



Université Mohamed Khider de Biskra

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences de la Matière

# MÉMOIRE DE MASTER

Domaine des Sciences de la Matière  
Filière de Chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

---

Présenté et soutenu par :

**" BEN FATAH Kawther " et " SELMI Roumaïssa "**

## Isolement et caractérisation des substances naturelles actives à usage pharmaceutique

---

### Jury :

MEGUEZZI Ahmed	Professeur	Université Med Khider – Biskra	Président
FETTAH Asma	M.C.B	Université Med Khider – Biskra	Promotrice
BELAIDI Saleh	Professeur	Université Med Khider – Biskra	Examineur

Année universitaire : 2020-2021



## Remerciement



*Avant tout, Nous remercions Allah tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience de pouvoir accomplir ce modeste travail.*

*Ce travail est l'aboutissement d'un long cheminement au cours duquel nous avons bénéficié de l'encadrement, des encouragements de l'expérience de **Dr. Fettah Asma**, à qui nous tiens à dire profondément et sincèrement merci pour sa patience et surtout pour sa confiance, ses conseils et toutes ses remarques constructives qui ont permis le bon déroulement de projet.*

*Nos chaleureux remerciements vivement les membres de jury :*

- *Monsieur, **MEGUEZZI Ahmed** Nous avons très honorée que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements et soyez assuré de notre profonde gratitude.*
- *Monsieur, **BELAIDI Saleh** Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire en tant qu'examineur m'honore, nous avons très reconnaissante et nous vous adresse nos vifs remerciements.*

*Nous tiens aussi à remercier le corps professoral de la faculté SESNV à tous nos enseignants du département de Science de la Matière, nos enseignants de chimie pharmaceutique particulièrement qui nous ont initiés aux valeurs authentiques en signe du profond respect.*

*Pour conclure, nous souhaite adresser nos vifs remerciements à toute personne ayant participé de près ou de loin par un apport petit ou grand dans l'élaboration de ce travail.*



## Dédicace



*Mercie le grande Dieu de m'avoir donné la santé, le courage et la capacité d'élaborer ce modeste travail et de me donner la patience d'aller jusqu'au bout. Je lève les mains toujours vers le ciel et je dis :*

*« Ya Kadir, Ya Kayoum »*

*À mon très cher père **Moussa** qui m'a soutenu tout au long de ma vie et contribué pleinement dans l'aboutissement et la Réussite de mon parcours scolaire.*

*À celle qui m'a amené à la vie, m'a appris le sens de la vie, Et qui est le paradis sous ses pieds ; La plus chère à mes yeux, ma mère **Saida Boulkoumane** en témoignage de sa sacrifice, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance et gratitude Que Dieu la protège, la préserve et leur accorde santé et longue vie.*

*Mes dédicaces s'adressent également à mon très cher frère **Taki** Source de tendresse et de soutien. Je voudrais t'exprimer à travers ces quelques lignes tout l'amour et toute l'affection que j'ai pour toi. Je suis chanceuse de t'avoir à mes côtés mon seul frère ! Sans toi ma vie n'aura aucun sens.*

*À mon encadrant **Dr. Fatteh Asma** pour sa disponibilité et la confiance qu'elle m'a accordée. Celle qui m'a fourni tout son temps pour m'aider et me suivre malgré la situation exceptionnelle que nous traversons, à cause de la pandémie de Covid-19, jusqu'à la fin de ce travail.*

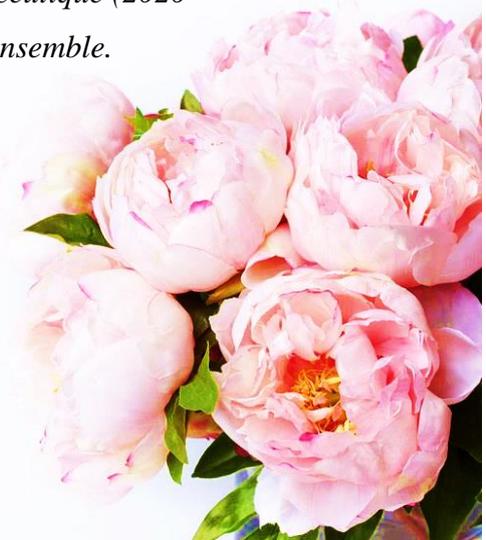
*À ma grand ma mère **Fatima**, que dieu prolonge ta vie et te fasse une couronne sur ma tête.*

*À mon binôme, **Roumaissa** merci pour vos efforts tout au long de cette période et pour la sincérité de vos sentiments avec moi.*

*À mes proches, **Adel, Bouthaina, Souad, Rima, Wissam, Inès, ayemen***

*À tous mes collègues de la promotion master chimie pharmaceutique (2020-2021) pour les bons moments que nous avons passés ensemble.*

**Kawther**





## Dédicace



D'abord, je remercie mon Dieu qui m'a donné ce succès, qui m'a guidé et aidé tout au long du cheminement académique, ces phrases ne suffisent jamais les faveurs de Mon dieu juste pour dire : الحمد لله

À Mon cher père **Hocine**, à qui je dois mon diplôme, ma réussite. L'homme qui a souffert sans me laisser souffrir qui n'a jamais dit non à mes exigences, la personne qui m'a fait confiance et cru en mes capacités, rien au monde ne vaut ses efforts fournis pour mon éducation et mon bien être.

À Ma chère Mère ; **Aida**, la source de l'amour et la tendresse et la reconnaissance que je porte, celle qui m'a épaulé et soutenu.... Celle qui se sacrifié pour être que je suis aujourd'hui.

À Ma chère sœur (ma deuxième mère) : **Nadia**, Celle qui je ne peux rien oublier sa bonté avec moi qui m'a partagé mes beaux moments et me soutenu dans les moments les plus difficiles.

À Mon encadrent : **Dr. Fatteh**, qui était la grande raison de Mon succès qui nous a accompagnés et soutenu tout l'année. Sans ses soins et son attention, nous n'aurions pas atteint notre objectif. Merci pour votre rigoureuse suivie malgré la situation exceptionnelle que nous traversons, à cause de la pandémie de Covid-19, jusqu'à la fin de ce travail.

Mes chers frères et amoureux sœurs : **Zouhair, said, Aboubakr, Amar, Mouslim, Faiza, Assai, Isma, Marwa**, qui m'ont soutenu, conseillé et encouragé tout au long de Mon parcours académique, qui ont rêvé de ce jour avec moi et l'ont attendu toute l'année.

À Ma sœur, ma copine et l'amie de l'enfance **Assia**, Merci pour tous les moments qui m'ont réuni avec toi.

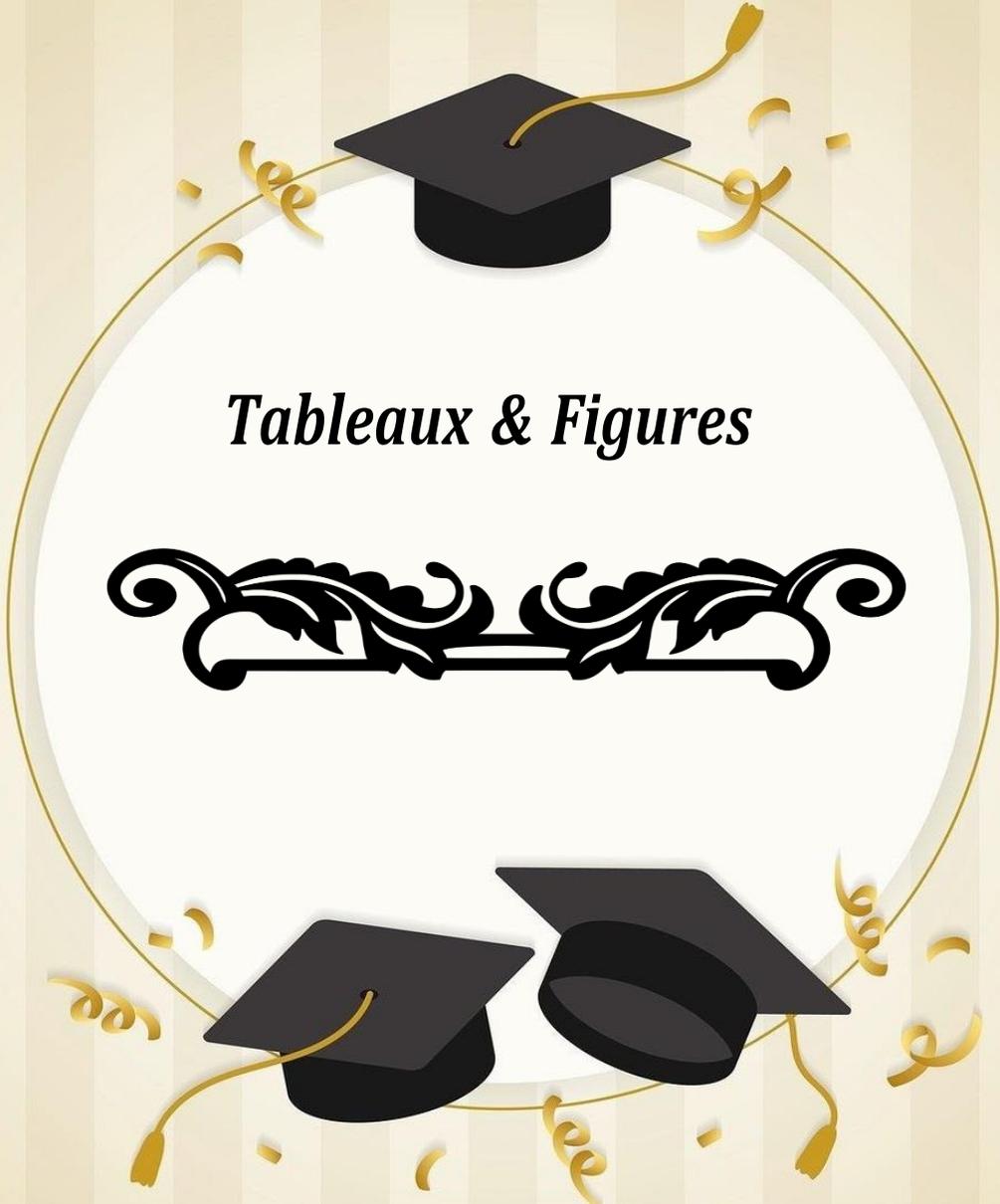
À ma collègue **Kawther**, l'exemple de diligence et d'effort, Ce fut un grand plaisir de travail avec elle, Nous avons partagé les plus beaux moments pendant les temps d'étude et de travail. Et À mes proches : **Zineb, Djihade, kods**, Les amies fidèles, qui m'ont partagé la plupart des temps des études et des souvenirs.

*Roumaissa*





اللهم لا أضام وأنت حسبي،  
ولا أفقر وأنت ربي،  
بك أستعين وبك أستجير وبك أكتفي،  
اللهم برحمتك أستغيث أصلح لي شأني كله  
ولا تكلني إلى نفسي طرفة عين.



*Tableaux & Figures*



## Liste des tableaux

### *CHAPITRE I*

Tableau	LE TITRE	Page
Tableau I.1	Classification de l'anis-vert	13
Tableau I.2	Composition chimique de l'huile essentielle des graines d'anis vert	14
Tableau I.3	Classification de clou de girofle	20
Tableau I.4	Composition chimique de l'huile essentielle des clous de girofle	21

### *CHAPITRE II*

Tableau	LE TITRE	Page
Tableau II.1	Principaux composés des huiles essentielles et leurs activités biologiques	38

### *CHAPITRE III*

Tableau	LE TITRE	Page
Tableau III.1	Fractionnement d'huiles essentielles de l'anis-vert	59
Tableau III.2	Rassemblement des fractions (F1-F11)	61

### *CHAPITRE IV*

Tableau	LE TITRE	Page
Tableau IV.1	Caractéristiques organoleptiques des HEs extraites	68
Tableau IV.2	Caractéristiques des HEs étudiées selon la littérature	68
Tableau IV.3	Les rendements en HEs obtenues	69
Tableau IV.4	Caractéristiques physicochimiques des HEs extraites	71
Tableau IV.5	Caractéristiques physicochimiques des HEs puisées dans la littérature	71
Tableau IV.6	Les chromatogrammes des huiles essentielles de l'anis-vert et clou de girofle	72
Tableau IV.7	Les Chromatogrammes de la comparaison	74

<b>Tableau IV.8</b>	Représente les caractéristiques de la deuxième fraction	<b>76</b>
<b>Tableau IV.9</b>	Les bandes caractéristiques de la deuxième fraction	<b>78</b>
<b>Tableau IV.10</b>	Les caractéristiques organoleptiques de la fraction (20, 21,22)	<b>79</b>
<b>Tableau IV.11</b>	Les bandes caractéristiques de l'anis aldéhyde	<b>81</b>
<b>Tableau IV.12</b>	Les caractéristiques organoleptiques d'autres fractions	<b>82</b>
<b>Tableau IV.13</b>	Les caractéristiques organoleptiques de la fraction 28	<b>83</b>
<b>Tableau IV.14</b>	Représente les caractéristiques d'eugénol	<b>86</b>
<b>Tableau IV.15</b>	Représente les caractéristiques de l'acétate d'eugénol	<b>86</b>
<b>Tableau IV.16</b>	Chromatogramme obtenu après séparation de l'eugénol et l'acétate d'eugénol	<b>87</b>
<b>Tableau IV.17</b>	Les bandes caractéristiques de l'eugénol	<b>89</b>
<b>Tableau IV.18</b>	Les bandes caractéristiques de l'acétate d'eugénol	<b>91</b>
<b>Tableau IV.19</b>	Les propriétés thérapeutiques de nos produits isolés	<b>92</b>

# Liste des figures

## CHAPITRE I

FIGURE	LE TITRE	Page
Figure I.1	Structure chimique de phénol	5
Figure I.2	Structure chimique des huiles essentielles	5
Figure I.3	Structure chimique de tanins	6
Figure I.4	Structure chimique de flavonoïde	7
Figure I.5	Structures chimiques des alcaloïdes	7
Figure I.6	Les conditions optimales pour obtenir le meilleur des plants	9
Figure I.7	Plante de <i>Pimpinella anisum L</i>	10
Figure I.8	Plante et graines d'anis vert	11
Figure I.9	Composé majeur de l'huile essentielle de l'anis vert	14
Figure I.10	Quelques composés de l'huile essentielle de l'anis vert	15
Figure I.11	Les activités Biologiques de <i>Pimpinella anisum L</i>	15
Figure I.12	Plante de <i>Syzygium aromaticum L</i>	18
Figure I.13	Structure du Giroflier	19
Figure I.14	Fleur de giroflier	19
Figure I.15	Composé majeur de l'huile essentielle des clous de girofle	21
Figure I.16	Quelques composés de l'huile essentielle des clous de girofle	22
Figure I.17	Propriété biologique <i>Syzygium aromaticum L</i>	22

## CHAPITRE II

FIGURE	LE TITRE	Page
Figure II.1	Les grandes familles de plantes Aromatique	26
Figure II.2	Les structures de quelques monoterpènes existents dans les HEs	29
Figure II.3	Différentes structures des sesquiterpènes	30
Figure II.4	Différentes structures des dérivés du phénylpropane	30
Figure II.5	Montage d'extraction par hydrodistillation	32
Figure II.6	Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	33

<b>Figure II.7</b>	Montage de hydro diffusion	<b>34</b>
<b>Figure II.8</b>	Montage d'extraction par le CO2 supercritique	<b>34</b>
<b>Figure II.9</b>	Les différents types d'extraction par solvants volatils	<b>35</b>
<b>Figure II.10</b>	Schéma d'une hydro distillation et d'une extraction par solvant assistée par micro-ondes	<b>36</b>
<b>Figure II.11</b>	Les rôles des huiles essentielles	<b>37</b>
<b>Figure II.12</b>	Les utilisations des huiles essentielles	<b>41</b>

### **CHAPITRE III**

<b>FIGURE</b>	<b>LE TITRE</b>	<b>Page</b>
<b>Figure III.1</b>	Matériel végétal utilisé lors de l'expérience	<b>43</b>
<b>Figure III.2</b>	Matières végétales broyées	<b>43</b>
<b>Figure III.3</b>	Montage hydrodistillation	<b>45</b>
<b>Figure III.4</b>	Montage hydrodistillation par clevenge	<b>46</b>
<b>Figure III.5</b>	Une image agrandie séparation de Phases	<b>46</b>
<b>Figure III.6</b>	L'huile essentielle de clou de girofle	<b>46</b>
<b>Figure III.7</b>	Montage de l'évaporateur rotatif	<b>47</b>
<b>Figure III.8</b>	Les différentes étapes d'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation	<b>48</b>
<b>Figure III.9</b>	Réfractomètre	<b>51</b>
<b>Figure III.10</b>	Évaluation de PH	<b>52</b>
<b>Figure III.11</b>	CCM des HEs extraits de clou de girofle de trois extractions	<b>54</b>
<b>Figure III.12</b>	CCM d'HE extraits de clou de girofle	<b>55</b>
<b>Figure III.13</b>	CCM d'HE extraits de l'anis-vert	<b>55</b>
<b>Figure III.14</b>	CCM de comparaison entre l'huile essentielle extraite et l'huile commerciale de clou de girofle	<b>56</b>
<b>Figure III.15</b>	CCM de comparaison entre l'HE extraite et l'huile commerciale de l'anis-vert	<b>57</b>
<b>Figure III.16</b>	Processus de séparation par la chromatographie sur colonne	<b>58</b>
<b>Figure III.17</b>	CCM en phase normale des fractions de la chromatographie CC d'huile essentielle de l'anis-vert : (a)UV à $\lambda = 254$ nm, (b) après révélation dans l'iode	<b>60</b>
<b>Figure III.18</b>	Les fractions F1-F11	<b>61</b>
<b>Figure III.19</b>	Séparation de l'eugénol et l'acétate d'eugénol	<b>62</b>

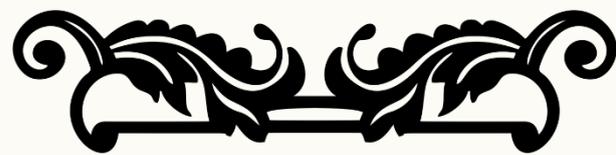
<b>Figure III.20</b>	Test PH de la phase aqueuse	<b>63</b>
<b>Figure III.21</b>	Eugénol	<b>63</b>
<b>Figure III.22</b>	Acétyleugénol	<b>63</b>
<b>Figure III.23</b>	CCM de vérification de la présence de l'eugénol et l'acétyleugénol	<b>64</b>
<b>Figure III.24</b>	Appareillage spectroscopie infrarouge	<b>65</b>

#### ***CHAPITRE IV***

<b>FIGURE</b>	<b>LE TITRE</b>	<b>Page</b>
<b>Figure IV.1</b>	Les différentes étapes d'extraction des HEs	<b>66</b>
<b>Figure IV.2</b>	Essences obtenues à partir des deux plantes	<b>67</b>
<b>Figure IV.3</b>	Représentation graphique des rendements en HE	<b>69</b>
<b>Figure IV.4</b>	Le produit majeur isolé à partir d'huile essentielle de l'anis-vert	<b>75</b>
<b>Figure IV.5</b>	Chromatogramme de la deuxième fraction	<b>76</b>
<b>Figure IV.6</b>	Regroupement de la fraction (20, 21, 22)	<b>79</b>
<b>Figure IV.7</b>	Les fractions des produits isolés d'HE de l'anis-vert	<b>82</b>
<b>Figure IV.8</b>	Les produits isolés à partir d'huiles essentielles de clou de girofle	<b>85</b>



*Abréviations*





## Abréviations



### A

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**AFNOR** : Agence Française de normalisation

**ACg** : Acétyleugénol

### C

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone

**CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>** : Dichlorométhane

**CCM** : Chromatographie Sur couche mince

**CC** : Chromatographie sur Colonne

**Com** : commercial

### D

**DL50** : Dose Létale Médiane

### E

**Eg** : Eugénol

### H

**HEs** : Huiles essentielles

**HCl** : Acide chlorhydrique

### I

**ISO** : Organisation Internationale de normalisation

**IRTF** : Infrarouge à Transformée de Fourier

**IgE** : Immunoglobulines E

### K

**K<sub>2</sub>O** : Oxyde de Potassium

**KOH** : Hydroxyde de potassium

### L

**λ** : Longueur d'onde.

### M

**MFC** : Concentration Fongicide Minimale.

**MgSO<sub>4</sub>** : Sulfate de Magnésium

**µm** : Micromètre

### N

**NCCAM** : Centre nationale de la Médecine Complémentaire et Alternative

### O

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**PAM** : Plantes aromatiques et médicinales

**PM** : Plantes Médicinales

**P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>** : Pentoxyde de Phosphore

**PH** : Potentiel d'hydrogène

**PA** : Principe Actif

### T

**TNO** : Territoires du Nord-Ouest

### U

**UV** : Ultra-violet.



# *Sommaire*





# Sommaire



Liste des tableaux & figures

Abréviations

Introduction générale ..... 1

## ***CHAPITRE I : Les plantes médicinales***

I.1. Introduction ..... 3

I.2. Généralités sur les plantes médicinales ..... 3

I.2.1. Définition ..... 3

I.2.2. Historique ..... 4

I.2.3. Eléments actifs des plantes médicinales ..... 4

I.2.3.1. Les phénols ..... 5

I.2.3.2. Huiles essentielles ..... 5

I.2.3.3. Les tanins ..... 6

I.2.3.4. Les flavonoïdes ..... 6

I.2.3.5. Les alcaloïdes ..... 7

I.2.4. Les conditions optimales pour obtenir le meilleur des plantes ..... 8

I.2.4.1. Récolte ..... 8

I.2.4.2. Séchage ..... 8

I.2.4.3. Conservation ..... 8

I.3. ANIS-VERT ..... 9

I.3.1. Introduction ..... 9

I.3.2. Définition ..... 10

I.3.3. Origine de nom ..... 10

I.3.4. Description botanique ..... 10

I.3.5. Production et culture ..... 11

I.3.5.1. Culture ..... 11

I.3.5.2. La production ..... 12

I.3.6. Classification ..... 13

I.3.7. Etude phytochimique de Pimpinella anisum L .....	13
I.3.8. Activités Biologiques de Pimpinella anisum L .....	15
I.3.8.1. Activité parasiticide et insecticide.....	16
I.3.8.2. Activité antifongique.....	16
I.3.8.3. Activité antibactérienne.....	16
I.3.8.4. Activité antiulcéreuse.....	16
I.3.8.5. Activité antioxydant .....	17
I.3.9. Toxicité de Pimpinella anisum L .....	17
I.4. CLOU DE GIROFLE.....	17
I.4.1. Introduction .....	17
I.4.2. Définition .....	18
I.4.3. Origine de nom .....	18
I.4.4. Description botanique .....	18
I.4.5. Culture et Production .....	19
I.4.5.1. Culture.....	19
I.4.5.2. La Production.....	20
I.4.6. Classification de giroflier .....	20
I.4.7. Etude phytochimique syzygium aromaticum L .....	21
I.4.8. Propriété biologique Syzygium aromaticum L .....	22
I.4.8.1. Antalgique .....	23
I.4.8.2. Anti-infectieuse majeure .....	23
I.4.8.3. Antifongique à large spectre .....	23
I.4.8.4. Anti-inflammatoire et anti-oxydante.....	23
I.4.8.5. Antispasmodique : Calmante et sédative. ....	23
I.4.9. Toxicité de Syzygium aromaticum L.....	23

## ***CHAPITRE II : Les huiles essentielles***

II.1. Introduction.....	25
II.2. Définition des huiles essentielles .....	25
II.3. Les grandes familles de plantes aromatiques.....	26
II.4. Répartition et localisation des huiles essentielles .....	26
II.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles .....	27
II.5.1. Propriétés physiques .....	27
II.5.2. Propriétés chimiques.....	28

II.6. Compositions chimiques des huiles essentielles.....	28
II.6.1. Les tetrpénoïdes .....	29
II.6.2. Les monoterpènes .....	29
II.6.3. Les sesquiterpènes .....	29
II.6.3.1. Le composé aromatique .....	30
II.6.3.2. Les composés d'origines diverses.....	30
II.7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	31
II.7.1. Distillation .....	31
II.7.1.1. L'hydrodistillation .....	32
II.7.1.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau .....	33
II.7.1.3. Hydrodifussion.....	33
II.7.2. Extraction au CO <sub>2</sub> supercritique .....	34
II.7.3. Extraction par les corps gras .....	35
II.7.4. Extraction par solvants Volatil .....	35
II.7.5. Extraction par micro-ondes.....	36
II.8. Rôle et fonction des huiles essentielles.....	31
II.9. Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles.....	31
II.10. Les critères de qualité des Huiles Essentielles.....	39
II.11. Paramètres influençant la composition quantitative et qualitative des HE.....	39
II.11.1. Facteurs intrinsèques.....	39
II.11.2. Facteurs extrinsèques .....	40
II.12. Conservation des HE.....	40
II.13. Toxicité des huiles essentielles .....	40
II.14. Utilisation des huiles essentielles .....	40

### ***CHAPITRE III : Matériels et Méthodes***

III.1. Cadre d'étude .....	44
III.2. Matériel végétal .....	44
III.3. Broyage.....	44
III.4. Extraction des huiles essentielles .....	44
III.4.1. Extraction solide- liquide.....	44
III.4.2. Extraction liquide-liquide .....	46
III.4.3. Conservation des huiles essentielles obtenues.....	49

III.5. Caractérisation des huiles essentielles .....	49
III.5.1. Caractérisation organoleptique .....	49
III.5.2. Caractérisation physicochimique .....	50
III.5.2.1. Rendement de l'extraction .....	50
III.5.2.2. La densité relative à 20°C .....	50
III.5.2.3. L'indice de réfraction .....	50
III.5.2.4. Détermination du PH .....	51
III.6. Analyse par chromatographie sur couche mince CCM .....	52
III.6.1. Définition .....	52
III.6.2. Principe .....	52
III.6.3. Réalisation d'une CCM .....	53
III.7. Séparation et purification par chromatographie sur colonne .....	57
III.7.1. Définition .....	57
III.7.2. Principe .....	57
III.7.3. Réalisation d'une CC .....	58
III.8. Séparation d'eugénol et acétate d'eugénol des HEs de clou de girofle .....	62
III.9. Méthode d'analyse spectrale .....	64
III.9.1. Spectroscopie infrarouge .....	64

## ***CHAPITRE VI : Résultats et Discussion***

IV.1. Introduction .....	64
IV.2. Extraction des huiles essentielles .....	66
IV.3. Etude des propriétés des huiles essentielles .....	67
IV.3.1. Propriétés organoleptiques des HE .....	67
IV.3.2. Rendement HE .....	69
IV.3.3. Les indices physico-chimiques .....	70
IV.4. Analyse par chromatographie sur couche mince .....	72
IV.5. Séparation des principaux constituants .....	75
IV.5.1. Séparation de l'anéthol d'huile essentielle de l'anis-vert .....	75
IV.5.1.1. Analyse par chromatographie sur couche mince .....	76
IV.5.1.2. Analyse par spectroscopie infrarouge IRTF .....	77
IV.5.2. Séparation de l'anis aldéhyde .....	79
IV.5.3. Les caractéristiques organoleptiques des autres fractions .....	81

IV.5.4. Séparation de l'eugénol et acétate d'eugénol d'HE de clou de girofle .....	84
IV.5.4.1. Analyse par chromatographie sur couche mince.....	87
IV.5.4.2. Identification par spectroscopie infrarouge IRTF .....	88
IV.6. Les applications pharmaceutiques.....	91
Conclusion Générale.....	94
Références bibliographiques.....	96
Annexes	
Résumé	



***Introduction  
générale***



### **Introduction générale**

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire. Des avantages économiques considérables dans le développement de cette médecine et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés. Par conséquent, la recherche des principes actifs potentiels de la plante est plus que jamais d'actualité. [1]

Depuis toujours, l'homme a eu recours aux plantes pour se maquiller, se parfumer, mais aussi pour se soigner sans connaître réellement les propriétés de ces plantes, ni avoir la moindre connaissance scientifique, même sommaire, expliquant leurs vertus. Ce n'est qu'au moyen âge que les huiles essentielles ont été réellement découvertes grâce aux premières distillations et plus tard, grâce aux progrès de la science et tout particulièrement à l'apparition de la chimie. Cette médecine traditionnelle ancestrale est le précurseur de la phytothérapie et de l'aromathérapie d'aujourd'hui. [2]

Les huiles essentielles sont des liquides concentrés en composés aromatiques (odorants), volatils. Leur utilisation est connue depuis l'antiquité par les anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Aujourd'hui, les huiles essentielles représentent l'un des principes actifs les plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications grasses à potentiel thérapeutique et de leurs constituants. Quel que soit le domaine d'utilisation des huiles essentielles (agroalimentaire, parfumerie, cosmétique, et industrie pharmaceutique), une parfaite connaissance de leurs propriétés est nécessaire pour en contrôler la qualité et y déceler une éventuelle spécificité en vue de leur valorisation. Donc seulement une connaissance détaillée de leurs caractéristiques et leurs constituants mènera à une utilisation appropriée. [3]

L'Algérie est riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, et agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont, donc, la source de produits à forte valeur ajoutée. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés vers l'étude des plantes médicinales et notre choix porté sur *Pimpinella anisum* L et *Syzygium aromaticum* L. Ces plantes sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement des troubles digestifs, les douleurs dentaires, les infections urinaires et cutanées, le taux, l'inflammation de la bouche et de la gorge, et de nombreuses autres maladies.



Le travail abordé dans ce manuscrit a pour objet de l'extraction et l'analyse physico-chimique des huiles essentielles des deux plantes investiguées ainsi que la séparation et la caractérisation de leurs principes actifs.

Ce manuscrit est organisé en deux parties

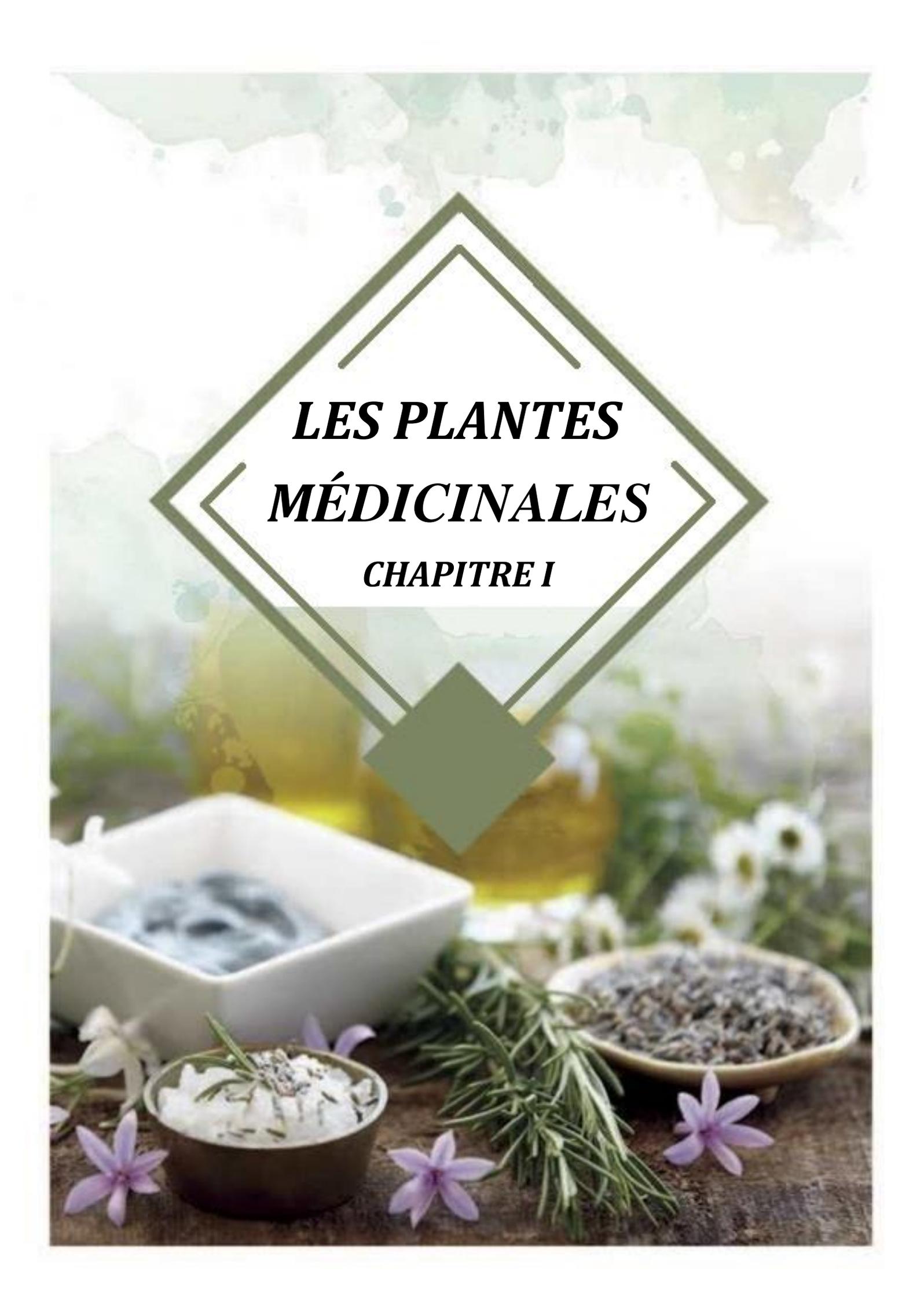
- ✚ La première partie propose une mise au point bibliographique divisée en deux chapitres. Le premier renferme une généralité sur les plantes médicinales et les deux plantes choisies. Le deuxième chapitre donne un aperçu général sur les huiles essentielles.
- ✚ La seconde partie englobe les travaux ultérieurs, réparties en deux chapitres. Dans le chapitre trois, nous avons décrit en détail les protocoles opératoires du procédé d'extraction et les méthodes de caractérisation. Les résultats obtenus lors de cette étude sont amplement discutés dans un quatrième chapitre.

Et en fin, Ce manuscrit est achevé par une conclusion générale.



*Synthèse bibliographique*





***LES PLANTES  
MÉDICINALES  
CHAPITRE I***

## **I.1.Introduction**

Depuis la nuit des temps, l'homme s'est toujours soigné par les plantes, de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes.

Les vertus thérapeutiques des plantes ont été expérimentées depuis lors et leurs précieuses Caractéristiques se sont transmises oralement de génération en génération ou consignés dans les vieux Écrits. Les remèdes de bonne réputation ont prévalu malgré le développement de la médecine moderne qui est venue marginaliser le recours aux techniques médicales naturelles En effet, les plantes demeurent la principale source de principes actifs, les huiles essentielles, isolées à partir de plantes, constituent l'un de ces principes actifs les plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications. Il existe plusieurs techniques d'extraction des HEs, dont le choix de la méthode reste limité par l'aspect qualitatif et quantitatif des huiles à extraire. [1]

Le premier chapitre renferme une synthèse bibliographique sous forme de deux grandes parties : Premièrement nous donnons un aperçu général sur les plantes médicinales. Ensuite nous présenterons les espèces végétales à étudiées ; définition origine de nom, description botanique, production et culture, classification, étude phytochimique, diverses activités biologiques, la toxicité, ainsi que leurs utilisations.

## **I.2. Généralités sur les plantes médicinales**

### **I.2.1. Définition**

Plusieurs définitions ont été données aux plantes aromatiques et médicinales (PAM) et la gamme de ces plantes s'avère très longue et élastique et peut concerner la plupart des plantes spontanées et de nombreuses espèces arboricoles et herbacées cultivées. D'après (Peyron, 2000), ces diverses plantes peuvent être, tour à tour ou ensemble, aromatiques, médicinales, cosmétiques ou de parfumerie. Les unes et les autres sont utilisées sous diverses formes : en l'état, transformées (déshydratées, surgelées), élaborées (extraits, huiles essentielles, oléorésines, isolats). Elles peuvent également se distinguer selon les organes récoltés.

Selon l'OMS, « **une plante médicinale** est une plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique héli-synthèse ». [2] Cette définition permet de distinguer entre les plantes médicinales déjà connues dont les



propriétés thérapeutiques ou comme un précurseur de certaines molécules ont été scientifiquement établis, et d'autres plantes utilisées en médecine traditionnelle.

### **I.2.2. Historique**

L'histoire de la médecine traditionnelle remonte aux plus anciennes civilisations (NCCAM). En effet, dès son origine, l'homme a cherché à calmer ses maux et à réduire ses souffrances. Pour cela, il a utilisé les produits immédiatement à sa portée. Le règne végétal lui fournissant en grande partie son alimentation fut son premier champ d'expériences. Peu à peu, il a appris à discerner les propriétés des plantes, leurs vertus, leur toxicité. Toutes les civilisations antiques : mésopotamienne, égyptienne, chinoise, indienne, précolombienne avaient une panoplie de remèdes végétaux. Ainsi, se constitua au fil du temps une pharmacopée traditionnelle. L'usage pratique fut la seule voie de connaissances acquises au cours des siècles, sans réelle approche théorique ni compréhension du mode d'action des plantes, constituant les données empiriques de la tradition.

- Moins 3.000 ans avant J.C. : Le premier recueil connu de formules végétales (décoctions, suspensions, et onguents) gravées en caractères cunéiformes sur des tablettes d'argile, découvert à Nippur en 1948, date de l'époque Sumérienne d'il y a quelque 5000 ans. Il recense jusqu'à 250 espèces de plantes.

- Moins 2.700 ans avant J.C. : Presque à la même époque, mais à plusieurs milliers de kilomètres de là en Chine, à l'époque légendaire des premiers grands empereurs, naissait le Pen-Tsao, fameux manuscrit dans lequel sont cités également de très nombreuses plantes, manuscrit qui fut remis en forme par Lee-Chee-Chen au 16ème siècle.

- Moins 2.000 ans avant J.C. : Découverte en 1973, dans les ruines d'Elba (près d'Alep en Syrie), de milliers de tablettes qui abondent en renseignements sur la médecine mésopotamienne et les échanges de ces thérapeutiques végétales avec les peuples voisins.

[2]

### **I.2.3. Eléments actifs des plantes médicinales**

Les effets curatifs de certaines plantes sont bien connus. Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme.

Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants biochimiques naturellement présents dans une plante, ils lui confèrent son activité thérapeutique. Les principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale et ils n'ont pas les mêmes propriétés. D'après Amlan et Patra, Plus de 200.000 structures de

métabolites secondaires ont été identifiées. Ces structures jouent un rôle important dans l'odorat et protection de plante contre les ravageurs et radiations ultra-violetes solaires Kamra et al. Ils ont aussi un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement. [3, 4]

### I.2.3.1. Les phénols

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement anti-inflammatoires et antioxydants et peuvent avoir des propriétés antivirales. [5]

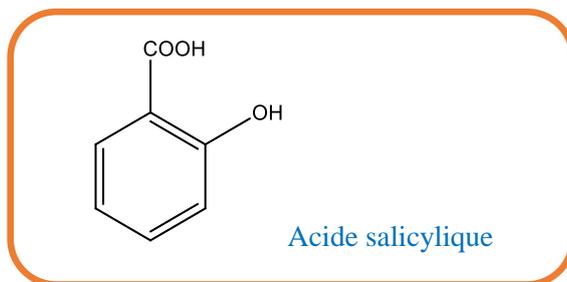


Figure I.1 : structure chimique de phénol

### I.2.3.2. Huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie. Les huiles essentielles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoïdes et possédant un noyau aromatique. Les huiles essentielles ont de multiples propriétés. Les huiles essentielles sont à différencier des huiles fixes ou des huiles obtenues par l'hydrolyse des glucosides. [5]

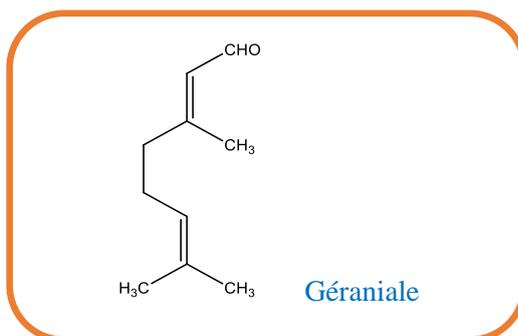


Figure I.2 : structure chimique des huiles essentielles

### I.2.3.3. Les tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure. [5]

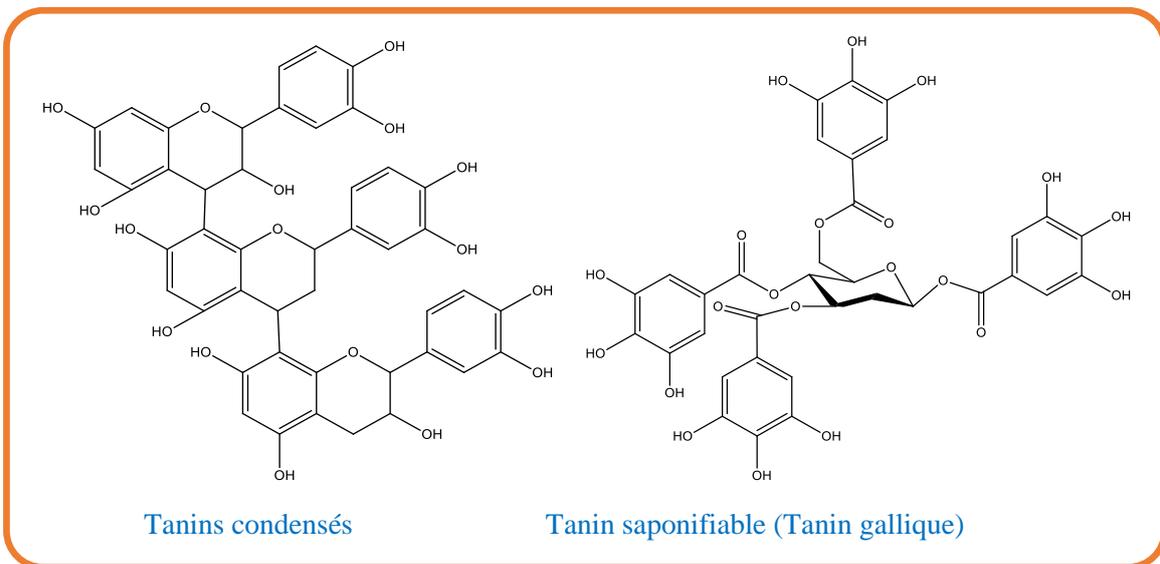
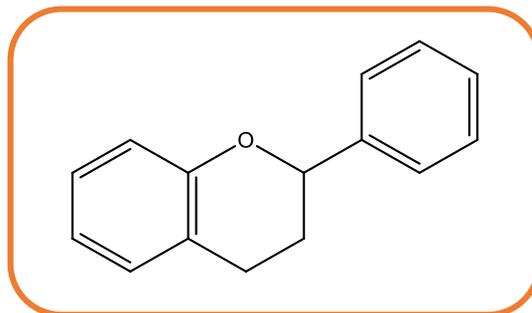


Figure I.3 : structure chimique de tanins

### I.2.3.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc ils sont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Les antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie. [5]



**Figure I.4 : structure chimique de flavonoïde**

### I.2.3.5. Les alcaloïdes

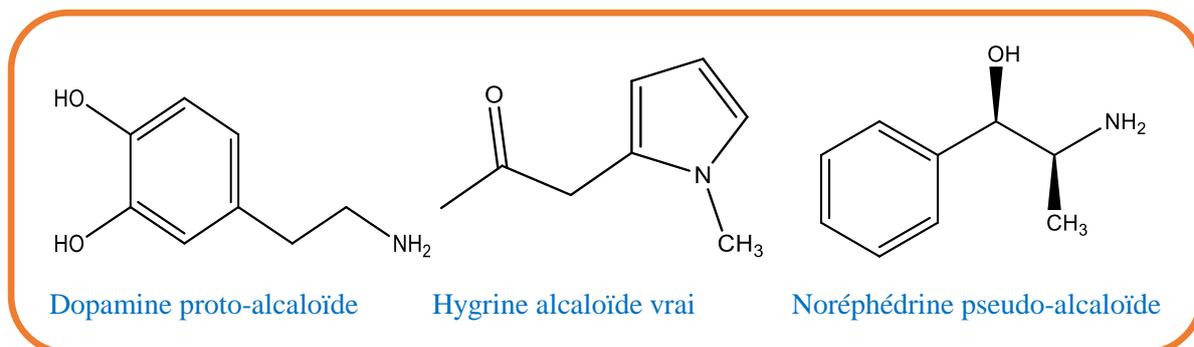
Les alcaloïdes sont des substances azotées, basiques, d'origine naturelle à structures complexes. Certains alcaloïdes dérivent soit des acides aminés (alcaloïdes vrais), soit des terpènes (alcaloïdes terpéniques ou proto-alcaloïdes).

D'autres sont des amines simples où l'atome d'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique (cas des pseudo-alcaloïdes).

- Alcaloïdes vrais : hygrine, cocaïne, lobéline.
- Pseudo-alcaloïdes : capsaïcine, noréphédrine, caféine.
- Proto- alcaloïdes : colchicine, adrénaline, dopamine. [6]

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés :

- ◆ Au niveau du système nerveux central comme antidépresseurs (morphine, scopolamine) ou stimulants (strychnine, caféine),
- ◆ Au niveau du système nerveux autonome : sympathomimétiques (éphédrine) ou sympatholytiques, parasymphatomimétiques, anti-cholinergiques et ganglioplégiques.
- ◆ On notera aussi l'existence de curarisants, d'anesthésiques locaux, d'anti-fibrillants, d'anti-tumoraux, et d'antipaludiques. [7]



**Figure I.5 : structures chimiques des alcaloïdes**

**I.2.4. Les conditions optimales pour obtenir le meilleur des plantes****I.2.4.1. Récolte**

Chaque partie de la plante concentre le maximum de principes actifs à une période précise de l'année, à laquelle il s'agit de faire la récolte. Le bon moment de cueillette peut varier selon l'altitude, particulièrement les périodes de floraison. [8]

**I.2.4.2. Séchage**

Le séchage, qui élimine la majeure partie de l'eau d'une plante, doit être commencé sitôt la récolte terminée et réalisé avec soin, Ne mélange pas l'espèce et les différents parties de la plante, commencez par faire sécher la plante quelques heures au soleil, avant de la mettre à l'abri dans un locale sec et bien aéré lavez et brossez avec soin les racines, puis coupez-les, encore fraîches, en morceau ou en tronçons de 1 cm environ. Brassez les plantes une fois par jour pour les aérer.

La durée de séchage varie de quelque jour à 15 jour, mais ne dépasser pas le cap des 3 semaines afin d'éviter tout dépôt de poussière sur les plantes. Ecorces et les racines sont les plus longue à sécher ; Le bon degré de séchage est atteint lorsque les feuilles et les fleurs sont rigides, mais non cassantes ou toucher. [8]

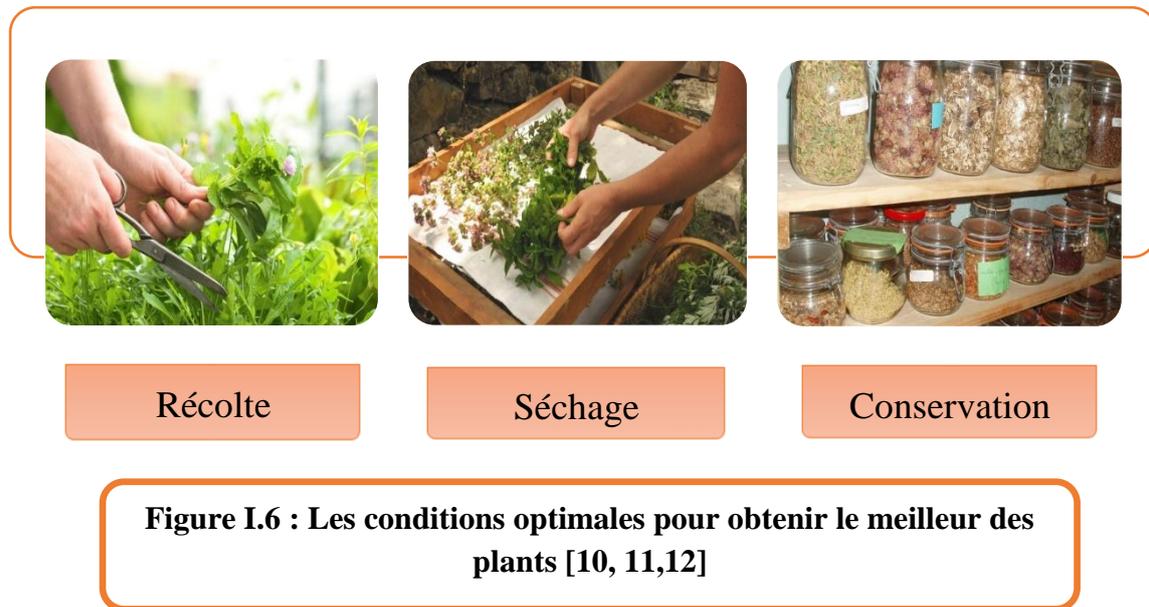
**I.2.4.3. Conservation**

Fragmentez en petits morceaux les plantes séchées, et mettre dans les boites hermétiques en fer blanc, des sacs en papier épais fermé dans une bande adhésive, ou par bouchon de liège..., et n'oubliez pas de marquer le nom et la date de récolteurs chaque contenant et on le mette dans un endroit sec à l'abri de la lumière. [8]

- **Durée de conservation**

Les plantes sèches pilées. Se conservent plus longtemps que celles qui ont été pilées fraîches.

Les médicaments pilés après séchage gardent leurs principes actifs au moins dix ans. Chaque fois que les médicaments sont exposés à l'air, ils perdent une partie de leur longévité, c'est-à-dire que chaque fois que vous ouvrez les flacons ou les boîtes, vous diminuez la force du médicament Les médicaments liquides se conservent difficilement par rapport aux médicaments en poudre. [9]



### I.3. ANIS –VERT

#### I.3.1. Introduction

L'anis vert est l'un des plus anciennes épices utilisées depuis l'antiquité, dont on trouve qu'il a été cité dans la bible et figurait dans les textes de Pythagore cette information donné par l'étude de Bardeau [13]. Cette plante a connu une large utilisation par de nombreuses civilisations dans le cadre des remèdes traditionnels dont on peut citer : les Egyptiens, les Perses et les Indous, ainsi que les Romains Avait dans utiliser le dessert pour faciliter la digestion selon la recherche de Garnier. [14]

L'origine de cette plante est mal connue, cependant pour l'étude de groupe de Delaveau [15], elle reste mystérieuse dont ils constataient que l'anis vert est apporté par les anciens d'Asie. D'autre part le scientifique Duquesne [16], Suggérait que ces graines viennent de Syrie et ne fait ressortir en Europe que vers le milieu de XVI é siècle où elles étaient utilisées pour aromatiser le pain. Par contre, pour l'étude de stray [17], l'anis serait originaire d'Afrique.

Selon la plupart des auteurs, l'anis vert est estimé en Afrique du nord, dans le bassin méditerranéen et en moyens orient (Egypte, Syrie) dont il pousse spontanément dans ces régions à partir la recherche de Bardeau [13], en suite il a été cultivé un peu par tous dans le monde. Bien que les avis des auteurs étaient différents sur l'origine d'anis vert,

cependant tous s'accordaient que cette plante est l'une des plus anciennes herbes médicinales du monde par l'étude de Stray et Lamendin. [17, 18]

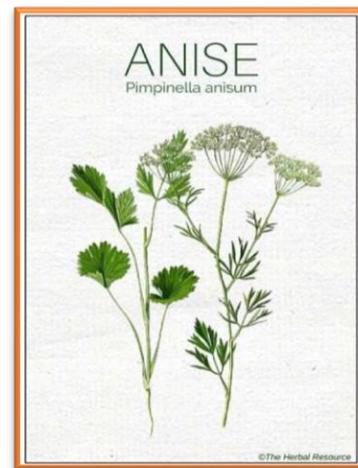
### I.3.2. Définition

L'anis vert est une plante aromatique herbacée annuelle cultivée dont on utilise le fruit velu, de 3 à 5 mm de long qui se présente sous forme de diakènes gris brun à stries claires d'odeur anisée. [19]

Le fruit est utilisé aussi bien comme condiment alimentaire, que comme remède en médecine traditionnelle. Il possède des propriétés antispasmodique, digestive, carminative, antiseptique... et entre dans la composition de produits cosmétiques et d'hygiène. [19, 20,21]

### I.3.3. Origine de nom [22]

- Nom commun* : Anis-vert
- Nom du fruit* : Anis –vert, Petit anis, anis d'Europe.
- Nom scientifique* : *Pimpinella anisum* L
- Origine* : Asie
- Synonymes* : *Anisumvulgare* GAERTN
- Ordre* : Apiales
- Famille* : Apiaceae (ombellifères)
- Genre* : *Pimpinella*
- Espèce* : *Pimpinella anisum* L



**Figure I.7 : Plante de *Pimpinella anisum* L [23]**

### I.3.4. Description botanique

L'anis vert est une plante annuelle qui pousse à l'état sauvage dans les pays natifs. Elle possède des racines fusiformes, peu ramifiées et blanchâtres ces informations sont les résultats de la recherche de Pierre et Lys, [24]. Les tiges sont grêles creuses et très ramifiées peuvent atteindre de 50 à 70 cm de hauteur. Les feuilles sont de couleur vert vif, celle de base sont larges de forme arrondie ou lobée tandis que les feuilles vers le sommet sont découpées en lanières ci la description de Polese [25]. En été, il apparaisse des fleurs blanchâtres disposées en ombelles, donnant des fruits qui sont représentés par des graines d'environ 0,5cm.

Elles sont ovales, pédiculées, allongées et de couleurs vertes –grisâtre c'est une information donner par Peter [22]. La graine possède des poils rudes à sa surface et porte 05 cotés filiformes à peine saillantes.

La confusion autour de cette plante est toujours présente vu la similarité à divers degrés de saveur entre les graines d'anis vert et les graines de fenouil (par fois appelé anis doux), l'aneth, le car vient le cumin (faux anis). Cependant le vrai anis est nommé scientifiquement *Pimpinella anisum* L, tandis que les autres épices citées auparavant appartiennent à la même famille : les Ombellifères mais à des espèces différentes cette informations a été donnée par les chercheurs Halent et al, Small. [26,27]

En effet, l'anis possède plusieurs noms communs qui varie d'un pays à un autre dont on distingué en ; Français : anis vert, Anglais : anis, Arabe : El-Yansoune, dialecte local : Habat El Halawa. Ainsi *Pimpinella anisum* L tire son nom du mot latin *Anisum* signifiant ce dernier une plante à odeur très agréable ces noms sont des résultats de la recherche de Couplan. [28]

Les fruits de cette plante sont des petites graines composées de : eau (9%), protéines (18%), polysaccharides (35%), lipides (15–20%), fibres brutes (15%), cendre (7%), ions essentiels (Potassium, calcium, phosphate et fer) d'huile essentielle qui représente entre 2,5 à 3,5% de poids total de la graine ces pourcentages donner par les chercheurs Bakhr, Charles. [29,30]



**Figure I.8 : plante et graines d'anis vert (Thézan et Klusiewicz, 2006)**

### 1.3.5. Production et culture

#### 1.3.5.1. Culture

L'anis est cultivé en Turquie, en Egypte, en Espagne, en Russie, en Italie, en Inde, en Grèce, en Afrique du Nord, en Argentine, à Malte, en Roumanie et en Syrie. L'anis est principalement exporté de Turquie, mais aussi d'Egypte et d'Espagne en particulier. D'un

point de vue industriel, les différences de qualité entre les graines d'anis d'origines différentes ne sont pas significatives et les spécifications ne doivent donc pas limiter l'épice à un pays d'origine spécifique. [32, 33,34]

Les graines de fruits mûrs germent relativement rapidement. Le temps de germination est de 14 jours. Seules les graines de la récolte de l'année précédente germent bien. Un stockage prolongé réduit rapidement la vigueur de la germination : les graines stockées pendant cinq ans ne germent plus. La plantation commence lorsque le sol des plates-bandes est réchauffé. La température optimale du sol pour la germination est de 18–21 ° C. Il est essentiel de préparer de bons lits de semences et de créer un bon contact entre la graine plantée et le sol car les graines sont petites et ont un faible pourcentage de germination (70%). La plantation est réalisée au printemps ou en automne selon les zones où elle est cultivée. Les graines avec un taux de semis de 20–25 kg / ha sont semées en rangées espacées de 20–30 cm, à une profondeur de 1 cm. La plante se développe lentement après la germination et pendant les quelques semaines suivantes, il est nécessaire de contrôler étroitement les mauvaises herbes. Il est recommandé d'appliquer des engrais à raison de 80 à 100 kg de  $K_2O$  et de 50 à 75 kg de  $P_2O_5$  par hectare. Les petites fleurs blanches fleurissent au milieu de l'été et la maturité des graines survient généralement un mois après la pollinisation, lorsque la teneur en huile des fruits secs est d'environ 2,5%. [35, 36, 37,38]

### **I.3.5.2. La production**

La récolte a lieu lorsque les fruits au centre de l'infructescence brunissent et que les tiges jaunissent. Elle est effectuée par fauchage si le désherbage a été fait, ou par arrachage dans le cas contraire.

La récolte est placée en petits paquets (javelles) qui seront manipulés avec précaution car les fruits tombent facilement, surtout au moment de la rodée matinale.

Les fruits mures et secs sont récupérés par battage des javelles.

Les graines d'anis sont récoltées entre fin juillet et début septembre, selon les zones de culture. [39]

## I.3.6. Classification

Classification classique	
Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Apiales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>
Genre	<i>Pimpinella</i>
Nom binominal	
<i>Pimpinella anisum</i> L., 1753	
Classification phylogénétique	
Ordre	<i>Apiales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>

Tableau I.1: Classification de l'anis-vert [22]

I.3.7. Etude phytochimique de *Pimpinella anisum* L

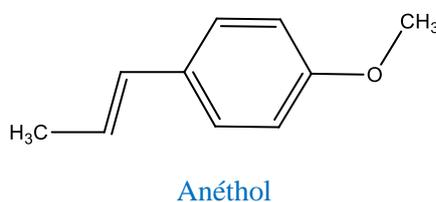
Les graines de l'anis vert ont été étudiées pour leur composition phytochimique, ainsi les résultats ont révélé à travers plusieurs études, la présence des principaux composés bioactifs : polyphénols, flavonoïdes et tanins. Cette composition phytochimique est décrite dans un article par Al Daihan et al, Shobha et al, Christova-bagdassarian et al. [40,41, 42] De plus, par l'étude de Bruneton [23], qui détaillé la composition phytochimique des grains de l'anis-vert ; les graines de *Pimpinella anisum* L sont constituées majoritairement de :

- ✓ Polysaccharides, flavonoïdes, hétérosides de flavones.
- ✓ Lipides (15-29%).
- ✓ Acides phénols.
- ✓ Furcoumarines et hydroxycoumarines.
- ✓ Glucosides de l'acide 4-Hydroxybenzoïque.
- ✓ Huile fixe (25-30%).
- ✓ Huile essentielle (1,5-6%) constituée majoritairement de Trans anéthol.

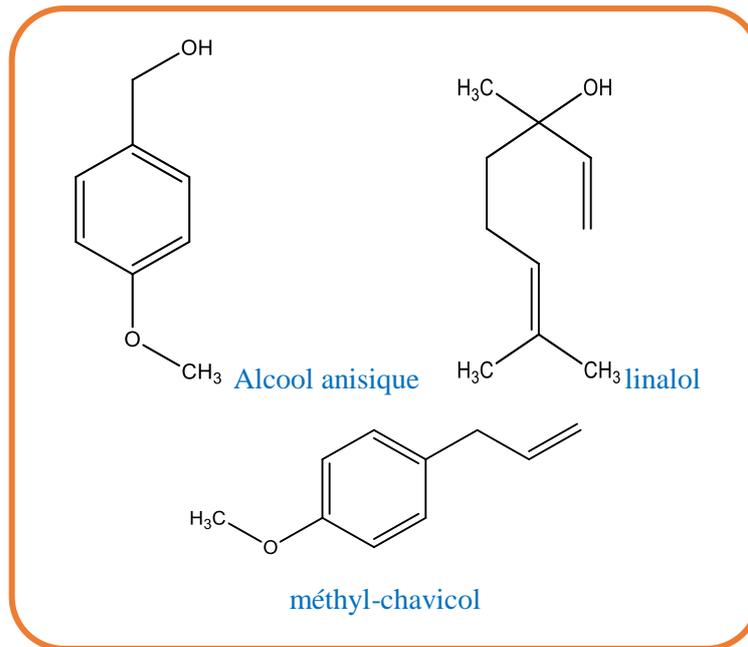
Une étude sur la composition des graines entières d'anis vert a représenté que le composé majoritaire le Trans anéthol est présent à un pourcentage de 57,4% dans les graines et à 75,2% dans l'huile essentielle c'est l'étude d'Embong et al [43]. Ainsi, L'huile essentielle de *Pimpinella anisum L* est composée de divers constituants qui sont mentionnés dans le tableau :

	Composé	Pourcentage (%)
Hydrocarbures terpéniques	Alcool anisique	0,2 – 0,4
	$\beta$ – bisabolène	1,3
	$\alpha$ – zingibérène	1,5
	$\gamma$ – hémachalène	9,9
	$\beta$ - caryophyllène	8 – 23,7
Phénols	Méthyl- chavicol (estragol)	0,1 – 5
	(Z) – anéthol	0,2 – 1,1
	(E) – anéthol	75,2 – 96,1
Alcools	Linalol	0 – 2,2
	Alcool anisique	0,2 – 0,4
Aldéhyde	Anis aldéhyde	0,5 – 2,5
Ester	Phényle	1- 14

**Tableau I.2 : Composition chimique de l'huile essentielle des graines d'anis vert (TNO, 1996)**



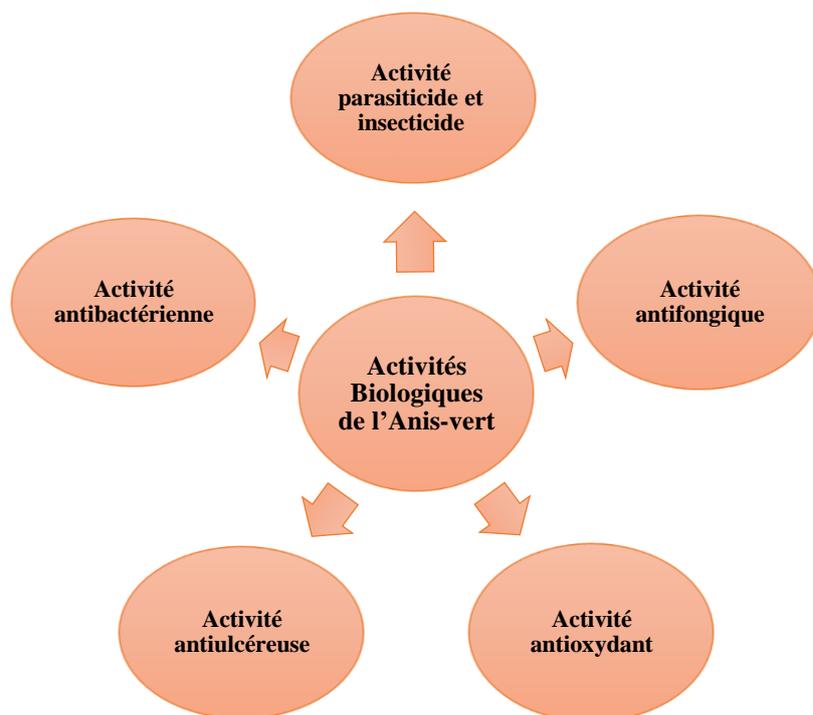
**Figure I.9 : Composé majeur de l'huile essentielle de l'anis-vert**



**Figure I.10 : Quelques composés de l'huile essentielle de l'anis-vert**

**I.3.8. Activités Biologiques de *Pimpinella anisum L***

L'huile essentielle des graines d'anis vert possèdent des activités qui ont été étudiées par de nombreux chercheurs *in vitro* et *in vivo* ; dont on distingue :



**Figure. I.11 : Les activités Biologiques de *Pimpinella anisum L***

#### I.3.8.1. Activité parasiticide et insecticide

Les composés actifs de l'HE des graines d'anis vert tel que : l'anéthol, anis aldéhyde e tmyristicin possède une légère activité contre les insectes, les parasites et les acariens dont les anciens avaient l'utilisé comme un traitement pour lutter contre la gale et les poux cette activité renvoyé par le chercheur Peter [22]. Cependant l'HE de *Pimpinella anisum L* semble avoir une activité larvicide et ovicide dont elle a montré une toxicité au 4 émet stade de développement de *Aedesstephensi* et *Aedesaegypti* avec une DL 50 de 115 µg / ml. En outre elle possédait une forte activité nématicide contre *M. incognita*. C'est la recherche de Ntallin et al. [44]

#### I.3.8.2. Activité antifongique

L'HE des graines d'anis vert possède une activité antifongique importante dont elle est considérée comme un puissant inhibiteur contre *Penicillium sp* et *Aspergillus sp* avec une CMI de 40 µl / ml et contre *P. chysogenum* à 60 µl / ml. Cependant le principal constituant de cette huile qui est l'anéthol semble être efficace contre les levures particulièrement contre *Saccharomyces cerevisiae* avec une MFC de 200µg / l.ces information donner par les chercheurs Kosalec et al, Nollet et Toldrã. [45,46]

#### I.3.8.3. Activité antibactérienne

Il a été affiché que l'HE d'anis est active contre plusieurs bactéries, l'étude Freidman et al. [47], dont elle inhibe la croissance de nombreuses espèces y compris *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cette recherche est effectuée par ; Singh et al, Robles-Zepeda et al. [48,49]

#### I.3.8.4. Activité antiulcéreuse

La suspension aqueuse des graines d'anis vert possède une activité cytoprotective et antiulcéreuse contre l'ulcère gastrique provoqué expérimentalement chez les rats, ainsi Al-Mofleh et al. [50], ont montrés que cette suspension réduit significativement la sécrétion gastrique et l'acidité, de plus elle inhibe complètement les ulcérations chez les rats. Cet effet est produit probablement par la médiation des prostaglandines due à l'HE d'anis vert.

**I.3.8.5. Activité antioxydant**

Certaines études établies suggèrent que l'HE d'anis vert peut agir comme un antioxydant, c'est l'étude de Faraget et EL KHawas, GulÇin et al, [51,52]. Ainsi que les études d'Al-Mofleh et al, [50], sur l'ulcère gastrique chez le rat étaient suivis par celle Topal et al, de qui ont conclu que l'effet anti ulcéreux d'HE d'anis était probablement dû à ses propriétés antioxydants. [53]

**I.3.9. Toxicité de *Pimpinella anisum* L**

Aux doses usuelles, l'utilisation des fruits des fruits d'anis en quantité d'épics ne présente, à notre connaissance, aucun risque de toxicité ni aiguë, ni chronique. Au même titre que le fenouil consommé à fortes doses, il faut prendre en considération l'activité œstrogénique liée à sa teneur en anéthole. Le potentiel de sensibilisation est faible et se manifeste occasionnellement par l'apparition de réactions allergiques au niveau cutané, respiratoire et gastro-intestinal. Les anticorps de type IgE présentent des réactions croisées avec des allergènes provenant d'autres apiacées (fenouil, coriandre, cumin). Il s'agit probablement d'une protéine voisine des allergènes de pollens de bouleau, telle la profiline. [39]

**I.4. CLOU DE GIROFLE****I.4.1. Introduction**

Les plantes sont des organismes à la base de la chaîne alimentaire. Elles forment l'un des règnes des eucaryotes. Elles sont, classiquement, avec les algues (y compris les cyanobactéries) et les champignons, l'objet d'étude de la botanique. [54]

Le nombre d'espèces de plantes est difficile à déterminer, mais en 2010, il existerait entre 300 000 et 330 000 espèces décrites, dont la grande majorité, entre 260 000 et 290 000, seraient spermatophytes. [55]

L'épopée indienne du Ramayana, d'écrit le giroflier comme un arbre apparu 200 ans avant JusieChrust utilisaient comme une épice. Les Chinois utilisaient déjà les clous de girofle sous la dynastie Han 206 ans avant JusieChrust. En les mâchant pour avoir meilleure haleine, vainsi que pour ses vertus médicinales et culinaires. Les Grecs et des Romains utilisaient les clous de Girofles à l'Ier siècle. Une récente découverte archéologique suggère que le commerce du girofle avec l'occident pourrait en fait avoir commencé bien plus tôt. En effet, on a trouvé un clou de girofle parmi des restes calcinés

sur le sol d'une cuisine incendiée du site mésopotamien de Terqa dans l'actuelle Syrie, daté de 1700 avant JusieChrust. [56]

#### I.4.2. Définition

Le girofle ou giroflier est un arbre originaire des Iles Moluques dans l'archipel indonésien. Les clous sont en fait des boutons de fleurs. De couleur verte puis rouge une fois mûrs, les clous se parent de leur jolie couleur brune lors de la phase de séchage, qui se déroule à l'air libre pendant un mois. [57]

#### I.4.3. Origine de nom [58]

-*Nom commun* : Giroflier.

-*Nom du fruit* : Clou de girofle.

-*Nom scientifique* : *Syzygium aromaticum* (L).

-*Origine* : Indonésie. Madagascar

-*Synonymes* : *Caryophyllus aromatic* *Caryophyllu shornsis* *Noronha*. *Caryophyllus silvestri*. *Eugenia caryophyllata* *Thunb*. *Eugenia caryophyllus* (*Spreng*). *Jambosa caryophyllus* (*Thunb*). *Myrtus caryophyllus* *Spreng*.

-*Ordre* : Myrtales.

-*Famille* : Myrtaceae - Myrtacées

-*Sous-famille*: Myrtoideae

-*Genre* : *Syzygium* Gaertn. 6 espèces (s) dans le genre *Syzygium*

-*Espèce*: *Syzygium aromaticum*.



**Figure. I.12 : plante de *Syzygium aromaticum* L [59]**

#### I.4.4. Description botanique

Le giroflier est un grand arbre au tronc gris clair de 12 à 15 mètres de hauteur pouvant atteindre jusqu'à 20 mètres de haut. Il présente un port érigé et pyramidal. [60]

Son feuillage est aromatique, coriace, persistant vert sombre et vernissé au revers plus clair. Ses feuilles sont opposées, entières, elliptiques, d'environ 10-12 cm à nervure médian marquée et parsemées de glandes sur le revers.

Les fleurs sont disposées en cymes terminales de 25 fleurs environ, formant 3 fourches. Elle se présente sous la forme d'un long pédoncule, petite fleur à l'extrémité des rameaux, à 4 pétales (blanc-rosé) pompon Duveteux d'étamines blanches saillantes, les fleurs à 4 pétales blanc rosé sont caractérisées par leurs sépales rouges persistants.



**Figure I.13 : Structure du Giroflier [60]**



**Figure I.14 : Fleur de Giroflier [60]**

Ce sont les boutons floraux cueillis avant épanouissement que l'on appelle les clous de girofle et l'huile essentielle qui est utilisée pour leurs vertus thérapeutiques ; Les fruits du giroflier sont des baies pourpres comestibles. [61]

La récolte des clous de girofle se fait au moment où ils contiennent le plus d'essence (Lorsqu'ils sont roses et les pétales pas encore ouverts). Ces clous sont récoltés, après 6 à 8 ans de culture de l'arbre, 2 fois par an. Ce sont des boutons auxquels on ôte le pédicelle manuellement et que l'on met sécher au soleil jusqu'à ce qu'ils deviennent brun rouge. Boutons floraux appelés « clous ». Les racines, les rameaux, les feuilles, les fleurs et les fruits contiennent tous une HE dont la composition diffère. Par exemple l'HE des feuilles contient seulement 2 à 3 % d'eugénol. L'huile essentielle de girofle provient de la distillation des boutons de giroflier traités à la vapeur. [62]

#### **I.4.5. Culture et Production**

##### **I.4.5.1. Culture**

Le giroflier est surtout cultivé pour ses "clous" qui servent d'aromates dans l'alimentation d'un grand nombre de pays. On cultive également le giroflier pour ses feuilles dont on extrait une essence très riche en eugénol. Accessoirement, on utilise les fruits de giroflier ou antofles pour la confiserie.

L'eugénol sert à fabriquer la vanilline artificielle. Les essences de clous, de griffes, défeuilles, de branches et d'antofles servent également en pharmacie pour la préparation de divers médicaments, en parfumerie, en savonnerie, pour la préparation de pâtes dentifrices pour la préparation de certaines peintures et vernis, en chirurgie (propriétés bactéricides et anesthésiant), en droguerie. [63]

#### I.4.5.2. La Production

Les fleurs sont cueillies avant la chute de leur corolle, dès que les boutons d'abord blanchâtres puis verts prennent une teinte légèrement rouge et sont encore fermés. Elles sont prélevées soit battant les branches du giroflier à l'aide d'une gaule (tige de bambou), de manière à faire tomber à terre les boutons, soit en les cueillant manuellement. Les pédicelles floraux et les restes de calice sont ensuite éliminés manuellement ou à l'aide de machines. Les boutons (égriffés) sont alors séchés au soleil, étalés sur des nattes ou sur un sol en ciment, voire plus rarement placés dans des fours à feu doux, jusqu'à ce qu'ils prennent leur teinte rouge-brun caractéristique.

Il faut compter environ 10 000 (clou) secs par Kg. Les récoltes ont lieu habituellement deux fois l'an, de juillet à octobre puis en décembre. [39]

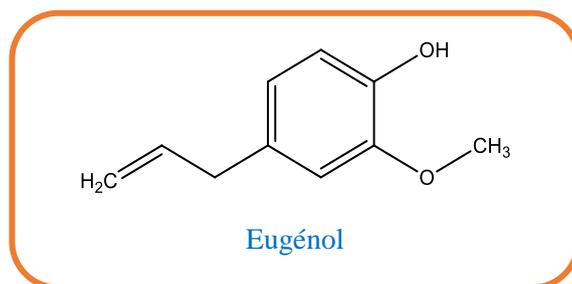
#### I.4.6. Classification de giroflier

Classification classique	
<b>Régne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous-régne</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Rosidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Myrtales</i>
<b>Famille</b>	<i>Myrtaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Syzygium</i>
Nom binominal	
<i>Syzygium aromaticum</i> (L.)	
Classification phylogénétique	
<b>Clade</b>	<i>Angiospermes</i>
<b>Clade</b>	<i>Dicotylédones vraies</i>
<b>Clade</b>	<i>Rosidées</i>
<b>Ordre</b>	<i>Myrtales</i>
<b>Famille</b>	<i>Myrtaceae</i>

**Tableau I.3 : Classification de clou de girofle [64]**

### I.4.7. Etude phytochimique *Syzygium aromaticum* L

Le clou de girofle renferme une quantité importante d'huile essentielle 15 à 20%, 16% d'huile, des tanins, un peu d'amidon et des matières fibreuses cellulosiques. Le pédoncule floral (griffes) renferme 5 à 6% d'huile, dans les feuilles la quantité d'huile est de 3 à 4%. L'huile de girofle est très riche en eugénol de 70 à 85%. On trouve aussi d'autres composés terpéniques (dont environ 10 % caryophyllène), aliphatiques, aromatiques et hétérocycliques. [65]

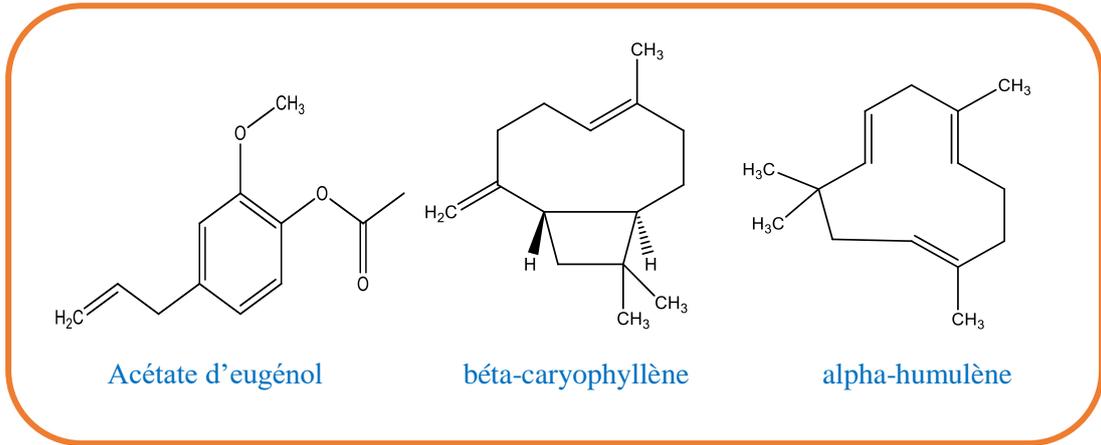


**Figure I.15 : Composé majeur de l'huile essentielle des clous de girofle**

D'après la pharmacopée européenne 3<sup>e</sup> édition, l'huile essentielle des clous de girofle contient de 75 à 88 % d'eugénol, de 5 à 14 % de  $\beta$ -caryophyllène, et de 4 à 15 % d'acétate d'eugényle. [66]

Constituants	Pourcentages %
Eugénol	91,2
$\beta$ -caryophyllène	4,1
$\alpha$ -humulène	0,6
Eugényl acétate	2,9
$\beta$ -caryophyllène époxyde	0,5

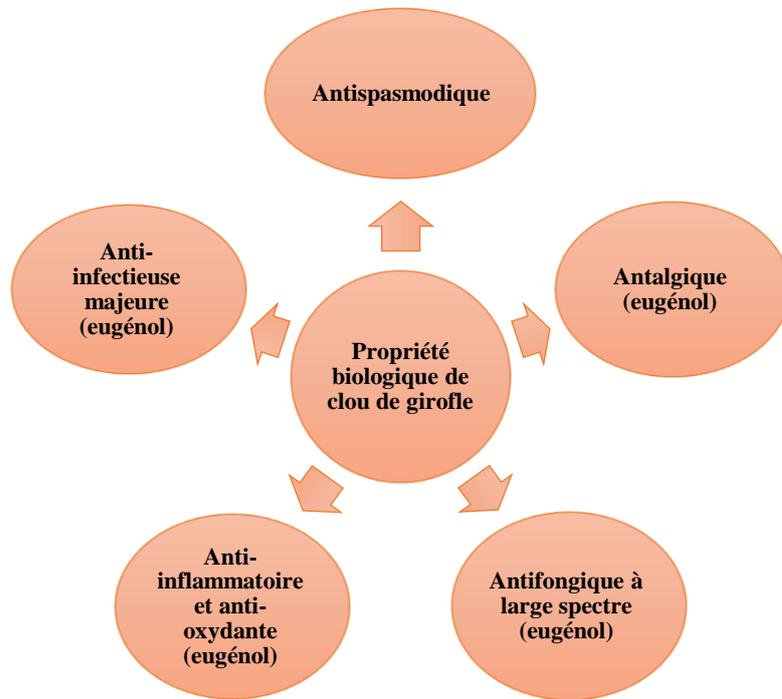
**Tableau I.4 : Composition chimique de l'huile essentielle des clous de girofle [67]**



**Figure I.16 : Quelques composés de l'huile essentielle des clous de girofle**

**I.4.8. Propriété biologique *Syzygium aromaticum* L**

Le clou de girofle possède des propriétés qui sont dues essentiellement à l'eugénol qu'il est rapidement métabolisé et excrété, et considéré comme non cancérigène. Il peut être présent dans les aliments jusqu'à une concentration de 1500 ppm. [65]



**Figure I.17 : Propriétés biologique *Syzygium aromaticum* L**

**I.4.8.1. Antalgique**

L'huile essentielle de Clou de Girofle contient de l'eugénol Cette molécule est plus puissante que la lidocaïne, un anesthésique local agissant sur la transmission des informations nerveuses. Autrement dit, l'eugénol bloque la transmission de la douleur. L'huile essentielle est notamment efficace contre les douleurs dentaires. [68]

**I.4.8.2. Anti-infectieuse majeure**

L'huile essentielle de Clou de Girofle est très efficace en cas d'infections intestinales, urinaires ou respiratoires. L'eugénol a une action bactéricide rapide. Il est notamment actif sur la flore buccale. Il détruit les germes suivants : Staphylococcus aureus, Pyogenes aureus, Klebsiella pneumoniae, Lactobacillus acidophilus odontolyticus, Escherichia coli, Monilia albicans. [68]

**I.4.8.3. Antifongique à large spectre**

L'huile essentielle de Clou de Girofle détruit les champignons à l'origine de certaines mycoses. L'huile essentielle de Clou de Girofle est active contre : Cryptococcus neoformans, Dermatophytes sp, Microsporum canis, Microsporum gypseum, Trichophyton mantagrophytes, Trichophyton rubrum. [68]

**I.4.8.4. Anti-inflammatoire et antioxydante**

L'huile essentielle de Clou de Girofle inhibe les molécules impliquées dans le processus inflammatoire déclenché par l'organisme en réaction à une agression subie. Cela permet d'éviter l'apparition de rougeurs et la sensation de chaleur qui en découle. [68]

**I.4.8.5. Antispasmodique : Calmante et sédative. [68]****I.4.9. Toxicité de Syzygium aromaticum L**

L'usage abusif du clou de girofle peut devenir toxique. De grandes quantités doivent être évitées pendant la grossesse. Le clou de girofle peut être irritant pour les voies gastro-intestinales et devrait être évité chez des personnes ayant des ulcères gastriques, des colites ou le syndrome du côlon irritable. Dans les surdoses, les clous de girofle peuvent causer des nausées, des vomissements, des diarrhées et de fortes hémorragies digestives. La sur-utilisation peut conduire à une insuffisance rénale, des modifications de la fonction hépatique, une dyspnée, une perte de conscience, des hallucinations et même la mort. L'huile de clou de girofle, riche en eugénol qui peut irriter la peau et les muqueuses. En usage externe elle est potentiellement démo-caustique. Par voie interne, est un toxique



neurologique à très forte dose. Cette huile est contre-indiquée chez les femmes enceintes, qui allaitent, les enfants, en cas d'eczémas et de fragilité cutanée. Son emploi dépend de la dose ; 100g de clous de girofle en une fois est mentionné toxique. [69]

La toxicité des HE varient selon leur composition qui, elle-même, varie selon la plante source qui elle-même peut varier selon le terrain ou elle est cultivée. [70] L'eugénol est reconnu sans danger pour l'alimentation irritant par voie locale et sur les muqueuses (HE à phénol) il est suspecté d'être un possible cancérigène. En effet, dans certaines conditions, on peut noter une déméthylation de l'eugénol conduisant à l'hydroxy chavicole, suspecté d'entraîner des dommages sur l'ADN. [71]

À toxicité initiale, modérée, des eugénates sont surtout due à l'eugénol. Elle diminue et disparaît avec le temps. Il reste, en effet, selon les auteurs, toujours un tiers ou 5% d'eugénol. Libre après la prise, donc des fonctions phénol. [72]



***LES HUILES  
ESSENTIELLES  
CHAPITRE II***



## II.1. Introduction

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes.

La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes, il plongeait, dans un même récipient rempli d'eau, des plantes odorantes et des pierres brûlantes. La vapeur dégagée entraînait les molécules volatiles, puis le tout était recueilli à l'aide d'une peau d'animal dont l'essorage donnait quelques gouttes d'huile essentielle.

De nos jours, 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. [1]

## II.2. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles, appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Les sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal : elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air. [2]

### ➤ Selon la Commission de la Pharmacopée européenne (2008)

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ». [3]

### ➤ Selon la Commission de la Pharmacopée européenne (2008)

« Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de citrus, soit par distillation sèche.

L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition... ». [3]

➤ Selon AFNOR ISO 9235 : Matières premières aromatiques d'origine naturelle  
 « Produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche ».

[4]

### II.3. Les grandes familles de plantes aromatiques

<p><b>Les Lamiacées</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• thym, lavande, sauge, menthe, romarin, origan, marjolaine, sarriette.</li> </ul>	<p><b>Les Myrtacées</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• eucalyptus, giroflier..</li> </ul>	<p><b>Les Rutacées</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• citron, orange, bergamote.</li> </ul>	<p><b>Les Cupressacées</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• cyprès, genévrier.</li> </ul>	<p><b>Les Pinacées</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• sapin, pin, cèdre.</li> </ul>	<p><b>Les Apiécées</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• coriandre, fenouil, anis, carvi.</li> </ul>
<p><b>Les Astéracées</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• camomille romaine, matricaire, armoise, estragon, hélichryse, absinthe.</li> </ul>	<p><b>Les Lauracées</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• laurier noble, cannelle de Ceylan, bois de rose, camphrier, ravintsara.</li> </ul>	<p><b>Les Géraniacées</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• géranium bourbon et géranium rosat.</li> </ul>	<p><b>Les Myrtacées</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• eucalyptus, giroflier, myrte, niaouli, melaleuca (teatree) .</li> </ul>	<p><b>Plus rarement</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• les Placées (citronnelle de Java, palmarosa, lemon-grass), les Éricacées (gaulthérie), les Annonacées (ylang-ylang), Zingibéracées (gingembre).</li> </ul>	

Figure II.1 : Les grandes familles de plantes Aromatique [5,6]

### II.4. Répartition et localisation des huiles essentielles

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

- les feuilles : eucalyptus, citronnelle, laurier noble...
- les fleurs : camomille, lavande...
- les zestes : citron, orange, bergamote...



- le bois : bois de rose, santal...
- l'écorce : cannelle...
- la racine : vétiver...
- les fruits : anis, badiane...
- les rhizomes : curcuma, gingembre...
- les graines : muscade... [3]

## **II.5. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles**

### **II.5.1. Propriétés physiques**

- **Densité**

La densité d'une HE constitue un critère très important pour évaluer la qualité d'une HE dans différents domaines de la vie (cosmétique, pharmaceutique, agroalimentaire, chimique, etc...). Elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité du produit ainsi que les tentatives de fraudes et d'adultération.

La densité (la masse volumique) est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un HE par unité de volume. [7]

- **Le pH**

Le potentiel d'hydrogène (pH) est un nombre qui représente conventionnellement la concentration en ions hydrogène d'une solution aqueuse (le pH mesure l'activité des ions hydrogènes H<sup>+</sup> en solution).

Le pH est une des variables utilisées pour caractériser les propriétés des milieux. Le pH est utilisé dans de nombreux domaines comme variable opératoire, caractérisation du produit fini ou encore à des fins de contrôle de qualité. De nombreuses études se sont attachées à corrélérer sa valeur à des lois cinétiques de réactions, des qualités organoleptiques de produits ou encore des activités enzymatiques. [8]

- **L'indice de réfraction**

L'indice de réfraction est une caractéristique physique souvent utilisée dans les analyses des produits industriels ou naturels afin de vérifier la pureté. [9]



### II.5.2. Propriétés chimiques

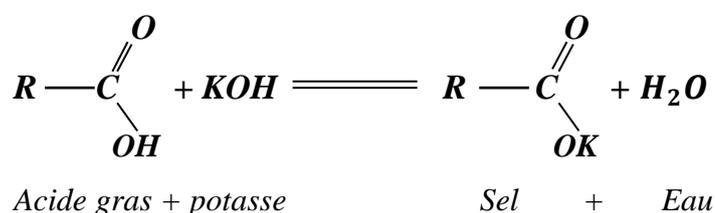
- **L'indice d'acide**

C'est une analyse qui détermine le degré d'altération de l'huile végétale. Au cours du temps les triglycérides qui constituent l'huile s'hydrolysent lentement pour donner le glycérol et

Les acides gras correspondants de ce fait un corps gras contient toujours plus ou moins une grande quantité d'acide libre.

Pour chiffrer cette teneur on utilise l'indice d'acide : c'est la masse d'hydroxyde de potassium (KOH) exprimée en mg nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans 1 g de matière grasse. [10]

✧ L'équation de la réaction est la suivante :



- **L'indice d'ester**

Il s'agit du nombre de milligrammes de KOH nécessaires à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse en milieu basique (saponification) des esters contenus dans 1g d'HE. La potasse réagit sur les esters selon une réaction dite de saponification : [11]



### II.6. Compositions chimiques des huiles essentielles

La composition d'une huile essentielle (HE) est souvent très complexe. D'une façon générale, les constituants appartiennent principalement à deux types chimiques. D'un côté, on retrouve les composés terpéniques (hydrocarbures) : ce sont les molécules les plus fréquemment rencontrés dans les HE. Exemples : alcools, esters, aldéhydes, cétones, éthers, oxydes mono- et sesquiterpéniques.

L'autre groupe correspond aux composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Exemples : Acide et aldéhyde cinnamiques, eugénol, anéthol.

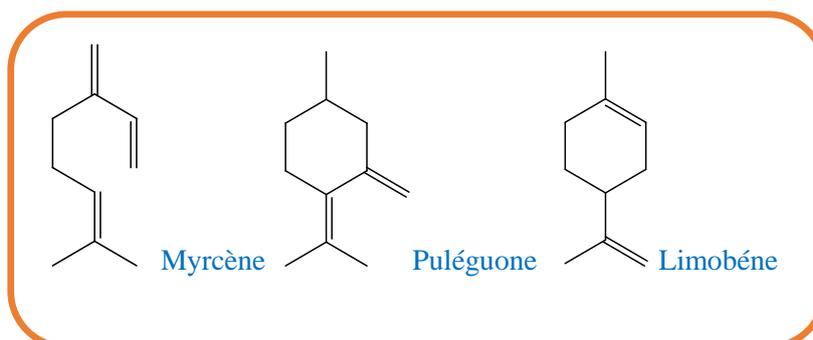
### II.6.1. Les tetrpénoïdes

Dans le règne végétal, les tetrpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites Secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes. [12]

Dans le cas des huiles essentielles, seuls sont rencontrés les terpénoïdes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, principalement les monos et sesquiterpénoïdes. [13]

### II.6.2. Les monoterpènes

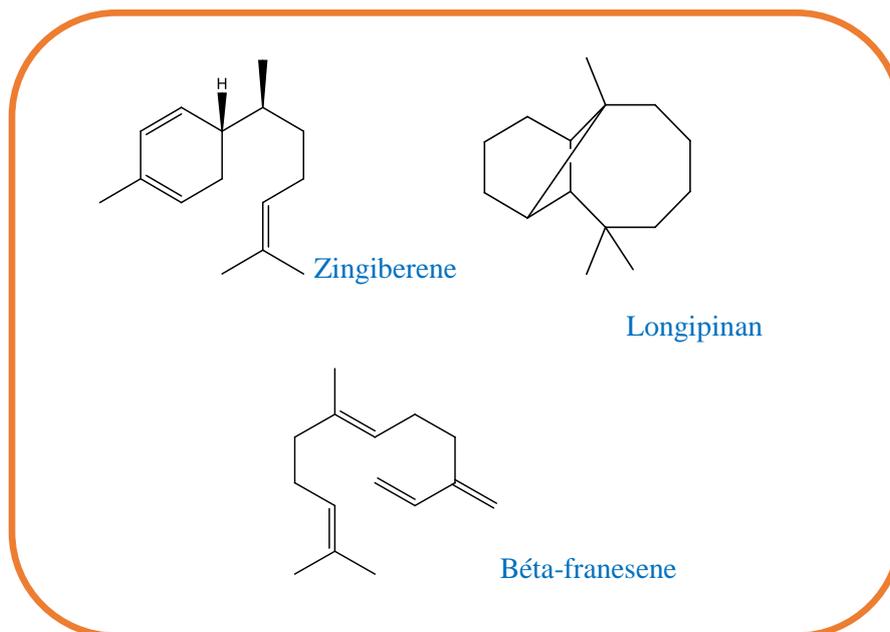
Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales. [14]



**Figure II.2. : Les structures de quelques monoterpènes existent dans les HEs**

### II.6.3. Les sesquiterpènes

Ils contiennent trois unités de l'isoprène. Ils sont trouvés dans beaucoup de systèmes vivants mais en particulier dans les plus hautes plantes. Près de 200 squelettes sont connus constituant un groupe d'environ 1000 composés. [15]

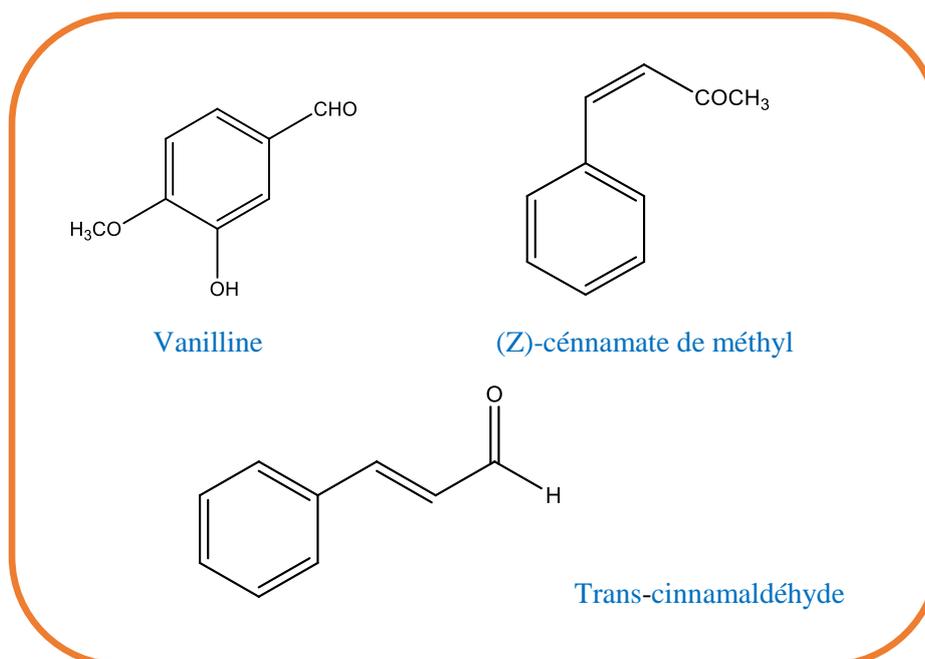


**Figure II.3 : Différentes structures des sesquiterpènes**

### II.6.3.1. Le composé aromatique

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragole et bien d'autres.

Outre les terpénoïdes et les composés aromatiques, les huiles essentielles sont également constituées de nombreuses molécules d'origines diverses. [13]



**Figure II.4 : Différentes structures des dérivés du phénylpropane**



### II.6.3.2. Les composés d'origines diverses

Les composés d'origine variée de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions. A titre inductif, on peut citer :

- ❖ L'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille.
- ❖ Des aldéhydes comme l'atonal et le décanal des Citrus
- ❖ Des esters acycliques présents surtout dans les fruits : acétate de butyle (pomme), acétate d'isoamyle (banane).
- ❖ Des alcools comme le 1-octén-3-ol de l'essence de lavande. [16]

## II.7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les essences ou les huiles essentielles sont ce que les plantes produisent de plus précieux. Depuis les temps reculés, les hommes se sont ingéniés à trouver des techniques d'extraction des essences des plantes afin de pouvoir les utiliser pour en faire des médicaments, des cosmétiques, des parfums. [2]

Ainsi, après la récolte, et suivant la partie de la plante à extraire (plante entière, pétales de fleurs, fleurs, feuilles, racines ou fruits). Le procédé d'extraction mis en œuvre est différent et par conséquent la composition de l'extrait en est affectée. [2]

Ce qui introduit cette diversité, c'est d'abord la variété des matières premières et ensuite la sensibilité considérable de certains parfums qui n'obligent à employer que des moyens peu violents sans interventions d'agents chimiques trop énergétiques. [2]

Le choix du type d'extraction doit permettre de :

- Retirer des végétaux des essences aromatiques avec le rendement le plus élevé.
- Conserver aussi intact que les parfums les plus délicats. [2]

Ainsi, la méthode d'obtention des huiles essentielles intervient de façon déterminant dans le rendement en huile et dans sa composition. [2]

Parmi les différents procédés d'extraction, nous citerons principalement :

### II.7.1. Distillation

La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile et elle se fonde sur les caractéristiques que possédante ces composantes qui peuvent être facilement transportées par des particules de vapeur d'eau en mouvement. [2]

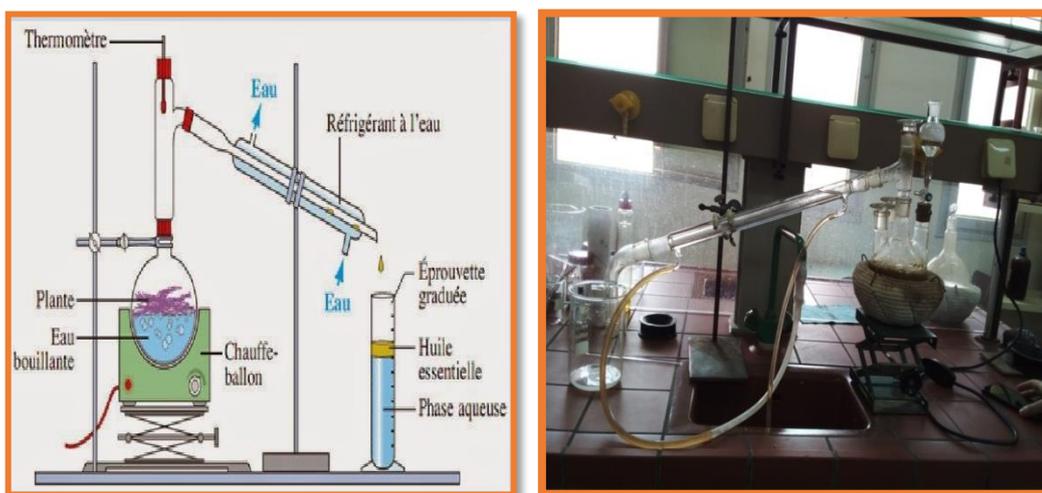
La distillation reste la méthode la plus utilisé pour l'obtention des composés d'arôme du fait qu'elle produite des substances volatiles facilement analysables par chromatographie en phase gageuse et exigent une technologie relativement simple, donc un coûté plus bas ainsi qu'une reproductibilité facilement contrôlable. [2]

La vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles, une quantité suffisante de vapeur permet largement l'isolement des essences de plante. Il existe trois grands modes de distillation :

#### II.7.1.1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation demeure la technique la plus utilisée pour la production d'HE et elle reste sans doute la plus rentable. Le procédé correspond à une distillation hétérogène et consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition, généralement à pression atmosphérique.

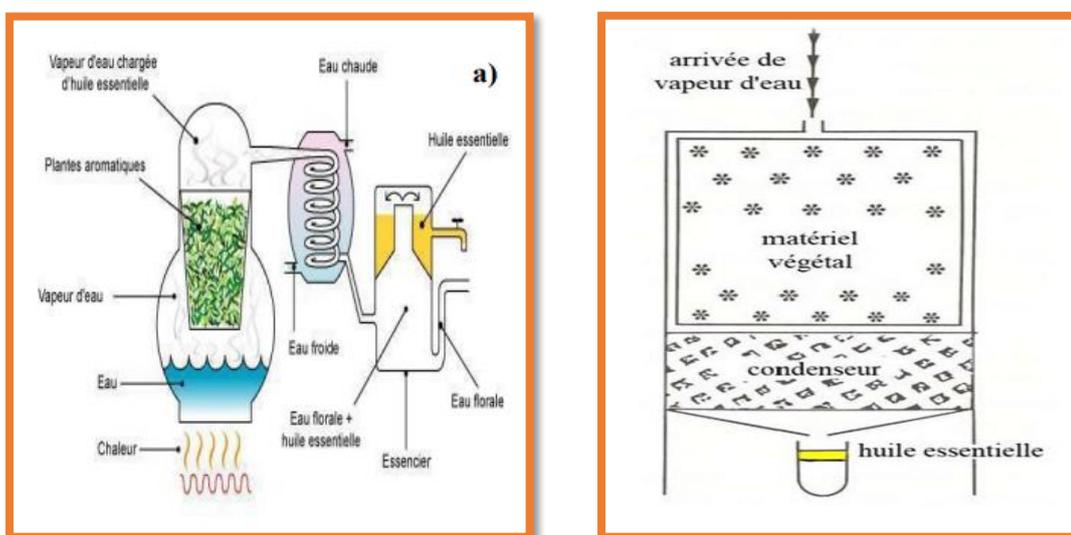
La chaleur permet l'éclatement du lieu de sécrétion et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange. [17]



**Figure II.5 : Montage d'extraction par hydrodistillation [17]**

### II.7.1.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Ce mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique " l'huile essentielle". L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. [16]



**Figure. II.6 : Extraction par entraînement à la vapeur d'eau [16]**

### II.7.1.3. Hydrodifussion

Le principe de ce nouveau procédé consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas à travers le végétale disposé sur une grille à l'intérieure d'un parallépipède métallique, ce qui permet un équilibrage de pression [2]. La composition des produits obtenus est qualitativement sensiblement différente de celle produits obtenus par les méthodes classiques. Le procédé permet un gain de temps et d'énergie.

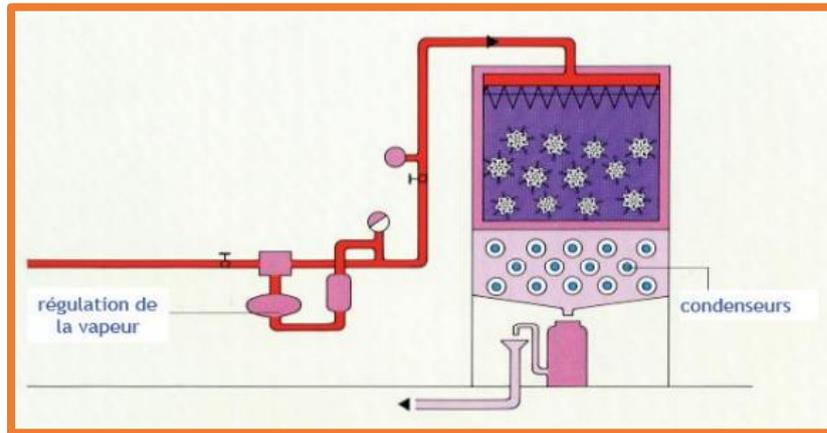


Figure II.7 : hydrodiffusion [2]

### II.7.2. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique

Ce procédé, très moderne, consiste à faire éclater les poches à essences des végétaux et ainsi entraîner les substances aromatiques en faisant passer un courant de CO<sub>2</sub> à haute pression dans la masse végétale (en générale les fleurs). On utilise le CO<sub>2</sub> car il possède de nombreux atouts : il s'agit d'un produit naturel, inerte chimiquement, inflammable, facile à éliminer totalement, aisément disponible, peu réactif chimiquement et enfin peu coûteux.

Le CO<sub>2</sub> a également la capacité de fournir des extraits de compositions très proches de celles obtenues par les méthodes décrites dans la pharmacopée européenne. Tous ces avantages permettent à ce procédé de se développer malgré un investissement financier important. [18]

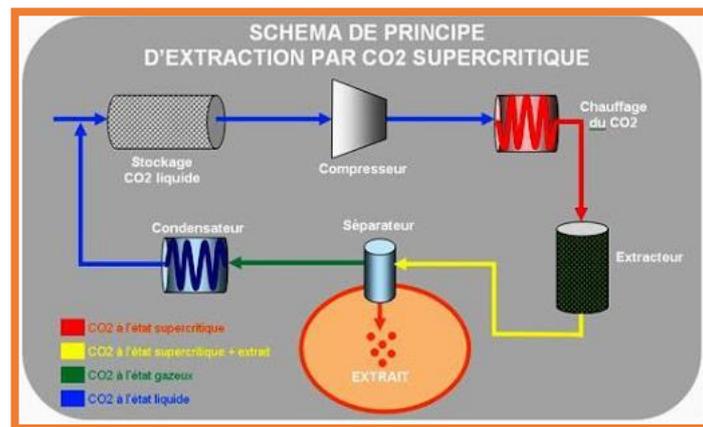


Figure II.8 : Montage d'extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique [18]

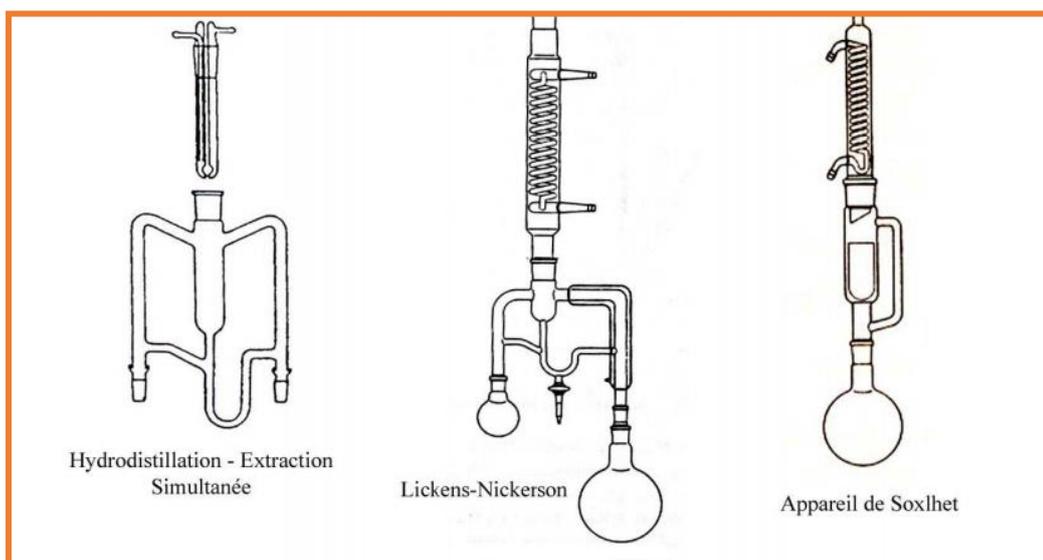
### II.7.3. Extraction par les corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite.

Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion qui se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras. [19]

### II.7.4. Extraction par solvants Volatil

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité ; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc.) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure. [19]

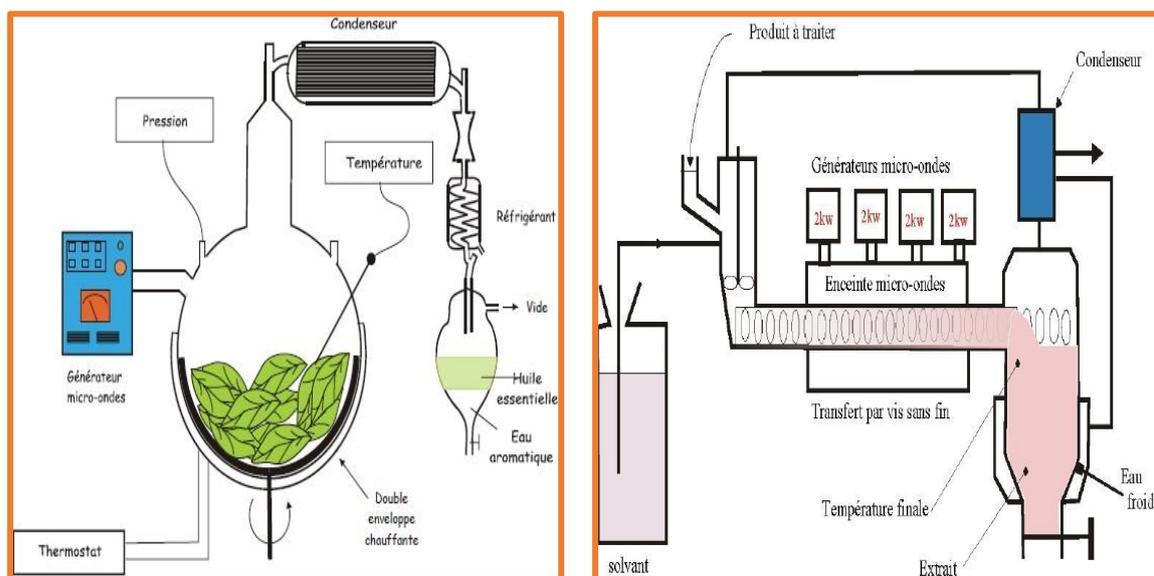


**Figure II.9 : Les différents types d'extraction par solvants volatils [19]**

### II.7.5. Extraction par micro-ondes

Depuis quelques années, on assiste au développement de nouvelles technologies. C'est en particulier le cas de l'hydrodistillation par micro-ondes sous vide. Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle : l'huile essentielle est entraînée dans le mélange isotopique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée (sans ajout d'eau pour les produits traités en frais). Très rapide et peu consommateur d'énergie, le procédé livre un produit qui, le plus souvent, est de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle (temps de travail divisé par 5 à 10 et température plus basse).

De façon caractéristique, les micro-ondes génèrent un chauffage rapide et intense des substances polaires avec une réduction importante dans le temps de réaction, et dans la plupart des cas des rendements élevés. [2]



**Figure II.10 : Schéma d'une hydrodistillation et d'une extraction par solvant assistée par micro-ondes [2]**

### II.8. Rôle et fonction des huiles essentielles

Le rôle des huiles essentielles n'est pas pu être clairement démontré. En effet on considère qu'il s'agit de produits de déchets du métabolisme. Toutefois, certaines autres pensent que la plante utilise son huile essentielle pour repousser les insectes, ou au contraire pour les attirer et favoriser la pollinisation.

D'autres, la considère comme une ressource énergétique, facilitant certaines réactions chimiques. D'autre part, elles conservent l'humidité nécessaire à la vie des plantes exposées à des climats désertiques. [2]

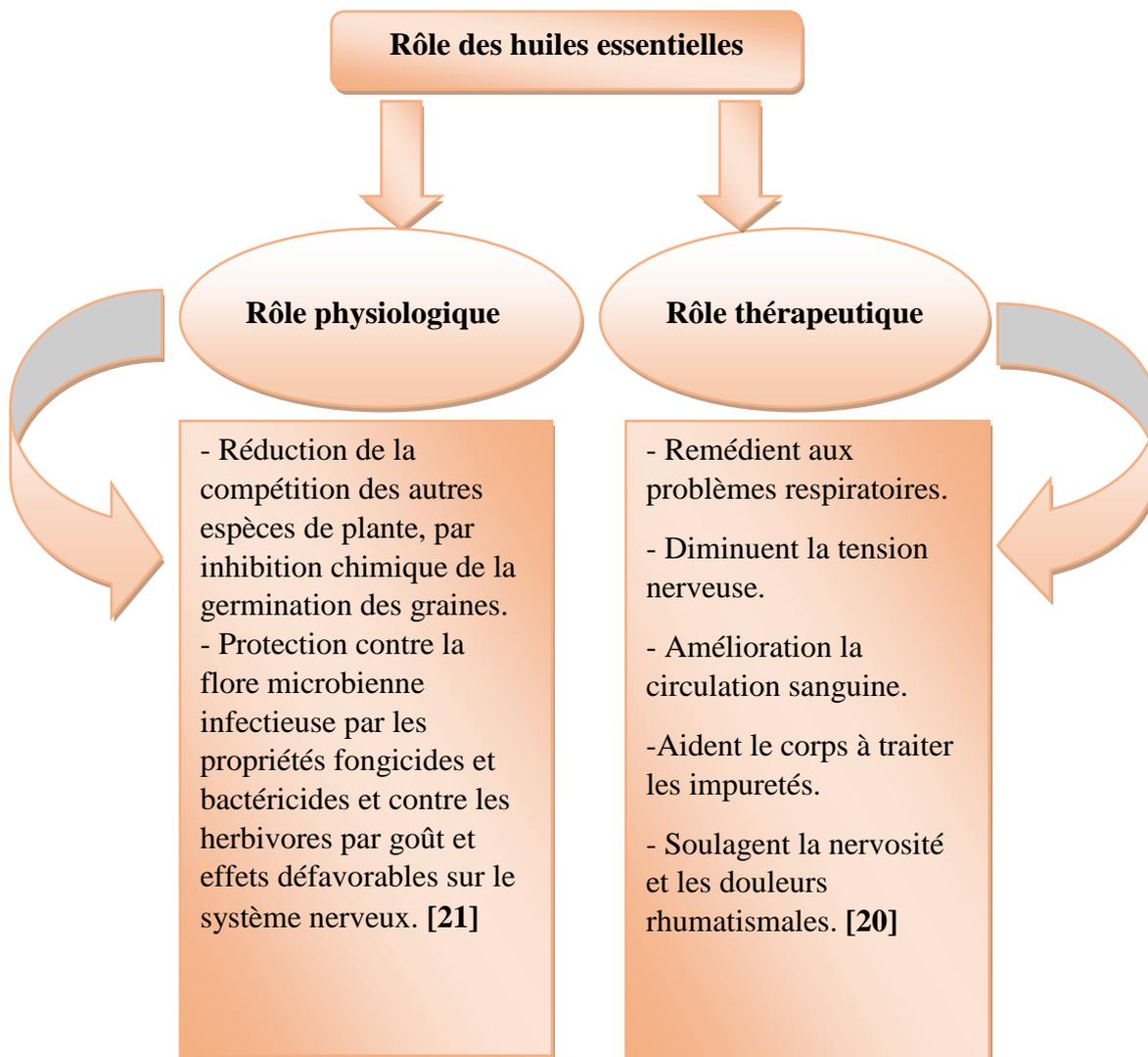


Figure II.11 : Les Rôles des huiles essentielles

## II.9. Propriétés pharmacologiques des huiles essentielles

Depuis longtemps, les huiles essentielles sont utilisées en thérapeutique. Leurs applications dans ce domaine sont vastes. Elles requièrent de bonnes connaissances de ces substances et du fonctionnement du corps humain. L'usage des huiles essentielles en Médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique, alimentaire et cosmétique. Celles-ci sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont



irremplaçables. Elles ont une action anti- inflammatoire, antiseptique, antivirale, désodorisante, insecticide et anti -oxydante. Néanmoins, une seule huile peut avoir plusieurs utilisations à la fois.

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité. Le **Tableau II.1** regroupe les différentes compositions chimiques des huiles essentielles et leurs activités biologiques. [22]

Nom de l'élément biochimique	Activités biologiques
<b>Les acides</b>	Anti-inflammatoires très puissants, agissent en calmant le système nerveux.
<b>Les aldéhydes</b>	Anti-inflammatoires, calmants du système nerveux, anti-infectieux et peuvent irriter les muqueuses et la peau.
<b>Les cétones</b>	Anti-inflammatoires, anti-infectieux, stimulent le système immunitaire à faibles doses, cicatrisantes, calmantes et peuvent être neurotoxiques à forte dose. Les huiles essentielles, riches en cétones, ne doivent pas être employées seules
<b>Les éthers</b>	Effets antalgiques, rééquilibrant nerveux (antidépresseurs psychiques) et à inversion des effets si les doses sont trop élevées.
<b>Les esters</b>	Rééquilibrant nerveux.
<b>Les monoterpènes</b>	Stimulants du système immunitaire et ont des propriétés antiseptiques et antalgiques. Peuvent occasionner des brûlures importantes sur la peau, donc leur action doit être limitée dans le temps
<b>Les phénols</b>	Anti-infectieux et à action contre les microbes, les champignons, les virus et les bactéries, irritants pour la peau et les muqueuses (peuvent entraîner des brûlures). Peuvent (en grande quantité) endommager le foie en détruisant les cellules hépatiques
<b>Les sesquiterpènes</b>	Anti-inflammatoires, anti- allergiques et ayant un emploi important en cosmétologie car ont une bonne tolérance avec la peau et ont des propriétés thérapeutiques

**Tableau II.1 : Principaux composés des huiles essentielles et leurs activités biologiques [22]**



## II.10. Les critères de qualité des Huiles Essentielles

La qualité d'une huile essentielle, et donc sa composition, est fonction de nombreux paramètres.

- ✓ L'espèce botanique : La certification botanique doit apparaître selon la nomenclature internationale sous son nom latin précisant le genre, l'espèce et la sous-espèce.
- ✓ L'organe producteur : Selon la partie de la plante (feuilles, fleurs...) distillée (ou expresses pour les zestes de citrus), il peut exister plusieurs huiles essentielles pour la même plante avec des compositions chimiques et des activités différentes. [23]

### Selon (GIRARD, 2010)

- ✓ Le stade de développement botanique, comme la floraison par exemple La qualité biochimique de l'Huile Essentielle sera donc différente selon que la distillation aura eu lieu à partir de plantes collectées avant, après ou pendant la floraison.
- ✓ Le mode d'extraction choisi et la qualité de la distillation.
- ✓ L'origine géographique : les conditions de croissance, la nature du sol...etc. [24]

## II.11. Paramètres influençant la composition quantitative et qualitative des HE

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent des huiles essentielles peuvent être très différentes. [25]

Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante.

### II.11.1. Facteurs intrinsèques

Une huile essentielle doit avant tout autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal [26], L'influence du stade végétatif [27], l'organe de la plante [28], les hybridations, les facteurs de mutation, la polyploïdie [29], et le polymorphisme chimique « chimiotypes ou formes



physiologiques » sont les principaux facteurs intrinsèques qui influencent sur la composition et le rendement des huiles essentielles. [30]

### **II.11.2. Facteurs extrinsèques**

Les conditions environnementales influencent aussi la composition des huiles essentielles. La température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée [31]. Il n'y a pas eu mal des travaux ayant mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première [32], les conditions culturelles telles que la date de semis, la date de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récolte influencent aussi sur la composition et le rendement des huiles essentielles. [28]

### **II.12. Conservation des HE**

Elles se présentent et se conservent dans des flacons de verre fumé, fermés par un bouchon bien hermétique, ce qui les préserve de la lumière et de l'air.

En effet, il importe d'éviter leur oxydation (à l'air) et leur polymérisation (à la lumière). Elles se conservent à une chaleur ambiante, sauf les HE d'orange, de mandarine, de pamplemousse, de citron, de limette (toutes les HE qui sont obtenues par expression à froid).

Ces dernières se conservent à 3°C ou 4°C, autrement il apparaît un dépôt dans ces huiles.

Les HE se conservent entre 12 et 18 mois après leur fabrication. Avec le temps leurs propriétés diminuent et deviennent alors inactives. [33]

### **II.13. Toxicité des huiles essentielles**

La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue ; on manque aussi des données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes, tératogènes ou cancérogènes.

La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi. Il existe quelques H.E dont 60 certains composés sont capables d'induire la formation de cancer, c'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzène ou de propenylbenzène comme le safrole, l'estragole, la  $\beta$ -ararone, et le méthyl-eugénol. [34,35, 36]

## II.14. Utilisation des huiles essentielles

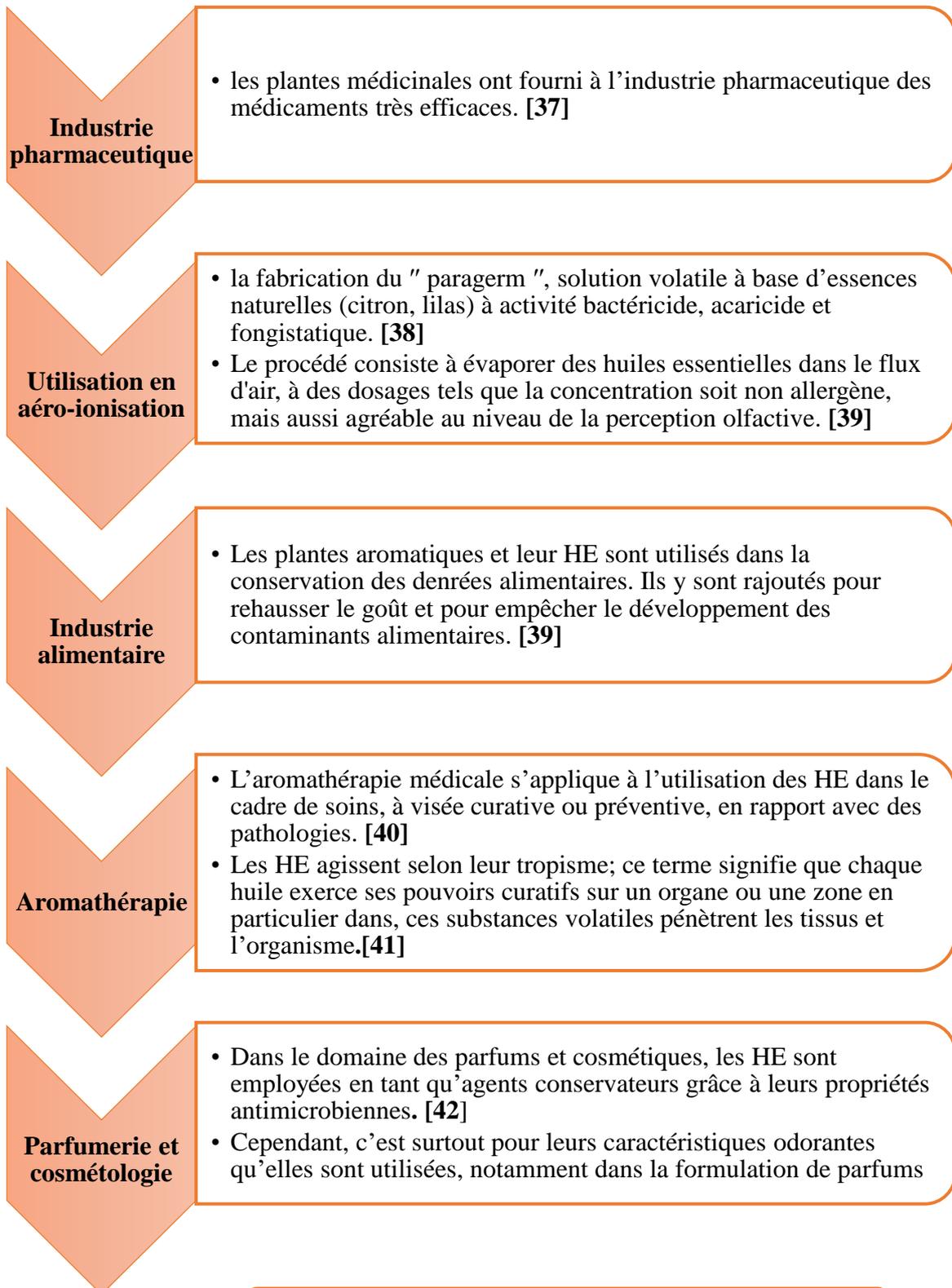
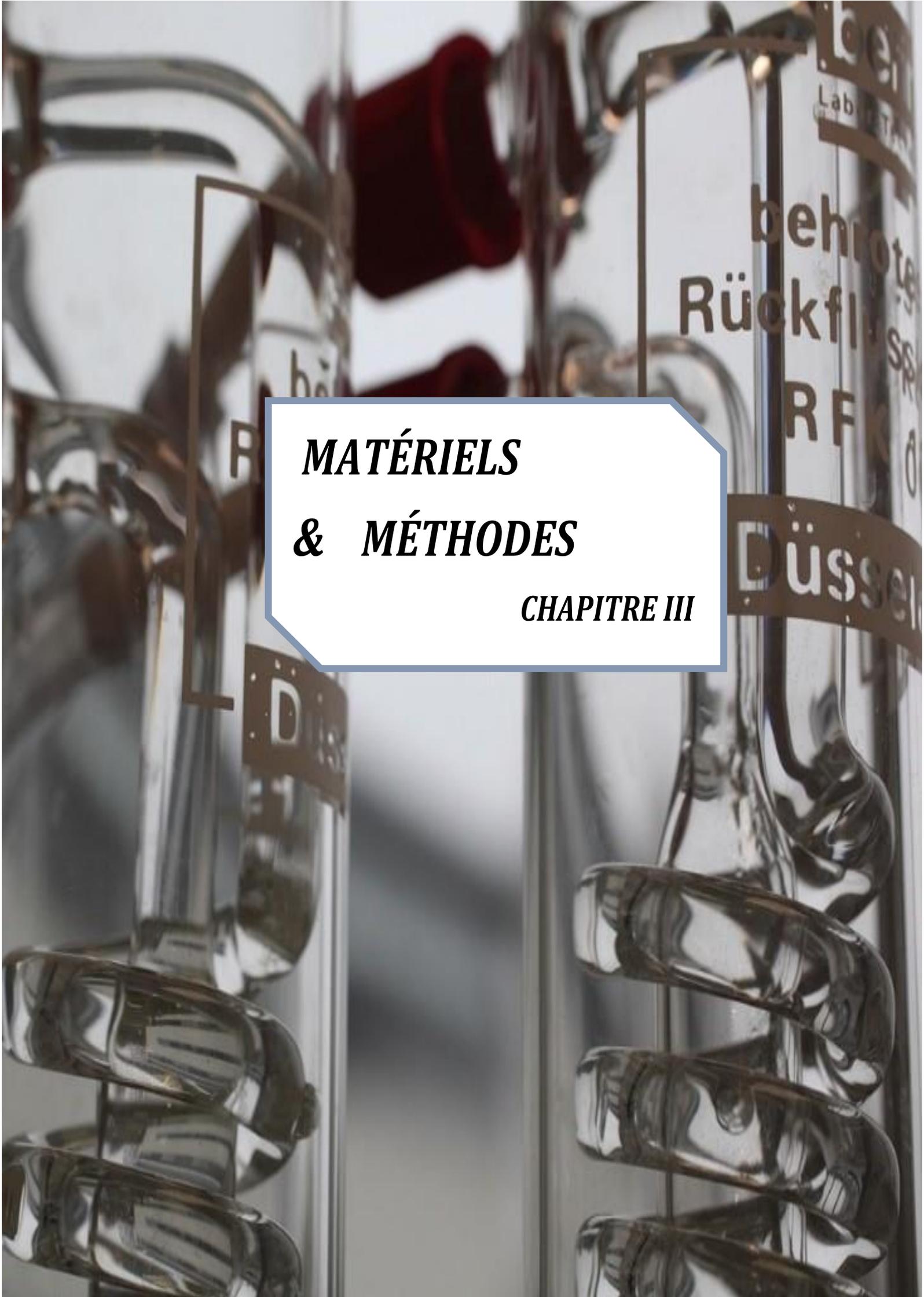


Figure II.12 : Les utilisations des huiles essentielles



*Travail personnel*

A close-up photograph of laboratory glassware, including a condenser and a flask, with a red rose in the background. The text is overlaid on a white box with a blue border.

***MATÉRIELS  
& MÉTHODES***

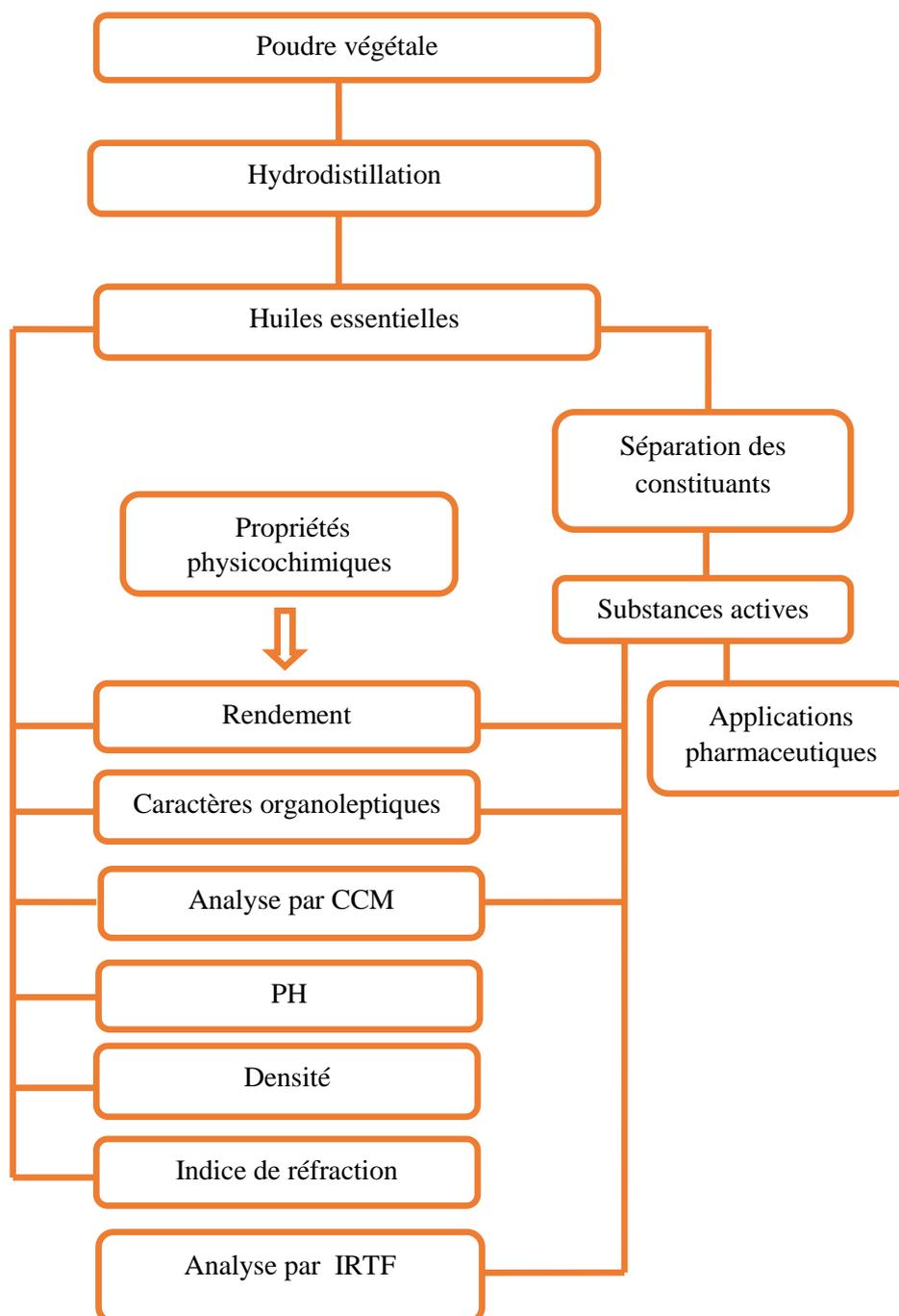
***CHAPITRE III***

### III.1. Cadre d'étude

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire pédagogique de chimie organique du département des sciences de la matière, de la faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie de l'Université Med Khider Biskra.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'isolement et à la caractérisation des substances actives extraites des huiles essentielles des deux plantes médicinales. Il s'agit notamment de : l'*anis-vert* et le *clou de girofle*.

L'organigramme suivant explique notre voie expérimentale :



### III.2. Matériel végétal

Les plantes utilisées dans ce travail se trouvant sur le marché tout au long de l'année pour son importance majeure et son usage quotidien dans la cuisine Algérienne ou en médecine traditionnelle.

Les plantes sont l'anis –vert (*Pimpinella anisum* L) et le clou de girofle (*Syzygium Aromaticum* L), ainsi les parties utilisées sont les fruits représentés par des petites graines pour l'anis-vert et des boutons floraux pour le clou de girofle. (**Figure III.1**)



Anis-vert



Clou girofle

**Figure III.1 : Matériel végétal utilisé lors de l'expérience**

### III.3. Broyage

Le broyage de la plante permet d'augmenter la surface de contact eau matière végétale, donc une meilleure filtration d'eau au sein de la poudre ce qui a pour conséquence une augmentation du rendement de l'extraction par l'hydrodistillation.

Les différentes parties d'espèces ont été grossièrement broyées dans un mortier.

Pour soumettre les drogues végétales à une série d'analyse il est nécessaire l'éliminer toutes substances étrangères qui sont mêlées avec la partie choisie.



Poudre de clou de girofle



Poudre d'Anis-vert

**Figure III.2 : Matières végétales broyées**

### III.4. Extraction des huiles essentielles

#### III.4.1. Extraction solide- liquide

Dans ce travail ; on à réalisé l'extraction de huiles essentielles de deux plantes médicinales(clou de girofle et Anis vert) par la méthode d'hydrodistillation :

- La première plante Anis vert : on utilise l'hydrodistillation simple.
- Le deuxième plante clou de girofle : on utilise l'hydrodistillation par un appareille de type clewenger.

##### III.4.1.1. Principe de l'hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus utilisée pour extraire les huiles essentielles. Elle consiste à entraîner les composés volatiles des produits naturels avec la vapeur d'eau. Il semblerait que cette technique serait très ancienne puisqu'on a retrouvé des traces de son existence dès l'Antiquité. On pense que les Perses l'auraient découvert pour fabriquer l'eau de rose.

On porte à ébullition un mélange d'eau et de végétal, les cellules du végétal éclatent et libèrent alors des espèces odorantes qui, non solubles dans l'eau, sont entraînées par la vapeur d'eau puis récupérées dans un autre récipient après condensation dans le réfrigérant. L'hydrodistillat obtenu contient une phase aqueuse ainsi qu'une phase organique constituée par l'huile essentielle. [1]

##### ➤ Protocole expérimental

L'opération consiste à introduire 100g de masse végétale séchée (l'anis-vert sous forme poudre) dans un ballon de 1 litre, on y ajoute une quantité d'eau distillée correspondant à 2/3 du volume du ballon. L'opération d'extraction est réalisée pendant 5 heures à partir du début d'ébullition. A la fin de l'opération l'HE se trouve en mélange avec la phase aqueuse (distillat),ce qui nécessite de réaliser une extraction liquide-liquide dans l'étape suivante.

Remarque : la quantité troisième 100 g de plante Anis de vert (dans l'expérience 3) ; on utilise la méthode d'hydrodistillation par clwenger pour l'extraction les huiles essentielles Au lieu de méthode hydrodistillation simple ; en raison de contraintes de temps uniquement.



**Figure III.3 : Montage d'hydrodistillation**

#### III.4.1.2. L'hydrodistillation par clvenger

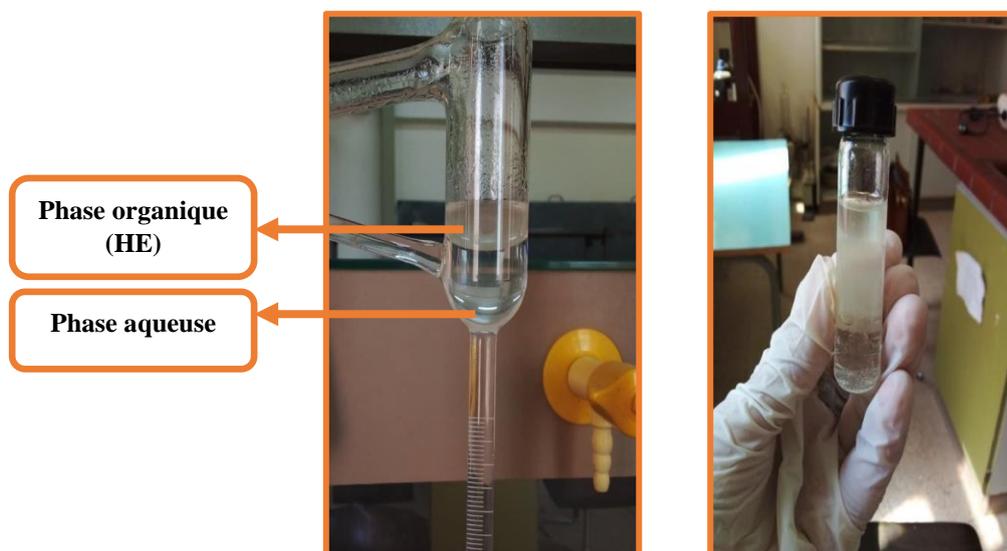
Le matériel végétal séché est soumis à une hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type clvenger cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. Le montage Clvenger est désigné par le nom de son inventeur, **Joseph Franklin Clvenger**, qui l'a publié en 1928. Quelques modèles existent. Le plus commun est une pièce de verrerie modifiée, celle que l'on voit au-dessus du ballon. [2]

L'opération consiste à introduit 100g de poudre de clou de girofle dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le montage est porté à l'ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentinde refroidissement où aura lieu la condensation, les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée par conséquent les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité.

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter, la durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.



**Figure III.4 : Montage hydrodistillation par clvenger**



**Figure III. 5 : Une image agrandie séparation de Phases**

**Figure III. 6 : L'huile essentielle de clou de girofle**

### III.4.2. Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide est une méthode de purification basée sur la différence de solubilité d'un soluté dans deux phases liquides non miscibles.

En chimie organique, on utilise habituellement une phase aqueuse et une phase organique.

#### III.4.2.1. Principe de l'extraction

L'extraction consiste à faire passer un produit d'un solvant dont il est difficile à séparer (eau) à un autre solvant dont il sera facilement isolable (solvant organique).

➤ Protocole expérimental

- Dans une ampoule à décanter, on traverse le distillat (200 ml de distillat de l'anis-vert) obtenu à partir de l'hydrodistillation.

Et on ajoute (50 ml) de solvant d'extraction (dichlorométhane  $CH_2Cl_2$ ).

- Après agitation et dégazage on laisse décanter.

- Ensuite on récupère la phase organique (HE et le dichlorométhane).

- Pour extraire le maximum de l'HE on a réalisé trois extractions.

### III.4.2.2. Séchage

Un agent de séchage  $MgSO_4$  possédant une forte affinité pour l'eau est ajouté à la phase organique afin d'éliminer les traces d'eau susceptibles d'être retenues.

Le sulfate de magnésium anhydre peut capter 7 molécules d'eau pour former du sulfate de magnésium heptahydraté, de pH neutre avec une vitesse de séchage rapide, grâce à l'équation suivante :



### III.4.2.3. Filtration et évaporation

Pour enlever le sel desséchant, la solution est filtrée à travers un entonnoir + papier filtre, directement dans un ballon. Le ballon ne doit pas être rempli plus que les 2/3.

Pour récupérer notre produit brut, il ne reste plus qu'évaporer le solvant. Cela se fait à l'évaporateur rotatif, aussi appelé rotavap **Figure III.7**



**Figure III.7 : Montage de l'évaporateur rotatif**

- Les différentes étapes réalisées pour l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation sont illustrées sur la **Figure III. 8**



Montage d'hydrodistillation



Distillat



Filtration



Séchage



Décantation



Evaporateur rotatif



L'huile essentielle

Figure III.8 : Les différentes étapes d'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

### III.4.3. Conservation des huiles essentielles obtenues

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate. Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles : la température, la lumière et l'oxygène.

Les huiles essentielles obtenues après extraction ont été conservées dans des flacons fermés hermétiquement, recouverts d'un papier aluminium à l'abri de la lumière et à basse température (dans un réfrigérateur) pour éviter toute dégradation, jusqu'à leurs usages pour les tests de caractérisation.

### III.5. Caractérisation des huiles essentielles

La caractérisation des huiles essentielles se fait afin d'évaluer la qualité de nos extraits, nous avons réalisé une étude analytique, tout d'abord en déterminant les caractéristiques organoleptiques, puis les propriétés physico-chimiques.

#### III.5.1. Caractérisation organoleptique

Chaque huile essentielle est caractérisée par ses propres caractères organoleptiques tels que : l'odeur, l'aspect et la couleur qui sont décrites par la norme AFNOR. [3]

➤ L'odeur

L'odeur est un sens chimique très sensible et l'habileté des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parvient à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'à dix millièmes de grammes par litre d'air. [4]

➤ La couleur

La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent. [4]

➤ L'aspect physique

L'aspect d'une essence végétale change selon les produits qui la constituent, cette essence peut apparaître sous forme solide, liquide, ou semi-solide.

Les différentes caractéristiques organoleptiques de l'essence de clou de girofle et l'anis-vert ont été notées. [4]

### III.5.2. Caractérisation physicochimique

#### III.5.2. 1. Rendement de l'extraction

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle et la masse végétale sèche à traiter, exprimée en pourcentage. [5]

Il est déterminé par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{m(HE)}{m(p)}$$

$R$  : Rendement en huile essentielle (%).

$(HE)$  : Poids de l'huile essentielle extraite en g.

$(p)$  : Poids de la plante traitée en g.

#### III.5.2.2. La densité relative à 20°C

La densité est le rapport de la masse volumique d'un liquide à celle de l'eau, c.-à-d. c'est le rapport de la masse d'un certain volume d'HE à la masse d'un volume égal d'eau à 20°C. [6]

➤ **Protocole expérimental**

La détermination de la densité des HEs des plantes étudiées est réalisée à l'aide d'une éprouvette de 5ml, en utilisant une micropipette, on prélève un volume de 2 ml pour chaque huile, ainsi que pour l'eau, on pèse ensuite ce volume par une balance analytique.

La densité de chaque huile a été calculée à partir de la relation suivante :

$$d_{20}^{20} = \frac{m_1 - m_0}{m_2 - m_0}$$

$m_0$ : Masse en g de l'éprouvette vide.

$m_1$ : Masse en g de l'éprouvette contenant 1 ml d'HE.

$m_2$ : Masse en g de l'éprouvette contenant 1 ml d'eau distillée.

#### III.5.2.3. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction ( $n_D$ ) est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante. Cet indice est mesuré à 20°C et rapporté à la raie D du sodium ( $\lambda=589\text{nm}$ ). [6]

L'indice de réfraction d'une matière, est un nombre qui caractérise le pouvoir qu'a cette matière, à ralentir et à dévier la lumière. Plus la lumière n'est ralentie, plus la matière a un indice de réfraction élevé.

La mesure de l'indice de réfraction de nos HEs a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre.

➤ **Protocole expérimental**

Nous avons opéré comme suit :

- étalonner l'appareil à l'aide de l'eau distillée qui a un indice de réfraction connu égale à 1.333 à la température de 20°C.
- nettoyer les prismes et déposer quelques gouttes d'HE entre les deux faces des prismes.
- fermer ensuite doucement le prisme secondaire. L'échantillon s'étale entre le prisme principal et le prisme secondaire en un film mince.
- regarder dans l'oculaire et tourner le bouton de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule.
- noter la valeur de l'indice par l'échelle de lecture.



**Figure III. 9 : Réfractomètre**

#### III.5.2.4. Détermination du pH

Le potentiel d'hydrogène (pH) mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H<sup>+</sup>) (appelés aussi couramment protons) en solution. Pour notre expérience, cette mesure a été effectuée à l'aide d'un papier pH au lieu d'un pH - mètre en raison de l'insuffisance d'huile essentielle.

Les huiles essentielles de qualité présentent un pH voisin de 5 (maximum : 6), elles constituent donc des solutions à caractère acide. [7]



**Figure III.10 : Évaluation de PH**

## III.6. Analyse par chromatographie sur couche mince CCM

### III.6.1. Définition

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique de séparation d'un mélange liquide en ses constituants par entraînement physique entre deux phases : une phase mobile liquide présente l'éluant et une autre phase fixe solide. La chromatographie est aujourd'hui une méthode de séparation, mais également d'identification des constituants d'un mélange. [8]

### III.6.2. Principe

La séparation repose principalement sur des phénomènes d'adsorption et d'interactions, les substances migrent à une vitesse qui dépend de la nature de l'échantillon et de celle du solvant.

On place un composé sur un support solide (phase stationnaire) et l'on applique alors un solvant (phase mobile) qui, par capillarité, va monter et se déplacer sur la phase stationnaire. La phase mobile, en montant dans la phase stationnaire, va entraîner le composé que l'on avait déposé, et ce à une hauteur variant en fonction du composé et du solvant.

En effet, le composé va développer des interactions non seulement avec la phase mobile mais également avec la phase stationnaire. Ainsi le composé montera haut (on parle de

migration) s'il a peu d'interactions avec le support ou bien s'il a une forte affinité pour le solvant. [9]

### III.6.3. Réalisation d'une CCM

Les chromatographies sur couche mince, utilisées dans cette étude, sont réalisées en phase normale sur des plaques d'aluminium recouvertes d'un gel de silice de type Kieselgel 60 F254 Merck, 200  $\mu\text{m}$ . Le développement de ces plaques s'effectue dans des cuves en verre saturées avec l'éluant approprié. La phase mobile (ou éluant) est constituée d'un mélange binaire de solvant selon le type de séparation souhaitée (meilleure séparation). L'examen des chromatogrammes s'effectue sous lumière ultraviolet (à  $\lambda = 254$  nm et à  $\lambda = 365$  nm), ensuite par un révélateur constitué de l'iode.

#### A/ La préparation de la cuve

Une cuve de chromatographie se compose de la cuve et d'un couvercle. Le couvercle sert d'une part à éviter l'évaporation du solvant mais surtout à réaliser la CCM en atmosphère saturée (pression de vapeur saturante du solvant), de façon à avoir des valeurs reproductibles.

On prépare trois cures de différents systèmes de solvant (éluant) :

- 1- 5 ml de dichlorométhane (100%)
- 2- 4 ml dichlorométhane + 2 ml n-Hexane (80% + 20%)
- 3- 2,5 ml dichlorométhane + 2,5 ml n-Hexane (50%+50%)

On place 5 mm dans le fond de la cuve puis ferme le couvercle.

#### B/ les plaque CCM

- A l'aide d'une micropipette dans un tube on introduit quelques gouttes des extraits obtenus ensuite on ajoute quelques (ml) de solvant dichlorométhane dans chaque tube.
- Découper une plaque aux dimensions raisonnables.
- Tracer au crayon un trait à 1 cm du bas de la plaque.
- Sur ce trait tracer petits points (1 ou 2 ou 3 ou bien 4) à 1 cm de distance où seront déposées les taches.
- Déposer à l'aide d'une micropipette (ou pipette Pasteur) les solutions sur chaque point, ou à l'aide d'un capillaire fabriqué in situ avec un tube en verre.

Attention : les gouttes doivent être les petits possibles.

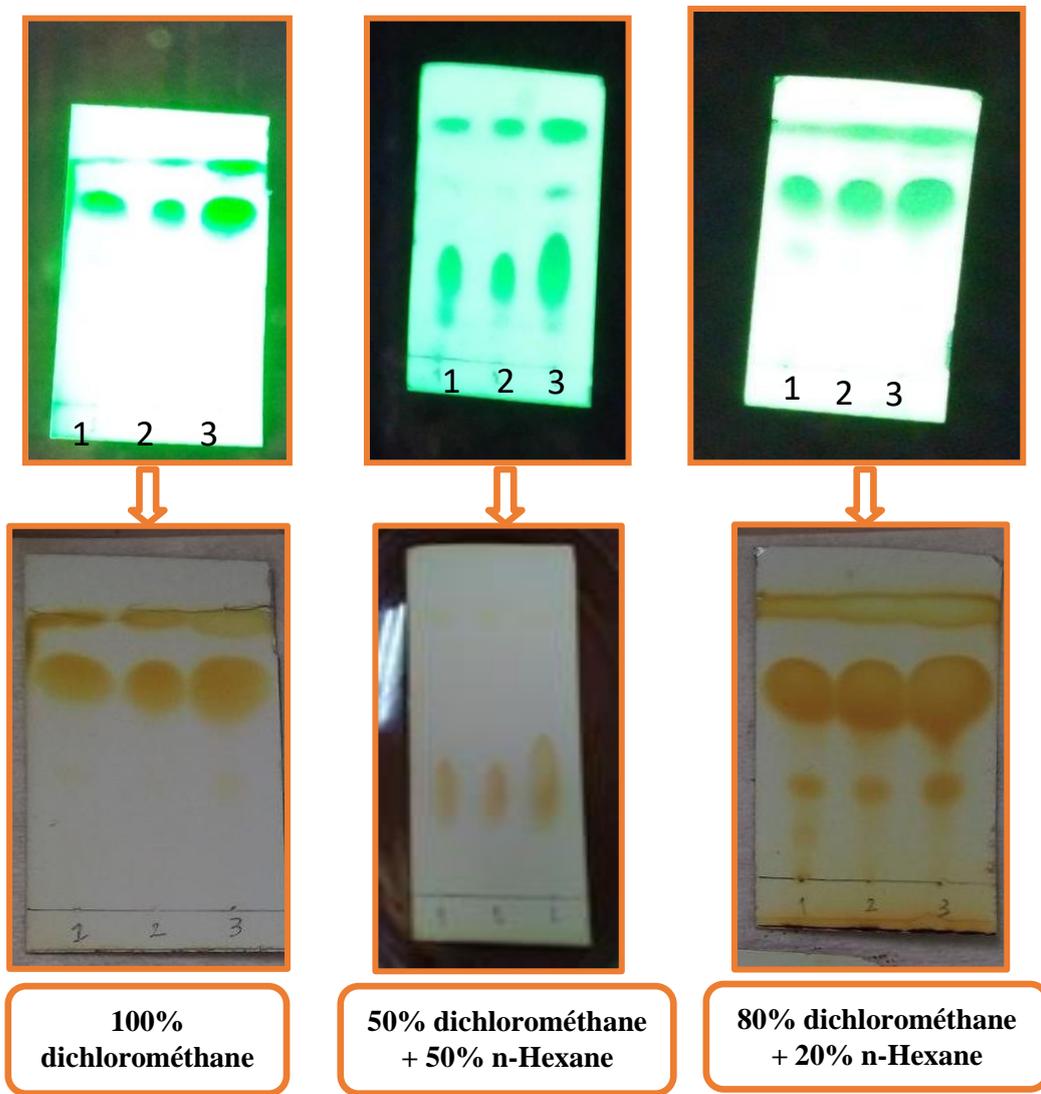
Attention : ne jamais toucher la plaque avec doigts.

Remarque : si la solution est trop diluée, mettre plusieurs gouttes au même point en prenant grand soin de laisser sécher entre chaque goutte.

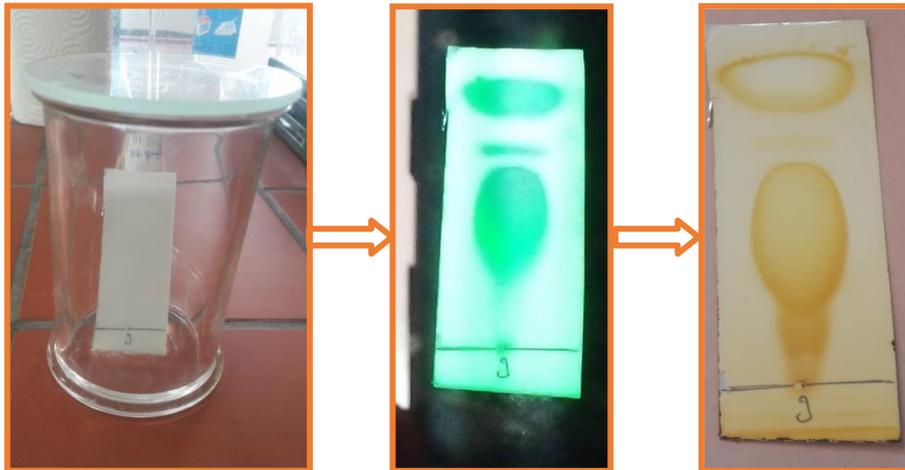
**C/ Elution**

- Placer la plaque dans la cuve, fermer et laisser l'éluant diffuser.
- Arrêter l'opération lorsque le front d'éluant est arrivé à 1 cm du haut de la plaque (cette espace prend 15 min, mais dépend du support et de l'éluant).
- Retirer la plaque et tracer au crayon le front de l'éluant.
- Sécher la plaque à l'air libre ou à la chaleur d'une plaque chauffante.

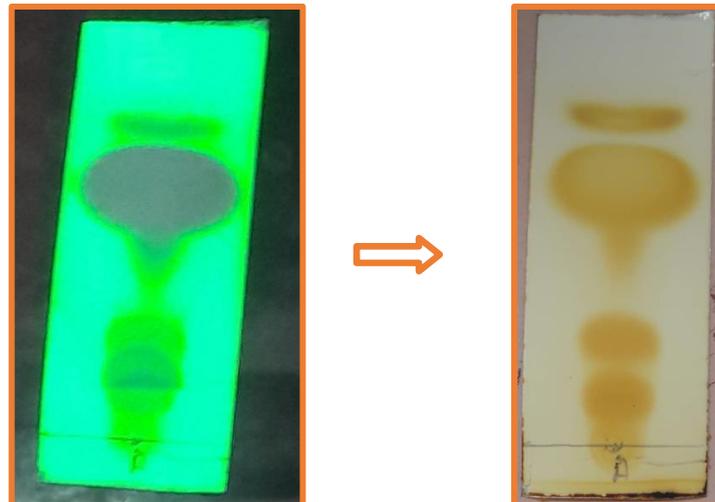
Les plaques CCM visualisées sous la lumière UV à la longueur d'onde 254 nm, et 365 nm, puis révélées dans l'iode.



**Figure III.11 : CCM des HEs extraits de clou de girofle de trois extractions**

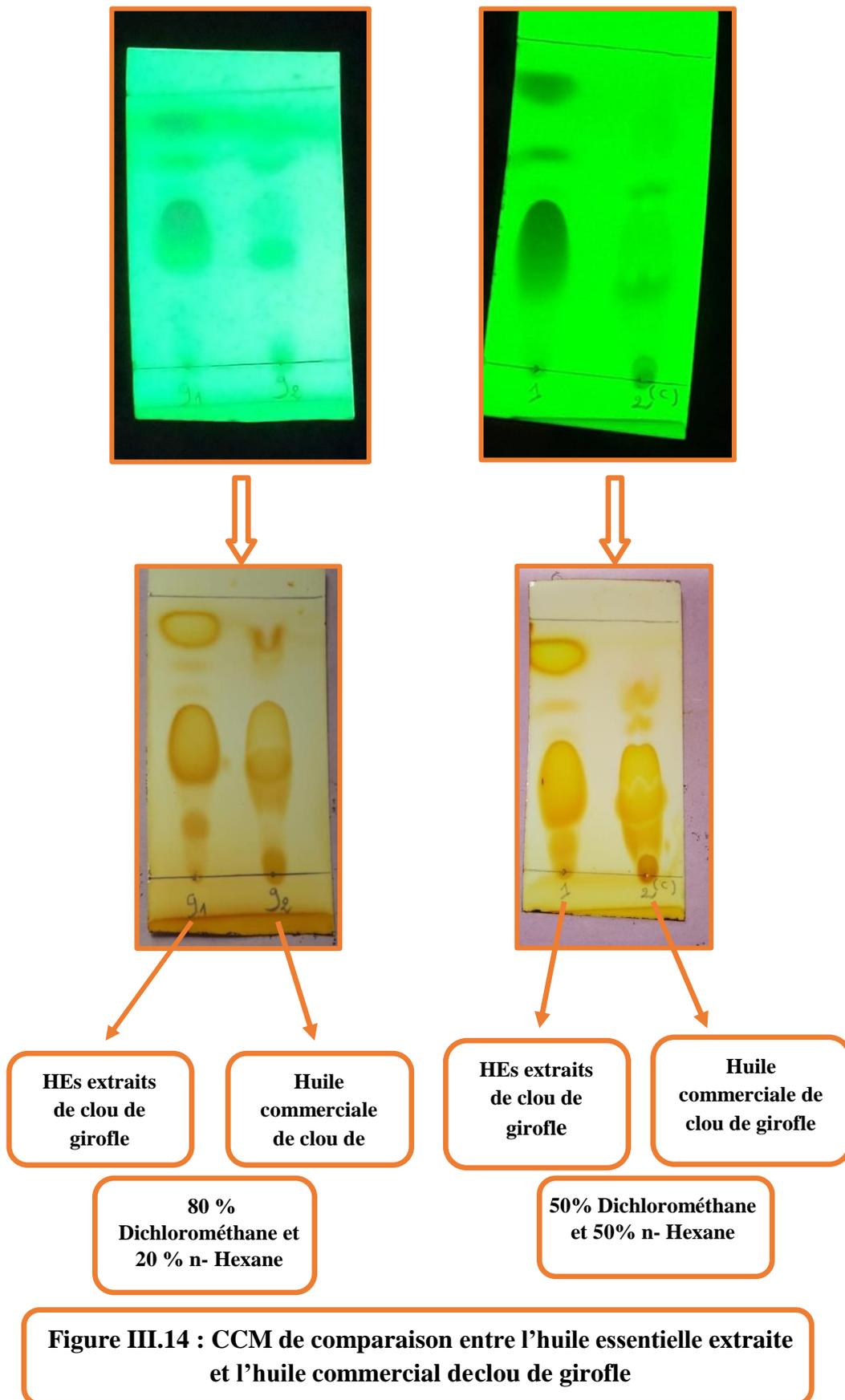


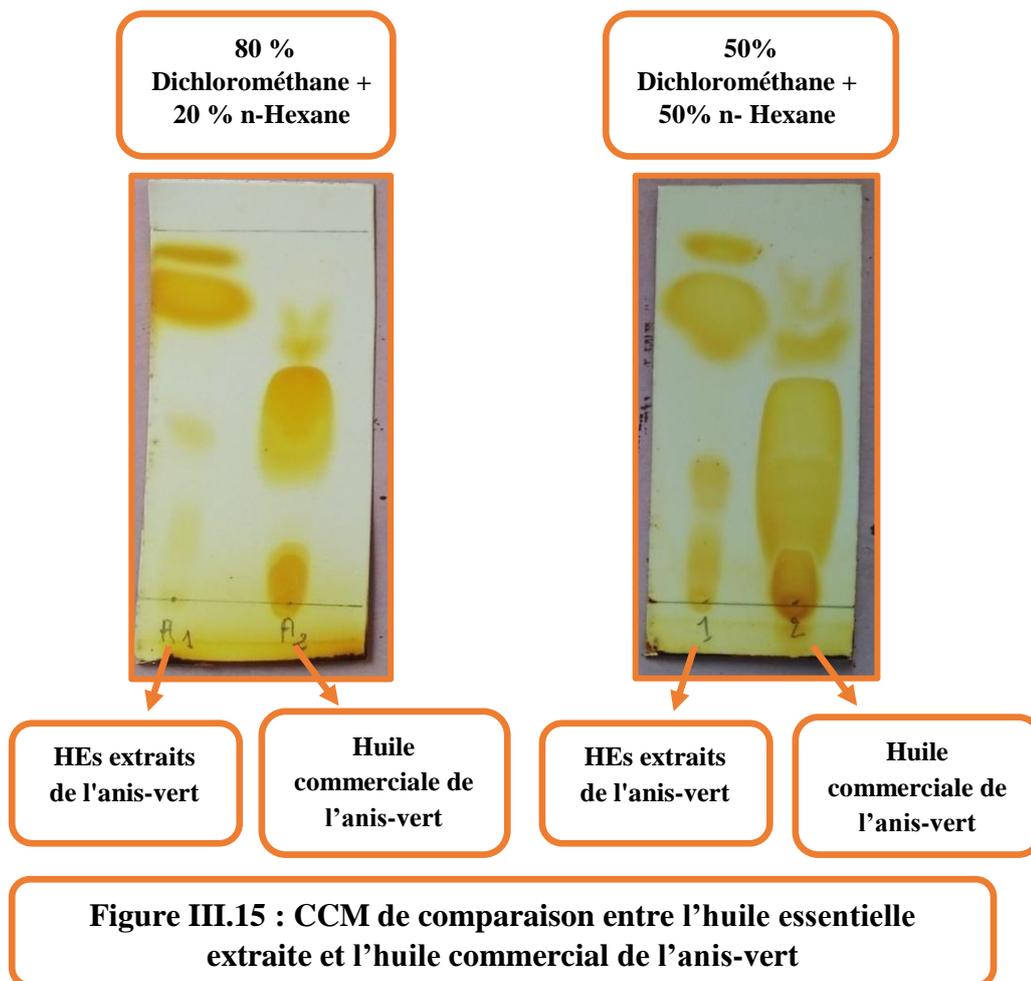
**Figure III.12 : CCM d'HE extraits de clou de girofle**



**Figure III.13 : CCM d'HE extraits de l'anis-vert**

Une analyse supplémentaire a été réalisée pour comparer la composition chimique de l'huile essentielle extraite à celle de l'huile commerciale, pour cela on a effectué une chromatographie sur couche mince pour les deux échantillons.





### III.7. Séparation et purification par chromatographie sur colonne

#### III.7.1. Définition

Alors que les autres méthodes chromatographiques sont habituellement employées pour l'analyse et la séparation de très faibles quantités de produits, la chromatographie sur colonne peut être une méthode préparatrice, elle permet en effet la séparation des constituants d'un mélange et leur isolement, par migration dans un dispositif constitué de deux phases ; phase stationnaire (support solide), phase mobile (le solvant). [10]

#### III.7.2. Principe

C'est une technique basée sur des phénomènes d'adsorption. La phase solide, le plus souvent l'alumine ou la silice, remplit une colonne de longueur et de section variable, l'échantillon, en solution concentrée, est déposé en haut de la colonne et la séparation des composants résulte de l'écoulement continu d'une éluant, traversant la colonne par gravité

ou sous l'effet d'une faible pression. On peut utiliser comme éluant un solvant unique ou bien accroître progressivement la polarité de l'éluant de façon à accélérer le déplacement des composés. Les substances les plus polaires sont fortement retenues par l'adsorbant dans la colonne, et les solvants polaires entraînant facilement les composés polaires. [10]

### III.7.3. Réalisation d'une CC

- ❖ Cette chromatographie utilise comme phase stationnaire des particules de silice est placée dans une colonne en verre et non sur une plaque et comme phase mobile un solvant ou mélange des solvants comme éluant s'écoule dans la colonne. Nous avons utilisé une colonne en verre de diamètres 40 mm. La phase stationnaire est réalisée en introduisant dans la colonne en suspension de silice Kieselgel 60 (0.063-0.200 mm) Merck qu'est mélangée dans Hexane. La quantité de silice utilisée est généralement 30 à 40 fois supérieure à la quantité de l'échantillon à fractionner.
- ❖ 3g d'huile essentielle de l'anis-vert sont traitées par une chromatographie sur colonne de gel de silice en phase normale, l'élution a été réalisées par 100% hexane et un mélange de (80 ml n-hexane + 20 ml dichlorométhane) et un mélange (50 ml dichlorométhane + 50 ml hexane) et 100% dichlorométhane. Ce fractionne permis d'obtenir 28 fractions.

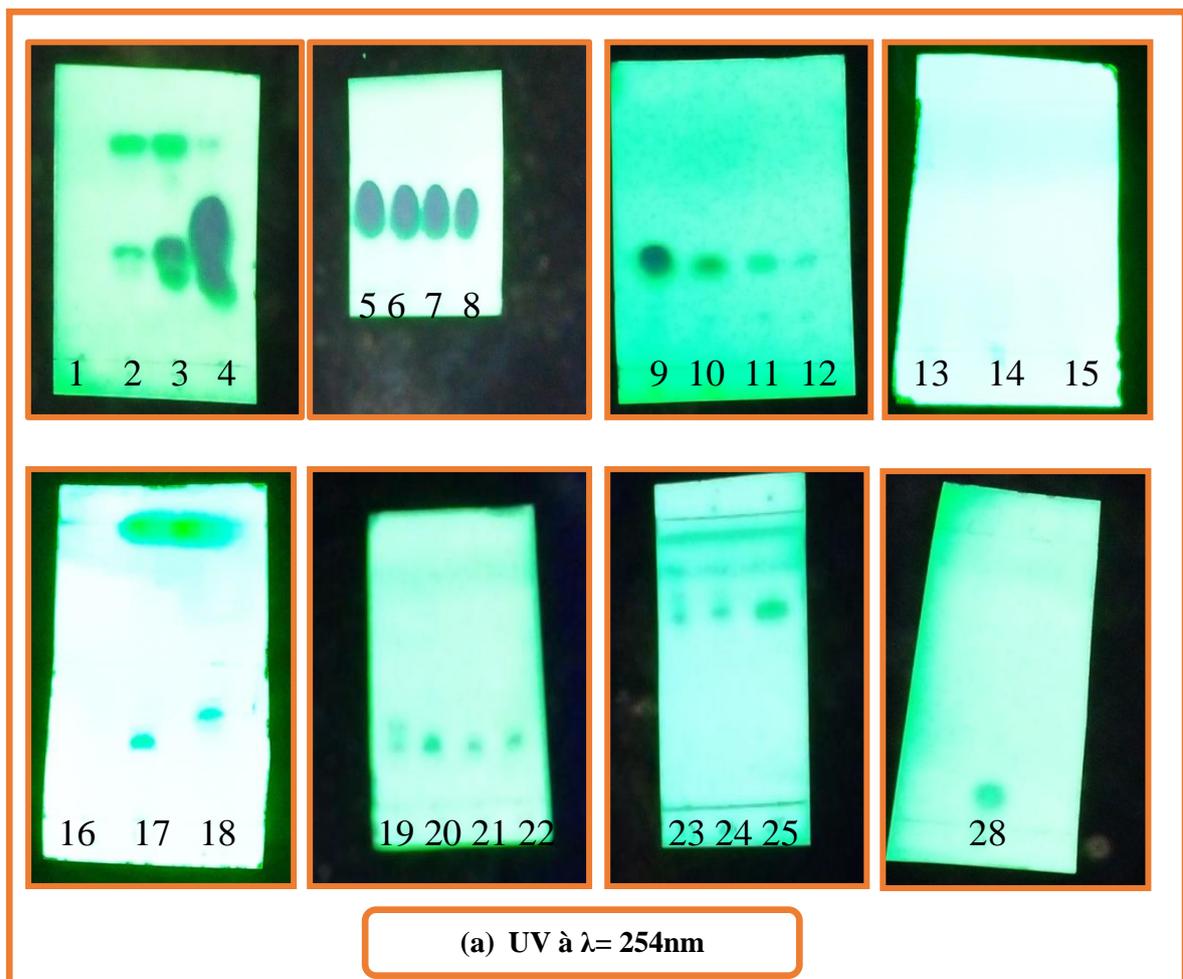


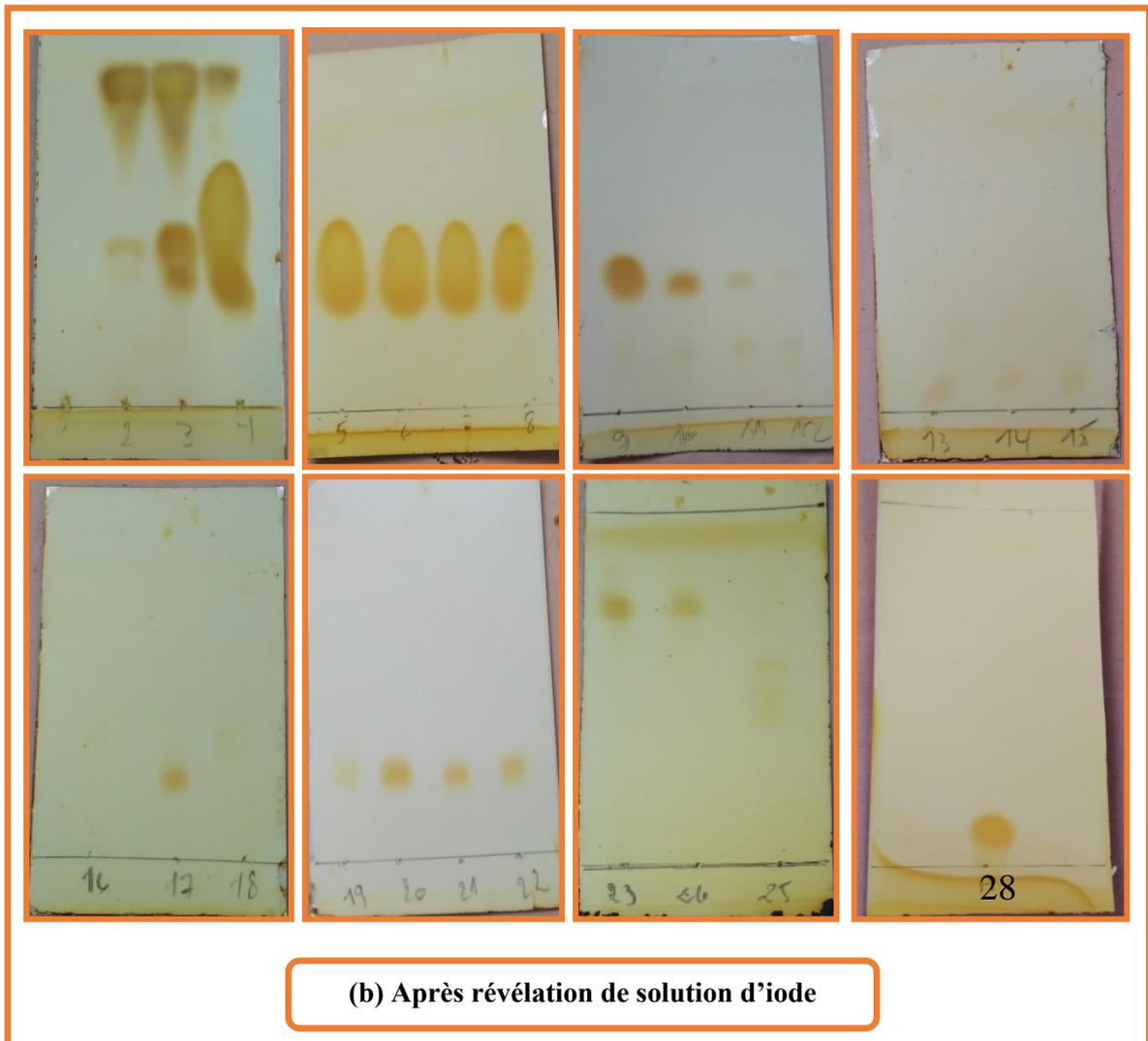
**Figure III.16 : Processus de séparation par la chromatographie sur colonne**

Des fractions de 20 ml recueillies à chaque fois, sont soumises à une chromatographie surcouche mince (CCM), visualisées sous la lumière UV à la longueur d'onde 254 nm et 365 nm et révélées dans l'iode

Eluant colonne		Fractions regroupées
100% de n-Hexane	100%	1 → 4
80% n-Hexane et 20% dichlorométhane	4 : 2	5 → 8 9 → 12 13 → 15
50% dichlorométhane et 50% Hexane	2.5 : 2.5	16 → 18 19 → 22
100% de dichlorométhane	100 %	23 → 27 28

Tableau III. 1 : fractionnement d'huiles essentielles de l'anis-vert





**Figure III.17 : CCM en phase normale des fractions de la chromatographie CC d'huile essentielle de l'anis-vert : (a)UV à  $\lambda= 254$  nm, (b) après révélation dans l'iode**

Après l'analyse des CCM, les fractions similaires sont regroupées en 11 nouvelles fractions

Fractions	Fraction regroupées
2 → 4	F1
5 → 8	F2
9 → 12	F3
13 → 15	F4
16	F5
17	F6
18	F7
19	F8
20 → 22	F9
23 → 25	F10
28	F11

Tableau III. 2 : Rassemblement des fractions (F1-F11)



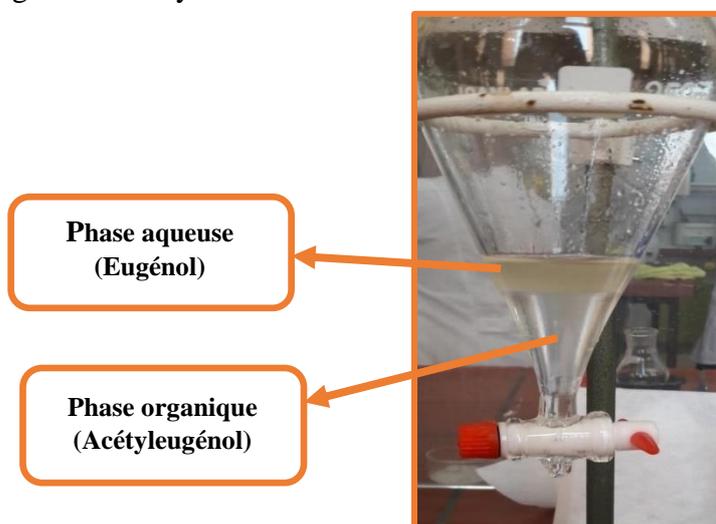
Figure III.18 : Les fractions F1-F11

### III.8. Séparation d'eugénol et acétate d'eugénol des HEs de clou de girofle

Après l'extraction d'huile essentielle de clou de girofle, la suite de l'expérience consistait à extraire l'eugénol qui peu soluble dans l'eau avec deux portions de 10 ml de chlorure de méthylène. Afin d'éviter qu'une émulsion se produise, nous avons procédé de la manière suivante : la première extraction a été effectuée en agitant vigoureusement l'ampoule de séparation, tandis que pour la dernière extraction, l'ampoule de séparation n'a été agitée que très modérément. Les deux phases organiques ont été combinées et séchées par 2-3 g de sulfate de magnésium anhydre.

Pour séparer l'eugénol de l'acétate d'eugénol, nous avons extrait la solution de chlorure de méthylène avec deux portions de 10 ml de NaOH (2mol/l) ; ceci provoque une réaction acide/base, l'eugénol passe en phase aqueuse.

L'acétate d'eugénol et d'autres produits contenus dans le clou de girofle se retrouve dans la phase organique **Figure III.19**. Cette dernière a été séchée sur sulfate de magnésium anhydre.



**Figure III.19 : Séparation de l'eugénol et l'acétate d'eugénol**

Les phases aqueuses ont été acidifiées avec de l'acide chlorhydrique concentré jusqu'à ce que le PH soit égale à 1. L'eugénol se reprotone et est à nouveau soluble dans le chlorure de méthylène.



**Figure III.20 : Test PH de la phase aqueuse**

L'eugénol a été par la suite extrait avec deux portions de 10 ml de chlorure de méthylène, nous avons séché la phase organique avec sulfate de magnésium anhydre puis filtré. Après élimination du solvant on obtient deux fractions différentes comme illustre les **Figures 21,22**

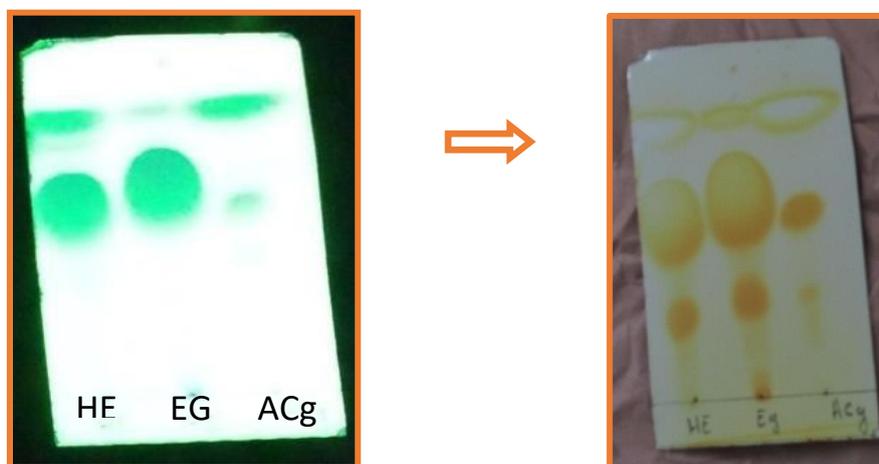


**Figure III.21 :  
Eugénol**



**Figure III.22 :  
Acétate d'eugénol**

Le contrôle rapide par CCM de l'huile essentielle et les produits séparés dans un éluant (80% dichlorométhane + 20% n-Hexane) donne des chromatogrammes montrés dans la **Figure III.23**



**Figure III.23 : CCM de vérification de la présence de l'eugénol et l'acétate d'eugénol**

### III.9. Méthode d'analyse spectrale

#### III.9.1. Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge fournit de bons renseignements sur les fonctions de molécule et sur la présence éventuelle de doubles ou de triples liaisons. L'absorption d'une radiation (ou absorption d'énergie :  $E = h \cdot \nu$ ), à l'intérieur d'une molécule, provoque des vibrations d'élongation de ces liaisons ou de déformation de ces angles de liaison, selon les liaisons concernées (C=O, O-H, C-H, C=C...), les vibrations apparaissent à des longueurs d'onde différentes et affichent des bandes d'absorption de forme et d'intensité différentes. Une seule fonction peut parfois donner plusieurs signaux (cas de la fonction acide qui à deux bandes : une pour -OH et autre pour -CO-). [11]

Le domaine de fréquence le plus couramment utilisé s'étend de 2,5 à 16  $\mu\text{m}$  (soit de 4000 à 650  $\text{cm}^{-1}$ ). Le dispositif expérimental utilisé dans ce travail est un spectromètre à transformée de fourrier (FTIR) de marque Shimadzu FTIR-8400 S. [10]

Dans cette étude on réalisé l'analyse spectrale infrarouge de chaque produit isolé.



**Figure III.24 : Appareillage spectroscopie infrarouge**

## *CHAPITRE IV*

# *Résultats & Discussion*

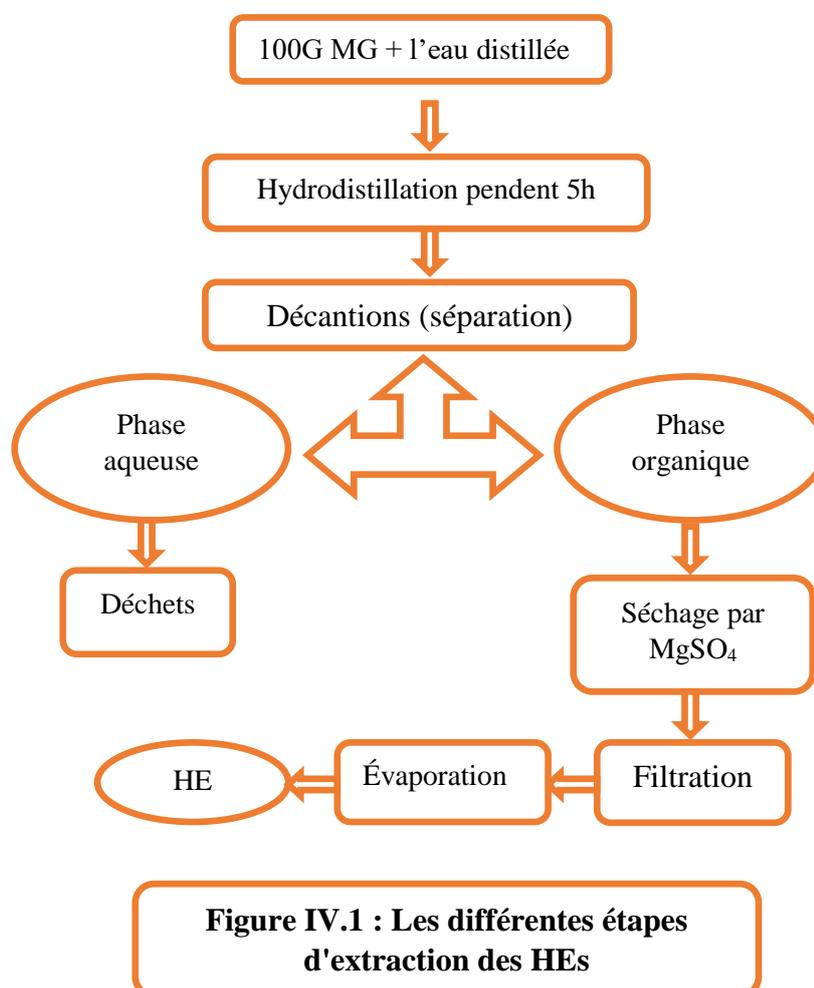


## IV.1. Introduction

Dans ce chapitre on a présenté et interprété les résultats d'extraction et de la caractérisation des huiles essentielles de deux plantes médicinales qui sont de grande importance ; le *Clou de girofle* et l'*Anis-vert*, par la suite la séparation des principaux composés de ces huiles essentielles et leurs indentifications, finalement nous avons mentionné quelques applications pharmaceutiques de ces substances actives.

## IV.2. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont généralement présentes à de très faibles concentrations dans les plantes à parfums. Avant de pouvoir utiliser ou analyser de telles substances, il est nécessaire de les extraire de leur matrice. La méthode d'extraction des huiles essentielles la plus simple est l'hydrodistillation. Il s'agit de la méthode la plus anciennement utilisée, on utilise dans notre travail l'hydrodistillation simple pour l'extraction d'HE de l'*Anis-vert*, d'autre part l'HE de *clou de girofle* est extrait par l'hydrodistillateur de type clevenger. Cette démarche est résumée par l'organigramme suivant :



À la fin d'hydrodistillation, on observe un distillat en deux phases, l'une organique et l'autre aqueuse. Il s'agit d'une (émulsion) entre l'eau majoritaire et les huiles essentielles de clou de girofle et de l'anis-vert. Après les étapes d'extraction on obtient les HEs de deux plantes qui sont montré dans la **Figure IV.2**



**Figure IV.2 : Essences obtenues à partir des deux plantes**

### IV.3. Etude des propriétés des huiles essentielles

La détermination des propriétés des HEs joue un rôle très important pour caractériser et identifier la présence des huiles essentielles.

#### IV.3.1. Propriétés organoleptiques des HE

Les caractères organoleptiques de nos huiles essentielles (aspect, couleur, odeur) sont résumés dans le **Tableau IV.1**.

<i>Plante</i>	<i>Pimpinella anisum L</i>	<i>Sywygium aromaticum L</i>
<i>Aspect</i>	Liquide	Liquide
<i>Couleur</i>	Jaune claire	Jaune claire
<i>Odeur</i>	Caractéristique doux très forte	Caractéristique épicée très forte

**Tableau IV.1 : Caractéristiques organoleptiques des HEs extraites**

D'après le **Tableau IV.1**, on remarque que les HEs obtenues sont des liquides avec une odeur propre à la matière végétale, épicée pour **sywygium aromaticum L** par contre le **Pimpinella anisum L** est caractérisé par une forte odeur douce.

Les HEs de **Pimpinella anisum L** et **sywygium aromaticum L** ont une couleur jaune clair.

- Les caractéristiques organoleptiques des essences de l'anis-vert et de clou de girofle citées dans la littérature, sont rassemblées dans le **Tableau IV.2**

<i>Plantes</i>	<i>Pimpinella anisum L</i>	<i>Sywygium aromaticum L</i>
<i>Aspect</i>	Liquide transparent, peut se congeler	Liquide mobile limpide parfois, légèrement visqueux
<i>Couleur</i>	Du jaune à incolore	Jaune très claire
<i>Odeur</i>	Doux et anisé, point d'Anéthol	Epicée caractéristique de l'eugénol
<i>Références</i>	[1]	[2]

**Tableau IV.2 : Caractéristiques des HEs étudiées selon la littérature**

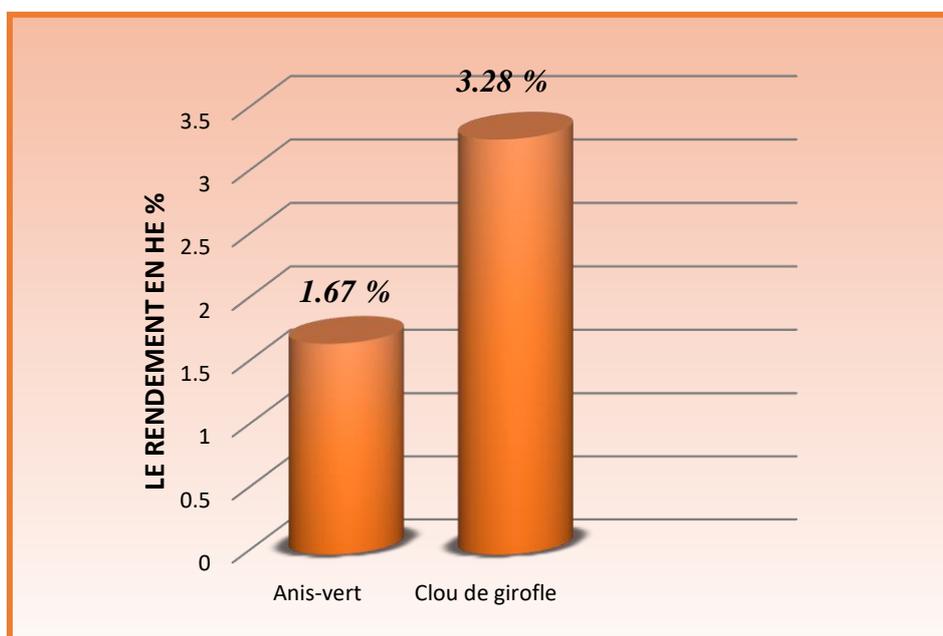
- Par comparaison entre nos résultats expérimentaux avec ceux de la littérature, on remarque que les caractéristiques organoleptiques de nos HEs sont en accord avec ceux rapportées par les références.

### IV.3.2. Rendement en HE

Le rendement en huile essentielle est estimé en fonction de la masse totale du végétal. À l'échelle de laboratoire à partir de Clou de girofle et l'anis-vert les rendements des HES extraites par hydrodistillation sont illustrées dans la **Tableau IV.3**

<i>Plantes</i>	<i>Pimpinella anisum L</i>	<i>Sywygium aromaticum L</i>
<b>Rendement moyen en HE (%)</b>	1.67	3.28

**Tableau IV. 3 : Tableau des rendements en HES obtenues**



**Figure IV.3 : Représentation graphique des rendements en HE**

- En générale, on peut dire que les rendements des huiles essentielles de chaque plante étudiée sont acceptables par rapport à la masse de la matière végétale.
- ✚ Une étude faite par **Iness Bettaieb Rebeja et al. 2019 [3]**, sur Composés bioactifs et activité antioxydante de **Pimpinella anisum L**, accessions à différents stades de maturation, ils ont trouvé un rendement entre (1.22% à 3.09%) Ce résultat est correspond à notre valeur obtenue 1,67%.

- ✚ Dans l'étude de **Gülçin et al. 2003**, **Kosalec et al. 2005** [4,5], sur Criblages des activités antioxydantes et antimicrobiennes d'extraits de graines d'anis (**Pimpinella anisum**) on indique que l'anis est une plante aromatique de la famille des Apiacées et Présenté un rendement en huiles essentielles entre (1-4%) cet intervalle est conforme avec notre résultat.
- ✚ Une étude faite par **Atmani Hanane et Baira Kawther., 2014** [6] sur **Sywygium aromaticum L** récoltée au Est de l'Algérie et plus exactement à correspondant à Constantine, ils ont trouvé le rendement est égale de (3.5%), ce résultat est relativement proche de notre (3.28%).
- ✚ Concernant le **Sywygium aromaticum L**, une étude faite par **Boubrit et Boussad, 2007** [7], a donné un rendement moyen en HE voisin de (3,5%) ce résultat est semblable à nôtre. D'une manière générale nos résultats restent en accord avec celui citées dans la littérature.

Généralement, le rendement des huiles essentielles est différent d'une famille botanique à une autre, d'une espèce à une autre et même entre les plantes de la même espèce. De plus, cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs dont essentiellement, l'origine, l'espèce, la période de récolte, le climat, le stade de la croissance, la durée de séchage, la conservation du matériel végétal et la technique d'extraction des huiles essentielles. [8,9]

☞ On peut dire qu'en terme de quantité et malgré que ce pourcentage semble inférieur mais dans la pratique reste satisfaisant pour mener bien à une telle étude.

### IV.3.3. Les indices physico-chimiques

Les HEs sont caractérisées par leurs propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction, PH...).

Les résultats de la détermination des propriétés physico-chimiques des essences obtenues à partir des plantes étudiées sont consignés dans le **Tableau IV.4**

<i>Plantes</i>	<i>Pimpinella anisum L</i>	<i>Sywygium aromaticum L</i>
<i>Densité relative à 20 °C <math>d_{20}^{20}</math></i>	0,96	0,97
<i>Indice de réfraction</i>	1,533	1,524
<i>PH</i>	5	5

**Tableau IV.4 : Caractéristiques physicochimiques des HEs extraites**

- Le **Tableau IV.5** montre les constants physicochimiques des HEs de clou de girofle et l'anis-vert retrouvés dans les littératures :

<i>Plantes</i>	<i>Pimpinella anisum L</i>	<i>Sywygium aromaticum L</i>
<i>Densité relative à 20 °C <math>d_{20}^{20}</math></i>	0.980 - 0.990	1.042 - 1.054
<i>Indice de réfraction</i>	1.552 - 1.561	1.5280 - 1.5346
<i>PH</i>	4 - 6	5.5 - 7
<i>Références</i>	[1]	[2]

**Tableau IV.5 : Caractéristiques physicochimiques des HEs puisées dans la littérature**

D'après les résultats mentionnés dans les deux tableaux on constate que :

- Premièrement, les densités de nos huiles essentielles sont inférieures à celle de l'eau et sont conformes aux résultats puisés dans la littérature. En effet la densité est l'un des paramètres de pureté des HEs.
- Deuxièmement, Les indices de réfractons obtenues sont conformes avec les normes indiquées dans la littérature. Ce facteur est généralement utilisé pour l'identification et comme un critère de pureté des huiles essentielles et des autres composés liquides.

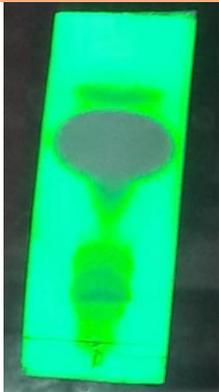
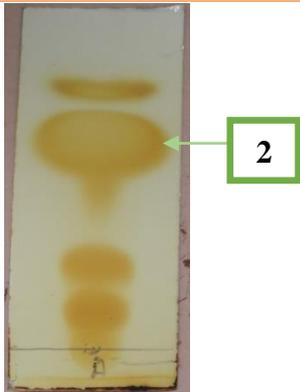
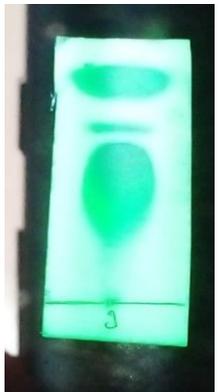
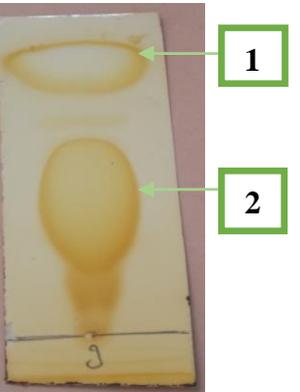
Chaque substance a son indice de réfraction spécifique. Plus l'indice de réfraction d'un produit est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande. Cette pureté définie dans des intervalles considères comme acceptable dans ce cas, on peut considérer que notre HEs sont pures.

- Troisièmement, selon les analyses réalisées, le **PH** de deux huiles essentielles obtenues est environ **5** c'est PH acide joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et biochimiques et peut influencer les propriétés stabilisatrices d'une HE (effets antioxydant et antimicrobien) et conforme avec les normes de la littérature. L'acidité de ces huiles essentielles soit de l'anis-vert ou bien clou de girofle est due à la composition chimique des HEs qui se considère comme donneur des H<sup>+</sup>.

#### IV.4. Analyse par chromatographie sur couche mince

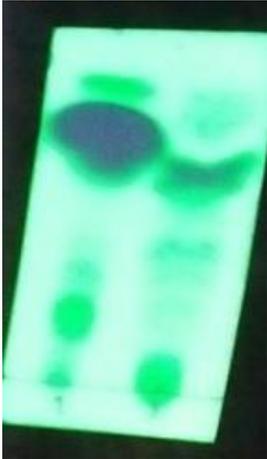
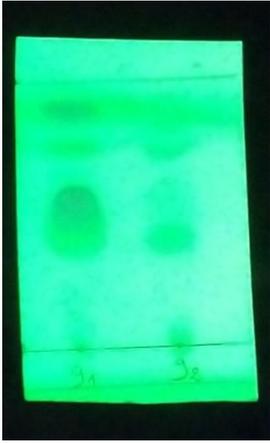
Cette technique nous donne une indication sur le contenu des extraits analysés et procure les informations nécessaires pour la poursuite d'autres études.

Pendant l'analyse CCM, plusieurs systèmes de solvants ont été essayés sur les huiles extraites, en utilisant des plaques analytiques recouvertes de gel de silice. Chaque échantillon, avec un système spécifique, donne une bonne séparation et une visibilité acceptable des spots par le révélateur utilisé, comme il est indiqué sur les chromatogrammes illustrés dans le **Tableau IV. 6**

	$\lambda = 254 \text{ nm}$	Iode
<p><i>Anis-vert</i>  <i>Éluant</i>  <i>(50% dichlorométhane +</i>  <i>50% n-hexane)</i></p>		
<p><i>Clou-girofle</i>  <i>Éluant</i>  <i>(80%</i>  <i>dichlorométhane +</i>  <i>20% n-hexane)</i></p>		

**Tableau IV. 6 : Les chromatogrammes des huiles essentielles de l'anis-vert et clou de girofle**

- Les résultats obtenus montrent des taches bien distinctes de différents facteurs de rétention ce qui reflète la différence dans la composition de deux plantes qui bien claire au niveau des chromatogrammes obtenus à l'égard de cette étude.
- D'après le chromatogramme de l'HE de l'Anis-vert, on remarque que la tache (2) de grande taille présentée la composé majoritaire (anéthol), la migration de cette tache dans l'éluant (50% dichlorométhane +50% n-Hexane), correspond à un rapport frontal égal  $R_f = 0.80$
- Le chromatogramme de l'HE de clou de girofle indiqué la présence de façon très nette le constituant dominant (eugénol) correspond à la grande tache (2) avec un rapport frontal  $R_f = 0.62$ , et par la suite le deuxième constituant (acétyl d'eugénol) correspond à la tache (1) avec un rapport frontal  $R_f = 0.92$  éluee dans le système (80% dichlorométhane + 20% Hexane)
- ✚ A travers les résultats donnés par **Said CHAKIR et al, 2012 [10]**, détaillé la composition chimique d'huile essentielle de l'anis-vert, et constituée majoritairement de : L'(E)-anéthol (**81,19%**).
- ✚ D'autre part, l'étude de **Romilde Iannarelli et al, 2018 [11]**, indiqué que les huiles essentielles de Pimpinella anisum L contiennent essentiellement l'(E) anéthol (**97,9%**) comme un constituant majoritaire.
- ✚ Pour le clou de girofle une étude de **TEUSHER et al. 2005 [12]**, dit que les principaux constituants de l'huile essentielle de clou de girofle est l'eugénol (teneur relative : **70 % à 90 %**), l'acétate d'eugénol (**17 %**).
- ✚ La **Pharmacopée européenne** définit des intervalles de quantité recommandée pour chaque constituant des HEs de clou de girofle : **[13]**
  - **75,0 et 88,0 %** pour l'eugénol.
  - **4,0 à 15,0 %** pour l'acétyleugénol (acétate d'eugénol).

	$\lambda = 254 \text{ nm}$	Iode
<p><i>Anis-vert</i>  <i>Éluant</i>            (50% dichlorométhane +            50% n-hexane)</p>		
	1 : HE extraite 2: HE com	1 : HE extraite 2 : HE com
<p><i>Clou de girofle</i>  <i>Éluant</i>            (80%            dichlorométhane +            20% n-hexane)</p>		
	(1) HE extrait (2) HE com	1 HE extrait 2 HE com

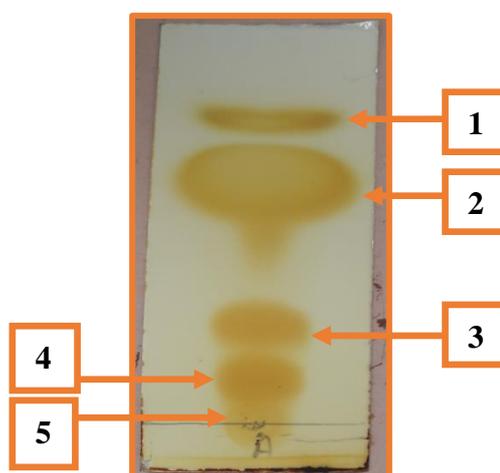
**Tableau IV.7 : chromatogrammes de la comparaison**

- L'analyse chromatographique des différents échantillons (HE extrait + huile commerciale) de deux plantes a révélé une variété des composants dans les deux échantillons.
- Par comparaison on trouve qu'il existe une similitude entre la composition de deux échantillons (HE extraits et HE commerciale) de deux plantes étudiées. Cette similitude est due à la migration de spots qui sont au même niveau c.-à-d. ont le même rapport frontal, donc les deux échantillons possèdent les mêmes constituants.

## IV.5. Séparation des principaux constituants

### IV.5.1. Séparation de l'anéthol d'huile essentielle de l'anis-vert

Pour l'analyse CCM en utilisant un mélange de solvant de n-Hexane et dichlorométhane, le chromatogramme obtenu montre clairement l'existence de cinq taches ayant des différentes  $R_f$ .



- D'après le chromatogramme la deuxième tache présente la fraction majoritaire. Cette dernière est séparée par CC, en utilisant le gel de silice comme phase stationnaire et l'éluant (n-hexane et dichlorométhane) comme phase mobile, l'analyse par CCM des contenants des erlenmeyers donne des chromatogrammes illustrés dans le chapitre précédent.
- Après évaporation, on obtient la deuxième fraction sous forme d'un liquide huileux avec des caractéristiques illustrées dans le **Tableau IV.8**



**Figure IV.4 : Le produit majeur isolé à partir de l'HE de l'anis-vert**

<i>Caractéristiques</i>	<i>Valeurs</i>
<i>Masse (g)</i>	2,22
<i>Rendement (%)</i>	74
<i>Couleur</i>	Transparente
<i>Odeur</i>	Agréable

**Tableau IV.8 : représente les caractéristiques de la deuxième fraction**

- ✚ L'étude de **Karimzadeh F et al. 2012 [14]**, pour la **Pimpinella anisum L**, indiqué l'anéthol est un composé organique de la famille des phénylpropènes. Et à un goût clairement sucré et est treize fois plus sucré que le sucre. Le goût ressenti est agréable même avec des concentrations élevées. De façon très claire notre résultat est concorde avec cette étude.
- ✚ Selon l'**aromathérapie. 2009 [15]**, à l'état liquide l'anéthol est un éther-oxyde apolaire et hydrophobe incolore, alors l'anéthol qui nous trouvé a couleur transparent est en accord avec cette information.
- ✚ Dans l'article de **Mohammed A.T. Reheem et Mona M. Oraby.2015 [16]**, pour l'étude d'antimicrobien, cytotoxique et nécrotique de l'huile essentielle de **Pimpinella anisum L** sont montrent que le rendement de l'anéthol extraite est égal **82,1%** cette valeur est proche à notre résultat.

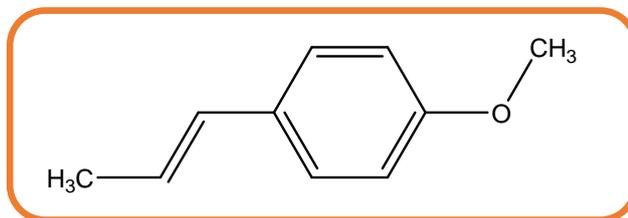
#### IV.5.1.1. Analyse par chromatographie sur couche mince

Pour vérifier la composition chimique de la fraction (2), l'analyse par CCM donnée des tâches identiques (5, 6, 7,8), qui indiquée la présence d'un seul composé, comme illustre la **Figure IV.5**



**Figure IV. 5 : Chromatogramme de la deuxième fraction**

- ✚ L'étude théorique d'Embong et al. [17], sur cette plante (**Anis-vert**) appartient à la famille d'**Apiaceae**, montre qu'elle est très riche en trans-anéthol avec **57,4%** et **75,2%**. On peut dire que cette fraction présente ce composé ayant la structure chimique suivante :



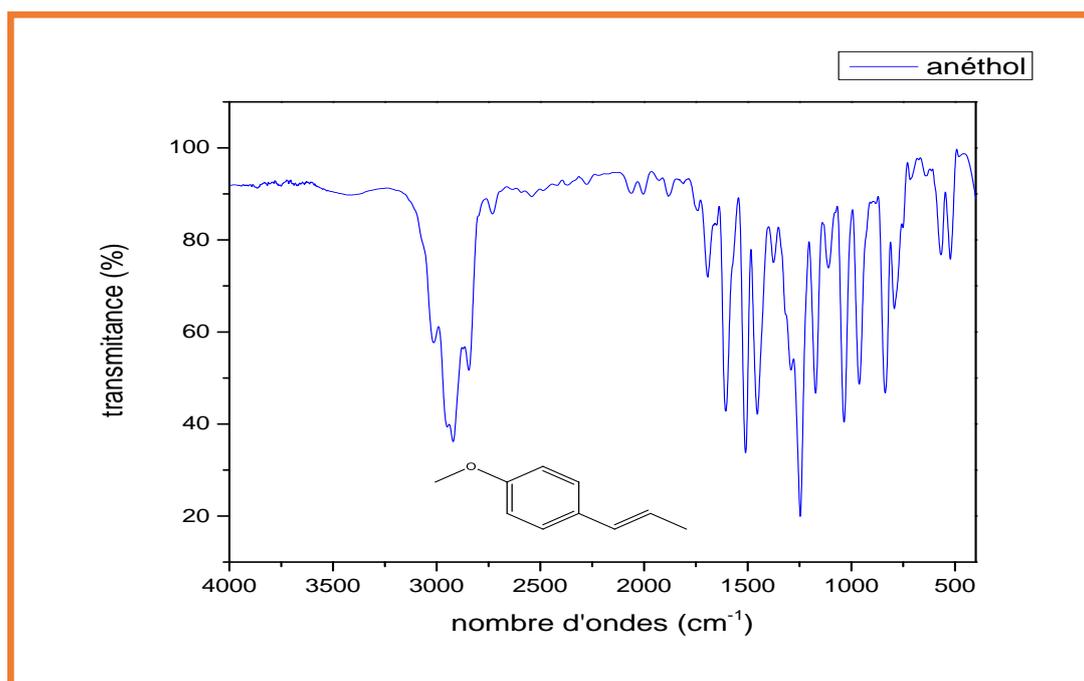
<i>Formule brute</i>	<b>C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O</b>
<i>Nom trivial</i>	Anéthol
<i>Nom systématique</i>	Trans-1-méthoxy-4-(prop-1-enyl) benzène

#### IV.5.1.2. Analyse par spectroscopie infrarouge IRTF

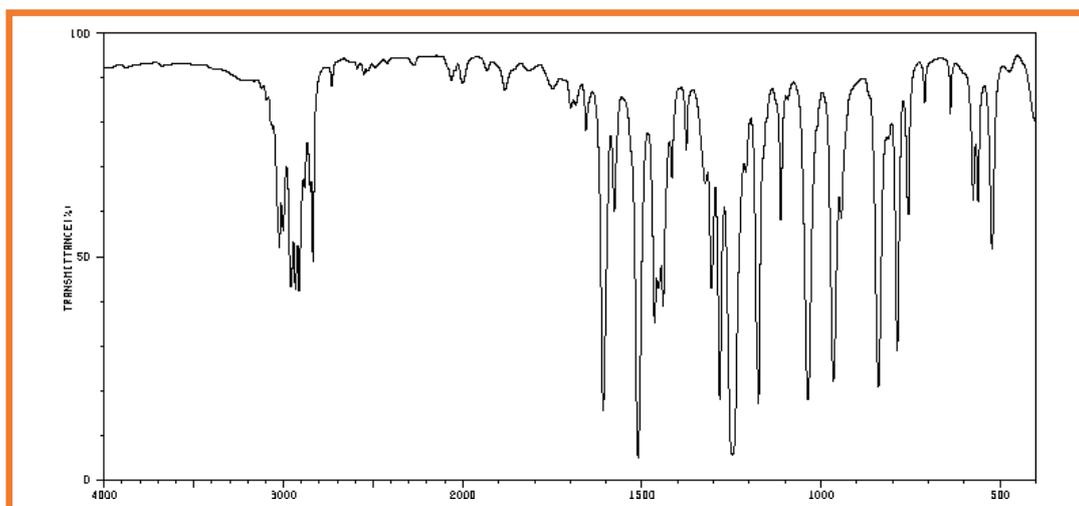
L'analyse par spectroscopie infrarouge IRTF du produit isolé, donne un spectre semblable à celle de référence, qui montre l'existence des bandes d'absorption caractéristiques.

#### Anéthol

#### Notre spectre



## Spectre de Référence [18]



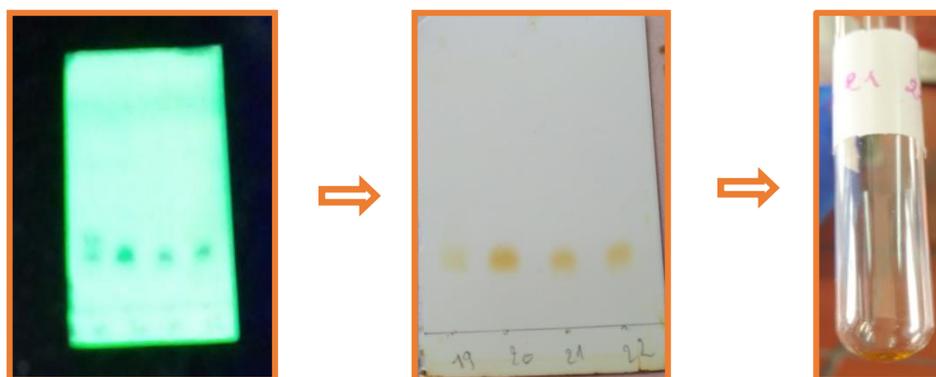
- Les bandes les plus significatives révélées sur les spectres IR de cette fraction sont rapportées sur le **Tableau IV.9**

<i>Fréquence (cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>Groupement correspondante</i>	<i>Type de Vibration</i>	<i>Intensité</i>	<i>Forme</i>
<b>2966 2800 2900</b>	C-H aliphatique	Elongation	Fort Fort Moyenne	Fines
<b>3000</b>	C-H aromatique	Elongation	Moyenne	Fine
<b>1666 800</b>	RCH=CHR'	Elongation Déformation	Faible Moyenne	Fines
<b>1600 et 1466</b>	C=C aromatique	Élongation	Moyennes	Fines
<b>1300</b>	=C-O-C	Elongation	Fort	Fine
<b>1000</b>	O-CH <sub>3</sub>	Elongation	Moyenne	Fine

**Tableau IV.9 : Les bandes caractéristiques de la deuxième fraction**

## IV.5.2. Séparation de l'anis aldéhyde

Cette fraction a été obtenue après analyse par CCM des sous fractions (20, 21, 22) qui montre l'existence d'un seul produit présent un  $R_f = 0.25$  leurs caractéristiques organoleptiques sont rapportés dans le **Tableau IV.10**



**Figure IV.6 : Regroupement de la fraction (20, 21, 22)**

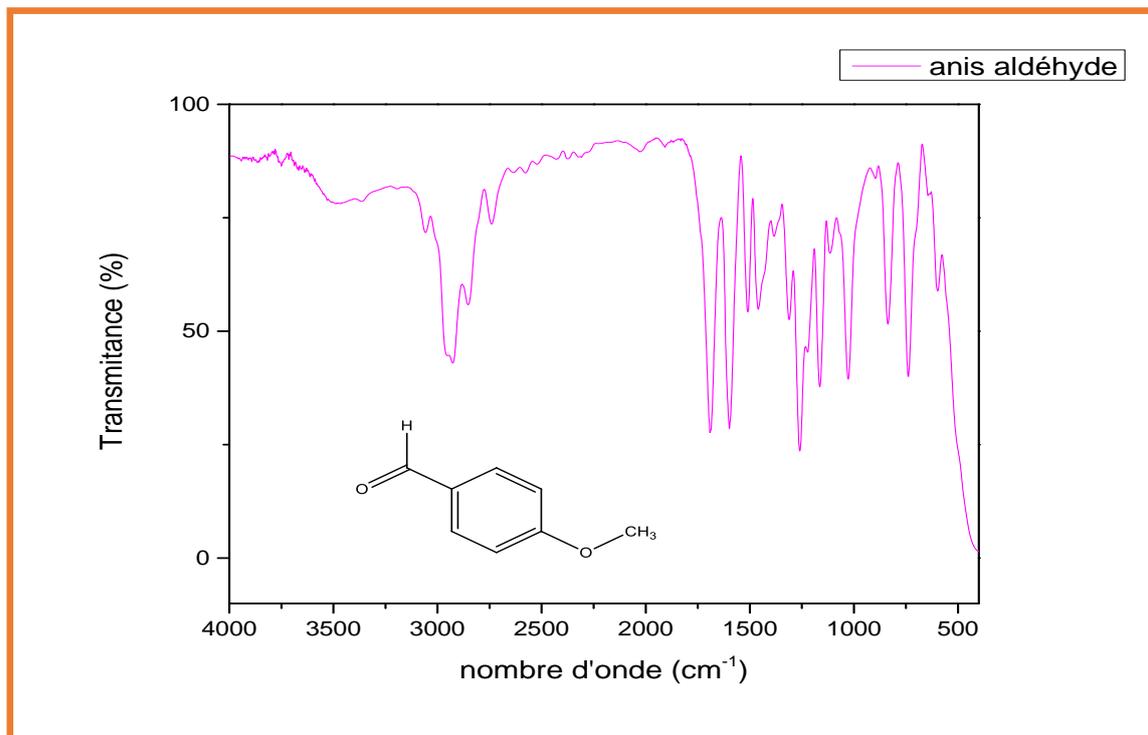
<i>Caractéristiques</i>	<i>Valeurs</i>
<i>Aspect</i>	Liquide
<i>Couleur</i>	Jaune foncé
<i>Odeur</i>	Doux très fort

**Tableau IV.10 : Les caractéristiques organoleptiques de la fraction (20, 21,22)**

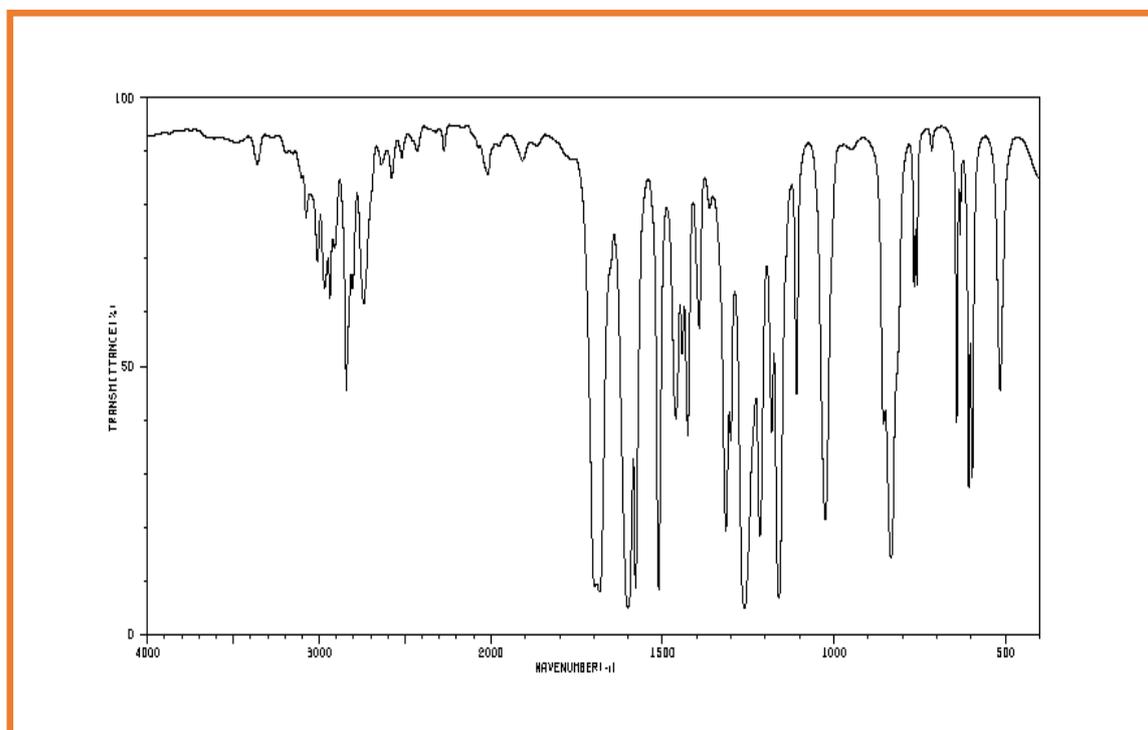
- L'analyse spectroscopique IRTF de cette fraction donne un spectre semblable avec le spectre de référence de l'anis aldéhyde.

## Anis aldéhyde

## Notre spectre



## Spectre de référence [19]



- Les groupements fonctionnels caractéristiques de la structure de ce produit sont rassemblés dans **Tableau IV.11**

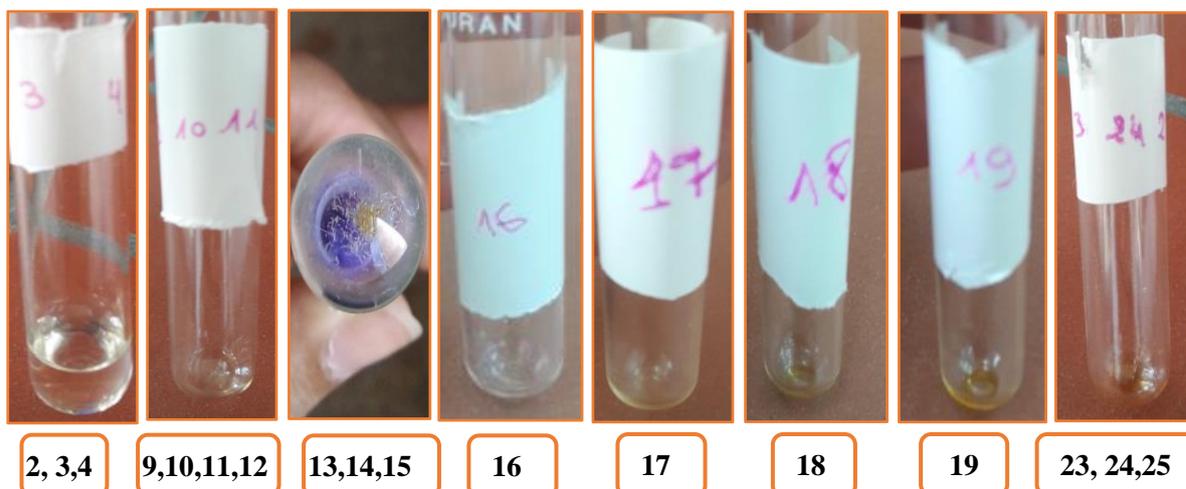
<i>Fréquence (cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>Groupement correspondante</i>	<i>Type de vibration</i>	<i>Intensité</i>	<i>Forme</i>
2933	C-H aliphatique	Elongation	Moyenne	Fine
1700	C=O Aldéhyde	Elongation	Fort	Fine
1600 et 1433	C=C Aromatique	Elongation	Fort Faible	Fines
1266	O-CH <sub>3</sub>	Elongation	Fort	Fine

**Tableau IV. 11 : Les bandes caractéristiques de l'anis aldéhyde**

- D'après le chromatogramme de la **Figure IV.6** on remarque que les taches sont de faible taille ce qui donne une information dit que l'anis aldéhyde dans les HES de l'anis-vert est présenté par une quantité faible, ont a confirmé ce résultat par l'étude de **Staeseche et al. 1994 [20]**, qui sont définissent la teneur de l'anis aldéhyde dans les huiles essentielles de l'anis-vert par une zone entre (0,1 et 1,4%).

#### IV.5.3. Les caractéristiques organoleptiques des autres fractions

La séparation par chromatographie sur colonne de l'anéthol donne aussi des fractions qui sont des composés organiques des caractéristiques organoleptiques claires.



**Figure IV.7 : les fractions des produits isolés d'HE de l'anis-vert**

- Les caractéristiques organoleptiques de ces fractions expliquées dans le **Tableau IV.13** Suivante :

<i>Fractions</i>	<i>Caractéristiques organoleptiques</i>		
	<i>Aspect</i>	<i>Couleur</i>	<i>Odeur</i>
<b>2, 3,4</b>	Liquide	Transparent	Doux très fort
<b>9, 10, 11,12</b>	Liquide	Jaune pâle	Doux fort
<b>13, 14,15</b>	Traces solides	Jaune foncé	Doux fort
<b>16</b>	Liquide	Transparente	Doux fort
<b>17</b>	Liquide	Jaune très claire	Doux
<b>18</b>	Liquide	Jaune foncé	Doux
<b>19</b>	Liquide	Jaune foncé	Doux
<b>23, 24,25</b>	Liquide	Jaune brun	Doux très fort

**Tableau IV. 12 : Les caractéristiques organoleptiques d'autres fractions**

**Remarque 1 :** Nous avons éliminé les sous-fractions 1, 26 et 27 pendant l'accumulation des contenus de chaque tube car après la révélation, nous avons remarqué le manque des taches qui indique l'absence totale des composants, Donc on peut dire que ces fraction présentent seulement le solvant.

**Remarque 2 :** le dernier chromatogramme donne lieu à l'apparition d'une seule tâche bien dimensionner ce qui indique la présence d'un seul composé (fraction 28). Leurs caractéristiques sont détaillées dans le **Tableau IV.12** :



28

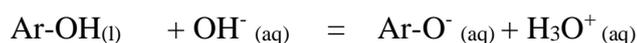
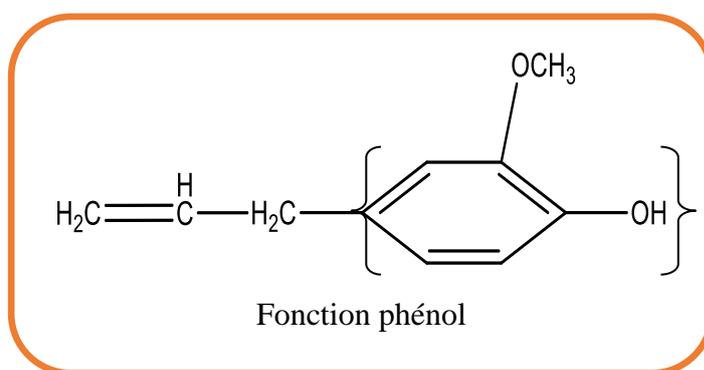
<i>Caractéristiques</i>	<i>Valeurs</i>
<i>Aspect</i>	Liquide
<i>Couleur</i>	Jaune brun
<i>Odeur</i>	Doux

**Tableau IV.13 : Les caractéristiques organoleptiques de la fraction 28**

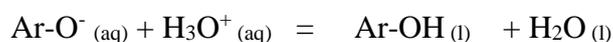
☞ À travers l'analyse par CCM et ses propriétés organoleptiques on peut dire que ce produit est pur et parmi les composés organiques aromatiques de cette plante, ayant une très forte odeur. Malheureusement sa faible teneur ne pas apprécier pour l'identifier.

#### IV.5.4. Séparation de l'eugénol et l'acétate d'eugénol d'huile essentielle de clou de girofle

A travers la décantation (extraction liq-liq) des huiles essentielles par le solvant dichlorométhane ce qui permet à l'eugénol et l'acétate d'eugénol à passer dans la phase organique car ils sont plus solubles. L'eugénol fait partie de la famille des phénols qui se caractérise par un groupement hydroxyle greffé sur le noyau benzénique. Les phénols sont en général plus acides que les alcools à cause de leurs plus grands nombres de structures de résonances de leur forme déprotonés. Grâce à cette propriété on pourra extraire l'eugénol de la phase organique avec une solution basique. L'eugénol se retrouvera en phase aqueuse sous forme d'ion phénolate (l'oxygène du groupe méthoxy contribue à la structure de résonance). De plus, l'acétyl'eugénol présent dans la phase organique ne peut pas se déprotoner (pas d'hydrogène capable de partir), il ne peut donc pas réagir avec la base.

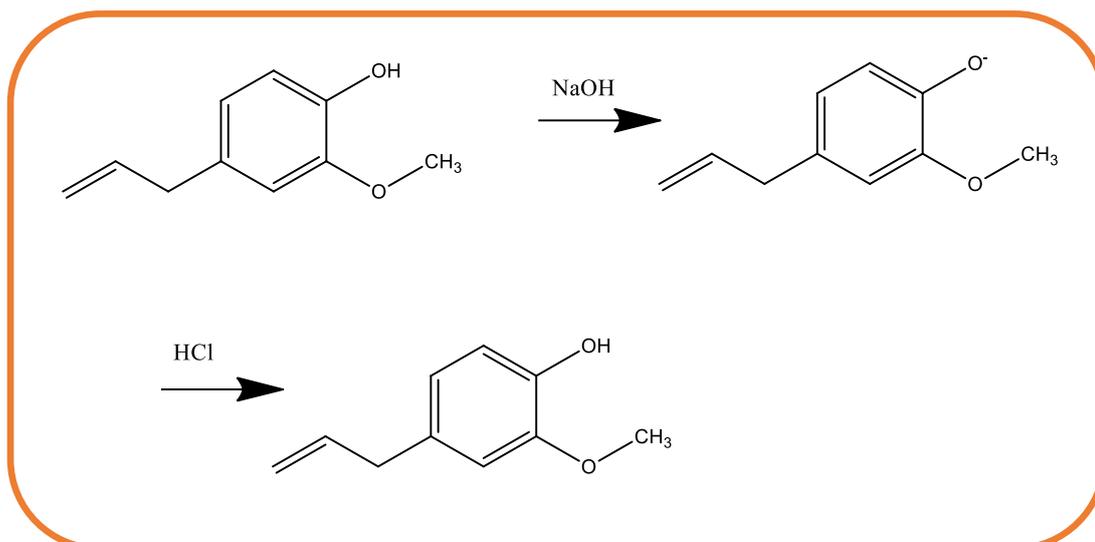


Pour séparer l'eugénol de la phase aqueuse, on ajoute une solution d'acide chlorhydrique concentré jusqu'à l'obtention d'un pH acide à 1, par évaluation avec un papier pH. Alors une émulsion se forme, l'émulsion elle est due aux gouttelettes d'eugénol dans l'eau.



Cette réaction régénère l'eugénol.

L'acidification de la phase aqueuse par HCl permet de réprotonner le phénolate d'eugénol en eugénol qui est extraite pour la deuxième fois par le dichlorométhane.



Après l'évaporation de deux extraits on obtient deux liquides huileux avec les caractéristiques suivantes :



Acétate d'eugénole

Eugénole

Figure IV. 8 : Les produits isolés à partir d'huile essentielle de clou de girofle

<i>Caractéristique</i>	<i>Valeurs</i>
<i>Masse (g)</i>	1,54
<i>Rendement (%)</i>	78,97
<i>Couleur</i>	Jaune
<i>Odeur</i>	Épicée très forte

**Tableau IV. 14 : représente les caractéristiques d'eugénol**

<i>Caractéristique</i>	<i>Valeurs</i>
<i>Masse (g)</i>	0,33
<i>Rendement (%)</i>	16,92
<i>Couleur</i>	Transparente
<i>Odeur</i>	Épicée très forte

**Tableau IV.15 : représente les caractéristiques de l'acétate d'eugénol**

- ✚ L'étude de **Mathieu Deshaies et Jean-Philippe Gamache.2013 [21]**, nous à permis de comparer les caractères organoleptiques de l'**eugénol** par leurs résultats qui disent ; L'**eugénol** est un phénol qui donne la couleur jaune pâle à l'huile essentielle de **clou de girofle**. C'est aussi celui-ci qui donne la forte odeur caractéristique de cette même épice. Donc cette étude est en accord avec nos résultats.
- ✚ D'après la **pharmacopée européenne 3<sup>e</sup> édition**, l'huile essentielle des clous de girofle contient de (**75 à 88 %**) d'eugénol cette information est en similitude avec notre résultat. [22]
- ✚ Pour l'acétate d'eugénol la recherche de **Luebke, William tgsc. 1996 [23]**, montré que ce produit est d'odeur épice, et dans la fiche **de données de sécurité. 2017 [24]**, dans la section des propriétés physicochimiques on trouve la couleur de l'acétate d'eugénol est jaune clair. Alors nos résultats avec celles de la littérature.
- ✚ Dans l'étude de la Récapitulatif des quantités, familles chimiques et propriétés des principaux composants des HEs de clou de girofle [25]. Le rendement de l'acétate d'eugénol est situé dans l'intervalle cité dans la littérature (**4-16%**).

## IV.5.4.1. Analyse par chromatographie sur couche mince

L'analyse par CCM de l'eugénole et l'acétate d'eugénole isolés confirme la présence de ces produits d'une façon très claire par des taches bien dimensionnées :

	$\lambda = 254 \text{ nm}$	Iode
<p><i>HEs+eugénole+acétate d'eugénole</i>  <i>Eluant</i>  <i>(80% dichlorométhane + 20% n-hexane)</i></p>		

**Tableau IV.16 : chromatogramme obtenu après séparation de l'eugénole et l'acétate d'eugénole**

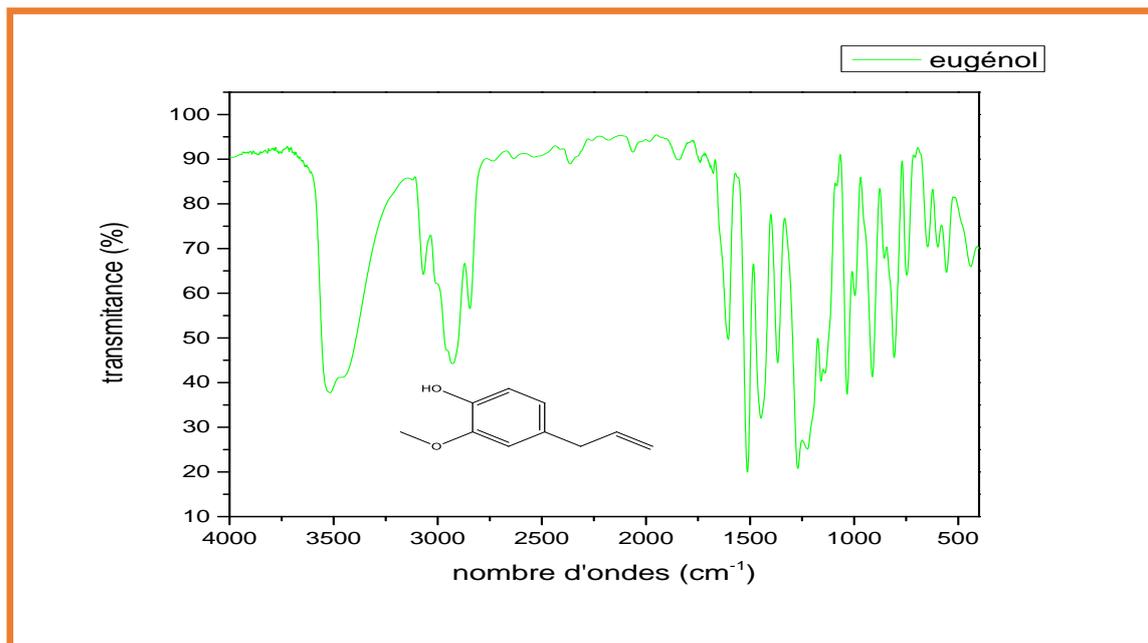
- On a indiqué précédemment que la haute tache correspond à l'acétyl'eugénole et la grande tache pour l'eugénole. Après séparation, on remarque la présence d'une petite tache de l'acétate d'eugénole dans le dépôt de l'eugénole, ceci indique l'existence des traces de l'ACg dans le produit majoritaire Eg et peut être éliminé par une autre séparation.
- De même pour l'acétate d'eugénole, on trouve une grande tache montre que le produit isolé est présente par une quantité considérable, avec des traces de l'eugénole qui est évident est réduite par une deuxième séparation.

#### IV.5.4.2. Identification par spectroscopie infrarouge IRTF

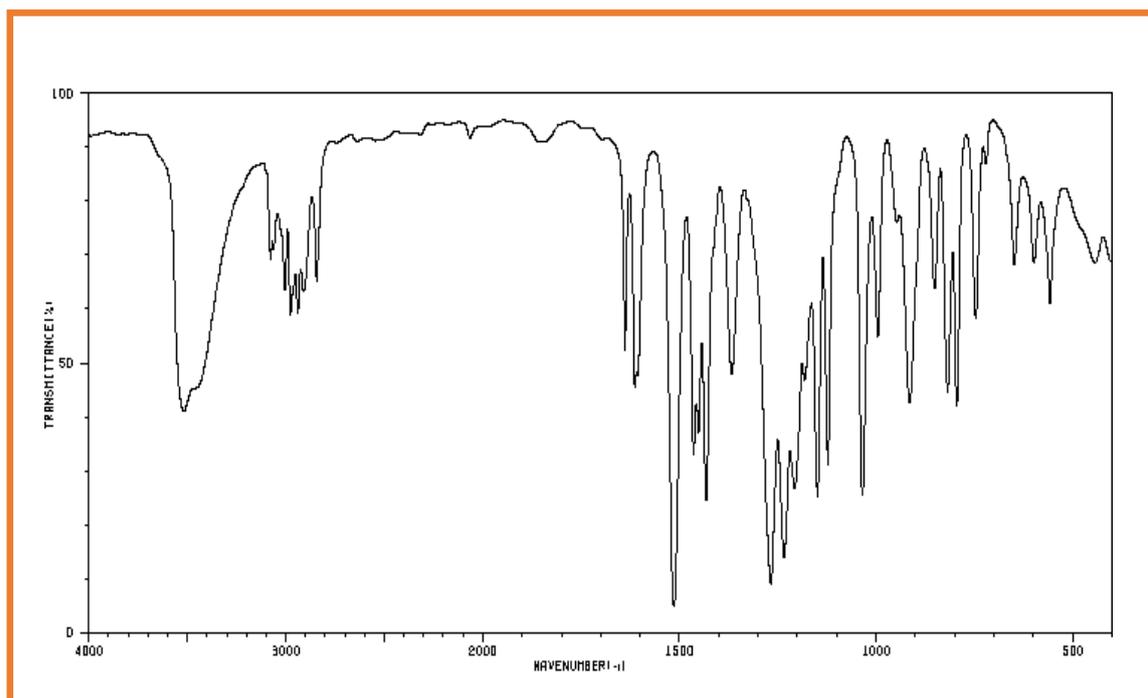
Les deux constituants d'huile essentielle de clou de girofle sont traités par spectroscopie infrarouge, ce traitement donne des spectres similaires avec ceux de la littérature.

#### Eugénol

#### Notre spectre



#### Spectre de référence [26]



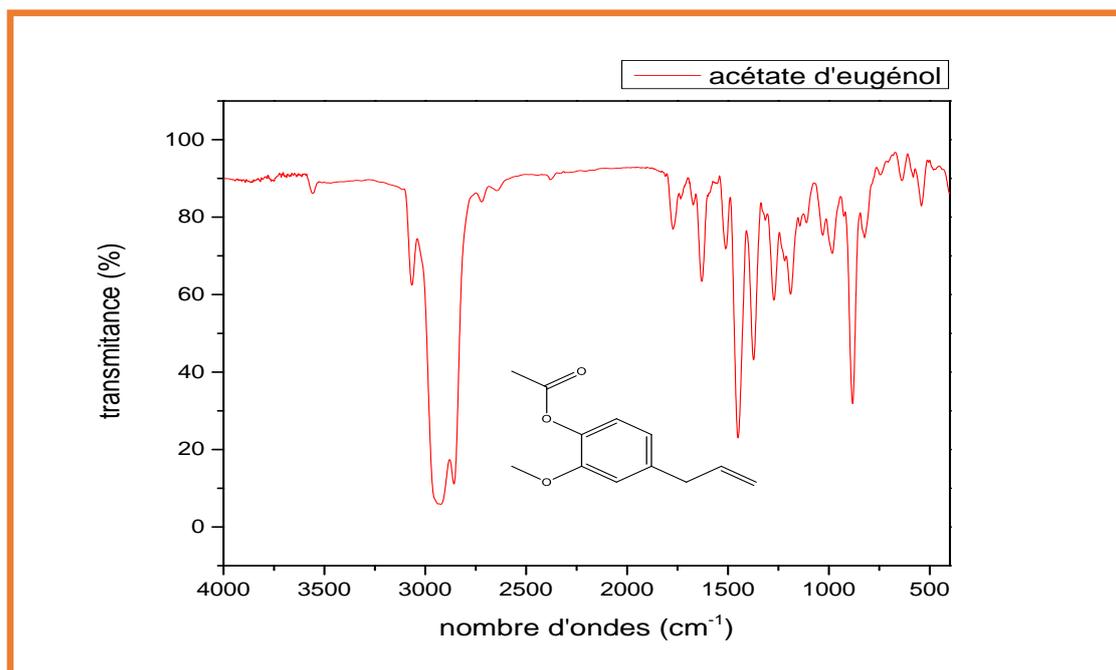
➤ Les bandes caractéristiques de l'eugénol sont présentés dans le **Tableau IV.17**

<i>Fréquence (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</i>	<i>Groupelement correspondante</i>	<i>Type de Vibration</i>	<i>Intensité</i>	<i>Forme</i>
<b>3500</b>	O-H phénol	Élongation	Large	Moyenne
<b>1600</b>	$\text{CH}_2=\text{CHR}$	Élongation	Faible	Fine
<b>2866 2966 3000</b>	C-H aliphatique	Élongation	Moyennes	Fine Moyenne Fine
<b>1366 1466</b>		Déformation	Moyennes	Fines
<b>1200</b>	O-R	Elongation	Fort	Fine

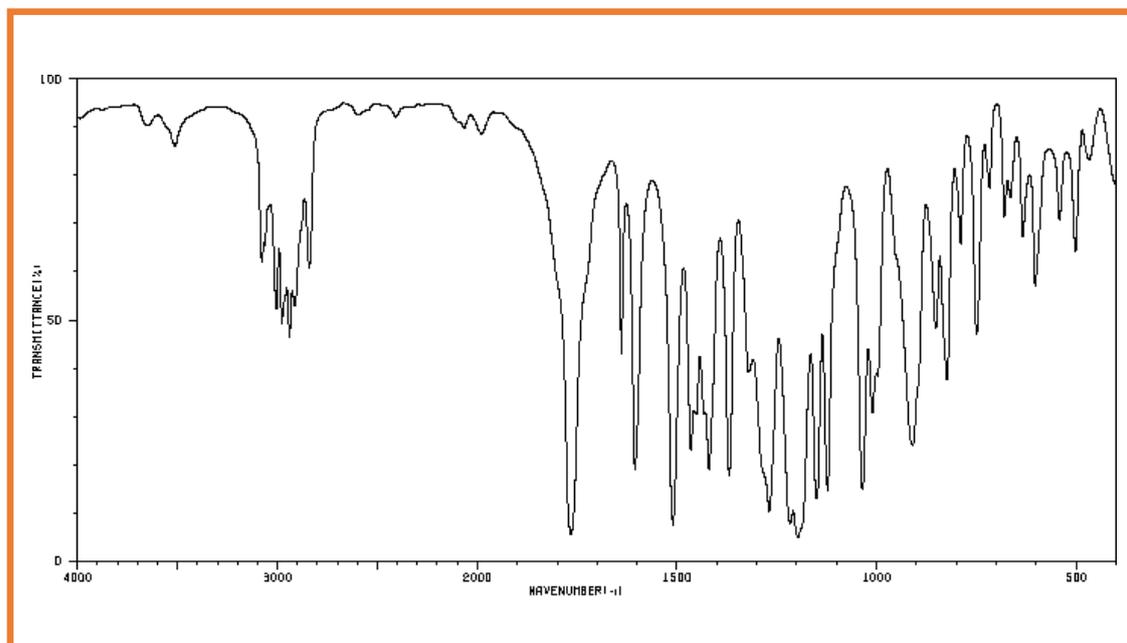
**Tableau IV. 17 : Les bandes caractéristiques de l'eugénol**

## Acétate d'eugéno

## Notre spectre



## Spectre de référence [27]



- Les bandes caractéristiques d'acétate d'eugénol sont présentés dans le **Tableau IV.18**

<i>Fréquence (<math>cm^{-1}</math>)</i>	<i>Groupement correspondante</i>	<i>Type de Vibration</i>	<i>Intensité</i>	<i>Forme</i>
<b>2900 2966</b>	C-H aliphatique	Elongation	Fort	Fines
<b>1766</b>	C=O ester	Elongation	Faible	Fine
<b>1500</b>	C=C aromatique	Elongation	Fort	Fine
<b>1600 875</b>	$H_2C=CHR$	Elongation Déformation	Faible Fort	Fines
<b>1266</b>	C-O	Elongation	Faible	Fine
<b>3066</b>	C-H aromatique	Elongation	Faible	Fine

**Tableau IV. 18 : Les bandes caractéristiques de l'acétate d'eugénol**

#### IV.6. Applications pharmaceutiques

D'une façon générale les plantes médicinales peuvent être utilisées pour la fabrication des médicaments car ils possèdent des substances naturelles actives responsables de divers effets thérapeutiques.

- Les propriétés thérapeutiques des produits isolés sont indiquées dans le **Tableau IV.19**

<i>Nom de la molécule</i>	<i>Quantité</i>	<i>Propriétés</i>
<i>Anéthol</i> (Anis-vert) [28]	80-90%	- Acaricide. - Carminative. - Spasmolytique intestinale.
<i>Anisaldéhyde</i> (Anis-vert) [29, 30,]	1,5-2,5%	- œstrogénique. - Répulsif vis-à-vis <i>Aedes albopictus</i> (moustique tigre). - Fabrication de parfum.
<i>Eugénol</i> (Clou de girofle) [25]	75-88%	- Anti-infectieux. - Anesthésiant. - Antiagrégant plaquettaire.
<i>Acétate d'eugénol</i> (Clou de girofle) [25]	4-14%	- Antispasmodique. - Musculotrope. - Stimulant générale.

**Tableau IV. 19 : Les propriétés thérapeutiques de nos produits isolés**

- Ces propriétés permettent à ces substances à impliqué dans les préparations pharmaceutiques suivantes :

### SULFARLEM®

**DCI :** Anétholtrithione

**Indications thérapeutiques :**

- Utilisé dans le traitement symptotomique des troubles dyspeptiques.
- Utilisé dans les hyposialies médicamenteuses, post-radiothérapeutiques, hyposialies de la sénescence.
- Ce médicament est préconisé en cas de bouche sèche (sécrétion de salive).

**Principe actif :** Anétholtrithione. [31]



**Anisaldéhyde**

L'anisaldéhyde est largement utilisé en parfumerie et comme arôme. C'est également un intermédiaire dans la synthèse de composés utilisés en parfumerie.

L'anisaldéhyde est également utilisé en chromatographie sur couche mince. [32]

**ALODONT®****DCI :**

Chlorure de cétylpyridinium / chlorobutanol eugénol.

**Indication thérapeutique :**

- Alodont est indiqué dans le traitement local d'appoint des infections de la cavité buccale.
- Soins post-opératoires en stomatologie.
- Solution pour bains de bouche.

**Principes actifs :**

Cétylpyridinium Chlorure, chlorobutanol hémihydrate, Eugénol. [33]

**GIROFLE CLOUS®****DCI :**

Eugenia caryophyllata

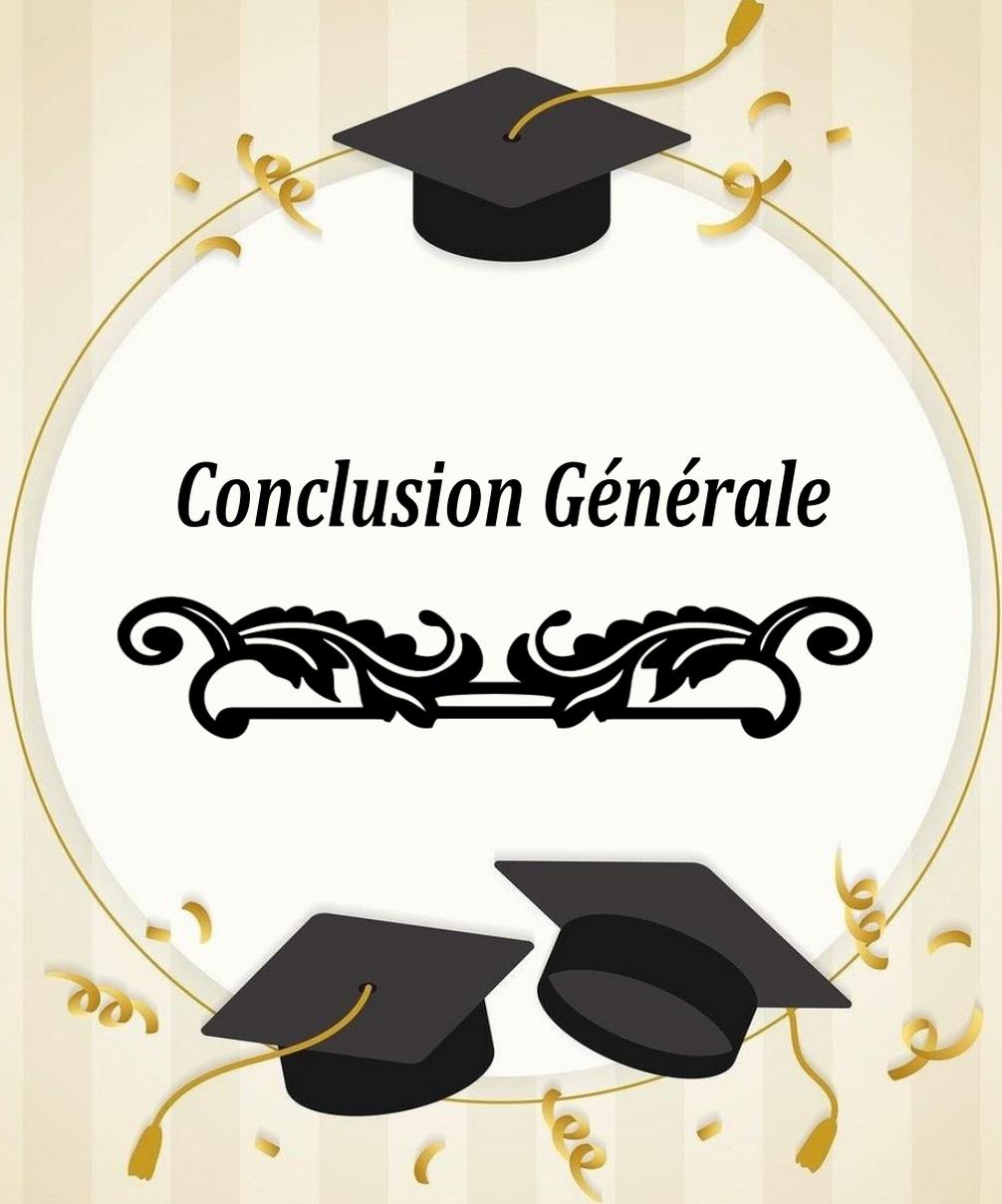
**Indication thérapeutique :**

- Antalgiques
- Antiseptiques (notamment pour les névralgies et les infections dentaires)
- Antiseptique intestinal, et dynamisant cérébral.

**Principes actifs :**

Eugénol, acétate d'eugénol. [34]





*Conclusion Générale*



## **Conclusion Générale**

Le règne végétal, parce qu'autotrophe, est une source inépuisable de molécules pouvant présenter un intérêt thérapeutique. Les produits d'origine naturelle prennent de plus en plus une place importante dans l'industrie pharmaceutique et agronomique. En effet, un certain nombre de produits chimiques issus de la synthèse organique, nécessitent une pharmacovigilance en raison de leurs effets indésirables. Les stratégies de recherche de substances naturelles actives à partir de plantes sont souvent basées sur l'utilisation de ces plantes en médecine traditionnelle.

Le sujet abordé dans ce mémoire s'inscrit dans le cadre général des travaux visant la valorisation des ressources naturelles d'origine végétale à usage pharmaceutique. Notre travail est porté sur L'isolement et la caractérisation des substances actives issues des huiles essentielles de deux plantes aromatiques et médicinales *Pimpinella anisum* L et *Syzygium aromaticum*.

L'extraction par l'hydrodistillation reste une méthode simple et efficace pour l'obtention des huiles essentielles, a révélé une valeur du rendement de l'ordre de **1,67%** pour l'anis-vert et **3,28%** pour le clou de girofle, ce dernier semble le plus important. Ces résultats restent en accord avec celui citées dans la littérature.

Au cours de ce travail, on a déterminé aussi les propriétés physico-chimiques (PH, densité, indice de réfraction) de ces huiles essentielles. Il a été confirmé que les valeurs obtenues sont compatibles avec celles de référence.

L'analyse par chromatographie sur couche est effectuée dans cette étude pour confirmer l'existence des substances actives dans les HEs des plantes étudiées. On a trouvé clairement la présence de l'anéthol et autres substances dans l'huile de l'anis-vert et l'eugénol et l'acétyl d'eugénol dans l'huile de clou de girofle.

La séparation des substances actives de l'huile d'anis-vert est réalisée par chromatographie sur colonne, qui donne lieu à l'anéthol comme la fraction majoritaire avec un pourcentage 74% et la deuxième fraction présente l'anisaldéhyde. Par contre les substances actives de l'huile essentielles de clou de girofle sont séparées par une réaction acide/base, en utilisant la soude (NaOH) et l'acide chlorhydrique (HCl) lors de cette séparation. Les fractions obtenues décrites de façon respectives : **78,97%** (eugénol), **16,92%** (acétate d'eugénol).

L'analyse par l'infrarouge IRTF des produits obtenus donne des spectres semblables aux spectres de références. Leurs interprétations ont révélé l'existence des bandes caractéristiques aux fonctions chimiques propres pour chaque composé.

Ces résultats confirment une fois de plus que l'anéthol et l'eugénol sont respectivement les composés dominants de l'huile d'anis vert et le clou de girofle. Pour plus d'efficacité, il faut appliquer d'autres analyses spectrales comme la RMN, la GC-MS, l'HPLC.....

Finalement, les substances actives isolées à partir de ces plantes sont utilisées dans le domaine médical pour des préparations pharmaceutiques. Cette utilisation est basée sur leurs propriétés anti-infectieux, Carminative, Spasmolytique intestinale, Antispasmodique....

*Références  
bibliographiques*



## Références



### *Introduction générale*

- [1] M. TOURE Daouda 2015 : Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire. Thèse de doctorat, Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY. Page : 2
- [2] CHAGRA Khoulood 2019 : Etude les propriétés physico-chimiques et biologique de clou du girofle (*Syzygium aromaticum* (L)). Mémoire de master, Université Mohamed Khider de Biskra. Page 1
- [3] BAZIZI Marwa 2017 : extraction d'huile essentielle de l'espèce végétale *salvia officinalis* L.par hydrodistillation : caractérisation physicochimique et modélisation paramétrique. Mémoire de master, Université Badji Mokhtar-Annaba. Page : 1

### *Chapitre I*

- [1] **Boukabache Meriem et Boudjefdjouf Fatima Zohra 2016** : Extraction, identification de l'huile essentielle par CPG-SM de l'espèce *Citrus limon* et mise en évidence de son activité antibactérienne. Fabrication du parfum. Mémoire de mestre, Université des Frères Mentouri Constantine. Page : 14
- [2] **BAZIZI Marwa 2017** : extraction d'huile essentielle de l'espèce végétale *salvia officinalis* L.par hydrodistillation : caractérisation physicochimique et modélisation paramétrique. Mémoire de master, Université Badji Mokhtar-Annaba. Pages: 3-4
- [3] **AMLAN K. ET PATRA J.S., 2010** - A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71: 1198–1222.
- [4] **KAMRA D.N., AGARWAL N. and CHAUDHARY L.C., 2006** - Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. *International Congress Series*, 1293: 156–163.
- [5] *Encyclopedia of Medicinal Plants* (2nd Edition). Copyright © 1996, 2001 Dorling Kindersley Limited, Londres; Text copyright © 1996, 2001 Andrew Chevallier.

- [6] **Bruneton J. (1993)**. Pharmacognosie: phytochimie-plantes médicinales, 2<sup>o</sup>.éd. tec. Et doc. Lavoisier, Paris, **915 p.**
- [7] **BRUNETON. (1999)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales – (5<sup>o</sup>Edition). Lavoisier ; 2016.
- [8] **DEBAISIEUX F., POLESE J., 2009**. Plantes médicinales. Edit Debaisieux. France. P: 4-5., 8-9.
- [9] **KOMLAN A.**, Cueillette conservation et efficacité des plantes médicinales. p52.
- [10] <https://jardinage.ooreka.fr/tips/voir/303371/les-plantes-aromatiques-a-recolter-en-avril>.
- [11] <https://meristemeblog.wordpress.com/2018/06/27/sechoir-mon-beau-sechoir/>.
- [12] <https://inconscients.com/phyto/maladies/plantesmedicinales.php>.
- [13] **Bardeau, F.** les huiles essentielles - édition: Lanore, 2009; 330 pages.
- [14] **Garnier, C.** Mes petites recettes magiques aux super-épices. Édition: Ledus. 2011, 203 pages.
- [15] **Delaveau et al. (1981)** dans **H.Lamendin (2007)** - Soignez votre bouche par les plantes -édition: Le Harmattan (Paris). 150 pages.
- [16] **Duquesne (1973)** dans **H. Lamendin (2007)**. Soignez votre bouche par les plantes. Édition: Le Harmattan (Paris). 150 pages.
- [17] **Stray (1999)** dans **H.Lamendin (2007)** - Soignez votre bouche par les plantes - édition: Le Harmattan, Paris. 150 pages.
- [18] **Lamendin, H.** Soignez votre bouche par les plantes. Édition: Le Harmattan, Paris.2007, 150 des pages.
- [19] **Babulka (P.)** - Les plantes de nos tisanes : L'anis vert (*PimpinellaanisumL.*) Phytothérapie, 2004, **2(2)**, 57-59.
- [20] **Bellakhdar (J.)** - La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, 1997, pp. 163-164 (764 p.).
- [21] **Teuscher (E.), Anton (R.), Lobstein (A.), Bauermann (U.), Werner (M.), Rohner (C.), Bernard (M.)** - Plantes aromatiques : Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris : Tec et Doc, Lavoisier, Cachan : Éd. Médicales internationales, ©2005, pp. 115-119 (xvii, 522 p.).
- [22] **Peter, KV** Manuel d'herbes et d'épices. Edition : édition de tête de bois limitée. 2001, 325 Pages.
- [23] **Bruneton Jean.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales (2e éd. - Broch de retraite) Lavoisier, 1 juil. 2008 à 1136 pages.

- [24] **Pierre M.** et **Lys M.** Secrets des plantes. Édition : Artémis (France). 2007, 448 pages.
- [25] **Polèse, JM** La culture des plantes aromatiques. Édition : Artémis. 2006, 94 pages.
- [26] **Hanelt, P., Buttner, R.** et **Mansfield,** l'encyclopédie de R. Mansfeld sur l'agriculture et corps horticole (sauf plantes ornementales). Édition : Springer (New York). 2006, 3643 pages.
- [27] **Small, E.** Top 100 des plantes alimentaires. Édition : presse du Conseil national de recherches du Canada. 2009, 620 pages.
- [28] **Couplan, F.** Les plantes et leurs noms : histoires insolites - édition : Quae.2012, 218 pages.
- [29] **Bakhru,** épices et condiments indiens de Hong Kong comme guérisseurs naturels. Édition : Jaico, Mumbai (Inde) 2001 ; 163 pages.
- [30] **Charles, DJ** propriétés antioxydantes épices, herbes et autres sources. Edition : Springer (Nouveau York). 2013, 589 pages.
- [31] **Thézan, JM et Klusiewicz, P.** Reconnaissances BP. Édition : Wolters Kluwer (France). 2006, 212 pages.
- [32] **Teuscher E,** Biogene Arzneimittel, 5. Auflage, Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 1997.
- [33] **Wagner H,** Arzneidrogen und ihre Inhaltsstoffe Pharmazeutische Biologie, Band 2, 6. Auflage, Stuttgart, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, 1999.
- [34] **Tainter d r and Grenis a t,** Spices and Seasonings: A Food Technology Handbook, Weinheim-Germany, VCH Publishers, 1993.
- [35] **Heeger e f,** *Handbuch* des Arznei- und Gewürzpflanzenbaues Drogengewinnung, Berlin, Deutscher Bauernverlag, 1956.
- [36] **Schuster w,** *Ölpflanzen* in Europa, Frankfurt, DLG-Verlag, 1992.
- [37] **Zidan m a and Elewa m a,** 'Effect of salinity on germination, seedling growth and some metabolic changes in four plant species (Umbelliferae)', Indian Journal of Plant Physiology, 1995, **38**(1), 57–61.
- [38] **Bown D,** Du Mont's grosse Kräuter–Enzyklopädie, Köln, Du Mont Buchverlag, 1998.
- [39] **LIVRE : plantes aromatiques ; Épices, aromates, condiments et huiles essentielles** pour les écrivains **Eberhard Teuscher, Robert Anton, Annelise Lobstein.** Éditeur : **Tec et Lavoisier,** Illustrated édition (23 décembre2004) Les pages : **116, 118,267.**

- [40] **Al-Daihan S, Al-Faham M, Al-shawi N, et al.** Activité antibactérienne et phytochimique dépistage de certaines plantes médicinales couramment utilisées en Arabie saoudite contre des microorganismes pathogènes. *Journal de l'Université King Saud - Science*. 2013, 25: 115—120.
- [41] **Shobha RI, Rajeshwari CU, Andallu B (2013).** Anti-péroxydant et anti-diabétique Activités des anis (*Pimpinellaanisum L*) et identification des composés bioactifs. *AJPCT*. 2013, 1 (5): 516-527.
- [42] **Christova-Bagdassarian VL, Bagdassarian KS et Atanassova MS.** Profil phénolique, activités antioxydantes et antimicrobiennes de la famille des apiacées (graines sèches). *Monnayage Journal de pharmacie et de science médicale*. 2013, 2 (4): 26-31.
- [43] **Embong MB, Hadziyev D, Molnar S.** Huile essentielle d'espèces cultivées en Alberta. *Carvi Huile (Carum Carvi)*. *Revue canadienne de la science des plantes*. 1977 ; 57: 543-549.
- [44] **Ntalli et al. (2011) dans D -J. Charles (2013).** Épices aux propriétés antioxydantes, à base de plantes et autres sources. Édition : Springer (New York) 589 pages.
- [45] **Kosalec I, Pepljnak, S et Kustrak, D.** Activité antifongique de l'extrait fluide et de l'huile essentielle de fruit d'anis (*Pimpinellaanisum L*, *Apiaceae*). *Acta Pharm.* 2005, 55 : 377-385.
- [46] **Nollet, ML et Toldrà, F.** Manuel d'analyse des composés actifs dans les aliments fonctionnels. Édition : CPC press. 2012, 936 pages.
- [47] **Friedman et al. (2002) dans M. Lis - Balchin (2006) - aromatherapy science : a guide for professionnels de la santé - édition : presse pharmaceutique (Londres) 415 pages.**
- [48] **Singh et al., (2002) in Watson R.R et al., (2011) –Nuts and seeds in health and diseases prevention- edition: Elsevier, 1187 pages.**
- [49] **Robles – Zepeda et al., (2011) in D -J. Charles (Antioxidant properties spices, herbal and other sources. Edition: Springer (New York), 589 pages.**
- [50] **Al Mofleh, I, Abdulqader A Alhaider, Jaber S Mossa, Mohammed O Al-Soohaibani, Syed Rafatullah :** Aqueous suspension of anise “*Pimpinellaanisum*” protects rats against chemically induced gastric ulcers. *World J Gastroentero.* 2007.21; 13(7): 1112-1118.

- [51] **Faraget El –Khawas (1998) inD -J. Charles (2013)** Antioxydant propriétés épices, herbes et autres sources- édition: Springer (New York) 589 pages.
- [52] **Gulçin, I., Oktay, M., Kireççi, E. and Kufrevioğlu, O.I.** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*. 2003, 83,371–382.
- [53] **Topal et al. (2008) inD -J. Charles (2013).** Antioxydant propriétés épices, herbes et autres sources. Edition: Springer (New York) 589 pages.
- [54] **Jean-Louis Morère et Raymond Pujol**, Dictionnaire raisonné de biologie, Paris, Frison-Roche, .p 1222 ,2003 [détail de l'édition] (ISBN 2-87671-300-4), « Article Règne végétal ».
- [55] Numbers of threatened species by major groups of organisms (1996–2010) [archive], 2010.
- [56] **Peter Marius Veth**, Sue O'Connor et Matthew Spriggs, "The Archaeology of the Aru Islands, Eastern Indonesia", *Terra Australis*, Vol. 22, février 2007.
- [57] ITIS: *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry (fr) (+ version anglaise (en)).
- [58] [www.mi-aime-a-ou.com/syzygium-aromaticum.php](http://www.mi-aime-a-ou.com/syzygium-aromaticum.php).
- [59] <https://www.aliar.lu/clou-girofle-soigner-dent/>.
- [60] **Davet P Rouxel F., 1997.** Détection et isolement des champignons du sol, Paris. cedex07, p147.
- [61] **Rakotoatimanana B.V. et al. 1999** : « Contribution à l'optimisation d'une unité de production d'huiles essentielles », mémoire de fin d'études, Département Génie Chimique, Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo ESPA, Université d'Antananarivo.
- [62] **Koroch A., Ranarivelo L., Behra O., Juliani H.R., and Simon J.E.** « Quality Attributes of Ginger and Cinnamon Essential Oils from Madagascar » in: *Issues in new crops and new uses*. Ed by Janick and A. Whipkey. ASHS Press, Alexandria, VA, 2007 pp 338-341.
- [63] **Illemium Challenge Account (MCA) Madagascar, 2000** : « Opportunités de marché-Filière Huiles Essentielles Région Atsinana ».
- [64] **Peter Marius Veth**, Sue O'Connor et Matthew Spriggs, "The Archaeology of the Aru Islands, Eastern Indonesia", *Terra Australis*, Vol. 22, février 2007.
- [65] **Copyright 2001 : Dr Jean-Michel Hurtel** Vous êtes sur [www.phytomania.com](http://www.phytomania.com) site dédié aux plantes médicinales et aux huiles essentielles. PHYTOTHERAPIE, PLANTES MEDICINALES, AROMATHERAPIE, HUILES ESSENTIELLES.

- [66] **Runeton J (1999)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentations Lavoisier.
- [67] **Dorman HJD, Figueiredo AC, Barroso JG and Deans SG (2000)** In vitro evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. Flavour and Fragrance Journal. 15, 12-16.
- [68] [lucbor.fr/girofle.pdf](http://lucbor.fr/girofle.pdf).
- [69] Journal MIDI LIBRE /Epice de cuisine/origines et propriétés du clou de girofle/22/12/2009.[www.lemidi-dz.com](http://www.lemidi-dz.com).
- [70] **MANAA N., MAHFOUDH H., 2011** : L'effet antibactérien des extraits d'eucalyptusglobulus sur Pseudomonas aeruginosa, E coli et Staphylococcus epidermidis. Mémoire de master, Université de Med Khider Biskra, 84p.
- [71] **AKANO K., INAGAKI Y., OIKAWA S., 2004** Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. Mutation Research, 565, 35-44.
- [72] **AKANO K., INAGAKI Y., OIKAWA S., 2004** Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. Mutation Research, 565, 35-44.

## **Chapitre II**

- [1] **PIOCHON M., 2008** : Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi synthèse. Thèse de doctorat, Université du Québec-Chicoutimi ,213p.
- [2] D'après les autres : **M.BEKHECHI Chahrazed et M. ABDELOUAHID Djamel**, Livre : Des huiles essentielles, Officine des publications Universitaires ; 9-2010, **Edition** ; 1.04.978, 9961.0.1394.6, **Dépôte légal** ; 3446 /2010, les pages : 9, 38, 40, 43,16.
- [3] **BRUNETON J.** Pharmacognosie -Phytochimie, plantes médicinales -(5° Edition). Lavoisier ; 2016.
- [4] ISO 9235 :2013 (Fr) -Matières premières aromatiques naturelles -Vocabulaire : <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-2:v1:fr>.
- [5] Familles de plantes à huiles essentielles [Internet]. Disponible sur : <https://www.compagniedes-sens.fr/familles-plantes-huiles-essentielles>.
- [6] The Plant List: <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q>.
- [7] **Kesbi A**, "Etude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptusglobulus dans la région de Ourgla", Thèse de

- Master, Faculté des Sciences et de la Technologie, Université de Kasdi Marbah Ourgla, 2011.
- [8] **Makhloufi A**, "Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru", Thèse de doctorat d'état en biologie, Faculté des sciences, Université de Aboubakr Belkaid, 2010.
- [9] **Nait Achour Kh**, "Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de Tizi Ouzou", Thèse de Magister, Faculté des Sciences, Université de Mouloud Mammeri-Tizi Ouzou, 2012.
- [10] **Ndéye Anta K**, "Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées au Sénégal", Thèse de doctorat en pharmacie, Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie, Université de Cheikh Anta Diop de Dakar, 2001.
- [11] **Seddik M**, "Analyse physico-chimique, chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle d' *Ammoides Verticillata* de la région d'Adrar. Etude de son activité biologique et antioxydante", Thèse de magister, Faculté des sciences, Université d'Oran, 2010.
- [12] **MALECKYM., 2005** : Métabolisme des tetrépénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement Paris, 206p.
- [13] **FILLATRE Y., 2011** : Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat, Ecole doctorale : Matières, molécules, matériaux des pays de Loire, 288p.
- [14] **ELHAIBA., 2011** : Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocains par transformations catalytiques. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, 181p.
- [15] **HAMEURLAINE S., 2009**: Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaïa. Mémoire de Magister, Université de Kasdi-Merbah Ouargla, 86p.
- [16] **C. Ryley, (1998)**, Roman gardens and their plants, Sussex Archaeological Society, Lewes England, 56 pp.

- [17] **FERHAT MA., MEKLATI BY., CHEMATF., 2010:** Citrus d'Algérie les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions. Office de publications universitaires. Algérie, 75p.
- [18] **Bruneton J., 2009,** Pharmacognosie : Phytochimie : Plantes médicinales. 4e éd. Paris: Tec & Doc, 1269 pages.
- [19] **Keville K. ET Green M., 1995,** Aromatherapy: A complete guide to healing art, Ed 1: The Crossing Press; p: 120-140.
- [20] **LEMIRE N.** Gazette thérapeutes, 26-30, Ed. Atlas (2000).
- [21] **Porter N.** Essential oils and their production. Crop & Food Research. Number 39 (2001).
- [22] **Baser, K.H.C. and G. Buchbauer, (2015).** Handbook of essential oils: science, technology, and applications: CRC Press.
- [23] **MAYER F., 2012:** Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite, thèse de doctorat, Université de Lorraine, 92p.
- [24] **G IRARD., 2010:** Les propriétés des huiles essentielles dans les soins Bucco-dentaires d'hier à aujourd'hui. Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré Nancy, 116p.
- [25] **Benini C. (2007).** Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Thèse de doctorat. Université Gembloux, 109p.
- [26] **Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, Phytochimie : Plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier, 3<sup>ème</sup> édition, Paris.
- [27] **Aprotosoiaie A.C., Spac A.D., Hancianu M., Miron A., Tanasescu V.F., Dorneanu V. and Stanescu U. (2010).** The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Farmacia*; 58(1): 46-54.
- [28] **Chowdhury J.U., Mobarok H. Bhuiyan N.I. and Nandi N.C. (2009).** Constituents of essential oils from leaves and seeds of *Foeniculum vulgare* Mill. Cultivated in Bangladesh. *Bangladesh J. Bot.* 38(2): 181-183.
- [29] **Garnéro J. (1991).** Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur n Anton R. and Lobstein A. (2005). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec. & Doc., Paris; pp. 522ormalisation. Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France; pp. 2-20.
- [30] **Anton R. and Lobstein A. (2005).** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec. & Doc., Paris; pp. 522.

- [31] **Mohammad S., Abu-Darwish and Abu-Dieyeh Z.H.M. (2009).** Essential oil content and heavy metals composition of *Thymus vulgaris* cultivated in various climatic regions of Jordan. *Int. J. Agric. Biol.*; 11(1): 59-63.
- [32] **Mohammedi Z., Bachik S. and Belkaroube N. (2010).** Potentiel antifongique et anti aflatoxinogène T6 des huiles essentielles d'une plante endémique *Thymus fontanesii* Boiss. *Et Reut. Les Technologies De Laboratoire*. 5(19):1015.
- [33] LES HUILES ESSENTIELLES, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie: Jean-Luc Sallé avec la participation de Jaques Pelletier. Editions FRISON-ROCHE.
- [34] **Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales. 2ième éd. Tec. et Doc., Lavoisier, Paris, France. P. 915.
- [35] **Guba R. (2001).** Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potential, *International Journal of Aromatherapy*, 11: 76-83.
- [36] **Pierron C. (2014).** Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs. Thèse de doctorat en pharmacie, Université de lorraine, 19-30.
- [37] **BHARH., BALOUK A., 2011** Les plantes aromatiques marocain. *L'espace marocain*, 10 ,22-29.
- [38] **RHAYOUR K., 2002:** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phie* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat, Université de Sidi Mohamed Ben Abdellah Fès, 170p.
- [39] **PIBIRI MC., 2005 :** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat, Ecole polytechnique fédérale Lausanne, 177p.
- [40] **PENOEL D., 2010 :** L'aromathérapie quantique. Guy Trédaniel. Paris, 522p.
- [41] **BEHAZ FZ.,KEBKOUB W.,2010:** Contribution à l'étude de la bio-activité de deux HE; *ARTEMISIA herbaalba* Asso ;et *Juniperus oxycedrus* L sur deux ravageurs de denrées stockées; *Callosobruchus maculatus* F (coleoptera :Bruchidae) et *Rhyzopertha dominica* F .(Ccoleptra :Bostrychidae).Mémoire ingénieure d'état, Université de Med Khider BISKRA, 42p.
- [42] **TEISSEIRE PJ.2005:** Chimie de substances odorantes. Tec & Doc. Lavoisier. Paris, 480p.

**Chapitre III**

- [1] L'essentiel sur les huiles essentielles : <http://lessentiieldeshuilesessentielles.e-monsite.com/pages/iii-notre-experience/hydrodistillation.html>.
- [2] **Alexis St-Gelai, 2014** ; L'extraction d'huiles essentielles en laboratoire : <https://phytochemia.com/fr/2014/08/04/l'extraction-dhuiles-essentielles-en-laboratoire/>.
- [3] **AFNOR**, "Les huiles essentielles", 3eme Edition, Recueil des normes françaises, Paris, 1989.
- [4] **Mazouz B, Hahdaoui A**, "Caractérisation et l'étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle des graines de Petroselinum Sativum", Thèse d'ingénieur d'état en biologie, Faculté des sciences agronomiques et des sciences biologiques, Université Hassiba Ben Bouali-chlef, 2010.
- [5] **AFNOR., (1986)**. Recueil des normes Françaises « huiles essentielles » ; AFNOR ; Paris.57p.
- [6] **AFNOR**. « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris, 2000, 661-663.
- [7] Analyses précises en laboratoire : <http://tpe-huile-essentielle.e-monsite.com/pages/iii-optimisation-de-la-qualite-du-produit/analyses-precises-en-laboratoire.html>.
- [8] la chromatographie sur couche mince : <https://www.maxicours.com/se/cours/realiser-une-chromatographie-sur-couche-mince/>.
- [9] La chromatographie sur couche mince (CCM) : <http://www.exchem.fr/ccm.htm>.
- [10] **Alain Fuxa, Thibault Pelletier, Clotilde Policar**, Synthèse organique : une approche expérimentale, Maisson, Paris, 1996.
- [11] **Martine Rebstein, Chantal Soerenen**, Chimie avancée. Préparation au bac et à la maturité, Lausanne, 2011, P.326.

*Chapitre IV*

- [1] <https://fr.esenciaslozano.com/produit/3/huile-essentielle-anis-vert-huile-essentielle-de-pimpionella-anisum>
- [2] **AFNOR** Recueil des normes françaises ; 1992 : Huiles essentielles –Association Française de Normalisation, 4<sup>ème</sup> édition, Paris
- [3] **Rebey, I. B., Wannas, W. A., Kaab, S. B., Bourgou, S., Tounsi, M. S., Ksouri, R., & Fauconnier, M. L. 2019.** Bioactive compounds and antioxidant activity of *Pimpinella anisum* L. accessions at different ripening stages. *Scientia horticulturae*, 246, 453-461.
- [4] **Gülçin, I., Oktay, M., Kireççi, E. and Küfrevioğlu, Ö.İ. 2003.** Screenings of antioxidant and antimicrobial activities. of anise (*Pimpinella anisum*) seed extracts. *Food Chemistry*, 83:371–382
- [5] **Kosalec, I., Pepeljnjak, S. and Kustrak, D. 2005.** Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., *Apiaceae*). *Acta Pharmaceutica* 55:377–385.
- [6] **Atmani Hanane et Baira Kawther., 2014 :** Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique et l'étude des caractères Physico-chimique de l'huile essentielle du clou de girofle *Syzygium aromaticum* L. Mémoire de mestre. Université Frères Mentouri 1 Constantine. Page 64
- [7] **Boubrit S. Boussad N., 2007 :** Détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraîche type hachée. Mémoire d'Ingénieur d'état, Université de Mouloud Mammeri Tizi-ouzou.101p
- [8] **F. Haddouchi, H.A. Lazouni, A. Meziane, A. Benmansour 2009 :** Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Africoseciscence*, 05(2) ,246-259p
- [9] **Didier. D :** Huiles essentielles ; Monographie relative aux huiles essentielles (A à G), 6<sup>ème</sup> ED, AFNOR 2000, Tome2, vol, 1,180-219
- [10] **Said Chakir, Yasmin Ghouti, Touriya Belaiche, Mohammed Ouhssine, Ali Amechrouq, Abdessalem Tahiri 2012,** composition Chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de fruits de l'anis-vert Marocain 25P

- [11] **Iannarelli, R., Marinelli, O., Morelli, M. B., Santoni, G., Amantini, C., Nabissi, M., & Maggi, F. 2018.** Aniseed (*Pimpinella anisum* L.) essential oil reduces pro-inflammatory cytokines and stimulates mucus secretion in primary airway bronchial and tracheal epithelial cell lines. *Industrial crops and products*, 114, 81-86
- [12] **Teuscher (E.), Anton (R.), Lobstein (A.), Bauermann (U.), Werner (M.), Rohner (C.), Bernard (M.)** - Plantes aromatiques : Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris : Tec et Doc, Lavoisier, Cachan : Éd. médicales internationales, ©2005, pp. 115-119 (xvii, 522 p.)
- [13] DIRECTION DE LA QUALITE DU MEDICAMENT DU CONSEIL DE L'EUROPE. Pharmacopée Européenne. 5e éd. Sainte-Ruffine : Maisonneuve S.A. ; 2004
- [14] **Karimzadeh F, Hosseini M, Mangeng D, Alavi H, Hassanzadeh G, Bayat M, Jafaryan M, Kazemi H, Gorji A.** Anticonvulsant and neuroprotective effects of *Pimpinella anisum* in rat brain. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2012, 12:76 (18 June 2012)
- [15] **Aromathérapie 2009.** Chimie -ether oxyde:<http://www.aromacopa.com/anethol.php>
- [16] **Abdel-Reheem, M. A., & Oraby, M. M. 2015.** Anti-microbial, cytotoxicity, and necrotic ripostes of *Pimpinella anisum* essential oil. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(2), 335-340.
- [17] **Embong MB, Hadziyev D, Molnar S.** Huile essentielle d'espèces cultivées en Alberta. Carvi Huile (*Carum Carvi*). *Revue canadienne de la science des plantes*. 1977; 57: 543-549.
- [18] <https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/landingpage?sdfsno=2638>
- [19] <https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/landingpage?sdfsno=1293>
- [20] **Staesche, K, Schleinitz, H., & Burger, A 1994.** *Pimpinella*. In Hager's Handbuch der pharmazeutischen praxis (H. Hansel, K.Keller, H. Rimpler & G.Schneider,Edes.), Vol. 6( pp.135-156). Berlin: Sringer Verlag.
- [21] [https://www.cec-chibougamau.qc.ca/images/ASP/ASP\\_2013\\_-\\_CECC\\_-\\_Le\\_clou\\_de\\_girofle\\_a\\_la\\_rescousse.pdf](https://www.cec-chibougamau.qc.ca/images/ASP/ASP_2013_-_CECC_-_Le_clou_de_girofle_a_la_rescousse.pdf)
- [22] **Runeton J (1999)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentations Lavoisier
- [23] <http://www.thegoodscentcompany.com/data/rw1005011.html#toorgano>

- [24] **Fiche de données de sécurité 2017.** (Conformément au règlement (CE) No.453/2010 ACÉTYL EUGÉNOL 20003.100G Version 1
- [25] Compagnie des sens, 2, rue Saint jean de Dieu, 69007 Lyon
- [26] <https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/landingpage?sdfsno=91>
- [27] <https://sdfs.db.aist.go.jp/sdfs/cgi-bin/landingpage?sdfsno=93>
- [28] **Howes MJ, Houghton PJ, Barlow VJ, Pocock VJ, Milligan SR,** Assessment of estrogenic activity in some common essential oil constituents. *J pharm pharmacol.* 2002. Nov; 54 (11): 1521-8: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12495555>
- [29] **Tabanca N, Khansl, Bedir E, Annavarpu S, Willett K, Khan IA, Kirimer N, Baser KH.** Estrogenic activity of isolated compounds and essential oils of Pimpinella species from turkey, evaluated using a recombinant yeast screen. *Planta Med.* 2004 aug ; 70 (8): 728-35. PMID 15368661
- [30] **Hao H, Wei J, Dai J, Du J.** Host-seeking and blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) exposed to vapors of geraniol, citral, citronellal, eugenol, or anisaldehyde. *J Med Entomol.* 2008 May;45(3):533-9. PMID 18533449
- [31] <https://www.vidal.fr/medicaments/gammes/sulfarlem-sulfarlem-s-9886.html>
- [32] <https://fr.linkfang.org/wiki/Anisald%C3%A9hyde>
- [33] <https://www.doctissimo.fr/medicamentALODONT.htm#:~:text=Indications%20%2D,soins%20post%2Dop%C3%A9ratoires%20en%20stomatologie.>
- [34] <https://www.aroma-zone.com/info/fiche-technique/huile-essentielle-girofle-clous-bio-aroma-zone?page=library>

# ANNEXES

## Annexe 1

Verreries et Récipients	Appareillage	Solvants et réactifs	Accessoires
Béchers	Balance électronique	Eau distillée	Support métalliques
Ballons à col, tricol (500)	Chauffe ballon	Dichlorométhane $CH_2Cl_2$	Spatule en verre
Burette	Evaporateur rotatif	n-hexane $C_6H_{14}$	Spatule en acier
Entonnoirs	Lampe UV	Sulfate de magnésium $MgSO_4$	Micropipette
Eprouvettes	Réfractomètre	Acide chlorhydrique HCL	Pipette pasteur
Réfrigérant droit et à serpentins	Appareil IR	Soude NaOH	Papier paraffine
Eprouvait graduée	Clvenger	Acétone $C_3H_6O$	Papier filtre
Erlenmyers		Iode $I_2$	Papier Ph
Fioles à jaugée		Silice	Verre de montre
Tube à essais			Thermomètre
			Plaque de gel de silice
			Support élévateur

## Annexe 2

### Généralité sur certains solvants et produits chimiques utilisés

#### ➤ Les solvants

Désignation	Formule	Point de d'ébullition °C	Densité g /ml	Risque
Dichlorométhane	$CH_2Cl_2$	40	1,33	Intoxication aigue ou chronique
n-hexane	$C_6H_{14}$	68,73	1,3	Très inflammable
Acétone	$C_3H_6O$	56,05	0,789	Inflammable, Irritant
L'eau	$H_2O$	100	1	N'est pas risqué

#### ➤ Les produits chimiques

Désignation	Formule	Point de d'ébullition °C	Densité g /ml	Risque
Acide chlorhydrique	HCL	48	1,19	Dangereux pour la peau et yeux, corrosif, inflammable
Hydroxyde de Sodium	NaOH	1390	2,13	Corrosion cutanée/irration cutanée
Gel de silice	$SiO_2$	-	-	Peuvent induire une irration des yeux et des voies respiratoires, des bronchites chroniques
Sulfate de magnésium	$MgSO_4$	-	-	- Doubleur au point d'injection, vasodilatation avec sensation de chaleur. - Hypotension artérielle si injection trop rapide. - Hypermagnésémie potentiellement létale en cas d'insuffisance rénale sévère ou d'injection trop rapide.

### Annexe 3

#### Préparation de 100 ml de soude à 2 mol /l

Dans une fiole jaugée de 100 ml nous mettre 8g de soude NaOH et compléter l'eau distillée jusqu'à un volume jaugé et agiter pour dissoudre totalement le soude.

### Annexe 4

#### Détermination de l'indice de réfraction

##### Réactifs :

- Huile essentielle
- Eau distillée

##### Appareillage :

- Réfractomètre muni d'un thermomètre

### Annexe 5

#### Détermination de PH

##### Réactifs :

- Huile essentielle

##### Appareillage :

- Bécher
- Papier Ph

### Annexe 6

#### Détermination de la densité

##### Réactifs :

- L'eau distillée
- Huile essentielle

##### Appareillage :

- Epruvette graduée
- Micropipette

## Annexe 7

### Les principaux composants de l'HE de clou de girofle

Famille de constituants	Détail des constituants
<b>Huile essentielle</b>	Eugénol (80 à 90%) Acétate d'Eugénol (5 à 10%), alpha et bêta caryophyllène (5 à 12 %), cétones aliphatiques
<b>Tanins (12%)</b>	Tanins galique et ellagique, acide gallique, acide protocatéchique, eugéniine, casuarictine, 1,3-di-O-galloyl-4,6-(S)-hexahydroxydiphényloxy-bétab-D-glucopyranose, tellimagrandine
<b>Flavonoïdes (0,4%)</b>	Quercétine, kaempférol, rhamnétine, eugénitine
<b>Chromones</b>	Biflorine, isobiflorine, hétérosides de chromone
<b>Corps gras</b>	Stérols, glycosides des stérols, huile grasse (10%)
<b>Autres</b>	Acides phénols, triterpènes

## Annexe 8

### Spectroscopie infrarouge

**Tableau 3 : Table des nombres d'onde des vibrations de valence et de déformation.**

Groupement	Liaison	Nombre d'onde en $cm^{-1}$	Vibration	Bande
Alcools	O-H	3640-3620	Élongation	Intense et large
Acides	O-H	3550-3500	Élongation	Intense et très large
-CH <sub>3</sub>	C-H	2960-2890	Élongation	Fort
Aldéhydes	C-H	1740-1720	Élongation	Double ; fort
Cétones	C=O	1725-1705	Élongation	Fort
Acides	C=O	1800-1740	Élongation	Fort
Esters	C=O	1750-1730	Élongation	Fort
C=C	C=C	1645	Élongation	Moyenne
-CH <sub>2</sub> -	C-H	1470	Déformation	Moyenne
-CH	C-H	1340	Déformation	Faible
Esters	C-O	1300-1050	Élongation	Doublet ; Moyenne
Acides	C-O	1190-1075	Élongation	Fort
Alcools	C-O	1150-1050	Élongation	Variable
Alcynes	C≡C	2250-2100	Élongation	Moyenne et Faible

## ملخص

يشكل الثراء الجزيئي للنباتات مصدرًا مهمًا للجزيئات النشطة بيولوجيًا ذات الأصل الطبيعي. يتطلب اكتشاف هذه الجزيئات العديد من الخطوات التي غالبًا ما تكون طويلة ومكلفة. الهدف من هذا العمل هو عزل وتوصيف المواد الفعالة من الزيوت العطرية من نبتتين طبيئتين (القرنفل واليانسون الأخضر). تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي الذي يتميز بكونه بسيطًا وغير مكلفًا وسهلاً في نفس الوقت. أعطى متوسط محتوى الزيت العطري لكل من النباتين نتيجة مقبولة. أظهرت التحليلات الفيزيائية والكيميائية أن الثوابت المدروسة (الكثافة، معامل الانكسار، ثابت الأس الهيدروجيني) متوافقة مع نتائج الدراسات السابقة.

كشف التحليل الكروماتوغرافي عن توفر وتنوع المركبات الكيميائية في الزيوت الأساسية لنبتتين. يتم فصل المكونات الرئيسية (الأنثول والأينيسالديهيد) لزيت اليانسون بواسطة كروماتوغرافيا العمود بينما (الأوجينول والأسيتيلوجينول)، بعد المعالجة الحمضية القاعدية لزيت القرنفل. تتميز المنتجات التي تم الحصول عليها ببعض الثوابت الفيزيائية والكيميائية والتحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء (IRTF).

سمح لنا العمل الذي قمنا به بتسليط الضوء على بعض التطبيقات الصيدلانية للمواد الفعالة التي تم استخلاصها.

الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية - المواد الفعالة - كروماتوغرافيا - الأشعة تحت الحمراء - التطبيقات الصيدلانية

## Résumé

La richesse moléculaire des végétaux constitue une source importante de molécules bioactives d'origine naturelle. La mise en évidence de ces molécules nécessite de nombreuses étapes souvent longues et coûteuses. L'objectif de ce travail consiste à l'isolement et la caractérisation des substances actives de l'huile essentielle issus de deux plantes médicinales (*clou de girofle* et l'*anis-vert*).

Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation qui présente la particularité d'être à la fois simple, peu coûteuse et facile. La teneur moyenne en huile essentielle pour chacune des deux plantes a donné un résultat acceptable. Les analyses physico-chimiques ont montré que les constantes étudiées (densité, indice de réfraction, constante de PH), sont cohérentes avec les résultats des études antérieures.

Le profil chromatographique a révélé la disponibilité et la diversité des composés chimiques dans les huiles essentielles de deux plantes. Les principaux constituants (*anéthol* et *anisaldéhyde*) de l'huile d'anis, sont séparés par chromatographie sur colonne alors que (*eugénol* et *acétyleugénol*), après traitement acido-basique de l'huile de girofle. Les produits obtenus sont caractérisés par quelques paramètres physicochimiques et la spectroscopie infrarouge (IRTF).

Les travaux que nous avons effectués nous permettent de mettre en évidence quelques applications pharmaceutiques des substances actives obtenues.

**Mots clés** : Plantes médicinales - Substances actives - Chromatographie -  
Infra-rouge IRTF - Application pharmaceutique

## Abstract

The molecular richness of plants constitutes an important source of bioactive molecules of natural origin. The detection of these molecules requires many steps which are often long and expensive. The objective of this work is to isolate and characterize the active substances of essential oil from two medicinal plants (clove and green anise).

The essential oils have been extracted by hydrodistillation which has the particularity of being at the same time simple, inexpensive and easy. The average essential oil content for each of the two plants gave an acceptable result. Physico-chemical analyzes have shown that the constants studied (density, refractive index, pH constant) are consistent with the results of previous studies.

The chromatographic profile revealed the availability and diversity of chemical compounds in the essential oils of two plants. The main constituents (anethole and anisaldehyde) of anise oil are separated by column chromatography while (eugenol and acétyleugénol), after acid-base treatment of clove oil. The products obtained are characterized by a few physicochemical parameters and infrared spectroscopy (IRTF).

The work that we have carried out allows us to highlight some pharmaceutical applications of the active substances obtained.

**Key words:** Medicinal plants - Active substances - Chromatography - infrared IRTF - Pharmaceutical application.