

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

UNIVERSITE DE M'SILA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



N°...../2014

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de :

MASTER

Spécialité : Chimie organique et produits naturels

Option : Chimie

Par

RABIAI Mohammed

Thème

Étude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle et l'extrait aqueux d'Eucalyptus globulus de la région M'SILA

Soutenu publiquement le : 17/06/2014 devant le jury composé de :

| | | | |
|----------------|--------|----------------------|---------------------|
| - Zeghoïni. H | MC (B) | Université de M'sila | Président |
| - Benmekhbi. L | MC (B) | Université de M'sila | Rapporteur |
| - Hachlef. A | MC (A) | Université de M'sila | Examinatrice |
| - Reffes. A | MC (B) | Université de M'sila | Examineur |

PROMOTION 2014

Sommaire

| | |
|-----------------------------|-----|
| Liste des figures..... | I |
| Liste des tableaux..... | II |
| Liste des abréviations..... | III |
| Introduction..... | 1 |

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I :

Généralité sur plantes médicinales

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| I.1. Les plantes et la médecine | 3 |
| I.1.1. Définition des plantes médicinales..... | 3 |
| I.1.2. L'Aromathérapie..... | 3 |
| I.1.3. Les plantes aromatiques | 3 |
| I.1.4. La dénomination scientifique des plantes médicinales..... | 3 |
| I.1.5. L'intérêt des plantes médicinales | 3 |
| I.1.6. Les objectifs de l'étude des plantes médicinales..... | 3 |
| I.1.7. Cueillette et préparation des plantes médicinales..... | 4 |
| I.1.7.1. Cueillette des plantes..... | 4 |
| I.1.7.2. Conservation des plantes..... | 4 |
| I.1.7.3. Mode de préparation des plantes..... | 5 |
| I.1.8. Classification des plantes médicinales..... | 6 |
| I.2. Présentation botanique et géographique de la famille des Myrtaceae | 6 |
| I.2.1. Présentation botanique et géographique du genre <i>Eucalyptus</i> | 7 |
| I.2.2. Propriétés thérapeutique du genre <i>Eucalyptus</i> | 7 |
| I.2.3. Principaux composants chimiques du genre <i>Eucalyptus</i> | 8 |
| I.2.4. Description d' <i>Eucalyptus globulus</i> | 8 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| I.2.4.1. Classification dans la systématique botanique..... | 9 |
| I.2.5. Huile essentielle <i>d'Eucalyptus globulus</i> | 10 |
| I.2.5.1. Propriétés médicinales..... | 10 |
| I.2.6. Utilisation des huiles essentielles <i>d'Eucalyptus globulus</i> | 10 |
| I.2.6.1. Utilisation interne..... | 10 |
| I.2.6.2. Utilisation externe..... | 11 |
| I.2.7. Conservation..... | 11 |
| I.2.8. Travaux antérieurs sur les HE de l'espèce <i>Eucalyptus globulus</i> | 12 |

Chapitre II :

Valorisation des ressources végétales par l'étude des métabolites secondaires.

| | |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| II.1. Description phytochimique des plantes médicinales..... | 14 |
| II.1.1. Les métabolismes primaires..... | 14 |
| II.1.1.2. Les glucides..... | 14 |
| II.1.1.3. Les acides aminés..... | 15 |
| II.1.1.4. Les lipides..... | 17 |
| II.1.2. Les métabolismes secondaires..... | 17 |
| II.2.1.1. les coumarines..... | 18 |
| II.2.1.2. Les flavonoïdes..... | 19 |
| II.2.1.3. Les alcaloïdes..... | 23 |
| II.2.1.1. Les huiles essentielles..... | 25 |
| II.2. Principales méthodes d'extraction d'HE..... | 30 |
| II.2.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau..... | 30 |
| II.2.2. L'hydro-distillation..... | 30 |
| II.2.3. Extraction par solvants..... | 30 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| II.3. Méthodes de séparation..... | 31 |
| III.3.1. La chromatographie sur couche mince CCM..... | 31 |
| III.3.2. Chromatographie sur papier..... | 31 |
| III.3.3. Chromatographie sur colonne (CC)..... | 32 |
| II.3.4. La chromatographie liquide haute performance (CLHP)..... | 32 |
| II.3.5. La chromatographie en phase gazeux..... | 33 |
| II.4. Les méthodes d'identification..... | 33 |
| II.4.1. Spectroscopie infrarouge..... | 33 |
| II.4.2. Spectroscopie ultraviolet..... | 34 |
| II.4.3. Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire..... | 34 |
| II.4.3.1. Spectrométrie de (RMN ¹ H)..... | 34 |
| II.4.3.2. Spectrométrie de (RMN ¹³ C)..... | 35 |

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III :

Matériels et méthodes

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| III.1. Travaux réalisés..... | 37 |
| III.2. Étude des propriétés physicochimique de l'HE et screening phytochimique..... | 38 |
| de l'extrait aqueux | |
| III.2.1. Matériels végétal..... | 38 |
| III.2.2. Matériel de laboratoire..... | 38 |
| III.2.3. Protocole d'extraction..... | 38 |
| III.2.4. Calcul de rendement | 39 |
| III.2.5. Les analyses des huiles essentielles..... | 39 |
| III.2.5.1. L'Indice de réfraction..... | 39 |
| III.2.5.2. Indice d'acide | 40 |

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| III.2.5.3. La densité | 41 |
| III.2.5.4. Mesure de pH | 42 |
| III.2.6. L'extraction liquide-liquide..... | 42 |
| III.2.6.1. Tests chromatographiques sur l'extrait de chloroforme..... | 43 |
| III.2.7. Le screening phytochimique..... | 45 |
| III.2.8. Résultats et discussion..... | 45 |
| III.2.8.1. Les paramètres organoleptiques | 45 |
| III.2.8.2. Indice de réfraction..... | 45 |
| III.2.8.3. La densité..... | 45 |
| III.2.8.4. Indice d'acide..... | 45 |
| III.2.8.5. Le pH | 45 |
| III.2.8.6. Tests chromatographiques..... | 46 |
| III.2.8.7. Le screening phytochimique | 47 |
| III.3. Etude de l'activité antibactérienne des extraits et l'HE d'<i>Eucalyptus. Globulus</i>... | 48 |
| III.3.1. Introduction générale..... | 48 |
| III.3.2. Evaluation de l'activité biologique | 48 |
| III.3.2.1. Souches bactériennes utilisé | 48 |
| III.3.2.2. Méthode de diffusion sur le milieu gélose (antibiogramme)..... | 49 |
| III.3.3. Etude de l'activité antibactérienne des extraits d'<i>Eucalyptus globulus</i>... | 49 |
| III.3.3.1. Méthodes de diffusion sur milieu gélose antibiogramme..... | 49 |
| III.3.3.2. Résultats de l'antibiogramme..... | 51 |
| III.3.3.3. Discussion des résultats | 52 |
| Conclusion générale..... | 54 |
| Références bibliographiques..... | 56 |

Dédicace

*Je dédie ce modeste travail à mon père **Ibrahim** et ma mère **Djamila** qui m'ont soutenu moralement et tout au long de mes études.*

Aussi je dédie ce travail études

*A mes frères : **Makhlof** et **Hamza**.*

*A mes sœurs : **Samira** et **Hadda**.*

*A tous les familles : **RABIAI**.*

A tous mes amis et camarades.

A tous mes chers collègues de la promotion du Licence au Master pour les années qu'on a passés ensemble.

A tous personnes que n'aurions nommées ici et tous que connue moi.

Remerciements

Avant toute chose je remercie Dieu tout puissant pour m'avoir donné la force et la patience de continuité, qu'il m'a donnée pour mener à bien et jusqu'au bout ce travail.

*Monsieur le docteur **Benmekhbi Lotfi**, Je tiens à vous adresser mes profonds remerciements, pour avoir encadré ce travail. Je tiens à manifester ma reconnaissance pour votre patience, votre gentillesse et votre écoute. Merci de m'avoir laissé libre dans mes choix.*

J'adresse également ma reconnaissance à tous les membres de jury, qui ont fait l'honneur de juger ce travail et de participer au jury de ce mémoire. Avec tous les estimes et profonds respects.

Au terme de cette thèse, je remercie l'institut Pasteur surtout les deux techniciennes madame Ben Halima Najat et madame Belhoute Messaouda et le responsable de l'institut. Je souhaite remercier les techniciens de laboratoire de chimie, et toutes personnes qui m'ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail, leur soutien et avis judicieux de la mener à bien.

LISTE DES FIGURES

| Figure | Titre | Page |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Figure 01 | <i>Structure chimique d'HE 1,8-cinéole et globulol</i> | 8 |
| Figure 02 | Photographie d' <i>Eucalyptus globulus</i> , Labill. | 9 |
| Figure 03 | <i>Structure chimique de coumarine.</i> | 18 |
| Figure 04 | <i>squelette de base des flavonoïdes.</i> | 19 |
| Figure 05 | <i>structure des flavonoïdes après l'oxydation.</i> | 19 |
| Figure 06 | <i>les bandes caractéristiques d'un squelette flavonique.</i> | 22 |
| Figure 07 | <i>Exemples des monoterpènes.</i> | 27 |
| Figure 08 | <i>Exemples des sesquiterpènes.</i> | 28 |
| Figure 09 | <i>Quelques dérivés de phényle propane présent dans l'H.E.</i> | 28 |
| Figure 10 | <i>Schéma général de la procédure expérimentale.</i> | 37 |
| Figure 11 | <i>dispositif d'Hydro distillation.</i> | 38 |
| Figure 12 | <i>L'HE d'Eucalyptus globulus.</i> | 39 |
| Figure 13 | <i>photo d'un réfractomètre.</i> | 40 |
| Figure 14 | <i>Dispositif de titrage pour définir l'indice d'acide.</i> | 40 |
| Figure 15 | <i>Protocole d'extraction liquide-liquide.</i> | 43 |
| Figure 16 | <i>Résultats de test chromatographique sur plaque CCM.</i> | 46 |
| Figure 17 | <i>Les zones d'inhibition de extrait chloroforme(1), la phase aqueuse(2) et HE(3) sur E.coli, S.a et Klebsiella pneumoniae.</i> | 51 |

LISTE DES TABLEAUX

| Tableau | Titre | Page |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| Tableau 01 | <i>quelques familles des plantes médicinales.</i> | 6 |
| Tableau 02 | Composition de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> . | 12 |
| Tableau 03 | <i>Classification des glucides.</i> | 15 |
| Tableau 04 | <i>Classification des acides aminés.</i> | 16 |
| Tableau 05 | <i>Classification des lipides.</i> | 17 |
| Tableau 06 | <i>Structure des différentes classes des flavonoïdes.</i> | 20 |
| Tableau 07 | <i>Relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structures flavoniques.</i> | 21 |
| Tableau 08 | <i>Relation entre le maximum d'absorption en UV et le type de flavonoïdes.</i> | 22 |
| Tableau 09 | <i>Classification des alcaloïdes selon la structure chimique.</i> | 24 |
| Tableau 10 | <i>Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'<i>Eucalyptus globulus</i>.</i> | 45 |
| Tableau 11 | <i>Tableau récapitulatif les caractéristiques d'huile essentielle d'<i>Eucalyptus</i>.</i> | 46 |
| Tableau 12 | <i>les résultats de tests chromatographiques sur plaque CCM.</i> | 46 |
| Tableau 13 | <i>Les diamètres des zones d'inhibitions de l'extrait (1), la phase aqueuse (2) et huile essentielle (3) sur les bactéries.</i> | 51 |

ABREVIATIONS

| | |
|------------------------------------|------------------------------------------------|
| H.E | Huiles essentielles |
| °C | Degré Celsius |
| OMS | L'Organisation Mondiale de la Santé |
| Cm | Centimètre |
| µm | Micromètre |
| Nm | Nanomètre |
| G | Gramme |
| ml | Millilitre |
| V | Volume |
| R.M.N | Résonnons magnétique nucléaire |
| pH | Potentiel d'hydrogène |
| AFNOR | Association Française de Normalisation |
| UV | Ultra-violet |
| IR | l'infrarouge |
| R.M.N | Résonnons magnétique nucléaire |
| ISO | Organisation Internationale de Standardisation |
| CCM | Chromatographie sur couche mince |
| CC | Chromatographie sur colonne |
| CPG | Chromatographie en phase gazeuse |
| HPLC | Chromatographie liquide à haute performance |
| MeOH | Méthanol |
| R_f | Rapport frontal |
| I_a | Indice d'acide |
| d₂₀²⁰ | La densité |
| E.coli | Escherichia coli |

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Depuis toujours, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement des maladies de l'homme est très ancienne et avec l'histoire de l'humanité.

« La médecine traditionnelle qui est la somme totale des connaissances, compétences et pratiques reposant rationnellement ou non, sur les théories, croyances et expériences propres à une culture, est utilisée pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques et mentales » (selon l'OMS,2003). La survie de l'Homme allait dépendre des plantes surtout parce que trois de ces acides gras vitaux ne sont présents que chez les plantes. Aujourd'hui alors qu'on rejette les effets secondaires de certains médicaments modernes puissants, les plantes retrouvent leur place dans notre vie quotidienne.

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux.

L'Eucalyptus est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des feuilles de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre la grippe, et notamment comme anti-inflammatoire. Les études récentes soulignent des propriétés antioxydants et antimicrobiennes de ces huiles essentielles.

Notre objectif dans ce travail est l'extraction des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* de la région de M'sila – Algérie et la réalisation de ces analyses physicochimiques ainsi que l'évaluation de son activité biologique et de l'extrait aqueux et chloroformique.

Le travail présenté est composé de trois chapitres

CHAPITRE I : Généralité sur les plantes médicinales

CHAPITRE II : Valorisation des ressources végétales par l'étude des métabolites secondaire

CHAPITRE III : Matériels et méthodes.

En fin une Conclusion générale.

Chapitre I

Généralité sur plantes
médicinales

I.1. Les plantes et la médecine

I.1.1. Définition des plantes médicinales

Les plantes médicinales comme les autres remèdes thérapeutiques et l'étiologie (la recherche des causes de la maladie) ont toujours été intégrés à la culture d'une époque ou d'une civilisation, donnée [1].

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

Certaines plantes contenant toute une gamme de matière efficaces peuvent avoir des actions très différentes suivant leur préparation

Ces matières efficaces ont des effets physiologiques dans le traitement de quelques maladies dans leurs état pure après extraction ou dans leurs état naturel (fraiche, sec ou extrait partiel) [2].

I.1.2. L'aromathérapie

L'aromathérapie est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, huiles essentielles, substances aromatiques sécrétées par des nombreuses familles de plantes [3].

I.1.3. Les plantes aromatiques

Les plantes aromatiques sont, par définition, des plantes dont les tissus sécrètent suffisamment d'essence pour que celle-ci puisse être extraite distillée. Elles contiennent les molécules aromatiques ou odorantes dans un ou plusieurs de ses organes producteur : feuille, fleurs, fruits, écorces, graines, racines ... Tout plante à odeur n'est pas toujours une plante aromatique : le tilleul est un arbre odorant mais il n'existe pas d'huile essentielle de tilleul [4].

I.1.4. La dénomination scientifique des plantes médicinales

Le nom international d'une plante, exprimé en latin, comprend le nom de genre, suivi de nom d'espèce, ainsi que de l'initiale ou de l'abréviation du botaniste, qui le premier a décrit la plante en question. Eventuellement, il est complété par celui de la sous espèce ou de la variété [5].

I.1.5. L'intérêt des plantes médicinales

La plante est un organisme vivant, soumis aux variations de son environnement. Son évolution au cours des millénaires s'est traduite par des différenciations à la fois externes et internes, c'est-à-dire morphologiques et biochimiques.

Les différenciations morphologiques ont été à la l'origine de la naissance de la classification botanique ou systématiques, prenant aussi en compte de certains critère anatomiques.

Les différenciations biochimiques ont engendré, mutations successives, des différences importantes dans les vois de biosynthèse, et dans l'accumulation de secondaires inédits, ce qui fait d'ailleurs tout l'intérêt et l'usage des plantes thérapeutiques [6].

I.1.6. Les objectifs de l'étude des plantes médicinales

Les objectifs de l'étude des plantes médicinales utilisées par une ethnie ou une communauté sont multiples. En outre , pour accélérer l'intégration des connaissances ethno-médicales dans la médecine moderne, afin de mieux répondre aux besoin de santé, pour rechercher de nouvelles plantes méconnues ou mal connues dans la flore médicinale et d'y rechercher également de nouvelles propriétés éventuelles et de nouvelles formes d'utilisation plus pratique. Enfin, constituer une banque de données de plantes médicinales nécessaire à la contribution d'élaboration de la pharmacopée nationale, est un souhait de la communauté scientifique. Un autre intérêt économique de l'utilisation des ressources nationale en produits phytopharmaceutique revêt une grande importance pour l'économie d'un pays, en particulier pour les pays en développent [7].

I.1.7. Cueillette et préparation des plantes médicinales

I.1.7.1. Cueillette des plantes

Les plantes ou leurs organes (feuilles, bourgeons, fleurs, fruits) doivent être cueillies par temps sec et de préférence après le lever du soleil (juste après l'évaporation de la rosée).

Le choix du moins de la cueillette ne répond pas seulement à un obscur Préjugé, mais au rythme naturel de la vie végétale. Ce moment optimal varie, évidemment, selon les espèces de plante mais il dépende aussi de la partie de la plante à récolter [8].

I.1.7.2. Conservation des plantes

La conservation des plantes de leur action, il est essentiel qu'elle conserve le maximum de leurs principes actifs [8].

Pour conserver les plantes, la débarrasser des parties mortes puis faire sécher dans un lieu aéré. Les racines séchées à l'air et conservées à l'abri de l'humidité. Fleurs, feuilles, semences doivent être desséchées étendues sur ou suspendues en petits paquets isolés [9].

I.1.7.3. Mode de préparation des plantes**❖ Décoction**

La décoction consiste à faire bouillir dans l'eau les plantes de 5 à 20 minutes. Si les drogues sont finement coupées, 5 minutes suffisent ; si elles sont dures ou ligneuses, 20 minutes sont nécessaires pour en faire une bonne extraction, surtout si les plantes ont été préalablement trempées dans l'eau froide et lentement amenées à ébullition. Pour obtenir une tasse de tisane, faire cuire 3 cuillerées de drogues dans 2 tasses d'eau. Ne pas conserver les décoctions plus de douze heures [2].

❖ Infusion

C'est le procédé le plus simple, on verse l'eau bouillante sur les plantes dans un récipient dont le couvercle ferme bien, afin d'éviter toute perte d'essence volatile et on laisse extraire 5 à 15 minutes, puis on filtre. La dose normale de plante est de 1 à 3 cuillerées à thé par tasse d'eau [2].

❖ Macération

Les macérations concernent généralement les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur (par ébullition). Elles peuvent être définies comme des infusions froides de longue durée (de plusieurs jours).

On distingue les macérations aqueuses, les macérations huileuses et macérations alcoolisées, qu'on appelle aussi 'teintures'.

Les plantes à macérer doivent être scrupuleusement nettoyées et désinfectées avant d'être disposées dans un récipient en verre, qui sera rempli du liquide approprié. Dans certains cas on fait porter la macération (habituellement huileuse) à bain marie. Après quelques jours la potion doit être filtrée [10].

❖ La poudre

Les plantes séchées à l'ombre sont finement coupées puis pulvérisées dans un mortier. Ces plantes simples ou en mélange sont en sachets (infusettes) pour faire des tisanes qui n'ont pas besoin d'être passées. Certains malades prennent la poudre de plantes directement sur la langue, ou la mélangent à leurs aliments [2].

❖ Les cataplasmes

Préparation de plantes appliquées sur la peau, les cataplasmes calment les douleurs musculaires et les névralgies, soulagent entorses et fractures et permettent d'extraire le pus des plaies infectées, des ulcères et des furoncles [13].

I.1.8. Classification des plantes médicinales

Le monde des plantes est très vaste, on cite quelques familles les plus reconnus dans le **tableau(01)** suivant :

Tableau 01 : quelques familles des plantes médicinales.

| <i>Les familles</i> | <i>Les espèces</i> |
|----------------------|-----------------------------------------|
| <i>Liliacées</i> | <i>Tulipe, Ail, Poireau.....</i> |
| <i>Lamiacées</i> | <i>Basilic, Menthe, Origan, Lavande</i> |
| <i>Lauracées</i> | <i>Laurier</i> |
| <i>Loranthacées</i> | <i>Gui</i> |
| <i>Polygonacées</i> | <i>Rhubarbe</i> |
| <i>Borraginacées</i> | <i>Bourrache, Consoude</i> |
| <i>Papavéracées</i> | <i>Pavot, Chélidoine</i> |
| <i>Ombellifères</i> | <i>Cerfeuil, Persil, Coriandre</i> |
| <i>Myrtacées</i> | <i>Eucalyptus, Girofle</i> |
| <i>Chénoposacées</i> | <i>Arroche</i> |
| <i>Saxifragacées</i> | <i>Groseillier, Cassiser</i> |

I.2. Présentation botanique et géographique de la famille des Myrtaceae

La famille **Myrtaceae-Myrtacées** est une famille de plantes dicotylédones, deux cotylédons sur l'embryon, deux feuilles constitutives de la graine. Les Myrtacées sont réparties en environ trois mille espèces réparties en 134 genres environ.

Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques des zones tempérées, subtropicales à tropicales, poussant principalement en Australie, en Amérique tropicale, région méditerranéenne, l'Afrique subsaharienne, Madagascar, tropicales et tempérées d'Asie, et les îles du Pacifique. . Dans cette famille, on peut citer les genres : *Eucalyptus*, *Psidium* dont fait partie le goyavier, *Myrtus* dont fait partie le myrte (arbuste du maquis méditerranéen), *Eugenia* dont le giroflier (*Eugenia caryophyllata*) qui donne le clou de girofle. On rencontre aussi des espèces dont les fruits sont comestibles (genres *Feijoa*, *Eugenia*, *Campomanesia*) [11].

Les fleurs à odeur suave des Myrtacées sont pollinisées par divers insectes, oiseaux ou mammifères ; le nectar sert de monnaie d'échange. Chez les genres *Eucalyptus*, *Melaleuca* et

Callistemon, les étamines sont plus remarquables que les pétales, donnant à l'inflorescence un aspect de goupillon. Les espèces à fruit charnu sont disséminées par les oiseaux et les mammifères ; les espèces à fruits capsulaires ont de petites graines parfois ailées qui sont disséminées par le vent ou par l'eau [11].

I.2.1. Présentation botanique et géographique du genre *Eucalyptus*

Les *Eucalyptus* sont de grands arbres dont certaines espèces peuvent atteindre 100 mètres de hauteur, originaire d'Australie, notamment de la province de Tasmanie ; l'*Eucalyptus* fut rapidement planté dans les régions subtropicales de l'Asie et du bassin méditerranéen. Possédant une exceptionnelle capacité d'absorber l'eau du sol sur lequel il croît, l'*Eucalyptus* assèche rapidement les marais qu'il colonise. Il élimine ainsi les milieux de reproduction des insectes qui transmettent la malaria, d'où le nom « d'arbre à la fièvre » ou *Australien fevertree*.

La plupart des *Eucalyptus* ont des feuilles persistantes. Comme les autres membres de la famille des myrtaceae, les feuilles d'*Eucalyptus* sont couvertes de glandes à huile. L'abondante production d'huile est une caractéristique importante de ce genre.

Les feuilles, bleutées, ont une curieuse caractéristique : sur les jeunes arbres, elles sont opposées, sessiles, ovales et glauque, et quand l'arbre grandit, elles deviennent alternes, pétiolées, très allongées, parfois un peu courbées comme des lames de faux, et d'un vert luisant.

Les fleurs sont très variées. Elles ont de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge.

Les fruits à maturité ont la forme d'un cône, ils sont secs, et de couleur brune. Ils ont également des valves qui se soulèvent pour laisser échapper les graines lors de leur chute sur le sol [11].

De nombreux *Eucalyptus* sont utilisés dans le monde pour produire du bois de service : poteaux, bois de mine, bois de feu, perches, bois de construction.

I.2.2. Propriétés thérapeutique du genre *Eucalyptus*

De nombreux pays ont rapidement intégré les usages médicaux des feuilles d'*Eucalyptus* dans leur pharmacopée : Chine, Inde, Sri Lanka, Afrique du Sud, Île de la Réunion, Europe, etc.

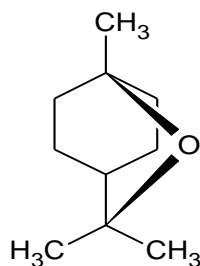
La production commerciale d'huile essentielle d'*Eucalyptus* a débuté en 1860, dans la région de Victoria en Australie. Actuellement, l'Australie, le Maroc, l'Espagne.

Au XIX^e siècle, on utilisant l'HE pour aseptiser les cathéters urinaux dans les hôpitaux anglais. De nombreuses préparations pharmaceutiques destinées aux diverses affections des

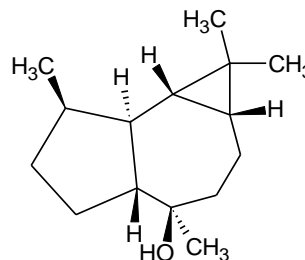
Voies respiratoires (Vicks Vaporub, par exemple). De nos jours, elle entre dans la fabrication de rince-bouche (Listerine, par exemple) et de dentifrices ; les produits et les solvants endodontiques utilisés en dentisterie comprenant de l'huile de plusieurs plantes entre autre l'huile de clou de girofle et d'*Eucalyptus* [12]. On s'en sert aussi comme dégraissant industriel. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) reconnaît l'usage traditionnel des feuilles d'*Eucalyptus*, de l'HE (*E. globulus*) pour soulager la fièvre et les symptômes de l'asthme, pour traiter l'inflammation des voies respiratoires, de la gorge ou des muqueuses de la bouche (voie interne) ainsi que pour soulager les douleurs rhumatismales (vie externe).

I.2.3. Principaux composants chimiques du genre *Eucalyptus*

- Huile essentielle (Oxydes terpéniques : 1,8-cinéole ; monoterpènes : alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, paracymène ; sesquiterpènes : aromadendrane ; sesquiterpénols : globulol, lédol)
- Flavonoïdes (des hétérosides de flavones avec les aglycones suivants : quercétine, myricétine, kaempférol et rutine).
- Tanins



1,8-cinéole (*Eucalyptol*).



Globulol.

Figure 01 : Structure chimique d'HE 1,8-cinéole et globulol

I.2.4. Description d'*Eucalyptus globulus*

Les feuilles pétiolées ; pouvant atteindre 25 cm de long ; légèrement falciformes ; assez épaisses ; de couleur gris-vert, présentent une nervure principale surtout distincte sur la face inférieur. Le bord est lisse et quelque peu épaissi. La drogue coupée contient des fragments de limbe coriaces, friables, avec de nombreuses lenticelles de couleur brune plus ou moins foncées, par transparence, apparaissent de multiples poches sécrétrices ponctuant le limbe. De nombreux petits points visibles à la loupe correspondent aux stomates.

Odeur : forte, fraîche, balsamique « odeur d'une baume », camphrée.

Saveur : chaude aromatique, un peu amère, suivie d'une sensation de fraîcheur prononcée et agréable.

Biotope : très cultivé sur le littoral dans l'air de l'oranger, il préfère les terrains humides. Le but, c'est d'assainir les régions marécageuses. Comme il est planté fréquemment en bordures de routes et forme beaucoup de bois dans la partie nord de pays.

Récolte : en Février et en Novembre à la taille des arbres.

Partie à utiliser : essentiellement par ses feuilles adultes poussant sur les rameaux âgés [5].

I.2.4.1. Classification dans la systématique botanique

Synonymes : Gommier bleu, Eucalyptus globuleux, Arbre fièvre, Eucalyptus officinal.

| | |
|----------------------|--------------------------------------|
| Règne | Plante |
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida-Dicotylédones |
| Sous-classe | Rosidae |
| Ordre | Myrtales |
| Famille | Myrtaceae |
| Genre | Eucalyptus |
| Espèce | globulus |
| Nom botanique | <i>Eucalyptus globulus</i> , Labill. |

Les noms vernaculaires : Calitous « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions



Figure 02: Photographie d'*Eucalyptus globulus*, Labill.

I.2.5. Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est connue pour son efficacité contre les affections respiratoires. Cette essence aromatique possède également d'innombrables vertus et s'avère efficace dans le maintien de la santé au quotidien.

I.2.5.1. Propriétés médicinales

Cette huile possède un effet rafraîchissant indéniable sur la température du corps. C'est un fébrifuge.

Elle est utilisée dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques pour ses multiples vertus sur l'arbre respiratoire.

Elle facilite la dissolution et l'élimination des glaires bronchiques (balsamique, fluidifiant, expectorant), anti-infectieux vis-à-vis des bactéries et virus.

Antiseptique pour les voies urinaires, elle est aussi antirhumatismale, stimulante et tonifiante.

En outre, c'est un excellent antibiotique naturel [14].

I.2.6. Utilisation des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*

Les huiles essentielles d'*Eucalyptus* est utilisé par deux voies la voie interne et la voie externe.

I.2.6.1. Utilisation interne

a. Inflammation et infection des voies respiratoires (bronchite, sinusite, rhume, etc.).

- ***Infusion*** : Infuser de 2 g à 3 g de feuilles séchées dans 150 ml d'eau bouillante durant 10 minutes. Boire deux tasses par jour.
- ***Inhalation*** : Elle consiste à respirer de la vapeur d'eau (par le nez) chargée de quelques gouttes d'huile essentielle (pas plus de 10 gouttes). A défaut d'inhalateur (que vous pouvez acheter en pharmacie), vous pouvez tout simplement vous pencher au-dessus d'un bol d'eau chaude avec une serviette de bain sur la tête pour respirer le plus possible de vapeur. Ne pas dépasser plus de 15 minutes par inhalation. Répéter jusqu'à trois fois par jour [15].

I.2.6.2. Utilisation externe

a. Inflammation et infection des voies respiratoires

- **Friction et massage :** Appliquées sur la peau, les huiles essentielles pénètrent les tissus et irriguent le corps par le sang. On peut ainsi privilégier les passages veineux comme le poignet ou le coude. En règle générale, il vaut mieux éviter d'appliquer sur la peau des huiles essentielles non diluées. Il est conseillé de les mélanger au préalable avec une huile végétale (jojoba, macadamia, rose musquée, argan, noix de coco, germes de blé, amande douce, olive, noyau d'abricot...).

b. Mal de gorge

- **Gargarisme.** Infuser durant 10 minutes de 2 g à 3 g de feuilles séchées dans 100 ml d'eau bouillante. Se rincer la bouche ou se gargariser avec la préparation filtrée et refroidie, de deux à trois fois par jour. On peut également préparer un gargarisme en diluant de 2 à 3 gouttes d'huile essentielle dans 5 ml d'alcool, préparation à laquelle on ajoutera 50 ml d'eau.

c. Hygiène buccale Rince-bouche

Diluer de 2 à 3 gouttes d'huile essentielle d'eucalyptus dans 5 ml d'alcool et ajouter 50 ml d'eau. Faire un bain de bouche deux à trois fois par jour.

d. Douleurs rhumatismales

- **Friction :** Verser de 15 à 20 gouttes d'huile essentielle dans 25 ml d'huile végétale et frictionner les articulations douloureuses, trois fois par jour.

e. Mal de tête

- **Friction :** Verser de 1 à 2 gouttes d'huile essentielle dans quelques gouttes d'huile végétale; frictionner les tempes et le front. Ne pas appliquer trop près des yeux [15].

I.2.7. Conservation

Il est recommandé de stocker les huiles essentielles dans des flacons en verre ambre ou foncé, de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air (pas d'ouverture prolongée des flacons). Dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années.

I.2.8. Travaux antérieurs sur les HE de l'espèce *Eucalyptus globulus*

L'espèce *Eucalyptus globulus* d'une région algérienne a été l'objet d'une analyse de son HE d'où 20 composés, représentant 98,3% de l'HE ont été identifiés. Cette huile est majoritairement composée de 1,8-cinéole (48,6%), α -pinène (9,7%) globulol (10,9%), trans-pinocarveol (10,7%) et α -terpineol (6,6%) [16].

Le *Tableau* suivant représente les différents composants obtenue après l'analyse :

| Composants | % |
|----------------------------------------------------------|------|
| α -Pinène | 9.7 |
| 1,8-cinéole | 48.6 |
| Isoamyisovalerate | 1.1 |
| <i>trans</i> -Pinocarveol | 10.7 |
| Pinocarvone | 1.0 |
| 4-Terpineol | 0.3 |
| α -Terpineol | 6.6 |
| <i>trans</i> -Carveol | 0.8 |
| Carvacrol | 0.1 |
| α -Terpinyl acetate | 0.3 |
| Geranyl acétate | 0.1 |
| Aromadendrène | 4.6 |
| Ledene | 0.6 |
| Viridiflorol | 0.4 |
| Globulol | 10.9 |
| α -Eudesmol | 0.8 |
| Juriper Camphor | 0.6 |
| Isoaromadendrene oxide | 0.2 |
| 6, 6-Dimethyl-2-(3-oxobuyl)-bicyclo [3, 11] heptan-3-one | 0.2 |
| Carboxamide | 0.7 |

Tableau 02: Composition de l'HE d'*Eucalyptus globulus*.

Chapitre II

Valorisation des ressources
végétales par l'étude des
métabolites secondaires

II.1. Description phytochimique des plantes médicinales

Dans le monde végétal, les molécules naturellement synthétisées peuvent être classifiées en deux grandes catégories. Premièrement, il y a les composés qui sont produits dans toutes les cellules et qui jouent un rôle central dans le métabolisme et la reproduction de ces cellules. Ces molécules comprennent les acides nucléiques, les acides aminés communs, les acides gras et les sucres. Ils sont connus sous le nom de métabolites primaires. Deuxièmement, il y a les molécules qui peuvent être parfois caractéristiques de certaines familles et/ou espèces végétales et qui ne sont pas indispensables à la survie de la plante. Ces molécules correspondent aux métabolites secondaires qui peuvent être classées en trois grands groupes : les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes [17].

II.1.1. Les métabolismes primaires

II.1.1.1. Les glucides

❖ Définition

Les glucides sont des molécules indispensables à la survie des organismes vivants car leurs formes les plus simples sont à la base des mécanismes énergétiques et de la biosynthèse des autres métabolites. Chez les végétaux on les retrouve sous différents formes [18] :

- A. Polymères énergétiques (amidon) ou structuraux (cellulose, pectines...)
- B. Sucres simples
- C. Hétérosides (sucres lié avec une molécule non osidique)

❖ Classification

Elle basée sur le nombre n de carbones de chaîne (sucre en « C₃ » ; sucre en « C₆ »). Le tableau ci-dessous indique le nom des principaux oses rencontrés [19].

| Nombre de carbone | Nom de l'ose | | Substance apparentée aux oses | Polymère |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | <i>Aldose</i> | <i>Cétose</i> | | |
| n=3 Triose | Glycéraldéhyde | Dihydroxyacétone | Glycérol | |
| n=4 Tétrade | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Erythrose | | | |
| n=5 Pentose | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Ribose ▪ Xylose ▪ Arabinose | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Ribulose ▪ Xylulose | Désoxyribose | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Xylane ▪ Arabinane |
| n=6 Héxose | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Glucose ▪ Mannose ▪ Galactose | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Fructose | Acide glucuronique Acide ascorbique Acide galacturonique | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Cellulose ▪ Amidon ▪ Mannane ▪ Galactane |
| n=7 Heptose | | Sédoheptulose | | |

Tableau 03 : Classification des glucides.

II.1.1.2. Les acides aminés

❖ Définition

Les acides aminés sont de petites molécules organiques qui rentrent dans la composition des protéines. Il en existe une vingtaine.

Les acides aminés sont constitués de deux parties : l'une, dite acide comprend en radical composé de carbone d'oxygène et d'hydrogène (COOH), l'autre dit amine comprend de d'azote et de l'hydrogène (NH₂).

❖ *Classification*

Il existe une vingtaine d'acides aminés différents selon la nature du radical R [19].

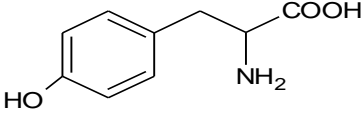
| Nature du radical | | Nom des acides aminés | Exemple de formule | |
|--------------------------------------------------|-------------------------------|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Radical non polaire (aucune affinité pour l'eau) | | Glycocolle : GLY | $\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$ <p style="text-align: right;">Ala</p> | |
| | | Alanine : ALA | | |
| | | Valine : VAL | | |
| | | Leucine : LEU | | |
| | | Isoleucine : ILE | | |
| | | Phénylalanine : PHE | | |
| | | Proline : PRO | | |
| Radical polaire* non ionique | AA alcool (OH) | Sérine : SER | $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH}$ $ $ CH_3 <p style="text-align: right;">Ser</p> | |
| | | Thréonine : THR | | |
| | AA soufré (S) | Cystéine : CYS | $\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HS}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$ <p style="text-align: right;">Cys</p> | |
| | | Méthionine : MET | | |
| | AA cyclique | Tyrosine : TYR |  <p style="text-align: right;">Tyr</p> | |
| | | Tryptophane : TRP | | |
| | AA Amide (CONH ₂) | Asparagine : ASN | $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$ <p style="text-align: right;">Asn</p> | |
| | | Glutamine : GLN | | |
| | Radical polaire ionique | AA acide (COOH) | Ac. Aspartique : ASP | $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$ <p style="text-align: right;">Asp</p> |
| | | | Ac. Glutamique : GLU | |
| AA basique (NH ₂) | | Lysine : LYS | $\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{NH}_2 \\ \quad \\ \text{HO}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_4 \end{array}$ <p style="text-align: right;">Lys</p> | |
| Arginine : ARG | | | | |
| Histidine : HIS | | | | |

Tableau 04 : Classification des acides aminés.

II.1.1.3. Les lipides

❖ *Définition*

Le terme lipide est en général utilisé pour décrire des molécules à caractère hydrophobe et soluble dans des solvants organiques. Cette définition peut convenir à différentes classes moléculaires telles que les acides gras, les terpènes, les caroténoïdes ou les stéroïdes. Dans cette partie, seuls les acides gras et leurs dérivés seront abordés, les autres classes étant issues du métabolisme secondaire [20].

❖ *Classification des lipides*

Le tableau ci-dessous indique le nom des principaux lipides rencontrés [19].

| Lipides | Nom des lipides | Exemple de formule |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Lipides simples | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Glycérides ▪ Cérïdes ▪ Stérides | $ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} \text{---} \text{O} \text{---} \text{COR}_1 \\ \\ \text{HC} \text{---} \text{O} \text{---} \text{COR}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{C} \text{---} \text{O} \text{---} \text{COR}_3 \end{array} $ <p style="text-align: center;">Triglycéride</p> <p style="text-align: center;">R_1, R_2, R_3 variant selon la nature du lipide</p> |
| Lipides complexes | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Phospholipides ▪ Glycolipides | $ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} \text{---} \text{O} \text{---} \text{R}_1 \\ \\ \text{HC} \text{---} \text{O} \text{---} \text{R}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{C} \text{---} \text{O} \text{---} \text{P} \text{---} \text{Base} \end{array} $ <p style="text-align: center;">Phospholipide</p> |

Tableau 05 : Classification des lipides.

II.1.2. Les métabolismes secondaires

Les substances naturelles sont en général des métabolites secondaires produites par les organismes, stimulés par plusieurs facteurs extérieurs comme les changements nutritionnels, climatiques, les infections répétées. Ces substances sont classées selon leurs groupements fonctionnels en plusieurs groupes chimiques : les phénols, les alcaloïdes et les huiles essentielles [21].

II.1.2.1. les coumarines

❖ *Définition*

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », d'où fut isolée en 1820 la coumarine. Elles sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-z-cinnamique. Plus d'un millier de coumarines ont été décrites et les plus simples d'entre elles sont largement distribuées dans le règne végétal [11].

❖ *Structure*

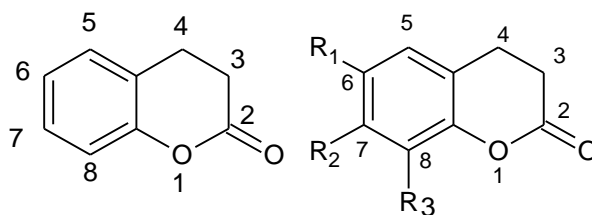


Figure 03 : Structure chimique de coumarine.

$R_1 = R_3 = H, R_2 = OH$Ombelliférone.

$R_1 = R_3 = H, R_2 = OCH_3$... Herniarine.

$R_1 = OCH_3, R_2 = R_3 = OH$... Fraxétol[11].

Elles sont les plus répandues dans le règne végétal, et possèdent des substitutions (OH ou OCH_3) en position 6 et 7.

❖ *Les propriétés pharmacologiques*

L'intérêt pharmacologique des drogues à coumarines est limité d'une façon générale, ainsi que leurs dérivés contre les troubles veineux (exuloside, exuléto). La coumarine a fait l'objet d'études chimiques chez des patients atteints de cancers avancés ; elle est immunostimulante et développerait une activité cytotoxique. Rapidement métabolisée au niveau de la fois en 7-hydroxy coumarine, elle peut rarement, induire une hépatonécrose sévère, [11].

II.1.2.2. Les flavonoïdes

❖ Définition

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques, presque toujours hydrosolubles et très répandus dans le règne végétal [22]. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits [11], et parfois des feuilles. Le plus souvent, ils sont sous forme d'hétérosides ou de flavonoïdes.

❖ La structure

La plupart des flavonoïdes ont une structure de base relativement simple. Ils sont composés de deux cycles aromatique de type phényle (A et B) liées par un chaîne de trois atomes de carbone généralement cyclique. Soit un système $C_6-C_3-C_6$ comme le montre la figure(04) suivant [22] :

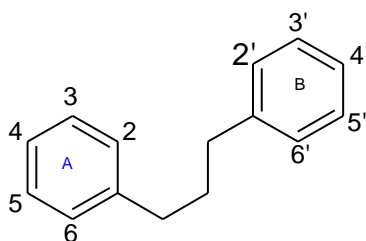


Figure 04 : squelette de base des flavonoïdes

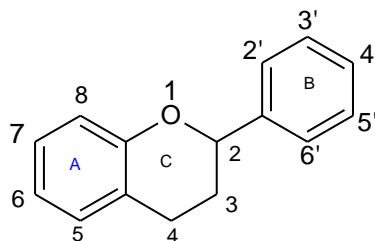


Figure 05 : structure des flavonoïdes après l'oxydation

Ils peuvent être regroupé en une douzaine de classes, la variation du degré d'oxydation de la chaîne carbonée (formant, en générale un hétérocycle C, par condensation avec un OH phénolique du noyau A.

❖ Classification flavonoïdes

Les diverses classes de flavonoïdes diffèrent en fonction de la cyclisation du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C alors que les composés individuels au sein d'une classe diffèrent par la substitution des cycles A et B. parmi les nombreuses classes de flavonoïdes présentées figure II 30, nous citons les principales : anthocyanes, flavanols, flavones, isoflavones et proanthocyanidols.

Chapitre II: Valorisation des ressources végétales par l'étude des métabolites secondaires

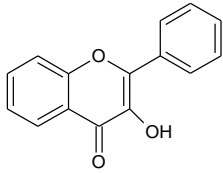
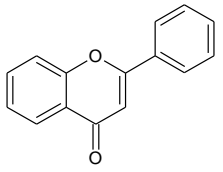
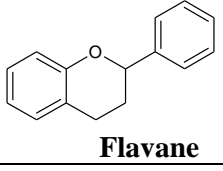
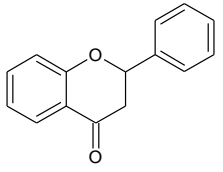
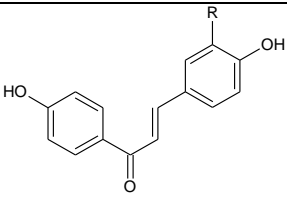
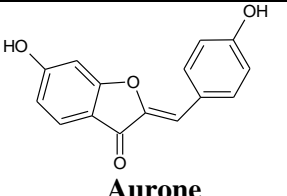
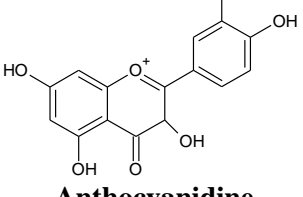
| Structure chimique | Flavonoïde (exemple) | Groupements hydroxyles | | | | | | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|----|----|----|---------|---|---|---|------------------|
| | | 2' | 3' | 4' | 5' | 3 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|  <p>Flavonol</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Quercétine ▪ Myricétine ▪ Ficétine ▪ Morine ▪ Kaempférol ▪ Rutine ▪ Quercétrine | * | * | * | * | * | * | * | * | |
|  <p>Flavone</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Lutéoline ▪ Apigénine ▪ Baicaléine | | * | * | | | * | * | * | |
|  <p>Flavane</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Catéchine ▪ Méciadonol | | * | * | | Methoxy | * | * | | |
|  <p>Flavanone</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Taxifoline ▪ Naringinine ▪ Naringine | | * | * | * | | * | * | * | Rhamno-glycoside |
|  <p>Chalcone</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Isoliquiritigénine ▪ Butéine | | | | | H OH | | | | |
|  <p>Aurone</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Hispidol | | | | | | | | | |
|  <p>Anthocyanidine</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Pélargonidol(R=H) ▪ Cyanidol(R=OH) | | | | | | | | | |

Tableau 06 : Structure des différentes classes des flavonoïdes [11].

❖ *L'effet pharmacologie des flavonoïdes*

Les flavonoïdes réagissent avec de très nombreuses enzymes de l'organisme. Ils sont cependant, beaucoup très nombreux pour qu'on connaisse avec précision leurs effets spécifique.

Certains flavonoïdes sont connus pour leurs propriétés oestrogénique. Ces phytoestrogènes seraient capable de modules l'action des hormones oestrogeniques et semblent avoir un effet protecteur sur les « hormaux dépendants » le sein chez la femme, la prostate chez les flavonoïdes ont également une place de choix en prévention cardiovasculaire. Diverses expériences ont montré qu'ils étaient capables de neutraliser les radicaux libres et d'augmenter la résistance du cholestérol à l'oxydation.

Ils agissent également comme anti-inflammatoires, antiallergiques, antibactériennes et anti-virus....etc [23].

❖ *Analyse structurale des flavonoïdes*

L'identification des structures flavoniques est basée essentiellement sur les différentes techniques spectroscopiques telles que la résonance magnétique nucléaire (R.M.N) avec ses différents modes (1H, 13C, etc....), ainsi que la spectrophotométrie UV-visible qui reste la méthode de choix pour ce type de composés [24].

a. La fluorescence sous lumière de Wood

L'absorption des substances flavoniques sous lumière de Wood à la longueur d'onde de 365 nm donne des renseignements préliminaires sur la structure chimique.

| La fluorescence | Les structures possibles |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| Violette noire | Flavones avec 5,7,8 trihydroxy flavone. Chalcones. |
| Bleu | Flavone ou flavonol sans OH en 5. Flavanone avec OH en 3 ou flavanol. |
| Jaune ou jaune terne | Flavanol avec 3-OH, et avec ou sans 5-OH. |
| Orange fluorescente | Isoflavones. |
| Jaune-verte | Aurones. |
| Bleu-verte | Favanone sans 5-OH. |

Tableau 07 : Relation entre la fluorescence sous lumière de Wood et les structures flavoniques [24].

b. La spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie UV-visible est la méthode la plus importante pour l'identification des structures flavoniques. Elle est basée essentiellement sur l'enregistrement d'un spectre dans un milieu alcoolique (méthanol ou éthanol) qui sera caractérisé par deux bandes d'absorption principales [25].

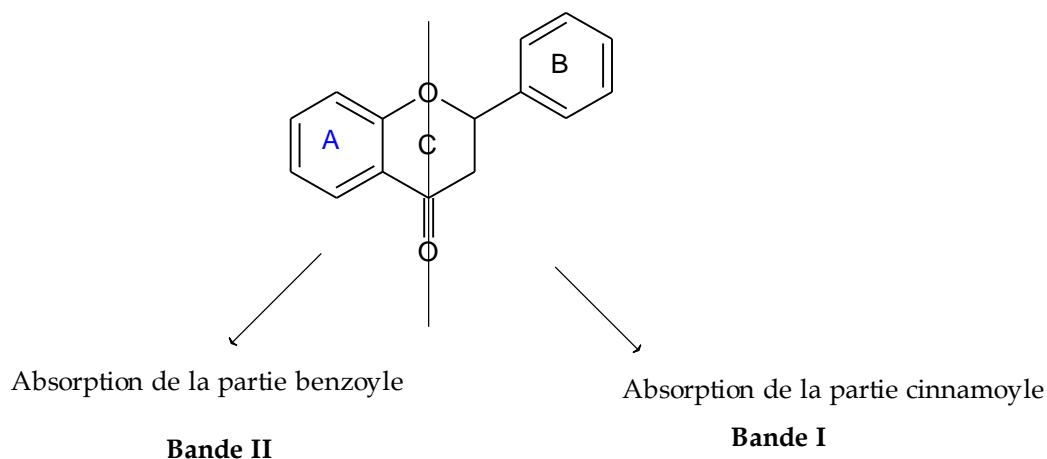


Figure 06 : les bandes caractéristiques d'un squelette flavonique.

Bandes I :

Présentant un maximum d'absorption entre 300 et 400 nm, elle est attribuée à l'absorption du système cinnamoyle qui résulte de la conjugaison du groupement carbonyle avec la double liaison (C2-C3) et le noyau B, elle donne donc, des renseignements sur les variations structurales du cycle B et l'hétérocycle C.

Bande II :

Présentant un maximum d'absorption entre 240 et 280 nm, elle est attribuée à l'absorption du système benzoyle qui dérive de la conjugaison du groupement carbonyle avec le noyau A et donne informations sur les variations structurales du cycle A [25].

| <i>Type de composé Flavonique</i> | <i>Bande I</i> | <i>Bande II</i> |
|-----------------------------------|-------------------------|-----------------|
| Flavone | 320-350nm | 250-270nm |
| FLavonol | 352-385nm | 250-280nm |
| Flavanone | 300-330nm | 245-275nm |
| Isoflavone | 300-330nm Epaulement | 245-275nm |

Tableau 08 : Relation entre le maximum d'absorption en UV et le type de flavonoïdes.

c. Addition de réactifs (série spectrale UV)

Le spectre méthanolique d'un composé flavonique sera modifié par addition d'un certain nombre de réactifs tels que NaOH, NaOAc, AlCl₃, NaOAc + H₃BO₃, et AlCl₃ + HCl. Ces derniers réagissent avec les groupements hydroxyles par formation de complexe qui se traduira sur le spectre UV par des déplacements bathochromiques ou hypsochromiques des bandes d'absorption, permettant la localisation des hydroxyles libres sur le squelette flavonique.

d. La Résonance Magnétique Nucléaire RMN

La spectroscopie de résonance magnétique nucléaire trouve un emploi pour la détermination des structures flavoniques [26]. C'est une méthode précise et efficace, mais nécessite une grande quantité du produit ce limite son utilisation par rapport aux autres méthodes d'analyse.

- Pour **RMN ¹H** : informe sur l'environnement des différents protons flavoniques qui résonnent généralement entre 6 et 8 ppm.
- Pour **RMN ¹³C** : donne des informations utiles et parfois nécessaires pour mieux identifier la molécule [26]. telles que le nombre total d'atomes de carbone du composé flavonique ainsi que leur environnement.

II.1.2.3. Les alcaloïdes

❖ *Définition*

Les alcaloïdes sont des substances organiques, le plus souvent d'origine végétale, azotées, basiques, donnant des réactions de précipitation avec certains réactifs (appelés réactifs généraux des alcaloïdes) et douées, à faible dose, de propriétés physiologiques marquées. Sur le plan chimique, ils constituent un groupe très hétérogène, possédant cependant quelques propriétés physico-chimiques communes [27].

Mais typiquement les alcaloïdes sont des métabolites secondaires des végétaux.

❖ *Classification*

Les alcaloïdes hétérocycles sont les plus nombreux. Ils peuvent être mono ou polycyclique [28].

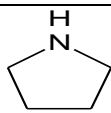
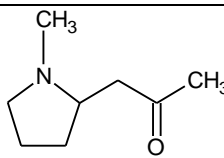
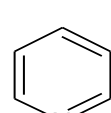
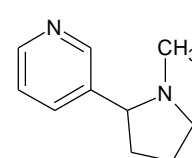
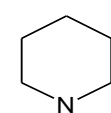
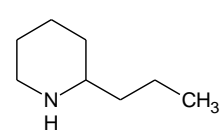
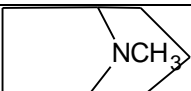
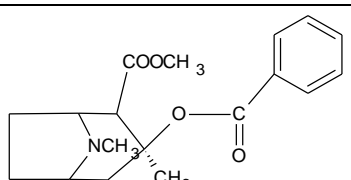
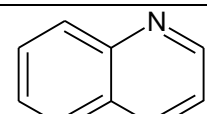
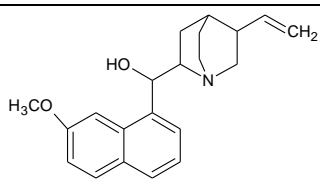
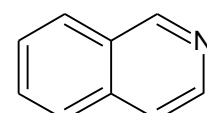
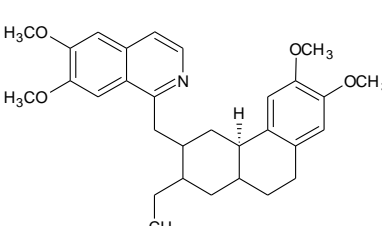
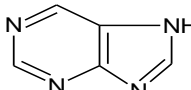
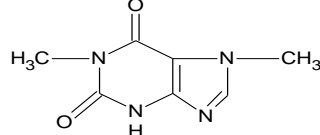
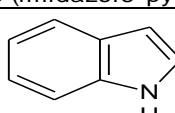
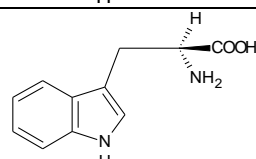
| <i>Alcaloïdes dérivés par</i> | <i>Exemple</i> | <i>Structure</i> | <i>Origine</i> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|  Pyrrolidine | Hygrine |  | / |
|  Pyridine | Conine |  | Conium maculatum L. Umbelliferae |
|  Pipéridine | Nicotine |  | Tabac, Nicotiana Tabacum L. Solanaceae |
|  Tropane | Cocaïne |  | Feuilles de Coca, Erythroxylon coca Lam. Linaceae |
|  Quinoléine | Quinine |  | Ecorces de Quinquinas. Rubiacée |
|  Isoquinoline | Papavérine |  | L'opium papavéracée |
|  Purine (imidazole ⁺ pyrimidine) | Caféine |  | Café, Thé, maté, du Kola |
|  Indole | Tryptophane |  | / |

Tableau 09 : Classification des alcaloïdes selon la structure chimique [28].

❖ *L'effet pharmacologie des alcaloïdes*

Les alcaloïdes ont une activité biologique et à ce titre, ils entrent dans la composition de nombreux médicaments comme principe actif. Doués de propriétés physiologiques et toxicologiques remarquables : au niveau du système nerveux central, qu'ils soient dépresseurs (Morphine) ou stimulants (Caféine). Au niveau du système nerveux autonome sympathomimétique (éphédrine) ou sympatholytique (ésérine), anticholinergiques (atropine), ganglioplégiques (nicotine) [11].

D'autres ont des propriétés anesthésiques locales (cocaïne), antiforillants (quinidine), antioxydants (émétine).

II.1.2.4. Les huiles essentielles

❖ *Définition*

Les H.E sont des produits du métabolisme secondaire spécifiques aux végétaux supérieurs. Elles parfois appelées essences, sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles. Elles sont obtenues par deux procédés, soit par distillation ou par entraînement à la vapeur d'eau, ou plus rarement par expression des épicarpes de citron ou de l'organe. Pour améliorer la quantité aromatique des huiles essentielles, l'extraction se fait à basse température et pression [29].

❖ *La qualité des HE*

La qualité est mesurée par sa conformité à des normes qui peuvent varier selon l'utilisation de l'huile essentielle, par exemple : les normes "AFNOR" (Association Française pour la Normalisation) et ISO (Organisation Internationale de Standardisation) sont les barèmes utilisés pour juger la qualité des huiles essentielles dans les secteurs des parfums.

- En phytothérapie, leur qualité peut être assurée par la présence d'une certaine quantité de substances des parfums.
- En pratique, la qualité des huiles essentielles est évaluée de deux façons : premièrement par des analyses chimiques et physico-chimiques et deuxièmement par les propriétés organoleptique de l'huile essentielle.
- La première est effectuée par des laboratoires spécialisés et la deuxième par un panel de personnes expérimentées ou encore par un "nez artificiel" [30].

❖ *Localisation*

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux :

- les fleurs dans le bergamotier, tubéreuse
- feuilles dans les citronnelles, laurier
- racines dans les vétivers
- rhizomes dans les curcumas
- fruits dans les badianes
- graines dans les muscades.
- écorces dans canneliers.
- bois dans les camphriers [31].

Si tous les organes d'une même espèce peuvent retenir une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation.

❖ *Rôle dans la plante*

Le rôle que les huiles essentielles jouent est mal connu. On conçoit toutefois que les terpénoïdes aient un rôle de protection contre les prédateurs (insectes, champignons) et un rôle dans l'attraction des pollinisateurs [30]. Certains auteurs rapportent l'effet inhibiteur des huiles sur la germination de graines des autres espèces. Dans un bulletin de l'UNESCO (1960), on signale que la formation d'H.E par certaines plantes semble jouer un rôle dans leur protection contre la sécheresse.

❖ *Classification chimique des huiles essentielles*

Selon les constituants prédominants on peut classer les H.E en trois catégories :

- les H.E hydrocarbonées riches en terpènes (*Citron*)
- les H.E oxygénés riches en alcools, ester (*Menthe, Girofle, Thym....*)
- les H.E sulfurées (*Confères, Liliacée*) [7].

❖ *Composition chimique des huiles essentielles*

Les H.E sont des mélanges complexes et éminemment variables des constituants qui appartiennent à deux séries caractérisées par des origines biogénétiques distinctes :

- Composés terpéniques ;
- Composés aromatiques dérivés des phényles propane [33].

a. Composés terpénique

Ce sont des principes volatiles responsables de la stimulation générale qu'ils induisent.

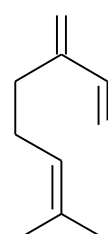
Dans les cas H.E seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatiles, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée.

Dans les huiles essentielles, on trouve surtout :

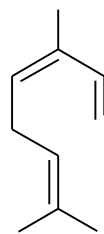
1. Les monoterpènes (C₁₀)

Ils constituent parfois plus de 90% de l'huiles essentielles, ils peuvent être acycliques monocycliques ou bicycliques **Figure(07)**.

Acyclique:

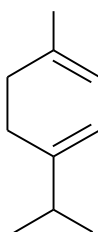


Myrcène

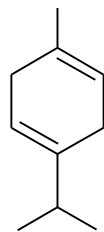


Ocimène

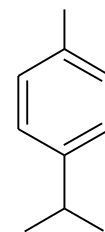
Monocyclique:



α-terpinène

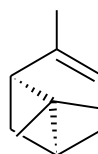


γ-terpinène

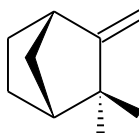


ρ-cymène

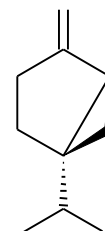
Bicyclique:



(-)-α-pinène



(+)-comphène



(+)-sabinène

Figure 07: Exemples des monoterpènes

2. Les sesquiterpènes (C_{15})

Ils sont même nature que les monoterpènes et ils peuvent être aussi monocycliques, acycliques ou bicycliques **Figure(08)**. Rarement des diterpènes (C_{20}) et des triterpènes (C_{30}) [33].

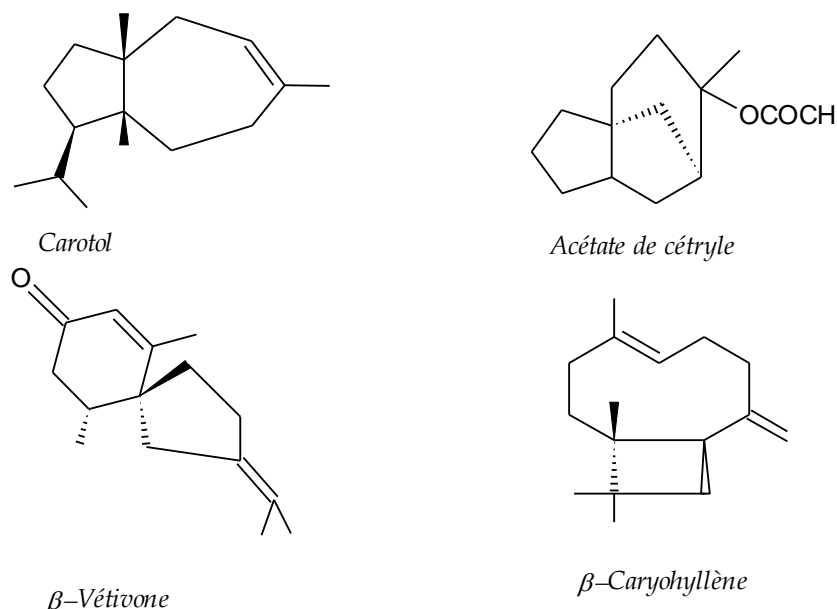


Figure 08 : Exemples des sesquiterpènes

b. Composés aromatique

Les H.E renferment aussi des composés aromatiques plus particulièrement des composés phényle propanoïde dont la biogenèse est différente de celle des terpènes. Parmi les divers composés aromatique dérivés du phényle propane et présent dans les H.E, on peut citer :

- L'acide et l'aldéhyde cinnamique (huile essentielle de Cannelle).
- L'eugénol (huile essentielle de Girofle).
- Le safrole (huile essentielle de Sassafras) **Figure(09)** [27].

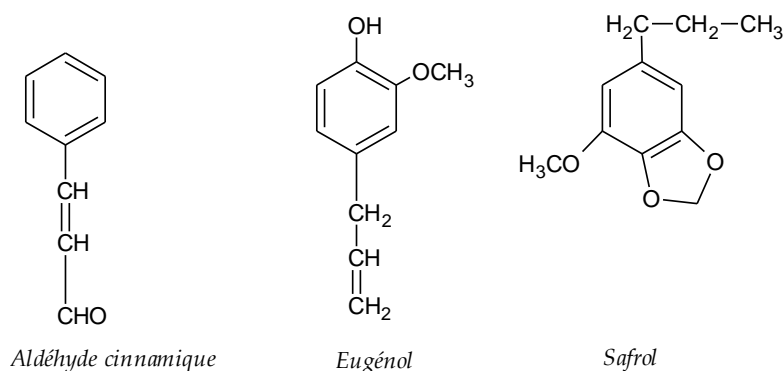


Figure 09 : Quelques dérivés de phényle propane présent dans l'H.E.

❖ Propriétés pharmacologiques

Les propriétés pharmacologie des HE, donc leur intérêt médical réside en la nature de leur composition chimique qui leur confère des propriétés antiseptique (menthol, pulégone...), antispasmodique (cinéol, terpinéol...), anti-inflammatoire (menthol, carvone...).

A. Pouvoir antiseptique

Grâce à leur richesse en terpène, en aldéhyde, en alcool et en cétone, les huiles essentielles sont sans exception douées de propriétés antiseptiques leur pouvoir bactéricides étant établi depuis des millénaires, il est en fait en relation chimique (alcools, esters, aldéhydes...) [31].

B. Propriétés spasmodiques et sédatives

Les huiles essentielles stimulent la sécrétion gastrique d'où les qualificatifs de (digestives) et (stomachiques) qui leur sont décernés, avec toutes les conséquences qui peuvent découler de cette (eupepsie) :

Amélioration vis-à-vis de certain insomnies et troubles psychosomatique, diminution de la (nervosité). Leurs effets bénéfiques expliquent ainsi leurs larges usages [31].

C. Propriété irritante

Sur la peau et sur la muqueuse.

Irritation de la peau par quelques substances concentrées : aldéhydes, citral, pinène, limonène.

Sous irritation : thymol, eugénol, alcool de rose [8].

D. Amélioration du goût des médicaments

Les huiles essentielles de menthe, de citron et de cannelle [8].

II.2. Principales méthodes d'extraction d'HE

Il existe plusieurs méthodes d'extraction d'HE dont voici les principales :

II.2.1. Distillation par entrainement à la vapeur d'eau

L'entrainement à la vapeur d'eau est l'un des procédés d'extraction les plus anciens et l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un flux de vapeur descendant ou ascendant sans macération préalable. Le plus souvent, de la vapeur d'eau est injecté au bas d'une charge végétale. Les vapeurs chargées en composés volatils sont condensées avant d'être décantées et récupérées dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles) [34]. Les principales variantes de l'extraction par l'entrainement à la vapeur d'eau sont l'hydro-distillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydro-diffusion.

II.2.2. L'hydro-distillation

Le principe de l'hydro-distillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est-à-dire que la pression partielle de la vapeur 'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux [35].

II.2.3. Extraction par solvants

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera 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 [35].

II.3. Méthodes de séparation

Les méthodes physiques de séparation sont très nombreuses on peut les classes en deux grands groupes : Chromatographie et électrophorèse. Dans les deux cas, les molécules séparées sont ensuite repérées par une de propriétés.

Différentes méthodes chromatographiques sont mises en œuvre pour étudier la composition des plantes, ce sont la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie sur colonne (CC), la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) [36], [38].

II.3.1. La chromatographie sur couche mince CCM

La chromatographie sur couche mince est la plus simple des méthodes chromatographies. La phase stationnaire est constituée d'un matériel absorbant (gel silice, gel de cellulose) étalé sur une plaque de verre, d'aluminium ou support plastique.

La phase mobile liquide nommée éluant est un solvant. Une petite quantité du mélange à séparer est déposée sur la phase stationnaire. Cette dernière est mise en contact avec la phase mobile. La séparation des constituants du mélange à analyser s'effectue grâce à l'ascension de la phase mobile le long de la phase stationnaire. La révélation des molécules est soit par exposition de la plaque sous une lampe UV ou par pulvérisation de divers révélateurs [37].

Différents solvants ou mélange de solvants servent comme phase mobile leur polarité peut être faible ou élevée.

Si le solvant est plus polaire que la substance fixée sur l'absorbant celle-ci est alors entraînée par la phase mobile, ce qui correspond à une valeur élevée du R_f : au contraire la substance demeure fixée sur le support solide si le solvant est moins polaire que la substance la valeur du R_f est alors faible

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par la substance}}{\text{Distance parcourue par le solvant}}$$

II.3.2. Chromatographie sur papier

Elle est réalisée sur une feuille en papier de grand taille (50 × 50) cm le solvant migre par capillarité, généralement de manière ascendante.

La phase stationnaire : un absorbant comme bandelette en papier, la phase mobile : un solvant fluide.

On dépose une goutte de la solution près du bord inférieur de la phase stationnaire est ajoutée au-dessous de la tache de solution et le solvant est absorbé dans le support.

Chapitre II: Valorisation des ressources végétales par l'étude des métabolites secondaires

Les matériaux de la tache sont emporté vers le haut à une vitesse qui dépend de la force de leur absorption sur la phase stationnaire la chromatographie d'absorption est appliquée sur papier en chromatographie ascendante ou radiale.

II.3.3. Chromatographie sur colonne (CC)

C'est une chromatographie d'absorption (liquide-solide), la phase stationnaire est un adsorbant polaire [36].

La phase stationnaire : elle est constitué de fines particules de silice SiO_2 ou d'alumine Al_2O_3 ces substances ne sont pas très réactives et leurs surfaces sont préparées spécialement pour augmenter leurs capacités d'absorption. Phase mobile : un solvant fluide.

La colonne est saturée par les solvants et on verse à son sommet un petit volume de la solution qui contient les solutés.

Dès que ce volume a été absorbé on rajoute du solvant. Les solutés descendent lentement dans la colonne et sont élué (en levée par fraction) au bas de la colonne.

Si la phase mobile est moins polaire seront élués les premiers et les plus polaire les deniers [38].

La migration d'un composé est caractérisée par son volume d'élution dans la condition précise, c'est-à-dire la quantité de phase mobile qu'il faut utiliser pour faire sortir le composé de la colonne [32].

II.3.4. La chromatographie liquide haute performance (CLHP)

L'CLHP utilisée en routine depuis 1975 a réduit en moyenne de 10 fois le temps nécessaire à l'analyse de nombreux composés biochimique.

L'CLHP n'est pas un principe en soi, chaque type de support permet de réaliser une chromatographie dont le principe est déjà connu et appliqué en pression ambiante.

Dans cette technique la phase liquide est envoyée sous pression dans une longue colonne étroite, ce qui donne une excellente séparation en un temps relativement court.

L'CLHP de venue le moyen privilégié de surveillance de l'utilisation des médicaments thérapeutiques et de détection des abus de drogues, on l'utilise pour les composés qui contribuent au parfum des fleurs [38].

II.3.5. La chromatographie en phase gazeux

La chromatographie en phase gazeux est une transposition de la chromatographie sur colonne dans laquelle la phase mobile liquide a été placée par un gaz [36].

Elle met à profit la différence de la distribution des composants du mélange entre une Phase liquide stationnaire et une phase gazeux mobile.

L'échantillon chauffé dans un injecteur est poussé par un gaz vecteur (phase mobile) à travers une colonne maintenue à température convenable dans un four, et contenant une phase stationnaire (phase fixe).

Les constituants de l'échantillon sont analysés à la sortie par un détecteur qui transmet les courbes d'élution [39].

II.4. Méthodes d'identification

La plupart des méthodes physiques d'analyse des substances organiques dépendent de l'interaction de la matière avec la lumière électromagnétique [39].

Le spectre électromagnétique comme l'indique son nom à des composants électrique, magnétique et couvre une très grande plage d'énergie.

Le spectre est généralement divisé en région, les limites entre ces régions ne sont pas précises [40].

On utilise les propriétés spectrales pour déterminer la structure des molécules et des ions, les techniques présentent un intérêt spéciale sont : l'ultraviolet (UV), l'infrarouge (IR), la résonance magnétique nucléaire (RMN) et la spectatrice de masse (SM).

II.4.1. Spectroscopie infrarouge

On utilise le spectre infrarouge IR pour identifier les espèces présentent dans un échantillon. Le spectre est constitué de bandes que l'on appelle bandes d'absorption.

L'échantillon est traverse par une lumière complexe et on détermine quelle radiation manque à la sortie.

C'est-à-dire quelles fréquences ont été sélectivement absorbées par l'échantillon. L'absorption de transition infrarouge IR d'une certaine longueur d'onde indique la présence d'un groupe donné d'atome dans une molécule de structure inconnue. Cette absorption est caractéristique des liaisons chimique et physico-chimique des produits considéré.

Dans l'IR l'observation d'une bande d'absorption à une longueur d'onde spécifique provoque l'identité d'une liaison ou d'un groupe de liaison particulière dans une molécule [38] [39].

II.4.2. Spectroscopie ultraviolet

Le type le plus familier de radiation électromagnétique est constitué par la lumière (UV), elle n'est qu'un tout petit domaine de vaste spectre des radiations électromagnétique. Les transitions électroniques sont provoquées par des photons de longueurs d'ondes compris entre 10^3 et 7×10^3 Å. L'intensité de l'absorption est liée aux conditions de l'enregistrement du spectre.

C'est la loi de Beer-Lambert qui est une relation entre la quantité de radiation UV absorbé et la quantité de l'échantillon absorbant.

Comme résultat expérimentale, on obtient une courbe de l'absorption en fonction de longueur d'onde.

L'étude des spectres UV procure d'importants résultats concernant les énergies de liaisons et des niveaux d'énergies électriques est employée pour déterminer les concentrations d'un échantillon. La spectrophotométrie est une méthode de choix pour l'étude des équilibres en solution très dilué dans la mesure où il implique un changement de chromophore [39], [40].

II.4.3 Spectrométrie de résonance magnétique nucléaire

Cette technique est basée essentiellement sur une identification structurale des composés organiques par des mesures magnétiques de leurs atomes d'hydrogène. Le fonctionnement de cette spectrométrie exige un solvant inerte et dépourvu de proton. L'avantage de ce spectre en comparaison avec celui de masse c'est que l'échantillon qui est soumis à cette opération reste intact [41].

II.4.3.1. Spectrométrie de (RMN ^1H)

Il est évident que la spectroscopie RMN du proton est un outil puissant pour l'élucidation des motifs de substitution des cycles aromatiques.

L'interprétation des spectres RMN ^1H est fondée sur la considération que trois types d'informations corrélées :

- L'intégration des pics : donne le rapport des nombres d'atome d'hydrogène dans le composé.
- Le déplacement chimique : corrélé la position du signal dans le spectre avec l'environnement chimique.

- Le couplage spin-spin : explique les interactions de noyaux magnétique au sein d'une série de noyaux et il fournit les informations sur les noyaux environnants, donnant les indications cruciales la structure.

II.4.3.2. Spectrométrie de (RMN ^{13}C)

La spectrométrie RMN ^{13}C est suffisamment différente de celle ^1H . Les noyaux ^{13}C sont beaucoup moins abondants et beaucoup moins sensible que les protons.

L'isotope ^{13}C a une abondance naturelle relative de 1,1% par rapport au ^{12}C et un nombre de spin $1/2$. RMN ^{13}C quantitative est souhaitable dans deux cas :

- Pour la détermination de structure, il est clairement utile de savoir si un signal provient de plus d'un carbone.
- L'analyse quantitative d'un mélange de deux composants ou plus un spectre ^{13}C permettra souvent d'identifier le motif de substitution d'un cycle aromatique [42].

Chapitre III

Matériels et méthodes

III.1. Travaux réalisés

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire de la chimie organique à la faculté des sciences à l'université de M'sila. Le travail concerne l'extraction, la caractérisation l'analyse des huiles essentielles et extraits aqueux de la plante *Eucalyptus globulus* ainsi que la détermination de l'activité biologique. Ce travail s'inscrit dans le cadre d'obtention du Diplôme Master en synthèse organique et substances naturelles. L'objectif de ce travail est la détermination des caractéristiques physico-chimiques et biologiques de l'extrait d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*.

Le but est d'obtenir l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* par la méthode d'hydrodistillation. Et faire les analyses physicochimique pour contrôlé la qualité et évaluation l'activité biologique de se huile essentielle pour des fins de lutte biologique.

Le schéma général adopté pour la réalisation de ce travail est résumé par la figure ci-dessous :

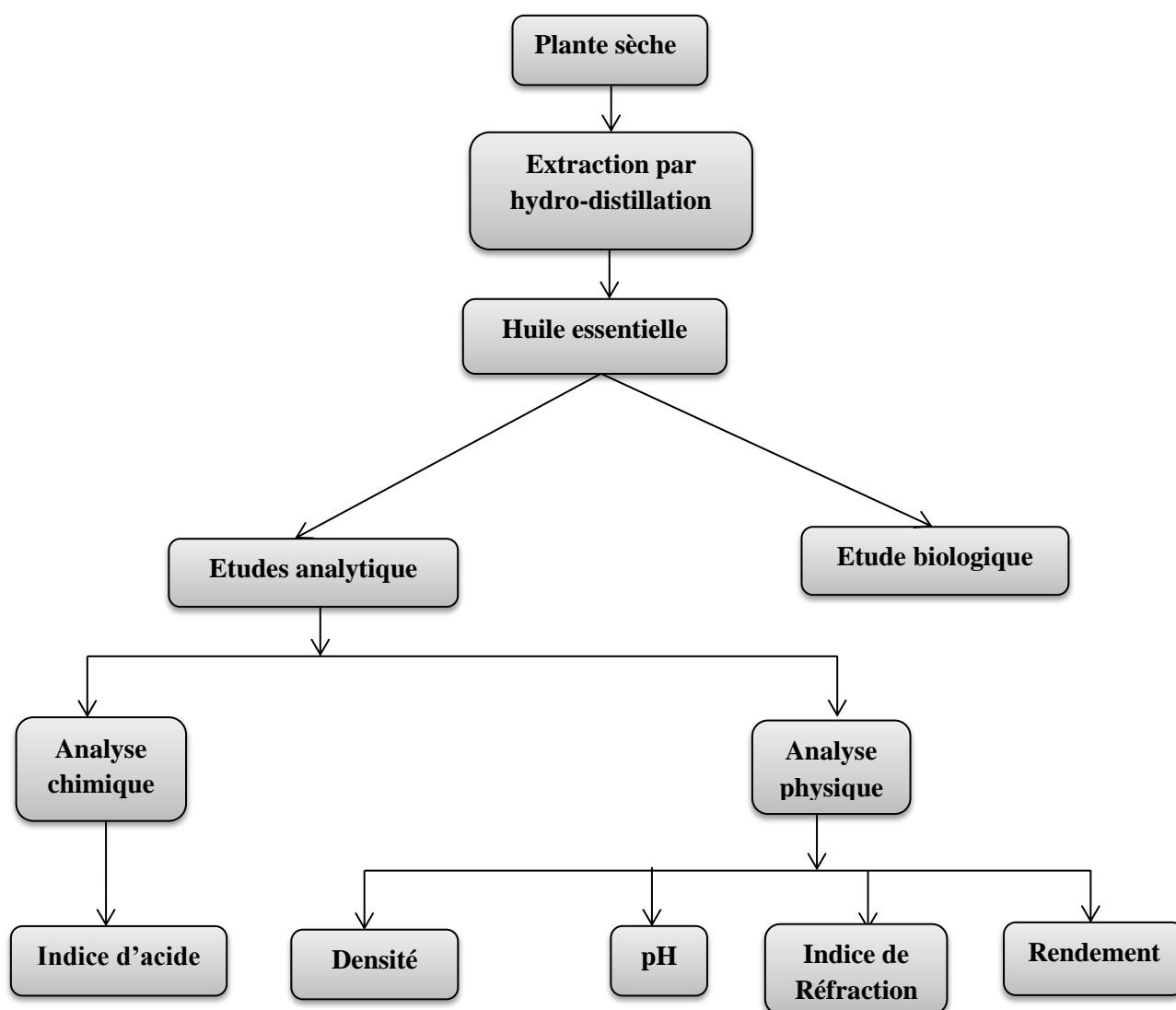


Figure10 : Schéma général de la procédure expérimentale

III.2. Étude des propriétés physicochimique de l'HE et screening phytochimique de l'extrait aqueux

III.2.1. Matériels végétal

Ce travail est appliqué sur les feuilles *d'Eucalyptus globulus* récoltés de région de M'sila de période de Février – Mars.

Des échantillons constitués par des feuilles non triées (feuilles jeunes et adultes) de chaque individu sont séchés à l'ombre pendant au moins 5 jours, puis soumis à distillation.

III.2.2. Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire est constitué d'un dispositif d'extraction suivant :

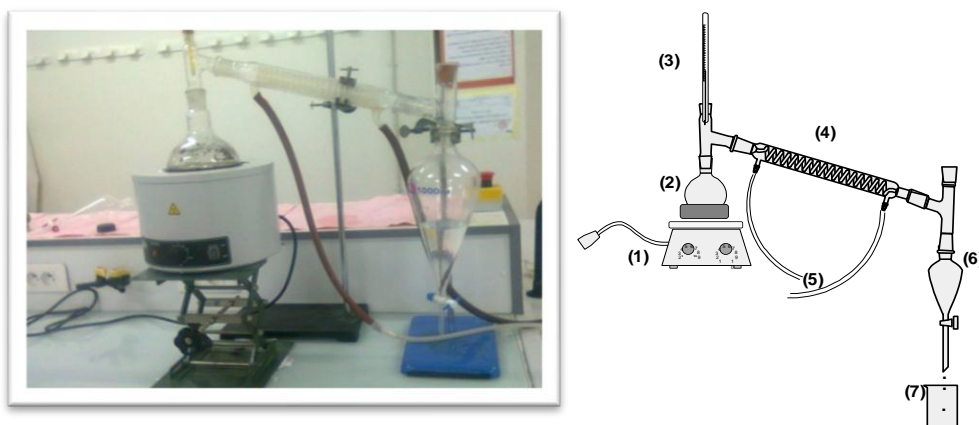


Figure 11 : dispositif d'Hydro distillation.

(1) Chauffe ballon. (2) Eau + biomasse végétale. (3) Thermomètre. (4) Réfrigérant. (5) Eau de refroidissement. (6) ampoule à décanter. (7) Huiles essentielles+ hydrolat.

III.2.3. Protocole d'extraction

L'extraction des huiles essentielles *d'Eucalyptus globulus* a été faite par la méthode de l'hydrodistillation classique, se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.

L'opération consiste à immerger une quantité de la masse végétale dans un ballon en verre contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans remplir complètement le ballon (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les trois tiers) pour éviter les débordements au cours de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité.

L'HE obtenue est récupérée puis séchée par un déshydratant, le sulfate de sodium (Na_2SO_4), pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenu dans l'huile. L'hydrodistillation est réalisée pendant 3 heures. L'huile essentielle obtenue est conservée dans un flacon opaque bien scellé à l'abri de la lumière et à température de 4 à 6 °C.

III.2.4. Calcul de rendement

Le rendement **R** en huile essentielle est déterminé par rapport à la matière sèche à l'aide de la formule suivante :

$$R = \frac{\text{Masse d'huile essentielle (g)}}{\text{Masse du matériel végétal utilisé (g)}} \times 100$$

Pour calculé le rendement on fait une extraction de 190 g des feuilles d'eucalyptus sèche avec 1.5 L d'eau dans l'alambic afin de l'extraction on obtient 0.81 g d'huile essentielle. On peut donc calculé le rendement à l'aide de la relation précédent.

$$R = \frac{0.81}{190} \times 100 \quad R = 0.43$$

Le rendement d'huile essentielle d'eucalyptus est : 0.43 %.



Figure 12 : L'HE d'*Eucalyptus globulus*.

III.2.5. Les analyses des huiles essentielles

Après l'extraction des huiles essentielles d'eucalyptus on a fait les analyses suivant :

- ✓ L'Indice de réfraction
- ✓ L'Indice d'acide
- ✓ La densité
- ✓ Le pH
- ✓ L'activité antibactérienne et antioxydant.

III.2.5.1. L'Indice de réfraction

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. L'indice de réfraction d'une matière est mesuré par un réfractomètre.

❖ *Le réfractomètre*

Est un instrument optique servant à déterminer l'indice de réfraction d'une substance c'est-à-dire la mesure dans laquelle la lumière est déviée en traversant la substance. Il existe plusieurs types e réfractomètre et le plus répandu c'est le réfractomètre d'Abbe.

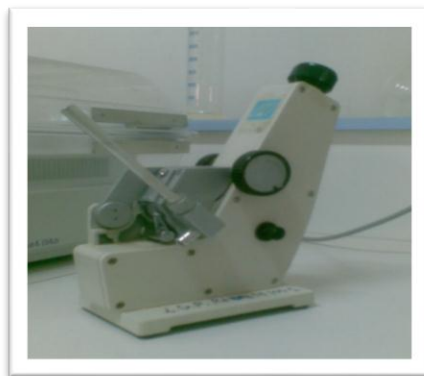


Figure 13: photo d'un réfractomètre

III.2.5.2. Indice d'acide

L'indice d'acide d'un corps gras est la quantité de potasse en mg nécessaire pour neutraliser son acidité libre. L'indice d'acide permet de vérifier la qualité d'une HE, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage.

❖ *Principe*

L'indice d'acide des huiles essentielles revient à neutraliser les acides libres de celles-ci par l'hydroxyde de potassium (KOH).

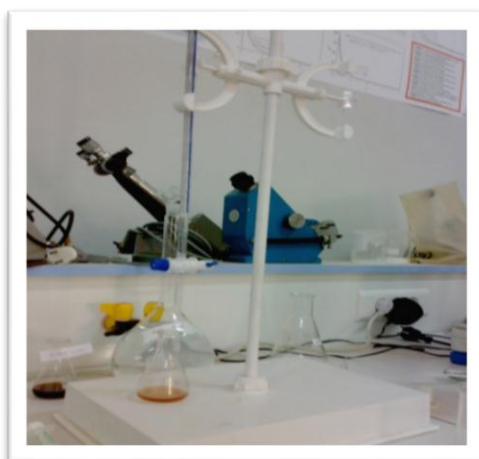


Figure 14: Dispositif de titrage pour définir l'indice d'acide

❖ Matériel

Burette de 25 ml graduée en 0.1 ml avec son support et une pipette de 5 ml et un erlenmeyer de 50 ml

Réactifs chimiques nécessaires

- ✓ *Ethanol* à 99 %
- ✓ *Hydroxyde de potassium* : on prépare une solution de 0.1 N dans l'éthanol
- ✓ *Phénolphthaléine* : solution à 2g par litre dans l'éthanol
- ✓ *Huile d'eucalyptus*

❖ Mode opératoire

Introduire 0.2 g de l'échantillon d'huile essentielle d'eucalyptus dans l'erlenmeyer propre et sec, ajouter 5 ml d'éthanol neutraliser avec la pipette et mettre 3 gouttes de phénolphthaléine puis neutraliser la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium à l'aide de la burette quelques secondes. Si la couleur de la solution est variée on arrête le titrage.

Fin de titrage lire le volume de m_{KOH} consommé pour calcul l'indice d'acide à l'aide de la relation suivante :

$$Ia = \frac{56.1 \times N \times V}{m}$$

V = volume de KOH ; 56.1 = masse de KOH
m = masse d'huile ; N = molarité de KOH

III.2.5.3. La densité

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

En définissant la densité relative à 20 °C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C et son symbole est d_{20}^{20} .

❖ Mesure de densité

Pour définir la densité de notre huile on a supposé une méthode qui dépend sur la mesure de volume et la masse d'huile et on fait le rapport

$$\rho = \frac{m}{V}$$

m = masse d'huile.

V=volume d'huile.

❖ Matériels et méthodes

Balance sensible et une seringue de 5 ml propre et sèche.

Démarrer la balance et laisser le stabiliser en suite poser la seringue dans la balance et cliquer sur le bouton tare. Remplir la seringue d'huile jusqu'à 4 ml et le mettre dans la balance pour mesurer le poids, la masse de ce volume divisé sur le volume d'huile essentielle.

III.2.5.4. Mesure de pH

pH l'abréviation de potentiel d'hydrogène mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H⁺) (appelés aussi couramment protons) en solution.

Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre : elle est acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7, basique s'il est supérieur à 7.

III.2.6. L'extraction liquide-liquide

La plante pulvérisée en poudre (50g), subit une macération dans un mélange des solvants : MeOH / H₂O ; 80/20 (v/v) pendant 24h, ce procédé est répété 2 fois. Les divers fractions récupérées sont réunies et évaporées sous pression réduite à une T° 40 °C.

La phase aqueuse obtenue subit une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter, on utilise le solvant Chloroforme. Après la séparation des deux phases. On utilise le rotavapeur pour éliminer le solvant utilisé. On obtient l'extrait de chloroforme (1) et la phase aqueuse (2) :

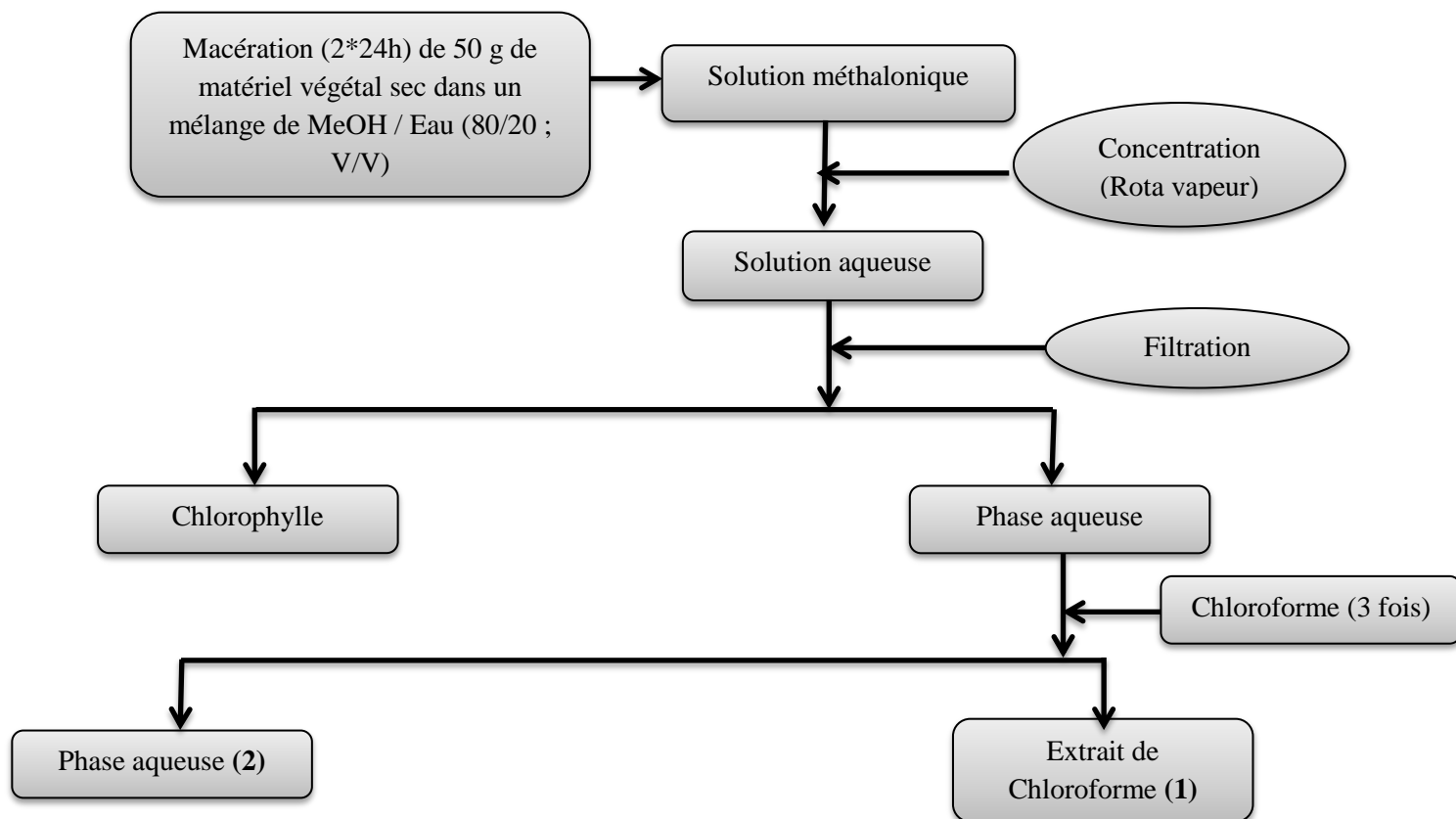


Figure 15 : Protocole d'extraction liquide-liquide.

III.2.6.1. Tests chromatographiques sur l'extrait de chloroforme

Nous avons procédé à des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice déposée sur une feuille d'Aluminium, la meilleure séparation obtenue était avec le système de solvants : MeOH / Chloroforme (1 / 9 v/v), la plaque a été observée sous la lampe UV à 254 et 366 nm.

III.2.7. Le screening phytochimique

Le screening phytochimique ne renseigne pas sur la structure d'une molécule bien déterminée. Il met seulement en évidence la présence de telle ou telle famille chimique pouvant contenir dans un échantillon [43].

III.2.7.1. Les flavonoïdes

Traiter 2,5 ml d'extrait alcoolique avec quelques gouttes d'HCl concentré et 0.25 g de tournures de magnésium. Le changement de coloration :

- ✓ Virage au rouge (flavones).
- ✓ Virage au rouge pourpre (flavonols).
- ✓ Rouge violacée (flavanones et flavanols).

III.2.7.2. Tanins

A 1 ml de solution alcoolique, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl_3 diluée, permet de détecter la présence ou non de tanins. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au brun verdâtre en présence de tanins catéchétiques [44].

III.2.7.3. Coumarines

Placer 1 g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH, et placer dans un bain-marie pendant quelques minutes. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence de coumarines après examen sous UV [44].

III.2.7.4. Amidon

Traiter 5 ml de la solution préparée avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleu violacée indique la présence d'amidon [43].

III.2.7.5. Stérols et stéroïdes

Évaporer 2,5 ml d'extrait alcoolique, traiter le résidu obtenu avec 2,5 ml de Chloroforme anhydre puis filtré. Mélanger 1,25 ml de la solution chloroformique avec 1,25 ml d'anhydre acétique et ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter puis Laisser reposer.

L'apparition d'une coloration violacée indique la présence stérols.

III.2.7.6. Saponosides

Dans tube à essai on dissout quelques mg d'extrait dans de l'eau distillée et on agite vigoureusement pendant au moins 5 min.

L'apparition d'une colonne de mousse d'environ 1 cm et persistant pendant au moins 15 mn indique la présence de saponosides [43].

III.2.7.7. Recherche des acides organiques

Etude qualitative : mettre quelques du bleu de bromothymol dans un tube à essai contenant la décoction, si la couleur change au jaune au canari, l'extrait contient des acides organiques [43].

III.2.7.8. Composés réducteurs

Traiter 0,5 ml de l'extrait éthanolique avec 1ml d'eau distillée et 5 gouttes de la liqueur de Fehling puis chauffé. Les composés réducteurs donnent avec le réactif de Fehling un précipité rouge brique.

III.2.8. Résultats et discussion :

III.2.8.1. Les paramètres organoleptiques :

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle aspect, couleur, odeur sont résumés dans le tableau suivant :

| | Aspect | Couleur | Odeur |
|--------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| AFNOR | liquide limpide, fluide et mobile | jaune très pâle à transparent | fraîche et épicée |
| Notre huile | liquide limpide | Jaune clair | fraîche et épicée |

Tableau 10 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus.

III.2.8.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction : $I = 1,11$

III.2.8.3. La densité

La densité est calculée à l'aide de cette formule :

Masse d'huile $m = 0,81$ g

Volume d'huile $V = 0,9$ ml

$$\rho = \frac{0.81}{0.9} = 0.9 \text{ g / ml}$$

$$d_{20}^{20} = (\rho_{HE} / \rho_{EAU} \text{ à } 20^{\circ}\text{C})$$

$$d_{20}^{20} = (0,9 / 1 \text{ à } 20^{\circ}\text{C}) = 0,9 \text{ g/ml}$$

La densité d'huile d'*Eucalyptus* $d_{20}^{20} = 0,9$ g/ml à $T = 20^{\circ}\text{C}$

III.2.8.4. Indice d'acide

$$I_a = \frac{56.1 \times 0.1 \times 0.046}{0.2}$$

0,046L = volume de KOH ; 56,1 = masse de KOH

0.2g = masse d'huile ; 0,1 = molarité de KOH

Indice d'acide $I_a = 1,3$

III.2.8.5. Le pH

Dans notre travail on utilise le pH mètre pour mesurer le pH d'huile d'*Eucalyptus*.

Et on trouve le pH dans température $T = 22^{\circ}\text{C}$ est $\text{pH} = 4,3$.

| Propriété | Valeur pratique | Référence (AFNOR) |
|----------------------|-----------------|-------------------|
| Indice de réfraction | 1,11 | 1,460-1,476 |
| Indice d'acide | 1,3 | 0,84-3,74 |
| Densité | 0.9 Kg/L | 0,905-0,921 |
| pH | 4,3 | 4-6 |

Tableau 11 : Tableau récapitulatif les caractéristiques d'huile essentielle d'Eucalyptus.

III.2.8.6. Tests chromatographiques

Pour les tests chromatographiques CCM, Pour la fraction MeOH / Chloroforme (1 / 9 v/v), on a trouvé cinq taches. Les résultats de cette analyse sont exprimés dans le tableau suivant :

| | |
|-----------------|--------------------------------|
| Extrait | Extrait de Chloroforme |
| Système | MeOH / Chloroforme (1 / 9 v/v) |
| Nombre de tache | Cinq taches |

Tableau 12 : les résultats de tests chromatographiques sur plaque CCM.

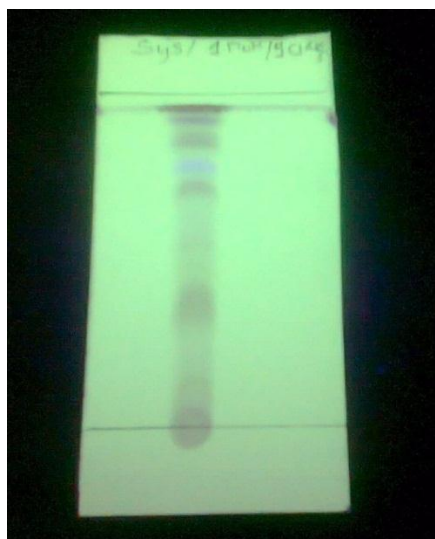


Figure 16 : Résultats de test chromatographique sur plaque CCM.

D'après le chromatogramme on remarque plusieurs taches sur la plaque CCM avec des R_f différents ce qui variétés compositionnelle d'où les variétés des colorations des différents spots sur la plaque (violet, bleu, marron) qui peuvent être des flavonoïdes ou des coumarines d'après fluorescence.

III.2.8.7. Le screening phytochimique

❖ *Saponosides*

Aucune apparition d'une colonne de mousse, donc on a l'absence de saponosides.

❖ *Flavonoïdes*

L'apparition d'une coloration légèrement rouge indique la présence des flavonoïdes.

❖ *Coumarines*

Après examen sous UV, on a une fluorescence jaune, donc on a la présence des coumarines.

❖ *l'amidon*

Aucun changement de couleur, donc on a l'absence de l'amidon.

❖ *Recherche des acides organiques*

Le changement de la couleur vers le jaune canari, donc l'extrait contient des acides organiques.

❖ *Composés réducteurs*

Un test positif est révélé par la formation d'un précipité Rouge – brique, donc on a la présence des composés réducteurs

❖ *Tanins*

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu- verte et un précipité, donc on a la présence de tanins.

❖ *Stérols et stéroïdes*

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée virant au vert (maximum d'intensité en 30 minutes à 21°C).

III.3. Etude de l'activité antibactérienne des extraits et l'HE d'*Eucalyptus. g*

III.3.1. Introduction générale

La microbiologie est la science qui s'occupe des êtres vivants microscopique, protozoaires, algues, virus, levures, champignons, bactéries.

Les bactéries ont été observées pour la première fois en microscope optique par leeuwenhook en 1675. Ce n'est pas que deux siècles plus tard, que leur rôle dans les processus de fermentation et dans la transmission des maladies a été découvert, et que l'étude de leur morphologie a commencé [45].

Le monde bactérien comprend un très grand nombre d'espèces. Certain sont des pathogènes types. D'autre sont commensales, elles peuvent causer des maladies humaines (infection) dans des conditions favorables [46].

Le but de notre travail est l'étudier d'activité antibactérienne des deux extraits obtenus (extrait chloroforme, phase aqueuse) et de l'huile essentielle de la plante *Eucalyptus globulus*, sur les trois souches bactériennes « *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ».

III.3.2. Evaluation de l'activité biologique

L'étude de l'activité biologique a été réalisée au niveau de l'institut PASTEUR annexe M'sila, sur les trois souches bactériennes « *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ».

III.3.2.1. Souches bactériennes utilisé

❖ *Escherichia coli*

Elle a été isolée pour la première fois par Escherich en 1885. Elle est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes [46]. Elle est actuellement la seule espèce homologuée du genre *Escherichia* [45]. Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire [46] [47].

❖ *Staphylococcus aureus*

Elle a été identifiée de l'aube de l'ère pasteurienne par Pasteur en 1820[46], [45]. Les bactéries de l'espèce *S.aureus* sont des coques à gram positif de 0.5 à 1.5 µm de diamètre, les toxi-infections alimentaires à *S.aureus* sont en réalité des intoxications dues à l'ingestion d'aliments, et responsable d'un très grande nombre d'infection chez l'homme et animale, le plus souvent impliqués dans les infections cutanés muqueuses et digestives [47].

❖ *Klebsiella pneumoniae*

Appartient au groupe : *Klebsiella* – *Enterobacter* – *Serratia* (K.E.S) [46], [45], [47]. Ce groupe rassemble des espèces bactériennes longtemps considérées comme commensales et actuellement des incriminées dans un grand nombre de complications infectieuses en milieu hospitalier [45]. Elles sont souvent multiresistantes aux antibiotiques.

III.3.2.2. Méthode de diffusion sur le milieu gélose

La technique des disques de diffusion est simple à mettre en œuvre et relativement bon marché. Elle fournit seulement les informations qualitatives et semi-quantitatives sur la sensibilité d'un microorganisme donné à un antibiotique donné. Le test est réalisé en appliquant à la surface des plaques en gélose avec l'affectation des différentes dilutions [47].

III.3.3. Etude de l'activité antibactérienne des extraits « chloroforme (1), phase aqueuse (2) » et HE (3) d'*Eucalyptus globulus***III.3.3.1. Méthodes de diffusion sur milieu gélose (méthode des disques)****❖ Matériels**

- Pipette Pasteur ou micro-pipette
- Disque stérile de papier Wattman N°3
- Eau distillée
- Souches à tester
- Boîte de pétri en verre
- Ecouvillon stérile
- Milieu de MULLER-HINTON

❖ Procède**- Préparation des disques**

On a utilisé le papier Wattman N°3 coupé en disques de 6 mm ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer les disques, une fois préparés, sont placés dans une boîte de pétri (en verre) contenant 10ml d'eau distillée pendant 20mn à 120 °C (stérilisation des disques).

- Milieu

La gélose Muller-Hinton (MH) est coulée en boîte, de pétri sur épaisseur de 4 mm, sont pré-séchées avant l'emploi.

❖ Inoculum

- On racle 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir d'une culture de 18h sur le milieu d'isolement.
- On échange l'anse dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% puis 0.08 à 0.1 pour 625 nm.

❖ Encencement

Cette opération doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum. On trempe un stérile dans la suspension bactérienne, puis on flotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, séché, de haut en bas, en stries serrées. L'opération doit se faire deux fois en tournant la boîte à 60° à chaque fois.

Après application immédiate des disques, les boîtes sont laissées pendant 15 mn à température ambiante.

On fait placer 3 disques sur chaque boîte pétri, une contient *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*, par une micropipette met sur chaque disque les deux extraits et HE, puis on incube pendant 24h à l'étuve (37°C).

❖ La lecture

Pendant 18 à 24 heures à 37°C, pour toutes les boîtes, et à température ambiante (température de la chambre) pour les boîtes qui contiennent des disques imbibés les deux extraits (1), (2) et HE (3). Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition.

Si le diamètre des zones d'inhibition est :

$\emptyset < 8$: la bactérie résistante.

$8 < \emptyset < 14$: la sensibilité est limitée.

$14 < \emptyset < 20$: un peu sensible.

$\emptyset > 20$: la bactérie très sensible

III.3.3.2. Résultats

Les diamètres des zones d'inhibitions de l'extrait (1), la phase aqueuse (2) et huile essentielle (3) sur les souches bactériennes testés sont représentés dans le tableau suivant :

| Souches bactérienne | Diamètres des zones d'inhibition mm | | |
|------------------------------|-------------------------------------|----------------------|----------|
| | L'extrait de chloroforme (1) | La phase aqueuse (2) | L'HE (3) |
| <i>Escherichia coli</i> | 8 | 10 | 22 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 18 | 16 | 20 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 10 | 10 | 10 |

Tableau 13 : Les diamètres des zones d'inhibitions de l'extrait (1), la phase aqueuse (2) et huile essentielle (3) sur les bactéries.

La figure suivant montre les zones d'inhibitions de l'extrait (1), la phase aqueuse (2) et huile essentielle (3).

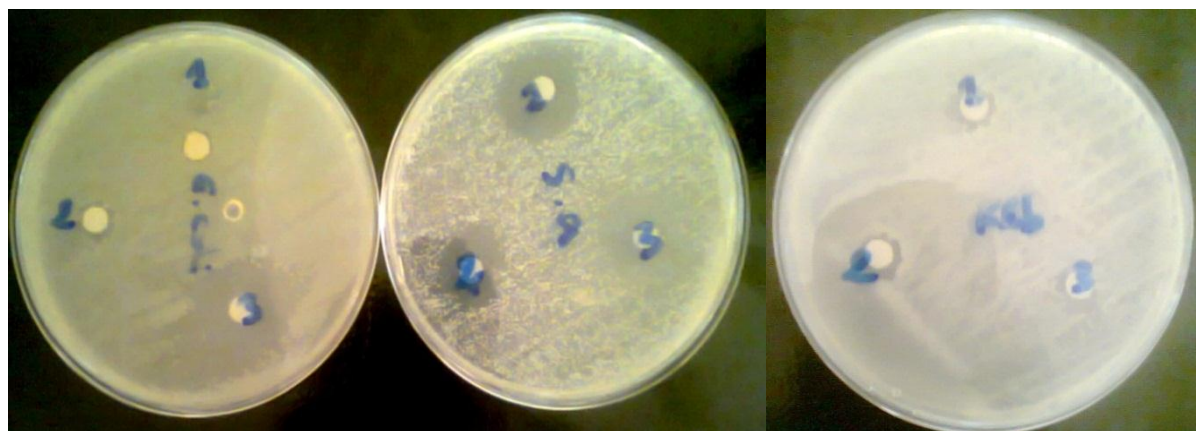


Figure 17 : Les zones d'inhibition de extrait chloroforme(1), la phase aqueuse(2) et HE(3) sur *E.coli*, *S.a* et *Klebsiella pneumoniae*.

III.3.3.3. Discussion des résultats

Nous avons testé l'activité antibactérienne des deux extraits (la phase aqueuse et la phase de chloroforme) et de l'HE vis-à-vis 3 souches bactériennes *E.coli*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*.

Les mesures des zones d'inhibitions figurent dans **le tableau 13** nous ont permis d'évaluer l'activité antibactérienne des différents extraits mesurée.

On remarque que l'HE a fortement inhibé surtout la souche *E.coli* avec une zone d'inhibition de 22 mm et *Staphylococcus aureus* avec une autre zone de 20 mm, par contre une activité modéré avec la souche *Klebsiella pneumoniae* avec une zone 10mm.

Pour les extraits on remarque une petite variante d'activité ; les deux extraits (aqueuse et chloroformique) on montre une bonne inhibition avec des zones respectives 16mm et 18mm pour la même souche bactérienne *Staphylococcus aureus*. Pour la *Klebsiella pneumoniae* les deux on montré une activité modérée avec la même zone d'inhibition 10mm.

Le pouvoir antibactérienne des deux extraits été très faible avec la souche *E.coli* qui a donné les zones d'inhibitions de 8mm et 10mm pour l'extrait chloroformique et aqueuse respectivement.

Donc on peut dire que le pouvoir antibactérien de l'HE *d'Eucalyptus globulus* est supérieure au extraits (aqueuse et chloroformique) l'activité antibactérienne est due généralement à la composition de l'HE qui est riche aux terpènes (composés terpéniques).

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'objectif de notre travail consiste à faire une étude physicochimique et biologique sur d'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus* de région de M'sila- Algérie.

Les résultats obtenus des différente analyse physicochimiques, montrent que les huiles essentielles de *d'Eucalyptus globulus* obtenue par hydrodistillation dont les propriétés tel que la densité, l'indice de réfraction, d'acidité et le pH sont conforme aux exigences de la normes AFNOR.

De même que l'activité biologique de l'extrait de chloroforme, la phase aqueuse et l'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus* présent un pouvoir antibactérienne assez différent selon la souche testé ; on remarque que l'huile essentielle a fortement inhibé la souche *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* et une activité faible avec *Klebsiella pneumoniae*

Pour les extraits a remarqué qu'ils ont des activités proches avec des zones d'inhibition moyenne.

Le rendement de l'huile essentielle obtenue est très intéressent sur le plan économique pour d'éventuelle utilisation commerciale, a noté que 100 ml de l'huile essentielle d'Eucalyptus est commercialisé à 50 dollars. Cette opportunité ainsi que le pouvoir biologique important de l'huile, ouvert la voie vers la mise en valeur de la plante et ces dérivés dans le développement économique durable et dans la création de la richesse renouvelable dans notre pays.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] **Crunwald. J, Janicke. C** : Le guide de la phytothérapie. MARABOUT.

[2] **Paul. S, Ferdinande. P** (2006) : Guide des plantes médicinales (Analyse, description et utilisation de 400 plantes). DELACHAUX et NIESTLE.

[3] **Yves. M** (2003) : Petit Larousse de la médecine. 1^{ère} éd. Edith Ybert. 705.

[4] **Bechaalany. P** : L'utilisation des huiles essentielles dans les affections inflammatoires en complément du traitement ostéopathique. Mémoire du diplôme ostéopathie animal, European School of Animal Osteopathy. 2005 pp 10,11.

[5] **Wchet. M, Antom. R** : Plantes thérapeutiques (tradition, pratique, officinale, science et thérapeutique). Ed. Tec et Doc.

[6] **Robert. A, Max. W** (2003) : Plantes thérapeutiques (2^{ème} édition). Lavoisier.

[7] **Laouer. H** (2004) : Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif. Bejaia. Djelfa. Thèse de doctorat en écologie végétale. Uni. Sétif.

[8] **Volent. J** (2001) : Phytothérapie.(6^{ème} édition) vigot. Paris.

[9] **Beloued. A** (1998) : Plantes médicinales d'Algérie. E. O.P.U. Algérie.

[10] **Baba Aïssa. F** (1999) : Encyclopédie es plantes utiles flore d'Algérie et du Maghreb. Ed. EDAS. Algérie

[11] **Bruneton. J** (1999) : Pharmacognosie Phytochimie plantes médicinales. édition Lavoisier Technique & Documentation, Paris.

[12] **Goldstein. H.B, Epstein. B.J** (2000) : La dentisterie non conventionnelle : Parais 4, les pratiques et les produits dentaires conventionnels. J Can. Dent. Assoc.; 66: 564-568.

[13] **Iserin. P** (1997) : Encyclopédie des plantes médicinales (Identification, préparation soins) éd. Larousse.

[14] **Tesche. S, Metternich. F** (2008): The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. Results of a double-blind, randomised, controlled trial. Arch. Otorhinolaryngo.

[15] **Juergens. UR, Dethlefsen. U** (2003): Anti-inflammatory activity of a 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial.

[16] **Daroui. M et al** (2010) : Journal Natural Product Communications Vol.5 (10).

[17] **Guignard. J. L** (2006) : Biochimie végétale. Dunod, 2^{ème} éd., Paris, pp. 274.

[18] **Bruneton. J** (2008) : Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales. Lavoisier Technique & Documentation, 3^{ème} éd., Paris, pp. 1120.

[19] **Lafon. J.P, Prayer. C.T, Lévy. G** (1996) : Biologie des plantes cultivées. Lavoisier Technique & Documentation, 2^{ème} éd., Paris, p. 97.110.

[20] **Yang. B and Kallio. H** (2002): Composition and physiological effects of sea buckthorn (*Hippophaë*) lipids. *Trends in Food Science & Technology*, 13(5), 160-167.

[21] **Iserin. P** (2001) :Encyclopédie des plantes médicinales (Identification, préparation soins) éd. Larousse.

[22] **Hurabielle. M** (1981) : Abrégé de matière médicale (pharmacognosie), tom I, Masson. Paris.182, 189.

[23] **Brasseur. H, Angenot. L, Pinemail. J, Deby** (1986) : Propriétés anti radicalaires, antilipoperoxydant des flavonoïdes. Colloque de groupe polyphénols. Monte Pellier.

[24] **Mabry. T.J, Markham. K.R and Thomas. M.B** (1970): The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag New York. Heidelberg. 254.

[25] **Jurd. L and Horowitz. R** (1962): Spectral properties of flavonoid compounds. Pergamon press. Oxford. 107-2055.

[26] **Markham. K.R and Geiger. H** (1993): The flavonoids Advances in research since 1986. Edited by J.B. HARBORNE. Chapman & Hall. London.

[27] **Paris. M, Hurabielle. M** (1980) : Abrégé de matière médicale (pharmacognosie), tom I, Masson. Paris.

[28] **Auterhoff. H, Braun. D** (1973) : **Arch. Pharm** (Weinheim).p 306-866.

[29] **Belaiche. P** (1979) : Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome I. l'aromatogramme. Maloine.

[30] **Svoboda. K, P and Hampson. J, B** (1999): Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants. Antibacterial. Antioxidant. Anti-inflammatory and other related pharmacological activities.

[31] **Bruneton. J** (1993) : Pharmacognosie, Phytochimie, Plante médicinales. Lavoisier Technique & Documentation, 2^{ème} éd. Paris.

[32] **Fleury. J** (1987) : Introduction à l'usage des méthodes statistique en pharmacie. Edition médecine et hgiène.

[33] **Waller. K** (1974) : (Découpling in distillation). AI. Che.J. Vol 20.

[34] **Crouzet. J** (1996) : Arômes alimentaires. Techniques de l'ingénieur, F 4 100, Paris.

[35] **Chemat. F** (2009) : Essential oils and aromas: Green extractions and Applications. HKB Publishers, Dehradun, 311 pages.

[36] **Claudgié. G, Dupont. F, Zonzia** (1995): Principes des méthodes d'analyse biochimique. Tom I. Doin Editeur.

[37] **Falmand. E, Bilodeau. J** (1984) : Chimie organique moderne. Dépôt légal.

[38] **Arkins. J** (2008) : Principes de chimie, DEBOCK.

[39] **Kirrmann. A, Cantacuzez, Duhamel. D** (1984) : Chimie organique.

[40] **Claudek. W, Friedli** (2002) : Chimie générale pour ingénieur. Presse polytechniques Universitaires Romandes.

[41] **Harry. B, Raygilbert. G, Height. P** (1985) : Principe de chimie. Inter édition.

[42] **Annick. B, Lalande. J, Lehir. J** (2000) : Chimie organique. DUNOD.

[43] **Senhaji. O et al** (2005) : Etude de l'activité antifongique de divers extraits de gingembre. J. Mycologie Med. 220-229.

[44] **Douhou. N et al** (2003) : Screening phytochimique d'une endémique *IBERO MAROCAINE THYME LAEA LYTHROIDES*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 61-78.

[45] **Ferron. A** (1976) : Bactériologie (à l'usage des étudiants en médecine) GOUAN et ROQUES. 8^{émé} MASSON.

[46] **Monteil. H, Avril. J** (1992) : Bactériologie chimique. 1^{ère} Ed. MarKeting. Paris.

[47] **Berche. P, Gaillard. JL, Simonet. M** (1989) : Bactériologie les bactéries des infections humaines. Edition Flammarion 1^{ère} éd. Paris.

الملخص

يهدف هذا العمل لدراسة الزيوت الطيارة لأوراق شجرة الكاليتوس و دراسة الخصائص الفيزيوكيميائية للزيت المستخلص و دراسة كذلك الفعالية المضادة للبكتيريا.

من خلال النتائج المتحصل نجد أن المردود المتحصل عليه و الذي يقدر ب0.43% يعتبر هذا الأخير مقبول جدا. و كذلك فعالية بكتيرية كبيرة مع بعض السلالات البكتيرية مقارنة مع المراجع.

التحاليل الفيزيوكيميائية المجراة على الزيوت الطيارة أعطت نتائج مطابقة للمعايير الدولية (AFNOR). أظهر الفحص الكيميائي النباتي مجموعة متنوعة من المكونات التي تشير إلى ثراء النبات بالمركبات الأيضية.

كلمات مفتاحية: الكاليتوس- الزيوت الطيارة- الفعالية البيولوجية.

Résumé :

Ce travail entre dans le cadre de l'étude des huiles essentielles des feuilles d'eucalyptus ainsi que l'étude de ces propriétés physicochimique puis l'évaluation de l'activité biologique par la méthode de l'antibiogramme.

D'après les résultats obtenus on constate que le rendement à l'huile essentielle est de l'ordre de 0,43% qui est très acceptable ainsi que un pouvoir antimicrobien important avec quelque souche bactérienne en comparaison avec les références.

Les résultats, d'analyses physicochimiques des huiles essentielles sont conformes à la norme (AFNOR). Le screening phytochimique, montre une variété des composants qui indique la richesse des métabolites dans la plante.

Mots clés : Eucalyptus, huile essentielle, activité biologique.

Abstracts :

This work is a part of the study of essential oils of 'eucalyptus, the study of physicochemical properties and evaluation of biological activity by the intibiogramme method.

From the results obtained on the finding that the yield of essential oil is 0,43%, very acceptable and a significant power with a microbial strain bacterium comparison with references.

The results of physicochemical analyzes of essential oils is comply with the standard (AFNOR). The phytochemical screening shows a variety of components that indicates the richness of metabolites in the plant.

Key Word: Eucalyptus, essential oil, biologic activity.