الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم والبحث العلمى Ministère de l'Enseignement et de la Recherche Scientifique

## **ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE**

DEPARTEMENT: GENIE CHIMILION DE LA MELLO M المكتبة - BIBLIOTHEQUE Ecole Nationale Polytechnique

# PROJET DE FIN D'ETUDES

SUJET

CONTRIBUTION A

L'ETUDE CHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE

DE L'ARTEMISIA HERBA ALBA ASSO

Proposé par :

Etudié par :

Dirigé par :

Mme CHARCHARI

MILE BENBOUABDELLAH HME CHARCHARI HASSINA

PROMOTION JANVIER 1988

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الثعبية DEPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم و البحث العلمي Ministère de l'Enseignement et de la Recherche Scientifique

## **ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE**

DEPARTEMENT GENIE CHIMIQUE

المدرسة الوطنية المتعدمة التقنيات المكتبة — BIBLIOTHEQUE المكتبة كالمحادثة المحادثة المحادثة

# PROJET DE FIN D'ETUDES

SUJET

CONTRIBUTION A

L'Etude Chimique et Microbiologique

de l'Artemisia Herba - Alba Asso

Proposé par : Mme CHARCHARI

Etudié par :: Mile BENBOUABDELLAH Dirigé par Mae CHARCHARI
Hassina

PROMOTION

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE: المدرة الوطنية التسمة القيام العالمي العالمي العالمي العالمي العالمي العالمي المدرة الوطنية التسمة القيام العالمي المدرة الوطنية التسمة القيام المدرة الوطنية التسمة المدرة الوطنية التسمة المدرة الوطنية التسمة المدرة المدرة المدرة الوطنية التسمة المدرة المدر

الموضع: دراسة كيميائية وميكروبيو لوجية لنبات الشيح.
إن هذا العمل ينعصر في استخلاص و دراسة المركبات الكيميائية و كذلك النشاط المبكروجيوي للزيت الخالص و أيضا للمستخلفات بواسطة المذيبات العفوية لنبات السبح. النحليل الكروماتو غرافي للزيت الخالص سمح لنا بتعيين مكوناته الاساسية كما سمح لنا أيضا بملاحظة إعتلاف كمية المنتوج واختلاف نسب المركبات ببعا للمكان الذي اخذت منه الأعسناب. فعص المهياف الاشعة الحمراء للمستخلفات منه الأعسناب. فعص المهياف الاشعة الحمراء للمستخلفات بالمذيبات العفوية أتاح لنا تقويما كميا مقربا للمركبات الكيميائية. التجارب التقديرية للنشاط الميكروجيوي للزيت الخالص و للمستخلفات بالمذيبات العطت نتائج إيجابية للبعض فيها يخص بعن الميكروكائنات بالمذيبات أعطت نتائج إيجابية للبعض فيها يخص بعن الميكروكائنات بالمذيبات أعطت نتائج إيجابية للبعض فيها يخص بعن الميكروكائنات عزام -إيجابية: ستافيلوكوكس أوريوس المستربة كوكس راموليتيكس والموليتيكس والموليتيكس والموليتيكس المنابية المنابية المنابية المنابية كوكس راموليتيكس والموليتيكس المنابية المنابية المنابية المنابية المنابية كوكس راموليتيكس والموليتيكس والموليتيكس والموليتيكس والمولية المنابية المنابية

Sujet : Etude chimique et microbiologique de l'Artemisia herba-alba Asso.

Ce travail porte sur l'extraction, l'étude de la composition chimique et de l'activité microbiologique de l'huile essentielle et des extraits par solvants organiques d'Artemisia herba-alba Asso.

L'analyse par C.P.G. de l'huile essentielle a permis d'identifier les principaux constituants et d'observer une variation du rendement et de la proportion des constituants de l'huile en fonction du lieu de végétation de la plante. L'examen des spectres IR des extraits par solvants organiques a permis une approche qualitative de leur composition chimique.

Les essais d'évaluation de l'activité microbiologique de l'huile essentielle et des extraits par solvants se sont avérés positifs pour certains, vis-à-vis des microorganismes Gram-positifs staphylococcus aureus, strptococcus hemo-lyticus.

Subject: Chemical and microbiologic study of Artemisia herba-alba Asso.
The main features of this study are the extraction, evaluation of the chemical composition and microbiologic activity of the essential oil and extracts of "Artemisia herba-alba Asso".

Gas chromatographic analysis of the essential oil has enabled us to identify the main components and to note variations of their corresponding yieds depending of different geographical origins.

IR. psectra of extracts have also enabled us to make a qualitative approch about the chemical composition microbiological activity evalution tests of the extract had proven positive for some in pressence of gram-positives strains : staphylococcus aureus et streptococcus hemplytucus.

المدرسة الوطنية المتعدمة التقنيات المحكنتية — BIBLIOTNEQUE Ecole Nationale Polytechnique

## // EDICACES.

/- MON CHER PERE.

\_\_\_\_\_\_ MES FRERES ET SOEURS.

//- ) MON FIANCE.

المدرسة الوطنية المتددة التقليبات BIBLIGIKEQUE - المكتبة Ecole Nationale Polytechnique

Ce travail a été réalisé au Département de Génie-chimique de l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger sous la Direction de Madame CHARCHARI S. Maître Assistante au Département de Génie-Chimique. Qu'elle trouve ici l'expression de ma trés profonde et sincère gratitude pour les conseils précieux et la bienveillance qu'elle m'a sans cesse prodigué tout au long de la réalisation de mon travail.

#### MEMBRES DE JURY.

المدرسة الوطنية المتعدمة التقنيسات المكتبة — BIBLIOTHEQUE Ecole Nationale Polytechnique

PRESIDENT : Monsieur R. BELLBRES, Professeur à 1'E.N.P.

EXAMINATEURS: Monsieur T. AHMED-ZATD, Maitre Assistant à l'E.N.P.

Monsieur Y. BOUMCHAR, Maitre Assistant à l'E.N.P.

Madame : M. MATEVA, Chargé de cours à l'E.N.P.

PROMOTEUR : Madame S. CHARHCARI, Maitre Assistante à l'E.N.P.

INVITE: Monsieur BOUSSENADJI, Chef de Département des analyses fines du Service des fraudes.

J'exprime ma sincère reconnaissance à Mr. BELABBES, Professeur à l'E.N.P. pour l'honneur qu'il me fait de Présider les travaux de mon jury.

Que Monsieur T. AHMED ZATD; Maitre Assistant à 1'E.N.P.

Monsieur Y. BOUMCHAR, Maitre Assistant à l'E.N.P.

Madame M. MATEVA, Chargé de Cours à 1'E.N.P.

Trouvent ici l'expression de mes vifs remerciements pour avoir bien voulu accepter de faire partie de ce même jury.

Par ailleurs, je tiens à remercier bien les Responsables des Institutions où j'ai été souvent amenée à solliciter le concours matériel et l'utilisation de leurs équipements scientifiques et techniques en particulier :

Monsieur BOUSSENADJI, Chef de Département des analyses fines du service des fraudes.

Monsieur le Responsable de la bibliothèque du Département de technologie de l'I.N.A.

Monsieur le Chef de Département de Botanique de 1'I.N.A.

Madame AHLOUCHE et Monsieur MESSAOUD du Laboratoire Central d'analyse de l'hopital parnet.

المدرسة الوطنية المتعدمة التقليبات المكتبة — BIBLIOTHEQUE المكتبة كاBEcele Nationale Polytechnique

#### TABLE DES MATIERES.

INTRODUCTION.
RAPPEL BOTANIQUE
TRAVAUX ANTERIEURS
FTUDE DE L'HUILE ESSENTIELLE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA ASSO
I. Rappel théorique.
I.1. Les huiles essentielles
I.2. Les techniques d'isolement et d'analyse des huiles essentielles.
I.2.1. L'entrainement à la vapeur d'eau
I.2.2. La chromatographie en phase gazeuse
II. Partie expérimentale
II.1. Extraction de l'huile essentielle
II.1.1. Mode opératoire.
II.1.2. Résultat et discussion
II.2. Analyse de l'huile essentielle par chromatogaphie en phase
gazeuse
II.2.1. Condition opératoire
II.2.2. Tentative d'identification des constituants des huiles
essentielles
II.2.3. Résultats et discussion
APPROCHE A L'ETUDE DES EXTRAITS PAR SOLVANTS ORGANIQUES D'ARTEMISIA
HERBA-ALBA ASSO
I. Techniques d'isolement et d'analyse utilisées
I.1. Extraction par solvant
I.2. Spectroscopie infrarouge
II. Partie expérimentale
II.1. Macération
II.2. Analyse par spectroscopie infrarouge
II.3. Résultats et interprétation



* ESSAI D'EVALUATION DE L'ACTIVITE MICROBIOLOGIQUE D'ARTEMISIA HERBA-ALBA ASSO.	73
I. Rappel théorique	
I.1. Les microorganismes et l'organisme humain	75
I.2. Les agents antimicrobiens	75
I.3. Méthodes d'évaluation de l'activité microbiologique	76
I.4. Conditions influencant l'action antimicrobienne	
I.5. Pouvoir pathogène naturel des microorganismes testés	
I.5.1. Escherichia Coli	78
I.5.2. Staphylococcus aureus	78
I.5.3. Streptococcus hemolyticus	79
II. Partie expérimentale.	19
II.1. Mode opératoire.	79
II.2. Résultats.	
III. Discussion des résultats	83
* CONCLUSION.	35
BIBLIOGRAPHIE	47

## MISTE DES ABREVIATIONS.

المدرسة الوطنية المتعدمة التقنيبات المكتبة — BIBLIOTHEQUE Ecolo Nationale Polytechnique

- Teb: température d'ébullition
- BBA Oct. : huile essentielle d'Artemisia herba-Alba Asso, cueillie en Octobre 1986 dans la région de Bordj Bou Arreridj.
- BBA Déc. : huile essentielle d'Artémisia herba-Alba Asso, cueillie en Décembre 1986 dans la région de Bordj Bou Arreridj.
- GH Déc.86: huile essentielle d'Artemisia herba-Alba Asso, cueillie en Mécembre 1986 dans la région de Ghardaïa.
- GH Déc.87: huile essentielle d'Artemisia herba-Alba Asso, cueillie en Décembre 1987 dans la région de Ghardaïa.
- BBA<sub>EP</sub><sup>2</sup> extrait d'ether de pétrole de l'Artemisia herba-Alba Asso, cueillie en Décembre 1986 dans la région de Bordj Bou Arreridj.
- BBA<sub>CH</sub>: extrait de chloroforme de l'Artemisia herba-Alba Asso, cueillie en Décembre 1986 dans la région de Bordj Bou Arreridj.
- BBA extrait d'ethanol d'Artemisia herba-Alba Asso, cueillie en Décembre 1986 dans la région de Bordj Bou Arreridj.
- BOU<sub>EP</sub> : extrait d'ether de pétrole d'Artemisia herba-Alba, cueillie en Décembre 1986 dans la région de Bousâada.
- BOU<sub>CH</sub>: extrait de chloroforme d'Artemisia herba-Alba Asso, cueillie en Décembre 1986 dans la région de Bousâada.
- GE<sub>EP</sub>: extrait de pétrole d'Artemisia herba-Alba Asso, cueillie en Décembre 1986 dans la région de Ghardaïa.
- GH<sub>CH</sub>: extrait de chloroforme d'Artemisia herba-Alba Asso, cueillie en Décembre 1986 dans la région de Ghardaïa:

المدرسة الوطنية المتعدمة التقنيسات المكتب ا

GH<sub>ET</sub>: extrait d'éthanol d'Artémisia herba-Alba Asso, cueillie en Décembre 1986 dans la région de Ghardaïa.

Pour alleger la rédaction nous nous sommes permis d'utiliser les expressions comme par exemple "l'huile de Ghardaïa", en sous entendant "l'huile essentielle extraite de l'Artémisia herba-Alba Asso." Cueillie dans la région de Ghardaïa.

# المدرسة الوطنية المتعدمة التقنيات المكتبة — BIBLIOTHERUE Ecole Nationals Polytechnique

## //ISTE DES TABLEAUX.

pages

1.	Tableau 1 :	Rendements et caractères organoléptiques des huiles
		extraites d'Artémisia herba-Alba Asso de différentes
		régions et périodes de végétation
2.	Tableau 2 :	Indices de réfraction des huiles essentielles d'Artémisia
		herba- Alba Asso 21
7	m-12 7	Conditions ordertaines dispolars and absorbtomable
).	Tableau ) :	Conditions opératoires d'analyse par chromatographie en phase gazeuse
4.	Principaux	constituants des huiles essentielles d'Artémisia herba-
		Alba Asso de périodes et des lieux de végétation dif-
		férents
5.	Tableau 5.	Principales bandes d'absorption des spectres infrarouges
		des extraits par solvants d'Artémisia herba-Alba Asso 71
6.	Tableau 6.	Diamètres des zones d'inhibition &

## //ISTE DES FIGURES.

المدرسة الوطنية المتعدمة التقنيات | BIBLICTREQUE | المكتبة | Ecole Nationale Polytechnique

	pages
Figure 1	: Appareillage de l'entrainement à la vapeur d'eau : 18
Figure 2	2 : Chromatographe PYE UNICAM, série 304 philips 23
Figure 3	3 : Chromatogramme de l'huile essentielle d'Artémisia herba-
	Alba Asso de la région de Bordj Bou Arreridj, mois d'Odobre
	sur colonne OV17 26
Figure 4	: Chromatogramme de l'huile essentielle d'Artémisia herba-
	Alba Asso de la région de Bordj Bou Arreridj, mois de
	Décembre sur OV17 27
Figure 5	: chromatogramme de l'huille essentielle d'Artémisia herba-
	Alba Asso de la région de Ghardara, mois de Récembre 1986,
	sur 0V.1728
Figure 6	: chromatogramme de l'huile essentielle d'Artémisia herba-
	Alba Asso de la région de Ghardaïa, mois de Décembre 1987,
	sur OV1729
Figure 7	: chromatogramme de l'huile essentielle d'Artémisia herba-
	Alba Asso de la région de Bordj Bou Arreridj, mois
	d'Octobre sur colonne capillaire
FIGURE 8	: chromatogramme de l'huile essentielle d'Artémisia harba-
	Alba- Asso de la région de Bordj Bou Arreridj, mois de
	Décembre 31
igure 9	: chromatogramme de l'huile essentielle d'Artémisia herba-
	Alba Asso de la région de Ghardaïa, mois de Décembre 1986
	sur colonne capillaire
igure 10	0 : chromatogramme de l'huile essentielle d'Artémisia herba-
	Alba Asso de la région de Ghardaïa, mois de Décembre 1987
	sur capillaire

المدرسة الوطنية المتعدمة التقنيات	
BIBLIOTHEQUE - inical	١
Ecole Nationale Polytechnique	8

Figure 11 - about 1
Figure 11: chromatogrammes de l'éthanol et du d-pinène sur 0V17 34
Figure 12 : chromatogrammes du camphène et du β-pinène sur 0V17 35
Figure 13: chromatogrammes du p-cymène et du cineol -1,8 sur 0V1736
Figure 14: chromatogrammes du -terpineol et du borneol sur 0V1737
Figure 15: chromatogrammes du neral et du camphre sur 0V1738
Figure 16 : chromatogrammes de l'éthanol et de d'-pinène sur colonne
capillaire 39
Figure 17 : chromatogrammes du camphène et du β-pinène sur colonne
capillaire40
Figure 18 : chromatogrammes du cineol et du p-cymène sur capillaire41
Figure 19 : chromatogramme du camphre sur colonne capillaire : 42
Figure 20: chromatogramme du neral sur capillaire: 43
Figure 21: chromatogramme du & terpineol sur colonne capillaire 44
Figure 32 : chromatogramme du geranial sur colonne capillaire 45
Figure 23 : Chromatogramme de l'huile essentielle de Ghardaïa 86 +
Camphre + p-cymène "neral sur OV17
Figure 24 : chromatogramme de l'huile essentielle de Bordj Bou Arreridj
Décembre + p-cymène + neral +borneol sur colonne 0V17 4
Figure 25 : chromatogramme de l'huile essentielle de Ghardaïa Décembre
1986 + cineol sur OV17
Figure 26 : chromatogramme de la phase organique obtenue aprés traitement
de l'huile essentielle par NaHSO3 sur OV175



Figure	27 : chromatogramme de l'huile essentielle résiduelle de
	Ghardaïa Décembre 1986 sur OV17
Figure	28 : chromatogramme de l'huile essentielle de Ghardaïa +
	fenchone sur colonne capillaire
Figure	29 : Spectre infrarouge de l'extrait d'éther de pétrole
	d'Artémisia herba-Alba Asso de la région de Bordj Bou
	Arreridj
Figure	30 : spectre infrarouge de l'extrait chloroformique d'Artémisia
	herba- Alba Asso de la région de Bordj Bou Arreridj63
Figure	31: Spectre infrarouge de l'extrait ethanolique d'Artémisia
	herba-Alba Asso de la région de Bordj Bou Arreridj 64
Figure	32 : Spectre infrarouge de l'extrait d'éther de pétrole d'Artémisia
	herba-Alba Asso de la région de Boussâada.
Figure	33 : Spectre infrarouge de l'extrait chloroformique d'Artémisia
	herba-Alba Asso de la région de Boussâada
Figure	34 : Spectre infrarouge de l'extrait éthanolique d'Artémisia
	herba-Alba Asso de la région de Boussâada
Figure	35 : Spectre infrarouge de l'extrait d'ether de pétrole d'Artémisia
	herba-Alba Asso de la région de Ghardaïa
Figure	36 : Spectre infrarouge de l'extrait chloroforme d'Artémisia herba-
	Alba Asso de la région de Ghardaïa
Figure	37 : Spectre infrarouge de l'extrait ethanolique d'Artemisia herba-
	Alha Asso de la région de Chardaia

المدرسة الوطنية المتددهة التقنيات المكتبة - BIBLIOTHEQUE المكتبة - Ecole Nationale Polytechnique

NTRODUCTION

#### INTRODUCTION

Notre pays recele d'importantes potentialités en matière de plantes arômatiques et médicinales, favorisées par la diversité du climat et la nature des sols.

Le Sud du pays dispose de cultures arômatiques telles que l'armoise, couvrant à perte de vue les régions stéppiques. Mais probablement par manque d'information sur le gain que procurent ces cultures spontanées, il y a un desinterressement pour la valorisation de cette richesse naturelle.

Cependant l'emploi empirique des plantes comme arômes et remèdes remonte à la plus haute antiquité. Remèdes ou poisons, d'ail-leurs tout est une question de dose, comme le rappelle le mot "pharmacon" qui ne les distingue pas. En effet l'utilisation anarchique de plantes peut être fatale dans certains cas. Il s'imposent donc des études phytochimiques et pharmacologiques, dont les résultats contribueront à une raisonable utilisation des végétaux.

Mais ce n'est que vers le début de XIX siècle, que les premiers principes actifs d'origine végétale sont isolés grace aux travaux de nombreuses équipes de recherches, consacrés à l'étude de la composition chimique de plantes.

L'Artemisia herba-alba Asso, appelée Chih, Semen Contra de Barbarie, ou encore Armoise a attiré notre attention par le fait que cette plante est communement utilisée en médecine traditionnelle.

Notre travail a été orienté vers l'extraction, l'étude de la composition chimique et de l'activité microbiologique de l'huile essentielle de la plante. Ensuite nous avons effectué des extractions succéssives par différents solvants du végétal dans le but d'examiner l'activité microbiologique des extraits.

En étudiant l'huile essentielle nous nous sommes particulièrement interessés à la variation de sa composition en fonction de la période et de lieu de végétation de la plante

APPEL BOTANIQUE.

## · Rappel Botanique

L'Artemisia herba-alba Asso appartient à une de plus vastes familles : la famille des composées ou Synanthrées, comptant plus de 1000 genres et 1500 espèces (1).

C'est une plante herbasée, oderante, à feuilles extrèmement petites et vertes à l'état adulte, à capitules de petite taille groupés en grappes ou en panicules. Les fleurs sont jaunâtres et les akènes sont lisses et non surmontés d'un pappus. Elle se présente sous forme de buissons blancs laineux de 30 à 50cm de hauteur.

Cette plante est trés répandue dans les régions tempérées et surtout en Afrique du Nord et au Moyen Orient. En Algérie elle couvre près de six millions d'hectares.

L'Artemisia herba-alba Asso est largement utilisée par les populations locales contre les refroidissements, perturbations digestives, faibl esse musculaire et même contre le diabete sucré (2).

On lui attribue aussi des effets antispasmodique emmolient, diuretique et vermifuge (3).

Les échantillons d'Artemisia-herba alba Asso sur lesquels nous avons effectué cette étude ont été ceuillis en 1986 dans la région de :

- Bordj Bouarreridj : pendant les mois d'Octobre et Décembre
- Boussâada : mois de Décembre.
- Chardaia : mois de Décembre.
- -Ghardaïa : mois de Décembre 1987.

Ces échantillons ont été séchés à l'air libre et à l'abri du soleil. Chaquin d'eux a été identifié au département de Botanique de l'Institut National Agronomique, comme étant celui d'Artemisia herba-alba Asso WAYAUX ITERIEURS.

## Travaux anterieurs

L'étude de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba Asso débute au siècle dernier. Et bien que l'essence ait été analysée à plusieurs reprises par divers chercheurs, leur travaux n'avaient cependant pas élucidé d'une façon satisfaisante la question de son élément principal, car ils se contredisent sur des points importants (4).

Ainsi M.E. GRIMAL obtient de l'herbe fraiche et non fleurie d'Algérie une huile essentielle jaune-verdâtre d'odeur trés agréable. L'entrainement à la vapeur d'eau de la plante a donné un rendement de 0,3%. Il a réussi à iscler par distillation sous vide le camphène gauche, le Cineol et le Camphre (5).

Une étude ultérieure de l'huile essentielle d'Artemisia herbaalba Asso montre qu'elle contient le camphène, le cineol, le camphæe, le géraniol et les acides caproique et caprilique à l'état d'estèrs. (6).

Plus tard M.M. SCHIMEL et all. extrairent d'un lot de la plante d'Egypte par entrairement à la vapeur d'eau une huile essentielle jaunâtre avec un rendement de 1,6% ayant l'odeur de la thuyone. Un second lot de la même plante n'a donné que 0,58% de l'huile sensiblement diffèrente de la précédente. De couleur jaune-brunâtre, elle se distingue par une odeur piquante et l'arôme de thuyone n'apparait qu'au bout de quelque temps. La principale différence réside dans la modification du sens de la déviation polarimétrique: la nouvelle essence est dextrogyre, alors que l'ancienne levogyre. Ces chercheurs expliquent les différences observées par le fait que la première fois la distillation a été faite sur l'herbe fleurie, alors que les fleurs du second lot n'étaient pas encore trés développées. (5).

Plus tard vers les années 60, dans le but de trouver des sources de camphre et de thuyone, nécessaires pour de synthèses biomédicales, beaucoup de chercheurs étudient l'huile essentielle de divers Artemisia. FAHMY et all. (7) travaillent sur l'huile d'Artemisia herba-alba Asso et Artemisia monosperma d'Egypte, GORYEV et all. en 1962 (8) publièrent les résultats de leurs recherches sur l'huile essentielle de divers Artemisias, répandues en URSS, durant 1965-1966 deux équipes japonaises: ISHIBASHI et all. (9) et TSUBAKI et all. (10) étudièrent les Artemisias de Japon. Plus récemment encore BANTHROPE et all. recherchent les constituants des huiles essentielles des espèces d'Artemisia se développant en Angleterre.

En 1971 BANTHROPE, BAXENDALE et coll. (11) publient un recueil de résultats de tous ces travaux cités auparavant.

Ils constatent que l'huile essentielle de divers espèces d'Artemisia est constituée principalement de dérivées de camphane et thuyane (camphre et thuyone) et de Cineol -1,8, alors que les dérivés de menthane, carane et pinane se trouvent en faible proportion.

Ces auteurs remarquent aussi que la composition de l'huile essentielle des espèces d'Artemisia se développant en Angleterre varie très peu de la période et de lieu de végétation de la plante d'une même espèce.

Plus tard GOMIS et coll. (11) étudient l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba Asso, susp. Valentina de l'Espagne. En utilisant des méthodes trés performantes d'analyse, en particulier la chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectrométrie de masse, ils identifient plusieurs constituants de l'huile.

L'étude de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba Asso ne s'est pas limité dans la recherche de sa composition chimique.

YASHPHE et coll. (3) constatent que les extraits de la plante n'ont jamais été contaminés par des microorganismes, même s'ils restent très longtemps à la température ambiante. Ils testent alors l'activité microbiologique de l'huile essentielle et trouvent qu'elle présente une certaine activité vis-à-vis de bactéries Gram positives et Gram négatives.

En effectuant un fractionnement de l'huile sur colonne de gel de silice ils réussissent à isoler un des principes actifs de l'huile et l'identifient comme étant le santolina alcool.

Dans le but de rechercher de nouveaux agents thérapeutiques plusieurs équipes de chercheurs se lancent dans l'étude chimique d'Artemisia herba-alba Asso. Ainsi KHAFAGY et coll. isolent la santonine de l'extrait de l'éther de pétrole de l'herbe d'Egypte en 1971(13). SEGAL et coll. isolent sept 6-lactones sesquiterpéniques; les herbolides A, B, C,D,E,F et désacetyl herbolide A à partir d'extrait chloroformique de la plante, ainsi que trois flavonoïdes (14-17). GOMIS et All. (12) isolent à partie de l'extrait alcoolique de la plante d'Espagne, la santonine, la toyrentine et déhydroreynosine des lactones sesquiterpéniques de structure endesmanolide.

En cherchant à trouver de nouveaux agents antitumoraux l'équipe de GARDON (18 - 20) étudie les effets cytotoxiques de l'extrait alcoolique de l'Artemisia herba-alba- Asso de Djebel Katharina, Sinaï.

Ils constatent que cet extrait est inactif vis-à-vis de tumeur leucemique mais arrivent à isoler trois %-lactones sesquiterpépique de structure germacranolide et se proposent de tester l'effet antitumorale des composés purs isolés. Leurs travaux sont en cours.

En effet les chercheurs Japonais M. ANDO et K. TAKASE (21) trouvent que les sesquiterpènes contenant la fonction & méthylène - & lactone sont doués de propriétés cytotoxiques, alors que d'après le recueil de AHESLEY et SHAFIZADEH (22) les espèces du genre Artemisia sont assez riches en lactones sesquiterpéniques très récemment SALEH et coll. ont isolé onze flavonoïdes glycosides de la plante d'Egypte (23).

En Algérie l'étude d'Artemisia herba-alba Asso vient d'être entamée (24 - 25). ETUDE DE L'HUILE ESSENTIELLE
D'ARTEMISIA HERBA-ALBA ASSO.

## ETUDE DE L'H.E D'Artemisia herba-alba asso

L'étude des propriétés chimiques et physico-chimiques des huiles essentielles a préocusé les chercheurs depuis fort longtemps.

Nous ne pouvons pas dans ce dome îne omettre les travaux de O.WALLACH, récompensés par le prix Nobel en 1910.

Dès 1899, sous le titre "Die atherischen ôle "GILDNEISTER et HOFFMAN publièrent le premier ouvrage encyclopédique, concernant l'étude de propriétés des huiles essentielles. Cet ouvrage, réedité en 1910 et en 1928 et entièrement refondu sous la direction du Professeur W.TREIES, fut publiée en 1956, suivi d'une autre édition en 1961.

De son côté, le Professeur F.W. SEMMLER, publia en 1906 sous le même titre, trois volumes, consacrés plus particulièrement à l'étude des constituants des huiles essentielles. Sur ce dernier sujet le traité de J.SIMONSEN et coll. "The terpens "publié en 1931 et réédité en 1947, 1953 et 1957, est aujourd'hui encore la "bible " des spécialistes dans ce domaine (26).

Toutefois les constants analytiques des huiles essentielles ne sont pas immuables au cours du temps. De plus les contraintes liées à l'écologie, le climat, la nature du sol, la période de la végétation de la plante font varier la composition de l'huile essentielle provenant d'une même espèce végétale de manière parfois considérable (27).

#### I. RAPPELS THEORIQUES :

#### I.1. Les huiles essentielles :

Les huiles essentielles constituent un mélange complexe de substances aliphatiques, aromatiques et surtout terpéniques. En plus de terpènes simples, divers alcools terpéniques et sesquiterpéniques et leurs produits d'oxydation; aldehydes, cetones et acides à l'état d'esters se trouvent dans les huiles (28 - 29).

Parmis ces constituants, certains contribuent à l'arôme de l'huile, autres à l'harmonie du mélange. Il en est qui, complètement inoderes ou peu odorants ont un rôle tout à fait effacé. Enfin certains corps constituent des facteurs négatifs, qu'il ya interêt à éliminer(24).

Vu le grand nombre de constituants présents dans une huile essentielle, leur diversité, et leur présence dans des proportions trés variables, au début les investigations ont eu pour but d'identifier les principaux d'entre eux. De plus en plus les études s'orientent vers la recherche des constituants mineurs mais oflactivement interessants ou présentant une activité pharmacologique particulière (30).

Les huiles essentielles sont généralement utilisées à l'état brut ou purifiées. Elles constituent la source de substances, destinées à la production de parfums, d'arômes et à des préparations thérapeutiques. Actuellement environ deux milles huiles essentielles sont décrits et parmis elles, deux cent ont fait l'objet d'importantes transactions commerciales. D'autres sont utilisées dans diverses synthèses industrielles. (31, 34).

Il est à noter, que la totalité des huiles essentielles Algériennes sont exportées sans analyse préalable et souvent le marché extérieur leur attribusées qualités, lesquelles ne leur correspondent pas (32).

## I.2. Techniques d'isolement et d'analyse des huiles essentielles :

#### I.2.1. L'entrainement à la vapeur d'eau : (33).

L'entrainement à la vapeur d'eau est la méthode d'usage pour séparer et purifier des substances insolubles ou trés peu solubles dans l'eau. Pour qu'une substance puisse être entrainée par un courant de vapeur d'eau il faut qu'elle possède aux environs de 100°C une pression de vapeur trés appréciable.

Les huiles essentielles sont constituées de composés velatils plus ou moins sensibles à l'influence de la chaleur.

Longtemps, la distillation directe des végétaux, sans vapeur auxillière, à décu l'expérimentateur en raison de la difficulté à récupérer l'ensemble des produits odorants sans les dégrader. Par contre l'entrainement à la vapeur d'eau permet d'isoler tels-quels tous les constituants volatils des plantes.

La vapeur saturée ou surchauffée et généralement à des pressions supérieures à la pression atmosphérique est introduite à travers la matière végétale et entraine les constituants volatils. Une partie de l'huile essentielle présente à la surface de la plante est immédiatement disponible à la vaporisation.

Le reste de l'huile arrive à la surface aprés la diffusion de la vapeur à travers l'ensemble du tissu végétal.

L'entrainement à la vapeur d'eau de certaines matières végétales présente de difficultés d'hydrodiffusion ou plus précisement de l'esmose : la diffusion à travers une membrane perméable.

Il arrive parfois qu'une partie de l'huile est extraite sous forme d'une masse visqueuse insoluble dans l'eau, alors qu'une autre partie reste dans le tissu de la plante, empêchée d'atteindre la surface par une sorte de membrane imperméable que la plante développe pour se protéger.

En raison de ces difficultés, dans certains cas il est recommandé d'effectuer au préalable une extraction par un solvant volatil approprié de la matière végétale, suivie d'entrainement à la vapeur d'eau des extraits concentrés.

## I. 2.2. La chromatographie en phase gazeuse :

Prévue théoriquement depuis 1941 par MARTIN et SYNGE et réalisée expérimentalement en 1952 par JAMES et MARTIN, la chromatographie en phase gazeuse s'est toposée de nos jours dans tous les secteurs de l'industrie chimique.

C'est une méthode de séparation de composés gazeux ou succeptibles d'être vaporisés par chauffage, sans décomposition. Son avantage principal sur les autres techniques de séparation, réside dans l'analyse de mélanges trés complexes et la détermination quantitative et qualitative de trés petites quantités de substances. Cependant c'est une technique délicate à appliquer si l'on veut obtenir des résultats parfaitement reproductibles. (35),

De nombreux appareils de CPG existent actuellement sur le marché, mais quelque soit sa construction, un chromatographe comporte principalement:

- une chambre d'injection ou injecteur,
- une colonne de séparation,
- détecteur,
- un enregistreur,
- une alimentation en gaz vecteur, la colonne et le détecteur étant les pièces maitresses de l'appareil. (36).

Néanmoins, il est évident que dans strictement les mêmes conditions d'analyse, les composés, ayant les mêmes temps de rétention sont identiques. Ceci a permis l'élaboration de méthodes de détermination qualitative de constituants d'un mélange, parmi lesquelles, la plus utilisée est : la méthode des étalons.

La méthode d'identification par des étalons est basée sur la comparaison du temps de rétention du constituant de mélange à celui d'un étalon, déterminés dans les mêmes conditions épératoires. Une variété de cette technique est la méthode des rajouts. Elle consiste à ajouter dans le mélange à analyser un étalon. Dans ce cas si le mélange contient ce composé, l'aire du pic correspondant augmente dans le cas contraire, un autre pic ; dû à la présence d'étalon apparait sur le chromatogramme.

Evidemment cette méthode d'identification suppose des données préalables sur la composition du mélange à analyser, permettant d'envisager le choix des étalons nécessaires (35).

#### II. PARTIE EXPERIMENTALE :

#### II.1. Extraction de l'huile essentielle :

Pour extraire l'huile essentielle de chacun des échantillons d'Artemisia herba-alba Asso, nous avons procédé à l'entrainement à la vapeur d'eau.

L'apparaillage que nous avons utilisé est représenté à la figure 1.

Il est constitué d'un ballon de deux litres à trois cols, dans lequel la plante est introduite. Ce ballon est d'une part lié à deux ballons chaudières, lui fournissant la vapeur d'eau et d'autre part à un réfrigérant où les vapeurs d'eau contenant l'huile sont refroidies et condensées. Ce dernier est relié à un récipient.

Pour assurer une meilleure distribution de la vapeur à travers la matière végétale, nous avons fixé à l'extrémité des conduites de vapeur des tubes en plastique perforés.

#### II.1.1. Mode opératoire :

200g des parties aériennes de la plante sont grossièrement contusées et introduites dans le ballon. Le chauffage des ballons-chaudières est réglé de manière que l'expérience dure quatre heures et que le volume du distillat recueilli soit un litre (pharmacopée Française). L'huile essentielle est récupérée du distillat par décantation.

Dans le but de séparer complétement l'huile des eaux de distillation nous avons procédé au relargage avec du Nacl.

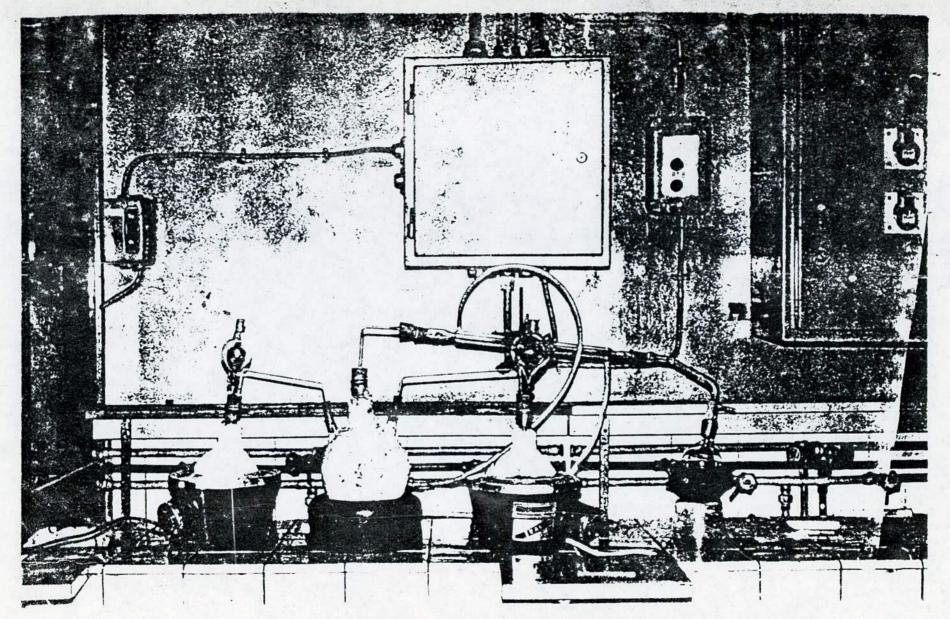


FIG 1 APPAREIL DE L'EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE PAR ENTRAINEMENT

A LA VAPEUR D'EAU

Pour caractériser les huiles nous avons mesuré l'indice de réfraction en utilisant le réfractomètre.

## II.1.2. Résultats et discussion :

Nous avons effectué l'extraction de l'huile de cinq échantillons de l'Artemisia herba-alba Asso provenant des régions de :

- \* Bordj Bouarreridj : de mois d'Octobre et Décembre (1986).
- \* Boussa da : de mois de Décembre 1986
- \* Ghardaïa : de mois de Décembre 1986 et de mois de Décembre 1987 ( plante fraiche).

Notre choix pour le mois de Décembre a été guidé par le fait que pendant cette période la plante est au début de la floraison, et que cette période est généralement conseillée pour l'étude phytochimique des végétaux à fleurs.

Les résultats de nos expériences sont représentés dans le tableau 1 :

Région	Période de cueill <b>é</b> tte	Rendement %	Couleur
Bordj Bouarreridj	Octobre 1986	0,27	Jaune vert
Bordj Bouarreridj	Décembre 1986	0,12	Jaune vert
Ghardaïa	Décembre 1986	0,32	Jaune
Ghardaïa	Décembre 1987	1,04	Jaune vert
Boussäada	Décembre 1986	0	

Tableau 1 : Rendements et caractères organoleptiques des huiles extraites d'Artemisia herba-alba Asso, de différentes régions et périodes.

Nous remarquens que les rendements en huile sont relativement faibles à l'exception de celui de la plante fraîche. Il est probable que à l'échelle laboratoire nous n'avons pas pu maitriser certains paremètres de l'entrainement à la vapeur d'eau, tels que; un débit régulié de la vapeur, un refroidissement efficace des vapeurs contenant l'huile.

Cependant le rendement élevé de l'huile de la plante fraiche peut être éventuellement une indication pour le temps de séchage et de conservation à envisager.

D'autre part, nous n'avons pas pu isoler l'huile essentielle de la plante de la région de Boussâada par entrainement à la vapeur d'eau, malgré les nombreuses expériences réalisées. En supposant que les conditions climatiques et la nature du sol ont probablement provoqué la formation dans le végétal d'une membrane imperméable au flux de vapeur, nous avons tenté une autre méthode pour acceder à l'huile essentielle.

Nous avons procédé à l'extraction en appareil de Soxlet de 100g de parties aériennes de la plante, grossièrement contusées par l'éther de pétrole (Teb 40-60°C). Nous avons ensuite concentré et entrainer à la vapeur d'eau l'extrait obtenu.

Cette expérience, elle aussi ne nous a pas permi d'isoler l'huile essentielle de la plante de la région de Bousâada.

A notre avis il est peu probable que la plante de cette région soit complétement dépourvue de l'huile essentielle, mais que sa quantité est trés faible.

Les valeurs des indices de réfraction des huiles essentielles sont présentés dans le tableau 2.

Région	Période de la cueillette	Indice de refraction nD20		
		Mesuré	réfférence(5)	
Bordj Bouarreridj	Octobre	1,4739		
Bordj Bouarreridj	Décembre	1,4729	1,4727	
Ghardala	Décembre(1986)	1,4580		
Ghardaīa	Décembre(1987)	1,4548		

Tableau 2: Indices de refraction des huiles extraites d'Artemisia herba-alba Asso, de différentes régions et périodes.

Nous remarquons que les indices de réfraction des huiles sont assez proches de la valeur de référence, à l'exception de l'huile de Ghardaïa, cette huile est différente aussi par la couleur. Ceci nous amène à supposer que les premiers essais d'étude de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba Asso, manés par GRIMAL (5) ont été effectués sur des échantillors provenant de différentes régions de l'Algérie.

Effectivement nos expériences montrent une variation de la quantité et des caractères organoleptiques de l'huile de la plante en fonction de la région où elle se développe.

# II.2. Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse:

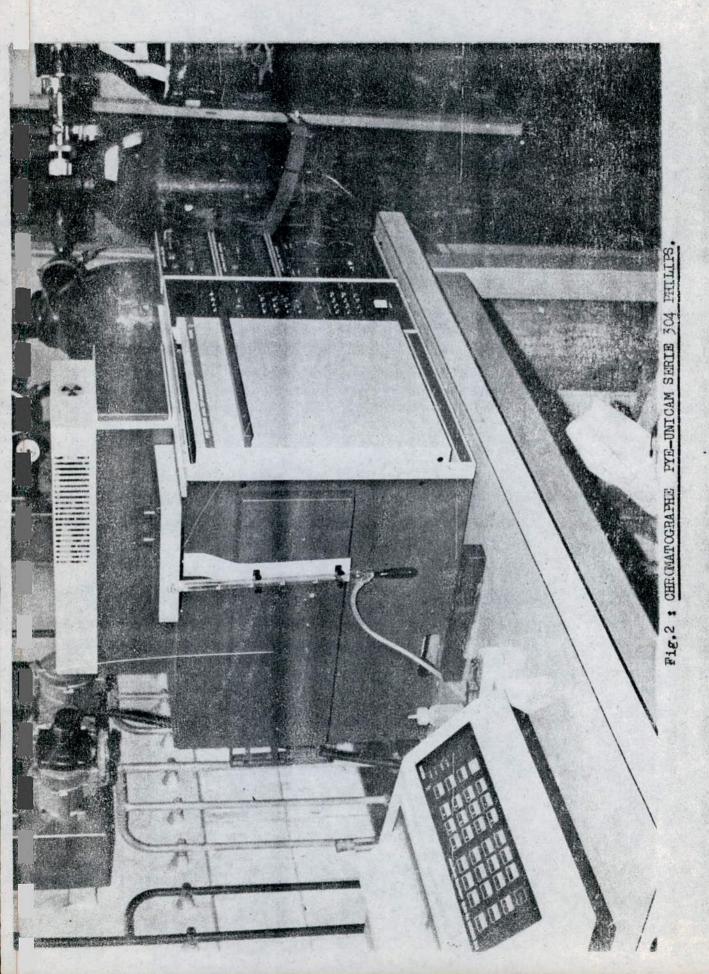
Dans le but d'étudier la variation de la composition chimique de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba Asso, en fonction de la période et du lieu de la végétation nous avons procédé à l'analyse des huiles extraites par chromatographie en phase gazeuse.

#### II.2.1. Conditions opératoires :

Nous avons effectué des analyses à l'aide d'un chromatographe du type PYE UNICAM, série 304 Philips à détecteur à ionisation de flamme (fig.2).

Un certain nombre d'expériences préliminaires nous ont permi de fixer notre choix sur les colonnes, ainsi que d'optimiser les conditions d'analyse.

Les conditions opératoires dans lesquels nous avons analysé tous les échantillons des huiles essentielles sont présentées dans le tableau 3:



Paramètres	Colonne classique	Colonne Capillaire
1. Phase stationnaire - longueur, diamètre 2. GAZ vecteur	OV17 1,5m, 4mm Azote 30ml/mn	P.E.G. 20M 48m, 0,2mm Hydrogène 2ml/mn
3. Température a) Colonne	Programmation linéaire de 70° à220°C à raison de 5°C/mn	Programmation  3mn à 60°C et  de 60° à 200°C à  raison de 3°C/mn
b) Détecteur c) Injecteur	300°C 225°C	300°C 250°C
4. Débits des gaz en ml/mn		
a) Hydrogène b) Azote c) Air	33 30 333	30 à 40 - 300 -400
5. Sensibilité 6. Volume injecté en µl	10 <sup>-3</sup> 0 <b>,</b> 1	10 <sup>-3</sup> 0,1 µ1 Split 50 : 1

Tableau 3 : Conditions opératoires d'analyse par chromatographie en phase gazeuse.

Nous avons tracé dans ces conditions les chromatogrammes des huiles essentielles extraites à partir de la plante des régions de :

- Bordj Bou Arreridj ; cueillie en Octobre et Décembre 1986.
- Ghardaïa, cueillie en Décembre 1986 et en Décembre 1987.

Les chromatogrammes correspondants sont présentés sur les figures 3 à 10.

# II.2.2. Tentative d'identification des constituants des huiles essentielles :

Pour identifier les constituants des huiles essentielles, nous avons utilisé la méthode des étalons. Les données bibliographiques (11) nous ent orienté dans le choix des étalons. Nous avons tracé dans les mêmes conditions opératoires les chromatogrammes de chacun des étalons. Ces derniers sont présentés sur les figures 11 à 22.

Nous avons comparé les temps de rétention des étalons à ceux des constituants des huiles. Dans les cas où les temps de rétention n'étaient pas exactement les mêmes, nous avons confirmé l'identification par la méthode des rajouts (fig.23 à 25).

L'interrêt d'utilisation des colonnes à phase stationnaires de polarité différentes est bien connu en chromatographie en phase gazeuse.

En effet, nous constatons une meilleure séparation sur colonne capillaire du cineol et du p-cymène, alors que sur la OV17 les pics de ces deux constituants ont été confondus.

De plus nous remarquons que le pic du constituant principal dans le chromatogramme de l'huile de Ghardaïa obtenu sur la colonne classique(OVI7) a été séparé en deux pics dans le chromatogramme obtenu sur la colonne capillaire(P.E.G.20M). Le pic de ce constituant apparaît aussi dans les

2372981

#### CHROMATOGRAMME DE L'HUILE ESSENTIELLE Fig: 3 DEBBA OCT SUR COLONNE OV 17

1030PT EVAL: PT= 517. PT EVAL: PT= 13. CHANNEL A INJECT 05/11/87 13:04:45 1.20.76 1.57 3.93 B 6.09 10.40 FILE 1. METHOD 0. RUN 12.51 3.62 PEAK# AREA% RT AREA BC 14.66 1 0.003 0.76 74 01 0.109 1.2 16.56 2584 01 3 0.17 1.57 4629 01 4 0.44 3.49 10434 02 5 4.084 3.93 96922 08 6 0.089 5.1 2121 96 20. *9*3. 33 13.209 6.09 313458 08 8 0.161 7.45 22. 61<sup>22</sup>. 19 3819 06 9 0.013 8.15 298 06 10 23.787 8.75 564455 02 23.76 11 9.555 9.87 226750 02 24.61 12 37.374 10.4 886384 08 13 1.912 12.51 45366 06 2.053 1.4 13.62 48718 06 27. 98<sup>27.</sup> 58 15 0.221 14.66 5252 06 16 0.352 15.57 8352 06 2.522 17 16.56 59852 06 18 0.99 17.73 23485 06 19 0.423 20.33 10033 06 20 1.657 20.93 39329 06 21 0.165 22.19 3911 06 22 0.581 22.61 13783 06 23 0.08 23.76 1891 06 24 0.048 24.61 1140 06 25 0.002 27.98 41. 97 TOTAL 100.

## DE B B A DEC SUR COLORISE OV 17

25:10:87

							50:10	. 0
*			FILE	1.	METHOD	9.	RUŅ 3	
			PEAK#		AREA%	RT	AREA	В
25:10:87 16:37:11	6.21		9 9 11 12 13 14 15 16 17 18 19 22 23 24 25 27 28		0.26 0.004 0.006 0.01 0.162 1.488 0.485 1.121 0.317 28.28 10.517 28.265 28.976 0.929 0.929 0.929 2.002 1.151 0.248 0.136 0.099	0.9 1.02 1.72 2.35 4.52 3.45 5.23 4.55 6.75 8.95 10.66 13.79 14.77 16.76 21.79 22.34 25.30 29.30	6937 102 161 , 259 4318 39652 221743 12897 12941 296435 8457 753838 273613 760093 26077 5753 15576 1852 5958 24759 88685 5465 53373 30669 5527 6617 3618 230	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
JECT			TOTAL		100.		2665597	
Ė			9 gr		7.62			
Œ		- 1	12.7	2.9		00 G 00 M		
HANNEL	E 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2		X3.41	Z 6. 76	<b>√ *</b> √	22.75 24.74 24.74	Ň	
() _				~				U
	INJECT 25:10:87 16:37:1	A INJECT 25:10:87 16:37:1	A INJECT 25:10:87 16:37:11 98 21 32 32 53 53 53	# INJECT 25:10:87 16:37:11  98 21 22 4.02 4.02  18 6.21  5.86  12.66 10.51  12.66 10.51  3.79 18.66 19.51  10.51  12.66 10.51	12.66 LO S. 25:10:87 16:37:11  4.02  5.21  5.22  12.66  10.51  10.51  10.51  10.51  10.51	PEAK# AREAX  1 0.26	PEAK# ARCAX RT  1	FILE 1. NETHOD 0. RUN 3  PEAK# ARCAX RT ARCA  1

			-
T	1	P:	2
440	177	Ð.	-

							25/	111/	'87
	FILE	1.	METHO	) <u>N</u>	0.	F	(UN	6	
	PEAK#		AREA%		RT		ЯF	REA	BC
8,92	1234567891011233456789101123345678910123345678921223223222222222222222222222222222222		1.016 0.054 0.058 0.184 0.184 0.183 0.083 0.083 0.083 0.461 0.463 0.473 0.473 0.473 0.473 0.473 0.615 0.095 0.095		9.9: 1.1: 1.4: 1.4: 1.5: 1.5: 1.5: 1.5: 1.5: 1.5: 1.5: 1.5	792955 4 425921 5254132871	15 16 52 46 20 13 26 13 26 13 24 27 41 41 41 41 41 41 41 41 41 41 41 41 41	108 338 336 336 355 163 726 299 315	022 022 022 022 022 022 022 022 023 023
	TOTAL		100.			3	26292	285	
	10.61 11.30 12.45	13,9513.52 14,94	15, 91 1 17, 83	28, 52	21.38	ម ស ស ស			69 '63

CHRINEL A

INJECT 26/11/87 08:18:57

000.

0.48.4

Fig: 6

### CHROMATOGRANDED DE L'HUILE ESSENTIELE

DE G.H. DEC. 1987 SUR COLON É C.V 17

PT EVAL: PT= 12.

CHANNEL A INJECT 24/12/19 15:57:21

7. 45 69. 11 2. 19 32 4.34 3.80 **>**5.59.453 7.39

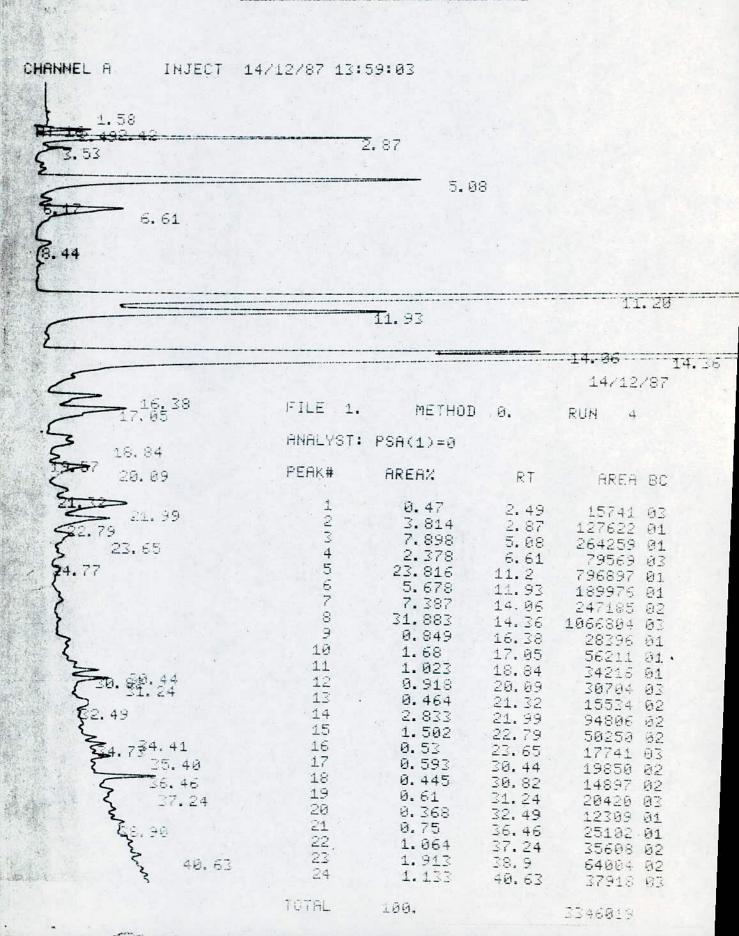
	The second				চি. টিট
5 10 00 /					
10.20	5551411	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·			
	PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
<b>(12.12</b>	200				
13.05	1	0.004	0.69	82	92
<b>/1</b> 3.75	2	0.009	0.87	162	65
	3	0.936	1.11	17827	02
15.45	. 4	0.73	1.45	13909	102
	5	0.611	2.19	11636	02
b 7 70	5	0.284	3.32	5417	02
7.32 17.85	7	0.808	3.8	15391	02
	8	1.302	4.34	24798	92
	8	0.303	5.53	5771	92
20.09	10	3.41	5.94	64955	02
	11	0.545	7.39	19382	92
) 22.24	12	76. 839	8.58	1463767	92
22.31	13	9,541	10.2	181757	92
	14	0.707	12.12	13475	02
(24.42	15	0.719	13.05	13699	92
	16	0.805	13, 75	15331	92
	17	0.091	15.45	1742	
	18	0.252	17.32	4798	92
	19	0.685	17.85	3051	02
	20	0.425	20.09	9089	03
	, 21	0.266	22.31	5058	02
	22	0. 200 0. 729	24. 42	13878	03
		0.143	24.42	13070	0.7
	TOTAL	100.		1904975	
	1-111-	·		12042	

Fig: 7 O THE AMEGRATE DE L'HUILE ESSENTIELLE

DE D D A COT. SUR COLONNE CAPILIAIRE

CHANNEL A INJECT 14/12/87 14:54:45 AZ 1 2.81 5. 91 65,53 . 38 11.35 13.99 14.26 14/12/87 16.36 FILE 1. METHOD 0. RUN 6 18.89 ANALYST: PSA(1)=0 29.97 PEAK# AREA% RT AREA BC 21.99 1 0.281 2.32 12677 02 2.89 23456 1.258 2.44 56766 02 2.81 5.459 246300 03 0.358 3.45 16164 01 0.33 4.27 14873 02 8.3 1.229 5.01. 374463 03 7 6.53 55462 02 8 1.496 6.71 67498 03 9 0.479 8.38 21623 01 22.388 10 11.12 1010051 02 21.916 11 11.85 988746 03 12 5.583 13.99 251866 02 22.723 14.26 13 1025150 03 14 0.996 16.36 44932 01 15 0.538 18.89 24263 01 0.608 20.07 16 27412 01 17 0.234 21.35 10550 02 18 1.399 21.99 63101 02 19 0.451 22.89 20330 03 20 0.258 30.12 11631 02 21 0.867 30.53 39107 02 22 2.589 31.17 116782 03 23 0.26 36.47 11740 01 TOTAL 100. 4511487

## fig: 8 CHRCHATOGRAMME DE L'HUILE ESSENTIELLE DE B B A DEC. SUR COLONNE CAPILAIRE



CHANNEL A INJECT 14/12/87 16:23:58

NO DATA, CHANNEL A

CHANNEL A . INJECT 14/12/87 16:24:04

AZ 1 1. \$\frac{1}{2}\frac{9}{6} 2.81<sup>2</sup>. 43 3. 49 5. 07 6. 60

11.90 14/12/87 14.42 FILE 1. METHOD 0. RUN 10 ANALYST: PSA(1)=0 PEAK# AREA% RT AREA BC 1 0. 1.29 20.17 01 2 0.22 1.89 11856 03 0.418 2.81 22572 01 4 0.623 3.49 33594 01 0.962 5. 97 51878 01 1.277 6.6 68888 01 7 83. 417 11.38 4499536 08 8 12.331 11.9 665137 05 9 0.498 14.42 26885 01 10 0.253 20.17 13664 01 TOTAL 100. 5394010

Pig; 10

DE OH 1987 SUR COLORDE CAPILLAINE

AT= 16.

CHANNEL A INJECT 14/12/87 15:38:25

AZ 1 71 1.97 <del>749 2.85</del> <del>7.51</del> <del>7.06</del> <del>7.06</del>

11, 5 11.95 15. 04 44 14/12/87 FILE 1. 0. RUN 7 METHOD 18.98 ANALYST: PSA(1)=0 PEAK# HREEN RT AREA BC 22. 97 3.01 0 212 2.49 10230 02 2 0.908 2.85 43862 02 23.78 0.932 3.51 45015 03 0.289 4.25 13988 02 5 2.483 5.06 119988 03 71.367 11.35 3448782 88 19.33 11.95 934113 05 8 2.658 14.44 128441 02 9 0.39€ 15.04 19126 03 10 0.596 18.98 28823 01 0.506 11 22.07 24475 '02 12 0.323 23.01 15594 03 TOTAL 100. 4832437 35.47

.75 .80

```
CHROMATOGRA LIE DE L'ETHANOL
Fig: 11
          SUR COLOUTE OV 17
```

CHANNEL A INJECT 24/12/19 16:31:25

24/12/19 16:31:25 CH= "A" PS= 1.

FILE 1. METHOD 0. RUN 6 INDEX 6 AREA% RT AREA BC

0.007 1 0.75 83 02 99.993 0.8 1218428 03

TOTAL 100. 1218511

#### CHROMATOGRAIGIE DE & - PINENE

1005PT EVAL: M= 13.

SUR COLONNE OV 17

34

CHANNEL R INJECT 05/11/87 14:41:23

2.94

05/11/87 14:41:23 CH= "A" PS= 1.

METHOD 0. RUN 6 INDEX 6 FILE 1. RT PEAK# AREA% AREA BC 0.109 9.58 3495 02 0.06 0.89 1930 02 0.343 1.26 11047 02 1685 02 0.052 2. 12 4.897 2.94 157636 02 94.539 3.6 3043103 03 TOTAL 3218896 100.

TOTAL 100. 3828590

5.61 33617 03

0,878

```
1013PT EVAL:
AT= 64
PT EVAL: Pig: 13
                    CHROMATOCPANTE DU P - CYMENE
                     SUR COLONIE OV 17
FT= 12.
CHANNEL A INJECT 26/11/87 09:40:47
         91
        7.15
                           26/11/87 09:40:47 CH= "A" PS= 1.
FILE 1. METHOD 0. RUN 8 INDEX 8
                           AREA-BC
PEAK#
     AREAX
                  RT
                    Ø. 7
           0.016
                             587 01
           2.709
                    0.92
                            98293 01
                          1887 02
           0.052
                    3.78
           0.139
                    4.11
                             5051 03
   5
           0.039
                    5. 01
                             1397 02
          97.03
                    5.97
                          3520484 08
           0.015
                    7.15
                             554 05
TOTAL 100.
                          3628253
CHANNEL A INJECT 05/11/87 14:18:30
   1.21 1839
                     CHROMATOGRAMME DU CINECL
                     SUR COLOUTE OV 17
   3.53
       4. 57
                           05/11/87 14:18:30 CH= "A" PS= 1.
FILE
     1. METHOD 0. RUN 4 INDEX 4
PEAK#
        AREA% ...
                    RT AREA BC
   1
           0.036
                    0.89
                             985 01
   2
           0.002
                    1.21
                              58 02
          0.292
                    1.39
                             8077 03
                             9333 01
          0.338
                    3.53
   5
           0.022
                    4.57
                             615 01
         99.31
                    6.2 2742890 01
TOTAL
       100.
                          2761958
```

1510263 03

2674147

```
CHROMATOGRAMME DU & TERPINEOL
HT = 64 SUR COLONIE OV 17
                                 Fig: 14
CHANNEL A INJECT 26:10:87 16:40:26
         1.19
     2.50
        · 3.69
      . 81
       5.89
                       7.56
                              25:10:87 15:40:26 | CH= "A" PS= 1.
FILE 0.
        METHUD 0.
                           RUN 2 INDEX 2
PEAK#
         - AREA%
                     RT AREA BC
    1
            1.114
                      4.19
                           31778 02
    23
            1.418
                      2,5
                              48475 82
           0.56
                      3.69
                              15973 02
            3.089
                      4, 81
                              88155 92
    5
            2.16
                      5.89
                              61652 02
           91.659
                      7.55
                            2615787 NR
TOTAL 100.
                            2853820
  1012PT EVAL:
PT= 121.
                     CHROMATOGRADAE DU BORNEOL
PT EVAL:
                     SUR COLONNE OV 17
PT= 12.
CHANNEL A INJECT 18/11/87 12:07:30
   1.93
                                 PEAK#
                                           AREA%
                                                       RT
                                                                AREA BC
   4.17
                                                        Ø. 71
                                             0.002
   5.69 5.21
                                            42.946
                                                        Ø. 81
                                                              1148442 08
                                            0.023
                                                        1.21
                                                                  616 05
        6. 61
                                             Ø.
                                                        1.93
                                                                  1 05
                                             0.021
                                                        3.77
   3.19
                                                                  569 02
                                             0.028
                                                       4.17
                                             0.02
                                                       5.21
                                                                 529 02
                                     S
                                             0.171
                                                       5.69
                                                                 4578 02
                                     9
                                             0.13
                                                       6.61
                                                                 3489 02
                                    10
                                             0.182
                                                                4862 82
                                            56.476
                                                       9.83
```

TOTAL

100.

PT= 19.	984				38
PT EVAL: PT= 15.	OHRCHATOGRAMM	E DU MERAL			
1005PT EVAL: PT= 12.	SUR COLONNE	OV 17	Fig: 15		
P1= 12,		PĒRK#	AREA%	RT	AREA BC
CHANNEL A INJECT  85 .74.01  2.61 3.89  5.51 6.50  9.01 8.50  10.79  13.51  15.22  16.25  17.37	12.65	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21	0.029 0.003 3.339 0.024 0.009 0.039 0.491 0.139 0.382 0.787 1.242 1.06 49.501 30.385 1.974 2.607 3.324 0.051	0.73 0.85 1.01 2.61 3.11 3.89 5.5 6.5 9.21 10.79 11.67 11.99 12.65 13.51 14.63 15.25 17.37 18.23	23296 02 21059 02 17970 02 839390 02 515244 02 33470 02 44205 02
PT EVAL: PT= 12.  CHARNEL A INJEC	CT 05/11/87	13:47:30			91
	CLIBON A MOOREA	Maria Terration			
	CHROMATOGRA SUR COLONNE		HKE		
4. 25 6. 15 8. 41		3. 11			
9, 17	4	PEAK#	AREA%	RT	ÀREA BC
12.37 13.99 15.37	10.	42 1 2 3 4 5 6 7 8 9	44.618 0.177 0.041 0.294 1.05 53.5 0.186 0.013 0.115 0.006	9.91 4.25 6.15 8.41 9.17 10.42 12.37 13.99 15.37 20.65	1007040 01 3996 01 921 01 6641 02 23691 02 1207513 03 4200 01 284 01 2604 01 142 03
20.65		TOTAL	100.		2257032

Same of

Fig: 16

TOTAL 100.

CHANNEL A INJECT 19/12/87 09:42:14 19/12/87 09:42:14 CH= "A" PS= 1. FILE 1. METHOD 0. RUN 2 INDEX 2 PEAK# AREAZ RT AREA BC 0.022 1.57 99.978 1.82 455 01 1.82 2023795 01 TOTAL 100. 2024250 CHROMATOGRAPHE DE & - PINENE SUR COLONNE CAPILIATRE CHANNEL A INJECT 16/12/87 11:51:52 2.85 16/12/87 11:51:52 CH= "A" PS= 1. FILE 1. METHOD 0. RUN 8 INDEX 8 PEAK# AREA% RT AREA BC 99.453 2.48 1668836 08 0.547 2.85 9173 05 99.453

1678009

CHROMATOGRAPHE DU CAMPHENE Fig: 17 SUR COLOMIE CAPILLAIRE

CHANNEL A INJECT 16/12/87 11:14:27

5.09

1.55 2.47 2.85

16/12/87 11:14:27 CH= "A" PS= 1.

. 6

FILE 1	. METHOD	0.	RUN 6	INDEX
PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC ,
1 2 3 4	13.309 0.468 84.581 1.642	1.55 2,47 2.85 5.09	410354 14426 2607797 50632	02 03
TOTAL	100.		3083209	

#### CHROLATOGRAPME DU A - PINETE SUR COLONNE CAPILLAIRE

CHANNEL A INJECT 16/12/87 12:00:21

		2.51	2 %		719
2, 03				3.37	
4.25 5.0 <sup>u</sup>	PEAK#	AREAX	RT	AREA	BC.
\$	1	9.71	2.51	143697	08
(	2. 1	1.075	2.89	15909	05
	30.0	86.789	3.37	1283167	31
	4	0.505	4.25	7478	01
	5	2.001	5.04	29611	Ð1
	TOTAL	100.		1479862	

Fig: 16 C.RO. ATOGRAILE DU CIMBOL
SUR COLONNE CAFILIAIRE

CHANNEL A INJECT 16/12/87 10:53:02 1.58 2.49

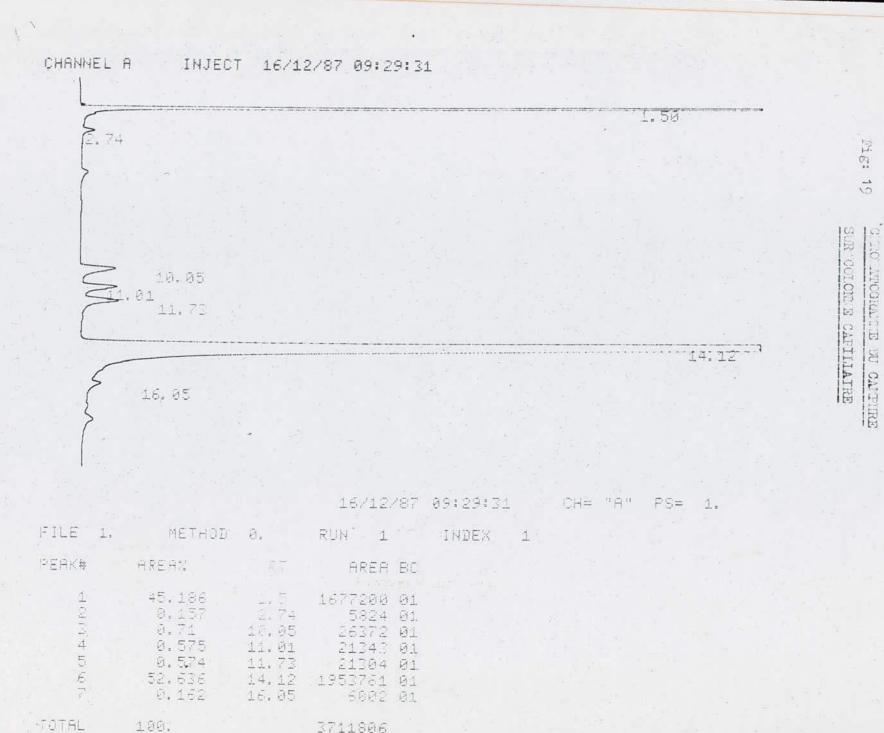
	***			1 12
PEAK#	AREA%	RT	AREA	BC
1 2 3	0.109 0.254 99.636	1.58 2.49 5.03	1397 3251 1273443	01
TOTAL	100.		1278091	

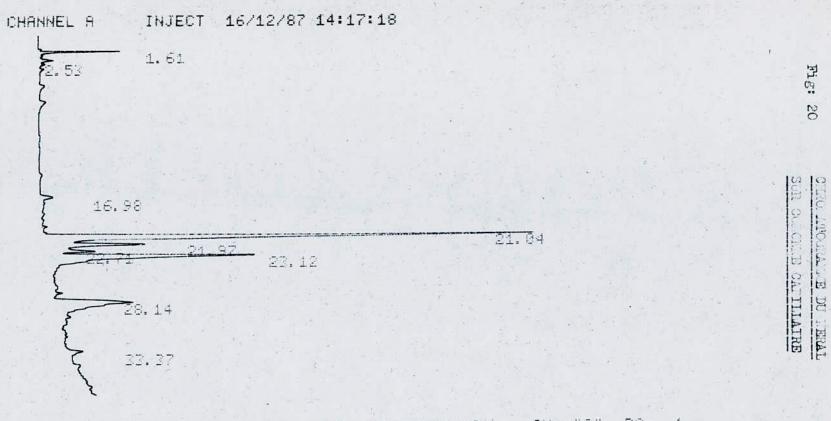
#### CHROLATOGRAMME DU P - CYMENE SUR COLONNE CAPILLAIRE

CHANNEL A, INJECT 16/12/87 11:33:37

2.89 5.10

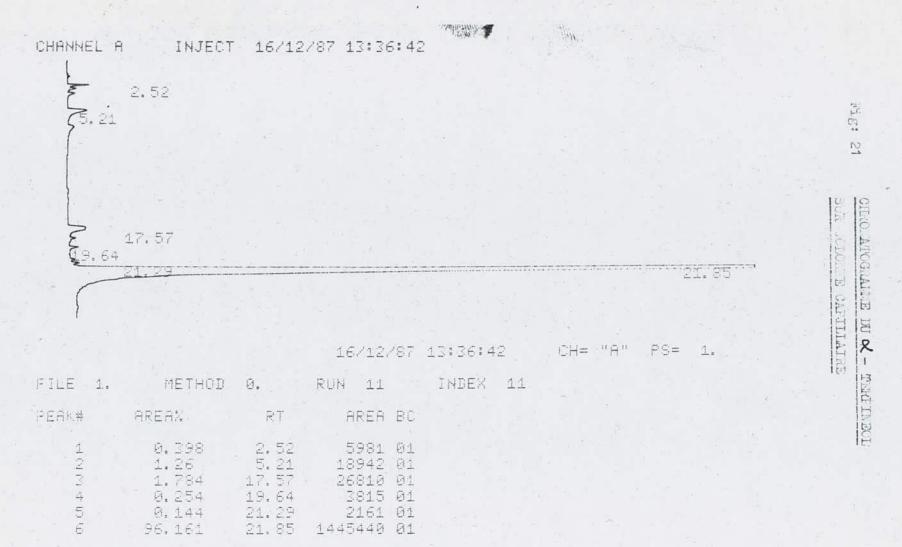
			6.53	
PEAK#	AREÁ%	RT	AREA BC	
1 2 3 4 5	0.093 • 0.081 2.039 2.824 94.963	1.34 1.59 2.89 5.1 6.53	1271 01 1116 01 27956 01 38713 01 1302020 01	
TOTAL	100.		1371076	





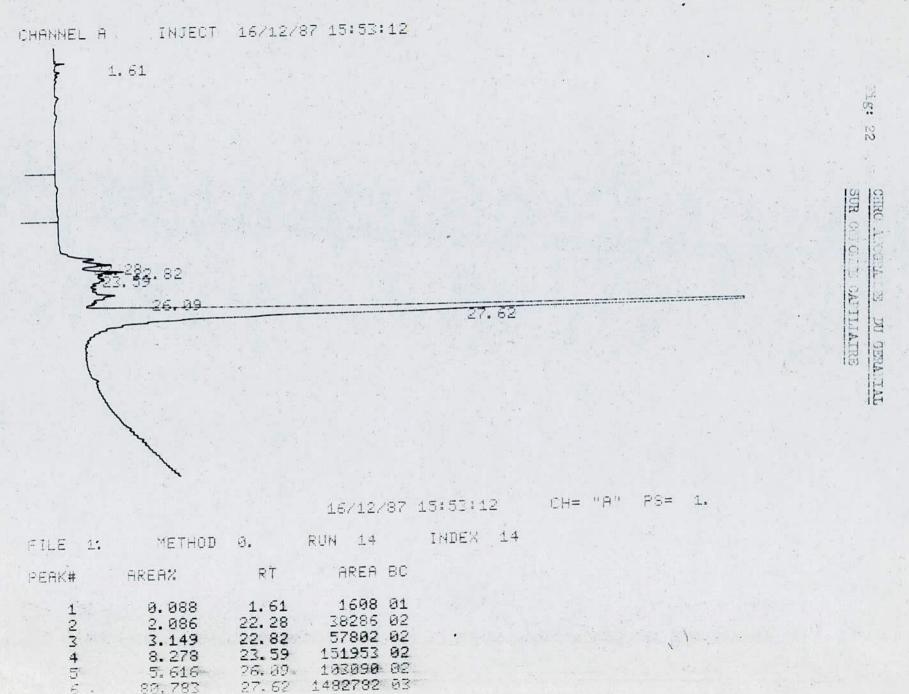
			16/12/87	14:17:18	CH=	"A" - PS=	1.
FILE 1.	METHOD	0.	RUN 12	INDEX 12			
PEAK#	AREA%	RT	AREA BO				
407456709	2.366 0.536 1.211 48.54 6.197 1.875 19.9 18.129 1.146	1.61 2.53 16.98 21.94 21.97 22.71 23.12 28.14 33.37	18623 0: 5005 0: 9534 0: 382068 0: 48778 0: 14757 0: 156634 0: 142692 0: 9023 0:				

0.000



1507149

TOTAL 100.



247656

#### CHAC. APOGRAIME DE L'HUILE ESSETTIBLE

Fig: 23

#### DE CH DOC 1986 + CAMPERE + P-CY ENE + CH AL

#### SUR OV 17

1023PT EVAL: PT= 12: 1024

CHANNEL A INJECT 1.66 2.20 2.25 2.79 4.31 5.88 01:33:00

<u> </u>				
\$ 18.21			# <b>*</b>	AREA BO
(10.77	PEAK#	HREAX	ET.	n236
£1.89 <sup>11.59</sup>	1	0.003	0.69	63 81
<b>(</b> 3, 46 12, 93	2	1.274	1. 2	31411 58 4611 65
14.16		0.187 0.11	2. 4 3. 45 3. 45	2714 62
<b>[4.</b> 97 15.60	5	6.184	3.79	4552 92
	6	0.469	4.31	11580 02
(17.21	Y	0.463 6.372	5. 2 5. 88	157425 08
	9	0.575	7.21	16684 06
10 00		78.899	8.57	1949242 02 58977 02
20.79 19.99	11 12	2.387 0.838	10.21	58977 02 20702 02
22.45 21.88	13	0.371	11.59	9175 02
LL. TU	14	0.344	11.89	9508 02
23.59 24.55	15	1.268 0.652	12.93	31331 02 16099 02
25.83 <sup>25</sup> .27	16 17	1.276	14.16	31528 -02
20.83	18	0.14	14.97	3457 02
	19	0.185	15.6	4564 02 61060 03
28.36	20 21	2.471 0.087	17.21	2153 02
	22	0.68	20.79	16799 62
		0.274	24. 98 22. 45	6780 82 5217 82
	24 25	0.011	23.55	1529 02
	26	0.023	24.55	557 63
	27	0.053	25, 27	1315 03
	28	0.044	25.83	그만, 그 친구

TOTAL 100.

```
CHROMATOGRA: E DE L'HUTLE ESSETTELLE

DE B B A DIX + I-CYLERE + MEAL + BORTECL

DUR OV 17

PT= 12.

1022PT EVAL:
PT= 12.
```

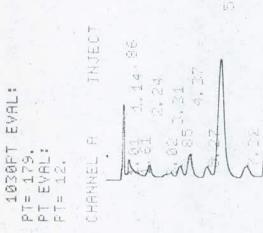
PT= 12.  CHANNEL H. INJECT	02:53:36			
7. 28 8. 52		A A	94	. 89
			15.21	2
11.59	PERK#	AREAZ	RT.	AREA BO
13.75 14.85 15.45 16.50 17.59 24.60 25.88 29.00 30.02	123456789014214567891223 101421456789	0.025 0.206 0.33	0.87777488219 555 977 8.877745.555 977 8.8778.45.5548.68 1123.45.548.68 2.878.68 123.45.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.878.68 2.078 2.0788 2.0788 2.0788 2.	254 81 452814 01 4202 03 35325 08 4863 08 496448 08 497543 08 498491 03 18521 03 18521 03 53741 03 5384 03 16444 63 14764 03 11717 01 4764 03 11876 03

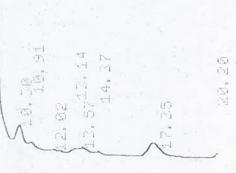
Fig: 25

# DI CH 1986 + CITTLE

SUL SV 17

	PEAK#	AREA%	RT.	AREA (	BC
T T T T T T T T T T T T T T T T T T T	1234557898112345678981112345678981	8.0546617 8.0546617 8.0546617 8.1697 8.16537 8.16537 8.1588 1.5887 8.15887 8.16887 8.16887 8.16887	0.81 1.62 0.83 1.62 0.83 1.83 1.83 1.83 1.83 1.83 1.83 1.83 1	1158 1295 2913 9576 1552 1705 9135 19624 9590 118973 12664 44401 21128 12098 12794 4718 12213	3222322222222222222222 3003322222222222
(A)	TOTAL	100.		2202898	
8 5					





chromatogrammes des huiles de Bordj Bou Arreridj.

Ne disposons pas d'étalon, dont le temps de rétention est identique à celui de ce pic nous avons tenté à l'identifier par voie chimique.

En se basant sur les données bibliographiques (11), citant la thuyone et son diastereoisomère l'isothuyone parmi les constituants majoritaires des huiles essentielles du genre Artemisia, nous avons supposé qu'il s'agit probablement de ces composés. Ceux sont des cetones terpéniques, dérivées du camphane. Notons au passage que la thuyone est un poison puissant du système nerveux (37).

Pour l'isoler de l'huile essentielle de Ghardaïa, nous avons utilisé la propriété des cétones de former des produits cristallins avec le bisulfite de sodium selon la réaction

$$c = 0 + \text{NaHSO}_3 \longrightarrow c < \frac{\text{OH}}{\text{SO}_3 \text{Na}}$$

Ces produits traités en milieu acide ou basique se décomposent en libérant la cétone.

$$C = 0 + SO_3^2 + H_2O + Na$$

$$C = 0 + SO_2 + H_2O + Na$$

$$C = 0 + SO_2 + H_2O + Na$$

Ces réactions sont utilisées en chimie organique pour isoler les cétones mélangées à d'autres composés (38).

Nous avons traité l'huile essentielle de Ghardaïa 1986 par une solution aqueuse saturée de bisulfite de sodium. Dix jours aprés nous avons observé la formation des cristaux incolores. Les cristaux isolés, rincés à l'éthanol, puis à l'éther ont été traités par une solution

aqueuse de soude. La phase organique recueillie a été chromatographiée sur la colonne OV.17. Le chromatogramme présente deux pics
dont les temps de rétention correspondant effectivement à ceux du camphre et du constituant non identifié (un seul pic dans le chromatogramme sur OV.17) (fig.26).

Nous avons ensuite examiné le chromatogramme de l'huile résiduelle, et constate une diminution du pourcentage relatif du pic principal. (fig. 27).

La quantité du mélange du camphre et du constituant non identifié étant insuffisante nous n'avons pas pu procéder à une séparation ultérieure qui aurait pu permettre éventuellement l'identification de ce composé par la mesure de ces constantes physiques ou spectrales.

Pour cerner encore mieux le problème d'identification du constituant principal de l'huile de Ghardaïa, nous avons réussi à identifier les composés dont les pics dans le chromatogramme de l'huile se trouvent immédiatement avant et aprés le pic du constituant majoritaire(fig.28). Il s'agit de la fenchone et du camphre. Ces deux composés et la thuyone sont des isomères de squelette, de formule brute  $C_{10}^{H}_{15}^{O}$  et de masse moléculaire égale à 152,24. Leur températures d'ébullition sont les suivantes :

fenchone: 193°C

thuyone: 201°C

camphre : 209°C (39).

A notre avis il est fort probable que ces composés aient des temps de rétention évoluant dans l'ordre de leurs température d'ébullition.

Nous considérons ces faits comme un appui à l'hypothèse que le constituant principal de l'huile de Ghardaïa soit la thuyone.

CHANNEL A THIEDT - 344 84:21 1.13 18.71 18.25

FILE 1. METHOD 0. RUN 6 INDEX 6 PEAK# AREAX RT AREA BC 48.18 1.13 10349 01 -42.663 8.71 9164 02 9.157 10.25 1967 03 TOTAL 100.

Jig: 27

## SING AROUNDEDE L'UNILE COMPTIME

RECOUNTED DE CH DEC 1086

SUL CV 17

PT= 12. AT= 16 CS= 0.5

CHANNEL A PINGEOT 08:51:38

192

					5E)
10.15	PERK#	HREHM.	RT	FIRE	
1.83 <sub>12.36</sub> 2.90 <sub>13.38</sub> 4.21 4.21 45.43 <sup>14.89</sup> 17.29 20.69 21.75 22.36	12345678901123456 11123456	2.383 0.976 0.976 0.968 0.138 0.485 3.369 0.654 60.777 4.978 0.384 0.747 1.233 0.447	0.92 2.47 2.49 2.77 2.33 4.13 4.13 4.13 4.13 4.13 12 13 14 14 14	1871 1816 1665 9213 3291 11953 82998 16118 1990_43 122637 14673 9469 18484 36367	51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 5
25.64	17 18 19 20 31 22 23 24 25 26	8.133 8.162 1.774 8.849 8.469 8.232 8.183 8.861 8.838	14. 89 15. 43 17. 29 20. 69 21. 75 22. 36 24. 36 24. 36 25. 64	3980 .42695 .1197 .11542 .5728 .4497 .1513	800 800 800 800 800 800 800 800 800 800
	TOTAL	100.		12-63742	

CIRCANCA DE L'AUTE SOCIATIONE Tig: 28 DE GH + TOMOLE SUR CCLOP E CIFILLING CHANNEL A INJECT 14/12/87 17:21:38 3. 51 5.17 14.49 18.98 CH= "A" PS= 1. 14/12/87 17:21:38 FILE 1. METHOD 0. RUN 11 INDEX 11 ANALYST: PSA(1)=0 PEAK# AREA% RT HREA BC 9.568 2.94 24921 01 2345 0.412 1.796 34.724 3.61 5.17 10.34 18088 01 78768 03 1522843 01 47.268 13.343 11.38 11.99 2072972 08 585178 05 6 78 1.501 0.388 14.49

65818 01

17016 01

4385604

18.98

TOTAL

100.

### II.2.3. Résultats et Discussion:

Les résultats d'idenficitation des constituants principaux des huiles essentielles sont présentés dans le tableau 4.

Constituant Formule chimique	Formule	Pourcentage relatif dans l'huile essentielle				
	BBA Oct.	BBA Déc.	GH Déc.86	GH Déc.8		
ethanol	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH	0,109	0,004	0,002	0,009	
≪ _pinène		0,440	1,488	0,085	0,284	
Camphène	<b>X</b>	4,084	8,319	0,441	0,808	
<b>B</b> -pinène	\$	0,358	0,484	0,354	1,302	
p-cypène**	Q	8,300	7,898	0,962	2,483	
cineol 1,8**		1,229	2,378	1,277	∠ 0,212	
x-terpinoel	\$ OH	0,161	0,317	0,809	0 <b>,</b> 545	
non identifié		23,787	28,280	85,792	76 <b>,</b> 839	
borneol	Фон	9,555	10,265	0,000	0,000	
camphre	Φ.,	37,374	28,515	2,607	9,541	
neral	SicHo	1,912	0,918	0,327	0,707	
geranial	<b>СНО</b>	2,053	0,216	1,986	0,719	

Tableau 4 : principaux constituants des huiles essentielles d'Artemisia Harba-Alba Asso, de période et des lieux de végétation différents.

<sup>\*</sup> les pourcentages relatifs sont ceux des chromatogrammes obtenus sur OV.17.

<sup>\*\*</sup> les pourcentages relatifs sont ceux des chromatogrammes obtenus sur colonne capillaire.

Les résultats du tableau 4 montrent que l'huile essentielle d'Artemisia herba-Alba Asso, quelque soit la période et le lieu de végétation, est constituée principalement des dérivées de camphane (camphre, camphène, bornéol) et de thuyone (thuyone).

Les dérivés du pinane (de pinène, \beta-pinène) se trouvent en faible proportion. Ces constatations sont en accord avec les résultats cités dans la litterature (11).

D'autre part l'allure des chromatogrammes des huiles essentielles extraites de la plante d'une même région (Bordj Bou Arreridj), cueillie à des périodes différentes : Août(24), Octobre et Décembre 1986 est presque identique. Ceci est une indication de la faible variation de la composition quantitative de l'huile essentielle au cours de l'évolution végétative de la plante.

Par contre la variation de la composition quantitative de l'huile essentielle en fonction du lieu de développement de la plante est trés importante. Ainsi le constituant principal de l'huile de Bordj Bou - Arreridj est le camphre, alors que celui de l'huile de Ghardaïa est probablement la thuyone.

A notre avis les variations observées sont dûes apparement au fait que dans ces deux régions de notre pays le climat et éventuellement la nature du sol sont trés différents.

APPROCHE A L'ETUDE DES EXTRAITS PAR SOLVANTS ORGANIQUES
D'ARTEMISIA HERBA-ALBA ASSO.

Approche à l'étude des extraits par solvants organique d'Artemisia herba-Alba-Asso.

Nous avons entamé cette partie de notre travail afin d'obtenir une idée de la sélectivité des solvants organiques vis-à-vis de certaines classes de composés que contient l'Artemisia herba-alba. Asso. Ce n'est qu'un essai préliminaire, mais ses résultats peuvent servir de base d'une étude approfondie de la composition chimique des extraits, laquelle viserait éventuellement l'isolation d'un des principes actives de la plante.

#### I. TECHNIQUES D'ISOLEMENT ET D'ANALYSE UTILISEES :

#### I.1. Extraction par solvant:

L'extraction est l'une des plus anciennes opérations chimiques, que l'homme à utilisé.

Préparer du café ou du thé, par exemple, implique l'extraction de la cafeine et d'ingredients de saveur et d'arômes par l'eau chaude. De même les solvents organiques sont communement utilisés pour extraire à partir des produits naturel s leurs principes actifs ou arômes (40).

Le principe de l'extraction des végétaux par solvants est simple : le solvant pénètre le tissu végétal et dissout les substances organiques.

Le choix du solvant pour l'extraction est important, un bon solvant doit extraire aisement l'ensemble des constituants de la plante désirés. Il doit posséder donc une bonne pénétration cellulaire et être sélèctif. Il doit être chimiquement inerte à l'égard des constituants extraits, peu altérable, non inflammable et non toxique (41).

Etant donné que l'extraction est liée à la diffusion du solvant dans le tissu végétal, elle dépend de la surface et du temps de contact entre le solvant et la matière végétale.

En chimie des substances naturelles l'extration est trés souvent réalisée dans l'appreil de soxlet, lequel assure un passage continu du solvant à travers la matière végétale. Une méthode d'extraction plus simple consiste à chauffer à reflux le solide avec le solvant qui extrait la substance désirée. Mais lorsque la substance craint la chaleur les méthodes d'extraction préconisées sont la maceration et la percolation.

La percolation consiste à placer le solide à extraire dans un récipient ayant une sortie et de le couvrir de solvant. Après un certain temps de contact, le solvant chargé en substance est évacué du récipient par petites portions et en même temps des portions du solvant frais sont introduites. L'opération continue jusqu'à épuisement du solide (pharmacopée française 1972).

La macération consiste à tremper les parties du végétal à extraire dans un solvant approprié pendant très longtemps; une demi journée à quinze jours (42). Le solvent est ensuite séparé par décantation.

Nous avons choisi la macération, étant donné que cette technique d'extraction est efficace et facile à réaliser.

#### I.2. Spectroscopie infrarouge: (43,44).

Le principe de la spectroscopie infrarouge est l'intéraction des ondes électromagnétiques de longueurs 2,5u à 15u ( de 4000 à 650cm<sup>-1</sup>) avec la matière. Une molécule qui absorbe l'énergie fournie par une radiation électromagnétique peut subir plusieurs types d'excitation et chacun d'eux exige une quantité discrete d'énergie. En consequence une radiation de fréquence particulière et bien définie est absorbée pour chaque transition. Ainsi lorsqu'une molécule absorbe un rayonnement électromagnétique dans le domaine de l'infra-rouge, ce dernier provoque l'augmentation de l'amplitude des mouvements vibrationnels de deux types : celles dites de valence, dans l'axe joignant les atômes et celles de déformation. Le retour de la molécule à l'état fondamental libère cette énergie sous forme de chaleur.

Chaque catégorie d'atomes présente une masse différente et chaque type de liaison possède une constante de force caractéristique et spécifique qui est pratiquement indépendante des autres atomes liés à ceux qui forment cette liaison. Il en résulte qu'une combinaison particulière des masses atomiques et des constantes de force constitueun résonateur, qui vibrera à fréquence donnée, lorsque la molécule absorbera l'énergie

électromagnétique incidente.

Ceci se traduit en apparition des bandes d'absorption au cours de l'enregistrement du spectre.

Un spectre infrarouge représente la variation de la transmission en fonction du nombre d'ondes, la transmission étant définie comme le rapport d'intensité du faises au transmis et celle du faisceau incident, exprimée en %.

Les spectres infra rouges peuvent être obtenus à partir des composés gazeux, solides, liquides purs ou en solution. L'échantillon à analyser doit être sec car l'eau absorbe beaucoup dans la région 3710 à 1330 cm<sup>-1</sup>.

Le spectre d'un échantillon solide peut être déterminé en pastille de KBr. L'échantillon de Bromure de potassium dans des proportions bien déterminées sont mélangés et broyés finement. La poudre obtenu est mise sous pression pour en préparer une pastille trés fine et bien transparente. La pastille est en fait une "solution" à l'état solide du produit dans KBr. Comme ce dernier n'absorbe pas dans le domaine de l'infra rouge, le spectre enregistré est celui du produit analysé.

L'interprétation d'un spectre infra rouge consiste à attribuer chaque absorption d'énergie à la présence de caractéristiques structurales particulières dans la molécule. Les données fournies par les spectres d'absorption, bien que fort utiles, ne sont pas toujours suffisantes pour permetre une détermination correcte et complète de la structure des molécules étudiées. Elles sont en fait utilisées la plupart des cas conjointement avec des résultats d'origine purement chimique.

#### II. PARTIE EXPERIMENTALE :

#### II.1. Maceration:

Nous avons soumis à la maderation des échantillons d'Artemisia herba-alba Asso, cueillie en Décembre 1986 dans les régions respectivement de Bordj Bou Arreridj Bousâada et Ghardaïa. Les résultats des travaux antérieurs nous ont orienté dans le choix des solvants. Ainsi nous avons utilisé l'ether de pétrole (Teb 40-60°C), le chloroforme et l'éthanol.

10g de chacun des échantillons grossièrement broyés sont trempés dans l'ether de pétrole. Dix jours aprés, le solvant est séparé de la plante par décantation. Le même échantillon de la plante est maceré pendant 10 jours dans le chloroforme, puis dans l'ethanol.

Les solvants récupérés sont évaporés à la température ambiante.

#### II.2. Analyse par spectroscopie infrarcuge :

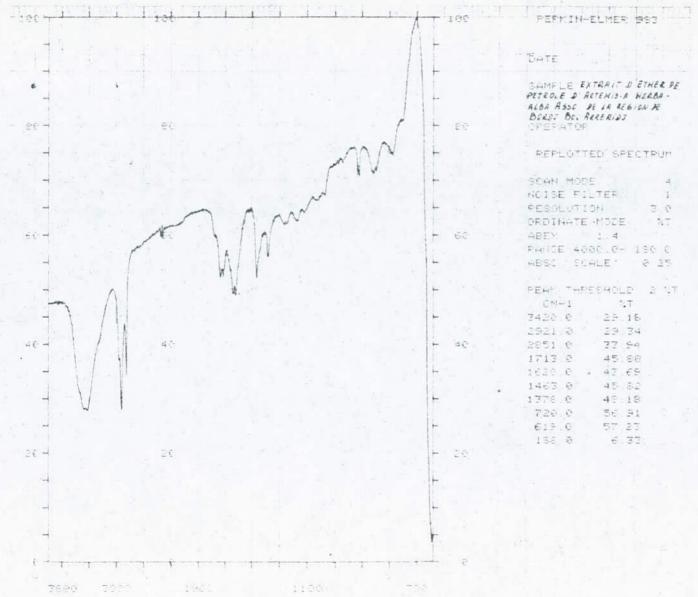
Nous avons analysé les extraits obtenus par leur solvants respectifs en pastilles de KBr, à l'aide d'un appareil PERKIN ELMER.

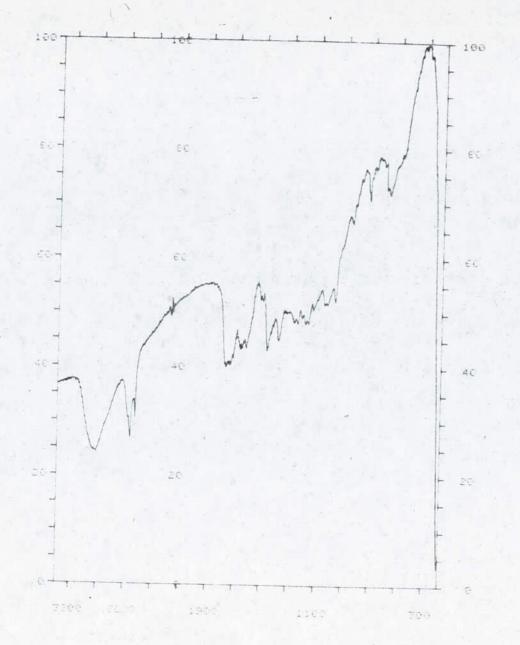
Les spectres obtenus sont montrés au figures 29 à 37.

## II.3. Résultats et interprétation :

Pour faciliter l'interprétation des spectres infra rouges, nous avons regroupé les résultats d'analyse dans le tableau suivant.

29.





PERKIN-ELMER 983

DHITE

SHMPLE EXTRAIT DE CHICROFORME D'ARTEMISIA HERBA-ALON ASSO DE LA REGION DE BREDT DON RERE-DEERHTOR REDT

OE.

REPLOTTED SPECTRUM

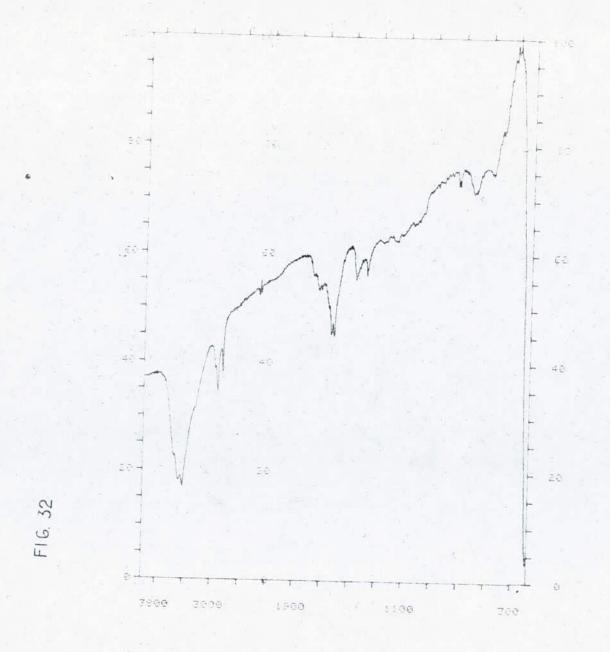
SCAH MODE 4
NOISE FILTER 1
RESOLUTION 5 0
OFDINATE MODE 11
ABEX 1 6
PHNGE 4000 0- 150.0
ABSC. SCALE 8 25

PEAR THRESHOLD 2 :-CM-1 · . T 3417(6 29 73 2919.0 31.72 2851 0 74 40 1769 0 46 77 1660.C 42.81 1463 0 +2.75 1279.0 47.85 721.0 58.34 574 € 59.87

TI

0

W



2550 1 H-ELMER 933 :

DATE -

PETROLE D'ARTEMIS A MERGO ALGARINE DE LA REGION DE BOUSANDA

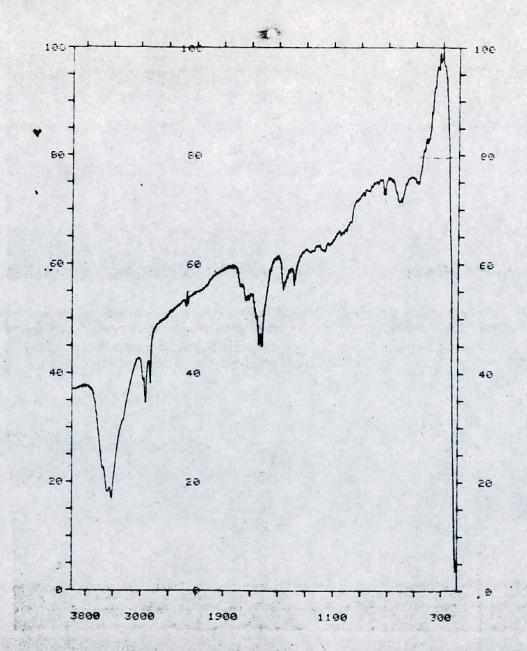
CREMATOR

PEPLOTTED SPECTRUM

SSHI MODE	4
WITTER FILTER	7
PESCLUTION	3.8
GROINATE MODE	2.7
9BEX 1.5	
EHHGE 4000 0-	
HESE STALE	9.05

PEHK THE	EEHOLD 2 1.T
CM-1	NT
3416 0	
3321.0	37 38
2549.0	39 9E
1919.0	44.61
1467 6	51 32
518 0	60.75
100 5	6.71

FIG. 32



PERKIN-ELMER 983 .

DATE

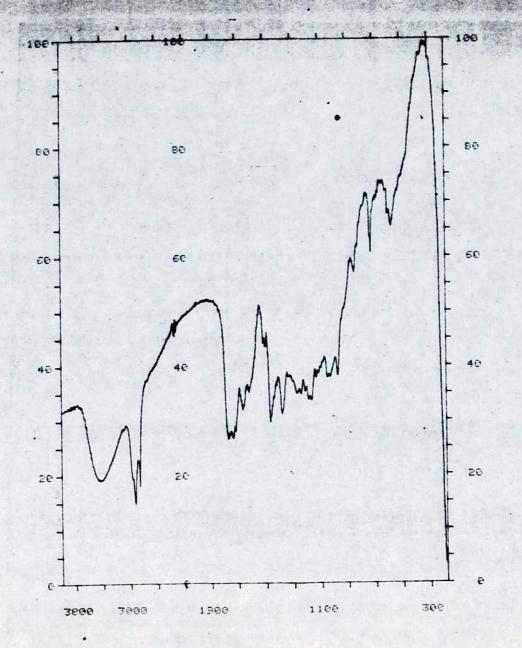
SHMPLE EXTRAIT D'ETHER DE PETROLE D'ARTEMISIA MERSO MED ACON REO DE LA REGION DE BOUSÂNDA

OPERATOR

REPLOTTED SPECTRUM

SCAN MODE	4
HOISE FILTER	1
RESOLUTION	3.0
ORDINATE MODE	%T
ABEX 1.5	100
RANGE 4000.0-	180.0
ABSC. SCALE	9.25

PEAK T	HRESHOLD	2 %T
CM-1	%1	
3416.0	23.3	2 .
2921.0	37.3	0
2849.0	39 9	8
1619.0	44.6	1
1463.6	51.2	2
618.8	69.7	9
189 0	8.3	1



#### PERKIN-ELMER 983

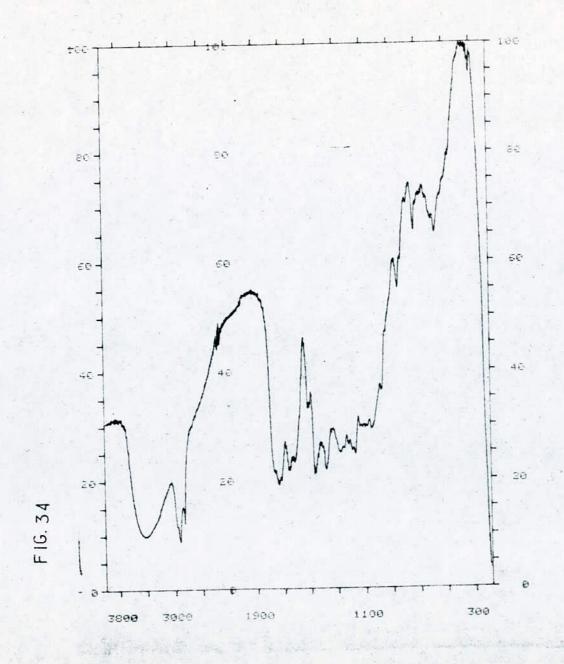
#### DATE

	TRAIT DE CHLOROFORME HERBA-MLBA ASSO
DE LA REGION	ME BOUSARDA
OPERATOR	

REPLOTTED SPECTRUM

# 6. 3.

SCAN MODE	E	4
HOISE FIL	TER	1
RESOLUTIO	OH .	3.0
DEDINATE	MODE	%T -
ABEX	1.6	
RANGE 46	20.0- 1	90.0
ABSC. SC	ALE	0.25
	200	
PEAK THR		
CM-1		
3421.0	23.33	
2917.0	19.88	
2856.0	22.60	
1769.0	28.€	5
1660.6	32.15	5
1463.0	30.75	5
1378.0	31.68	3
1163.0	33.2	4
1047.0	35.83	3
720.0	48.1	2
570.0	50.4	3



PERKIN-ELMER 993

DHIE

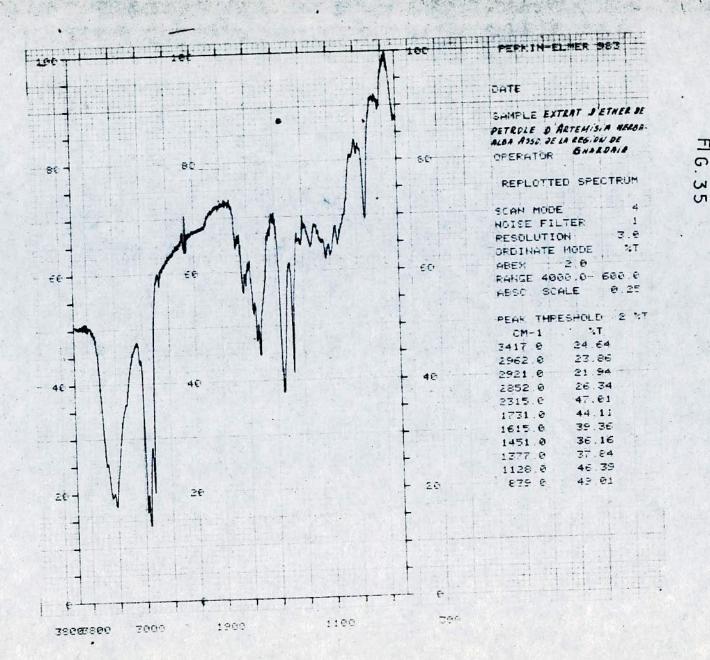
SHMPLE EXTRAIT D'ETHANOL D'ARTEMIS A MELBA ALBA ASSO DE LA REGION DE BOUSARDA

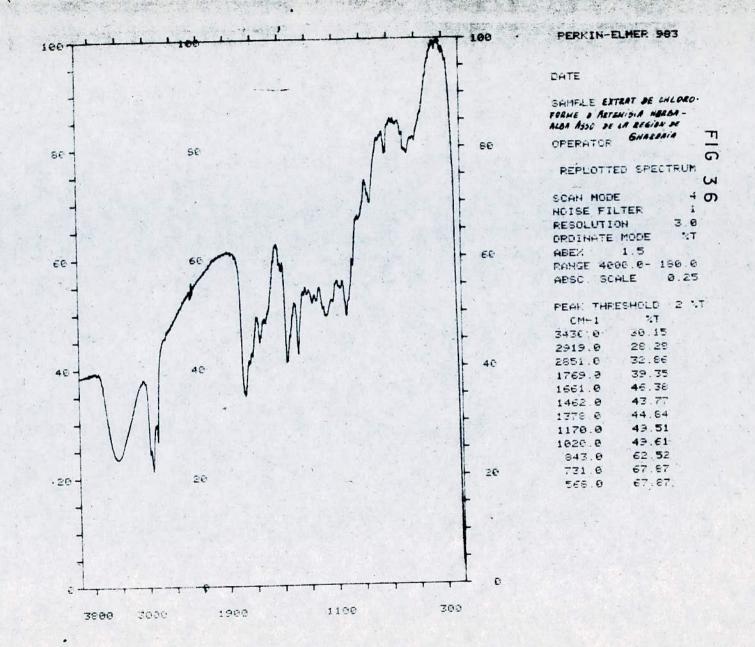
OPERATOR

REPLOTIED SPECTRUM

SCAN MODE	4
HOISE FILTER	1
RESOLUTION	3.0
ORDINATE MODE	1.T
ABEX 2.5	
RANGE 4000.0-	186.6
ADRC SCALE	9 25

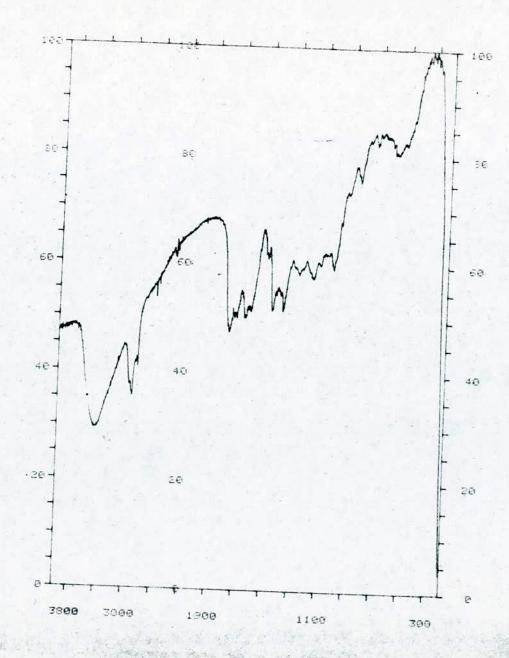
PEAK T	THEE	HOL	D	2	ът.
CM-	1		T		
3429.6	3	26.	81		
2921.6	9	25.	64		
2851.6	3	29.	22		
1731.	a .	34	99		
1656.	a -	3E.	84		
1463.	9	35	38		
1377	a	36	97		
1163.	0	38	79		
844	9	53	51.		
722.	9	57	.40		
568	0	57	21		





37

F 1 G



PERMIN-ELMER SHE

CHTE

SAMPLE EXTRAIT D'ETHANGL D'ARTEUISIA HERBA ALBA ASSO DE LA REGION DE GHARDAIA OPERATOR

REPLOTTED, SPECTRUM

SCAN MODE .	4
NOISE FILTER	1
RESOLUTION	
	3.9
DEDINATE MODE	. +
ABEX 1 4	
FANGE 4000.0-	180 6
ABSC. SCALE	0.35

PEAK THE	ESHOLD 2	. 1
CM-1	*.7	
3444.0	30.56	
2923 0	34, 39	
1766.0	43.06	
1550.0	44.82	
1453.0	45.68	
1394.6	45.69	
1170.0	49.51	
597.0	62.98	
183.0	6.73	

PROPERTY LTD. 1900 WARE BLYKET DEBLUCY CHET

							-		
SOLVANT	ETHER	ETHER DE PETROLE	)LE	CHLOROFORME	FORME		ETHANOL	70	
Echantillon Groupement fonctionnel	BBA	BOU	CH	BBA	BOU	CH.	BBA	BOU	Æ
H0 -	3420	3416	3417	3417	3421	3430	3400	3429	3444
С- Н Эая	2921	2921	2921	2919	2917	2919	2923	2921	2923
- CH2 ; CH3 PS	2851	2849	2852	2851	2850	2851	2851	2851	
8-lactone	_		i	1769	1769	1769		-	1766
C = 0 aldéhyde, cetone, ester, acide	1713		1731	1		-	1737	1731	
C = C' double liaison	=	1	ı	1660	1650	1661	1	1650	1650
cycle aromatique	1620	1619	1615	1	•	1	1614	-	
s <b>s</b> т-о сто-	1463	1463	1451	1463	1463	1462	1463	1463	1463
- ™ <sub>3</sub> S	1378	1378	1377	1378	1377	1378	1378	1377	1384
C - O lactone, ester, alcool			1128		1163 1047	1170 1020	1269 1046		
-CH <sub>2</sub> n > 4	720			721	722	731		722	

Principales bandes d'absorption des spectres infrarouges des extraits par solvants d'Artemisia herba-alba Asso. Tableau 5:

En examinant les spectres infrarouges des extraits par les solvants utilisés et en se reférant aux tests phytochimiques préliminaires effectués entérieurement (24) nous constatons que l'Artemisia herba-alba Asso contient des Y-lactones, des esters, des dérivés hydroxylés et carbonylés des hydrocarbures aromatiques et aliphatiques (saturés et non saturés).

Nous remarquons d'autre part une certaine sélectivité des solvants utilisés vis-à-vis de différentes classes de composés, que contient la plante. Ainsi l'ether de pétrole a apparement une affinité prononcéevis-à-vis des hydrocarbues aliphatiques, aromatiques (bandes d'absorption autour de 1615-1620cm<sup>-1</sup>) et les alcools libres (bande aigue autour de 3400 cm<sup>-1</sup>). Par contre les alcools associés (bandes larges autour de 3400cm<sup>-1</sup>), les 5-lactones, (bande forte dans la région 1760-1770 cm<sup>-1</sup>) et les hydrocarbues non saturés (bande autour de 1650cm<sup>-1</sup>) sont préférentiellement extraits par le chloroforme et par l'ethanol. Nous observons aussi la présence des esters et des dérivés carbonylées dans les extraits etheropetroliques et ethanolique de la plante.

Les spectres infrarouges des extraits par un mme solvant, de la plante provenant de différentes régions ont presque la même allure; à l'exception du spectre d'extrait ethanolique de la plante de la région de Ghardaïa, dans lequel apparait la bande d'absorption du groupement %-lactone que nous retrouvons aussi dans le spectre d'extrait chloroformique.

Ceci pourmait être éventuellement une indication que la plante de la région de Ghardaïa est assez riche en %-lactones.

Evidement l'examination des spectres infrarouges des mélanges aussi complexes que les extraits par solvants de la plante ne peut être qu'une approche qualitative de leur composition chimique que jugeons néanmoins indispensable avant d'envisager son étude approfondie (45,46).

ESSAI D'EVALUATION DE L'ACTIVITE MICROBIOLOGIQUE

D'ARTEMISIA HERBA-ALBA- ASSO.

# Essai d'evaluation de l'activité microbidographe d'Artemissia herba-alba-asso

L'un des grands problèmes liés à l'utilisation des agents chimiotherapeutiques est l'augmentation de la résistance des micro-organismes à ces agents.

Des antibiotiques autre fois efficaces pour soigner les maladies infectieuses ont perdu toute valeur therapeutique avec l'apparition des populations microbiennes résistantes. Cette résistance est un phénomène biologique fondamental, c'est pourquoi il faut mettre au point de nouveaux agents chimioterapeutiques pour remplacer ceux qui sont devenus inefficaces. C'est dans ce sens que MASHPHE et SEGAL (3) orientent leurs travaux vers l'étude de l'activité microbiologique de l'huile essentielle et d'extrait methanolique d'Artemisia herba-alba Asso de Noyen Orient. Ils constatent que l'huile essentielle présente une certaine activité et réussissent à isoler le principe actif de l'huile; le santolina alcool.

Nous avons de notre part étendu cette étude sur les huiles essentielles de la plante provenant de différentes régions d'Algérie et sur les extraits etheropetrolique, chloroformique et ethenolique du végétal.

#### I. RAPFELS THEORIQUES (47):

#### I.1. Les microorganismes et l'organisme humain:

Les microorganismes : organismes vivants de taille microscopique, constituent la flore normale de l'organisme humain. Ils se nourrissent à partir des secretions et des déchets de l'organisme sans que
ce dernier soit dérangé. L'organisme humain profite aussi de cette symbiose, car beaucoup de microorganismes synthétisent par exemple, les principales vitamines du groupe B, ainsi que les vitamines E et K ou bien
participent à la digestion. La présence de microbes tend à écarter aussi
les microorganismes pathogènes et de cette manière jouent le rôle de protecteurs contre la maladie.

Cependant l'orsque les conditions y sont favorables, certains micreorganismes, faisant partie de la flore normale de l'organisme humain peuvent se multiplier et former un foyer infectueux. Parfois d'autre types de microorganismes peuvent envahir l'organisme et lui nuire en causant une altération de ses fonctions : c'est la maladie.

## I .2. Les agents antimicrobiens :

Beaucoup de substances chimiques peuvent inhiber ou détruir les microroganismes. Ce phénomène est appelé bactériostase et la substance chimique bactériostatique ou chimiotherapeutique.

Les produits bactériostatiques varient des metaux lourds, comme Ag et Cu, aux molécules organiques complexes. Ces derniers proviennent des microorganismes, des plantes ou sont synthétisés au laboratoire. En général les substances chimiques naturelles sont appelées antibiotiques.

Pour qu'une substance soit efficace comme agent chimiotherapeutique, elle doit présenter une toxicité sélective; elle doit inhiber
cu détruirele microorganisme sans nuire à l'organisme humain. Elle doit
aussi pénétrer les cellules humaines sans modifier leurs mécanismes naturels de défense. Une autre exigence est sa stabilité; elle doit se conserver relativement longtemps, sans perdre de façon significative son
pouvoir antimicrobien.

Les antibiotiques ne sont pas tous des agents chimiotherapeutiques. En effet une activité microbicide in vitro n'est pas une garantie d'une efficacité in vivo. La mise au point de nouveaux produits doit tenir compte de toutes ces caractéristiques.

# I .. 3. Méthodes d'évaluation de l'activité microbiologique des composés chimiques :

Les microorganismes ne réagissent pas tous de la même façon aux antibiotiques et de plus la sensibilité d'un microorganisme à un antibiotique peut varier.

D'autre part certains antibioliques ont un large spectre d'acti-

Il s'impose donc une évaluation de l'activité microbiologique des composés chimiques en vue de leur utilisation comme agents therapeutiques.

Deux méthodes sont communement utilisées pour celà : la méthode de dilution en tubes et la méthode d'antibiogramme.

La première méthode détermine la plus petite quantité d'agent, nécessaire pour inhiber la croissance du microorganisme in vitro; c'est la concentration minimale inhibitrice. La méthode de l'antibiogramme consiste à placer sur la surface d'une gélose nutritive ensemencée par une culture de microorganisme, des disques de papier impregnés d'antibiotique de concentration connue. Aprés inhibition, ils apparaissent autour des disques des zones visibles ne contenant plus de microorganismes, appelées des zones stériles ou zones d'inhibition. La grandeur du diamètre de ces zones permet l'évaluation de l'activité microbiologique du composé vis-à-vis du microorganisme en question. Naturellement, lorsque l'agent chimique n'est pas bactériostatique les zones stériles ne se forment pas.

#### I.4. Conditions influencant l'action antimicrobienne :

Plusieurs facteurs influencent le taux d'inhibition ou de destruction des microorganismes, Parmis les plus importants nous citons les facteurs suivants:

- la concentration ou l'intensité de l'agent antimicrobien son augmentation acroît le taux de destruction des microorganismes.
- le nombre de microorganismes et le temps de traitement la destruction d'une population de microorganismes demande du temps; plus les microorganismes sont nombreux, plus longtemps ils doivent être traités pour être détruits.
- la température une faible augmentation de la température peut acroître beaucoup l'éfficacité d'un agent antimicrobien. Ceci peut être expliqué par le fait que le processus de diffusion de ce dernier est accéléré avec l'élevation de la température.

  D'autre part, l'agent chimique endommage les microorganismes par des réaction chimiques. A une température élevée la vitesse de ces réactionsaugmente.

 la nature des éspèces microbiennes - les microorganismes ne sont pas tous sensibles de la même façon aux agents chimiques - certains sont résistants, d'autres sont sensibles.

#### I.5. Pouvoir pathogène naturel des microorganismes testés (47,48):

#### 1:5.1. Escherichia Coli:

C'est un microorganisme Gram-négatif, résident habituel de l'intestin. Il peut provoquer des infections intestinales; chez le nouveau-né certaines souches sont à l'origine des gastro-entérites épidemiques. Il peut être aussi la cause des infections extra-intestinales variées : urinaires, génitales, hepathobiliaires, meningites de nouveau - né.

#### I.5.2. Staphylococcus aureus:

C'est un microorganisme Gram-positif. C'est sur lui que ALEXANDER FLEMMING a testé pour la première fois la peneciline. Il est répandu habituellement sur la peau, dans le nez et le nasopharyux, dans la salive et à la surface des dents, dans l'oropharyux.

Il est à l'origine des infections des voies respiratoires, de la pneumonit et des intoxications alimentaires. Ce microorganisme produit un enzime : le leucocydine, lequel est en mesure de détruire les leucocytes.

Le staphylococcus aureus devient trés pathogène lorsque la résistance de l'organisme humain diminue considérablement à cause d'un traumatisme. Il se multiplie alors et provoque la maladie.

### 1.3.3. Streptococcus hemolyticus:

C'est un microorganisme Gram-positif, faisant partie de la flore normale d'organisme humain. Répandu dans la cavité buccale et dans l'oropharyus il est à l'origine des diverses infections (pharymgite, amygdalite) et leurs complications (le rhumatisme articulaire aigu) ainsi que d'endocardite. Ce microorganisme est utilisé dans l'industrie de préparation de médicaments, employés pour dissoudre les caillots sanguins.

#### II. PARTIE EXPERIMENTALE :

Nous avons testé l'activité microbiologique de quatre échantillons de l'huile essentielle: BBA Oct, BBA Dec. GH Déc.86, GH Déc.87 et des extraits etheropetrolique, chloroformique et ethanolique d'Artemisia herba-alba Asso, cueillie en mois de Décembre 1986 dans les régions de Bordj Bou Arreridj, Boussâada et Ghardaïa.

Nous disposons de trois souches microbiennes.

Escherichia coli et Staphylococcus aureus (isolées et identifiées à l'Institut Pasteur -Alger) et streptococcus hemolyticus (isolé et identifié au Laboratoire Central d'Analyse de l'Hopital Parnet Alger).

Pour évaluer l'activité microbiologique des produits, nous avons appliqué la méthode de l'antibiogramme.

#### II.1. Mode opératoire :

Les colonies des microorganismes respectifs sont prélevées à l'aide d'une anse en platine, en semencées dans des bouilless de culture

appropriées (DIFCO) et incubées pendant 24 h.

La gelose nutritive fondue et répartie uniformement dans des boites de petrie est ensemencée ensuite à l'aide d'un écouvillon de chacun des microorganismes.

Les disques de diamètre 6mm, de papier Whatman n°1 sont stérilisés pendant 2h à température 160°C et sur chaque disque sont déposés 2,5mg du produit (huile essentielle ou extrait).

Les disques sont séchés et déposés à la surface de la gelose nutritive contaminée. Aprés incubation à 37°C pendant 24h , le diamètre des zones d'inhibition est mesuré.

#### II.2. Resultats:

Les résultats des essais d'évaluation de l'activité microbiologique de l'huile essentielle et des extraits par solvants d'Artemisia herba-alba Asso sont représentés dans le tableau 6.

Les valeurs du diamètre des zones d'inhibition sont la moyenne arithmétique des diamètres mesurés à la suite des quatre expériences réalisées.

Le diamètre du disque en papier (6mm) est inclu dans le diamètre de la zone d'inhibition. La valeur de 6mm indique que l'échantillon ne présente pas d'activité vis-à-vis du microorganisme correspondant.

	DIAMETRE DE L	A ZONE D'INHIBITION	I, MM
MICROORGANISME ECHANTILLON	ESCHERICHIA COLI	STAPHYLOCOCCUS AUREUS	STREPTOCOCCUS HEMOLYTICUS
L'huile de réfé- rence (5)	11	14	
Huile BBA Oct.	6,0	9,0	13,0
Huile BBA Déc.	6,0	9,5	8,0
Huile CH Déc.86	6,0	6,0	6,0
Huile GH Déc.87	6,0	6,0	11,0
BBA EP	6,0	7,5	8,0
BBA CH	6,0	11,0	15,0
BBAET	6,0	12,0	14,5
BOU	6,0	7,5	6,0
Вод	6,0	11,0	8,0
BOUET	6,0	10,0	12,0
$^{ m GH}_{ m EP}$	6,0	7,5	6,0
CH <sub>CH</sub>	6,0	8,5	17,0
GH <sub>E/I</sub>	6,0	14,0	17,0

TABLEAU 6 : DIAMETRES DES ZONES D'NHIBITION.

#### III. DISCUSSION:

Nous constatons que les produits testés affectent les microorganismes gram-positifs : le staphylococcus aureus et streptococcus hemolyticus, ce dernier étant le plus sensible. Par contre l'Eschirichia coli, un coccobacille gram-négatif présente une forte résistance.

Rappelons que l'huile essentielle et l'extrait méthanolique de la plante étudiés par YASHPAE et SEGAL sont bacteriostatiques visà-vis d'une autre espèce de ce microorganisme. En effet, ils trouvent des diamètres de zones d'inhibition de 13mm et 11mm respectivement.

De plus il est fort probable (car les auteurs ne précisent pas) que l'échantillon d'Artemisia herba-alba Asso que cette équipe a étudié soit diffèrent des notres du point de vue composition chimique plutet quantitative que qualitative.

Notre supposition est apparement confirmée par l'activité microbiologique que présente l'huile essentielle des échantillons de la plante, provenant de différentes régions de notre pays. Nous observons une certaine activité de l'huile de la plante de Bordj Bou Arreridj, alors que celle de Ghardaïa n'est pas bactériostatique.

Nous remarquons de même une différence d'activité microbiologique des extraits par solvants; l'extrait ethanolique de la plante
de Ghardafa et l'extrait chloroformique de la plante de Bordj Bou
Arreridj sont les plus actifs. Par contre pour les extraits etheropetroliques nous n'avons observé qu'une très faible activité.

Rappelons encore, que les résultats de l'étude de la composition chimique des huiles essentielles et celle des extraits par solvants ont montré qu'elle varie selon le lieu de végétation de la plante.

Evidement nous pouvons envisager un lien entre l'activité microbiclogique des produits que nous avons extrait de la plante, et leur composition chimique, tout en étant très prudents, tent que cette dernière ne soit complètement élucidé et que les composés responsables de la bactériostase; les principes actifs ne soient isolés et identifiés. TONCLUSION.

## Tonclusion.

Le travail que nous avons entrepris porte sur l'extraction, l'étude de la composition chimique et de l'activité microbiologique de l'huile essentielle et des extraits par solvants d'Artémisia herba-alba Asso.

Pour acceder à l'huile essentielle nous avons utilisé la méthode d'extraction par l'entrainement à la vapeur d'eau des parties aériennes
de la plante et d'extrait etheropetrolique pour un des échantillons.

Nous avons constaté une variation du rendement de l'extraction en fonction
du lieu de végétation et du temps de conservation de la plante.

En effet, la plante fraiche de la région de Ghardaïa a fourni un rendement
de 1,04% en huile, alors que la même plante aprés une année de conservation n'a donne que 0,32%.

La plante de la région de Bousaada s'est avérée très pauvre en huile essentielle.

Nous avons alors pris pour hypothèse, que les conditions climatiques et probablement la nature du sol, influent sur la quantité de l'huile essentielle de la plante.

L'analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse effectuée en programmation de température, sur colonne classique OV.17 et sur colonne capillaire PEG-20M nous a permis d'identifier ses principaux constituants. Ceux sont les dérivées du camphane (,camphène, bornezl), le cincol-1,8 et vraisenbleblement la thuyone  $\alpha$  et  $\beta$ . Les dérivées du pinane (  $\alpha$  - pinène et  $\beta$ -pinène) se trouvent en faible proportion.

Nous avons constaté que la composition chimique qualitative de l'huile ne varie pas en fonction de la période de végétation de la plante. Par contre le Lieu de végétation fait varier sensiblement la proportion des constituants dans l'huile essentielle. Ainsi l'huile essentielle de l'Artemisia herba-alba Asso, provenant de la région de Bordj Bou Arreridj est constituée principalement de camphre, borneol, cineol-1,8, et probablement de thuyone, alors que celle de la région de Ghardaïa, contient un seul constituant en grande proportion.

Ne disposant pas d'étalon de ce composé, nous avons tenté de l'isoler et de l'identifier par voie chimique ayant constaté que c'est une cetone et en se basant sur les données bibliographiques à notre avis il s'agit probablement de la thuyone.

Evidement des recherches ultérieures s'imposent pour l'identification de la plante de Ghardaïa comme source naturelle de ce produit peut eventuellement être envisagée.

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'extraction par solvants organiques de la plante dans le but d'examiner la sélectivité des solvants vis-à-vis des classes de composés chimiques qu'elle contient.

L'examination des spectres infrarouges des extraits etheropetrolique, chloroformique et ethanolique nous a permis de constater, que les lactones
( parmis lesquels certains constituent les principes actifs) sont extraits
par le chloroforme et l'ethanol. Apparement la plante de la région de Ghardaïa est assez riche en ces composés.

Dans le but d'établir une relation entre la composition chimique et l'activité microbiologique de l'huile essentielle et des extraits par solvants, nous avons soumis ces produits à des testes microbiologiques.

La méthode d'antibiogramme, pour l'évaluation de l'activité microbiologique, nous a permis de constater que les extraits chloroformique et
ethanolique de la plante, en particulier celle de la région de Ghardaïa,
sont bactériostatiques vis-à-vis des microorganismes Gram-positifs. Staphylococcus aureus et streptococcus hemolyticus. L'activité antibiotique de
l'huile essentielle est faible et varie selon le lieu de végétation de la
plante. A notre avis les extraits chloroformique et ethanolique de la plante
méritent une étude approfondie dans le but d'y rechercher les principes
actifs d'Artemisia herba-alba Asso.

# ) IBLIOGRAPHIE.

- 1. PARIS, R.R., MOYSE H., Matière médicale, édition Masson et Cie, tome III, 411 (1971).
- 2. FOURNIER.P., Le livre des plantes médicales et vénéneuses de France, tome I (1977).
- 3. YASHPHE J., SEGAL R., BREUER A., ERDRICH. NAFTALI G., Antibacterial activity of Artemisia herba-alba, Journal of pharmaceutical sciences, 68,7, 924-5 (1979).
- 4. DURVELLE J.P., Fabrication des essences et des parfuns, 3ème edition, 114 (1929).
- 5. CILDMEISTER E., HOFFMANN F., Die Acterischen cele, 2è edition, tomeIII, 700-702 (1919).
- 6. OTTO M.P., L'industrie des parfums d'aprés les théories de la chimie moderne, 2è ed., Paris, Dunod (1924).
- 7. FAHMY I.R., AHMED Z.E., ARDEL F.M., Egypt pharm bull, 42,1 (1960).
- 8. GORYAEV M.I., GIMADDINOV, Zh.K. DOUL AKAD. Nouk SSSR, 156, 1459. (1964).
- 9. ISHIBASHI K., KATSUHARA J., HASHIMOTO K., KOBAYASHI M., KOGYO KAGAKU ZASSHI, 68, 1224. (1965).
- 10. TSUBAKI N., NISHIMURA K., HIROSAY., Bull.chem., Soc. Japon, 39,312(1966).
- 11. BANTHORPE D.V., BAXENDALE D., GATFORD C., WILIAMSS.R., Monoterpènes of some Artemisia and tanacetum species Grown in England, Planta medica, 20, 147-152. (1971).
- 12.GOMIS J.D., MARCO A.J., LEINARES J.R.P., PARAREDA J.S., SENDRA J.M.

  SEDANE E., Sesquiterpenes lactones. Waxes and volatile

  compounds from Artemisia herba—alba supsecies valentina,

  Phytochimistry, 18, 1523 (1979).

- 13. KHAFAGY S.M., GHARBO S.A., SARGT M., Phytochemical investigation of Artemisia herba-alba, Planta medica, 20,90-96(1971).
- 14. SEGAL R., SOKOLOFF S., HARAN B., ZAITSCHEK D.V., LICHTENDERG D., New sesquiterpenes lactones from Artemisia herba-alba, Phytochemistry, 16,1237-1241 (1977).
- 15. SEGAL R., FEVERSTEIN I., DUDDEK H., KAISER M., DANIN A., The sesquiterpenes lactones from two populations of Artemisia herba-alba, Phytochemistry 22,1, 129-131, (1983).
- 16. SEGAL R., EDEN L., DANIN A., KAISER M., DUDDEK H., Sesquiterpènes lactones from a further populations of Artemisia herba-alba, Phytochemistry, 23, 12, 2954-2956 (1984).
- 17. SEGAL R., COHEN D., SOKOLOFF S., ZAITSCHEK D.V., A new florone from Artemisia herba-alba, LLOYDIA 36(1), 103-105,(1973).
- 18. GORDON M.M. VAN DERVEER D., ZALKOWL H., New germacranolides from Artemisia herba-alba. Journal of natural Products, 44, 432-440, (1981).
- 19. ZALKOW L.H., GORDON M.M., A phytochimical investigation of Artemisia herba-alba, Journal of natural products. 42, 681(1979).
- 20.ZALKOW L.H., GORDON M.M., DICKNSON C., GELBAUM .L.T., A phytochemical investigation of two Artemisia species from the SINAI Desert, Planta Medica, 39, 265 (1980).
- 21. ANDO M., TAKASER K., Studies in the syntheses of sesquitermenes lactones, Tetrahedron, 33, 2785-89 (1977)
- 22. KELSEY R.O., SHAFIZADEH F., Sesquiterpenes lactones and systematics of the Genus Artemisia, Phytochemistry, 18, 1591-1611(1979).

- 23. SALEH A.M., EL-NEGOUMY S.I., ABD-ALLAH M.F., ABOU-ZAID M.M., DELLAMONICA G., CHOPIN J., Flovonoid glycosides of Artemisia monosperma and Artemisia herba-alba, Phytochemistry, 24 (1) 201-203 (1985).
- 24. BOUTEKEDJIRET C., Contribution à l'étude chimique d'Artémisia herhaalba Asso, Projet de fin d'études, Département Génie chimique E.N.P. Alger (1986).
- 25. BENSEGUINI A., JAG M., Variabilité flavonoique de l'Artemisia herbaalba et son incidence sur la reconnaissance des propriétés pharmacodynamiques. Thèse de Magister Université de Constantine, Thèse de Magister (1986).
- 25. TEISSEIR P., Recueil des monographies et méthode d'analyse des huiles essentielles, 3-4 (1982).
- 27. FLUEK, in chemical plant taxonomy, Ed.T.W. Swain, Acad. Press.LONDON 167 (1963).
- 28. TEISSEIRE, Influence des méthodes physiochimiques modernes sur les huiles essentielles, Recherche 53 pp.13-32 (1965).
- 29. NAVES Y.R., Qu'est ce qu'une huile essentielle, Industrie chimique Belge. Recherche.1. 1165-1176 (1964).
- 30. RIJKEMS F., Parfuns, savons, Recherche, 12, pp.2,72 (1969).
- 31. TEISSEIR, Application de la chromatographie gazeuse à la parfumerie.

  Recherche (12) 54-73 (1962).
- 32. HENCHABANE O., Contribution à l'étude chimiotaxinomique de cupressus du preziana a camus.

  Thèse de Magister:, I.N.A. (1979).
- 33. GUENTHER E., Essentiel oil, tome I et IV. édition R.E. KAIEGEP (1972).

- 34. NAVES, Au sujet des huiles essentielles nouvelles et commerciales.
  Riv Italie E.P.P.O.S.57. Recherche (10 548-553 (1975).
- 35. TRANCHANT J., Manuel pratiquede chromatographie en phase gazeuse, 3ème ed. Masson, 1,3 (1982).
- 36. Chimie analytique: Revue des laboratoires. 175 Mars (1972).
- 37. IVANOV D., Chimie organique, E.D. NAUKA I. ISROUSTVO, Sofia, 659(1967).
- 38 YANKOV et col., Chimie organique, Volume 1 edition technika, Sofia, 378-79 (1982).
- 39. GUENTCHEV M. et coll., Petite encyclopédie chimique, Technica, Sofia (1984).
- 40. FLAMANT E., BILODEAU J., Chimie organique moderne, Edition Le Griffon d'Argile INC, Quebec, 327-328 (1984).
- 41. NAVES Y.R., Technologie et chimie des parfuns naturels, édition Masson et Cie, (1974).
- 42. MESSEGUE M., Mon herbier de santé, ed. Robert Laffont, Paris, 13(1983)
- 43. ALLINGER N., Chimie organique, Vol. 1. 213-217 (1984).
- 44. DYER J.R., Spectroscopie d'absorption appliquée aux composés organiques, ed. Dunod, Paris (3) 28-29 (1967).
- 45. SZYMANSKI H.A., A systematic approache to the interpretation of IR spectra, HERTILLON PRESS (1967).
- 46. BOEVA R. et coll., Guide pratique de chimie organique, BXTI, BOURGASS, 161-171 (1980).
- 47. PELCZAR M.J.J.r., Cahn E.C.S., Elements de microbiologie, les editions H.R.W.ITEE Montreal (1982).
- 48. LARPENT J.P., GOURGAUD M., Element de microbiologie, Herman N., Paris, 215 (1985).

