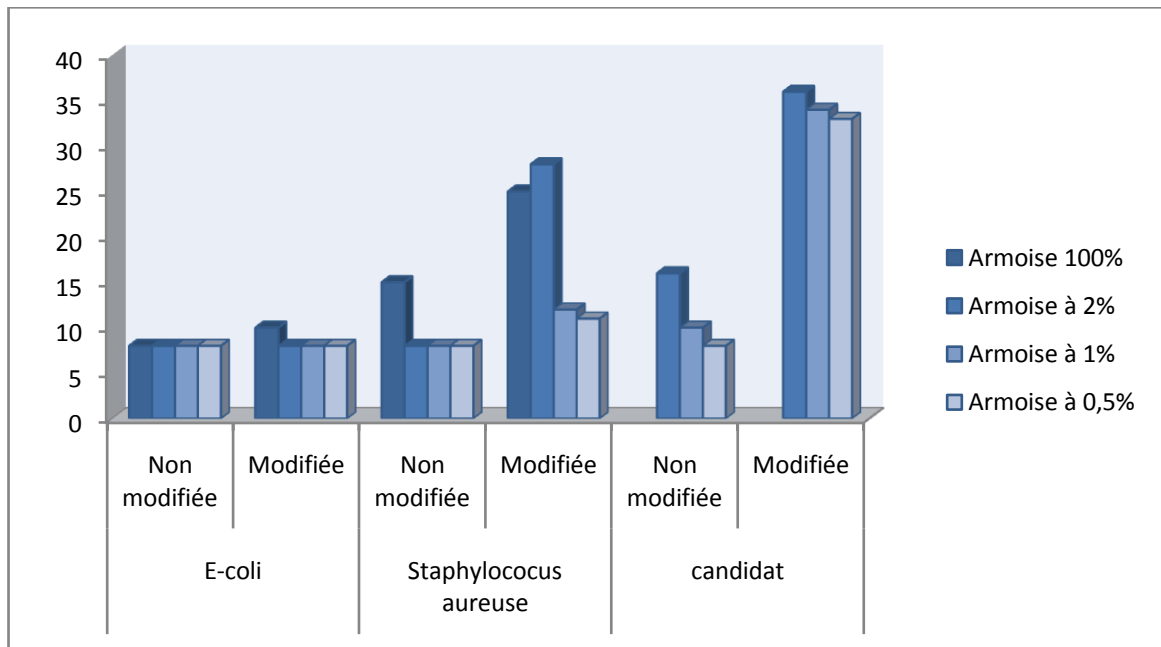
Figure 48 Résultats de l'activité de la rue modifiée

Tableau 14 Les diamètres des zones d'inhibition des différentes souches (en mm) par la méthode de disques des HEs à différentes concentrations

	E-coli		Staphylococcus aureuse		andidat	
	Non modifiée	Modifiée	Non modifiée	Modifiée	Non modifiée	Modifiée
Rue 100%	–	25	18	> 40	> 40	> 40
2-undécaneone 100%	–	23	15,5	46	> 40	> 40
Rue à 2%	–	–	–	24	15	35
Rue à 1%	–	–	–	22,5	11	34
Rue à 0,1%	–	–	–	18,5	11	32
Armoise 100%	–	10	15	25	> 40	> 40
Armoise à 2%	–	–	–	28	16	36
Armoise à 1%	–	–	–	12	10	34
Armoise à 0,5%	–	–	–	11	–	33



Graphique 3 Activité antibactérienne de l'HE de la rue de montagne



Graphique 4 Activité antibactérienne de l'HE de l'armoise blanche

- **Interprétation :**

En premier lieu Il faut noter que tous les dérivés thioné testés ont montré des diamètres d'inhibition supérieure devant celles des huiles essentielles natifs.

En outre, l'activité de l'huile essentielle de l'armoise est du probablement à la présence des composés majoritaire: camphre, thujone, 1,8-cinéole.

Bien que l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle soit attribuée principalement à son composé majoritaire, l'effet synergique ou antagoniste de chacun de ces constituants présents en faible teneur est également considéré.

Dans la présente étude, la bactérie à Gram négatif (*Echerichia coli*) est avérée la plus résistante. Plusieurs travaux notamment ceux de ont confirmé la grande résistante des bactéries G- par rapport aux G+. Ce constat peut être dû à l'action de certains composés volatiles de l'huile essentielle étudiée d'une part et a la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries G- qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrant d'autre part.

Nous remarquons que la souche *Candida* est la plus sensible à toutes les huiles essentielles elle révèle des résultats assez modérés, les meilleurs zones d'inhibitions sont observées pour l'huile essentielle de la rue de montagne.

Du point de vue stérique nous avons constaté que la molécule dont le substituant présente une chaîne linéaire (2-undécanone), a une activité supérieure à celle qui possède une chaîne cyclique.

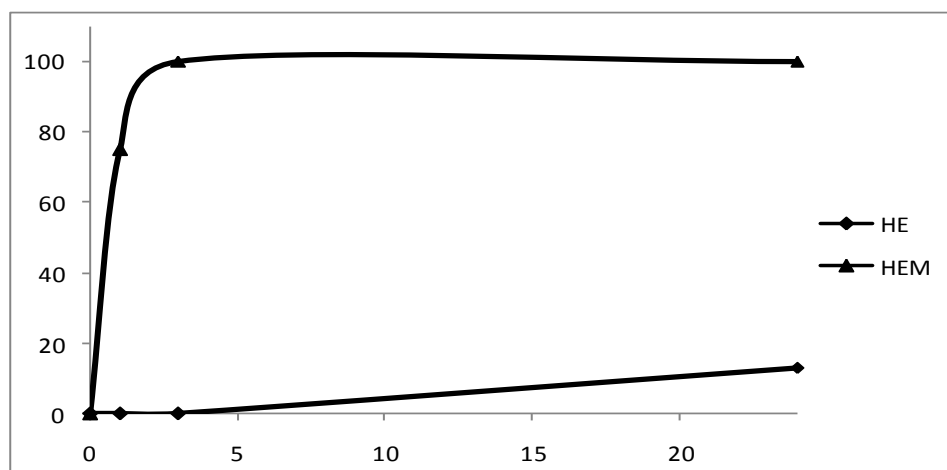
Les composés thionés possèdent une activité très intéressante surtout contre la souche *candidat*, malgré la non solubilité totale du produit, il révèle des résultats assez modérés, les meilleurs zones d'inhibitions sont observées pour l'huile essentielle de la rue de montagne.

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

4 Résultats de l'évaluation de l'activité insecticide

L'application des deux huiles essentielles comme insecticide contre à donner les résultats suivants :

4.1 Huile essentielle de la rue de montagne :

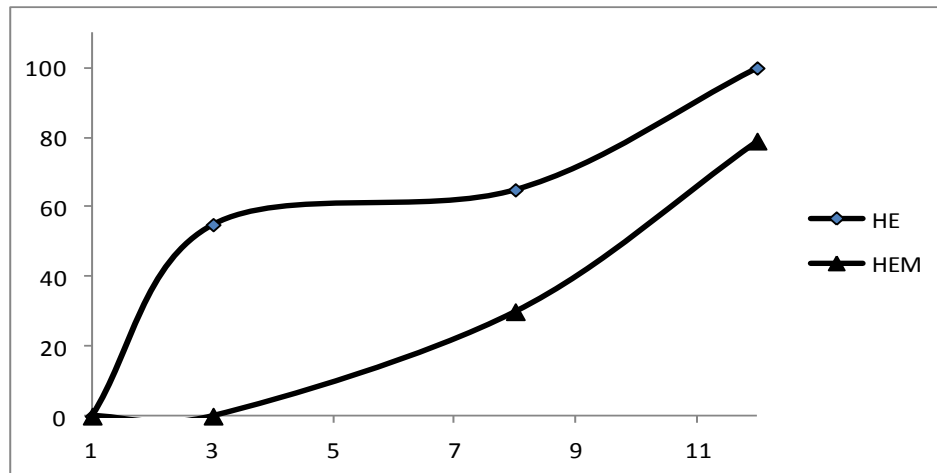


Graphique 5 Variation du taux de mortalité des insectes traité par l'HE de la rue native et modifié en fonction du temps

- **Interprétation**

Les résultats consignés dans le tableau montrent que l'huile essentielle de la Rue de montagne ne manifestent une activité insecticide vis-à-vis la *Sitophilus Oryzae* qu'après 3h d'exposition avec un taux de mortalité de 13.33%, par contre le taux de mortalité de l'HE modifiée après la même durée atteint son maximum 100%.

4.2 Huile essentielle de l'armoise blanche :



Graphique 6 Variation du taux de mortalité des insectes traité par l'HE de l'armoise native et modifiée en fonction du temps

- **Interprétation :**

La figure montre l'action de l'huile essentielle de l'armoise blanche avant et après thionation vis-à-vis des charançons de blé

La 1^{ère} courbe représente l'effet de l'huile essentielle de l'armoise blanche contre la *Sitophilus Oryzae* par fumigation, les *Sitophilus Oryzae* ont été éliminés totalement après 12h.

Par contre le taux de mortalité de la même HE modifiée par action de $P_2 S_5$ dans le CS_2 en présence de $NaHCO_3$ atteint après 12 h une valeur de 70%

Conclusion

Ce travail a été mené dans le cadre d'étudier la thionation des huiles essentielle de l'armoise blanche et de la rue de montagne.

Les résultats obtenus indiquent que le remplacement du groupe carbonyle par un autre thiocarbonyle par action du P_2S_5 sur les cétones contenues dans les huiles essentielles de la rue de montagne et de l'armoise blanche (extraient par entrainement à la vapeur d'eau) est responsable de nouvelles propriétés physiologiques et biologiques de ces huiles essentielles.

Les analyses IFTR montre la disparition de la bande C=O des cétones aliphatiques et le remplacement de celle-ci par un groupe thiocarbonyle.

La même remarque est présente dans le spectre IFTR de l'armoise blanche, ou les groupements carbonyles de la α -thujone, β -thujone et le camphre sont remplacés par des nouveaux groupements thiones.

Ces résultats sont confirmés par l'analyse GCMS ou de nouveau thiocétones ont été identifiées, le 2-thioundécanone de la rue et la α -thiothujone, β -thiothujone et le thiocamphor de l'huile essentielles de l'armoise blanche.

Ces modifications chimiques ont été confirmées par l'amélioration des activités microbiologique vis-à-vis des souches microbienne et fongique, et insecticide vis-à-vis de la souche *Sitophilus Oryzae*.

A la lumière de ces résultat encouragent il est recommandée d'étudiée l'amélioration du rendement et par conséquence des procédées de purification.

Il est aussi utile de réduire le temps de réaction par substitution du chauffage conventionnelle par les microondes et les ultras sons.

Référence

Bibliographique

[1] **S. MANSOUR**, M.A. TARIQ, M.A. YAHYA, S. RAFATULLAH, O.T. GINNAWI and A.M.AGEEEL, J. Ethnopharmacol, 28 (1990) 305-312.

[2] **FEUERSTEIN L. Muller D. Hobert.. K. Danin A.. Sega R. (1986)**. The constituents of essential oils from *Artemisia herba alba* population of Israel and Sinai. *Phytochemistry* 25, 2343-2347.

[3] **J.-J. FILIPPI**, X. Fernandez*, E. Duñach (2007) Les composés volatils soufrés en chimie des arômes p-2

[4] **DURVELLE J.-P., 1893** : Fabrication des essences et des parfums. Editeur J. FRITSCH, Paris.in : **Nabil BOUSBIA**, Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires these de doctorat en chimie P3.

[5] **DURVELLE J.-P., 1930** : Fabrication des essences et des parfums. Ed. Desforges, Girardot et Cie, 807 p. in: **Nabil BOUSBIA**, Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires these de doctorat en chimie P3.

[6] **CHARABOT E. ; DUPONT J. & PILLET L., 1899** : Les huiles essentielles et leurs principaux constituants, Ed. CH. Beranger, Paris.

[7] **NAVES Y.R., 1976** : Parfums, Cosmétiques, savons, Vol. 58, p. 105. Cité in GARNERO J., 1996 : Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur K345 pp 1-45. in: **Nabil BOUSBIA**, Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires these de doctorat en chimie P3.

[8] **AFNOR, 2000** : Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P.

[9] **KALEMBA D. & KUNICKA A., 2003.-** Antibacterial and antifungal properties of essential oils.

[10] **Burt, S. A., & Reinders, R. D. (2003)**. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology* 36(3), 162-167.

[11] **SANTOYO S., CAVERO S., JAIME L., IBNEZ E., SENORANS F.J. & REGLERO G., 2005.-** Chemical composition activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection*. **68**: 790-795.

[12] **KIMBARIS A.C., SIATIS N.G., Daferera D.J., Tarantilis P.A., Pappas C.S., Polissiou M.G., 2006.**- Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason Sonochem.* **13**: 54-60.

[13] **PEYRON L., 1992** : Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques. Chapitre 10, pp 217 – 238. *Cité In* : Les arômes alimentaires.

BRUNETON J., 2009, *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales*, 4e Ed, Lavoisier, Paris, p.1269.

[14] **DELEVEAU P., Lorrain M., Mortier F., Rivolier C., Rivolier J., Sche Weitzer A.R., 1985**, *Secrets et vertus des plantes médicinales*, Ed. Selection du Reader's Digest, Paris.

[15] **BELAICHE P., 1979**, *L'aromatogramme, Traite de phytothérapie et d'aromathérapie*, M.S.A.Editeur, Paris, Tome 1, p :204

[16] **NYEGUE, M. A. (2005)**. Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques et/ou médicinales du Cameroun : Evaluation de leurs activités antiradicalaires, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Thèse de doctorat en chimie organique, minérale, analytique et industrielle (p. 184): Université des sciences et techniques de Languedoc, Montpellier.

[17] **AKROUT A., Chemli R., Chreif I., Iamniani M. (2001)**. Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L **Flavour and fragrance Journal 16: 337-339.**

[18] **HUDAIB m, Aburjai, Talai A Journal of Essential Oil Research: JEOR, May/June 2006**
Composition of the Essential Oil from Artemisia herba-alba Grown in Jordan Jan-Feb,
y. 18, no. 1p.97-99

[19] **DOB T., Cihlome C. (2006), Chemical composition of the essential oil of *Artemisia judaica* L. from Algeria. Flavour and fragrance journal, vol. 21, n°2, pp. 343-347.**Dob T.,

[20] **FLEISHER Z., Fleisher A., Nachbar R. (2002)**. Chemovariation d'*Artemisia herba-alba* Asso. plantes aromatiques de la terre Sainte et le Sinai. Partie XVI. *J. Essent. Oil Res.*, **14**, 156-160

[21] - **S. AMRA, J. Sci. Food. Agri. 55 (1991) 75 - 85**

[22] **R. P. A. INIGO, M. E. L. BE VIANA, C. A. N. CATALAN and D. I. A. DE IGLESIAS, Essenze Deriv. Agrum., 51 (1981) 349-351**

[23] **K. H. C. BASER, T. ÖZEK and S. H. BEIS, J. Essent. Oil Res., 8 (1996) 413 - 414.**

[24] **A. RUSTAIYAN**, M. KHOSSRAVI, F. SULTANI – LOTFABADI, M. YARI, S. MASOUDI and A. MONFARED, *J. Essent. Oil Res.*, 14 (2002) 378 - 379.

[25] - **G. D. BAGCHI**, P. D. DWIVEDI, S. MANDAL, A. A. NAQVI and S. KUMAR, *Indian Perfumer*, 47, 1 (2003) 39 – 41

[26] - **G. D. BAGCHI**, P. D. DWIVEDI, A. SINGH, F. HAIDER and A. A. NAQVI, *J. Essent. Oil Res.*, 15 (2003) 263 – 26

[27] - **A. VERZERA**, L. MONDELLO, S. RAGUSA and G. DUGO, *Essenze Derivati agrumari*, 70 (2000) 207 - 210

[28] **SALIMA MERGHACHE***, Mounia HAMZA et Boufeldja TABTI(2009) *Etude J. Afrique SCIENCE 05(1) (2009) 67 - 81*

[29] **RICHARD F., 1992**, *Manuel des corps gras*, Paris, Ed: Lavoisier, Tec& Doc., p. 1228-1242.

[30] **RICHARD H. et Peyron F., 1992**, *Epices et aromates*, Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris, p. 339.

[31] **Billerbeck, V.-G. d.** (2008). *Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytothérapie*, 5(5), 249-253.

[32] **Duarte, M. C. T.**, Leme, E. E., Delarmelina, C., Soares, A. A., Figueira, G. M., & Sartoratto, A. (2007). Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 197-201.

[33] **Giron, L. M.**, Aguilar, G. A., Caceres, A., & Arroyo, G. (1988). Anticandidal activity of plants used for the treatment of vaginitis in Guatemala and clinical trial of a *Solanum nigrescens* preparation. *Journal of Ethnopharmacology*, 22, 307-313.

[34] **Duarte, M. C. T.**, Figueira, G. M., Sartoratto, A., Rehder, V. L. G., & Delarmelina, C.(2005). Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2), 305-311.

[35] **Bakkali, F.**, Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A Review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.

[36] **Kurita, N.**, Miyaji, M., Kurane, R., & Takahara, Y. (1981). Antifungal activity of components of essential oils. *Agric. Biol. Chem*, 45, 945-952.

[37] **Smith-Palmer, A.**, Stewart, J., & Fyfe, L. (2002). Inhibition of listeriolysin O and phosphatidylcholine-specific production in *Listeria monocytogenes* by subinhibitory concentrations of plant essential oils. *Journal of Medical Microbiology*, 51(7), 567- 608.

[38] **ISMAN, M.B., 2005** - *Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol.*, N° 51, pp. 45-66.

[39] **Kim, K., Kim Y., Yu H., Jeong S., Cha J., Kil B. and You Y., (2003)**. Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Chrysanthemum boreale*. *Planta Med.*, **69**: 274- 277

[40] **SHAAYA E., KOSTJUKOVSKI M., EILBERG J. et SUKPRAKARN C., 1997** - *Plant oils as fumigants and contact insecticides for control of stored product insects, Journal Stored Product Research*. N° 33, pp 7-15.

[41] **GLITHO I.A., KETOH KG. et KOUMAGLO H.K. 1997** - *Effets de quelques huiles essentielles sur l'activité reproductrice de Callosobruchus maculatus Fab. Annales de l'Université de Ouagadougou Série B, Vol. N° 5, pp. 174-185.*

[42] **GAKURU S. et FOUA-BI K. 1995** - *Effet comparé des huiles essentielles de quatre espèces végétales contre la bruche du niébé (Callosobruchus maculatus Fab.) et le charançon du riz (Sitophilus oryzae L.). Tropicultura vol.13, N° 4, pp. 143-146p.*

[43] **TAPONDJOU L.A., ADLER C., BOUDA H. and FONTEM D. A., 2002** - *Efficacy of powder and essential oil from Chenopodium ambrosioides leaves as postharvest grain protectants against six-stored product beetles. Journal of stored products research, vol.38, issue N° 4, pp. 395-402.*

[44] **TAPONDJOU A.L. ADLER C., FONTEMC D.A., BOUDA H., 2003** - *Bioefficacité des poudres et des huiles essentielles des feuilles de chenopodium ambrosioides et Eucalyptus saligna à l'égard de la bruche du niébé, Collosobruchus maculatus Fab. (Coleoptera, Bruchidae), cahier d'étude et de recherches francophones/ agriculture, Vol. 12, N°6, pp. 401-407.*

[45] **Heath H.B., 1981.** Source Book of Flavours. Westport: Avi, pp.890.

[46] **Boyle W., 1955.** - Spices and essential oils as perspectives. *American Perfumer Essential Oil Review*. **66**: 25-28.

[47] **Burt S., 2004.-** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology*. **94**: 223-253.

[48] **Hassania K. BENCHEQROUN, Mohamed GHANMI, Badr SATRANI (1), Abderrahman Aafi et Abdelaziz CHAOUCH (2012)** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc

[49] **ATTOU Amina** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent (2011) p-70

Partie pratique microbio :

[50] **LAUK L.** ; 2000 ; Antimycotic activity of *Ruta chalepensis* L. ; Etudes Chimiques et Pharmacologiques ; Des Sources du Savoir aux Médicaments du Futur ; p : 436-439.

[51] **IVANOVA A.** et al; 2005; Antimicrobial and cytotoxic activity of *Ruta graveolens*; Fitoterapia 76; Ed: ELSEVIER; p: 344-347.

[52] **EMEA** (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products); 1999; Committee for Veterinary Medicinal Products: *Ruta graveolens*; EMEA 98 (542); p: 1- 4.

[53] **DE FEO V., DE SIMONE F. et SENATORE F.**; 2002; Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*; Phyto-chemistry 61; Ed: PERGAMON PRESS; p: 573-578.

[54] **OLIVA A** et al; 2003; Natural fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves, including an quinolone alkaloid; Journal of Agricultural and Food Chemistry 51; p: 890- 896.

[55] **BURGA L.N.**; 2005; Methyltransferases from *Ruta graveolens* L.: molecular Biology and Biotechnology; Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften; Fachbereich Pharmazie der Philipps-Universität Marburg; p: 1-28.

[56] **Lahlou M., 2004**, Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils,Phytotherapy Research, p. 435-448.

[57] **Iserin P., (2001)**. *Encyclopedie des plantes medicinales*. Ed : Larousse Bourdasse .Paris . p.335

[58] **Garreta R. (2007)**. *Des simples à l'essentiels : De l'herboriste à l'aromathérapie*. Edition les Anthropologiques, Toulouse. P. 367.

[59] **Dorman H.J.D., Deans S.G. (2000)** .Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. - *J. Appl. Microbiol.* **88**, 308-316

[60] **Lahlou M., 2004**, Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils,

[61] **Rota MC., Herrea A., Martinez C. et al (2008)**. Antibacterial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*,*T.zygis* and *T.lymolis* essential oils. *Food.control.***19**:681-687.

[62] **Mebarki N. (2010)**. Extraction de l'huile essential de thymus fontanesii dt application à la formulation d'une forme medicamenteuse- antimicrobienne. These magister. Université de Boumerdes. Pp 124.

- [63] **Zaika L. L.** Spices and Herbs - Their antimicrobial activity and its determination. *J Food Safety* 1988; 9(2): 97-118.
- [64] **Santos F S R., Novales M G M.** Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotech.* 2012; 23:136–41.
- [65] **Pibiri M-C. (2006).** Assainissement microbiologique de l'aire et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles .Thèse doctorat. 36-44
- [66] **Jajacumar M., Ignacimuthus S. (2006).**In vitro antibacterial activity of some plant essential oil. *Biomed central complémentart and Alternative Medecine.* **6 (39).**
- [67] **Proença da Cunha A., (2001).** Intraspecific Chemical Variability of The Leaf Essential Oil of *Juniperus phoenicea subsp . turbinata* from Corsica . *Biochemical systematics and Ecology.* **29** : 179- 188
- [68] **Rojas A., Hernandez L., Perrada-Mirrandra R., Matg R., (1992).** Screening for antibacterial activity of crude drug extract and pure natural products from Mexican medicinal plants . *journal of Ethnopharmacology.* **35:** 275-283.
- [69] **Roquebert M-F. (2002).** Les contaminants biologiques des biens culturels. Edition Elsevier. Paris. pp 419.
- [70] **Service, RF. (1995).** Antibiotic that resists resistance. *Science.* **270:** 724- 727.
- [71] **Davidson P.M., 1997,** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial, *Food Technology*, p:148-155.
- [72] **Wendakoon C. N. et Sakaguchi M., 1995,** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices, *Journal of Food Protection* 58, p. 280-283.
- [73] **Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.F., Warmington J.R. et Wyllie S.G., 2000,** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca alternifolia* (tee tree oil), *Journal of Applied Microbiology*, p:170-175
- [74] **Dorman H. J. D. et Deans S. G., 2000,** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, p: 308-316.
- [75] **Karaman S., fligrak M., Ravid U., Ileim A (20411).** Antil>zeterial and an.tifmgai actvi-ty f the essential oû of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *J. of Ethno*, 47: 997-1001
- [76] **E. Block,** Reactions of organosulfur compounds, Academic Press : New York, 1978
- [77] **R.J. Cremlyn,** An introduction to organosulfu chemistry, John Wiley e sons : New York, 1996

- [78] **Gupta R.R** and Kumar M. (Heterocyclic Chemistry) tom ,1, 1998
- [79] **M. T. Molina**, M. Yanez, O. Mo, R. Notario et J.-L. M. Abboud, The thiocarbonyl groupe, John Wiley e sons Ltd, coll
- [80] **Laila H.** WAZNEHSUR UNE NOUVELLE VOIE D'ACCES AUX DERIVES THIOCARBONYLES ET AUX OXYDES CORRESPONDANTS, 1987 ,P-791
- [81]**M. T. Molina**, M. Yanez, O. Mo, R. Notario et J.L. M. Abboud, *The thiocarbonyl groupe* , John Wiley & Sons Ltd,coll. « The functional group chemistry / The chemistry of double-bonded functional group », 1997
- [82] **Henry, L.** Ueber eine neue Bildungs-und Dartellunsweise der Nitrile. Ann. Chem. Pharm. 1869 ; 152 ; 148-152
- [83] **Wislicenus, J.** Vorlaufige Mittheilungen. Z. Chem. 1869, 12, 324-326
- [84] **T. Murai.**, Thio-, Seleno-, Telluro-Amides., Top Curr Chem. Vol. 251, pp. 247–272, 2005.
- [85] **T.J Curphey**, J. Org. Chem. , 2002, 67, 6461
- [86] **T.J Curphey** Tetrahedron Lett. , 2002, 43, 371
- [87] **THOMAS J. Curphey** Thionation with the Reagent Combination of Phosphorus Pentasulfide and Hexamethyldisiloxane (2002) , JOC article
- [88] **A. Sudalai**, S. Kanagasabapathy., B.C. Benicewicz., Phosphorus Pentasulfide: A Mild and Versatile Catalyst/Reagent for the Preparation of Dithiocarboxylic Esters., Organic letters. Vol. 2, pp. 3213-3216, 2000.
- [89] **J. Bergman**, B. Pettersson, V. Hasimbegovic, P.H. Svensson., Thionations using a P4S10-pyridine complex in solvents such as acetonitrile and dimethyl sulfone., Journal of Organic Chemistry. Vol. 76, pp. 1546-1553, 2011.
- [90] **Vivek Polshettiwar and M. P. Kaushik.** A new, efficient and simple method for the thionation of ketones to thioketones using P₄S₁₀/Al₂O₃, June 2004, J. Tetrahedron Letters
- [91] **D. Braytonet.**, A novel heterocyclic atom exchange reaction with Lawesson's reagent: a one-pot synthesis of dithiomaltol., Chemical Communications. Vol. 251, pp. 206-208, 2006.
- [92] **C. Levinson** ., Thionation reactions of Lawesson's reagents., Tetrahedron. Vol. 25, pp. 5061-5087, 1985.
- [93] **J. Li.**, Name Reactions: A Collection of Detailed Reaction Mechanisms., Springer, Heidelberg, 2006.

- [94] **Z. Kaleta.,B.T. Makowski., T. Soós., R. Dembinski.,** Thionation Using Fluorous Lawesson's Reagent., *Org. Lett.* Vol. 8, pp. 1625–1628, 2006.
- [95] **Donald C. Dittmer, Eric S. Whitman,** Addition of thiobenzophenone to benzendiazonium-2-carboxylate, *J. Org. Chem.* 1969, vol. 34(6), pp 2004-2006. DOI : 10.1021/jo01258a118 [archive]
- [96] **E. Airiau.,** Synthèse d'hétérocycles azotés par réaction multi-composantes et domino basées sur l'hydroformulation., Thèse de doctorat, Université de Strasbourg, 2009.
- [97] **B. Pettersson.,** Synthetic studies towards 7-and 8-membered N-heterocycles, particularly 1,4- Pyrrolobenzodiazepines Total synthesis of Fuligocandin A and B, Karolinska Institute, Stockholm, 2011
- [98] **C.B. Philip.,** Organosulfur chemistry., Springer, Heidelberg, 1999.
J. Andraos., Named organic reagents., John Wiley & Sons, England, 2005.
- [99] **T.J. Curphey.,** Thionation with the Reagent Combination of Phosphorus Pentasulfide and Hexamethyldisiloxane., *J. Org. Chem.* Vol. 67, pp. 66 , 2002.
- [100] **L. Dastychova et al.,** Reactions of P4S10 with N,N-diphenylurea and N,N-diphenylthiourea., *Polyhedron.* Vol. 26, pp. 4250–4256, 2007.
- [101] **A.A. El-Barbary.,** Reaction of Esters, Ortho Esters, Acetals, Thioacetals and Epoxides with 2,4-Bis(4-methoxyphenyl)-1,3,2,4-dithiadiphosphetane 2,4-disulfide (Lawesson Reagent)., *Monatshefte für Chemie.* Vol. 115, pp. 769-777, 1984.
- [102] **Le Floch E.** 1983. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Editions Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique.
- [103] **Quezel P. et Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome. II Ed. CNRS. Paris.
- [104] **BONNIER G.;** 1999; La Grande Flore en Couleur; Ed : BELIN; Tome 3; p:205 - 206.
- [105] **BABA IASSA F. ;** 1999 ; Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb ; Ed : LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA ; p : 243 - 244.
- [106] **Djemoui Djamilia, 2012,** Contribution a l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées, Mémoire Master Académique, Université Kasdi Merbah Ouargla.
- [107] **Fauchère J.-L., Avril J.-L.,** Bactériologie générale et médicale, Ed. Ellipses, 365 pages, (2002).

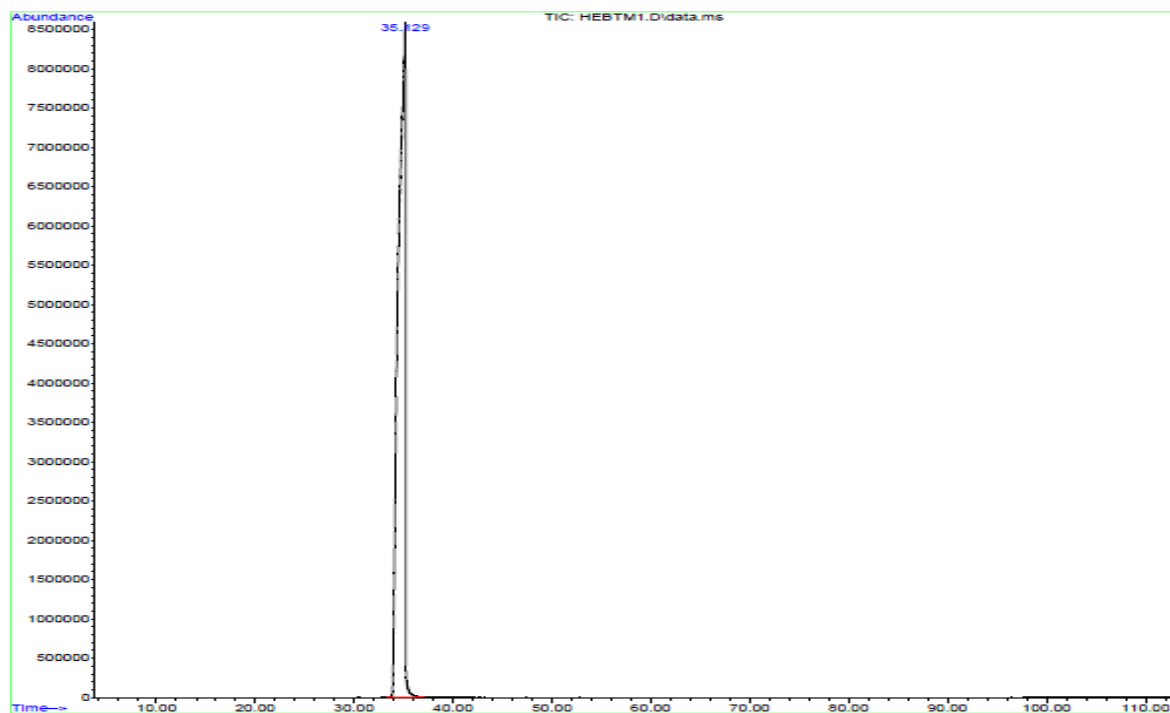
[108] **Ponce AG, Fritz R**, dell Valle C, Roura SI. 2003. Antimicrobial Activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Society of food Science and Technology, 36(7), 679-684.

[109] **Djarri L.1** , Ferhat M.1 , Merabet G.1 , Chelghoum A.1 , Laggoune S.1 , Semra Z.1,2 , Smati F.2 and Kabouche Z.1*(2013) Composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ruta montana* from Constantine (Algeria).

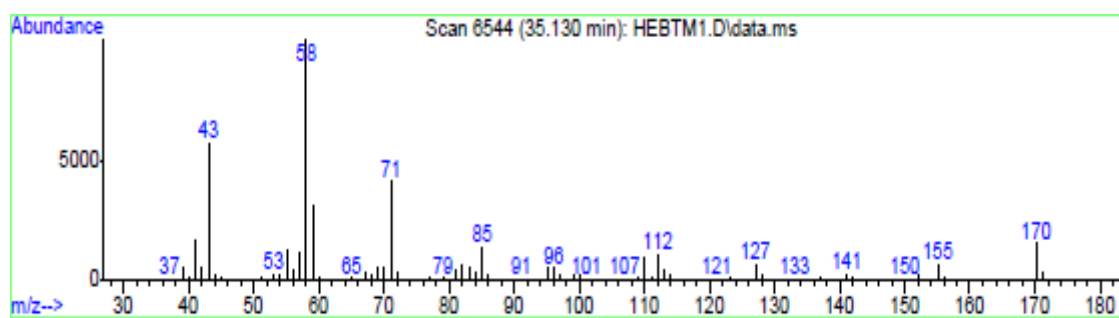
[110] **Jamel Mejrib**, Manef Abderrabbab, Mondher Mejria,b,*(2010) Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis* L: Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts

Annexe

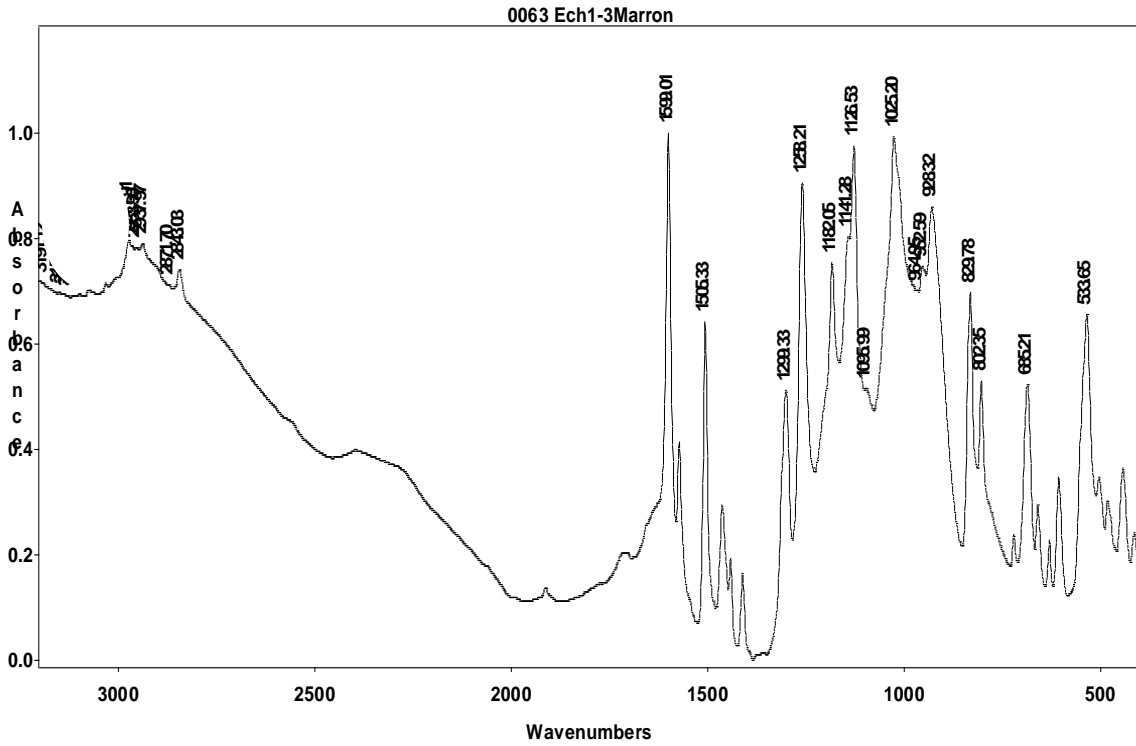
Annexe 1 chromatogramme de 2-undécane



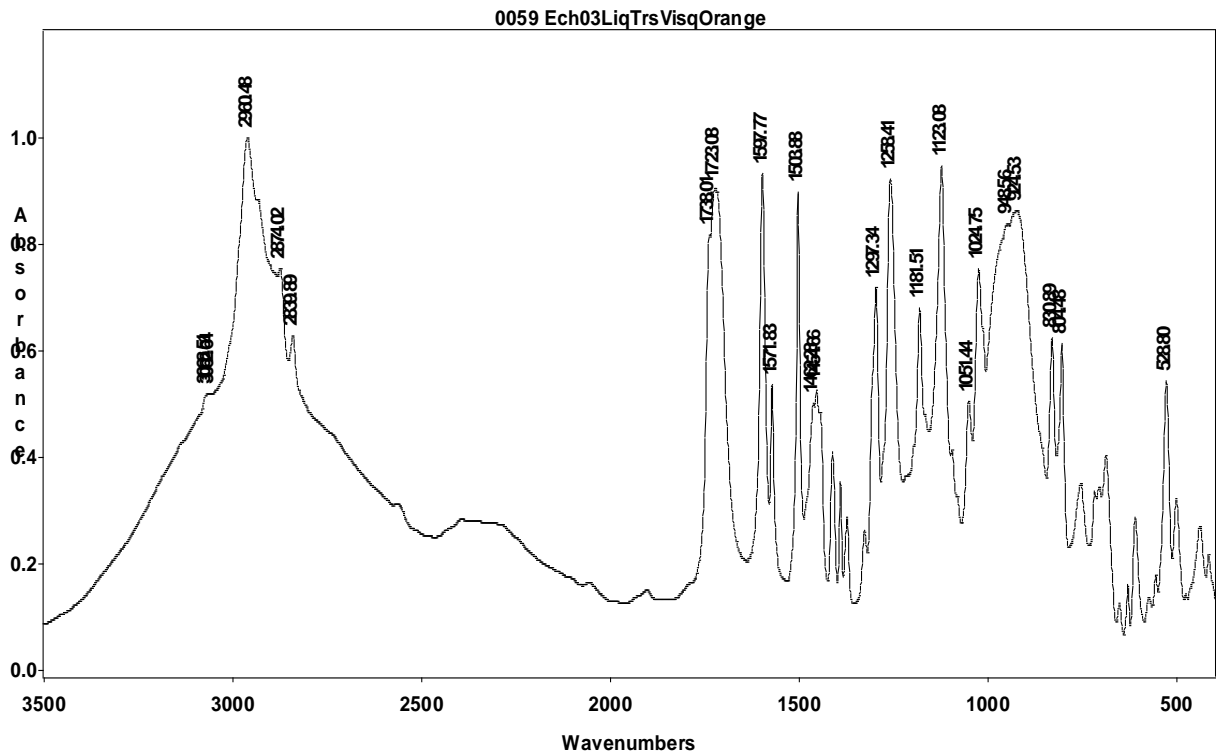
Spectre de masse



Annexe 2 : spectre FTIR



Spectre FTIR du camphre par le mode B

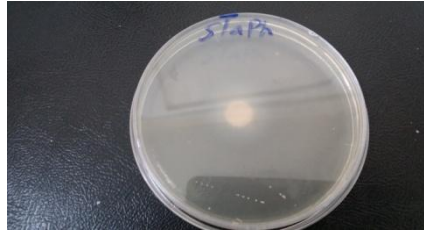


Spectre FTIR du camphre par le mode C

Annexe 3 résultat des testes microbiologique

Staphylococcus aureuse :

Rue modifié pur



Candidat :

Candidat rue non modifié 100%



Candidat Armoise non modifié 100%



Candidat armoise modifie a 2%



Candidat armoise modifie a 1 %



Candidat rue modifié 1%

Candidat rue modifié 0.5%

Annexe 4 Résultats de l'activité insecticide

Activité insecticide de la rue de montagne

temps(h)	Mt	HE	HE modifiée
		M	M
0	0	0%	0,00%
1	0	0%	75,00%
3	0	0,00%	100%
24	0	13,33%	100%

Activité insecticide de l'armoise blanche

temps	Mt	HE	HE modifiée
		M	M
0h	0	0%	0,00%
1h	0	0%	0,00%
3h	0	55,00%	0%
8h	0	65,00%	30%
12h	0	100%	70%