

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE**  
**L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE**  
**SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE « Dr. TAHAR MOULAY »**  
**DE SAIDA**

**FACULTE DES SCIENCES**  
**DEPARTEMENT DE CHIMIE**



**MEMOIRE**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

Spécialité : CHIMIE

Option : Chimie organique

Présenté Par :

**MAACHOU HENANE et DJEBLI NESSRINE**

Thème

**Etude des activités antioxydante et antimicrobienne d'extrait aqueux et l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* L.**

Soutenu le : 06/07/2021

Devant le jury composé de :

Mr. Ouici Houari Boumediene	Professeur	Université de Saïda	Président
Mr. Boudinar Mohamed	MCB	Université de Saïda	Examineur
Mr. Benhelima Abdelkader	MCA	Université de Saïda	Encadreur
Mr. Ghali Noureddine	Professeur	Université de Saïda	Co-encadreur

**Année Universitaire 2020 - 2021**

## **REMERCIEMENTS**

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.

Nous remercions aussi, notre encadreur Mr. A. BENHELIMA Maitre de conférences A à l'Université Dr. TAHAR MOULAY de Saida, pour ses précieux conseils et son soutien à tous les instants. Sa gentillesse, ses grandes qualités scientifiques et humaines ont contribué au bon déroulement de ce travail. Ses critiques et sa compétence ont été un solide appui et un réconfort.

Nous exprimons aussi notre profonde gratitude à notre co-encadreur Mr. N. GHALI Professeur à l'Université Dr. TAHAR MOULAY de Saida, pour ses conseils, ses remarques et le temps qu'il nous a consacré.

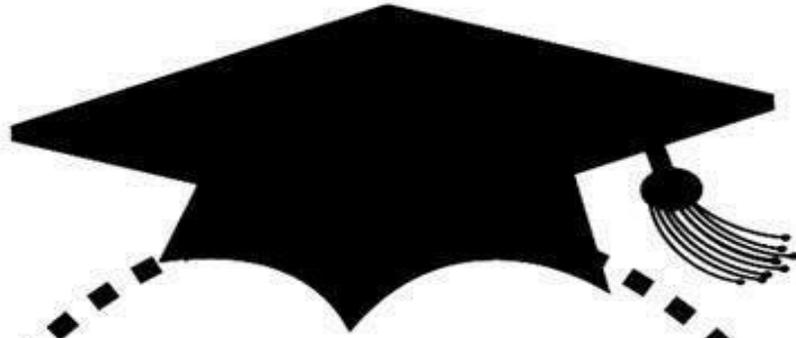
A Mr. H.B. OUCI Professeur à l'Université Dr. TAHAR MOULAY de Saida, pour l'honneur qu'il nous a fait en président ce jury, qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance.

A Mr. M. BOUDINAR Maitre de conférences B à l'Université Dr. TAHAR MOULAY de Saida, pour avoir bien voulu faire partie de ce honorable jury, qu'il trouve ici l'expression de notre reconnaissance.

Nos remerciements iront également vers tous ceux qui ont accepté avec bienveillance de participer au jury de ce mémoire.

Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé, à titre professionnel ou personnel à la réalisation de ce travail.

# *Dédicaces*



*Je dédie ce travail :  
A ma tendre mère qui m'a entouré  
d'amour, que dieu la garde.*

*A mon très cher père qui m'a aidé à devenir ce que  
je suis aujourd'hui, que dieu le protège.*

*A mes sœurs*

*Karima-Rachida-Marwa- Inass- Khaldia-Wafaa.*

*A tous mes amies Amel –Wafaa-*

*Radjaa-Zahra- Jamaa-Nadjat-*

*Chahinaz-Fatima- Hanane-Souhila*

*et Wahiba.*

*A toute ma famille et mon binôme.*

**Henane.**

# *Dédicaces*

*A*

## *MES PARENTS*

*Pour votre amour, votre soutien,*

*Pour votre assistance et votre présence dans ma vie aujourd'hui.*

*A mes deux chers frères amine et issame.*

*A mes amis d'enfance et d'étude; henane, amel et kaouthar*

*A tous mes collègues de la spécialité chimie organique avec qui j'ai  
partagé les joies et les difficultés durant ces années.*

*A mes grands-parents, que dieu les donne long vie et bon santé*

*A mes cousines, cousins, tantes et oncles*

*Djebli nessrine*

### Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Les rapports frontaux des taches obtenues pour les extraits aqueux	45
2	Résultat de la CCM (rapports frontaux) des taches obtenues pour l'huile essentielle	45
3	Composition chimique d'huile essentielle d' <i>A. absinthium</i>	47

Liste des figures		
N°	Titre	Page
1	<i>Artemisia absinthium</i> L	07
2	les feuilles d' <i>Artemisia absinthium</i> L	08
3	Squelette de base des flavonoïdes	12
4	Structure de base des tanins	13
5	Structure de base des alcaloïdes	14
6	Distillation des plantes selon Diderot et d'Alembert	15
7	Le transfert d'électron entre l'antioxydant et le radical libre	25
8	plante <i>Artémisia absinthium</i> L	31
9	Montage de hydrodistillation de type <i>Clevenger</i>	32
10	Huile essentielle récupéré	32
11	Photos montrant l'extraction par macération	33
12	Forme libre et réduite du DPPH	36
13	Le rendement en huile essentielle d' <i>Artemisia absinthium</i> L	41
14	La courbe d'étalonnage d'acide gallique (extrait aqueux)	42
15	La courbe d'étalonnage d'acide gallique (huile essentielle)	43
16	teneur en polyphénol totaux d'extrait aqueux et l'huile essentielle	43
17	La courbe d'étalonnage de catéchine (extrait aqueux)	44
18	Résultats de CCM d'huile essentielle pour le système CHCl <sub>3</sub> /MeOH	46
19	Résultats de CCM d'extrait aqueux pour le système CHCl <sub>3</sub> /MeOH	46
20	Résultats de CCM d'huile essentielle pour le système CHCl <sub>3</sub>	46
21	Résultats de CCM d'extrait aqueux (E) et l'huile essentielle (F) pour le système CHCl <sub>3</sub> /C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>	46
22	Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique (l'eau)	48
23	Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique (DMSO)	48
24	Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'huile essentielle (DMSO)	49
25	Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait aqueux (l'eau)	49
26	Résultats des valeurs IC <sub>50</sub> d'acide ascorbique, huile essentielle et extrait aqueux	50
27	Résultats de test d'activité antimicrobienne d'huile essentielle	51
28	Résultat de test d'aromatogrammes de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> testées avec l'huile essentielle d' <i>Artemisia absinthium</i> L	51
29	Résultat de test d'aromatogrammes de <i>Candida albicans</i> testée avec l'huile essentielle d' <i>Artemisia absinthium</i> L	52

## Liste des abréviations

**Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : sulfate de sodium anhydre

**RF** : facteur de rétention

**AA %** : Activité antioxydante

**R<sup>2</sup>**: coefficient de corrélation

**Abs** : Absorbance

**AlCl<sub>3</sub>** : trichlorure d'aluminium

**mg/g** : milligramme par gramme.

**g** : gramme.

**mL**: millilitre.

**L**: litre

**I %** : pourcentage d'inhibition.

**C** : concentration.

**m** : masse.

**R** : rendement.

**DMSO** : diméthyl sulfoxyde

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : carbonate de sodium.

**HE** : huile essentielle.

**H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : acide phosphotungstique

**H<sub>3</sub>PMO<sub>12</sub>O<sub>40</sub>** : acide phosphomolybdique.

**h** : heures

**W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>** : tungstène

**Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>** : molybdène

# Sommaire

Introduction général.....	01
---------------------------	----

## Partie Bibliographique

### Chapitre I: *Artemisia absinthium* L

1. Plantes médicinales .....	06
1.1. Utilisation des plantes en médecine traditionnelle.....	06
2. Présentation de la plante <i>Artemisia absinthium</i> L .....	06
2.1. Introduction .....	06
2.2. Classification phylogénétique .....	07
2.3. Description botanique .....	07
2.4. Noms scientifique et communs .....	08
2.5. Habitat .....	08
2.6. Répartition mondiale .....	08
2.7. Utilisation thérapeutique .....	08
Références bibliographiques.....	09

### Chapitre II : Métabolites secondaires

1. Introduction.....	11
2. Les composés phénoliques .....	11
2.1. Classification des polyphénols .....	11
2.1.1. Les flavonoïdes .....	11
2.1.2. Les acides phénols .....	11
2.1.3. Les tannins .....	12
2.1.4. Les alcaloïdes .....	13
2.1.5. Les saponines .....	14
2.1.6. Les anthraquinones .....	14
2.1.7. Les glucides.....	14
3. Huiles essentielles.....	14
3.1. Définition .....	14
3.2. Historique.....	15
3.3. Répartition et localisation.....	15
3.4. Utilisation des huiles essentielles.....	15
3.4.1. Phytothérapie.....	16

3.4.2. Parfumerie et cosmétologie.....	16
3.4.3. Industrie alimentaire.....	16
3.5. Le rôle des huiles essentielles.....	16
3.6. Propriétés physique des huiles essentielles.....	16
3.7. Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	17
3.7.1. Principaux paramètres d'extraction.....	17
3.8. Méthode analytique.....	18
3.8.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	18
3.8.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	18
Références bibliographiques .....	19

### **Chapitre III : Stress oxydatif et Antioxydants**

1. Stress oxydatif.....	23
2. Le Radical libre.....	23
3. Nature des radicaux libres.....	23
4. Espèces libres non oxygénées.....	23
5. Origine des radicaux libres.....	24
5.1. Source endogène .....	24
5.2. Source exogène.....	24
6. Antioxydant .....	25
6.1. Différent type des antioxydants .....	25
6.1.1. Antioxydants endogènes .....	21
6.1.2. Les antioxydants exogènes.....	25
6.2. Mécanismes d'action des antioxydants.....	26
Références bibliographiques.....	27

### **Partie Pratique**

#### **Chapitre IV : Matériels et Méthodes**

1. Introduction.....	31
2. Matière végétal.....	31
2.1. Récolte de la plante.....	25
2.2. Extraction de la plante.....	25
2.2.1. Extraction d'huile essentielle.....	25
2.2.2. Préparations extraits aqueux.....	33
2.3. Analyse quantitative des extraits.....	33

2.3.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC) .....	33
A. Extrait aqueux.....	33
B. Huile essentielle.....	34
2.3.1. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC).....	34
2.4. Analyses chromatographiques.....	35
2.4.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM) .....	35
2.4.2. Chromatographie Phase gazeuse couplée au spectroscopie de masse (GC-MS) ...	35
2.4.3. Identification des composants.....	36
2.5. Activités antioxydant par DPPH.....	36
2.5.1. Expression des résultats.....	37
2.6. Activités antimicrobienne.....	37
Références bibliographiques.....	39

### **Chapitre V: Résultats et Discussion**

Introduction.....	41
1. Extraction de l'huile essentielle d' <i>Artemisia absinthium</i> L. par hydrodistillation.....	41
1.1. Rendement .....	41
2. Macération (extrait aqueux).....	41
3. Analyses phytochimiques quantitatives.....	42
3.1. Teneur totale en polyphénol (TPC).....	34
3.2. Teneur totale en flavonoïdes (TFC).....	36
4. Analyses chromatographiques .....	37
4.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	37
4.2. Chromatographie Phase gazeuse couplée au spectroscopie de masse (GC-MS).....	46
5. Activités antioxydant par DPPH.....	48
6. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	51
Références bibliographiques.....	53
Conclusion .....	56

# **Introduction général**

### Introduction générale :

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante. [1]

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à creuser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales et culinaires en quête de molécules naturelles efficaces et dénuées de tout effet adverse. [1]

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes. [2]

L'Algérie possède une flore riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, il y a l'armoise, qui est principalement répartie dans les zones semi-arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle car elles contiennent une variété de molécules thérapeutiquement actives, dont l'espèce la plus connue est *Artemisia absinthium* L.

*Artemisia absinthium* L communément appelé « Chedjret Merieme » [3]. Cette espèce a été utilisée depuis l'antiquité dans la médecine populaire. Traditionnellement celle-ci est utilisée comme un antipyrétique, un antimicrobien, dans le traitement des plaies, des insecticides et d'autres [4].

Notre recherche est axée vers l'identification de composés phénoliques (polyphénols, flavonoïdes), l'évaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des extraits aqueux et huile essentielle de *Artemisia absinthium* L.

La présentation de notre travail est réalisée en trois parties :

- ✓ la partie théorique concernant l'étude bibliographique, relative à la plante étudiée, métabolites secondaire, Stress oxydatif et l'activité antioxydante.
- ✓ La deuxième partie du travail est expérimentale, elle est consacrée à l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydant et l'activité antibactérienne d'*Artemisia absinthium*, ceci est basée sur :
  - L'extraction d'huile essentielle et d'extrait aqueux de la plante.
  - Dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes.
  - Analyses chromatographiques :

- ❖ CCM
  - ❖ GC-SM
  - Test d'activité antioxydante.
  - Test d'activité antimicrobienne
- ✓ Dans la troisième partie, nous discutons les résultats obtenus et on termine notre étude par une conclusion.

### **Référence bibliographique :**

[1]. Boudjouref Mourad. 2011. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris* L. Mémoire Magister. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Université Ferhat Abbas Sétif.

[2]. O. Benaissa. 2011. Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la famille des composées, genres chrysanthemum et rhantherium. Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine.

[3]. Hose S.; 2002. Der Wermut – *Artemisia absinthium* – Zeitschrift Phytother. 23: 187-194.

[4]. Kordali S. ; Cakir A. ; Mavi A. ; Kilic H and Yildirim A. 2005. « Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential form three Turkish *Artemisia* species ». J. Agric. Food Chem. 53, 1408-1416.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

**Chapitre I :**  
***Artemisia absinthium* L**

### 1. Plantes médicinales :

D'après la X<sup>ème</sup> édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales" sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses" [1]. Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques.

En d'autres termes nous pouvons dire qu'une plante médicinale est une plante dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise. Au Moyen Âge, on parlait de "simples".

Dans le Code de la Santé Publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique. [2]

#### 1.1. Utilisation des plantes en médecine traditionnelle :

Depuis 150 ans, les plantes médicinales ont fourni à la pharmacie des médicaments très efficaces. Aujourd'hui, de nombreux travaux menés dans le domaine de l'ethnopharmacologie, nous montrent que les plantes utilisées en médecine traditionnelle et qui ont été testées sont souvent d'une part, des plantes efficaces dans les modèles pharmacologiques et d'autre part seraient quasiment dépourvues de toxicité. L'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie mettent en relation les savoirs ancestraux des médecins traditionnels et les connaissances scientifiques actuelles. Ce sont avant tout des domaines de recherche interdisciplinaire à l'interface des sciences de l'homme, comme l'ethnologie, l'histoire, la linguistique, et des sciences de la nature, comme la botanique, la pharmacologie, la pharmacognosie et la médecine. [3]

### 2. Présentation de la plante *Artemisia absinthium* L :

#### 2.1. Introduction :

Les Astéracées constituent l'une des plus vastes familles du règne végétal, c'est la deuxième après les orchidées. Cette famille comprend plus de 20.000 espèces végétales. Le métabolisme terpénique est généralement intense chez cette famille qui élabore une grande variété de structures : mono, sesqui, di, et tri-terpénique. La famille des Astéracées comprend de nombreuses plantes aromatiques et médicinales. Parmi les genres importants : *Artemisia* avec 300 espèces. Ils sont utilisés dans une grande partie des pharmacopées locales en raison de leurs diverses propriétés médicinales. [4]

*Artemisia absinthium* L est connu localement sous le nom de "Chiba", qu'est une espèce couramment utilisée dans la médecine traditionnelle marocaine pour ses propriétés diurétiques et antiseptiques. [5]

**2.2. Classification phylogénétique :**

- Règne : Plantes (Plantae)
- Sous-règne : Trachéophytes
- Division : Spermatophytes
- Sous-division : Angiospermes
- Classe : Eudicotylédones ou Dicotylédones vraies
- Sous-classe : Astéridées
- Clade : Campanulidées
- Ordre : Astérales
- Famille : Astéracées
- Genre : *Artemisia*
- Espèce : *absinthium*

**2.3. Description botanique :**

*A. absinthium* L (absinthe) (fig. 1) est un sous-arbrisseau vivace pouvant atteindre 1 m de hauteur. La tige, souterraine, est ligneuse, dressée et rameuse dont les feuilles alternes, aromatiques, sont bi- ou tripenniséquées et portent une pubescence dense et soyeuse sur les deux faces. Les feuilles inférieures ont des lobes lancéolés obtus. Les supérieures peuvent devenir entières et linéaires (fig. 2). Les inflorescences sont de petits capitules floraux jaunes, globuleux, disposés en grappes composées, ramifiées. Le fruit est un akène de petite taille, lisse et sans aigrette. [6]



**Fig. 1 :** *Artemisia absinthium* L



**Fig. 2 :** les feuilles d'*Artemisia absinthium* L

**2.4. Noms scientifique et communs :**

Elle est connue sous le nom absinthe, grande absinthe, herbe sainte, absinthe suisse, alvine, armoise amère. [7]

Noms vernaculaires Chedjret Meriem, chaibet el adjouz, chih quoraçani, degnatech cheik, siba, chiba. [8]

**2.5. Habitat :**

L'absinthe pousse naturellement sur les terrains arides non cultivés, sur les pentes rocheuses et au bord des sentiers et des champs. L'absinthe pousse sur des sites perturbés tels que le long des clôtures et des routes, sur les bancs d'emprunt et les tas de gravier, ainsi que sur les pâturages surpâturés et les champs récemment abandonnés à la culture. [9]

**2.6. Répartition mondiale :**

Cette espèce est mondialement distribuée de l'Europe à l'Asie du Nord. L'absinthe, originaire d'Europe, a été introduite en Amérique du Nord en 1841. Elle est maintenant naturalisée dans le nord des Etats-Unis et au Canada et pousse dans différentes parties du monde comme l'Afrique du Nord, certaines parties de l'Asie (Inde, Pakistan, Afghanistan, Iran et Sibérie) et l'Amérique du Sud. [10]

**2.7. Utilisation thérapeutique :**

La plante est réputée depuis des temps indéterminés pour ses propriétés médicinales. Elle est citée comme stimulant dans un papyrus égyptien (vers 3550 avant J-C). Les grecs et les romains l'utilisaient pour combattre les troubles de la ménopause, mais également comme vermifuge et fébrifuge [11]. Les médecins de l'antiquité en faisaient une panacée. Toute la médecine populaire attribue à la plante des propriétés apéritives, vermifuges, stomachiques. D'autres parts, l'absinthe est utilisée depuis l'antiquité pour le traitement des troubles digestifs. Les parties actives de la plante sont toutes très amères. [12]

**Références bibliographiques :**

- [1]. Jean-Yves CHABRIER. Plantes médicinales et formes plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie d'utilisation en phytothérapie. Thèse Docteur. Université Henri Poincaré, Nancy 1 (Faculté de pharmacie). Le 28 Mai 2010.
- [2]. Iserin P., Masson M., Reslellini J. 2001. La rousse encyclopédie des plantes médicinales. 2<sup>ème</sup> édition.
- [3]. Ghizlane HAJJAJ. Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Matricaria chamomilla* L. et de *Oromenis mixta* L. (asteraceae). Thèse de doctorat. Université Mohamed V (faculté de médecine et de pharmacie). Rabat. 2017
- [4]. Bruneton J. ; « Plantes toxiques végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux » Ed. Tec & Doc. Paris, 2005.
- [5]. Bellakhdar, J. Contribution à l'étude de la pharmacopée marocaine. Technique Nord-Africaine, Ed.; Maroc, 1987.
- [6]. Belaidi Nada Boubendira Kenza. Evaluation de l'activité antioxydante de L'espèce *Artemisia absinthium*. Université des frères Mentouri Constantine faculté des sciences de la nature et de la vie département de biochimie et biologie cellulaire et moléculaire. 2018.
- [7]. K. Ghédira et P. Goetz, « *Artemisia absinthium* L. : absinthe (Asteraceae) », *Phytothérapie*, vol. 14, no 2, p. 125-129, avr. 2016.
- [8]. LUCIENNE. A. D, Les plantes médicinales d'Algérie, 2<sup>ème</sup> Edition. 2010
- [9]. Maw, M. G.; Thomas, A. G.; Stahevitch, A. 1985. The biology of Canadian weeds 66. *Artemisia absinthium* L. Canadian Journal of Plant Science. 65 (2): 389-400.
- [10]. B. K. Chikka Swamy, Dwarakanath.V, Busineni Jayasimha Goud. 2020. A review on history, controversy, traditional use, ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *artemisia absinthium* linn.
- [11] S. A. Padosch, D. W. Lachenmeier, et L. U. Kröner, « Absinthism: a fictitious 19th century syndrome with present impact », *Subst. Abuse Treat. Prev. Policy*, vol. 1, p. 14, 2006
- [12]. Mansour Sadia. Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboides*, Etude in vivo. Thèse doctorat. Faculté des Sciences de la nature et de la vie. Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF.

**Chapitre II :**  
**Métabolites secondaires**

### 1. Introduction :

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils interviennent dans les relations qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires. On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. [1]

Parmi les principales familles de métabolites secondaires trouvées chez les plantes on distingue :

### 2. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins. [2]

#### 2.1. Classification des polyphénols :

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes. [3, 4]

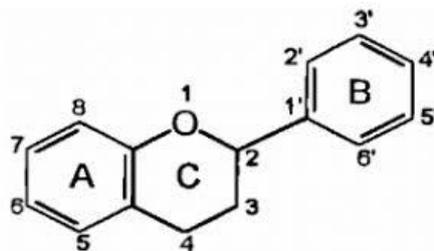
Il existe différentes classes de polyphénols, notamment : les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les lignanes, les saponines, dont les plus importants sont: les acides phénols, les flavonoïdes et les tanins. [5]

##### 2.1.1. Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde rassemble une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols [6], les flavonoïdes (du latin, flavus : jaune) au sens strict sont des pigments quasiment universels des végétaux. Ils sont présents dans la plupart des plantes, Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. [7]

➤ **Structure générale :**

Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et ils possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux unités aromatiques, de cycle en C6 (A et B), reliés par une chaîne en C3 (fig. 3). [7]



**Fig. 3 :** Squelette de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont constitués de deux cycles aromatiques liés par trois atomes de carbone qui peuvent se lier en formant un cycle oxygéné. Selon le degré d'oxydation, les flavonoïdes sont classés en six classes : anthocyane, flavonol, flavone, flavanone, isoflavone, flavanol. [8]

**2.1.2. Les acides phénols :**

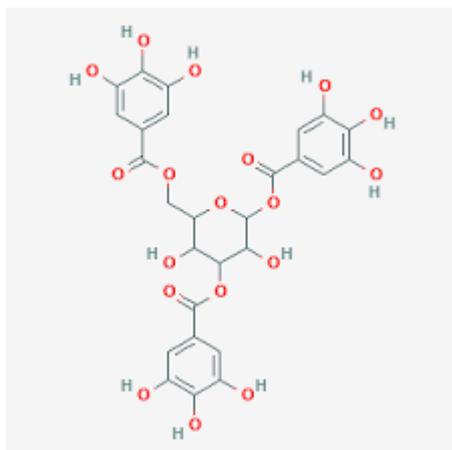
Le terme d'acide phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les acides phénoliques sont divisés en deux classes : les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque et les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique. [9]

- ❖ Acides phénols dérivés de l'acide benzoïque (C6-C1): très présent dans le règne végétal soit sous forme libre ou sous forme combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside, ex : Acide p-hydroxy benzoïque, Acide salicylique ....
- ❖ Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3) : ils présentent une distribution très large dans le règne végétal, le plus souvent estérifiés, ex : acide caféique.

**2.1.3. Les tannins :**

Les tannins (fig. 4) sont des molécules polyphénoliques de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Ils sont présents dans les feuilles, les fleurs et les graines des plantes. [10]

Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toute les parties de la plante: l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines. [11]



**Fig. 4 :** Structure de base des tanins

On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

➤ **Les tanins hydrolysables :**

Ces tanins sont des dimères d'acide gallique condensés sur un dérivé glycosyle, Ils comprennent l'acide gallique et les produits de condensation de son dimère, l'acide hexahydroxydiphénique. Comme leur nom l'indique, ces tanins subissent facilement une hydrolyse acide et basique, ils s'hydrolysent sous l'action enzymatique et de l'eau chaude. [12]

➤ **Tanins condensés :**

Les tanins condensés sont des polymères flavanolique constitués d'unités flavan-3-ols, le plus souvent épicatechine et catéchine [13]. Les tanins condensés sont des molécules hydrolysables, leur structure voisine de celle des flavonoïdes est caractérisée par l'absence de sucre. [14]

### 2.1.4. Les alcaloïdes :

Le terme d'alcaloïde a été introduit par MEISNER au début du XIX<sup>ème</sup> siècle pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis. [15]

Un alcaloïde (fig. 5) est un composé organique naturel, hétérocyclique avec d'azote comme hétéroatome, de structure moléculaire complexe plus ou moins basique et doué de propriété physiologique prononcée même à faible dose. Représentant un groupe fascinant de produit naturel ils constituent un des plus grandes groupes de métabolites secondaires avec près de 10000 à 12000 différents structures. [16]

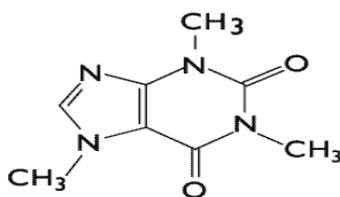


Fig. 5 : Structure de base des alcaloïdes

### 2.1.5. Les saponines :

Le nom saponines dérive du mot latin « sapo » qui signifie savon, parce que ces composés moussent une fois agités avec de l'eau. Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres, cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires explique leur comportement moussant en solution aqueuse. Comme définition on dirait qu'une saponine est un glycoside de stéroïde ou tri terpène, fondamentalement ou distingue les saponines stéroïde et les saponines tri terpénique. [17]

### 2.1.6. Les anthraquinones :

Les anthraquinones sont des composés aromatiques oxydés principalement d'origine polycétidique dérivé de cyclisation d'une chaîne octacétide. Les composés polycétides provient des chaînes polycetométhylène, la présence de groupe fonctionnelle et leur disposition sont déterminer par la séquence de réaction d'alkylation de déshydratation, d'oxydation, de condensation, d'hydroxylation et de glycosidation.

### 2.1.7. Les glucides: [18]

Les glucides sont des molécules indispensables à la survie des organismes vivants car les formes les plus simples sont à la base des mécanismes énergétiques et de la biosynthèse des autres métabolites, chez les végétaux ou le retrouve sous différent forme :

- polymère énergétiques (amidon) ou structuraux (cellulose, pectines...),
- Sucre simples,
- Hétéroside (sucre lié avec une molécule non osidique),
- Précurseurs de voies de biosynthèse.

## 3. Huiles essentielles :

### 3.1. Définition :

Dès le XVIII<sup>ème</sup> siècle, Diderot et d'Alembert font référence dans leur Encyclopédie à l'obtention des huiles essentielles par distillation de différentes plantes (fig. 6).

Pour la Pharmacopée française, les huiles essentielles sont "des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. [19]

La norme AFNOR définit une huile essentielle comme étant l'extrait obtenu à partir d'une matière végétale, par entraînement à la vapeur d'eau, par distillation sèche ou par expression des épicarpes de *Citrus*. [20]

L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. [21]



**Fig. 6 :** Distillation des plantes selon Diderot et d'Alembert.

### 3.2. Historique :

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes... etc. [22]

Civilisation arabe (Bagdad, Damas): commerce des épices et des aromates, et perfectionnement dans l'art de la distillation.

Deux noms à retenir: l'alambic et incontestablement associé à Avicenne, tout comme le vase florentin est associé à Giovanni Baptistadella porta (1540-1615).

Hermann Boerhave (1668-1738) fut l'un des premiers à décrire les huiles essentielles (HE) d'un point de vue chimique.

### 3.3. Répartition et localisation :

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal. Cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles telles que : les Conifères, les Rutacées, les Ombellifères, les Myrtacées, les Lamiacées, les Poacées... [23]

Les HE sont stockés dans tous les organes végétaux : Les fleurs (lavande...), feuilles (eucalyptus, laurier...), fruits (anis, orange...), graines (muscades...), écorce (cannelle...), rhizomes (gingembre, curcuma...), racines (vétiver...), bois (camphrier...).

### **3.4. Utilisation des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont connues par leur utilisation dans plusieurs domaines; en médecine pour le traitement de diverses maladies comme les rhumatismes, la fièvre, le diabète, de même, elles ont un effet antioxydant, antifongique et insecticide. En industrie, elles sont utilisées comme des arômes pour l'amélioration de la saveur et pour empêcher l'oxydation des aliments. [24]

#### **3.4.1. Phytothérapie :**

Les HE sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries. [25]

#### **3.4.2. Parfumerie et cosmétologie :**

L'utilisation des HE dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable. [26]

#### **3.4.3. Industrie alimentaire :**

En industrie alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure.

Une nouvelle technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des HE. Les plantes aromatiques et leur HE sont utilisés dans la conservation des denrées alimentaires. [25]

### **3.5. Le rôle des huiles essentielles :**

Les spécialistes considèrent les huiles essentielles comme des sources de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement (rôle écologique) : attraction des insectes pollinisateurs, action répulsive sur les prédateurs, inhibition de la germination des graines, voire communication entre les végétaux (émission de signaux chimiques signalant la présence d'animaux herbivores par exemple). [27]

### **3.6. Propriétés physique des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles possèdent un certain nombre de propriétés physiques communes très connues à savoir : [28]

- A température ambiante, elles sont généralement liquides; alors qu'elles sont volatiles à température élevée.
- Pouvoir intense de diffusion et de pénétration.
- Elles sont incolores à jaune pâle mais il existe toutes fois des exceptions.
- Elles ont généralement une densité inférieure à celle de l'eau ( $d < 1$ ), mais il existe des exceptions (les huiles essentielles de girofle).
- Elles sont douées d'un pouvoir rotatoire justifié par la présence des molécules asymétriques.
- Elles possèdent un indice de réfraction généralement élevé.
- Elles sont peu solubles dans l'eau (entraînables à la vapeur d'eau), et solubles dans les solvants organiques usuels, dans les graisses (liposolubles), et dans les alcools.
- Sensibles à l'oxydation ; elles ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux; ce qui limite leur conservation.

### 3.7. Techniques d'extraction des huiles essentielles :

Après avoir déterminé la matière première végétale, elle doit être obtenue en utilisant la méthode d'extraction appropriée.

La neuvième édition de la Pharmacopée européenne stipule que les huiles essentielles peuvent être obtenues par les méthodes suivantes :

- Entraînement à la vapeur d'eau. [29]
- Extraction par hydrodistillation. [30]
- L'extraction par solvants volatils. [31]
- Expression à froid. [32]
- Enfleurage L'enfleurage. [33]
- L'extraction par CO<sub>2</sub>. [34]
- Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous vide. [35]

Cependant, il existe d'autres méthodes qui peuvent être utilisées dans des domaines autres que la santé. Par conséquent, les mêmes matières végétales peuvent être utilisées pour fabriquer de nombreux extraits différents, y compris des huiles essentielles

#### 3.7.1. Principaux paramètres d'extraction :

Les principaux paramètres à prendre en compte dans l'opération de base d'extraction des matières premières aromatiques naturelles sont:

- ❖ La volatilité ;
- ❖ La solubilité ;

- ❖ La taille et la forme des molécules constitutives ;
- ❖ L'adsorption.

### **3.8. Méthode analytique :**

La méthode d'analyse pour les huiles essentielles la plus fiable et la plus complète est la chromatographie en phase gazeuse. Cette méthode d'analyse s'adapte plus particulièrement aux substances volatiles, comme les molécules aromatiques. Elle permet d'identifier et de contrôler toutes les molécules aromatiques. Cette analyse donne une véritable carte d'identité de l'huile essentielle et permet donc de déceler toutes les fraudes possibles ou encore de mettre en évidence tout problème qualitatif due à une mauvaise fabrication ou un mauvais stockage. Cet appareil de haute technologie est aujourd'hui l'outil indispensable pour le contrôle qualité des huiles essentielles. On détermine en plus quelques paramètres physico-chimiques comme l'indice de peroxyde, l'indice d'acide, la polarité, etc. [36]

#### **3.8.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) :**

La CCM est utilisée comme technique de routine, pour l'analyse rapide de fractions obtenues à la suite d'une séparation initiale. L'efficacité de la CCM comme technique de séparation est souvent mise à profit dans la phase ultime de purification, au moins sur de faibles quantités, lorsque les autres techniques ont montré leurs limites. [37]

#### **3.8.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

Elle s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur. Le principe de la chromatographie en phase gazeuse basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...), on parle de chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption. [23]

### Références bibliographiques :

- [1]. Sabrina Krief. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*). Ouganda. Thèse de doctorat. 2004.
- [2]. Nathalie Boizot, Jean-Paul Charpentier. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Thèse de Doctorat. Université Paul Verlaine-Metz. 2020.
- [3]. Farag R.S., El-Baroty G.S., Amany-Basuny M. The influence of phenolic extracts obtained from the olive plants (cvs. Picual and Kronakii) on the stability of sunflower oil. *Journal of Food Science and Technology*. 2003. 38: 81-87.
- [4]. Farag R.S., Mahmoud E.A et Basuny A.M. Use crud olive leaf as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil heating. *International Journal of Food Science and Technology*. 2007. 42(1): 107-115
- [5]. Ahmed Bessas, « Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien », Ingénieur d'état en biologie option contrôle de qualité et analyses, Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abbes, 2008.
- [6]. Belakhder D., « La pharmacopée Marocaine traditionnelle. Ed. Ibis, press. France, 1997.
- [7]. Bruneton J, « Pharmacognosie (photochimie, plante médicinales) ». Médicinales internationales, Paris, 1999.
- [8]. GUILLOUTY Amandine. Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de doctorat en pharmacie faculté des sciences pharmaceutiques université Toulouse iii Paul Sabatier. 2016.
- [9]. Dr Sahraoui W, « LES ECOMPOSES PHENOLIQUES », Laboratoire de pharmacognosie. 2001.
- [10]. Watterson, J. J., Butler, L. G. Occurrence of an unusual leucoanthocyanidin and absence of proanthocyanidins in sorghum leaves. *J Agr Food Chem*; 1983. 31: 41-45.
- [11]. Scalbert, A. Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 1991. 30: 3875-3883.
- [12]. Conrad J; Vogler B.; Klaiber I.; Roos G., Walter U.; Kraus W., Two triterpene esters from *Terminalia macroptera* bark. *Phytochemistry*, 1998. 48: 647-650.
- [13]. Khanbabae K and Ree T.R. Tannins: Classification and Definition. *Journal of Royal Society of Chemistry*. 2001, 18: 641-649.
- [14]. Paris M et Hurabielle. Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Ed. Masson. Paris. 1981.

- [15]. Huong Thi Nguyen, Péter Radácsi Beáta Gosztola Éva Zámboiné Németh, Effects of temperature and light intensity on morphological and phytochemical characters and antioxidant potential of wormwood (*Artemisia absinthium* L.). *Biochemical Systematics and Ecology*. 2018, 1-7.
- [16]. Mahmoudi, M., Ebrahimzadeh, M. A., Ansaroudi, F., Nabavi, S.F., Nabavi, S. M., Antidepressant and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L. at flowering stage. *African Journal of Biotechnology*, 2009. 8 (24): 7170-7175.
- [17]. Harbone JB. *phytochemical Methods : A guide to moderne technique of plant analysis*. 3<sup>ème</sup> Ed. chapman et Hall thomson science .1998.
- [18]. Trease GE. et Evans WC. *A textbook of pharmacognosy*. 13<sup>ème</sup> Ed. Bacilluere Tinal Ltd. london. 1989.
- [19]. Gilles Figueredo. *Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne* Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur d'université. 2007.
- [20]. Abdoul Dorosso Samate. *Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soljdanienne du burkina faso*. 2002.
- [21]. Tony Poirot. *Bon usage des huiles essentielles, effets indésirables et toxicologie*. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. 2016.
- [22]. Guerfa Tarek, Merah Mohamed el Hadi. *Extraction de l'huile essentielle de l'espèce végétale *Hertia cheirifolia* L. par hydrodistillation: caractérisation physicochimique et modélisation paramétriques*. 2018.
- [23]. Leila Lakhdar. *Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur *aggregatibacter actinomycetecomitans* : étude in vitro*. Thèse doctorat. 2015.
- [24]. FERDJIOUI Siham. *Magister en Biologie. Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia**.11/06/2014.
- [25]. Hammer K.A., Carson C.F. & Riley T.V. « Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts ». *J. Appl Microbiol*. 1999. 86(6): 985-990.
- [26]. Roulier G. « Les huiles essentielles pour votre santé. *Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes* ». Edt. Dangles. France, 1992.
- [27]. Nouioua Wafa. *Biodiversité et ressources phytogénétiques d'un écosystème forestier « *Paeonia mascula* (L.) Mill. »*. Magister Faculté des Sciences de la nature et la vie Université Ferhat Abbas, Sétif. 2012.

- [28]. Benbouali Mohamed. Valorisation des extraits des plantes aromatique et médicinales ; mémoire de magister ; Université Hassiba Ben Bouali, Chlef. 2006.
- [29]. Benouali Djillali. Extraction et identification des huiles essentielles. Université des sciences et de la technologie d'Oran « Mohamed Boudiaf », 2016.
- [30]. Boukhatem Mohamed Nadjib, Ferhat Amine, Kameli Abdelkrim. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : Revue de littérature. 2019.
- [31]. E. Beneteaud. Document ressource Source : Comité Français du Parfum. 2011.
- [32]. Dima Mnayer. Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des pays de vaucluse. 2014.
- [33]. O. Boutebaig. Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de *Rétama sphaerocarpa*. 2019.
- [34]. Laëtitia Muther. Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant. Faculté de pharmacie de Clermont Ferrand. Université d'auvergne. 2015.
- [35]. Lucchesi, M.E,. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat en Sciences, Université de la Réunion, France. 2005.
- [36]. Pradeau, D., et Dauphin, C. Chromatographie planaire : Techniques d'analyse. 2007.
- [37]. Audigie, C.L., Dupon, G., Zonsgain, F. Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2<sup>ème</sup> édition Doin, Paris. 1995.

**Chapitre III :**  
**Stress oxydatif et Antioxydant**

### 1. Stress oxydatif:

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs. [1]

L'importance des dommages du stress oxydant dépend de la cible moléculaire, de la sévérité de l'effort et du mécanisme par lequel l'effort oxydant est imposé. [2]

Le stress oxydatif est impliqué dans de très nombreuses pathologies comme facteur déclenchant ou associé à des complications, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale des radicaux. [3]

### 2. Le Radical libre :

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité. Plusieurs éléments peuvent être à l'origine de radicaux libres. [4]

Parmi les espèces radicalaires les plus intéressantes se trouvent les formes activées de l'oxygène. La réactivité particulière de l'oxygène est due à la structure bi radicalaire de la molécule. Les radicaux libres sont issus du métabolisme physiologique mais ils peuvent aussi être, produits lors de « déviations » du métabolisme cellulaire. [5]

### 3. Nature des radicaux libres :

Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO): les principaux radicaux libres dérivés de l'oxygène sont les suivants: [6]

#### ❖ L'anion superoxyde ( $O_2^-$ ) :

La molécule d'oxygène, mise en présence d'une quantité d'énergie suffisante, peut acquérir un électron supplémentaire et former ainsi l'anion superoxyde. Cet anion intervient comme facteur oxydant dans de nombreuses réactions.

#### ❖ Le radical hydroxyle (OH) :

Il est très réactif vis-à-vis des structures organiques et joue un rôle initiateur dans l'auto-oxydation lipidique.

### 4. Espèces libres non oxygénées :

Les espèces libres non oxygénées sont les produits des réactions de certaines molécules avec les espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO). Ils peuvent à leur tour réagir avec d'autres molécules et être à l'origine de la multiplication des réactions d'oxydation et de la propagation de dommages oxydatifs.

Nous citerons, par exemple, les acides gras peroxydés, résultats de l'action des espèces oxygénées sur les membranes biologiques. [7]

### **5. Origine des radicaux libres :**

Les Radicaux Libres sont formés par un grand nombre de mécanismes, endogènes et exogènes.

#### **5.1. Source endogène :**

Les radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, la plupart des radicaux libres se forment au cours de métabolisme dans les mitochondries. Le passage d'une molécule d'oxygène à deux molécules d'eau nécessite l'action de quatre électrons.

Cependant, et jusqu'à 5 % des cas, on peut assister à une réduction incomplète de l'oxygène en eau. Cette réduction incomplète aboutit à la production de l'oxygène singulet mais surtout de l'anion superoxyde ( $O_2^-$ ). La dismutation de  $O_2$  va donner naissance au peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) puis indirectement au radical hydroxyl (OH). [8, 9].

Les radicaux libres peuvent également être produits lors de la défense antibactérienne. Les cellules phagocytaires (macrophages, neutrophiles...) activées pendant la réaction inflammatoire, vont libérer un anion superoxyde  $O_2^-$ . Les radicaux superoxydes formés peuvent alors subir eux aussi des transformations donnant naissance aux dérivés oxygénés toxiques.

La régulation des fonctions cellulaires létales telle la mort cellulaire programmée (apoptose) fait appeler aussi à la production endogènes des radicaux libre [8, 9].

#### **5.2. Source exogène :**

L'organisme humain est soumis à l'agression de différents agents extérieurs capables de donner naissance à des espèces oxygénées réactives. Les rayonnements UV (par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants) et les radiations ionisantes induisent la synthèse de radicaux libres dérivés de l'oxygène tels que  $O_2^-$ , OH et de molécules génératrices de radicaux libres.

L'oxyde d'azote (NO) et le dioxyde d'azote ( $NO_2$ ), des toxiques présents dans notre environnement (suie, goudron, tabac, polluants industriels) sont également responsables de la synthèse de radicaux libres. Ils sont à l'origine d'une auto-oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) des alvéoles pulmonaire. [3]

Il a aussi été montré que l'ingestion d'alcool pouvait être à l'origine de la production de radicaux libres. Ils sont produits au cours de l'oxydation de l'acétaldéhyde. Mais aussi certains médicaments anti-cancéreux antibiotiques. [3, 10]

### 6. Antioxydant :

Le terme d'antioxydant désigne toute substance qui, présente à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retarde ou inhibe significativement l'oxydation de ce substrat. [8]

L'équilibre entre les antioxydants et les oxydants (fig. 7) est généralement appelé « équilibre d'oxydo-réduction. [9]

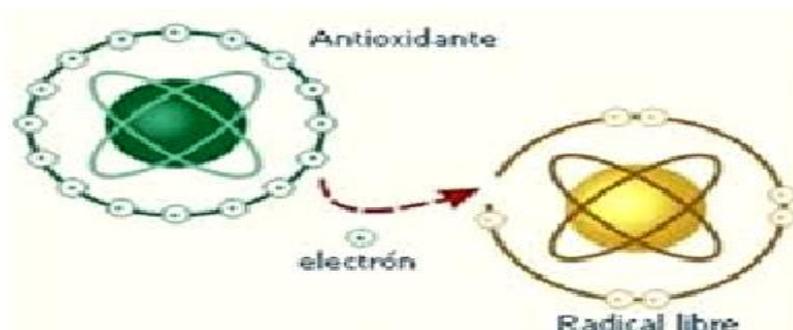


Fig. 7 : Le transfert d'électron entre l'antioxydant et le radical libre

#### 6.1. Différents types d'antioxydants :

##### 6.1.1. Antioxydants endogènes :

Les antioxydants endogènes sont synthétisés dans les cellules et comprennent à la fois les antioxydants enzymatiques et non enzymatiques.

Les principaux antioxydants enzymatiques comprennent la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPX) et la catalase (CAT). Ensemble, ces enzymes antioxydantes préviennent le stress oxydatif en récupérant les radicaux et les espèces réactives avant qu'ils n'endommagent les composants cellulaires.

Le principal antioxydant non enzymatique dans toutes les cellules est le glutathion (GSH). Cet important antioxydant non enzymatique peut non seulement agir comme un piège des oxydants indépendants, mais aussi collaborer avec la glutathion peroxydase pour éliminer le peroxyde d'hydrogène (un oxydant) de la cellule. [9]

##### 6.1.2. Les antioxydants exogènes :

###### ❖ Les vitamines :

Les vitamines sont des molécules organiques requises en faible quantité indispensable pour le fonctionnement des voies métaboliques des êtres vivants. Elles réagissent sous forme de coenzyme [10].

### ❖ Les oligo-éléments :

Les oligo-éléments interviennent comme cofacteurs d'enzymes indispensables dans la lutte contre les radicaux libres. Parmi ces oligo-éléments on cite ; le zinc, le sélénium et le manganèse [11].

### ❖ Les médicaments :

Ils constituent une source importante d'antioxydants. Actuellement, les classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les antihyperlipoprotéïnémiques, les bêta-bloquants et autres antihypertenseurs ont été évalués pour leurs propriétés antioxydants [12].

### ❖ Composés phénoliques :

L'efficacité antioxydante des poly phénols est essentiellement due à la facilité avec laquelle un atome d'hydrogène d'un groupe hydroxyle aromatique est cédé à un radical libre [13].

## 6.2. Mécanismes d'action des antioxydants :

Les organismes aérobies sont protégés contre les ROS par des systèmes enzymatiques et des scavengers chimiques qui sont capables d'éliminer ces radicaux. En plus de la défense primaire qui implique généralement des enzymes comme le superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase [14], un autre système appelé défense secondaire qui, à côté de certaines glutathion transférases et des oxydo-réductases, fait intervenir de nombreuses molécules capables de capter les ROS pour produire des espèces chimiques moins toxiques. C'est le cas de la vitamine E, des caroténoïdes et des polyphénols [15]

#### Références bibliographiques :

- [1]. Boyd B., Ford C., Koepke M.C., Gary K., Horn E., McAnalley S., McAnalley B., « Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience & Nutrition*. 2003. 4 (6):7.
- [2]. Favier A., Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, *L'actualité chimique*. 2003. 108-115.
- [3]. J. F. Turrens, A. Alexandre, A. L. Lehninger., « Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria », *Arch. Biochem. Biophys.*, 1985. p. 408-414.
- [4]. Milane Hadi, « La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques », Docteur en Sciences, l'Université Louis Pasteur, STRASBOURG I, 2004.
- [5]. Bouhadjra Kahina, « Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge », Soutenance de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 2011.
- [6]. M. Valko, Cj. Rhodes, J. Moncol, M. M. Izakovic, et M. Mazur, « Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer », *Chem. Biol. Interact.*, vol. 160, no 1, p. 1-40, 2006.
- [7]. J. Pincemail, K. Bonjean, K. Cayeux, et J.-O. Defraigne, « Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante », *Nutr. Clin. Métabolisme*, vol. 16, no 4, p. 233-239, 2002.
- [8]. Mohammedi Z., « Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région du Tlemcen », Thèse de magistère., Université-Abou Bakr Belkaid, Tlemcen. 2013.
- [9]. B. Halliwell, « How to characterize a biological antioxidant », *Free Radic. Res. Commun.*, vol. 9, no 1, p. 1-32, 1990.
- [10]. S. K. Powers et M. J. Jackson, « Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production », *Physiol. Rev.*, vol. 88, no 4, p. 1243-1276, 2008.
- [11]. Barati Elbaz et Le Marechal, « Eudesmanolides from *Artemisia herba-alba*. *Phytochemistry* », vol. 43. p. 309-311, 2008.
- [12]. Pastre, J.O.C., « Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. », Thèse de docteur vétérinaire., Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 2005.

- [13]. Boutine D., « Évaluation De L'activité Antioxydante Et Antibactérienne D'une Plante Endémique Algérienne *Ampelodesma Mauritanica* », Diplôme de Magister Spécialité : Chimie organique. Université Badji Mokhtar, Annaba, 2011.
- [14]. Duthie, G. G., Gardner, P. T., and Kyle, J. A. "Plant polyphenols: are they the new magic bullet?" *Proceedings of the Nutrition Society*, 2003. 62(03), 599-603.
- [15]. Proctor, P. H., Reynolds, E. S. Free radicals and disease in man. *Chem Phys*. 1984. 16: 175-195.
- [16]. De Groot, H., Rauen, U. Tissue injury by reactive oxygen species and the protective effects of flavonoids. *Fundam Clin Pharm*. 1998. 12: 249-255.

PARTIE  
PRATIQUE

**Chapitre IV :**  
**Matériels et Méthodes**

### 1. Introduction :

L'objectif de cette présente étude réalisé au sein de laboratoire de génie des procédés de université de Saida est d'évaluer l'activité antioxydant et antimicrobienne des différents extraits organique et aqueux de la plante *Artémisia absinthium* L à savoir : l'huile essentiel et l'extrait aqueux, après avoir déterminé les taux des polyphénols et flavonoïdes totaux.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons adopté l'enchaînement suivant :

1. Extraction solide-liquide.
2. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux.
3. Analyses chromatographiques :
  - ❖ CCM
  - ❖ GC-MS
4. Test d'activité antioxydante.
5. Test d'activité antimicrobienne

### 2. Matière végétal :

#### 2.1. Récolte de la plante :

La plante d'*Artémisia absinthium* L (fig. 8) a été collectée au mois de mars de Tircine (wilaya de Saida).



**Fig. 8 :** plante *Artémisia absinthium* L

Après la récolte, le matériel végétal est nettoyé (débarassé de ses débris), étalé sur du papier et laissé sécher à température ambiante, dans une pièce aérée, à l'abri de l'humidité et de la lumière. Cette étape dure environ une semaine. Une fois séché, l'échantillon est conservé dans des sacs en papier jusqu'au moment de l'extraction.

#### 2.2. Extraction de la plante :

##### 2.2.1. Extraction d'huile essentielle :

Les échantillons d'huiles essentielles ont été obtenus par hydrodistillation, à l'aide d'un appareil de type *Clevenger* (fig. 9).

Le montage est constitué d'un ballon en verre (de 1 litre). On peut y traiter 100g de matériel végétal additionné d'un litre d'eau, placé au-dessus d'une chauffe ballon.

Le ballon en verre est surmonté d'une colonne qui communique avec un réfrigérant, permettant la condensation des vapeurs d'eau chargées de gouttelettes d'huile essentielle, qui sont ensuite recueillies sous forme de distillat dans une ampoule à décanter (fig. 10). L'extraction dure deux heures et demi.

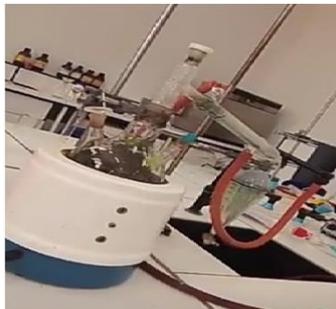


Fig. 9 : Montage de hydrodistillation de type *Clevenger*.



Fig. 10 : Huile essentielle récupérée

➤ **Détermination du rendement d'extraction:**

Selon AFNOR, Le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante:

$$\boxed{\text{RHE}\% = (M'/M) * 100} \dots\dots\dots(\text{IV.1})$$

Où :

**RHE%** : rendement en huile essentielle de la plante.

**M'** : masse de l'huile essentielle obtenue en gramme.

**M** : masse de plante utilisée en gramme.

➤ **Conservation :**

Afin d'éliminer toute trace d'eau, dans les huiles essentielles obtenues, on ajoute une petite quantité de sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Par la suite, les huiles essentielles sont transférées dans des tubes en verre, hermétiquement fermé et couverts de papier aluminium.

L'huile extraite est conservée, à l'abri de la lumière et au réfrigérateur (à +4°C), jusqu'à moment de l'analyse.

### 2.2.2. Préparations extraits aqueux :

10g des feuilles sec d'*Artemisia absinthium* L ont été mis dans erlenmeyer avec 100 mL d'eau distillé et laisser macérer sous agitation à température ambiante pendant 24h (fig. 11).

L'extrait ainsi obtenu après filtration est concentré puis vaporiser. L'extrait sec résultante est conservé au réfrigérateur à + 4°C.



**Fig. 11** : Photos montrant l'extraction par macération.

## 2.3. Analyse quantitative des extraits :

### 2.3.1. Dosage des polyphénols totaux (TPC) :

#### ➤ Principe :

Les teneurs en polyphénols totaux des extraits sont déterminées au moyen du réactif de Folin-Ciocalteu [1]. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ). La coloration bleue produite possède une absorption maximale aux environs de 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

L'absorbance, par référence à une gamme étalon obtenue avec un acide phénolique (acide gallique), permet de déterminer la quantité de polyphénols totaux présente dans un extrait. Elle est exprimée en mg d'équivalent acide gallique par g de matière sèche (mg GAE/ g).

#### ➤ Mode opératoire :

##### A. Extrait aqueux :

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit dans la littérature [1] avec une légère modification.

Une prise d'essai de 0,1 mL d'une solution de (1 mg/mL) dans d'eau distillée, ajouter 0,1 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (10%), le mélange est soumis à une agitation au vortex, après 3

min ajouter 0,3 mL de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 2%, on complète le mélange jusq'au 5 mL par d'eau distillée. Après 2h d'incubation à température ambiante et à l'obscurité, la densité optique est lue au spectrophotomètre UV-VIS à une longueur d'onde de 760 nm. Le blanc est présenté par 4,6 mL d'eau distillée additionnée de 0,1 mL de réactif de Folin-ciocalteu et 0,3 mL de carbonate de sodium. La quantité des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (1 à 0,6 mg/ml) et est exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de plante (mg EAG/g de plante).

### **B. Huile essentielle :**

Cette méthode est basée sur l'oxydation des groupes phénoliques en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [2]. À 2,5 mL de réactif Folin-Ciocalteu (10%), on a ajouté 0.5 ml d'une solution d'acide gallique de (1 mg/mL) dans de DMSO (diméthyl sulfoxyde). Le mélange a été soigneusement mélangé et laissé reposer pendant 5 minutes à température ambiante. Après cela, 2 ml de  $\text{NaHCO}_3$  (7%) ont été ajoutés lentement et le mélange réactionnel a été laissé au repos dans l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. Les lectures d'absorbance ont été prises à 765 nm. La même procédure a été répétée pour la solution d'huile essentielle dans de DMSO. La teneur en phénols était obtenue à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et exprimé en grammes d'équivalent d'acide gallique pour 100 grammes de poids sec de l'échantillon (g GAE/100 g)

#### **2.3.1. Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) :**

L'estimation de la quantité des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adoptée de Lamaison et Carnat. [3]

Dans ce test les flavonoïdes ont été quantifiés par un dosage direct à l'aide d'une solution aqueuse de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ). Cette solution forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes (OH) des phénols. Ce complexe de couleur jaune absorbe dans le visible à une longueur d'onde 510 nm. Dans cette méthode la Catéchine a été utilisée comme flavonoïde standard.

La quantité des flavonoïdes dans les extraits étudiées a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la Catéchine et exprimée en équivalent catéchine pour 1 gramme de plante (CE mg/g).

**2.4. Analyses chromatographiques :**

**2.4.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM):**

➤ **Principe :**

La phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants (état liquide) et la phase stationnaire est généralement un adsorbant maintenu sur une plaque soit en verre soit en plastique rigide. L'échantillon soit liquide ou solubilisé dans un solvant volatil est déposé ponctuellement sur la phase stationnaire (sur la plaque). Les constituants de l'échantillon sont élués (entraînés) par la phase mobile qui grimpe par capillarité vers le haut de la plaque. Ils peuvent être identifiés par comparaison à l'élution simultanée de témoins.

Bien que le principe de la CCM soit connu depuis plus d'un siècle [4], son application en tant que méthode analytique ne date que de la fin des années 50 [5, 6]. Lorsqu'on abandonna progressivement la chromatographie sur papier pour celle réalisée sur des adsorbants déposés sur une plaque de verre pour des questions de reproductibilité, de rapidité cette technique de séparation est performante et certainement pleine d'avenir [7].

Dans ce test, 10 mg de (extraits aqueux ou huile) est dissout dans 1ml méthanol.

Notre phase stationnaire est une plaque de silice phase normale (Ultra pure silicagel, 10-12 µm, Silicycle), cependant la phase mobile est un mélange de trois solvants dont ; Chloroforme (CHCl<sub>3</sub>), Méthanol (MeOH) et hexane (C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>) avec différents rapports :

CHCl<sub>3</sub>: (3), (v).

CHCl<sub>3</sub> / MeOH: (1.5/1.5), (v/v).

CHCl<sub>3</sub> / C<sub>6</sub>H<sub>14</sub> : (1.5/1.5), (v/v).

Finalement, pour faire révéler les tâches résultants, les plaques ont été séchées dans un milieu d'I<sub>2</sub>

➤ **Facteur de rétention :**

Le facteur de rétention (RF), ou facteur de retardement, d'un composé est le rapport de la distance parcourue par le composé et la distance parcourue par le front du solvant. Le facteur de rétention pour un composé :

$$Rf = \frac{\text{Distance de migration d'un composé}}{\text{Distance de migration du solvant}} \dots\dots\dots(\text{IV.2})$$

**2.4.2. Chromatographie Phase gazeuse couplée au spectroscopié de masse (GC-MS):**

Les analyses d'huile par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) ont été effectuées en utilisant un chromatographe en phase gazeuse (TRACE

GC 2000) couplé à spectrométrie de masse modèle (Polaris Q) équipé d'une colonne Rxi-5ms (60m x 0,25 mm, df: 0,5 µm) programmé à 60°C (3min) et à 3°C/min jusqu'à 240°C. Les températures de l'injecteur été 220 °C et le volume injecté été 0.2 ml. Le programme adopté a été inspiré de [8].

## 2.7. Identification des composants

L'identification des composants d'huile essentielle a été basée sur les indices de rétention (RI) relative à *n*-alkane et la base de donnè d'ordinateur avec le logiciel Xcalibur.

## 2.5. Activités antioxydant par DPPH :

Le DPPH (2,2 Diphényl 1-Pycril Hydrazil) est un radical de couleur violet intense. La mesure de l'efficacité d'un antioxydant (capacité à fixer des radiaux libres, donc arrêter la propagation de la réaction en chaîne) se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH·



De nombreuses méthodes sont développées permettant d'évaluer les capacités antioxydantes de composés naturels ou bien issus de la synthèse chimique. L'une d'entre elle, couramment utilisée, fait appel à l'utilisation d'un radical libre stable, le (2,2-Diphényl-1-Picryl Hydrazyl) (DPPH).

La stabilité de ce radical résulte de la délocalisation importante de l'électron célibataire sur la totalité de la molécule empêchant ainsi la dimérisation de se produire comme c'est souvent le cas pour les autres radicaux (fig. 12). D'autre part, cette délocalisation est à l'origine de la coloration violette en solution méthanolique caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à une longueur d'onde de 515 nm.

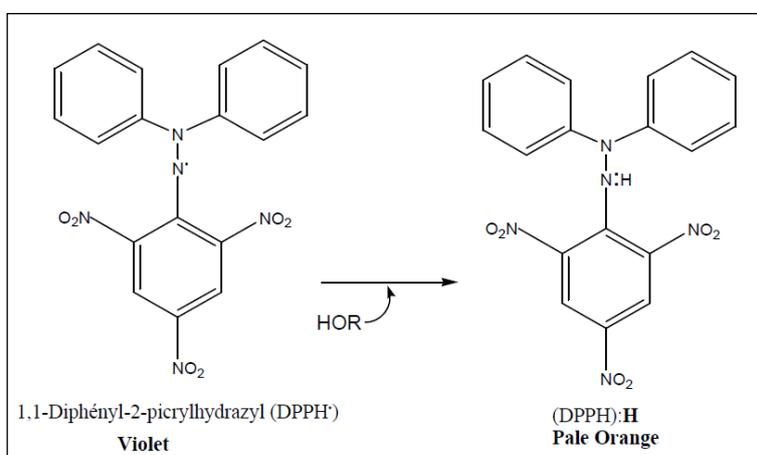


Fig. 12 : Forme libre et réduite du DPPH [9]

Dans des tubes secs et stériles, on introduit 0,1 mL de la solution à tester, on ajoute 3,9 mL de solution au DPPH. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité, à une température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à 515 nm par un spectrophotomètre. Le contrôle négatif est composé de 0,1 mL de la solution méthanolique au DPPH (0,3 mM) et de 3,9 mL de méthanol. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesuré dans les mêmes conditions que l'échantillon test.

### 2.5.1. Expression des resultats :

Pour obtenir la concentration efficace qui réduit la concentration initiale de DPPH de 50%, les résultats sont exprimés en activité antioxydante.

Cette activité qui exprime la capacité de piéger le radical libre est estimée par le pourcentage de décoloration du DPPH en solution dans le méthanol.

L'activité antioxydante "AA%" est donnée par la formule suivante : [10]

$$AA \% = 100 - \left\{ \frac{(Abs_{test} - Abs_{Blanc}) \times 100}{Abs_{control}} \right\} \dots\dots(IV.3)$$

Où :

**AA** : Activité Antioxydante

**Abs** : Absorbance à la longueur d'onde de 517 nm.

La valeur IC<sub>50</sub> est déterminée pour chaque extrait, est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur) (exprimée en mg de substrat/g de DPPH). Ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour diminuer de 50% l'absorbance de la solution contrôle constitué de méthanol et DPPH. [11]

### 2.6. Activités antimicrobienne :

Nous avons adoptés une technique standard pour la détermination de la susceptibilité des microorganismes (bactérie, levures, champignons, ....) aux agents antimicrobiens. Cette technique est réalisé selon les recommandations d'institut de laboratoire standard et clinique CLSI M02-A10 [11].

L'activité antibactérienne d'huile essentielle contre différentes bactéries et levure a été testé en appliquons la méthode de diffusion sur disque décrite par [12]. Une suspension bactérienne d'une culture jeune de 18 à 24 heures est ajustée à une turbidité standard 0.5 McFarland [13]. 0,1 ml de cette dernière est étalé à la surface de gélose MHA (Muller Hinton Agar). Des

disques stérile de 6 mm de diamètre imprégner de 0,02 ml d'huile essentielle sont placées au surface des boites pétris. Après 1 heure de conservation à 4 °C, les boites pétris sont incubées au 37 °C pendant 24 heures. Le pouvoir antimicrobien est estimé par la mesure de diamètre d'aréole au tour de disque.

**Références bibliographiques**

- [1]. V.L.Singleton , R.Orthofer , R.M.Lamuela-Raventos, Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*1999. (299), 152.
- [2]. Joseph Nana Gyasi, Rita Opoku, Lawrence Sheringham Borquaye. Chemical Composition, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activities of the Essential Oils of the Leaves and Fruit Pulp of *Annona muricata* L. (Soursop) from Ghana. *Biochemistry Research International.* 2019.
- [3]. Müller, S. Gnoyke, A. M. Popken, et V. Böhm, Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations, *LWT-Food Sci. Technol.* 2010. 43, (6), 992-999.
- [4]. Beyerinck M.W., *Zeitschrift für physikalische Chemie.* 3, 1889, 110.
- [5]. Stahl, *Thin Layer Chromatography*, 2<sup>ed</sup>. Springer-verlag, New York, 1969.
- [6]. Macek K. *Bibliography of Paper Chromatography and Thin Layer Chromatography*, *J.Chromatogr.*, Amsterdam, 1968. 1961-1965,
- [7]. Kalász H. et Bãthori M., *LCGC int*, 10,7, 440-445 , juillet 1997.
- [8]. Hanene Jrah Harzallah, Bochra Kouidhi, Guido Flamini, Amina Bakhrouf, Touhami Mahjoub. Chemical composition, antimicrobial potential against cariogenic bacteria and cytotoxic activity of Tunisian *Nigella sativa* essential oil and thymoquinone. *Food Chemistry*, 2011, 1469-1974.
- [9]. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*; 2004; 26 (2): 211-219.
- [10]. Heilerová L., Bučková M., Tarapčík P., Šilhár S. et Labuda J. Comparison of Antioxidative Activity Data for Aqueous Extracts of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.), Oregano (*Origanum vulgare* L.), Thyme (*Thymus vulgaris* L.), and Agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.) obtained by Conventional Methods and the DNA-Based Biosensor. *Czech J. Food Sci*; 2003; 21 (2): 78–84.
- [11]. Mensor L. L., Menezes F. S., Leitão G. G., Reis A. S., Santos T. C., Coube C. S. et Leitão S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method. *Phy- tother. Res*; 2001; 15: 127-130.
- [12]. CLSI-Publishes. 2009. Antimicrobial susceptibility testing standards.
- [13]. Hamideh, Jaberian., Khosro, Piri., Javad, Nazari. 2013. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chemistry.* 136, 237-244.

**Chapitre V :**  
**Résultats et discussion**

### Introduction:

Dans ce chapitre nous allons exposer et discuter l'essentiel des résultats expérimentaux obtenues suite aux extractions et caractérisations de l'huile essentielle et extrait aqueux.

### 1. Extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* L. par hydrodistillation :

#### 1.1. Rendement :

Les différents tests et analyses que nous avons effectuées ont été réalisés sur la plante fraîche d'*Artemisia absinthium* L. Cette dernière est récoltée de la région Terssine (Saida).

Le rendement d'extraction de notre huile essentielle est de (0.43 %) est exprimé en pourcentage (fig. 13), est légèrement supérieur à celui trouvé par Weiss et *al* [1] par contre, d'après les travaux de Orav et *al* [2], les rendements en huile essentielle de différentes régions de Tunisie ont donné des valeurs plus importantes : Gafsa (1.24 %), Kasserine (1.87 %) et Ghar dimaou (2.22 %).

Nous attribuons le faible rendement que nous avons révélé, comparé à celui observé dans ces travaux, à une différence dans les périodes du cycle végétatif où la prise d'échantillon a été effectuée. En effet, les échantillons prélevés à différentes périodes de l'année ne donnent pas les mêmes teneurs, ainsi aux conditions climatiques et techniques d'extractions, etc.

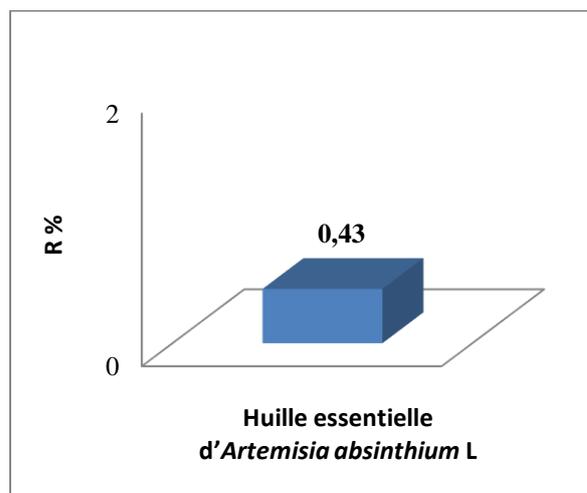


Fig. 13 : Le rendement en huile essentielle d'*Artemisia absinthium* L.

#### 2. Macération (extrait aqueux) :

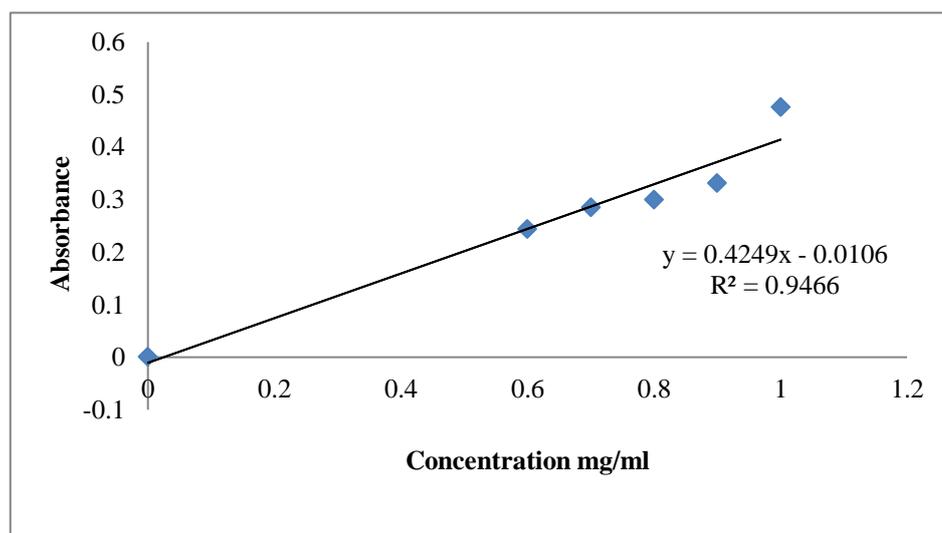
Notre extrait présente un aspect visqueux avec une couleur Marron. Ce dernier a subi une évaporation de solvant à fin de recueillir le substrat sec qui vas nous servir au plus tard à nos analyses et tests.

### 3. Analyses phytochimiques quantitatives :

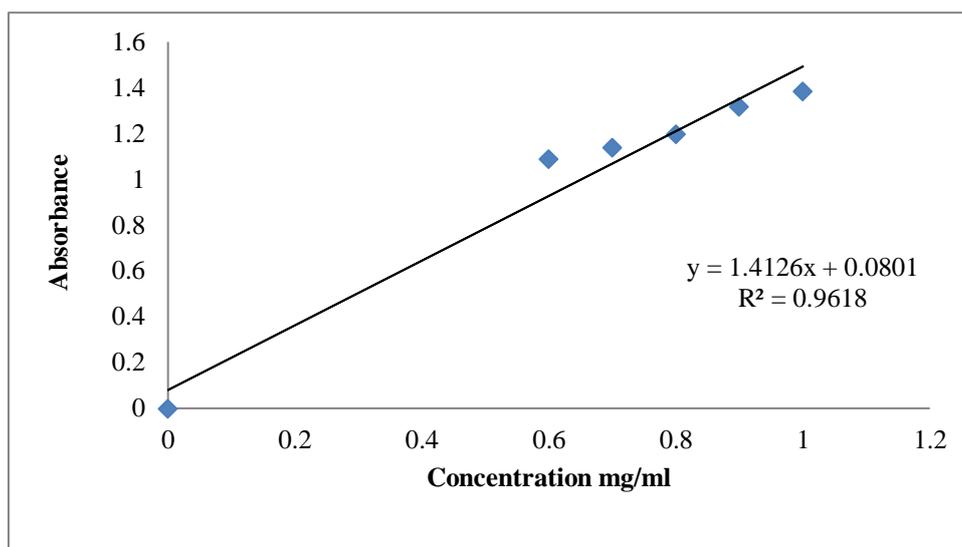
#### 3.1. Teneur en polyphénol totale (TPC) :

La détermination de la teneur totale en polyphénol a été exécuté selon la méthode de Folin-Ciocalteu décrite pour l'extrait aqueux [3] et huile essentielle d'*Artemisia Absinthium* L. [4], qui repose sur la réduction des réactifs de Folin par des groupements oxydables en milieu alcalin composés phénoliques, conduisant à la formation des produits de réduction. Ces derniers ont une absorption maximale à 765 nm, et son intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols existant dans l'échantillon. La teneur totale en polyphénol est indiquée en mg d'équivalent acide gallique /g matériel végétal.

A partir de l'équation de régression ( $y = 0.424x - 0.010$ ), du courbe d'étalonnage d'acide gallique (fig. 14), on calcule la concentration en polyphénols totaux d'extrait aqueux avec un coefficient de corrélation de ( $R^2 = 0.946$ ). Ce dernier a montré une teneur moyenne en polyphénols totaux de 2.254 mg EAG/g.



**Fig. 14 :** La courbe d'étalonnage d'acide gallique (extrait aqueux).



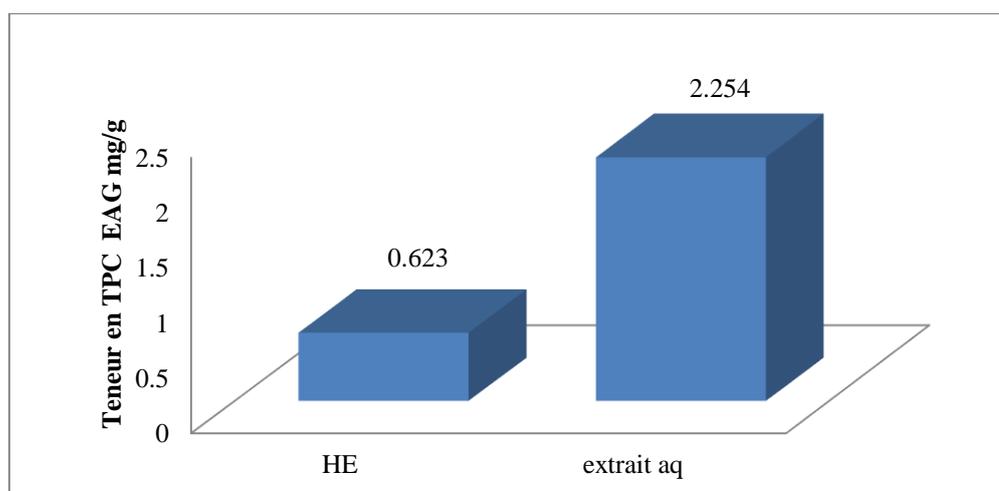
**Fig. 15:** La courbe d'étalonnage d'acide gallique (huile essentielle).

Parallèlement, par les mêmes étapes la concentration total en polyphénol présente dans l'huile est calculé à partir de la courbe d'étalonnage dont l'équation de regression ( $y = 1,412x + 0,080$ ) avec ( $R^2 = 0,961$ ) est de 0.623 mg EAG/g (fig. 15).

D'après les résultats obtenus, on remarque que la quantité des composés phénoliques dans l'extrait aqueux (2.207 mg EAG/g) des feuilles de *Artemisia Absinthium* L. est plus élevée par rapport à celle de l'huile essentielle (0.623 mg EAG/g) (fig. 16).

Les résultats de ces études sont difficiles à comparer avec d'autres résultats à littératures à cause des différences dans les méthodes d'extraction et de calcul [5]. En outre, la température et le solvant d'extraction jouent un rôle dans le rendement en polyphénols obtenu [6].

En plus, la quantité des polyphénols dans les plantes dépend de nombreux facteurs intrinsèque (génétique) et extrinsèque (environnemental, récolte, séchage et stockage) [7].



**Fig. 16 :** La teneur en polyphénol totaux d'extrait aqueux et l'huile essentielle

### 3.2. Teneur totale en flavonoïdes (TFC) :

La méthode spectrophotométrique au chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) est adoptée pour calculer le taux flavonoïdes totaux présent dans l'extrait aqueux des feuilles d'*Artemisia Absinthium* L. Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent de catéchine par g de matière végétale (mg CE/g).

La courbe d'étalonnage de catéchine (fig. 17) nous fournit l'équation de régression ( $y = 0,605x + 0,019$ ) avec un coefficient de corrélation de ( $R^2 = 0,957$ ).

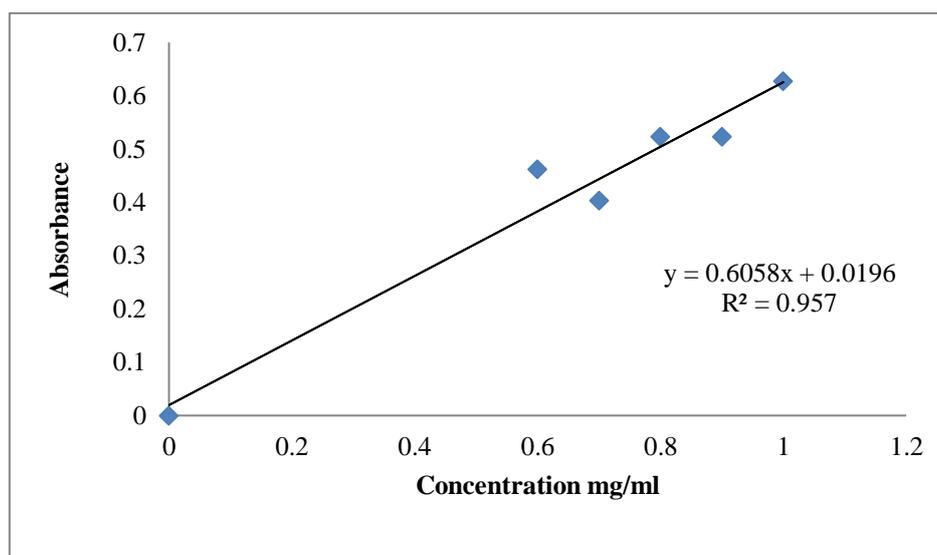


Fig. 17 : La courbe d'étalonnage de catéchine (extrait aqueux).

Teneur en flavonoïdes totaux en extrait aqueux de *l'Artemisia absinthium* L. est (1.550 mg CE/g). Toutefois, cette teneur semble compatible et en corrélation avec le taux des polyphénols totaux obtenu avec l'extrait aqueux.

### 4. Analyses chromatographiques :

#### 4.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM):

Par ses faibles contraintes techniques, son emploi simple et son coût modeste, cette technique nous informe sur le contenu en phytoconstitués en se basant sur les résultats analytiques [8]. Dans notre étude, nous avons réalisé une chromatographie sur couche mince pour l'extrait aqueux et l'huile essentielle des feuilles d'*Artemisia Absinthium* L. sur une plaque de gel de silice en utilisant deux systèmes :

Chloroforme / méthanol / hexane (1.5/1.5 /1.5) (v/v).

Les rapports frontaux ( $R_f$ ) des différents composés d'extrait aqueux dans la phase mobile sont représentés dans le tableau 1.

**Tableau 1:** Les rapports frontaux des taches obtenues pour les extraits aqueux

Extrait aqueux	Rf		
	CHCL <sub>3</sub>	CHCL <sub>3</sub> / MeOH	CHCL <sub>3</sub> / C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>
Tâche 1	0.19	0.1	0.08
Tâche 2	0.37	0.23	0.37
Tâche 3	0.75	0.53	0.75
Tâche 4	0.87	0.88	-

De tableau 1, c'est clair que l'extrait aqueux est approximativement composé de quatre différentes tâches, dont chacune d'entre elles nous oriente vers l'existence d'un composé.

Cependant, de la même manière le tableau 2 nous rapporte les différents rapports (Rf) des différents composés d'huile essentielle dans la phase mobile issue de la plaque CCM.

Les rapports frontaux des taches obtenues pour les extraits aqueux

**Tableau 2:** Résultat de la CCM (rapports frontaux « Rf ») des taches obtenues pour l'huile essentielle

Huile essentielle	Rf		
	CHCL <sub>3</sub>	CHCL <sub>3</sub> / MeOH	CHCL <sub>3</sub> / C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>
Tâche 1	0.38	0.40	0.21
Tâche 2	0.46	0.45	0.31
Tâche 3	0.6	0.50	0.43
Tâche 4	0.77	0.55	0.57

Les résultats de l'analyse chromatographique ont permis de mettre en évidence la présence des flavonoïdes et composé phénolique. Le système de migration constitué de chloroforme; méthanol et hexane a permis d'avoir une bonne séparation chromatographique et une visibilité acceptable des spots.

La plaque de CCM de système de chloroforme/ méthanol/ hexane (fig. 18, 19, 20, 21) révèle quatre tâches différentes.



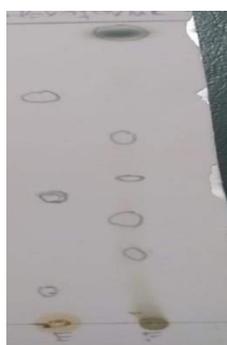
**Fig. 18 :** Résultats de CCM d'huile essentielle pour le système  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$



**Fig. 19 :** Résultats de CCM d'extrait aqueux pour le système  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$



**Fig. 20 :** Résultats de CCM d'huile essentielle pour le système  $\text{CHCl}_3$



**Fig. 21 :** Résultats de CCM d'extrait aqueux (E) et l'huile essentielle (F) pour le système  $\text{CHCl}_3/\text{C}_6\text{H}_{14}$

Les différences des valeurs de  $R_f$  sont dues à la polarité des composés vis-à-vis du système de solvants d'élution et la phase stationnaire.

En général, les constituants chimiques diffèrent selon la partie de plante aussi d'une espèce à l'autre [9]. Comme on peut expliquer ces différences par la variabilité de solubilité des composés phénoliques et flavonoïdes dans les différents systèmes des phases mobiles.

#### **4.2. Chromatographie Phase gazeuse couplée au spectroscopie de masse (GC-MS):**

La composition chimique d'huile essentielle des feuilles d'*Artemisia Absinthium* L., a été déterminée à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM).

La composition chimique d'huile essentielle est résumée dans le Tableau 3.

Dans l'huile essentielle des feuilles d'*Artemisia Absinthium* L., nous avons identifié dix-huit (18) composés différents.

En général, notre échantillon d'huile essentielle est riche en monoterpènes.

Les composés majoritaires identifiés sont :

- $\alpha$ -Thujone
- Camphor

La comparaison entre la composition chimique des huiles essentielles des feuilles d'*Artemisia Absinthium* L., de notre étude avec ceux rapportés dans la littérature [10] révèle une ressemblance importante, avec des différences pour les composés majoritaire.

**Tableau 3:** composition chimique d'huile essentielle d'*A. absinthium*

Pic N°.	Composant <sup>a</sup>	RI	Rt	Formule moléculaire	Cas N°.
1	$\alpha$ -Thujene	928	8.97	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	2867-05-2
2	Linalool	1086	9.03	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	78-70-6
3	$\alpha$ -Thujone	1107	9.25	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	546-80-5
4	Camphor	1141	9.89	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	76-22-2
5	Borneol	1170	10.79	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	507-70-0
6	Terpinen-4-ol	1181	11.04	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	562-74-3
7	$\alpha$ -Terpineol	1188	11.67	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	98-55-5
8	$\alpha$ -Cubebene	1342	16.21	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	17699-14-8
9	$\beta$ -Bourbonene	1378	16.39	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	5208-59-3
10	<i>trans</i> -	1412	17.21	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	87-44-5
11	Caryophellene	1455	17.49	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	3856-25-5
12	Copaene	1467	18.05	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	6753-98-6
13	$\alpha$ -Caryophellene	1479	18.69	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	23986-74-5
14	Germacrene D	1486	19.74	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	6980-46-7
15	$\gamma$ -Amorphene	1564	20.98	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	1139-30-6
16	Caryophellene	1587	21.16	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	3915-83-1
17	oxide	1634	22.62	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	473-15-4
18	Neryl Isovalerate	1655	29.45	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	481-34-5
	$\beta$ -Eudesmol				
	$\alpha$ -Cadinol				

a: composés en ordre d'éluion de colonne Elite-5ht

RI: rétention index; Rt: rétention time (min)

### 5. Evaluation de l'activités antioxydant par DPPH :

La mise en évidence de l'activité antioxydante des extraits des feuilles d'*Artemisia Absinthium* L., a été réalisée par une simple techniques chimiques, il s'agit de piéger le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. La réduction de ce radical s'accompagne par son passage de la couleur violette caractéristique de la solution de DPPH à la couleur jaune mesurable par spectrophotométrie à 510-515 nm.

La mesure de l'absorbance a été effectuée par spectrophotométrie à 515 nm. A partir des valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition en utilisant la formule donnée dans le chapitre matériel et méthodes.

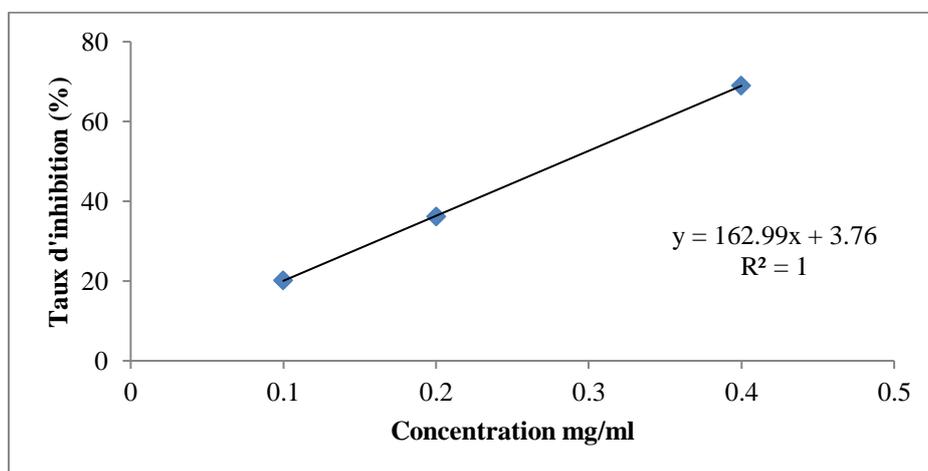


Fig. 22 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique (l'eau)

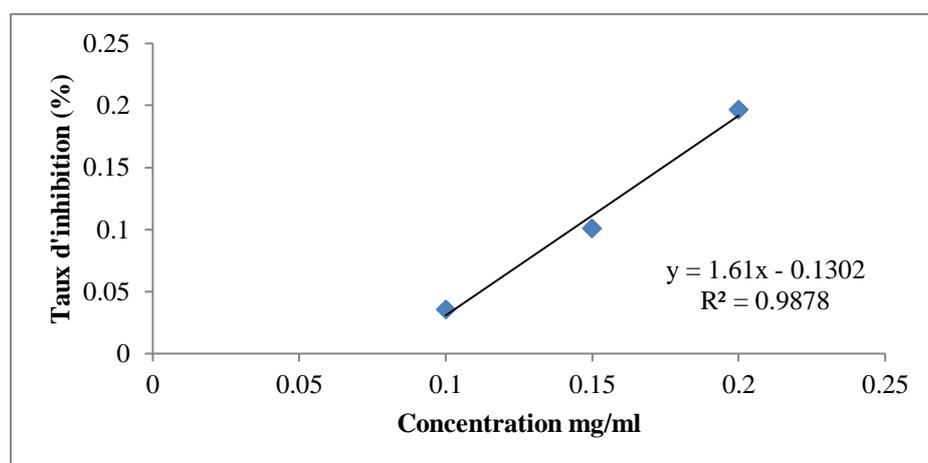
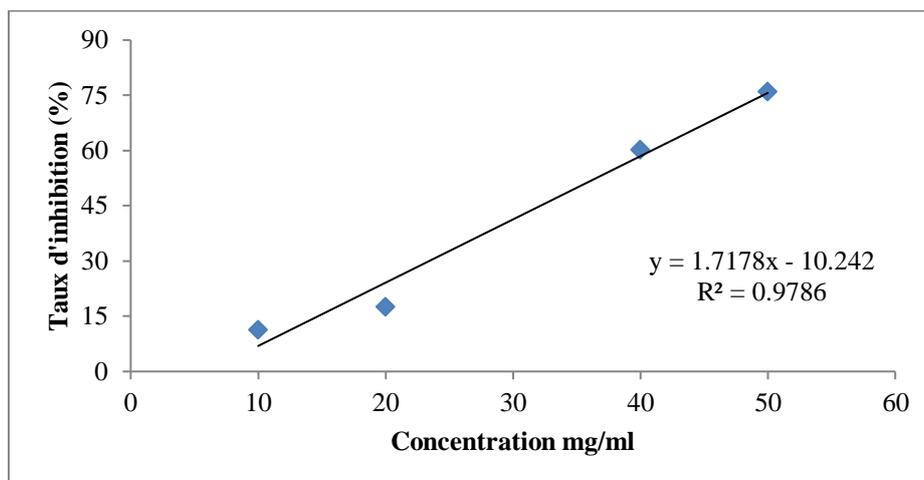
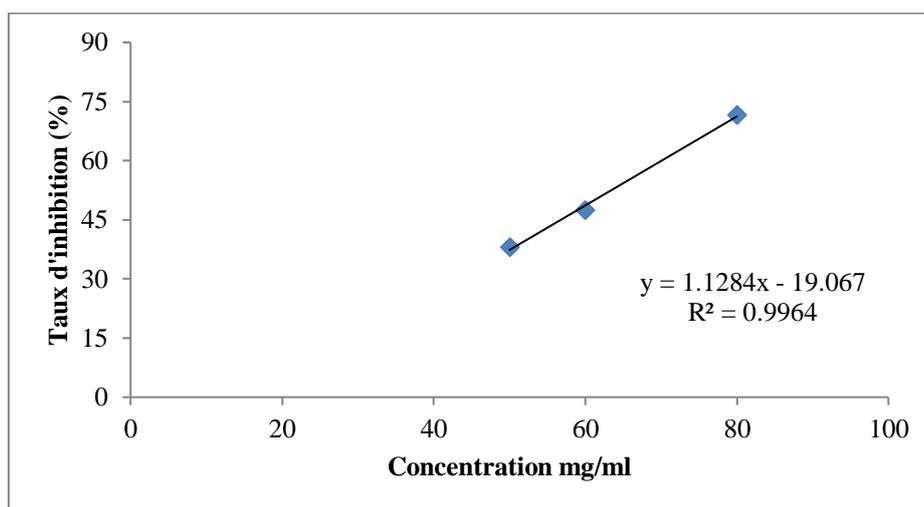


Fig. 23 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique (DMSO)



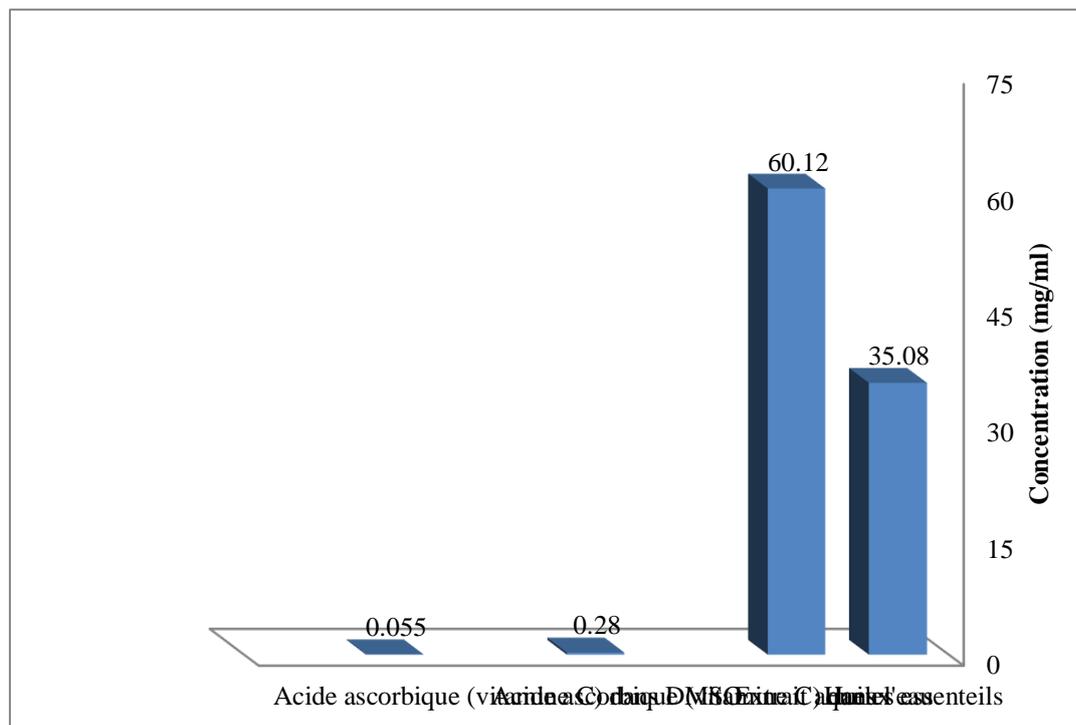
**Fig. 24:** Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'huile essentielle (DMSO)



**Fig. 25 :** Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait aqueux (l'eau)

Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes représentées dans les figures (22, 23, 24 et 25), qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de nos extraits. Nous avons déterminé graphiquement la concentration correspondante à IC<sub>50</sub>. L'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant de référence pour estimer le pouvoir de réduction de nos extraits aqueux et huile essentielle.

D'après les figures (22, 23, 24 et 25), nous pouvons remarquer que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est proportionnel à la concentration des différents extraits (acide ascorbique, huile essentielle et extrait aqueux) d'*Artemisia Absinthium* L.



**Fig. 26 :** Résultats des valeurs IC<sub>50</sub> d'acide ascorbique, huile essentielle et extrait aqueux

L'activité antioxydante des différents extraits est mesurée par la valeur d'IC<sub>50</sub> qui représente la quantité d'extrait qui est capable de réduire ou piéger 50% de radical libre DPPH. Cependant, une faible valeur d'IC<sub>50</sub> implique une activité antioxydant plus élevée.

L'ensemble des résultats de l'activité antioxydant exprimée en IC<sub>50</sub> sont illustrés dans la figure 26.

Globalement, l'activité antioxydante est exprimée en IC<sub>50</sub>, ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats [11-13], il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% du radical DPPH. (couleur). Les IC<sub>50</sub> sont déterminées à partir des figures 20, 21, 22 et 23) dont l'abscisse représente la concentration de l'extrait brut et l'ordonnée l'activité antioxydante en pourcentage. Elle est de 60.12 mg/ml pour l'extrait aqueux et 35.08 mg/ml pour l'huile essentielle, alors qu'avec l'acide ascorbique la valeur est de 0.28 mg/ml.

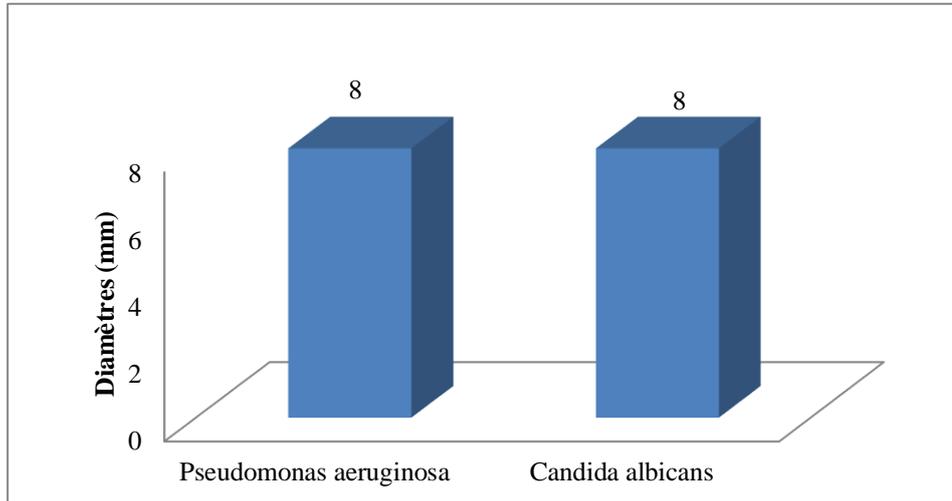
Tous les extraits ont un pouvoir anti-radicalaire envers le DPPH. (Fig. 24), plus la valeur de l'IC<sub>50</sub> est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

L'activité antioxydante est influencée par la nature chimique des composés présents dans les extraits. Cette dernière est en relation étroite avec la polarité de solvants utilisés pour l'extraction des substances bioactives du matériel végétal [14].

### 6. Evaluation de l'activité antimicrobienne :

L'activité antimicrobienne d'huile essentielle des feuilles d'*Artemisia Absinthium* L., a été testée contre les souches microbiennes : *Pseudomonas aeruginosa* (CECT 110) et *Candida albicans* (CECT 1394), en utilisant les méthodes de diffusion sur disque sur un milieu gélosé.

Le pouvoir antimicrobien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).



**Fig. 27 :** Résultats de test d'activité antimicrobienne d'huile essentielle d'*Artemisia Absinthium* L.

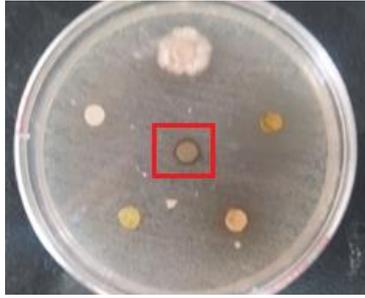
Les résultats des observations effectuées sur l'effet de l'huile essentielle sur la croissance des souches microbiennes sont regroupés dans la figure 27.

Après une incubation durant 24 h, le diamètre des zones d'inhibition est mesurées (le diamètre du disque inclus). La lecture se fait à l'aide d'un pied à coulisse.

Nous remarquons des faibles zones d'inhibition avec des diamètres différents qui entourent les disques imprégnés d'huile essentielle. Ces aréoles sont de l'ordre de 8 mm pour l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* (fig. 28) et de même pour la levure *Candida albicans* (fig. 29). Cela s'explique par la résistance modéré des souches microbiennes.



**Fig. 28 :** Résultat de test d'aromatogrammes de *Pseudomonas aeruginosa* testées avec l'huile essentielle d'*Artemisia Absinthium* L.



**Fig. 29** : Résultat de test d'aromatogrammes de *Candida albicans* testée avec l'huile essentielle d'*Artemisia Absinthium* L.

Dans la réalité, même si l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle est souvent attribuée essentiellement à ses composés majoritaires, aujourd'hui il est connu que l'effet synergique ou antagoniste des composés du mélange doit être considéré [15]. En outre, les composants des huiles essentielles de quantité plus faible peuvent également contribuer à l'activité antimicrobienne, impliquant probablement un certain type de synergie avec d'autres composés actifs [16].

De nombreuses plantes aromatiques ainsi que les huiles essentielles elles-mêmes possèdent un fort pouvoir antimicrobien. On les utilise même quelquefois comme conservateurs. Ce pouvoir s'exerce à l'encontre des bactéries pathogènes qui altèrent les structures et la fonctionnalité membranaire. En effet, leur caractère lipophile leur permet de se lier aux membranes cellulaires des microorganismes et d'inhiber les échanges d'électrons membranaires lors de la phosphorylation oxydative ce qui freine ainsi le métabolisme cellulaire. De fortes doses en huile essentielle provoqueraient même la lyse membranaire des microorganismes [17].

### Références bibliographiques :

- [1] Wiess R.F.; Thieme Verlag M.D.G. ; Wiess's Herbal Medicine. 6ème édition Stuttgart: Thieme, 79-80. 2001
- [2] Orav A.; Raal A.; Arak E.; Muurisepp M.; Kailas T.; composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L of different geographical origins proceeding of the Estonian Academy of Science Chemistry. 55:(3), 155-165. 2006.
- [3] Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y., Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemist.* 102 (2007) 771-776.
- [4] J. K. Patra, Se-W. Lee, Y.-S. Kwon, J. Gyu Park, and K.-H. Baek, "Chemical characterization and antioxidant potential of volatile oil from an edible seaweed porphyra tenera (Kjellman, 1897)," *Chemistry Central Journal*, vol. 11, no. 1, p. 34, 2017.
- [5] Modnicki D. Balcerek M., 2009. Estimation of total polyphenols contents in *Ocimum basilicum* L., *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L. Commercial samples. *Herba Polonica.* 55 (1) : 35-42.
- [6] Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Bento A. Pereira A., 2008. Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives «alcaparras». *Learning with Technologies.* 41: 739-745.
- [7] Bammou M., Sellam K., El Rhaffari L., Bouhlali E.D.T., Daoudi A., Ibjibijen J. & Nassiri L., 2015. Bioactivity of *Anvillea radiata* Coss & Dur. Collected from the southeast of Morocco. *European Scientific Journal*, 11 (21).
- [8]. Zeghouane, H. 2014. Essai de caractérisation phytochimique des extraits de quelques plantes médicinales du Sahara septentrional Est- Algérien. Mémoire de Master en Biochimie Appliquée. Université Kasdi Merbah. Ouargla. 56 p.
- [9]. Bougar, N., & Belkacem Kourmi Z. 2016. Contribution à la caractérisation physico-chimique et anti-bactérienne de l'extrait de la plante urtica dioica L (ortie dioïque). Mémoire de Master en Chimie. Université Djilali Bounaâma. Khemis Miliana. 53 p.
- [10] Elena-Alina Moacă, Ioana Zinuca Pavel, Corina Danciu, Zorin Crăiniceanu, Daliana Minda, Florina Ardelean, Diana Simona Antal, Roxana Ghiulai, Andreea Cioca, Mihnea Derban, Sebastian Simu, Raul Chioibaş, Camelia Szuhaneck, Cristina-Adriana Dehelean. 2019. Romanian Wormwood (*Artemisia absinthium* L.): Physicochemical and Nutraceutical Screening. *Molecules.* 25; 24(17): 3087.

- [11] Abdulmajed K., McGuigan C. Heard C. M. 2005. Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free Radic. Res.* 39: 491-498.
- [12] Ahmad N., Fazal H., Abbasi B. H., Anwar S. and Basir A. 2012. DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.). *Toxicol. Ind. Health.*
- [13] Ranga R. R., Tiwari A. K., Prabhakar R. P., Suresh B. K., Ali A. Z., Madhusudana K. and Madhusudana R. J. 2009. New furanoflavonoids, intestinal alpha-glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.). *Bioorg. Med. Chem.* 17: 5170-5175.
- [14] El Haci I. A, Mazari W., Gherib M., Bekkara F.A., 2018. Evaluation of the Antioxidant Activities of Organic Extracts from *Ammodaucus leucotrichus* Coss & Dur Fruit Part Harvested from the Algerian Sahara.
- [15] BURT S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253.
- [16] BELMEKKI N., BENDIMERAD N., BEKHECHI C., FERNANDEZ X. 2013. Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(14): 897-902.
- [17] TEUSCHER E., ANTON R., LOBSTEIN A. 2005. *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*, Tec & Doc, Paris, 522 p.

## **Conclusion générale**

### Conclusion générale :

La présente étude ayant pour objectif la recherche de nouveaux composés naturels à intérêt thérapeutique parmi les espèces végétales Algériennes, pour cela nous avons opté pour *Artemisia absunthuim* L., choisie sur la base de sa large utilisation en médecine traditionnelle locale.

A fin d'expliquer son potentielle thérapeutique, nous avons essayé de quantifier et d'identifier ces composés via des analyses phytochimiques et chromatographique.

Deux méthodes d'extraction sont adoptées dont la première est une simple macération par l'eau distillée et la seconde est une hydrodistillation.

L'extraction par hydrodistillation nous a fourni de l'huile essentielle avec un faible rendement de 0.43 %.

La richesse des feuilles de *Artemisia absunthuim* L. en composés phénoliques permet d'expliquer leur utilisation en médecine traditionnelle. Cela est témoigné avec les taux en polyphénols totaux (TPC) trouvé pour l'huile essentielle avec 2.254 mg EAG/g contre l'extrait aqueux avec 0.623 mg EAG/g.

L'analyse chromatographie couplé à la spectroscopie de masse d'huile essentielle des feuilles d'*Artemisia absunthuim* L. nous a identifié dix-huit (18) composés différents dont les composés majoritaires sont  $\alpha$ -Thujone et Camphor.

L'activité antioxydante d'huile essentielle d'*Artemisia absunthuim* L. a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH. Ça valeurs en IC<sub>50</sub> étai de 35.08 mg/ml.

Cependant, l'activité antimicrobienne a été déterminée sur deux souches bactériennes, selon la méthode de diffusion sur disque. En conséquent, ces résultats indiquent que l'huile essentielle possède une activité antimicrobienne modérée.

En terme de perspective, l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active, dont des analyses très poussés et une étude complémentaire *in vivo* sont souhaitables, pour obtenir une vue plus approfondie et explicatif sur ces pouvoir thérapeutiques.

## Résumé

Les recherches actuelles sont focalisées sur les molécules douées d'activités biologiques d'origine naturelle. L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extrait aqueux obtenu par macération et d'huile essentielle obtenu par hydrodistillation des parties aériennes d'*Artémisia absinthuim* L.

L'analyse phytochimiques a permis de mettre en évidence la présence des polyphénols et flavonoïdes dans l'extrait aqueux. Cependant, la teneur en polyphénols totaux était 2.254 mg EAG/g, et la teneur en flavonoïdes était 1.550 mg CE/g.

L'analyse chromatographique d'huile essentielle par CG-MS nous a permis d'identifier 18 composés dont le  $\alpha$ -Thujone et le Camphor.

L'activité antioxydante de ces extraits a été évaluée *in vitro* par test de DPPH. Les valeurs d'IC<sub>50</sub> obtenus sont de 60.12 mg/ml et 35.08 mg/ml pour l'extrait aqueux et l'huile essentielle, respectivement.

L'effet antimicrobien d'huile essentielle a été évalué par la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis les deux espèces microbiennes ; *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. Les résultats révèlent que l'huile essentielle a exercé un effet modéré sur la croissance des espèces étudiées.

**Mots clés:** *Artémisia absinthuim* L., TPC, TFC, GC-MS, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

## Abstract :

The current research is focused on molecules with naturally occurring biological activities. The aims of this study is to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of aqueous extract obtained by maceration and essential oil obtained by hydrodistillation of the aerial parts of *Artemisia absinthuim* L. Phytochemical analysis revealed the presence of polyphenols and flavonoids in the aqueous extract. However, the content of total polyphenols was 2,254 mg EAG/g, when the content of flavonoids was 1,550 mg CE/g.

Chromatographic analysis of essential oil by CG-MS allowed us to identify 18 compounds including  $\alpha$ -Thujone and Camphor.

The antioxidant activity of these extracts was evaluated *in vitro* by DPPH test. IC<sub>50</sub> values obtained are 60.12 mg/ml and 35.08 mg/ml for the aqueous extract and the essential oil, respectively.

The antimicrobial effect of essential oil was evaluated by the disk diffusion method against; *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. The results show that the essential oil had a moderate effect on the growth of the species studied.

**Keywords :** *Artémisia absinthuim* L., TPC, TFC, GC-MS, antioxidant activity, antimicrobial activity.