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

UNIVERSITE YAHIA FARESE DE MEDEA

Faculté de **T**echnologie

Département du Génie des Procédé et Environnement

Mémoire de Fin d'Etude de Master

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Génie des Procédés Pharmaceutiques

THEME

Extraction et modification d'une biomolécule

Proposé et Dirigé par :

Dr. LETTREUCH Hichem

présenté par :

BENAHMED Hayat

AZRI Nadia

Promotion: 2022/2023

Remerciements

En premier lieu, nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir accordé le courage et la force de mener à bien ce travail. Tout le mérite revient à Dieu avant tout, Qui nous a aidés.

On commence par exprimer nos profondes reconnaissances et vifs remerciements à notre promoteur Dr LETTEUCH Hichem, pour leur conseil pertinent, Leur disponibilité, et encouragement. Tout au long de la réalisation de ce travail.

On remercie aussi les ingénieurs laboratoire microbiologique de l'unité Antibiotical de « Saidal » à Médéa. Pour leurs orientations concernant l'étude de l'activité antimicrobienne.

Nous tenons également à remercier les membres du jury

Dr BELAISSA.Y et Dr SEDIRI.M

maîtres de conférences à l'université de Médéa, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant de juger notre travail.

Pour conclure, je souhaite adresser mes vifs remerciements à toute personne ayant participé de près ou de loin pour la réalisation ce travail.

Hayat et Nadia.

Dédicace

A mes parents ***Ahmed*** *et* ***Dounia*** *pour les efforts et les sacrifices faits pour moi.*

A mes frères ***Sofiane*** *et* ***Messaoud*** *et mes chères sœurs* ***Hanane****,* ***Meriem****,* ***Chaïma****,* ***khaoula*** *et* ***Leila****.*

A mes beaux-frères ***Haithem*** *et* ***Oussama****, ma belle-sœur* ***Sabrine****.*

A mes amies de mon corps, ***Mohammad, Dounia, Romaissa, Houda, Sirine*** *et* ***Sarah*** *pour leurs amours et de leurs soutiens moraux.*

A mon amie et binôme ***Hayat*** *pour tous les moments durs et agréables passés ensembles.*

A. Nadia

Dédicace

A Mon cher papa ***Meliani****, et la lumière de ma vie et l'espoir de mon existence ma mère* ***Halima*** *; vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection, je vous offre ce travail en témoignage de tous les sacrifices et l'immense tendresse dont vous m'avez toujours su me combler.*

J'espère qu'un jour, je pourrai vous rendre un peu de ce que vous avez fait pour moi.

A mes chers frères, ***Abd el Djalil****,* ***Moustapha*** *et* ***Abd el Kader****, pour leur appui et leur encouragement.*

A ma chère sœur ***Zineb*** *pour leur encouragement permanent, et leur soutien moral.*

A mon adorable amie ***Oussama*** *qu'il a été toujours là pour moi, c'est le meilleur soutien dans la vie.*

À Mes meilleures copines : ***Radhia****,* ***Nora****,* ***Farah****,* ***Safia****,* ***Abir****,* ***Zahra****,* ***Aicha****,* ***Asmaa****,* ***Kheira*** *et* ***Hadjira.***

sÀ tous mes enseignants sans exception.

A toute la promotion Génie procédé pharmaceutique 2023.

Dédicase à toutes personnes qui m'ont aidée de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

B. Hayat

Sommaire

Remerciement .....

Dédicaces .....

ملخص.....

Résumé .....

Abstract.....

Nomenclatures.....

Liste des figures
.....

Liste des tableaux
.....

Introduction générale **1**

Partie théorique

Chapitre I :Aperçu bibliographique sur Les huiles essentielles

I.1. Historique **3**

I.2. Définition **3**

I.3. Déterminants de la stabilité des huiles essentielles **3**

I.3.1. La lumière 3

I.3.2. La température 3

I.3.3. Contaminants métalliques 4

I.3.4. Disponibilité de l'oxygène 4

I.3.5. Teneur en eau 4

I.3.6. Structure des composés et composition chimique 4

I.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles **4**

I.5. La composition chimique des huiles essentielles **5**

I.5.1. Les terpénoïdes 5

I.5.2. Monoterpènes 6

I.5.3. Les sesquiterpènes 7

I.5.4. Les composes aromatique 8

I.5.5. Composés d'origines diverses 8

I.6. Procédés d'extraction des huiles essentiels **..... 9**

I.6.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau 9

I.6.2. Extraction par Hydrodistillation 9

I.6.3. Extraction par fluide supercritique 10

I.6.4. L'extraction par solvants volatils des extraits aromatiques 11

I.6.5. Hydrodistillation assistée par micro-ondes «MicrowaveAssistedHydrodistillation (MAHD) » 12

I.7. Méthode d'analyse des huiles essentielles **..... 13**

I.7.1. La chromatographie en phase gazeuse (GC) 13

I.7.1.1. Le détecteur FID 14

I.7.1.2. Le couplage GC-MS 14

I.7.2. Le spectre de masse 14

I.7.3. Le couplage GC-FTIR 15

I.7.3.1. Principe du couplage 15

I.7.4. La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) 16

Chapitre II : Plante étudiée Ruta montana

II.1. La famille rutacée 17

II.2. Appellation 18

II.3. Répartition géographique 18

II.4. Position dans la systématique 18

II.5. Caractéristiques botaniques 19

II.6. Utilisation de Ruta montana. L 19

II.6.1. Usages dans la médecine traditionnelle 20

II.6.2. Utilisations thérapeutiques 21

II.7. Composition chimique de Ruta montana **..... 21**

II.7.1. Les alcaloïdes 22

II.7.2. Les flavonoïdes 23

II.7.3. Les tannins 24

II.7.4. Les coumarins 25

II.4.8. Les huiles essentielles 27

Chapitre III : Plante étudiée d'Ammodaucus leucotrichus

III.1. Présentation botanique de la famille apiacées ou ombellifères **28**

III.2. Description botanique D'Ammodaucus leucotrichus **28**

III.2.1. La classification systématique botanique 29

III.2.2 HE d'A. leucotrichus 30

III.2.3. Tableau de Composition 30

III.2.4. Localisation géographique dans l'Afrique 31

III.2.6. Utilisations traditionnelles et Vertus d'A. leucotrichus 32

III.2.7. Mode d'emploi 32

III.2.8. Toxicité 33

II.2.9. Caractérisation d'He d'Ammodaucuse : 33

Partie expérimentale

I: Méthodes et matériels

I. Matériels **34**

I.1 Matériels végétaux (les plantes Récoltées) 34

I.2 Les produits 35

I.3 Matériel biologique 36

II. Méthodes expérimentales **36**

II.1 Extraction des huiles essentielles 36

a) Méthode d'extraction par hydrodistillation type clevenger 36

b) Echantillonnage 36

c) Matériels de Clevenger 36

II.2 Méthode de caractérisation 37

II.2.1 Organoleptique 37

II.2.2 Les propriétés physiques 37

II.2.3 Les Caractérisation chimique 40

a) Indice de saponification 40

b) L'indice d'acide 40

c) Indice d'ester 41

d) Teste de miscibilité dans l'éthanol 41

e) La spectroscopie Infra-rouge 41

II.3 Modification chimique (Mode opératoire) 42

II.3.1 L'hémi-synthèse 42

II.3.2 Le benzimidazole 42

II.3.3 Mode opératoire de hémi-synthèse de benzimidazole 42

II.4 Evaluation de l'activité biologique **44**

II.4.1 Activité antimicrobienne des hétérocycles hémi synthétisés 44

II.4.2 Préparation des solutions : 44

II: Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction des huiles essentielles des plantes étudiées **47**

2.Caractérisations organoleptiques en huile essentielle **48**

3.Les caractérisations physiques **49**

4.Les Caractérisation chimique **50**

5.Modification chimique des huiles essentielles **57**

6.Evaluation de l'Activité biologique **57**

Conclusion 62

ملخص :

السياق العالمي الحالي يفرض على العلماء البحث عن جزيئات نشطة جديدة كليا أوجزئيا انطلاقا من مصادر طبيعية كبدائل للجزيئات المتوفرة في اللأسواق.

العمل الحالي يندرج ضمن استخلاص الزيوت الأساسية للكمون الصوفي و الفيجل الجبلي بطريقة التقطير المائي الذي أعطى مردود يقدر ب 2,52% و 2,13% على التوالي. تم دراسة الخصائص الفيزيائية و الكيميائية لهذه الزيوت الطيارة المتحصل عليها.

في مرحلة ثانية و باستعمال التركيب المتطابق عن طريق أرتوفينيلان ثنائي الأمين على الألديهيدات و السيتونات, ثم تغيير صيغة المركبات الى مشتقات بنزيميدازول و هي مركبات حلقية غير متجانسة عطرية من عائلة الأزولات.

أظهرت نتائج نشاط مضادات الميكروبات للزيوت الأساسية و المعدلة التي تمت درستها بوسطة طريقة الانتشار في علبة بيتري تحسنا كبيرا في النشاط مع أرتوفينيلان ثنائي الأمين مقارنة بالزيوت مع ست سلالات بكتيرية.

الكلمات الرئيسية: الزيوت العطرية، الكمون الصوفي ، التركيب المتطابق، بنزيميدازول، نشاط مضاد للبكتيريا.

Résumé :

Le contexte mondial actuel oblige les scientifiques à rechercher de nouvelles molécules actives totalement ou partiellement modifiées à partir de sources naturelles comme alternatives aux molécules existantes sur le marché.

Le présent travail décrit d'abord l'extraction de l'HE d'Ammoduacus leucotrichus et de Ruta montana par hydrodistillation avec des rendements moyens de 2,52 % et 2,13 %, respectivement. Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles obtenues ont été analysées et étudiées.

Dans un deuxième temps, par hémi-synthèse, l'action de l'o-phénylènediamine sur les aldéhydes et les cétones, les huiles essentielles d'Ammoduacus leucotrichus et Ruta montana sont modifiées chimiquement pour générer des benzimidazoles, composé hétérocyclique aromatique de la famille des azoles.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles naturelles et modifiées étudiées par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) ont montré une amélioration significative de l'activité avec l'o-phénylènediamine par rapport aux huiles de six souches bactériennes.

Mots clés : Huile essentielle, Ammoduacus leucotrichus, hémi-synthése, benzimidazole, activité antibactérienne.

Abstract:

The current global context requires scientists to look for new active molecules totally or partially modified from natural sources as alternatives to existing molecules on the market.

The present work first describes the extraction of HE from Ammoduacus leucotrichus and Ruta Montana by hydrodistillation with average yields of 2.52% and 2.13%, respectively. The physico-chemical properties of the essential oils obtained were analysed and studied.

Secondly, by hemisynthesis, the action of o-phenylenediamine on aldehydes and ketones, chrysanthemum and street essential oils are chemically modified to generate benzimidazoles, an aromatic heterocyclic compound of the azole family.

The results of the antimicrobial activity of natural and modified oils studied by the disc diffusion method (aromatogram) showed a significant improvement in activity with o-phenylenediamine compared to the oils of six bacterial strains.

Keywords: essential oil, Ammoduacus leucotrichus, hemosynthese, benzimidazole, antibacterial activity.

Liste d'observations

A.F.N.O.R	Association française de normalisation
MH	Mueller Hinton
DMSO	Diméthyl hydraxyde
IR	Infrarouge
IS	Indice de saponification
IE	Indice d'ester
IA	Indice d'acide
P_f	Point de fusion
R	Rendement en huile essentiel
V	Volume
C	Concentration
m	Masse
g	Gramme
HE	Huile essentielle
N	Normalité
°C	Degré Celsius
Cm	Centimètre
R	Radical
MAHD	Microwave Assisted Hydro Distillation
Mg/ml	milligramme par millilitre

Partie théorique.

Chapitre I : Aperçu bibliographique sur Les huiles essentielles.

Figure I.1: la vanilline…….…….8

FigureI.2 : principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau…...9

Figure I.3 : principe schématisé de l'hydrodistillation……..…….10

Figure I.4 : Schéma du procédé de l'extraction par CO2 supercritique…….....11

Figure I.5 : Les différents types d'extraction par solvants volatils……...…..12

Figure I.6 : Principe schématisé de l'appareillage de système de l'hydrodistillation sous micro-ondes…….....13

Figure I.7 : Schéma général simplifié d'un chromatographe en phase gazeuse…….....14

Figure I.8 : Spectres de masse du géranial et du néral…….…...15

Figure I.9 : Schéma du couplage GC-FTIR……..…15

Figure I.10 : Comparaison d'un chromatogramme FID et FTIR de l'huile de Cupressus sempervirens…….…...16

Chapitre II : Plante étudiée Ruta montana

Figure II.1 : Quatre espèces de Ruta……..…….…….17

Figure II.2 : Ruta montana L. habitat (A) ; plante entière (B) ; fleurs (C) ; et Fruits (D) …..... 19

Figure II.3 : Structures des principaux alcaloïdes de furoquinoline isolés de plantes de la famille des Rutaceae ……..……..22

Figure II.4 : Substances chimiques des différentes classes de flavonoïdes…….....23

Figure II.5: Squelette de base des flavonoïdes…….……....24

Figure II.6 : Classification des tannins……...…..25

Figure II.7 : Structures chimiques de la coumarin……26

Figure II.78 : Structures chimiques de la coumarin……..……26

Figure II.8 : structures des coumarins isolées des familles des Meliaceae et des Rutaceae……...26

Chapitre III : Plante étudiée d'Ammodaucus leucotrichus

Figure III.1 : la plante entiére d'A. lecotrichus……....29

Figure III.2 : la tige (A) les fleurs (B) D'A. leucotrichus ……...30

Figure III.3 : Structures chimiques de quelques composés identifiés dans l'huile essentielle des fruits d'A. leucotrichus ……... …….31

Figure III.4 : Distribution d'A. leucotrichus (les ronds rouges) dans l'Afrique……..32

Partie expérimentale

Méthodes et matériels

Figure I.1: plante d'Ammodaucus leucotrichus…….....34

Figure I.2 : la plante de Ruta montana…….35

Figure I.3 : Montage Extraction par hydrodistillation type clevenger…….37

Figure I.4 : pycnomètres (A) remplis au l'eau distillé, (B) remplis au l'EH…..38

Figure I.5 : Réfractomètre…….39

Figure I.6 : mode opératoire d'indice d'acide……..40

Figure I.7 : Spectromètre FT-IR (infrarouge)…….……42

Figure I.8 : Structure de benzimidazole……..……..42

Figure I.9 : Réaction d'Ammodaucus leucotrichus…….....42

Figure I.10 : Réaction avec Ruta maontana…….....43

Figure I.11 : mode opératoire d'hémi-synthèse d'HE Ammodaucus leucotrichus ……....….....43

Figure I.12 : réaction de hémi-synthèse d'HE de Ruta montana…….44

Figure I.13 : préparation le milieu MH et coulage des boites pétries……..45

Figure I.14 : dilution les produits dans le DMSO….……46

Figure I.15 : déposer les disques…….....46

Résultats et discussions

Figure II.1: Diagramme V= f(s) présents les rendements de l'extraction des HEs d'Ammodaucus Leucotrichus (en rouge) et Ruta Montana (en bleu)……..…47

Figure II.2: la couleur de HE' d'Ammodaucus leucotrichus (bleu) et Ruta montana (jaune claire)……..48

Figure II.3 : spectre IR d'HE d'Ammodaucus leucotrichus……...52

Figure II.4 : spectre IR d'HE de Ruta montana……..…53

Figure II.5 : spectre IR de Cumin +3,4 diaminonitrobenzol……54

Figure II.6 : spectre IR de Cumin +3,4 diaminobenzoique…….54

Figure II.7 : spectre IR de Cumin ++3,4 diaminotoluene……55

Figure II.8 : spectre IR de Ruta montana +3,4 diaminonitrobenzol…….55

Figure II.9 : spectre IR de Ruta montana +3,4 diaminotoluene……56

Figure II.10: spectre IR de Ruta montana + (3,4- diaminobenzoique)…….....56

Chapitre I : les huiles essentielles

Partie théorique.

Chapitre I : Aperçu bibliographique sur Les huiles essentielles.

Tableau I.1 : Classification des terpénoïdes ……...…5

Tableau I.2 : Nom des composés et structures chimiques des monoterpénoïdes ……6

Tableau I. 3 : Nom des composés et structures chimiques des Sesquiterpénoïdes…….....7

Chapitre II : Plante étudiée Ruta montana

Tableau II.1 : Noms usuels de Ruta montana dans différents pays.....…...18

Tableau II.2 : Utilisations traditionnelles de la plante Ruta montana dans différents pays……..20

Tableau II.3 : Quelques dérivés des alcaloïdes de l'espèce R. montana L…….....22

Tableau II.4 : Quelques dérivés des flavonoïdes de l'espèce R. montana L…….....24

Tableau II.5 : Quelques dérivés des coumarins de l'espèce R. montana L…….....26

Tableau II.6 : Principaux huile essentiel de la rue…….....27

Chapitre III : Plante étudiée d'Ammodaucus leucotrichus

Tableau III.1 **:** la plante entière d'A. leucotrichus …….….....29

Tableau III.2 : Classification botanique D'A. leucotrichus dans la systématique.....30

Tableau III.3. : Quelque Composition chimique de l'huile des parties aériennes d'A. leucotrichus de 4 régions on Algérie …….....30

Partie expérimentale

Méthode et matériel

Tableau I.1 : les produits utilisés…….35

Tableau I.2 : liste des souches microbiennes à gram (-) et (+)……36

Tableau I.3 : les produits d'hémi-synthèse utilisées et ces structures…..…….....43

Résultats et discussions

Tableau II.1: rendement en huile essentielle des plantes utilisées……..……47

Tableau II.2 : Caractérisations organoleptiques d'HE d'A. leucotrichus et Ruta montana ……..……...……48

Tableau II.3 : comparaison des caractérisations organoleptiques des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana …….....48

Tableau II.4 : la densité des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana …….49

Tableau II.5 : comparaison de densité des HEs …….....49

Tableau II.6 : Indice de réfraction des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana ……..49

Tableau II.7 : comparaison des Indice de réfraction des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana…….....50

Tableau II.8 : indice d'acide d'HE d'A Leucotrichus et Ruta montana….....50

Tableau II.9 : Indice de saponification des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana…….……..51

Tableau II.10 : indice d'ester des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana…….....51

Tableau II.11 : les zones d'inhibitions des microorganismes pour les échantillons à l'état purs et diluer……58

Introduction :

L'aromathérapie se définit littéralement comme la partie de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles. Dans le domaine médical, elle est se définit comme une thérapie utilisant les huiles essentielles végétales par voie interne ou externe. Elle, fait appel à toutes les plantes dotées de propriétés médicinales. **[1]**

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies.

Il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action, bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal été attribués à des composés tels que les alcaloïdes, les terpènes, les stéroïdes et des composés polyphénoliques. **[2]**
La médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants. En effet, de nombreux composés volatils sont aujourd'hui des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques. **[3]**

Les huiles essentielles (HE) sont des huiles tirées à base de plantes, avec un arôme propre à chacune d'elles. Ce sont des mélanges de substances aromatiques volatiles et odoriférantes qui sont présentes en faible quantité dans le végétal. Elles passent instantanément de l'état liquide à l'état gazeux, aérien. Depuis fort longtemps, les HE sont connus et utilisés pour leurs parfums, leurs utilisations en cosmétiques et pour leurs propriétés thérapeutiques. Chaque huile possède des propriétés spécifiques liées aux différents composants qu'elle contient. Leur composition chimique est d'une grande complexité, ce qui les rend inimitables car chaque HE regroupe en réalité plusieurs substances aromatiques très élaborées et très différentes. On peut les recueillir dans toutes les parties de la plante (fleurs, fruits, graines, écorces, tiges, ou parfois dans la plante entière). Leur composition varie souvent selon les conditions climatiques et l'environnement. Ces huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison d'une part, de leurs activités antioxydants, antibactériennes et antifongiques et d'autre part, de ce que la plupart des HE sont classées dans la liste des substances gras, qui les rendent utiles en tant que conservateurs naturels dans les industries agroalimentaires. **[4]**

Dans notre travail, on s'intéressera à l'évaluation via l'hémi-synthèse des huiles essentielles de ces deux espèces dans le but d'améliorer leurs activités antimicrobiennes.
Le présent travail comporte deux parties :

Dans la première partie, nous abordons les différentes connaissances bibliographiques sur les huiles essentielles, les deux plantes étudiées, leurs réparations géographiques caractéristiques botaniques, utilisations thérapeutiques, compositions chimiques de ses huiles et leurs propriétés médicinales et on termine par la chimie des aldéhydes.

Une deuxième partie expérimentale composé elle-même de plusieurs volets, à savoir :

- L'extraction des huiles essentielles du Ruta montana et du cumin velu par hydrodistillation.
- La caractérisation physicochimique et organoleptique des huiles essentielles.

- La modification chimique des HEs via hémi-synthèse.
- L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles pure et modifiés.
- L'interprétation et discussion des résultats obtenus.

En fin une conclusion générale.

Partie théorique

I

Aperçu bibliographique sur Les huiles essentielles.

I.1. Historique :

L'histoire des huiles essentielles commence cependant 2000 à 3000 ans avant cette époque. L'art de la distillation, initié par les Egyptiens, Indiens et Perses, s'améliora grandement au cours du IXème siècle sous l'impulsion des Arabes avec, notamment, le développement de l'alambic attribué à Avicenne (980-1037). La science des huiles essentielles prit ensuite le large pour gagner l'Europe au cours des croisades durant le XIIIème siècle. Le développement des procédés de production et des connaissances de ces extraits fut alors majoritairement mené par des pharmaciens. Durant les siècles qui suivirent, les huiles essentielles étaient principalement utilisées pour leurs vertus thérapeutiques et ne nécessitaient qu'une production minime, ce qui n'est plus le cas de nos jours. **[5]**

I.2. Définition :

L'huile essentielle est un mélange de composés odorants et volatils, nommés d'après les caractéristiques aromatiques des matières végétales à partir desquelles elles peuvent être isolées. **[6]**

Une huile essentielle (HE) est définie au niveau international comme le produit obtenu par hydrodistillation, distillation à la vapeur ou distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (pour les agrumes) d'une plante ou de certaines parties de celle-ci. **[7]**

I.3. Déterminants de la stabilité des huiles essentielles :

I.3.1. La lumière : On considère que la lumière ultraviolette (UV) et la lumière visible (Vis) accélèrent les processus d'autoxydation en déclenchant l'abstraction d'hydrogène qui entraîne la formation de radicaux alkyle.

I.3.2. La température : La température ambiante influence de manière cruciale la stabilité des huiles essentielles à plusieurs égards : En général, les réactions chimiques s'accélèrent avec l'augmentation de la chaleur en raison de la dépendance de la vitesse de réaction à la température.

Sur cette base, la loi de vant Hoff stipule qu'une augmentation de température de 10 °C double approximativement les taux de réaction chimique.

I.3.3. Contaminants métalliques : Lors de la distillation dans des alambics primitifs ou pendant le stockage dans des récipients métalliques, des impuretés métalliques peuvent être libérées dans les huiles essentielles. Au même titre que la lumière et la chaleur, les métaux lourds, en particulier les ions cuivreux et ferreux, sont considérés comme favorisant l'autoxydation.

I.3.4. Disponibilité de l'oxygène : L'oxydation de l'huile s'accélère avec la concentration d'oxygène dissous, qui dépend elle-même largement de la pression partielle d'oxygène dans l'espace de tête ainsi que de la température ambiante. Sans agitation, la diffusion de l'oxygène dans l'échantillon se fait progressivement au fil du temps. Selon la loi de Henry, la solubilité de l'oxygène est élevée à basse température et diminue considérablement avec l'augmentation des degrés Celsius.

I.3.5. Teneur en eau : L'humidité a été considérée comme une raison possible de l'altération des huiles essentielles. Par exemple, il a été démontré que les procédures de distillation à l'eau à environ 100 °C déforment les spectres des composés. **[8]**

I.3.6. Structure des composés et composition chimique : La sensibilité des huiles essentielles à la dégradation dépend largement des spectres des composés, car les structures moléculaires des composants ont un effet substantiel sur le degré d'oxydation. Les composés riches en atomes d'hydrogène allyliques constituent les cibles les plus probables de l'auto-oxydation, étant donné que l'abstraction d'atomes d'hydrogène donne lieu à des radicaux stabilisés par résonance qui sont très favorisés en raison de leur énergie d'activation plus faible**. [8]**

I.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

- À température ambiante, les HE sont liquides
- À basse température, certaines HE cristallisent
- Les HE sont volatiles, ce qui les oppose aux “huiles fixes” ou “huiles végétales” (généralement abrégées HV dans les formules). Cette volatilité explique leur caractère odorant ainsi que leur mode d’obtention par entraînement à la vapeur d’eau.
- Les HE sont très solubles dans les huiles grasses
- De caractère liposoluble, les HE ne se dissolvent pas dans l’eau. Rajoutées dans un bain, par exemple, elles flottent – leur densité est généralement inférieure à 1 – et sont susceptibles de provoquer des irritations, voire des brûlures

cutanées. Il faut donc impérativement utiliser un tensioactif pour permettre leur mise en suspension dans l'eau. Elles possèdent un indice de réfraction élevé et ont souvent un pouvoir rotatoire.

- Les HE sont altérables, sensibles à l'oxydation, mais ne rancissent pas. **[9]**

I.5. La composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges à plusieurs composants; dans les huiles individuelles, il est possible d'identifier jusqu'à 400 substances chimiques, voire davantage lorsque l'on dispose d'un équipement analytique sophistiqué et des méthodes de détection appropriées. **[10]**

Cependant, le nombre de composants qui sont réellement responsables des odeurs et des saveurs caractéristiques sont limité**. [11]**

I.5.1. Les terpénoïdes :

Les terpénoïdes, également connus sous le nom d'isoprénoïdes, sont les produits naturels les plus nombreux et les plus diversifiés sur le plan structurel. Le nom générique Le nom générique "terpène" s'appliquait à l'origine aux hydrocarbures présents dans l'essence de térébenthine, le suffixe "ene" indiquant la présence de liaisons oléfiniques.

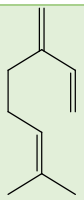
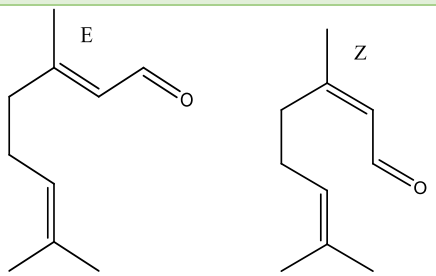
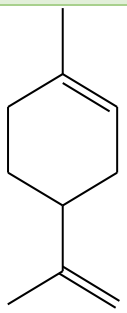
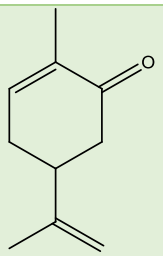
Les terpénoïdes sont classés en fonction du nombre et de l'organisation structurelle des carbones formés par l'arrangement linéaire des unités d'isoprène, suivi par la cyclisation et les réarrangements du squelette carboné. **[12]**

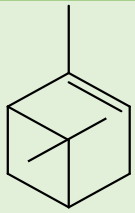
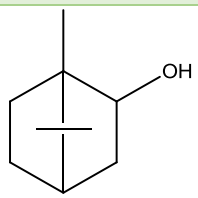
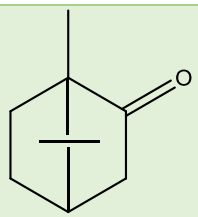
Tableau I.1 : Classification des terpénoïdes **[12]**

Nom	Nombre d'unités d'isoprène	Nombre d'atomes de carbone	Formule générale
Hémiterpénoïdes	1	5	C_5H_8
Monoterpénoïdes	2	10	$C_{10}H_{16}$
Sesquiterpénoïdes	3	15	$C_{15}H_{24}$
Diterpénoïdes	4	20	$C_{20}H_{32}$
Sesterterpénoïdes	5	25	$C_{25}H_{40}$
Triterpénoïdes	6	30	$C_{30}H_{48}$
Tétraterpénoïdes	8	40	$C_{40}H_{64}$
Polyterpénoïdes	>8	>40	$(C_5H_8)_n$

I.5.2. Monoterpènes : Possèdent 10 atomes de carbone et sont construits à partir de 2 unités isoprène ($C_{10}H_{16}$), qui peuvent former différents squelettes carbonés. Il existe 3 formes de monoterpènes : linéaire (acyclique), monocyclique et bicyclique.

Tabeau I.2 : Nom des composés et structures chimiques des monoterpénoïdes

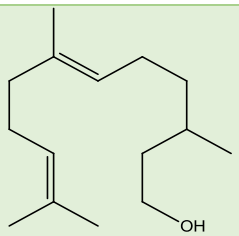
Nom des composés	**structures chimiques**
Monoterpénoïdes acycliques	
Myrcène	
Citral	
Monoterpénoïdes monocycliques	
Limonène	
Carvone	

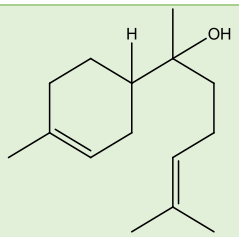
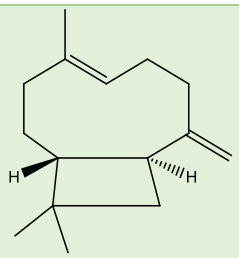
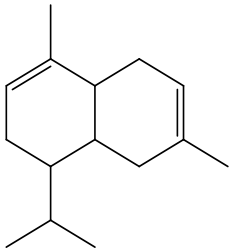
Monoterpénoïdes bicycliques	
α-pinene	
Borneol	
Camphor	

I.5.3. Les sesquiterpènes :

Possèdent 15 atomes de carbone ; ils sont construits à partir de 3 unités isoprènes ($C_{15}H_{24}$) et peuvent se présenter sous forme acyclique, monocyclique, bicyclique et tricyclique. **[10]**

Tableau I. 3 : Nom des composés et structures chimiques des Sesquiterpénoïdes **[12]**

Nom des composés	**structures chimiques**
Sesquiterpénoïdes acycliques	
Farnesol	
Sesquiterpénoïdes monocycliques	

β-Bisabolene	
Sesquiterpénoïdes bicycliques	
β-Caryophyllene	
δ-Cadinene	

I.5.5. Les composès aromatique :

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes **[13]**

Un noyau aromatique est couplé à une chaîne de trois carbones. **[14]**

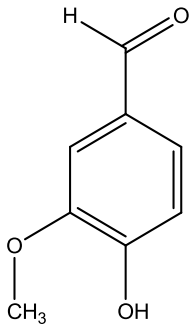


Figure I.1 : la vanille

I.5.6. Composés d'origines diverses :

Lors de la préparation des huiles essentielles, certains composés aliphatiques, de faible masse moléculaire, sont entraînés lors de l'hydrodistillation (carbures, acides, alcools, aldéhydes, esters...).

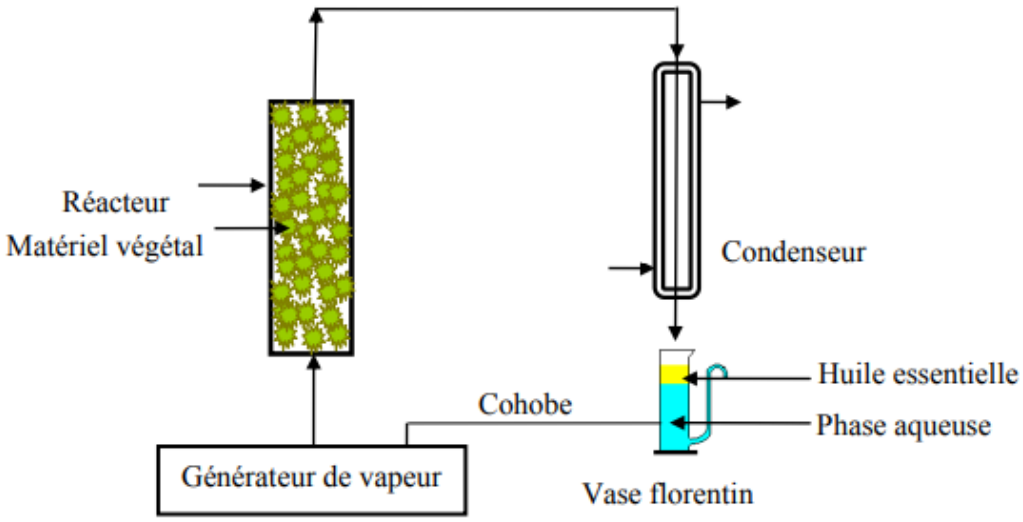
Les différents composés sont assez stables aux températures ambiantes. **[14]**

I.6. Procédés d'extraction des huiles essentiels :

L'extraction d'une l'huile essentielle (HE) est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, en effet, de capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et les plus fragiles qu'élabore le végétal, et cela sans en altérer la qualité. Pour mesurer la difficulté de l'entreprise, il suffit de garder présente à l'esprit la rapidité avec laquelle se dégage, puis disparaît ou se dénature, le parfum d'une fleur, même la plus odorante, lorsqu'on en a froissé les pétales. Une fois la cuticule cireuse des poches épidermiques brisée, l'essence s'en échappe et plusieurs molécules odorantes se dispersent dans l'air ambiant**. [15]**

I.6.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic. **[16]**



FigureI.2 : principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau **.[17]**

I.6.2. Extraction par Hydrodistillation :

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors la décantation. **[16]**

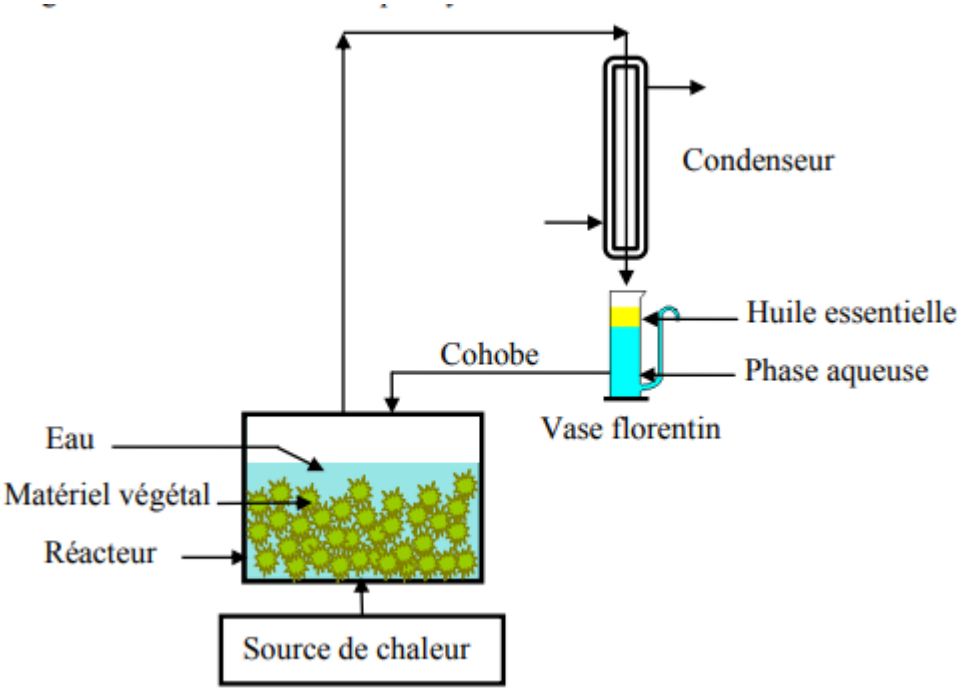


Figure I.3 : principe schématisé de l'hydrodistillation **[17]**

I.6.3. Extraction par fluide supercritique :

Les fluides supercritiques ont été considérés comme un moyen alternatif pour l'extraction des HEs. Le dioxyde de carbone (CO_2) est le fluide supercritique le plus couramment utilisé du fait de ses conditions critiques modérées. Dans des conditions de haute pression et à température supérieure à 31°C, le CO_2 se trouve dans un état dit « supercritique », intermédiaire entre le gaz et le liquide. Dans cet état, le CO_2 présente la particularité d'extraire les molécules aromatiques à partir de la matière première. L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. Son principe consiste à charger la matière végétale dans l'extracteur, puis le CO_2 introduit sous pression est réfrigéré La figure I.4 illustre le schéma de ce procédé. **[18]**

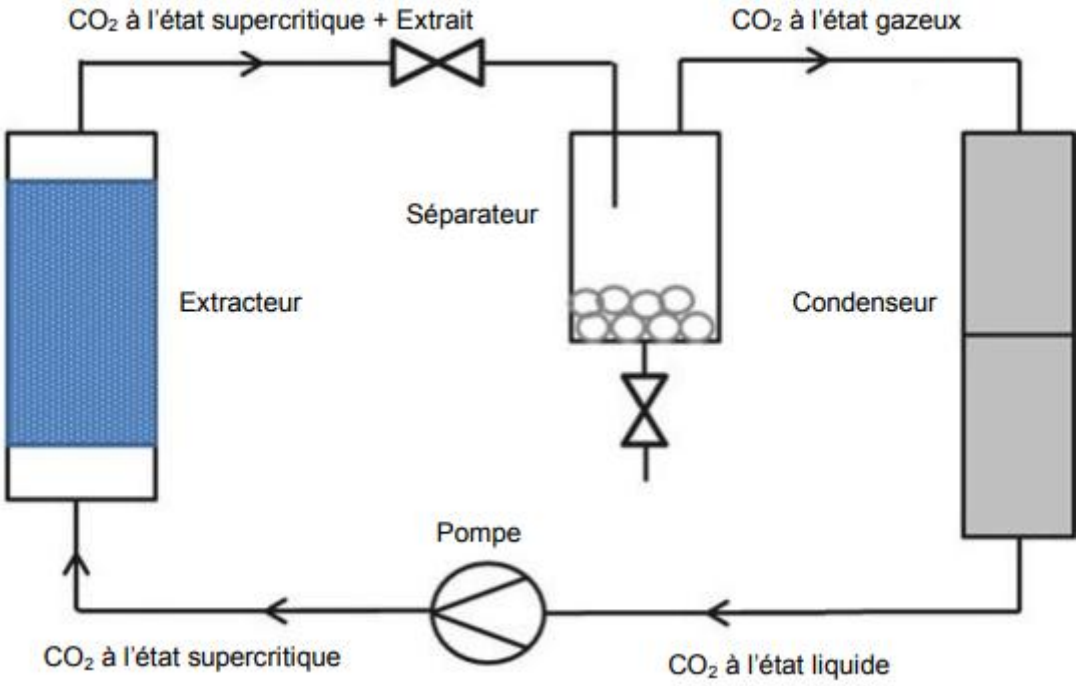


Figure I.4 : Schéma du procédé de l'extraction par CO_2 supercritique

I.6.4. L'extraction par solvants volatils des extraits aromatiques :

L'extraction par solvant a connu d'intéressantes améliorations. L'hydrodistillation-extraction simultanée et l'extraction par Soxhlet en sont les principales. **(Figure I.5)**

L'extraction par l'appareil de Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours neuf puisque distillé à chaque cycle. Cette technique est loin d'être exclusive aux molécules aromatiques d'origine végétale. Elle est fréquemment utilisée pour l'extraction de lipides, ou de diverses autres catégories de molécules. De plus, cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes et aux ultra-sons.

L'hydrodistillation-extraction simultanée (Simultaneous Distillation Extraction : SDE) a été décrite en 1964 pour la première fois par Lickens et Nickerson. Le nom des concepteurs de la technique sera par la suite donné à l'appareillage utilisé pour ce type d'extraction. L'originalité et le principe de cette technique résident dans la rencontre de la vapeur d'eau chargée de molécules aromatiques provenant de l'hydrodistillation et des vapeurs de solvant, entraînant l'extraction des composés aromatiques de la phase aqueuse vers la phase organique. Le passage des deux phases dans la partie réfrigérante va permettre la condensation et la séparation des deux phases dans la partie en U de l'appareil. La conception du procédé assure le recyclage des deux phases. **[19]**

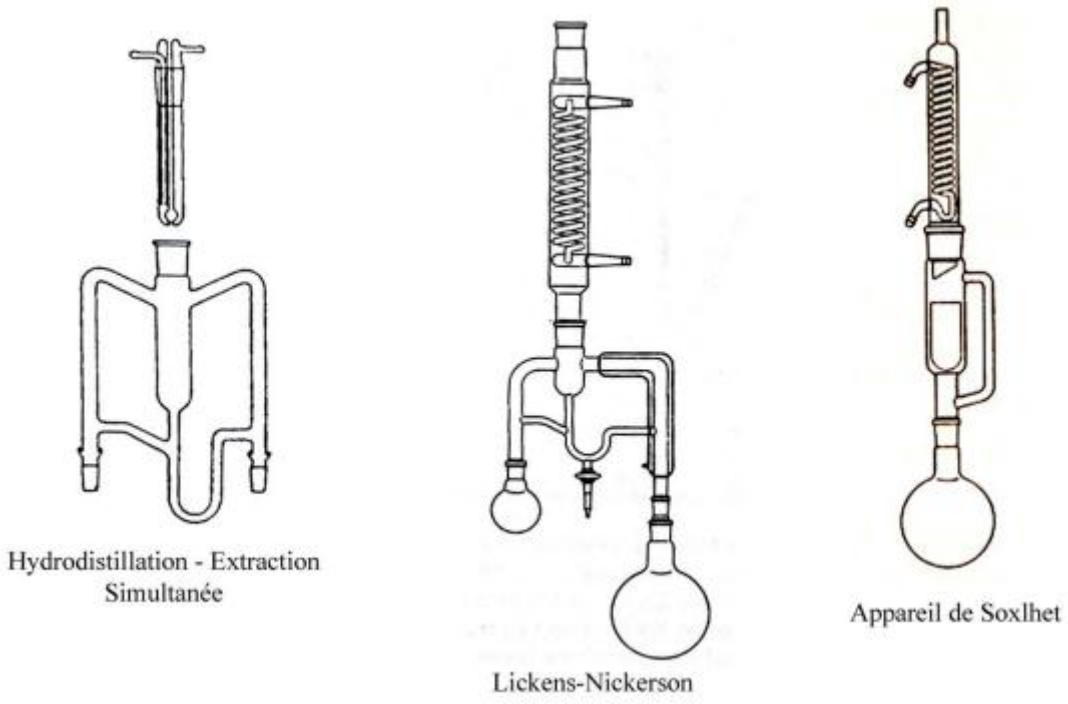


Figure I.5 : Les différents types d'extraction par solvants volatils**. [19]**

I.6.5. Hydrodistillation assistée par micro-ondes «Microwave Assisted Hydro Distillation (MAHD) » :

L'hydrodistillation assistée par micro-ondes (MAHD) est un procédé développé par Stashenko et coll. Ce procédé, basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique, consiste à placer une partie du montage d'hydrodistillation dans le four à microondes (Figure 05). Le matériel végétal est donc placé en présence d'une quantité d'eau suffisante dans un réacteur disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. Le système de réfrigération ainsi que la partie prévue pour la récupération des essences sont situés à l'extérieur du four. **[20]**

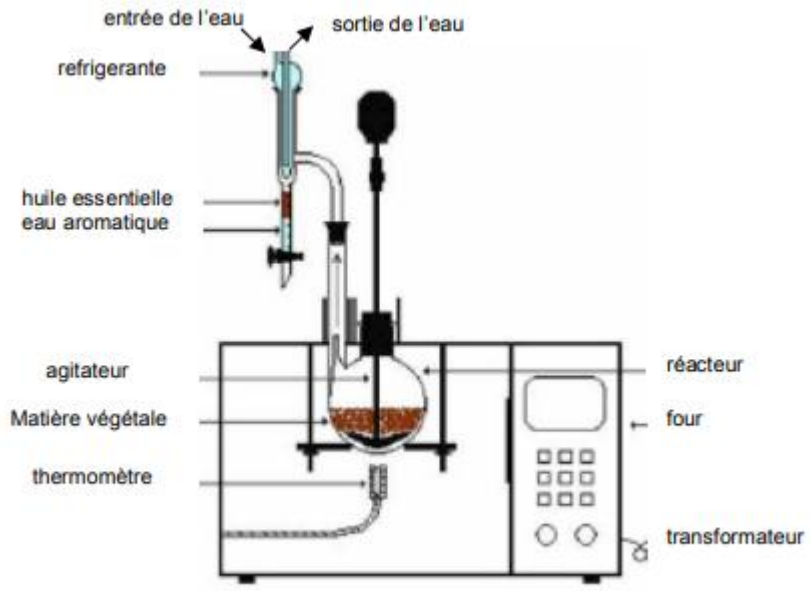


Figure I.6 : Principe schématisé de l'appareillage de système de l'hydrodistillation sous micro-ondes. **[16]**

I.7. Méthode d'analyse des huiles essentielles :

Les nombreuses applications des huiles essentielles, qui à leur tour chacun comprendre un large éventail de composants, nécessitent une analyse approfondie afin de prouver la qualité nécessaire et d'authentifier l'identité.

En conséquence, diverses méthodes basées sur la physique et la chimie propriétés ont été suggérées pour caractériser les huiles essentielles, qui ont en outre été appliquées pour déterminer la stabilité des huiles essentielles au stockage. La détermination de plusieurs paramètres tels que comme densité relative, rotation optique, indice de réfraction, point de congélation, ou composés (classe)-spécifiques sont, entre autres, fixés dans la Pharmacopée européenne pour le contrôle de pureté. En bien sûr, les analyses sensorielles sont naturellement appropriées, comme la vérification d'une odeur caractéristique ou, moins souvent, d'une classification caractéristique de saveur d'huile essentielle dans les profils d'odeur. **[21]**

I.7.1. La chromatographie en phase gazeuse (GC) :

Permet de séparer de faibles quantités des différents composants de l'huile essentielle.

La chromatographie gazeuse autorise le couplage de toute une série de détecteurs différents qui permettent d'avoir une vision multiple d'un seul produit. Les détecteurs les plus utilisés sont le détecteur de masse (MS), le détecteur à ionisation de flamme (FID) et de plus en plus, le détecteur infrarouge à transformée de Fourier (FTIR). **[22]**

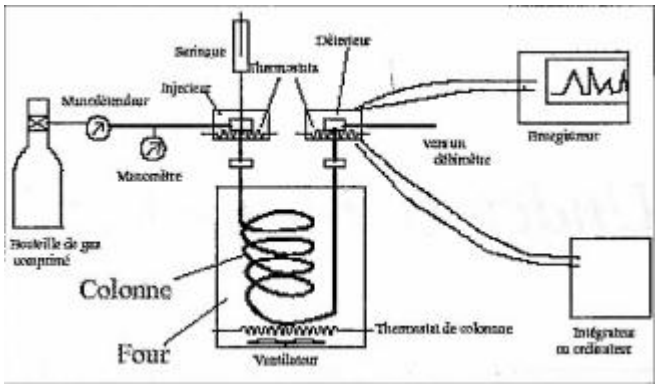


Figure I.7 : Schéma général simplifié d'un chromatographe en phase gazeuse. **[21]**

I.7.1.1. Le détecteur FID : Les principales applications du détecteur FID dans l'analyse d'huiles sont :

a) l'identification des composés à l'aide des indices de Kovats.

b) la détermination des proportions relatives des composés dans l'huile.

I.7.1.2. Le couplage GC-MS : La méthode la plus utilisée dans le domaine des huiles et des arômes, est le couplage de la chromatographie gazeuse avec la spectrométrie de masse (GC-MS).

La GC-MS permet d'obtenir des niveaux de sensibilité très grands et de plus le couplage de ce détecteur à une colonne capillaire n'affecte pas la résolution de la séparation.

I.7.2. Le spectre de masse : obtenu est comparé avec celui d'une bibliothèque informatisée. En plus d'être exhaustive, une bonne bibliothèque devrait contenir les spectres de molécules enregistrées pour diverses conditions d'ionisation. Malheureusement, très souvent on constate des lacunes dans les bibliothèques commerciales, ce qui peut être à l'origine d'attributions erronées. En effet, l'identification d'un spectre inconnu s'avère particulièrement complexe et requiert une connaissance approfondie des méthodes de fragmentation. Les spectres de masse peuvent présenter de nombreuses similitudes, notamment dans le cas d'isomères où les différenciations se basent sur des variations d'intensité de pic.

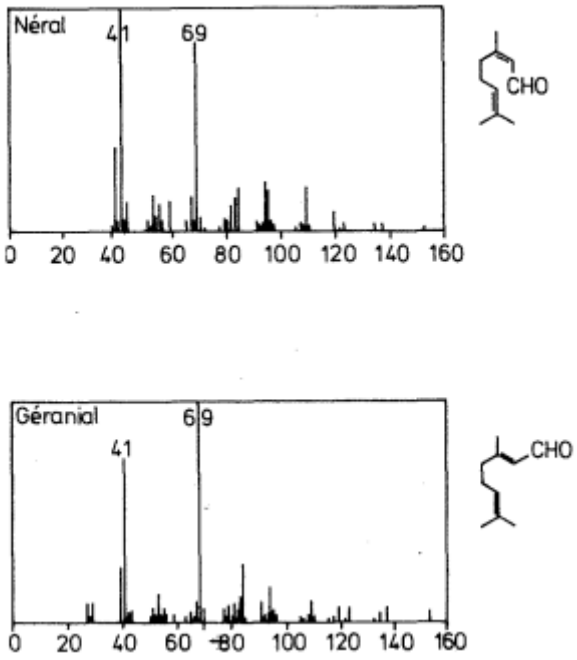


Figure I.8 : Spectres de masse du géranial et du néral.

I.7.3. Le couplage GC-FTIR :

I.7.3.1. Principe du couplage :

Actuellement la technique la plus couramment utilisée en GC-FTIR exploite une cellule à circulation gazeuse thermostatisée ("light-pipe") entre le chromatographe et l'interféromètre (fig. I.9). Le "light-pipe" est une cellule de 12 cm de long et de 1 mm de diamètre qui est recouverte intérieurement d'or pour permettre une amplification du signal par réflexion du rayonnement infrarouge.

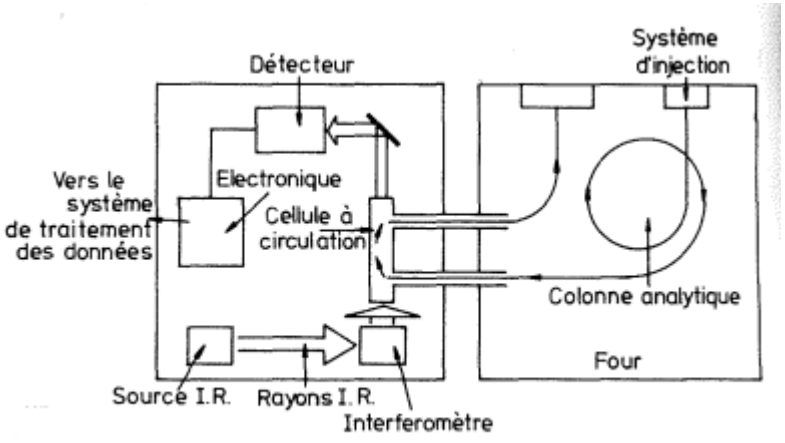


Figure I.9 : Schéma du couplage GC-FTIR.

Cette cellule est scellée à chaque extrémité par une fenêtre en KBr transparente au rayonnement infrarouge. Une ligne de transfert chauffée amène l'effluent de la colonne capillaire à l'entrée de la cellule ; une autre permet la sortie du gaz. Un apport complémentaire de gaz ("make-up gas") est fourni à l'entrée de la cellule, pour permettre un débit régulier et limiter la perte en résolution chromatographique de la colonne capillaire, due au grand volume du détecteur. Malgré le "make-up gas", la résolution en FTIR est inférieure à celle observée pour le détecteur FID **(fig. I.10)**

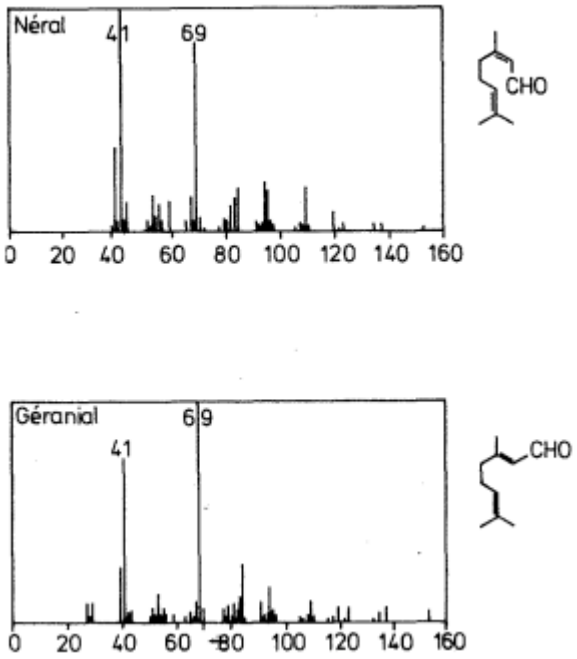


Figure I.10 : Comparaison d'un chromatogramme FID et FTIR de l'huile de Cupressus sempervirens.

I.7.4. La chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) : est aussi utilisée dans l'analyse des arômes et des huiles. Néanmoins son application dans ce domaine est limitée par la faible résolution qu'elle autorise en comparaison avec la chromatographie en phase gazeuse capillaire. De plus, la détection en HPLC n'est pas adaptée à l'analyse des huiles essentielles. Dans les laboratoires de recherche on utilise souvent un couplage HPLC- GC. Cette technique est basée sur une séparation préliminaire des classes fonctionnelles de l'huile par HPLC et ensuite par injection des fractions ainsi obtenues sur GC. **[22]**

II

Plante étudiée Ruta montana

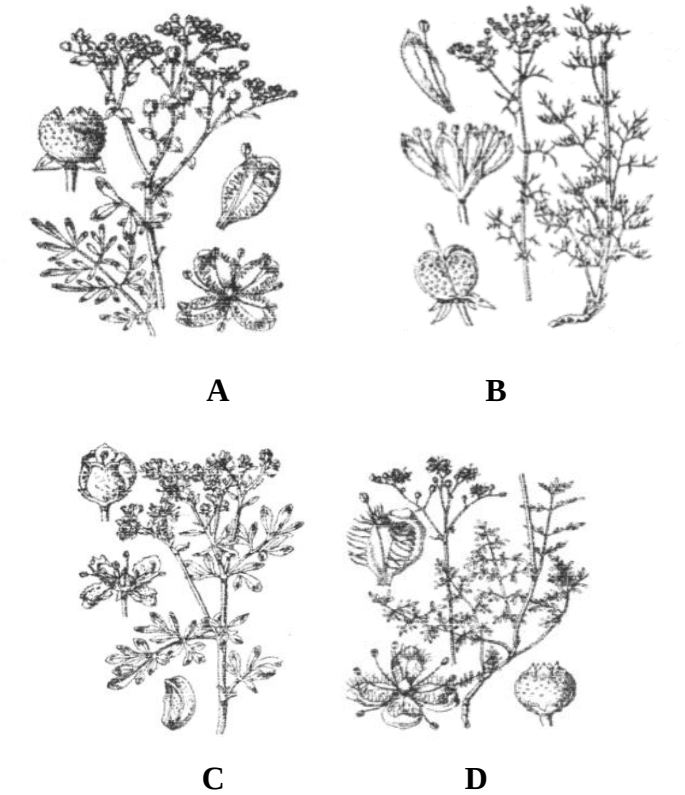
II.1. La famille rutacée :

La famille des Rutacées est bien représentée dans les régions tropicales et compte de nombreuses espèces utilisées en médecine traditionnelle. **[23]**

La famille des Rutacée fait partie de l'ordre des Sapin-dales qui regroupe seize familles parmi lesquelles les Anacar-diaceae, les Meliaceae, les Simaroubaceae, les Sapindaceae La famille des Rutaceae, à laquelle appartiennent les agrumes, comprend près de 850 genres regroupant 1600 espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales tempérées et plus particulièrement en Afrique du Sud et en Australie. Elle se distingue, au sein de l'ordre des Sapin-dales, par la présence de glandes à huiles essentielles dans le limbe des feuilles, des fleurs et des fruits- Un autre caractère relativement fréquent est la présence d'épines de natures diverses et la fréquence des feuilles simples. **[24]**

Les quatre espèces les plus répandues :

- **A.** Ruta chalepensis L.
- **B.** Ruta gravelons L.
- **C.** Ruta montana L.
- **D.** Ruta Angustifolia L.



A **B**

C **D**

Figure II.1 : Quatre espèces de Ruta **[25]**

II.2. Appellation :

Les différentes appellations du Ruta montana sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau II.1 : Noms usuels de Ruta montana dans différents pays **[26]**

Région de pays	Nom commun
Algérie	Fidjel
Berbère	Aourmi, dje
Maroc	Fijel
Tunisie	El Fijel
Français	Rue de montagne
Turc	Sedef, sedef ağacı
Portugal	Arruda, Erva da inveja
Espagne	Ruda, Ruda de jardín

II.3. Répartition géographique :

R. montana pousse dans les régions tempérées et chaudes, Elle vit à l'état spontané dans les rochers, collines sèches et elle est abondante dans les terrains calcaires dans le bassin méditerranéen, sur les lieux arides de presque toute la France, l'Europe méridionale et l'Afrique du nord. En Algérie, elle est rencontrée dans les zones montagneuses de l'intérieur sur l'Atlas Saharien et les pelouses arides. **[27]**

II.4. Position dans la systématique : [28]

- **Règne :** Plantae
- **Sous règne :** Tracheobionta (plantes vasculaires)
- **Super division :** Spermatophyta (plantes à graine)
- **Division :** Magnoliophyta (plantes à fleurs)
- **Sous division :** Angiospermae
- **Classe :** Magnoliopsida (dicotylédons)
- **Sous classe :** Rosidae
- **Ordre :** Sapindales
- **Famille :** Rutaceae
- **Genre :** Ruta
- **Espèce :** Ruta montana

II.5. Caractéristiques botaniques :

Ruta montana est un arbuste persistant de 20 à 60 cm de hauteur feuilles triangulaires et maigres (figure 3B); ses fleurs sont petites et jaunes avec deux verticilles d'étamines, et sont bisexuels (figure 3C). Ses fruits sont capsulaires avec quatre lobes arrondis (Figure 3D). La plante est caractérisée par une forte odeur nauséabonde, due à une huile essentielle contenue dans d'énormes sacs contenant secrétariat glandes. **[27]**



A **B**



C **D**

FigureII.2 : Ruta montana L. habitat (A) ; plante entière (B) ; fleurs (C) ; et Fruits (D).

II.6. Utilisation de Ruta montana. L :

L'utilisation des plantes médicinales et aromatiques pour l'industrie cosmétique et pharmaceutique, ainsi que pour la production alimentaire, reste un domaine vierge en Algérie. **[27]**

II.6.1. Usages dans la médecine traditionnelle :

Tableau II.2 : Utilisations traditionnelles de la plante Ruta montana dans différents pays **[26]**

Région et pays	Partie de la plante utilisée	Mode de préparation	Utilisation traditionnelle
Bordj Bou Arreridj, Nord-Est Algérie	Partie aérienne	Décoction	Rhumatisme
Haut Atlas, Maroc	Feuilles	Décoction	Traitement de la gingivite
Meknès, Maroc	Feuilles et racines	Décoction et cataplasme	Affections dermatologiques, respiratoires et buccales bucco-dentaire
Grenade, Espagne	Plante entière	Décoction	Naissance
Ksar Lakbir, Maroc	Partie aérienne	- Poudre mélangée à de l'huile d'olive - Perfusion - Cataplasme (application externe)	- Infection de l'oreille - Diurétique, antihelminthique, analgésique (douleurs rhumatismales) - Maux de tête
Montalegre et Chaves, Portugal	Fleurs et branches	Perfusion	Stimulation de la transpiration, laxatif, parasitoses parasitoses internes et externes, nervosité et

			Dépression, menstruation et avortement Induction
Errachidia, Sud-est Maroc	Partie aérienne, feuilles, Tige	Décoction, Infusion, Poudre	Diabète
Djelfa, steppe centrale algérienne Région	Partie aérienne, Feuilles	Décoction, Infusion, Poudre	Angoisse, Anorexie, Insomnie, Douleur abdominale, Aérocolie, Colique, Nausée. Douleurs abdominales, aérocolie, coliques, nausées
Moyen Atlas central, Maroc	Fleurs	Infusion, fumigation	Asthme, troubles bronchiques

II.6.2. Utilisations thérapeutiques :

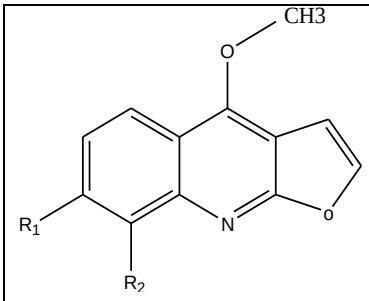
La plante est utilisée fréquemment pour ses propriétés stimulantes, antiseptiques, emménagogues, diurétiques, antispasmodiques, rubéfiantes, abortives, antirhumatismales, antiparasitaires et antalgiques, elle est également utilisée chez les malades sujets aux attaques de l'épilepsie et l'hystérie. Sa tisane est consommée pour soulager les coliques, les douleurs d'estomac, la fièvre, les problèmes cardiaques dus à une colère ou une frayeur, les maux d'oreilles. Le suc obtenu par l'écrasement des feuilles est instillé dans les yeux lors de la maladie oculaire. La plante fraîche est appliquée contre les maux de tête. [**27]**

II.7. Composition chimique de Ruta montana :

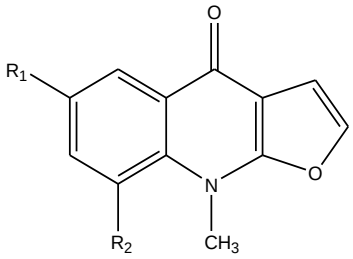
Composition chimique des Ruta montana de différentes régions ont été signalés dans des études antérieures. L'espèce présente une source importante de diverses substances phytochimiques, y compris les alcaloïdes, les coumarins, les flavonoïdes, les tannins... **[26]**

II.7.1. Les alcaloïdes :

La première définition des alcaloïdes a été introduite par W. Meissner en 1818 et a été attribuée à tous les composés organiques d'origine végétale caractérisée par un caractère de base. Des études ultérieures ont indiqué la présence de l'atome d'azote dans un système hétérocyclique dans la structure des alcaloïdes. Selon cette définition, ils ont été classés comme primaires, amines secondaires, tertiaires ou quaternaires. **[30]**



N°	Composé	R_1	R_2
1	Dictamnine	-H	-H
2	γ-Fagarine	H	$-OCH_3$
3	Evolitrine	$-OCH_3$	-H



n°	Composé	R_1	R_2
1	Isodictamnine	-H	-H
2	Isomaculosidine	$-OCH_3$	$-OCH_3$
3	Isopteleine	$-OCH_3$	-H

Figure II.3 : Structures des principaux alcaloïdes de furoquinoline isolés de plantes de la famille des Rutaceae **[31]**

Tableau II.3 : Quelques dérivés des alcaloïdes de l'espèce R. montana L. **[27]**

Origine	Les dérivés
Turquie	3-Hydroxyqui-2- noline et montanine.
Maroc	1-methyl-4- methoxy-2- quinolone, evolitune et 2-(decan-9- one) -N- methyl- 4- quinolone.

II.7.2. Les flavonoïdes :

Constituent un type de composé omniprésent dans le règne végétal. Plus de 4000 flavonoïdes naturels ont été découverts et, inévitablement, ils font partie de notre alimentation. **[32]**

Classification des flavonoïdes Plus de 5000 flavonoïdes naturels ont été caractérisés à partir de diverses plantes. Ils ont a été classé en six sous-groupes : **[33]**

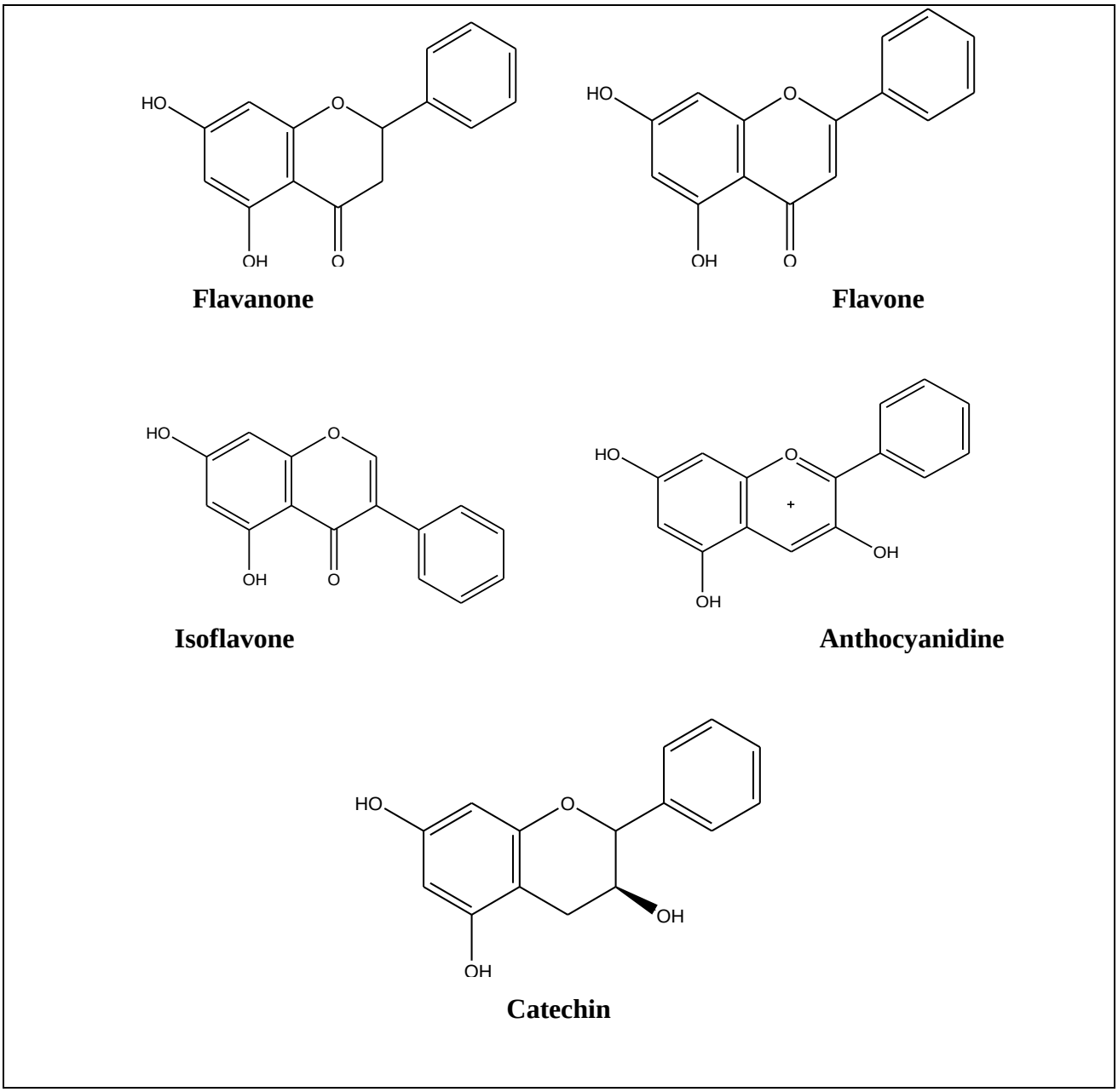


Figure II.4 : Substances chimiques des différentes classes de flavonoïdes**. [32]**

Les effets biologiques de ces composés sont divers. Ils sont impliqués dans la production de pigmentation des fleurs. Par exemple, couleur bleue résultats de la présence d'anthocyanine (delphinidinbased) dans les pétales. Anthocyanines sont, aussi, responsable pour les couleurs de l'automne dans de nombreuses espèces végétales et photo-protection des cellules des feuilles. Leur capacité d'agir comme filtres UV naturels vient de leur absorption dans la région 280-315 nm. Plante différente flavonoïdes ont un rôle dans la protection contre les microbes et les insectes. Certains d'entre eux (isoflavones, saveurs et flavanones) sont reconnus comme constitutifs agents végétaux antifongiques. Autres (flavonoïdes, tannins, etc.) jouent un rôle dans la protection des plantes contre les insectes et herbivorie de mammifères.

En outre, de nombreux flavonoïdes ont la capacité de modifier des réactions enzymatiques et chimiques, et donc sur la santé humaine positivement ou négativement. **[33]**

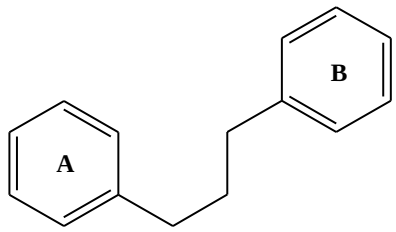


Figure II.5 : Squelette de base des flavonoïdes. [34]

Tableau II.4 : Quelques dérivés des flavonoïdes de l'espèce R. montana L. **[27]**

Origine	Les dérivés
Turquie	Rutine.

II.7.3. Les tannins :

Selon la définition classique de Bate-Smith, les tanins sont un groupe de métabolites secondaires végétaux qui ont la capacité de bronzer ou de convertir la peau animale en cuir. Ces composés sont classés comme phénoliques solubles dans l'eau avec une masse Molaire entre 300 et 3000, et avec la capacité de précipiter des alcaloïdes, gélatines et autres protéines. **[13]**

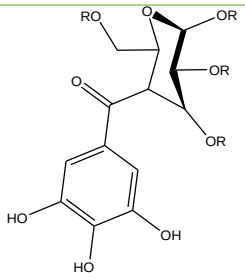
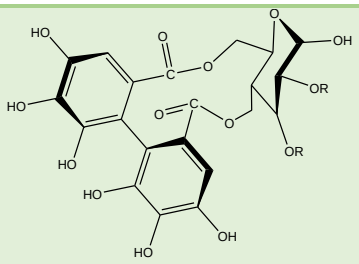
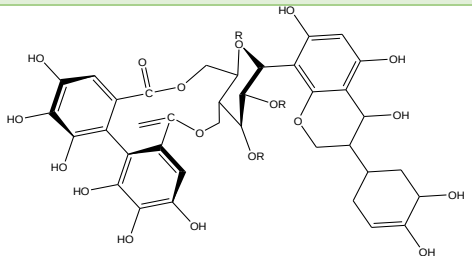
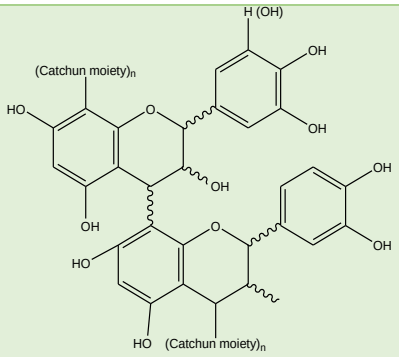
Tannins	**Gallotannins**	
	Ellagitannins	
	Complex tannins	
	Condensed tannins	

Figure II.6 : Classification des tannis. **[36]**

II.7.4. Les coumarins :

Les coumarins sont un groupe de composés polyphénoliques d'origine végétale. Ils appartiennent à la famille des benzopyrones et possèdent une grande variété

Fonctions cytoprotectrices et modulatrices, qui peuvent être traduites en potentiels thérapeutiques pour de multiples maladies. Leurs propriétés physicochimiques

Semblent définir l'étendue de l'activité biologique. **[37]**

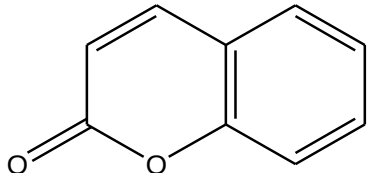


Figure II.7 : Structures chimiques de la coumarin.

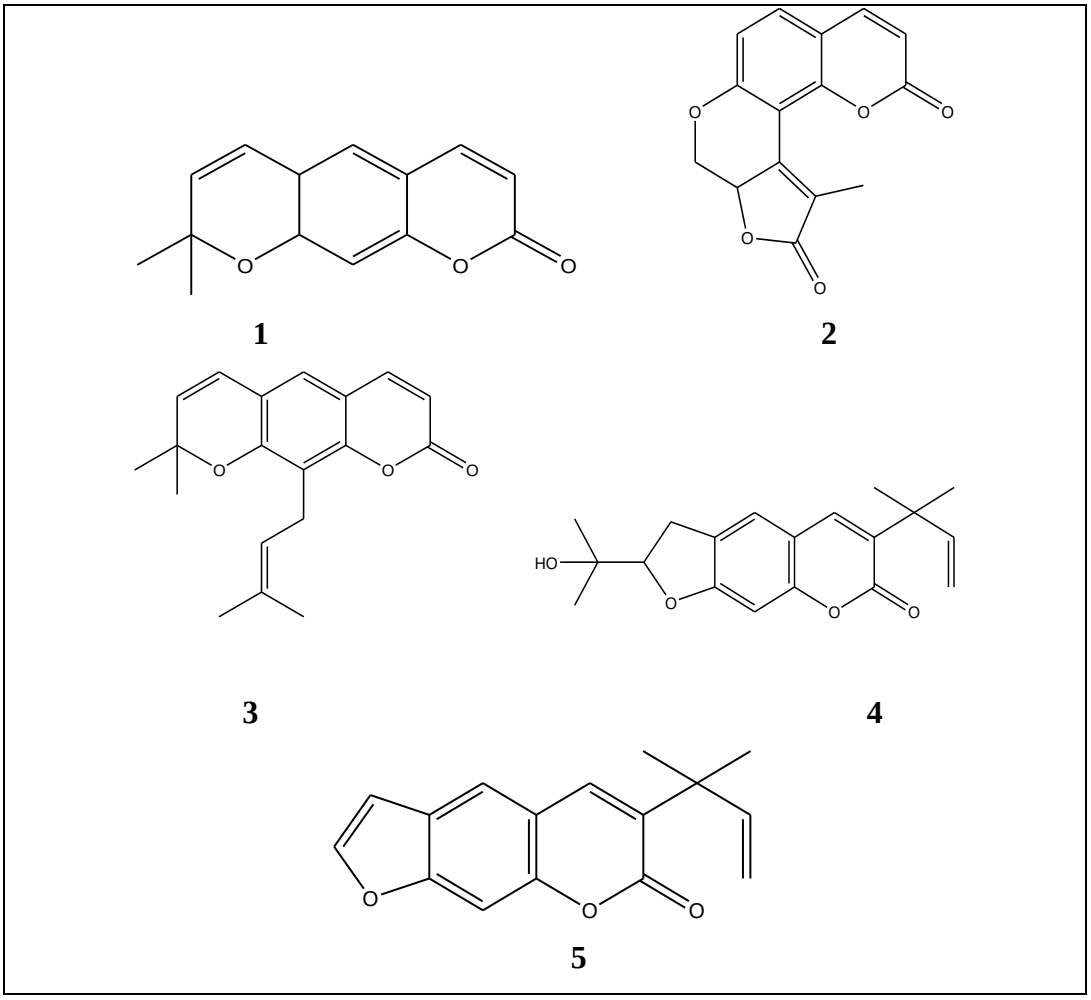


Figure II.8 : structures des coumarins isolées des familles des Meliaceae et des Rutaceae. **[38]**

Tableau II.5 : Quelques dérivés des coumarins de l'espèce R. montana L. **[27]**

Origine	Les dérivés
Espagne	Chalépensine, rutolide, bergaptène, chalépine, rutamarine, xanthotoxine, psoralène, umbelliferone, Umbelliferone

	et daphnoretine.
Australie	Rutolide.

II.4.5. Les huiles essentielles :

L'huile essentielle, présente principalement dans les parties aériennes, représente 0,1 à 0,7 % de matière sèche (MS). Elle renferme, selon le cas, jusqu'à 90 constituants dont les principaux sont des cétones aliphatiques. **[39]**

Tableau II.6 : Principaux huile essentiel de la rue

Huile essentielle de la rue
2-undécanone (méthylnonylcétone), 2-nonanone (méthylheptylcétone), 2-décanone (méthyloctylcétone), alcools (nonanol), esters

III

Plante étudiée d'Ammodaucus leucotrichus

III.1. Présentation botanique de la famille apiacées ou ombellifères :

Les Apiacées sont une famille de plantes très évoluées au sein des Angiospermes, ils étaient appelés autrefois Ombellifères de par leur inflorescence en ombelle.
Cette famille comprend près de 3000 espèces réparties en 420 genres qui sont surtout présentes dans les régions tempérées du monde. C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées.

Les plantes appartenant à la famille des Apiacées sont essentiellement herbacées, annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces.

Les fleurs sont en effet groupées en ombelles simples et le plus souvent, en ombelles composées, L'appareil souterrain pérennant est très varié (racine pivotante, rhizome ou tubercule), la tige est ordinairement cannelée et creuse et les feuilles sont alternes, souvent très découpées. **[46]**

Cette famille est représentée en Algérie par 55 genres et 130 espèces. **[10]**

Cette famille riche en métabolites secondaires est utilisée tant sur le plan alimentaire que médicinal et présente des intérêts économiques, Elle comporte :

- Des coumarines,
- Des flavonoïdes, des composés acétyléniques
- Des lactones sesquiterpéniques.
- Une grande richesse en huile essentielle

Cette famille de plantes est bien connue pour avoir une quantité importante d'huile essentielle dans la quasi-totalité de ses organes anatomiques. A nos jours, 760 constituants d'huiles essentielles ont été isolés des Apiacées. **[46]**

III.2. Description botanique D'Ammodaucus leucotrichus :

A. leucotrichus Coss. & Dur. Appartient à la famille des Ombellifères (Apiacées). **[42]** est une plante aromatique endémique des pays sahariens et subsahariens d'Afrique du Nord qui s'étend à l'Égypte et à l'Afrique tropicale Il est connu sous le nom de « cumin velu » en raison des poils blancs soyeux denses qui recouvrent les fruits. **[40]**



Figure III.1 : la plante entière d'A. leucotrichus **[43]**.

III.2.1. La classification systématique botanique :

Tableau III.1 : Classification botanique D'A. leucotrichus dans la systématique **[48]**

Classifications	A. leucotrichus coss. & dur.
Sous-règne	Angiosperme
Division	Eudicots
Classe	Asterids
Sous-classe	Asterales
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	Ammodaucus coss. & dur.
Espèce	Ammodaucus leucotrichus coss. & dur.

En Algérie, A. leucotrichus est appelé « Kammoun essof », « Nessoufa », « Akaman » ou « Oumdriga », c'est un aliment épicé à usage médical fréquent et étendu par les populations indigènes, en particulier dans le sud du Sahara. **[40]**

A. leucotrichus est une petite plante annuelle, de 10 à 12 cm de hauteur, glabre avec des tiges droites et finement striées. Les feuilles sont finement disséquées et légèrement charnues. Les fleurs sont petites groupées en ombelles de 2 à 4 branches. Le fruit est un diachène, long de 6 à 10 mm et est couvert de poils blancs soyeux denses. **[43]**



(A) **(B)**

Figure III.2 : la tige (A) les fleurs (B) D'A. leucotrichus **[50]**

III.2.2 HE d'A. leucotrichus :

Les huiles essentielles obtenues des organes d'A. leucotrichus se distinguent par leurs couleurs : légèrement jaune foncé pour les racines et les tiges/feuilles, jaune clair pour les fleurs et gris pour les fruits. Les odeurs d'OE de tous ces organes étaient fortement pénétrants avec une viscosité modérée **[50]**

III.2.3. Tableau de Composition :

Exemple de quelque composition de l'HE de la plante A. leucotrichus après l'hydrodistillation de cultivée dans quatre régions Djelfa Bechar Ghardaïa El-Bayad par l'analyse CG/MS. **[42]**

Tableau III.2 : Quelque Composition chimique de l'huile des parties aériennes d'A. leucotrichus de 4 régions on Algérie. [**42]**

	Compositions	HE (1)	EH (2)	HE (3)	HE (4)
1	**α-Pinene**	1,2	2,4	2	7,9
2	**Limonene**	7,3	14	8,9	19,4
3	**α-terpinénol**	0,1	0,1	0,1	0,1
4	**périllaAldéhyde**	87,2	79,9	83,5	63,5
5	**Alcool de périlla**	0,2	0,1	0,7	0,3
6	**Périllate de méthyle**	0,4	0,6	0,7	0,6
7	**γ-Décalactone**	0,1	0,1	0,2	0,3

- HE (1) : huile essentiel région 1 de (Bechar).
- HE (2) : huile essentiel région 2 de (El-Bayad).
- HE (3) : huile essentiel région 3 de (Ghardaïa).
- HE (4) : huile essentiel région 4 de (Djelfa).

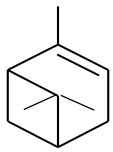
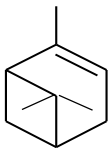
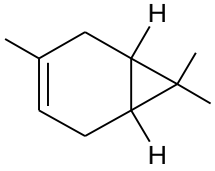
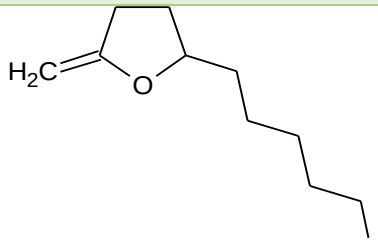
	
α-pinéne	**β-pinéne**
	
δ-3-caréne	**γ-décalactone**

Figure III.3 : Structures chimiques de quelques composés identifiés dans l'huile essentielle des fruits d'A. leucotrichus **[52]**

III.2.4. Localisation géographique dans l'Afrique :

Cette plante comprend deux sous espèces : A. leucotrichies Cosson & Durieu. Pousse en Afrique du Nord principalement au Sahara Algérienne, Niger, Mauritanie, Libye et s'étend jusqu'à l'Afrique tropicale et l'Egypt**. [45]**

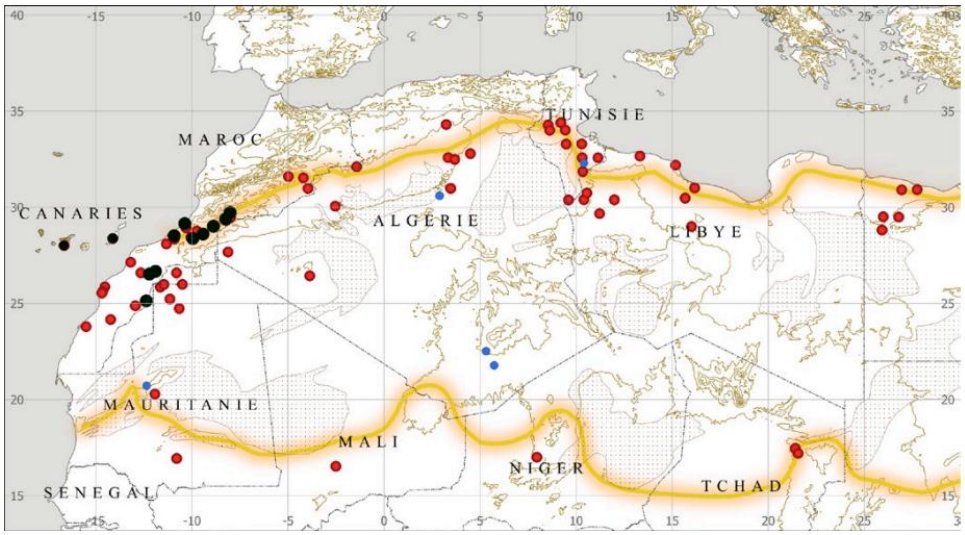


Figure III.4 : Distribution d'A. leucotrichus (les ronds rouges) dans l'Afrique. **[51]**

III.2.6. Utilisations traditionnelles et Vertus d'A. leucotrichus :

A. leucotrichus est utilisé dans les pays d'Afrique du Nord comme condiment ou épice et pour diverses médicales variées **[6].** Les différentes parties de cette plante, en particulier Les fruits et les graines, sont souvent utilisées pour traiter les douleurs gastro-intestinales, les gastralgies, les otites, les hypotensions, les indigestions, les refroidissements, les fièvres, les maladies pulmonaires, les douleurs de l'accouchement, l'anorexie et les maladies cardiaques. **[4]**

III.2.7. Mode d'emploi :

Les fruits, en infusion, sont utilisés dans diverses maladies infantiles du système digestif. Ils sont également mélangés pour traiter les douleurs d'estomac. La décoction des fleurs et des graines est utilisée pour les douleurs abdominales chez les enfants et les adultes. Les fruits en infusion sont indiqués pour traiter les douleurs intestinales chez les nourrissons. **[43]**

Les graines préparées en soupe ou en infusion, sont utilisées pour calmer les douleurs abdominales, les nausées, vomissements chez les nouveau-nés. L'infusion est recommandée pour aider les personnes âgées à dormir.

Une préparation à base de graines d'A. leucotrichus, réduites en poudre et mélangées à du vinaigre de pomme et à du miel pur. Est utilisée pour les cystites et les coliques

néphrétiques. Le patient prend une cuillère à café du mélange dans un verre d'eau chaude à jeun.

Une préparation à base de graines d'A. leucotrichus décoctée dans l'eau, est utilisée en cas de pyélonéphrite. Le patient boit deux verres par jour.

La décoction des fruits et des graines est également utilisée pour la diarrhée, l'émétique, la toux, les maladies pulmonaires, l'anorexie, l'allergie, la tachycardie, les douleurs de fatigue, l'helminthiase et la gastro-entérite.

III.2.8. Toxicité

A. leucotrichus est connu pour être toxique, mais il n'y a pas de dossier pharmacologique disponible sur l'effet toxique de son huile essentielle. En outre, aucune donnée scientifique publiée ne confirme l'allégation ethno-pharmacologique de l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle d'A. Leucotrichus **[41]**.

II.2.9. Caractérisation d'He d'Ammodaucuse :

Activités pharmacologiques A. leucotrichus a été étudié en ce qui concerne leurs caractéristiques bioactives. Plusieurs extraits et composés isolés ont été évalués pour leurs activités biologiques, notamment leurs activités antioxydants, antibactériennes, antifongiques, antidiabétiques, anti-inflammatoires, anticholinestérasiques et cytotoxiques**. [43]**

Partie expérimentale

I

Méthodes et matériels

Dans cette étude, nous présentons les différents produits et matériaux utilisés, nous avons faire l'extraction de l'huile des plantes et connaître ces propriétés organoleptiques, chimiques et physique, et donnons un rappel sur les modes de modification chimique utilisées dans ce travail. La partie expérimentale est réalisée au laboratoire de chimie, UNIVERSITE YAHIA FARES DE Médéa, laboratoire microbiologique de l'unité Antibiotical de « SAIDAL » à Médéa.

I. Matériels :

I.1 Matériels végétaux (des plantes Récoltées) :

Les deux plantes, fraîchement récoltées ensuite séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière et l'humidité La durée du séchage est variée dépend les plantes utilisées.

a) **Ammodaucus leucotrichus :** c'est une plante glabre, annuelle, à tiges dressées, rameuses, finement striées, feuilles très divisées, à lanières étroites, un peu charnues ; ombelles à 2-4 rayons, involucre à bractées très divisées et petites ; fruits très velus, portant de longs poils crépus, jaune-roux à la base, puis blancs, et longs de 8 à10 mm **[30]**. La plante est récoltée dans la région de Meniaa la wilaya de Ghardaïa durant le mois de novembre.



Figure I.1: plante d'Ammodaucus leucotrichus.

b) **Ruta montana :** c'est une plante annuelle qui fleurit de juin à septembre. Les feuilles sont glauques de couleur verte plus ou moins jaunâtres, sa tige est grêle.

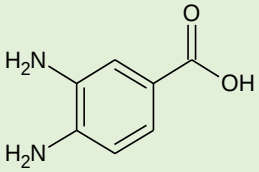
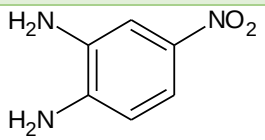
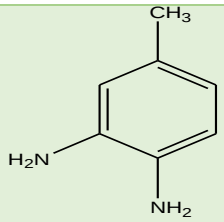
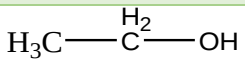
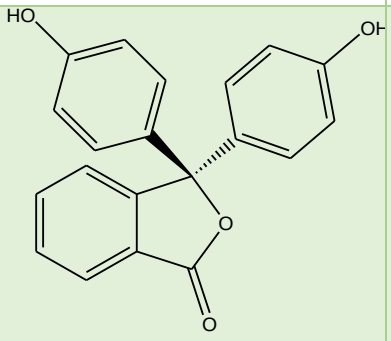
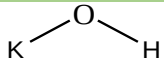
Ses feuilles sont finement découpées en segment linéaire et ses fleurs plus petites de 5-6 mm à pétales denticulées sur les marges très brièvement pédicellées. Fruits aigue acuminés de 6 à 9 mm en grappes fructifères étalées leur saveur est amère, herbacée. La plante est récoltée dans la région de BOUSMAIL la wilaya de TIPAZA durant le mois de septembre.

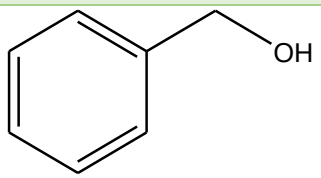


Figure I.2: la plante de Ruta montana

I.2 Les produits :

Tableau I.1 : les produits utilisés

Produit	Firme (marque)	Structure	Pureté (%)
3,4-Diaminobenzoesaure	/		/
3,4-Diaminonitrobenzol	/		/
3,4-Diaminotoluene	Alfa Aesar		97
Ethanol	Bichor		96
Phénolphtaléine	/		/
Hydroxyde de potassium	BDH laboratory reagents		85

Acide chlorhydrique	/	H—Cl	33
Sulfate de magnésium	/	/	/
Bromure de potassium	/	K—Br	/
Alcool benzylique			

(/) : Pas mentionné.

I.3 Matériel biologique :

a. La gélose Mueller Hinton :

Est un milieu de croissance microbiologique couramment utilisé pour les tests de sensibilité aux antibiotiques.

b. Les souches microbiennes :

Tableau I.2 : liste des souches microbiennes à gram (-) et (+).

Bactérie à gram (+)	Bactérie à gram (-)
Staphylococcus aureus	Escherichia coli
Bacillus subtilis	Pseudomonas aeruginosa
Staphylococcus epidermidis	Salmonella typhi

I. Méthodes expérimentales :

II.1 Extraction des huiles essentielles : Il y a des différentes techniques d'extraction des plantes aromatique, les techniques sont choisies selon la matière première, l'emploi destiné, la qualité souhaitée. Les huiles essentielles obtenues après extraction ont des compositions et appellation dépendante du procédé. Le séchage d'HE a été effectué par sulfate de sodium (Na_2SO_4) après conservée au réfrigérateur (4°C) dans des flacons opaques et bien fermés.

a) Méthode d'extraction par hydrodistillation type clevenger : c'est une ancienne méthode qui consiste à extraire l'huile essentielle avec de la vapeur d'eau traversant la matière végétale.

b) Echantillonnage : on mesure quantité de 50 g de la plante avec 750 ml de l'eau distillé.

c) Matériels de Clevenger : L'appareillage utilisé dans ce mode d'extraction est Clevenger qui est représenté sur la figure **I.3** et se compose de :

- Ballon rond 100ml.
- Condenseur 24/29 (réfrigérant)
- Chauffe-ballon électrique
- Fiole à fond rond 100ml, 24/29



Figure I.3 : Montage Extraction par hydrodistillation type clevenger

a) **Procédé :** On introduit une quantité suffisante de matière végétale dans un ballon en verre et on remplit 2/3 de ballon avec de l'eau distillé et ont rajoutés des pierres pence. On chauffe à l'aide d'un chauffe-ballon Les vapeurs passent à travers le tube vertical jusqu'au réfrigérant, afin qui le condensat retombe dans la burette. Après un temps l'huile flotte sur l'eau condensé ce qui il est l'hydrolat, et son volume peut être mesuré directement.

b) **Calcul du rendement :** Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante sec. Le rendement, exprimé en pourcentage et est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{R} = (P_h/P_p)*100$$

- **R** : Rendement de l'huile essentielle en **%**.
- $\mathbf{P_h}$: Poids de l'huile en **g**.
- $\mathbf{P_p}$: Poids de la plante sec en **g**.

II.2Méthode de caractérisation :

II.2.1 Organoleptique : l'aspect, la couleur et l'odeur d'une HE seront déterminé afin de pouvoir apprécier la qualité.

II.2.2 Les propriétés physiques

a) La densité :

- **Principe :** c'est le rapport de la masse volumique d'un corps par rapport d'un autre corps (eau pure) à 20°C.
- **Méthode :** A l'aide d'un pycnomètre on mesure de des pesées sur des V égaux d'HE et d'eau distillé.



(A) **(B)**

Figure I.4 : pycnomètres (A) remplis au l'eau distillé, (B) remplis au l'EH.

La densité est donnée par la formule suivante :

$$d_{20} = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

- m_0 : la masse de pycnomètre vide en **g**.
- m_1 : la masse de pycnomètre remplis d'eau distillée en **g**.
- m_2 : la masse de pycnomètre remplis d'HE en **g**.

b) Indice de réfraction

- **Principe :** c'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée ce qui permet l'analyse d'un échantillon liquide ou solide afin de déterminer son identité, sa pureté ou sa concentration.
- **Méthode :**

- Déposer quelque goutte d'HE fourni avec le réfractomètre.
- Rabattre le volet sur le prisme, en exerçant une petite pression de façon que le produit soit étalé de manière uniforme et sans bulles d'air.
- Ensuite on attendre quelques secondes que le produit soit à la même T que le prisme.
- Exposer le réfractomètre à la lumière puis regarder à travers l'optique et note l'indice de réfraction.

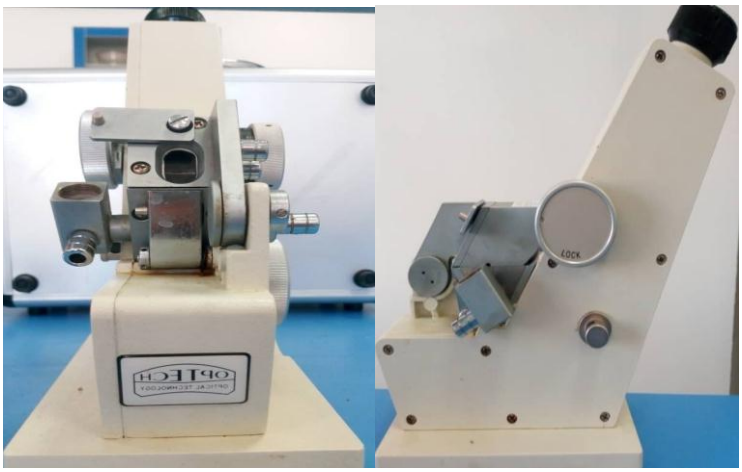


Figure I.5 : Réfractomètre

c) Point de fusion

- **Principe :** Le point de fusion ou température de fusion d'un solide est une grandeur physico-chimique qui caractérise à une pression donnée la température de changement d'état solide-liquide d'un corps pur. La détermination du point de fusion d'un produit cristallisé permet de l'identifier et de contrôler sa pureté. Le point de fusion est déterminé à l'aide d'une fusiomètre :
- Deux corps purs différents peuvent avoir le même point de fusion.
- La présence d'impureté dans un produit à en général pour effet d'abaisser sa température de fusion.
- **Méthode :** Protocole opératoire L'utilisation du FICHER-JONES (à lamelles).se fait selon le protocole suivant :
    - Nettoyer le banc à l'aide d'un coton imbibé d'alcool benzylique des hautes températures vers les basses températures.
    - Allumer le FICHER-JONES. puis attendre une heure afin qu'il soit suffisamment chaud.
    - Placer quelques milligrammes de solide à analyser sur le banc puis le déplacer en biais à l'aide d'une fine spatule jusqu'à observer sa fusion. Noter la température de changement d'état.
    - Choisir un étalon dont la température de fusion est proche de celle du solide analysé.
    - Déposer l'étalon sur FICHER-JONES. Déplacer jusqu'à observer sa fusion puis ajuster le curseur sur la valeur du point de fusion tabulée dans la littérature.
    - Déposer le solide à analyser et déterminer son point de fusion.
    - Nettoyer à l'aide d'un coton imbibé d'alcool benzylique des hautes températures vers les basses températures.

II.2.3 Les Caractérisations chimiques

a) Indice de saponification :

- **Principe :** c'est le nombre en mg de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libre et pour saponifier les acides gras combinés (esters) dans un 1g d'huile essentiel.
- **Méthode :**

- Introduit 0,5 d'HE dans un ballon
- Après ajouter 25ml de solution éthanolique de KOH de C= 0,5 mil/l
- Mit le mélange au chauffage sous reflux pendant 1h, ensuite on laisse refroidir, et on ajoute 20ml de l'eau distillé.
- Ensuite on titre le mélange l'excès d'HCl avec une solution d'acide chlorhydrique C=0,5mol/l
- On note le volume d'HCl à l'équivalence.

Is est calculé par la formule suivante **:**

$$\mathbf{Is = [28,05*(V_0-V) /m]}$$

- $\mathbf{V_0}$: volume en (ml) de la solution d'HCl pris dans l'essai blanc.
- **V :** volume en (ml) de la solution d'HCl pris en présence de l'HE.
- **m :** masse en (g) de la prise d'essai.

b) L'indice d'acide :

- **Principe :** est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'HE.
- **Mode opératoire :**

- Dans un erlenmeyer on introduit 0,5 g d'huile essentiel après on ajoute 25ml d'éthanol
- Ajouter 5 gouttes de solution de phénolphtaléine
- Neutraliser la solution par une solution d'hydroxyde de potassium 0,1N jusqu'à virage au rose violé.
- Note e volume d'équivalent.



Figure I.6: mode opératoire d'indice d'acide

$\mathbf{I_A}$ est calculée par la formule suivante :

$$\mathbf{I_A = 5,61*V/m}$$

- V : volume de KOH en (ml).
- m : masse de prise d'essai d'HE.

c) **Indice d'ester :** l'indice d'ester est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'HE. Le calcul de l'indice d'ester I_E se fait à partir de l'indice de saponification $\mathbf{I_S}$ et de l'indice d'acide $\mathbf{I_A}$ par la relation suivante :

$$\mathbf{I_E = I_S - I_A}$$

d) Teste de miscibilité dans l'éthanol :

- **Principe :** c'est pour tester que l'HE a la possibilité de miscibilité dans l'éthanol. La miscibilité des huiles essentiels dans l'éthanol est exprimée par : un volume d'HE dans un volume d'éthanol titré.
- **Mode opératoire :**

- Introduit 1 g d'HE dans un erlenmeyer.
- Ajouter à l'aide d'une burette quantité d'éthanol à t=20°C et agiter.
- Lorsque le mélange est limpide noté le V de l'éthanol ajouté.

e) La spectroscopie Infra-rouge :

- **Principe :** Le principe de la spectroscopie infrarouge (IR) repose sur l'absorption de la lumière par la plupart des molécules dans la région de l'infrarouge du spectre électromagnétique et en convertissant cette absorption en vibration moléculaire. Cette absorption correspond spécifiquement aux liaisons présentes dans la molécule. Avec un spectromètre, cette absorption du rayonnement infrarouge par le matériau de l'échantillon est mesurée en fonction de la longueur d'onde (sous la forme de nombres d'onde, typiquement de 4000 à 600 cm^{-1}.
- **Méthode :**

- Broyé un échantillon solide est avec KBr, (qui est transparent dans l'IR), et pressé sous forme de pastille,
- Tandis que les liquides sont mesurés directement ou dilués avec un solvant transparent dans l'IR.
- Enfin On obtient un spectre qui présente toutes les caractéristiques spécifiques de la substance néanmoins le rapport d'intensité des bandes d'absorption observées peut différer du spectre de transmission traditionnel en raison d'effets physiques.



Figure I.7 : Spectromètre FT-IR (infrarouge)

II.3 Modification chimique (Mode opératoire) :

II.3.1 L'hémi-synthèse : Consister à fabriquer une nouvelle molécule à partir d'une ou plusieurs réactions chimiques. L'hémi-synthèse est un cas particulier de synthèse chimique. La molécule de départ est issue directement de substances naturelles et correspond quasiment dans sa structure à la molécule que l'on souhaite produire. L'enjeu d'une hémi-synthèse est une légère modification afin de faire acquérir à la molécule cible des propriétés qu'elle n'avait pas.

II.3.2 Le benzimidazole : est une molécule organique hétérocyclique de la famille des azoles, qui possède un cycle à base d'atomes de carbone et d'azote, le benzimidazole a également des propriétés fongicides.

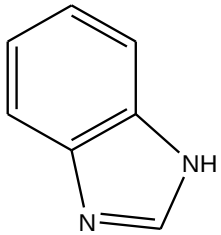


Figure I.8 : Structure de benzimidazole.

II.3.3 Mode opératoire de hémi-synthèse de benzimidazole :

L'hémi-synthèse des dérivés de benzimidazole a été réalisé par action de phénylènediamine sur les huiles essentielles d'Ammadaucus leucotrichuse et de Ruta montana dans l'éthanol selon les réactions suivantes :

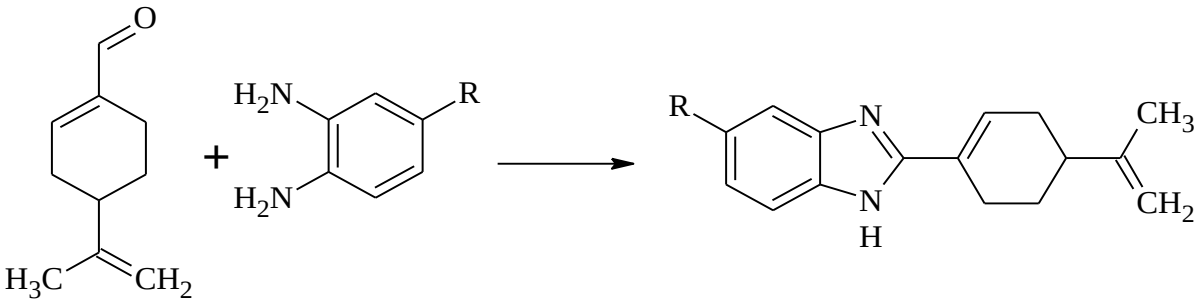


Figure I.9: Réaction d'Ammodaucus leucotrichus.

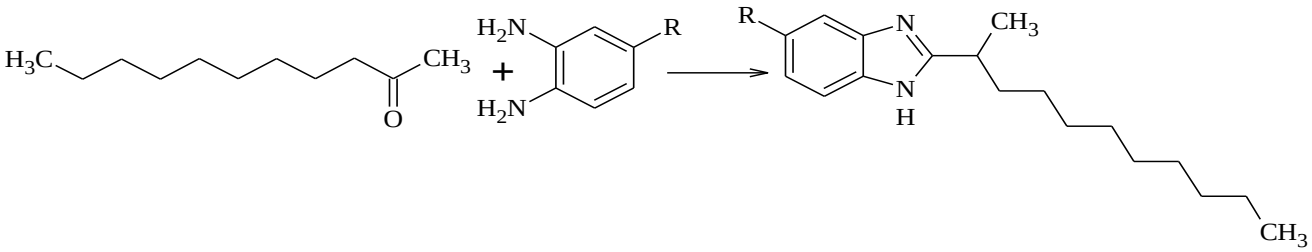


Figure I.10 Réaction avec Ruta maontana

Tableau I.3: les produits d'hémi-synthèse utilisées et ces structures.

Les Produits de départ
3,4-diaminonitrobenzol
3,4-diaminonitrobenzoesaure
3,4-diaminotoluene

a) Mode opératoire N°1 :

- Dans un erlenmeyer introduire 1 mmol (0,3g) de l'HE d'Ammodaucus leucotrichus, ajouter 15ml de l'éthanol, puis ajouter 1,2mmol de produit de départ.
- Mettre le mélange sous agitation pendant 24h.
- Evapore à l'aide d'un évaporateur rotatif le solvant (éthanol), ensuit ajouter 10ml d'éthanol et verser dans un papier filtre pour filtre le mélange.
- Mettre le mélange dans un cristallisoir pour évapore le solvant (éthanol) et obtenir une poudre.

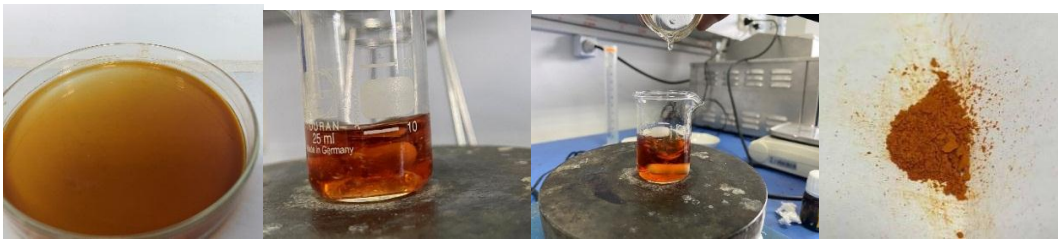


Figure I.11 : mode opératoire d'hémi-synthèse d'HE Ammodaucus leucotrichus.

b) Mode opératoire N°2 :

- Dans un erlenmeyer introduire 1,2mmol de l'HE der Ruta montana (0,17g), ajouter ml de l'éthanol.
- Ajouter 1,2mmol de produit de départ.
- Mettre le mélange sous agitation à température ambiante pendant 24h
- Evapore à l'aide d'un évaporateur rotatif le solvant (éthanol), ensuit ajouter 10ml d'éthanol et verser dans un papier filtre pour filtre le mélange.
- Mettre le mélange dans un cristallisoir pour évapore le solvant (éthanol)et obtenir une poudre.



Figure I.12 : réaction de hémi-synthèse de HE de Ruta montana.

II.4 Evaluation de l'activité biologique :

II.4.1 Activité antimicrobienne des hétérocycles hémi synthétisés :

Les tests microbiens ont été réalisés au niveau de laboratoire microbiologique de l'unité Antibiotical de « Saidal » à Médéa. L'activité antimicrobienne des produits synthétisés a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé.

Cette technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou encore méthode des disques, est une méthode en milieu gélosé réalisée dans des boîtes à pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée de produit à tester.

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester, les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque produit à tester diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration.

Les bactéries se croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance, on observe ainsi autour des disques une zone circulaire échappé de colonies appelée « zone d'inhibition ».

II.4.2 Préparation des solutions :

a) **Microorganismes** : Au cours de ce travail ont a utilisé 6 souches bactériennes :
   - **Gram (-):** Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Salmonella typhi
   - **Gram (+) :** Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis

b) **Le milieu** : Les souches bactériennes utilisées sont cultivées dans le milieu Mueller Hinton :
   - Dans un bicher de 150 ajouter 17,5 g de peptone, 2g d'extrait de viande, on ajoute 1,5g d'amidon.
   - Homogénéiser avec l'agitation et mettre le mélange au chauffage jusqu'à ébullition ajouté 17g d'agar.

c) Coulage des boites de pétri :

- On a pris soin avant de mettre les mettre les milieux à fondre de desserrer légèrement les fermetures à vis où enfoncer une aiguille stérile dans le bouchon pour éviter l'éclatement des flacons.
- Tous d'abord on porte les milieux au bain marie bouillant, soit à l'autoclave en vapeur fluente, dès que le milieu est totalement liquéfié on le met refroidir le milieu à 45-50°C et on l'ajoute l'inoculation bactérienne (la solution qui contient la suspension) et on homogénéise le milieu avec un mouvement de rotation et on coule le milieu dans les boites de pétri et laisser de solidifier pendant 15 min environ.

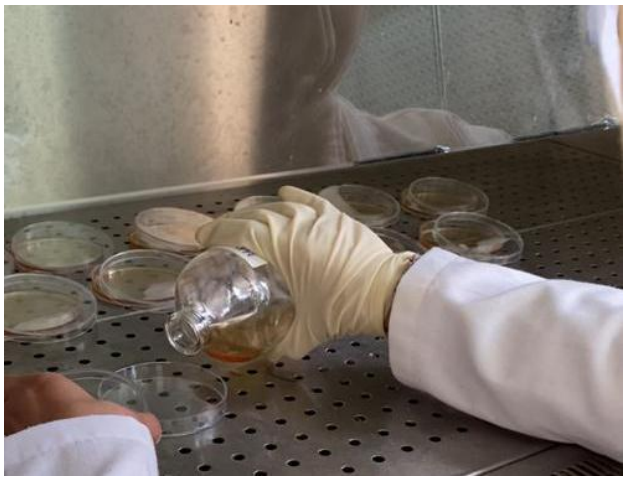


Figure I.13 : préparation le milieu MH et coulage des boites pétries.

d) L'HE et les produits modifiés utilisé :

On prépare une solution de 0,1g/ml de DMSO qu'on va la considère comme une solution mère et ensuite on met cette solution de 100mg/ml dans un tube à essai stérilisé et l'agité obien pour l'homogénéiser. Ensuite on prépare des solutions diluées de concentration connue à partir de la solution mère. On met les solutions dans des tubes à essai stérilisés. On refait la même chose pour les autres composés.

- Utiliser les HEs à l'état pur.
- Les produits on mettre 0,1g de produit dans 10ml de DMSO.



Figure I.14 : dilution les produits dans le DMSO.

e) **Déposer les disques :** On dépose chaque quantité prélevée sur le disque posé A l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose (MH) ensemencée, ensuite incuber à 37°C pendant 24h.

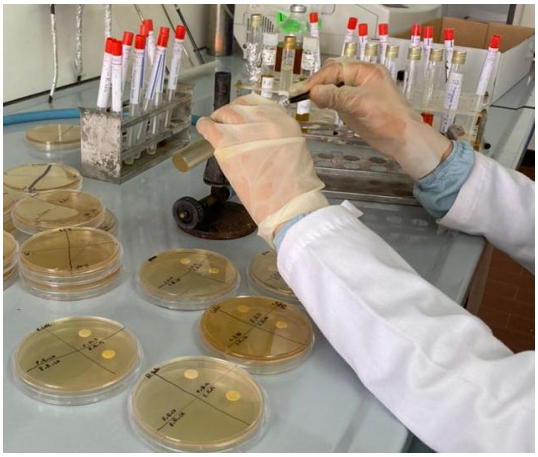


Figure I.15 : déposer les disques

I

Résultats et discussion



1. Rendement d'extraction des huiles essentielles des plantes étudiées :

Le rendement des deux huiles des espèces étudiées sont reportés dans le tableau II.1

Tableau II.1: rendement en huile essentielle des plantes utilisées.

HE	Ruta montana	Ammodaucus leucotrichus
Rendement	2,13	2,52

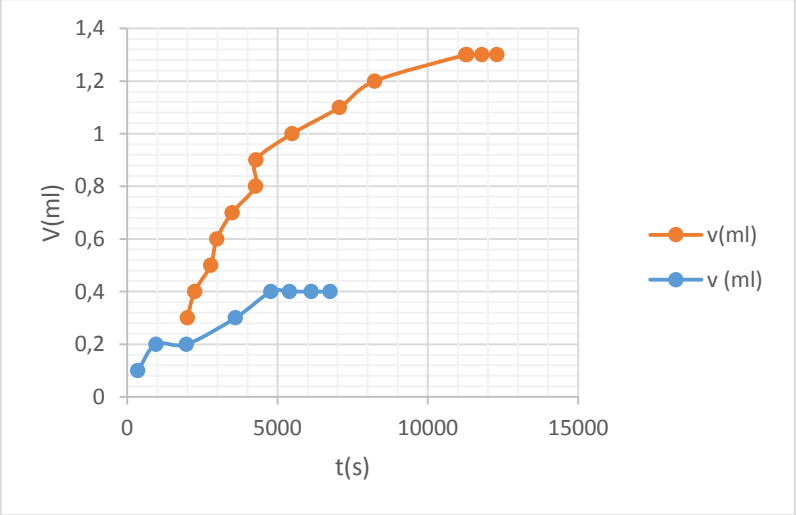


Figure II.1: Diagramme V= f(t) des HEs d'Ammodaucus Leucotrichus (en rouge) et Ruta Montana (en bleu).

Les rendements en huiles essentielles des parties aériennes sont de l'ordre de 2,13% pour Ruta montana et de 2,52% pour Ammodaucus leucotrichus.

Pour Ruta montana le rendement en huile essentielle trouvé est plus important que ceux rapportés par **[27]** (1,45%), **[31]** (1,6%),

Pour Ammodaucus leucotrichus le rendement en huile essentielle trouvé est plus important que ceux rapportés par **[43]** (1,3 %), mais moins importants que ceux trouvés par **[40] (**2,82%)

Les variations de rendement, peuvent être expliquées par les conditions géographiques, climatiques, saisonnières, la période du cycle végétatif, la nature de l'organe végétal ainsi que les méthodes et les conditions d'extraction.

2. Caractérisations organoleptiques en huile essentielle :

Selon Afnor (2000) les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles. Elles sont plus ou moins colorées.

A l'issue des distillations, l'huile essentielle obtenue d'Ammodaucus leucotrichus et de Ruta montana a les caractérisations suivantes :

Tableau II.2 : Caractérisations organoleptiques d'HE d'A. leucotrichus et Ruta montana

Plante	**Ruta montana**	**Ammodaucus leucotrichus**
Couleur	Jaune clair	Bleu
Odeur	Forte pénétrante	Désagréable et prononcée
Aspect	Liquide huileux	Liquide huileux

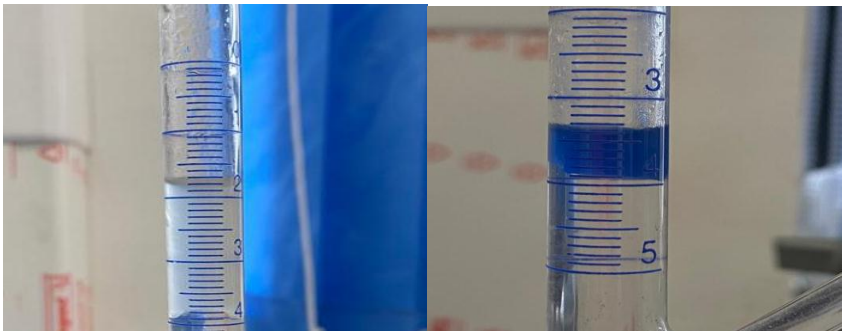


Figure II.2: la couleur de HE' d'Ammodaucus leucotrichus (bleu) et Ruta montana (jaune claire)**.**

Tableau II.3 : comparaison des caractérisations organoleptiques des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana

	Ammodaucus leucotrichus		**Ruta montana**	
	HE testé	**[9]**	**HE testé**	**[18]**
Couleur	Bleu fonce	Bleu vert foncé	Jaune clair	Jaune pâle
Odeur	Forte pénétrante	Forte pénétrante	Désagréable et prononcée	Désagréable et prononcée
Aspect	Liquide huileux	Liquide huileux	Liquide huileux	Liquide mobile

3. Les caractérisations physiques :

Les propriétés physicochimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle, Ces essais sont déterminés selon un protocole précis édicté par l'association française de normalisation (A.F.N.O.R). **[9]**

- **La densité :** La densité est parmi les caractéristiques physiques généralement utilisées dans la classification des huiles essentielles.

Tableau II.4 : la densité des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana

Huile essentiel	M_0 (g)	M_1 (g)	M_2 (g)	d_{20}
Ruta montana	11,678	16,652	12,767	0,82
Ammodaucus leucotrichus	11,649	16,605	16,324	0,94

Tableau II.5 : comparaison de densité des HEs

HE	Ammodaucus leucotrichus		Ruta montana	
	EH testé	Réf [9]	HE testé	Réf [18]
d_{20}	0,94	0,90	0,82	0,802

La densité est parmi les caractéristiques physiques généralement utilisées dans la classification des huiles essentielles. Les densités de nos huiles essentielles est inférieure à celle d'eau. **[52]**

La densité des huiles essentielles Ruta montana (0,82) A. leucotrichus (0,94) trouvé est plus importante que ceux rapportés par **[48]** (0,90), **[18]** (0,80).

- **Indice de réfraction :** Un indice de réfraction dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaines d'acides, de leurs degrés d'instauration et de la température. Il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. **[52]**

Tableau II.6 : Indice de réfraction des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana.

HE	Ammodaucus leucotrichus	Ruta montana
IR	1,499°	1,429°

Tableau II.7 : comparaison des Indice de réfraction des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana.

HE	Ammodaucus leucotrichus		Ruta montana	
	EH testé	[48]	HE testé	[18]
η_{20}^{d}	1,499°	1,501°	1,429°	1,430°

Un indice de réfraction dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaines d'acides, de leurs degrés d'instauration et de la température. Il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé.

Les résultats des IRs trouvés des HEs Ruta montana (1,499) et A. leucotrichus (1,429) est moin important qui ceux trouvés par **[48]** (11,501) et **[18]** (1,430)

- **Teste de miscibilité dans l'éthanol :** La miscibilité à l'éthanol est un moyen rapide pour l'évaluation de la qualité d'une huile essentielle.

Les HEs d'A. Leucotrichus et Ruta montana sont miscibles dans l'éthanol

4. Les Caractérisation chimique

- **L'indice d'acide :**

Après la neutralisation de mélange de (éthanol +HE) par la solution d'hydroxyde de potassium jusqu'à virage au rose violet on noter le Véq :

HE	Véq (ml)	I_A
Ruta montana	0,4	4,48
Ammodaucus leucotrichus	0,5	5,61

Tableau II.8 : indice d'acide d'HE d'A Leucotrichus et Ruta montana

La valeur de l'indice d'acide la plus faible est obtenue avec l'huile essentielle de Ruta montana (4,48), et la valeur de l'indice d'acide la plus élevée est obtenu avec l'huile essentielle d'Ammodaucus leucotrichus (5,61).

Les faibles valeurs de l'indice d'acide des huiles essentielles étudiées sont probablement dues à la faible teneur en acides libres, qui ne sont pas altérées lors de l'extraction de l'huile et de sa conservation.

L'acidité d'une huile essentielle est un critère de qualité. Un indice d'acide faible indique que les huiles essentielles sont stables. L'oxydation de l'huile provoque l'augmentation de l'indice d'acidité **[54]**

Indice de saponification : Après la neutralisation de mélange de (KOH +HE) chaud par la solution d'acide chlorhydrique de potassium jusqu'à virage au rose violet on noter le Véq.

Tableau II.9 : Indice de saponification des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana

HE	Véq (ml)	I_S
Ruta montana	14,4	1189,32
Ammodaucus leucotrichus	16,6	942,48

- **Indice d'ester :**

Tableau II.10 : indice d'ester des HEs d'Ammodaucus leucotrichus et Ruta montana

HE	I_E
Ammodaucus leucotrichus	1183,71
Ruta montana	936,87

Il a été observé que l'HE de Ruta montana et celle d'Ammodaucus leucotrichus possèdent des indices de saponification (1189,32 et 942,48) et d'ester (1183,71 et 936,87) élevés, comme le montre les tableaux :

Les valeurs d'indices d'ester indiquent que les deux huiles contiennent d'importantes quantités d'acide libres, et il est admis que lorsque l'indice d'ester est élevé mieux est la qualité de l'huile **(Hilan et al. 2006).**

Les HEs d'A. Leucotrichus et Ruta montana sont miscibles dans l'éthanol.

5.Modification chimique des huiles essentielles :

- **Les spectroscopies Infra-rouge :**

a) Spectres des HEs :

Sur le spectre IR d'A.leucotrichus on observe l'apparition d'une bande à 2920 cm^{-1} qui correspond à différents modes de vibration symétrique et antisymétriques des groupes CH_2 et CH_3, on observe un autre pic à 2717 cm^{-1} attribué à la vibration d'élongation d'un C_{tri}-H_{Ar} aldéhyde, à 1612 cm^{-1} observe un pic de forte intensité due à la fonction carbonyle C=O d'aldéhyde. Ainsi que C-C 0 1157 cm^{-1} d'intensité moyenne.

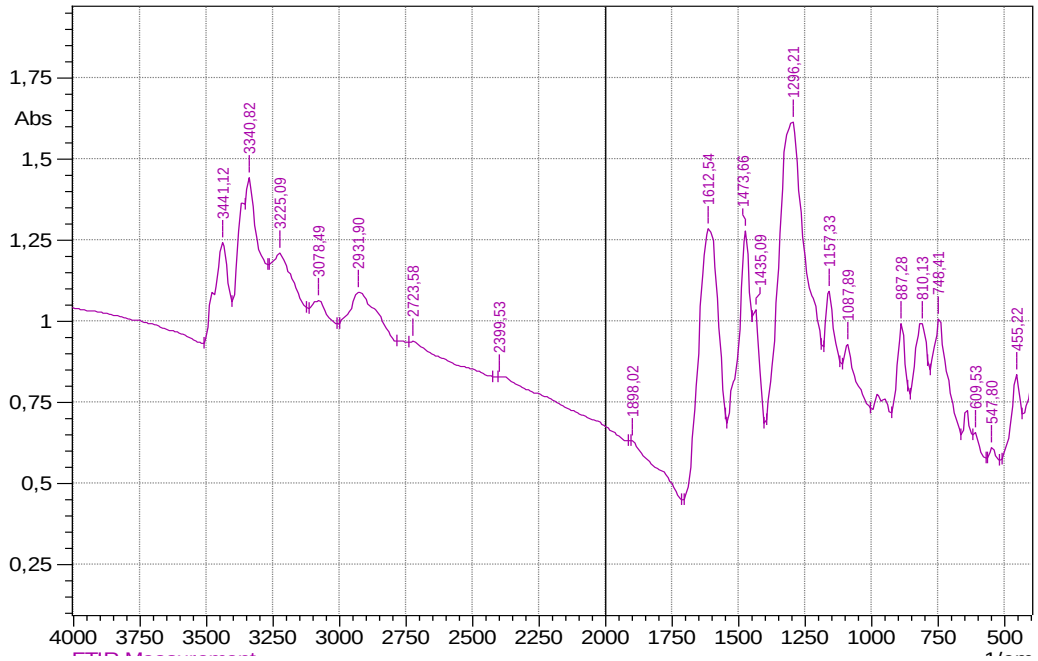


Figure II.3 : spectre IR d'HE d'Ammodaucus leucotrichus

Le spectre IRTF de l'HE de la rue de montagne est caractérisé par deux pics situes à 2924 cm^{-1} et 2854 cm^{-1} responsable de la vibration de la liaison C-H relatif aux groupements méthyle et méthylène, un pic de forte intensité, très pointue correspondant à l'absorption du groupement carbonyle (C=O) présent dans les cétones est situé à 1720 cm^{-1}, ce spectre montre aussi des pics de déformation vers 1500 cm^{-1}.

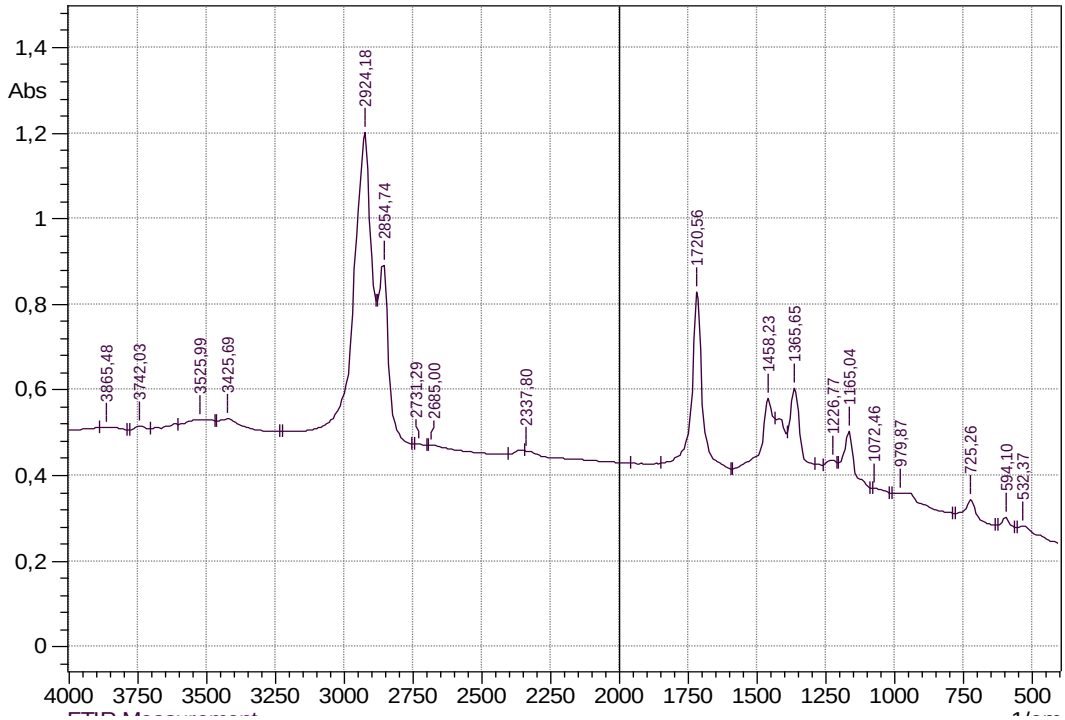


Figure II.4 : spectre IR d'HE de Ruta montana

b) Spectre de produit de cyclisation :

Les produits de cyclisation sont caractérisé par l'apparition de deux bandes situées entre 3100 et 3500 cm^{-1} d'intensité fine correspond à la vibration d'élongation du groupe NH_2, et la disparition de la bande caractéristique du groupement carbonyle preuve de la réduction de l'aldéhyde, et la présence de pic caractéristique du noyau aromatique à 3000 cm^{-1}.

Un pic situé aux environs de 1634 cm^{-1} d'intensité moyenne attribué à la vibration d'élongation des liaisons C=N. Un pic de forte intensité d'absorption des liaisons C = C aromatique, à 1461 cm^{-1}.

La partie entre 500 et 1500 cm^{-1} représente l'empreinte digitale de chaque molécule.

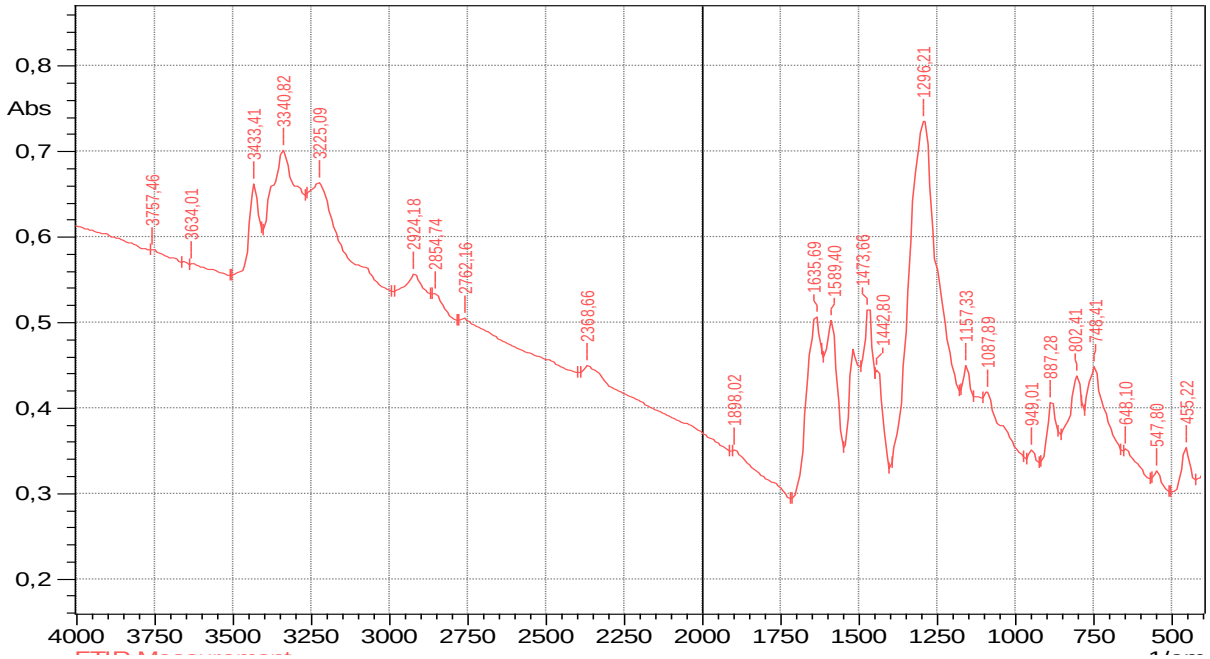


Figure II.5 : spectre IR de Cumin +3,4 diaminonitrobenzol

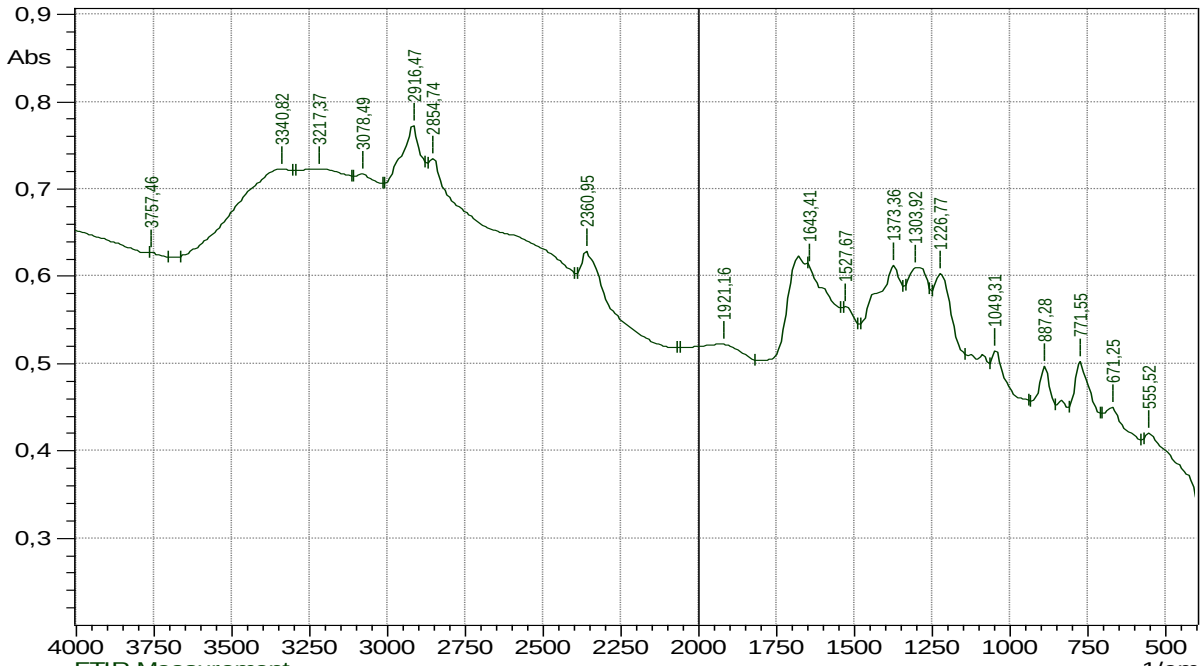


Figure II.6 : spectre IR de Cumin +3,4 diaminobenzoique

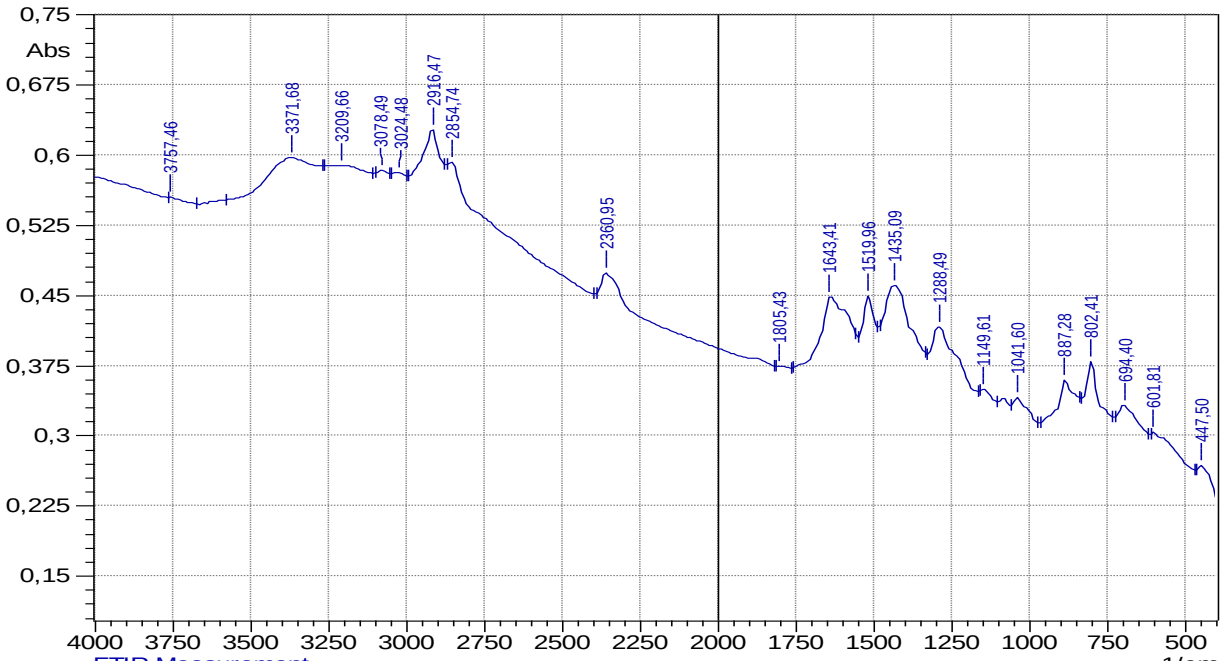


Figure II.7 : spectre IR de Cumin ++3,4 diaminotoluene

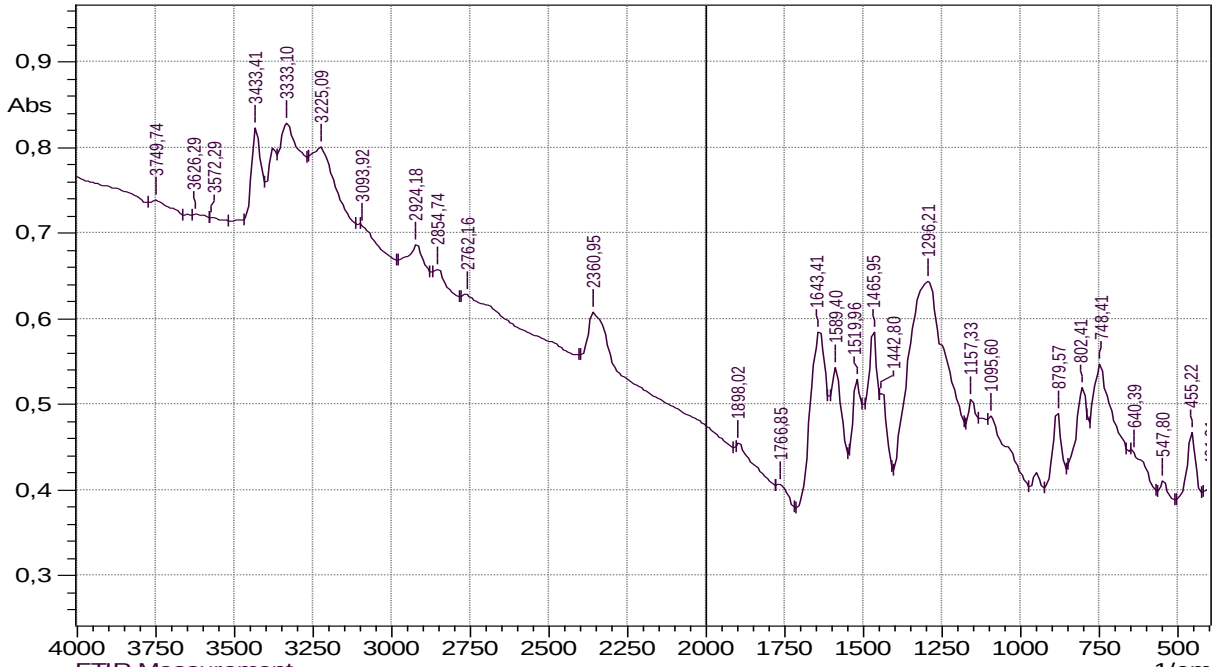


Figure II.8 : spectre IR de Ruta montana +3,4 diaminonitrobenzol

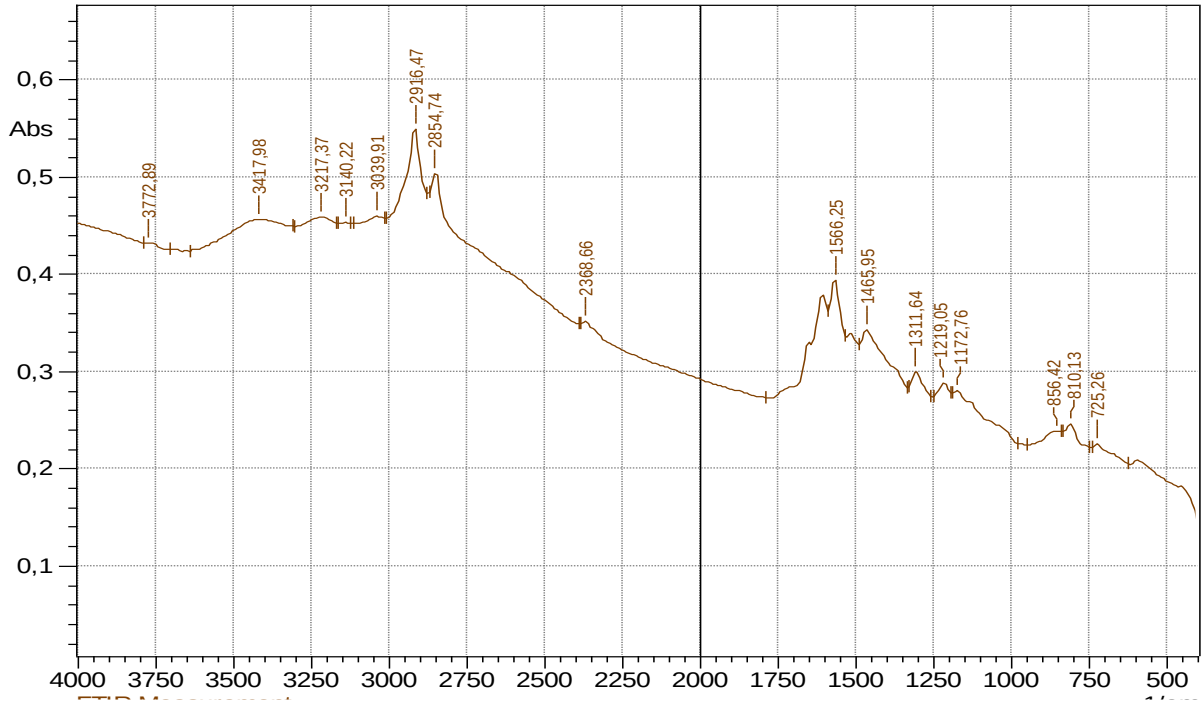


Figure II.9 : spectre IR de Ruta montana +3,4 diaminotoluene

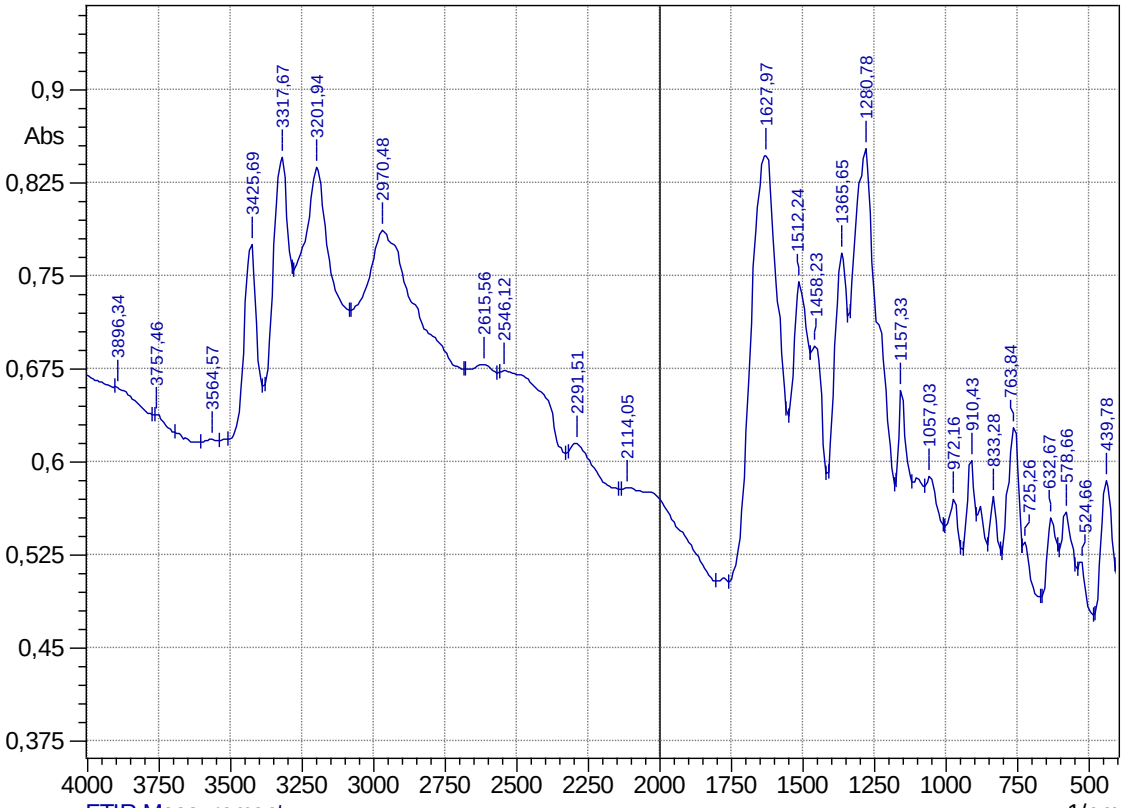


Figure II.10 : spectre IR de Ruta montana + 3,4- diaminobenzoesaure

5. Evaluation de l'Activité biologique :

D'après les résultats obtenus et présentés dans le Tableau on observe que les souches bactériennes étudiées réagissent différemment aux HE. Les résultats obtenus révèlent que l'HE des graines du cumin se montre actif sur la totalité des souches bactériennes testées :

- **Pour Ammodaucus leucotrichus pure :**

- Elle est extrêmement active contre Staphylococcus epidermids (gram +) et Staphylococcus subtillus (gram +), avec des diamètres d'inhibition supérieurs à 25mm.
- Très active contre E. coli (Gram-) avec diamètre d'inhibition 25 mm.
- Et active sur Pseudomonas aeruginosa (gram -) et Salmonella Typhi (gram -), avec des diamètres compris entre 12 et 13 mm.

- **Pour Ruta montana pure :**

- Elle est extrêmement active contre Salmonella Typhi (gram -), avec des diamètres d'inhibition supérieurs à 20mm.
- Très active contre Staphylococcus epidermids (gram +) et Staphylococcus aureus avec diamètre d'inhibition compris entre 15 et 16,5 mm.
- Et active sur E. coli (Gram-), avec des diamètres d'inhibition 12 mm.

Les résultats obtenus relatifs aux diamètres des zones d'inhibition en utilisant le test de l'aromatogramme sont regroupés dans le tableau ci-dessous. (Voir annexe)

(R1) Ruta montana+ 3, 4 diaminobenzoeasure

(R2) Ruta montana + 3, 4 diaminotoluene

(R3) Cumin velu + 3,4 diaminotoluene

(R4) Cumin velu + 3, 4 diaminobenzoeasure

(R5) Ruta montana+ 3,4-diaminonitrobenzol

(R6) Cumin velu + 3,4-diaminonitrobenzol

Tableau II.11 : les zones d'inhibitions des microorganismes pour les échantillons à l'état purs et diluer.

		Les zones d'inhibition (mm) de (Ruta montana) Gram (-)		
	Microorganisme / Produits	**E. coli**	**Pseudomonas aeruginosa**	**Salmonella Typhi**
HE pure	HE Ruta montana	12	-	+++
0,1 g/ ml	HE Ruta montana	-	-	12,0
	(R1)	20,9	-	21,4
	(R2)	11,5	-	12,0
	(R5)	-	-	-
0,1g/10ml	(R2)	11,1	-	19,4
	(R5)	12,0	11,5	-

		Les zones d'inhibition (mm) de Cumin velu Gram (-)		
	Microorganisme / Produits	**E. coli**	**Pseudomonas aeruginosa**	**Salmonella Typhi**
Pure	HE Cumin velu	25	12,7	13,0
0,1/ml	HE Cumin velu	13,2	-	12,2
	(R3)		-	-

	(R4)	10,8	-	-
0,1g/10 ml	(R3)	-	-	25
	(R4)	11,4	-	-
	(R6)	-	-	-

		Les zones d'inhibition (mm) de Ruta montana Gram(+)		
	Microorganisme / Produits	**Staphylococcus Aureus**	**Staphylococcus Epidermids**	**Bacillus subtillus**
Pure	**Ruta montana**	**15,5 mm**	**16,8**	**23,1**
0.1g/ml	**HE Ruta montana**	-	-	-
	(R1)	-	**16,1**	-
	(R2)	**19,0**	**14,2**	-
	(R5)	-	-	-
0,1g/10ml	**(R2)**	**12**	**14,1**	**13**
	(R5)	**11,1**	**11,5**	**11**

		Les zones d'inhibition (mm) de Cumin velu Gram(+)		
	Microorganisme / Produits	**Staphylococcus Aureus**	**Staphylococcus Epidermids**	**Bacillus subtillus**
Pure	**HE Cumin velu**	**15,5 mm**	**16,8**	**23,1**
0,1/ml	**HE Cumin velu**	**-**	**-**	**-**
	(R3)	**-**	**16,1**	**-**
	(R4)	**19,0**	**14,2**	**-**
0,1/10ml	**(R3)**	**-**	**-**	**-**
	(R4)	**12**	**14,1**	**13**
	(R6)	**11,1**	**11,5**	**11**

Les résultats montrent que les deux huiles essentielles testées possèdent une forte activité antibactérienne avec la plupart bactéries, cette activité augmente avec l'augmentation de sa concentration. Le plus grand diamètre d'inhibition a été observé avec l'HE du cumin velu pure pour la souche gram positive Staphylococcus epidermids et Bacillus subtillus qui ont été moins sensible.

On conclure que l'HE à son l'état pure du cumin velu est fortement inhibitrice que l'HE du Ruta montana.

Conclusion générale :

Notre travail avait comme objectif la valorisation via hémi-synthèse des huiles essentielles du Ruta montana et d'Ammoduacus leucotrichus dans le but d'améliorer leurs activités antimicrobiennes.

L'extraction des huiles essentielles Ruta montana et d'Ammoduacus leucotrichus riche en cétone et aldéhyde par hydro distillation a fourni une huile de couleur jaune claire avec un rendement de 2,13% pour Ruta montana, et une huile bleue avec un rendement 2,52 % pour le cumin velu.

La modification chimique de ses HEs par phénylènediamine sur les aldéhydes conduit à la formation de leurs benzimidazole pour Ruta montana et Cumin velu respectivement, et leurs structures chimiques ont été confirmées par IR.

Les tests du pouvoir antimicrobien par la méthode d'aromatogramme montrent que les HEs du Ruta montana et cumin velu présentent une activité antibactérienne contre les souches à gram (-) E. coli et gram (+) Staphylococcus aureus Bacillus subtillus et Staphylococcus épidermes.
Cette activité a été améliorée en utilisant les mêmes doses de l'huile essentielle modifiée.
En perspective il est recommandé de faire une étude systématique pour améliorer les rendements des réactions. Il est aussi recommandé d'étude l'activité microbiologique des benzimidazole.

Références bibliographiques

[1] LARDRY, Jean-Michel et HABERKORN, Valérie. L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, la revue*, 2007, vol. 7, no 61, p. 14-17.

[2] EL AMRI, J., ELBADAOUI, KHALID, ZAIR, T., *et al.* Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de Teucrium capitatium L et l'extrait de Siléne vulgaris sur différentes souches testées. *Journal of Applied Biosciences*, 2014, vol. 82, p. 7481-7492.

[3] PIOCHON, Marianne. *Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse*. Université du Québec à Chicoutimi, 2008.

[4] ABOUGHE ANGONE, S., AWORET SAMSENY, R. R. R., et EYELE MVE MBA, C. Quelques propriétés des huiles essentielles des plantes médicinales du Gabon. *Phytothérapie*, 2015, vol. 13, no 5, p. 283-287.

[5] FILLATRE, Yoann. *Produits phytosanitaires: Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem*. 2011. Thèse de doctorat. Université d'Angers.

[6] LEE, Kyung-Woo, EVERTS, H., et BEYNEN, A. C. Essential oils in broiler nutrition. *Int J Poult Sci*, 2004, vol. 3, no 12, p. 738-752.

[7] RUBIOLO, Patrizia, SGORBINI, Barbara, LIBERTO, Erica, *et al.* Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. A review. *Flavour and fragrance journal*, 2010, vol. 25, no 5, p. 282-290.

[8]TUREK, Claudia et STINTZING, Florian C. Stability of essential oils: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2013, vol. 12, no 1, p. 40-53.

[9] COUIC-MARINIER, Françoise et LOBSTEIN, Annelise. Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*, 2013, vol. 52, no 525, p. 18-21.

[10] DE GROOT, Anton C. et SCHMIDT, Erich. Essential oils, part III: chemical composition. *Dermatitis*, 2016, vol. 27, no 4, p. 161-169.

[11] ANDOĞAN, Buket Cicioğlu, BAYDAR, Hasan, KAYA, Selçuk, *et al.* Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Archives of pharmacal research*, 2002, vol. 25, p. 860-864.

[12] LUDWICZUK, A., SKALICKA-WOŹNIAK, K., et GEORGIEV, M. I. Terpenoids. In: *Pharmacognosy*. Academic Press, 2017. p. 233-266.

[13] COUIC-MARINIER, Françoise et LOBSTEIN, Annelise. Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, 2013, vol. 52, no 525, p. 22-25.

[14] VÉRONIQUE, COUDERC. *Toxicité des huiles essentielles*. 1971. Thèse de doctorat. thèse, Ecole nationale vétérinaire Toulouse, 2001.

[15] BOUKHATEM, Mohamed Nadjib, FERHAT, Amine, et KAMELI, Abdelkrim. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 2019, vol. 3, no 4, p. 1653-1659.

[16]LAGUNEZ RIVERA, Luicita. *Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe*. 2006. Thèse de doctorat.

[17] SAHRAOUI, Naima. *Mise au point d'un nouveau procédé d'extraction d'huiles essentielles assisté par micro-ondes: application à la valorisation de plantes locales et comparaison avec les procédés conventionnels*. 2012. Thèse de doctorat.

[18] BOUKHATEM, Mohamed Nadjib, HAMAIDI, Mohand Said, SAIDI, Fairouz, *et al.* Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (Pelargonium graveolens L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technology*, 2010, no 3, p. 37.

[19] LUCCHESI, Marie-Elisabeth. *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles*. 2005. Thèse de doctorat. Université de la Réunion.

[20] FARHAT, Asma. Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application.

[21] HUMBERT, Luc et LHERMITTE, Michel. Molécules indétectables par chromatographie en phase gazeuse. In : *Annales de Toxicologie Analytique*. EDP Sciences, 2005. p. 57-62.

[22]LUCACCIONI, Fabio, DENEYER, R., et TILQUIN, Bernard. Pour une analyse des huiles essentielles. *Chimie nouvelle*, 1993, vol. 11, no 43, p. 1253-1257.

[23] NEBO, Liliane, VARELA, Rosa M., MOLINILLO, Jose MG, *et al.* Phytotoxicity of alkaloids, coumarins and flavonoids isolated from 11 species belonging to the Rutaceae and Meliaceae families. *Phytochemistry Letters*, 2014, vol. 8, p. 226-232.

[24] NICOLINI, Eric-André, *et al.* Premières données sur l'architecture des genres Citrus et Poncirus (Rutaceae). *Fruits*, 1991, vol. 46, no 6, p. 653-669.

[25] MIGUEL, Elia San. Rue (Ruta L., Rutaceae) in traditional Spain: frequency and distribution of its medicinal and symbolic applications. *Economic botany*, 2003, vol. 57, no 2, p. 231-244.

[26] BENKHAIRA, Nesrine, KORAICHI, Saad Ibnsouda, et FIKRI-BENBRAHIM, Kawtar. Ruta montana (L.) L.: An insight into its medicinal value, phytochemistry, biological properties, and toxicity. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 2022, vol. 11, no 3, p. 305-319.

[27] Kara Ali, W. and Abidli, N., 2017. *Effet des extraits de la plante médicinale Ruta montana)(الفيجل)sur la cardiotoxicité induite par la doxorubicine et sur la multi-drug résistances (MDR) des cellules cancéreuses ovarien (A2780)* (Doctoral dissertation, Université Frères Mentouri-Constantine 1).

[28] ALLOUNI, Rima. *Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante Ruta montana*. 2018. Thèse de doctorat.

[29] MOHAMMEDI, Hichem, MECHERARA-IDJERI, Samira, et HASSANI, Aicha. Variability in essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activities of Ruta

montana L. collected from different geographical regions in Algeria. *Journal of essential oil research*, 2020, vol. 32, no 1, p. 88-101.

[30] KUKULA-KOCH, W. A. et WIDELSKI, J. Alkaloids. In : *Pharmacognosy*. Academic Press, 2017. p. 163-198.

[31] ADAMSKA-SZEWCZYK, Aldona, GLOWNIAK, Kazimierz, et BAJ, Tomasz. Furochinoline alkaloids in plants from Rutaceae family–a review. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 2016, vol. 29, no 1, p. 33-38.

[32] MARIN, F. R., FRUTOS, M. J., PEREZ-ALVAREZ, J. A., *et al.* Flavonoids as nutraceuticals: structural related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation. *Studies in natural products chemistry*, 2002, vol. 26, p. 741-778.

[33] JANIĆIJEVIĆ, Jelena, TOŠIĆ, Svetlana, et MITROVIĆ, Tatjana. Flavonoids in plants. In : *Proceeding of the 9th Symposium on Flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions. Niš, Serbia*. 2007. p. 153-156.

[34] MARFAK, Abdelghafour. Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. *Mémoire, Université de Limoges, Limoges*, 2003.

[35] SIENIAWSKA, E. et BAJ, T. Tannins. In : *Pharmacognosy*. Academic Press, 2017. p. 199-232.

[36] KHANBABAEE, Karamali et VAN REE, Teunis. Tannins: classification and definition. *Natural product reports*, 2001, vol. 18, no 6, p. 641-649.

[3**7]** KONTOGIORGIS, Christos, DETSI, Anastasia, et HADJIPAVLOU-LITINA, Dimitra. Coumarin-based drugs: a patent review (2008–present). *Expert opinion on therapeutic patents*, 2012, vol. 22, no 4, p. 437-454.

[38] NEBO, Liliane, VARELA, Rosa M., MOLINILLO, Jose MG, *et al.* Phytotoxicity of alkaloids, coumarins and flavonoids isolated from 11 species belonging to the Rutaceae and Meliaceae families. *Phytochemistry Letters*, 2014, vol. 8, p. 226-232.

[39] DAOUDI, A., HROUK, H., BELAIDI, R., *et al.* Valorisation de Ruta montana et Ruta chalepensis: étude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir

antibactérien. *Journal of Materials and Environmental Science*, 2016, vol. 7, no 3, p. 685-1063.

[40] MOUDERAS, Faiza, LAHFA, Farid Boucif, MEZOUAR, Dounia, et al. Valorization and identification of bioactive compounds of a spice Ammodaucus leucotrichus. Advances in Traditional Medicine, 2020, vol. 20, p. 159-168.

[41] MOHAMMEDI, Hichem, IDJERI-MECHERARA, Samira, MENACEUR, Fouad, et al. Chemical compositions of extracted volatile oils of Ammodaucus leucotrichus L. fruit from different geographical regions of Algeria with evaluation of its toxicity, anti-inflammatory and antimicrobial activities. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2018, vol. 21, no 6, p. 1568-1584.

[42] MANSSOURI, Mounir, ZNINI, Mohamed, et MAJIDI, Lhou. Studies on the antioxidant activity of essential oil and various extracts of Ammodaucus leucotrichus Coss. & Dur. Fruits from Morocco. Journal of Taibah University for Science, 2020, vol. 14, no 1, p. 124-130.

[43] IDM'HAND, Elhassan, MSANDA, Fouad, et CHERIFI, Khalil. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of Ammodaucus leucotrichus. Clinical Phytoscience, 2020, vol. 6, no 1, p. 1-8.

[44] The essential oil of Algerian Ammodaucus leucotrichus Coss. & Dur. and its effect on the cholinesterase and monoamine oxidase activities

[45] BENAHMED, Nor el Houda. Contribution à la recherche de l'effet des extraits d'Ammodaucus leucotrichus sur la captation de glucose par les coupes fines de tissu musculaire isolées à partir des rats «Wistar. Thèse de doctorat.

[46] LANDOULSI, Ameni. Etude chimiotaxonomique et activité biologique des métabolites secondaires des plantes du genre Eryngium. 2016. Thèse de doctorat. Université du Droit et de la Santé-Lille II; Université de Tunis El Manar.

[47] DETRY, Pauline, et al. Etude biochimique des fractions lipidiques de graines de la famille des apiacées obtenues par différentes méthodes d'extraction. 2017.

[48] KHALDI, Achraf. Etude des effets antifongiques et antimycotoxiques des extraits des plantes médicinales de la région de Béchar. 2017.

[49] Characterization of the Chemical Diversity in Essential Oils from Vegetative and Reproductive Organs of Ammodaucus leucotrichus subsp. leucotrichus Coss. & Dur. Growing in Algeria

[50] CHATELAIN, Cyrille, CHAMBOULEYRON, Mathieu, CHARRIER, Matthieu, *et al.* Révision du genre Ammodaucus (Apiaceae) en Afrique du Nord. *Candollea*, 2021, vol. 76, no 2, p. 191-200.

[51] CHATELAIN, Cyrille, CHAMBOULEYRON, Mathieu, CHARRIER, Matthieu, *et al.* Révision du genre Ammodaucus (Apiaceae) en Afrique du Nord. *Candollea*, 2021, vol. 76, no 2, p. 191-200.

[52] MADANI, Khodir, OUKALA, Taklit, OUKAOUR, Aldja, *et al. Caractérisation de l'huile essentielle de la plante médicinale Ammodaucus leucotrichus par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse*. 2018. Thèse de doctorat. Université Abderrahmane Mira-Bejaia.

[53] Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D., Aitour, S. 2006. Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae. Lebanese Science Journal, 7(2):13-22

[54] Cliff, S. J.D., Harerimana, P. C. 2013. Extraction de l'Huile Essentielle Complète des Fleurs de Cananga Odorata de la Plaine de l'Imbo: Vers la Vulgarisation d'une Nouvelle Filière de Plante Industrielle au Burundi. Francophonie, Afrique et Océan Indien.

Annexe

- **Aromatogramme des produits dilués dans 1 ml de DMSO :**

S.ty : Salmonella typhi, **S.au :** Staphylococcus aureus, **S.ep** : Staphylococcus epidermidis

E.coli : Escherichia coli, **B.sub** : Bacillus subtilis, **Pseudo** : Pseudomonas aeruginosa

Cumin : Ammodaucus leucotrichus, **Ruta** : ruta montana

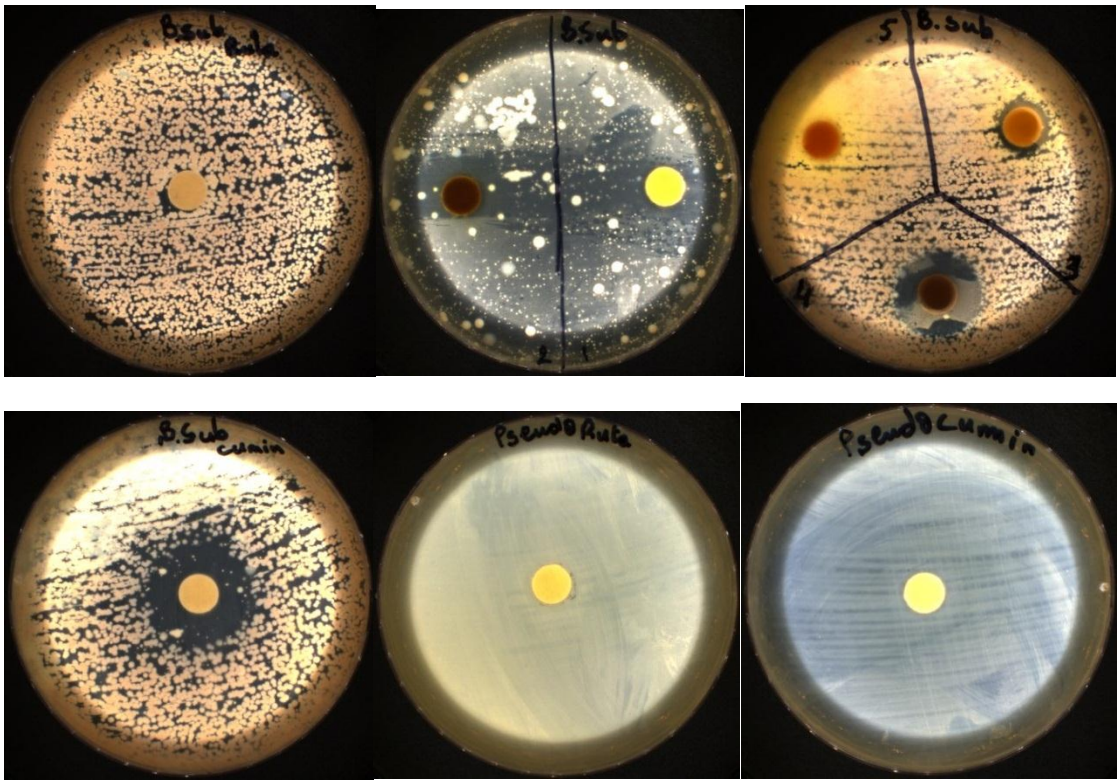
1 : Ruta montana +3,4 diamonobenzoseaure

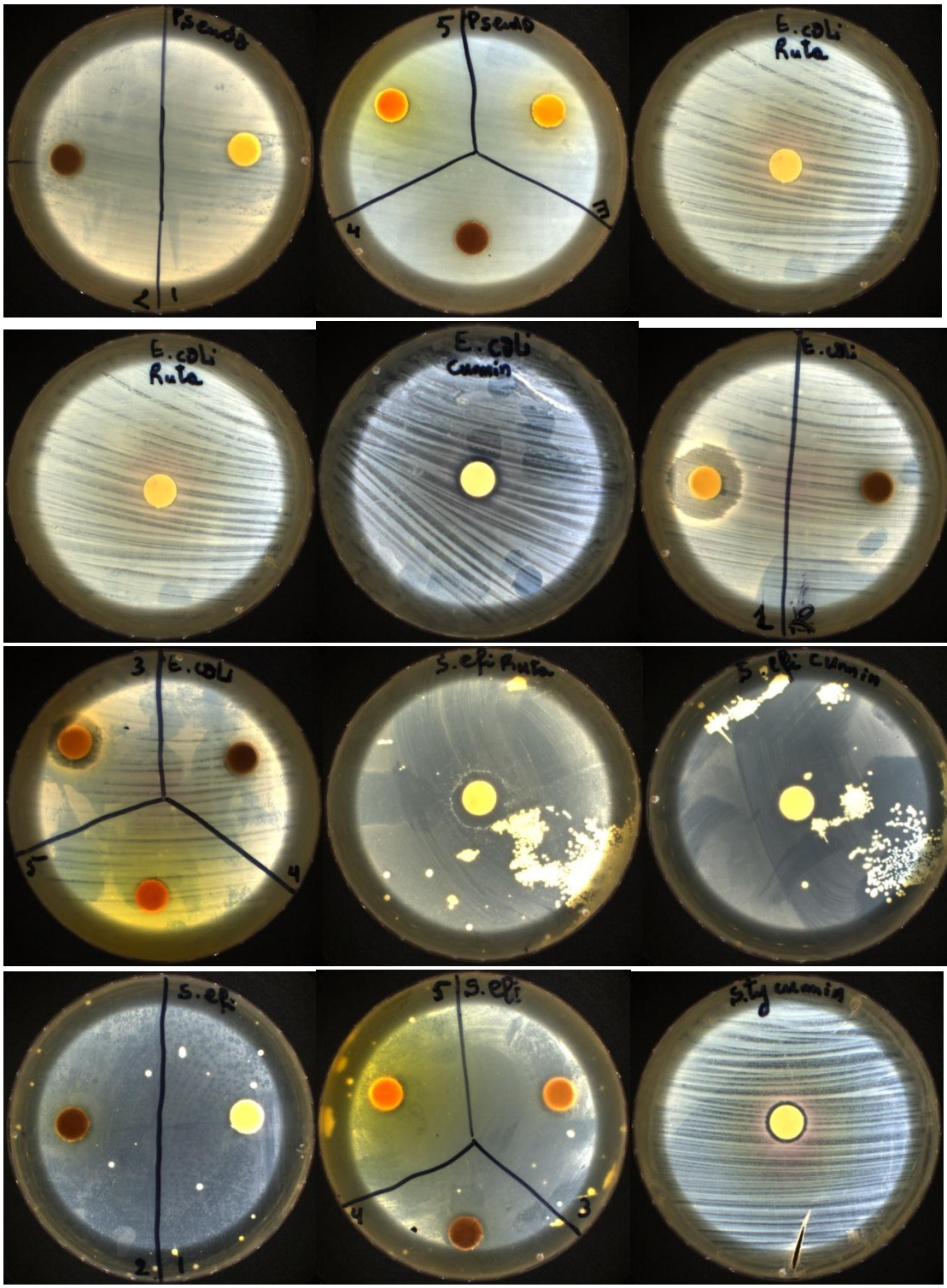
2 : Ruta montana + 3,4 diaminotoluene

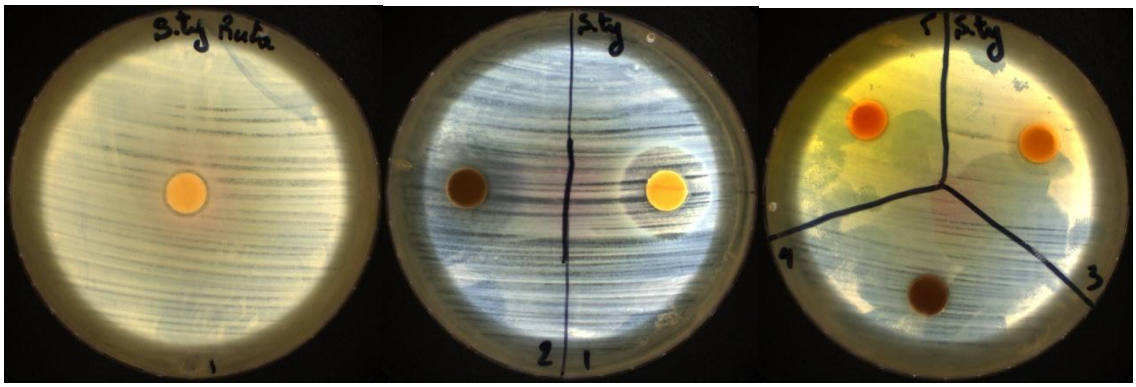
3 : Cumin velu + 3,4 diaminotoluene

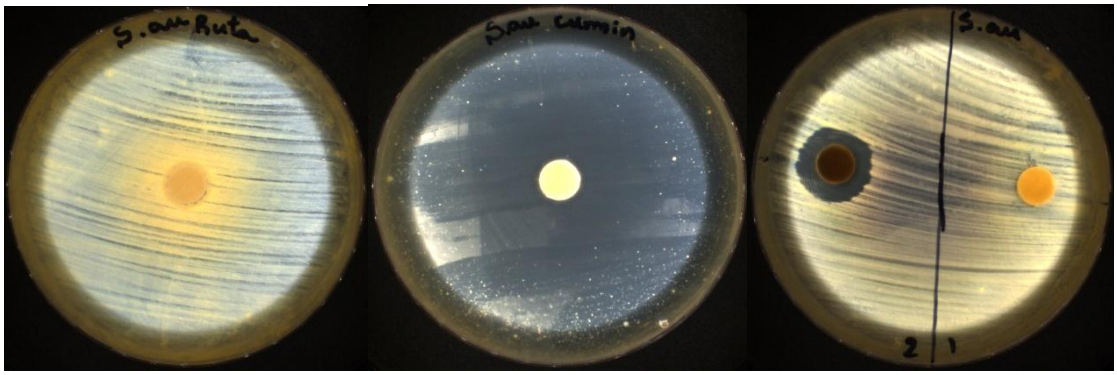
4 : Cumin velu + 3,4 diaminobenzoesaure

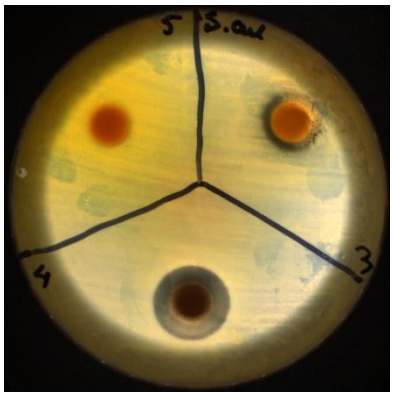
5 : Ruta montana + 3,4 diaminonitrobenzole




Pseudo
2
1
5
Pseudo
4
3
E.coli
Ruta
E.coli
Ruta
E.coli
Cumin
E.coli
1
3
E.coli
5
4
S.efi Ruta
S.efi cumin
S.efi
2
1
5
S.efi
4
3
S.ty cumin


S.ty Ruta
1
S.ty
2
1
S.ty
4
3


S.au Ruta
Sau Lumio
S.au
2
1


5
S.au
4
3

- **Aromatogramme des produits dilués dans 10 ml de DMSO :**

S.ty : Salmonella typhi, **S.au :** Staphylococcus aureus, **S.ep :** Staphylococcus epidermidis

E.coli : Escherichia coli, **B.sub :** Bacillus subtilis, **Pseudo :** Pseudomonas aeruginosa

Cumin : Ammodaucus leucotrichus, **Ruta :** ruta montana

1 : Ruta montana +3,4 diamonobenzoseaure

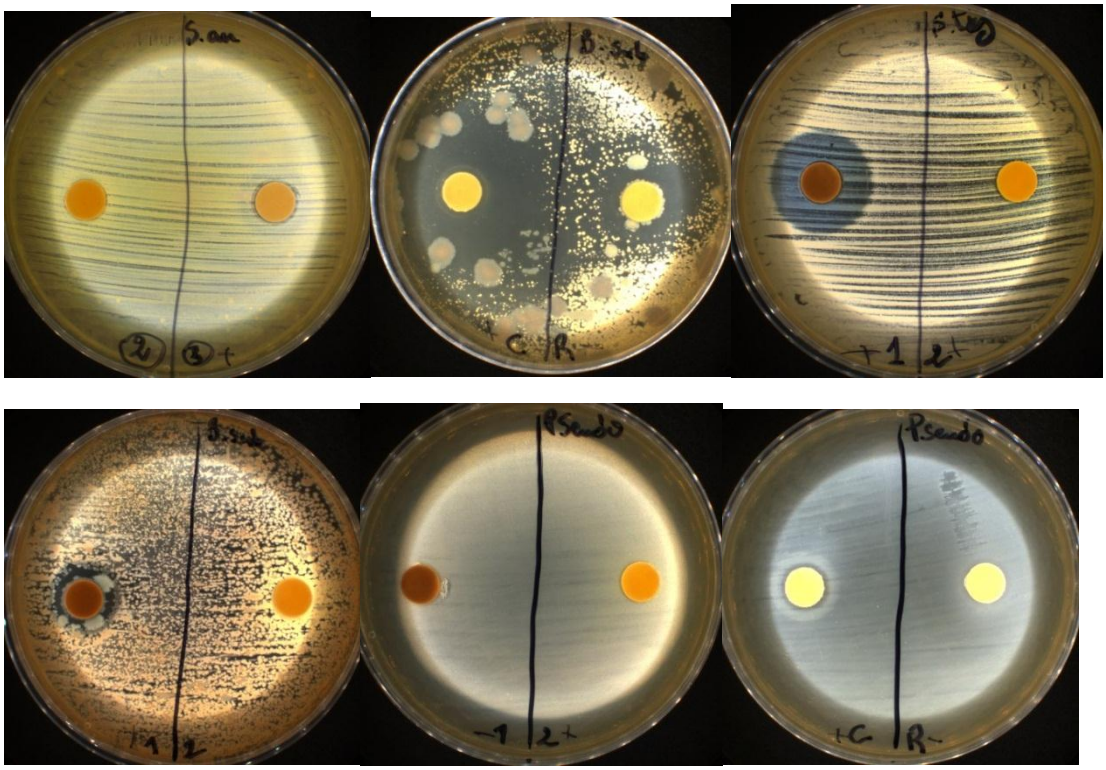
2 : Ruta montana + 3,4 diaminotoluene

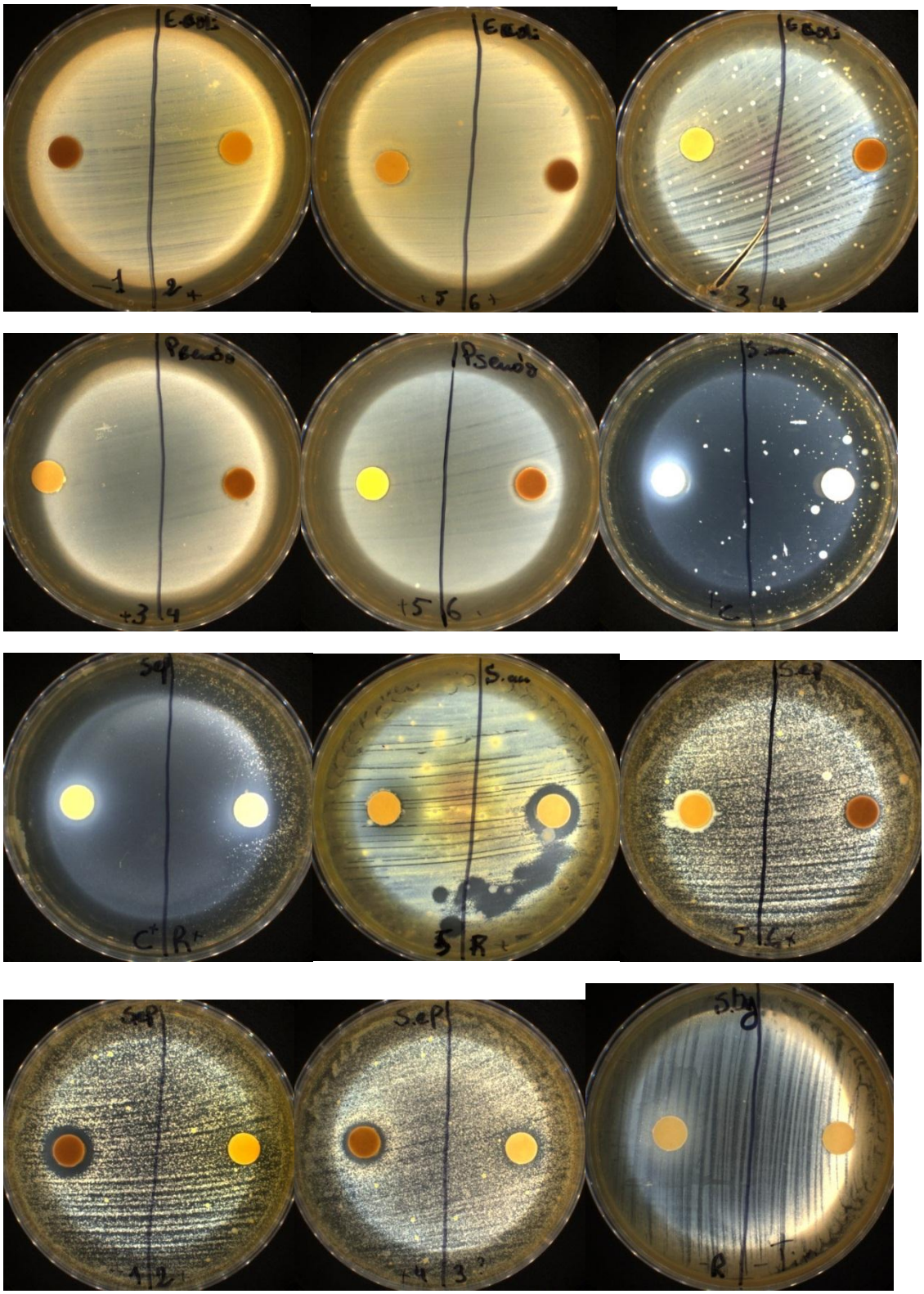
3 : Cumin velu + 3,4 diaminotoluene

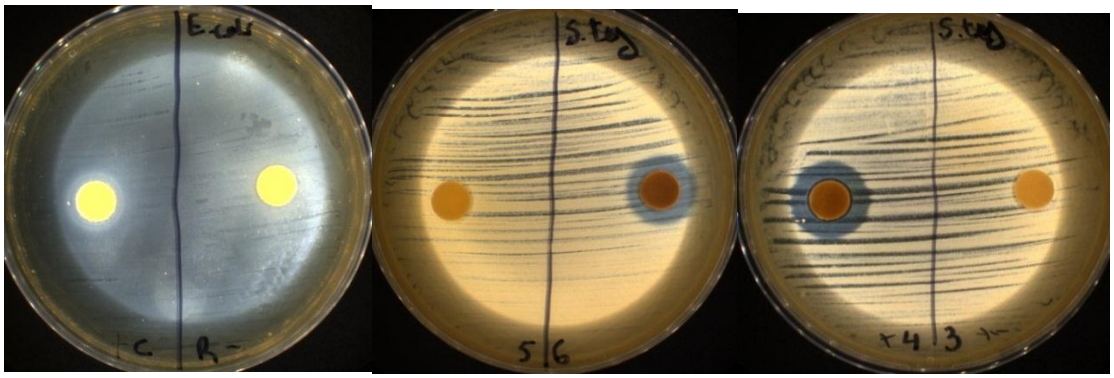
4 : Cumin velu + 3,4 diaminobenzoesaure

5 : Ruta montana + 3,4 diaminonitrobenzole

6 : cumin velu + 3,4 diaminotoluene




E.coli
E.coli
E.coli
Pseudo
Pseudo
S.aur
Sal
S.aur
S.ep
S.epi
S.epi
Shig


E.coli
C
R-
S.typ
5
6
S.typ
+4
3
+-