



République algérienne démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche  
scientifique



Université Larbi Tébessi-Tébessa-

Faculté des sciences exactes et des sciences de  
la nature et de la vie



Département : Sciences de la matière

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des produits naturels

THÈME :

*Evaluation in-vitro de l'inhibition  
de la toxicité de cigarette  
par les huiles essentielles de Juniperus*

Présenté par :

*Nasrallah Hanane*

*Haouaouchi Fatima Zahra*

Devant les membres du jury :

**BOUKHDENA**

**Wafia**

**MCB**

**Université de Tébessa**

**Présidente**

**HANINI**

**Karima**

**MCB**

**Université de Tébessa**

**Examinatrice**

**BOUDIBA**

**Sameh**

**MCA**

**Université de Tébessa**

**Encadreur**

Soutenue le : 23/09/2020





# Remerciement

*Une merveilleuse aventure qui s'achève ! Quelle exaltation à faire progresser la connaissance qui se dévoile un peu plus tous les jours au-delà des limites du visible.*

*Quelle persévérance d'avancer par petits pas sans apercevoir du bout du chemin.*

*Durant Cinq années, venir chaque matin avec le même désir d'apprendre, de découvrir et de créer, n'est possible que si des personnes vous soutiennent et vous encouragent. Ce fût le cas et la chimie fonctionne à merveille. Merci à tous ceux qui y ont contribué.*

*Tout d'abord nous remercierons **ALLAH** qui nous a donné, le courage, la santé et l'ambition pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Dr. **BOUDIBA Sameh**, notre superviseur pour accepter la direction de notre mémoire, pour sa rigueur scientifique, pour ses conseils et ses encouragements.*

*Nous remercierons vivement M<sup>me</sup> **BOUKHDENA Wafia**, Docteur à l'université de Tébessa pour l'honneur quelle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.*

*Nous tenons également à remercier M<sup>me</sup> **HANINI Karima**, Docteur à l'université de Tébessa d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*En termes de reconnaissance, on tient à exprimer nos vifs remerciements au Professeur **Louiza Boudiba** pour son aide en nous réalisant l'analyse CPG des huiles investiguées.*

*Nous remercierons le technicien du Laboratoire pédagogique du département des sciences de la terre et de l'univers de l'Université de Tébessa, **HEMAIDIA Hacem**, pour son accueil chaleureux,*

*Nous adressons nos remerciements aussi à **Hatem Beddiar** et **Haouaouchi Ahsan** pour leur précieuse aide et assistance.*

*Que toute personne ait participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici nos profonds remerciements.*



# Dédicace

*J'exprime toute ma gratitude aux deux êtres qui me sont très chers dans cette vie, sans qui je ne serai pas où j'en serais aujourd'hui,*

*Mon **Père** et ma **Mère**, Je les remercie pour leur éducation, leur sacrifice et leur assistance, ainsi que pour ce qu'ils m'avaient fait et qui m'a permis d'avoir cette réussite et ce bonheur.*

*Je dédie aussi ce travail : à mes frères **Nacreddine** et **Abderaouf**.*

*À ma compagne de chemin, **Zahra** que Dieu m'a offert et qui m'a accompagné dans les moments les plus difficiles de ma vie et le meilleur. Depuis l'école cette créature m'a toujours tendu une main secourable. Merci pour ton soutien et pour les moments inoubliables.*

*À **Ilhem**, **Kaouther**, **Meriem**, **Salsabil**, **Chifa** et à tous mes amis et camarades.*

***Hanane***



# Dédicace



*À Mes très chers parents qui m'ont aidé, soutenu et encouragé dans toutes les épreuves de ma vie, qu'ils trouvent ici tous signes de ma gratitude pour leurs sacrifices ; avec un merci spécial à eux.*

*À mes chers frères adorables **Ahcen** ; **Boumediene** et **Mohamed chérif** ;*

*À Ma très chère sœur **Zineb** qui m'avez toujours soutenu et encouragé ;*

*À toute ma famille*

*À mon binôme **Hanouna** qui est une sœur plus qu'une amie et même une psychologue 😊, merci pour tout. Sans vous, ma joie est incomplète.*

*À tous mes amis sans exception ;*

*À tous les gens de ma promotion, à vous mes collègues.*



**Fatima Zahra**

لا يزال انتشار التدخين في جميع أنحاء العالم وخاصة في دول العالم الثالث مرتفعاً بسبب صعوبة تنفيذ سياسة فعالة ضد هذا الخطر. غالباً ما يكون إيقاف هذا الإدمان أكثر صعوبة من إيقاف الهيروين أو الكحول. الهدف المسطر في عملنا هو المساهمة في التقييم المخبري للزيوت الأساسية (ز. أ) لنبتتي العرعر والطاقة، واللذان تم جمعهما من ولاية تبسة (الجزائر). بالإضافة إلى تقدير القوة المضادة للأكسدة التي تمارسها هذه الزيوت الأساسية، وتم اختبار تفاعلها مع الهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات (ه. ع. م)، وكذا قوة تثبيط سمية بعض المركبات الموجودة في دخان السجائر (القطران والنيكوتين). بعد تحديد أفضل وقت للتقطير، أظهرت الزيوت الأساسية التي تم فحصها وتحليلها بواسطة طريقة الفصل اللوني في الحالة الغازية غناها بالمركبات الفينولية كما تبين أن أغنى زيت بهذه المركبات هو زيت أوراق الطاقة بقيمة  $1,901 \pm 114,23$  معبر عنها بالميكروجرام المكافئ لحمض الغاليك لكل مليغرام من الزيوت الأساسية (ميكغ م ح غ / مغ)، متنوعة بقيم الزيوت الأساسية الأخرى (أوراق العرعر، فاكهته و فاكهة الطاقة) بالقيم التالية على التوالي  $0,097 \pm 54,96$  و  $0,197 \pm 53,11$  و  $0,103 \pm 50,5$  (ميكغ م ح غ / مغ). أظهرت جميع الزيوت الأساسية فعالية جيدة كمضادات للأكسدة وفقاً للطريقتين المختبريتين (DPPH\* و FRAP)، ولا سيما تلك الخاصة بنبات الطاقة، مع العلم أن زيت الأوراق كان الأقوى باعتبار تثبيط IC50) للجذر الحر DPPH\* بقيمة  $1,01 \pm 20,18$  مغ/مل. أبدت هذه الزيوت الأساسية أيضاً فعالية مدهشة تجاه تثبيط نوعي النيكوتين المختبرين (الطبيعي والمصنع)، وخاصةً زيت ثمار نبات الطاقة، محققة قيمة تثبيط قدرت ب 99 ٪، كما بينت جميع الزيوت قوة تثبيط هائلة لأنواع القطران الثلاثة، تتراوح بين نسب تثبيط من 69 ٪ إلى 85 ٪. بفضل المقارنة التي تم إجراؤها بطرق الفصل اللونية والطيفية للمركبات الهيدروكربونية العطرية متعددة الحلقات قبل وبعد المعالجة بالزيت العطري، تم تأكيد التأثير المدمر الممارس على هذه المركبات (الثقيلة والخفيفة) بواسطة زيت أوراق نبات الطاقة.

**كلمات مفتاحية:** زيت أساسي، نبات العرعر، نبات الطاقة، القوة المضادة للأكسدة، تثبيط، الهيدروكربونات العطرية متعددة الحلقات، قطران، نيكوتين.

Over the world and especially in underdeveloped countries, smoking prevalence remains high due to the difficulty of implementing an effective policy against this danger. Stopping this addiction is often more difficult than stopping heroin or alcohol. Our work aims the contribution to an *in-vitro* evaluation of *Juniperus phoenicea* L. and *Juniperus oxycedrus* essential oils (**EOs**), collected from Tebessa city (Algeria). In addition to estimating the antioxidant power exerted by these **EOs**, their interaction with polycyclic aromatic hydrocarbons (**PAHs**), as well as their inhibition power of the toxicity of certain compounds contained in cigarette smoke (Tar and nicotine), were also tested. After defining the best distillation time, the investigated **EOs** analyzed by **GC**, showed their richness in phenolic compounds. The *J. oxycedrus* L. **EO** of leaves turn out to be the richest with a value of  $114,23 \pm 1,901$   $\mu\text{g}$  EAG / mg of EO, followed by the other **EOs** (**f.PH**, **F.OX** and **F.PH**) with values of  $54,96 \pm 0,097$ ;  $53,11 \pm 0,197$  and  $50,5 \pm 0,103$   $\mu\text{g}$  EAG / mg of EO, respectively. All **EOs** exhibited good antioxidant potential according to tested methods (**DPPH**<sup>•</sup> and **FRAP**), in particular those of *J. oxycedrus* knowing that the leaves **EO** was the most powerful with an inhibition value (**IC50**) of the radical **DPPH**<sup>•</sup> of  $20,18 \pm 1,01$  mg / mL. These **EOs** also had an amazing effectiveness via the inhibition of both types of the tested nicotine (Natural and synthesized), especially the fruit of *J. oxycedrus* **EO** realizing an inhibition value of **99 %**. Additionally, all **EOs** showed an enormous inhibitory power of all tar fractions, with inhibition percentages ranging from **69 %** to **85 %**. Recognitions to the comparison carried out by chromatographic and spectroscopic methods of **PAHs**, realized before and after the treatment with an **EO**, the destructive effect exerted on these **PAHs** (Heavy and light) by the leaves of *J. oxycedrus* **EO** was been confirmed.

**Keywords:** Essential oil; *Juniperus phoenicea* L.; *Juniperus oxycedrus*; antioxidant power; inhibition; PAH; tar; nicotine.

Dans le monde entier et surtout dans les pays sous-développés, la prévalence tabagique reste élevée du fait de la difficulté de la mise en œuvre d'une politique efficace à l'égard de ce danger. Arrêter cette toxicomanie est souvent plus difficile que d'arrêter l'héroïne ou l'alcool. L'objectif visé dans notre travail, est la contribution à l'évaluation *in-vitro* des huiles essentielles (**HEs**) de *Juniperus phoenicea* L. et *Juniperus oxycedrus*, récoltées de la wilaya de Tebessa (Algérie). En plus de l'estimation du pouvoir antioxydant exercé par ces **HEs**, leur interaction avec les hydrocarbures aromatiques polycycliques (**HAP**), ainsi que l'inhibition de la toxicité de certains composés issus de la fumée de cigarette (goudron et nicotine), ont été testées. Après la détermination du meilleur temps de distillation, les **HEs** investiguées analysées par **CPG**, ont montré leur richesse en composés phénoliques. L'**HE** des feuilles de *Juniperus oxycedrus* s'avère la plus riche avec une valeur de  $114,23 \pm 1,901$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'**HE**, suivie par les autres **HEs** (**f. PH**, **F. OX** et **F. PH**) avec des valeurs de  $54,96 \pm 0,097$  ;  $53,11 \pm 0,197$  et  $50,5 \pm 0,103$   $\mu\text{g}$  EAG/mg d'**HE**, respectivement. Toutes les **HEs** ont exhibaient un bon potentiel antioxydant selon les deux méthodes testées (**DPPH•** et **FRAP**), notamment celles de *J. oxycedrus* L., sachant que l'**HE** des feuilles était la plus puissante avec une valeur d'inhibition (**IC50**) du radical **DPPH•** de  $20,18 \pm 1,01$  mg/mL. Ces **HEs** avaient aussi une efficacité surprenante vis-à-vis l'inhibition des deux types de nicotine testés (Naturel et synthétisé), surtout l'**HE** des fruites de *J. oxycedrus* L., réalisant une valeur d'inhibition de **99 %**. En outre, toutes les **HEs** présentées un énorme pouvoir inhibiteur des trois fractions de goudron, variant entre des pourcentages d'inhibition allons de **69 %** jusqu'à **85 %**. Grâce à la comparaison effectuée par méthodes chromatographique et spectroscopique des **HAP** avant et après le traitement par une huile essentielle, l'effet destructif exercé sur les **HAP** (lourds et léger), par l'**HE** des feuilles de *J. oxycedrus* L. a été confirmé.

**Mots clés :** Huile essentielle ; *Juniperus phoenicea* L. ; *Juniperus oxycedrus* ; pouvoir antioxydant ; inhibition ; **HAP** ; goudron ; nicotine.

## Liste des abréviations

<b>Symbole</b>	<b>Signification</b>
<b>HE</b>	Huile essentielle
<b>TD</b>	Temp de distillation
<b>Rd%</b>	Rendement %
<b>FRAP</b>	Pouvoir antioxydant réducteur du fer
<b>DPPH•</b>	2,2-diphényl-1-picrylhydrazine
<b>CPT</b>	Composés phénolique totaux
<b>FC</b>	Folin-Ciocalteu
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>CCM</b>	Chromatographie sur couche mince
<b>CPG/SM</b>	Chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse
<b>NE</b>	Nicotine Extraite
<b>NA</b>	Nicotine Artificielle
<b>HAP</b>	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
<b>Tr/min</b>	Tour/minute
<b>Tab</b>	Tableau
<b>Fig</b>	Figure
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la Santé
<b>AFNOR</b>	Association française de normalisation
<b>ISO</b>	International organisation for standardisation

## Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Exemple sur la forme de poils sécrétrice du <i>Thymus vulgaris</i>	8
2	Isoprène (méthyl-2-buta-1,3-diène)	9
3	Illustration d'une extraction par entraînement à la vapeur d'eau	15
4	Représentation de l'équipement d'hydrodistillation avec collecteur "Clevenger"	15
5	Représentation d'une distillation par micro-ondes	16
6	Montage d'hydrodistillation assistée par ultrasons	17
7	Représentation d'un montage à extraction par l'appareil de Soxhlet	19
8	Illustration de la technique d'extraction par CO <sub>2</sub> supercritique	20
9	Distribution de <i>Juniperus</i> dans le monde	31
10	Présentation de la morphologie de <i>J. oxycedrus</i> ( <i>J. ox</i> )	32
11	Aire de répartition naturelle de <i>Juniperus oxycedrus</i>	33
12	Présentation de la morphologie de <i>J. phoenicea</i> ( <i>J. ph</i> )	35
13	Aire de répartition de l'espèce <i>J.phoenicea</i> en région méditerranéenne	36
14	Modèle d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants	41
15	<i>Nicotiana tabacum</i>	49
16	Différents types de tabac	50
17	Cigarette	50
18	Différents courant de fumée de cigarette	51
19	Processus mis en œuvre durant le fumage d'une cigarette	52
20	Présentation des 16 HAP classés prioritaires par l'USEPA	54
21	Nicotine	56
22	Carte géographique de la région de récolte de <i>Juniperus oxycedrus</i>	59
23	Carte géographique de la région de récolte de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	60
24	Appareille d'extraction des huiles essentielles.	61
25	Structure du radical DPPH•	64
26	Incubation et centrifugation des HEs étudiées	67
27	Montage d'extraction de la nicotine	68
28	Structure moléculaire de (S) - (-) -nicotine (A), de (R)- (+) -nicotine (B) et de (S) - (-) -nornicotine (C)	70

<b>29</b>	Montage du dispositif de fumage	<b>72</b>
<b>30</b>	Photographie de la cigarette employée	<b>73</b>
<b>31</b>	Chromatographique sur gel de silice	<b>76</b>
<b>32</b>	Histogramme représentatif des rendements des <b>HEs</b> des deux espèces de Juniperus	<b>79</b>
<b>33</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	<b>81</b>
<b>34</b>	Teneur en composés phénoliques totaux (TPC) en $\mu\text{g}$ EAG/mg des huiles essentielles investiguées.	<b>82</b>
<b>35</b>	Illustration photographique d'une plaque CCM contenant les HEs pulvérisé par une solution de DPPH <sup>•</sup>	<b>83</b>
<b>36</b>	Virage de la couleur violette du radical libre DPPH <sup>•</sup> au jaune après l'ajout de l'HE des F. OX et des f. PH	<b>83</b>
<b>37</b>	Histogramme présentatif des IC50 des huiles essentielles testées	<b>84</b>
<b>38</b>	Représentation graphique de la variation du pouvoir d'inhibition du radical libre DPPH <sup>•</sup> en fonction des différentes concentrations des quatre huiles essentielles de Juniperus avec le BHT comme standard	<b>85</b>
<b>39</b>	Changement de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers la couleur bleu sous l'effet de l'acide ascorbique (AA) et des HEs des f. OX et des f. PH	<b>86</b>
<b>40</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique	<b>86</b>
<b>41</b>	Suivi cinétique de l'effet des HEs des feuilles de <i>J. oxycedrus</i> sur la réduction du fer	<b>87</b>
<b>42</b>	Suivi cinétique de l'effet des HEs des fruits de <i>J. oxycedrus</i> sur la réduction du fer	<b>87</b>
<b>43</b>	Suivi cinétique de l'effet des HEs des feuilles de <i>J. phoenicea</i> L. sur la réduction du fer	<b>88</b>
<b>44</b>	Suivi cinétique de l'effet des HEs des fruits de <i>J. phoenicea</i> L. sur la réduction du fer	<b>88</b>
<b>45</b>	Pouvoir réducteur du fer exercé par les des HEs et de l'acide ascorbique	<b>89</b>
<b>46</b>	Nicotine obtenue par hydrodistillation	<b>90</b>
<b>47</b>	Révélation de la nicotine sur la plaque CCM pulvérisé avec le permanganate de potassium	<b>90</b>

<b>48</b>	Présentation des spectres de nicotine (A= spectre de nicotine extraite ; B= spectre de nicotine pur (Référence))	<b>91</b>
<b>49</b>	Courbe d'étalonnage de la nicotine (Concentrations en mg /mL)	<b>92</b>
<b>50</b>	Histogrammes des pourcentages d'inhibition de la nicotine par les huiles essentielles testées	<b>93</b>
<b>51</b>	Diminution de l'intensité de la couleur du goudron neutre après le traitement par l'HE des fruits de <i>Juniperus oxycedrus</i>	<b>96</b>
<b>52</b>	(A) Goudron neutre témoin, (B) goudron neutre traité par l'HE des feuilles de <i>Juniperus oxycedrus</i>	<b>97</b>
<b>53</b>	Pouvoir d'inhibition du godron par les huiles essentielles étudiées	<b>97</b>
<b>54</b>	Suivie par CCM de l'évolution de la colonne chromatographique	<b>98</b>
<b>55</b>	Spectre des solutions contenant les HAP traités par l'HE des feuilles de <i>J. oxycedrus</i> et ceux des références.	<b>99</b>

## Liste des schémas

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Principe du couplage CPG/SM	<b>21</b>
<b>2</b>	Transformation de la pipérine en isochavicine sous l'action des UV	<b>21</b>
<b>3</b>	Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées dans les troubles biologiques	<b>43</b>
<b>4</b>	Réaction radicalaire de DPPH•	<b>64</b>
<b>5</b>	Illustration du mode d'extraction des goudrons.	<b>74</b>

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>1</b>	Principaux composants des <b>HEs</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	Principales activités biologiques des <b>HEs</b>	<b>23</b>
<b>3</b>	Classification botanique de <i>Juniperus oxycedrus</i>	<b>31</b>
<b>4</b>	Classification botanique de genévrier de Phénicie	<b>34</b>
<b>5</b>	Récapitulation des espèces radicalaires de l'oxygène	<b>42</b>
<b>6</b>	Résumé des espèces non radicalaires oxygénées	<b>43</b>
<b>7</b>	Composition de la fumée de tabac dans le courant principal	<b>54</b>
<b>8</b>	Évaluation de la durée de distillation des huiles essentielles	<b>79</b>
<b>9</b>	Résultats obtenus par le dosage spectroscopique indirecte de la nicotine extraite du tabac et la nicotine artificielle	<b>92</b>
<b>10</b>	Résultats de la perte en poids des fractions goudronnées neutre, alcaline et acide, traitées par les <b>HEs</b> investiguées et ceux des témoins	<b>95</b>
<b>11</b>	Collecte des fractions suivant l'intervalle du rapport frontale	<b>99</b>



I. 1. 2. 12. Fonction physiologique des composés volatils chez les plantes	22
I. 1. 2. 13. Utilisations des huiles essentielles	22
I. 1. 2. 14. Principales activités biologiques des huiles essentielles	23
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	26
<b>I. 2. PRÉSENTATION DES PLANTES ÉTUDIÉES</b>	<b>30</b>
I. 2. 1. Généralité sur les <i>Juniperus</i>	30
I. 2. 1. 1. Taxonomie de <i>Juniperus oxycedrus</i> L.	31
I. 2. 1. 2. Taxonomie de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	33
I. 2. 2. Composition chimique des huiles essentielles des espèces étudiées	36
I. 2. 3. Utilisation des espèces étudiées	36
I. 2. 3. 1. Utilisation de <i>Juniperus oxycedrus</i> L.	37
I. 2. 3. 2. Utilisation de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	37
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	38
<b>I. 3. ACTIVITÉS ANTIOXIDANTS</b>	<b>40</b>
I. 3. 1. Oxydation	40
I. 3. 2. Stress oxydatif	40
I. 3. 3. Radicaux libres	41
I. 3. 3. 1. Définition	41
I. 3. 4. Antioxydant	44
I. 3. 4. 1. Mode d'action	44
I. 3. 4. 2. Types d'antioxydants	44
I. 3. 5. Mécanisme de production et d'élimination des ROS dans l'organisme	45
I. 3. 6. Méthodes analytiques utilisées pour évaluer l'activité antioxydant	45
I. 3. 7. Facteurs influençant l'oxydation	46
I. 3. 7. 1. Stress oxydatifs et tabac	46
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	47
<b>I. 4. TABAC ET CIGARETTE</b>	<b>49</b>
I. 4. 1. Définition	49
I. 4. 1. 1. Tabac	49
I. 4. 1. 2. Cigarette	50
I. 4. 2. Différentes classes de fumées de cigarette	50
I. 4. 2. 1. Courant principal ou Mainstream Smoke (MSS)	50

I. 4. 2. 2. Courant secondaire ou Sidestream Smoke (SSS)	51
I. 4. 2. 3. Courant tertiaire ou Exhaled Smoke (EXS)	51
I. 4. 3. Parcours des fumées au sein de la cigarette	52
I. 4. 4. Composition chimique de fumé de cigarette	52
I. 4. 5. Généralité sur les HAPs	53
I. 4. 6. La dépendance du tabac	56
I. 4. 7. Effet nocif de cigarette	56
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	58
<b>CHAPITRE II : MATÉRIELS ET MÉTHODE</b>	
<b>II. 1. MATÉRIEL VÉGÉTAL</b>	<b>59</b>
II. 1. 1. Récolte	59
II. 1. 2. Préparation du matériel végétal	60
II. 1. 3. Extraction des huiles essentielles	60
II. 1. 4. Mode opératoire et principe	60
II. 1. 5. Évaluation du rendement d'extraction des huiles essentielles de " <i>genévrier</i> " obtenue par hydrodistillation	61
II. 1. 6. Calcul du rendement	61
<b>II. 2. COMPOSITION CHIMIQUE</b>	<b>62</b>
II. 2. 1. Analyses par GC/MS	62
<b>II. 3. DOSAGE DES COMPOSES PHÉNOLIQUES TOTAUX</b>	<b>62</b>
II. 3. 1. Principe	62
II. 3. 2. Protocole opératoire	63
II. 3. 3. Méthode d'estimation	63
<b>II. 4. DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE PAR DES TESTS CHIMIQUES <i>IN-VITRO</i></b>	<b>63</b>
II. 4. 1. Piégeage du radical libre (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl : DPPH•)	64
II. 4. 1. 1. Principe	64
II. 4. 1. 2. Révélation par CCM	65
II. 4. 1. 3. Mode opératoire	65
II. 4. 1. 4. Expression des résultats	65
II. 4. 2. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power)	66
II. 4. 2. 1. Principe	66
II. 4. 2. 2. Mode opératoire	66

<b>II. 5. INHIBITION DE LA NICOTINE</b>	<b>67</b>
II. 5. 1. Extraction de la nicotine contenue dans le tabac	67
II. 5. 2. Principe	68
II. 5. 3. Mode opératoire	68
II. 5. 4. Tentative d'identification de la nicotine	69
II. 5. 4. 1. Méthode colorimétrique	69
II. 5. 4. 2. Protocole	69
II. 5. 4. 3. Méthode spectrophotométrique	69
II. 5. 5. Dosage de la nicotine	69
II. 5. 5. 1. Dosage par la méthode spectroscopique	70
II. 5. 5. 2. Mode opératoire	70
<b>II. 6. EFFET DES HUILES ESSENTIELLES ÉTUDIÉES SUR LE TAUX DE GOUDRON NEUTRE, ACIDE ET BASIQUE DE LA FUMÉE DE CIGARETTE</b>	<b>71</b>
II. 6. 1. Piégeage de la fumée de cigarette	71
II. 6. 1. 1. Dispositif de fumage et de collecte	71
II. 6. 2. Extraction des fractions goudronnées à partir de la solution benzénique	73
<b>II. 7. HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUE</b>	<b>75</b>
II. 7. 1. Extraction et purification	75
II. 7. 1. 1. Piégeage de la fumée de cigarette	75
II. 7. 1. 2. Partage entre hexane-éthanol et eau	75
II. 7. 1. 3. Chromatographique sur gel de silice	75
II. 7. 2. Prétraitement par l'huile essentielle	76
II. 7. 3. Analyse spectrophotométrique	76
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>77</b>
<b>CHAPITRE III : RÉSULTATS ET DISCUSSION</b>	
III. 1. Rendement en huile essentielle	79
<b>III. 2. ANALYSES PAR GC/MS</b>	<b>80</b>
III. 2. 1. <i>Juniperus oxycedrus</i> L.	80
III. 2. 2. <i>Juniperus phoenicea</i> L.	80
<b>III. 3. DOSAGE DES COMPOSES PHÉNOLIQUES TOTAUX</b>	<b>81</b>
<b>III. 4. ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE</b>	<b>82</b>
III. 4. 1. Test DPPH•	82
III. 4. 1. 1. Révélation par CCM	82

III. 4. 1. 2. Dosage spectroscopique	83
II. 4. 2. Test de FRAP	85
<b>II. 5. INHIBITION DE LA NICOTINE</b>	<b>89</b>
III. 5. 1. Extraction et identification de la nicotine de tabac	89
III. 5. 2. Résultat spectroscopique	91
III. 5. 3. Dosage de la nicotine	91
<b>III. 6. EFFET DES HUILES ESSENTIELLES ÉTUDIÉES SUR LE TAUX DE GOUDRON NEUTRE, ACIDE ET BASIQUE DE LA FUMÉE DE CIGARETTE</b>	<b>95</b>
<b>III. 7. HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUE</b>	<b>98</b>
III. 7. 1. Caractérisation des HAPs par l'UV	100
III. 7. 2. Interprétation des spectres obtenus	100
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	103
<b>CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVE</b>	<b>104</b>
<b>ANNEXES</b>	



# *INTRODUCTION GÉNÉRALE*



Le tabagisme est considéré comme l'un des principaux facteurs de risques associés aux mortalités et ses effets sur la société demeurent un fardeau intolérable. A vrais dire, le tabac est le seul produit légal qui tue un grand nombre de ses consommateurs [1].

Une étude statistique entre fumeurs, non-fumeurs et ex-fumeurs quantifiant les effets du tabagisme sur l'espérance de vie et ses conséquences sur la santé durant les années vécues, à révéler que les fumeurs vivent en moyenne près de huit ans de moins que les non-fumeurs. Les ex-fumeurs limitent la casse, avec un peu plus de deux ans et demi de moins de vie en moyenne. C'est un fait incontestable, fumer tue et constitue un facteur de risque aggravant l'état de santé. [2]. L'organisation mondiale de la santé (OMS), estime que la consommation de tabac est actuellement responsable de près de 6 millions de décès par an, soit un décès toutes les six secondes. Si des mesures strictes ne sont pas prises pour endiguer l'épidémie de tabagisme, ce chiffre pourrait atteindre 8 millions de décès par an d'ici 2030 [1]. Néanmoins, le fait de ne pas fumer, est souvent associé à une vie plus longue et en meilleure santé.

Il est à noter que plusieurs recherches ont montrés que les substances chimiques contenus dans la fumée de cigarette sont une cause majeure des cancers chez l'homme [3]. Ces molécules sont retenues dans les poumons, puis transférées à l'organisme sur des périodes de temps importantes, ce qui conduit à une exposition prolongée à leur toxicité [4]. En outre, ces recherches ont proposées aussi que les dommages de l'ADN et autre maladie chronique, ainsi que le stress oxydatif sont dus à cette fumée qui contient des milliers d'espèces biologiquement réactives [5].

Il reste encore beaucoup à faire en termes d'expliquer les effets néfastes des autres composants tabagiques. Par exemple, une dose élevée de nicotine peut induire une neurotoxicité et stimuler le stress oxydatif [6]. On cite aussi les hydrocarbures aromatiques (HAP) qui sont une famille de polluants atmosphériques issus de la combustion incomplète de la matière organique. La fumée de tabac ainsi que certaines activités industrielles sont les principales sources d'émission environnementale de ces HAPs. Certains d'entre eux sont connus ou suspectés d'être cancérigènes pour l'homme, à travers la formation de dommages à l'ADN. Pourtant, la majorité des études se sont focalisées sur l'étude d'un HAP pur alors que l'exposition est toujours en lien avec des mélanges [7].

Dans la perspective de lutter contre le stress oxydant et ses graves conséquences, d'inhiber la toxicité de certain composé de la fumée de cigarette et du fait que l'espérance de

vie croît avec un nombre grandissant de patients traités par des produits issus des plantes, une meilleure compréhension de l'interaction produit naturel-organisme humain est devenue primordiale à la pratique de la médecine et de la pharmacologie.

Donc, dans cette optique que s'oriente le présent travail qui constitue une partie de l'effort approvisionné par notre équipe de recherches dans le cadre de la valorisation de la flore locale. Donc nous avons opté pour l'évaluation des huiles essentielles extraites de deux espèces de "Juniperus" appartenant à la famille des cupressacées et poussant de façon spontanée dans la région de Tébessa : "*Juniperus phoenicea* L." et "*Juniperus oxycedrus*".

Les recherches bibliographiques que nous avons menées sur l'application que nous envisageant de réaliser *in-vitro* sur ces plantes ont montré l'absence de travaux antérieurs d'un côté, et de l'autre côté, cette évaluation constituera la suite de l'investigation faite *in-vivo* par notre équipe dans le même sujet l'année passée.

Ce travail a donc pour objectif général d'évaluer l'effet réducteur de la concentration de quelques produits toxiques contenus dans la fumée de cigarette, ainsi que leurs activités antioxydantes des huiles extraites du Juniperus. Pour cela, notre étude a été réalisée en trois parties :

- ✚ Dans un premier chapitre nous avons élaboré une synthèse bibliographique comportant des généralités sur les plantes médicinales, leurs compositions chimiques, leurs huiles essentielles et des différentes méthodes employées pour leur extraction ainsi que les domaines de leurs emplois, une description des plantes investiguées, pour voire la composition de la cigarette et ses effets néfastes.
- ✚ Le deuxième chapitre est dédié à la partie expérimentale de notre travail, où on décrit la méthode d'extraction des huiles essentielles, une estimation du temps de l'extraction, l'analyse de leurs compositions chimiques, l'étude de leurs activités antioxydantes. L'évaluation *in-vitro* du taux de réduction de quelques produits toxiques, a effets néfastes, contenu dans la fumée de cigarette grâce à l'addition des huiles extraites prennent la partie la plus consistante dans ce travail.
- ✚ Une discussion des résultats obtenus lors cette étude a été établie au dernier chapitre avec une présentation des perspectives.

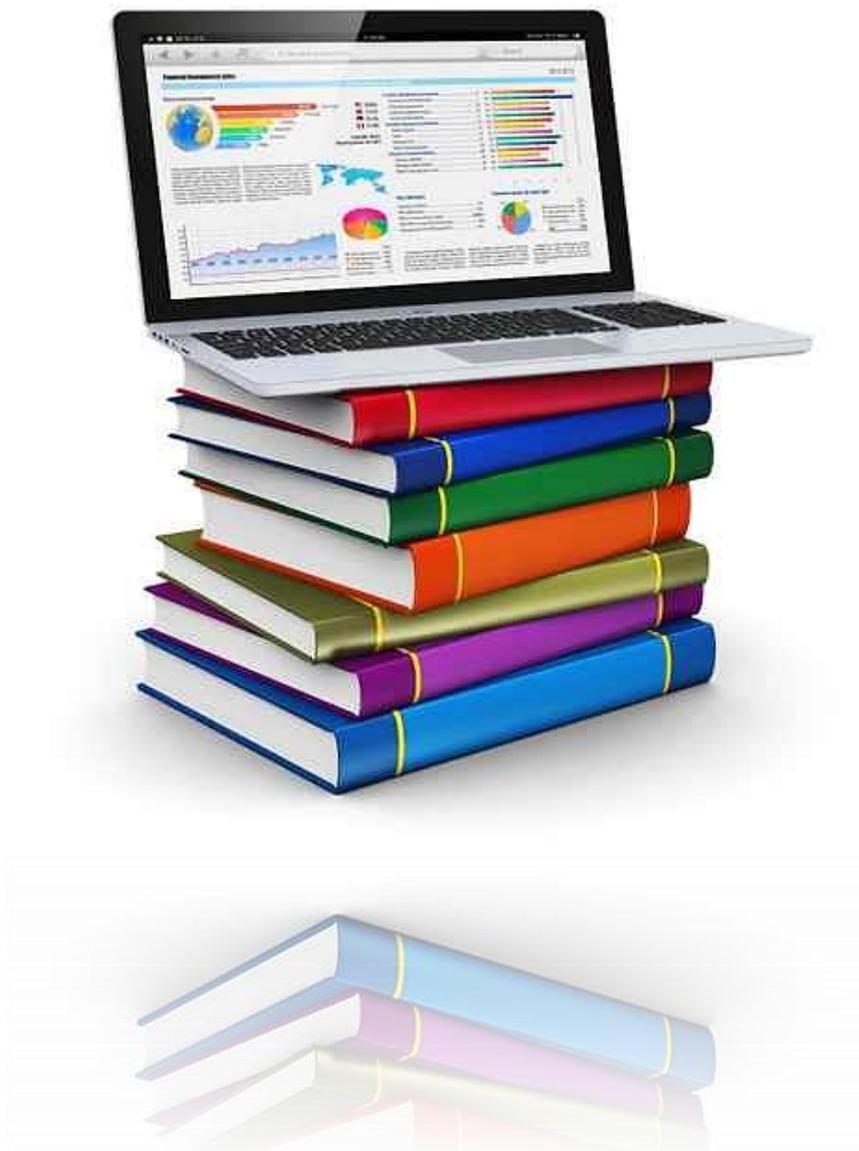
## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Date, E., *Tabac et cancers dans le monde*. Pancréas, 2008. **1**(63): p. 1-63.
2. Pison, G., *Pourquoi l'espérance de vie augmente-t-elle moins vite en France?* Population Societes, 2019(3): p. 1-4.
3. Zang, L.-Y., K. Stone, and W.A. Pryor, *Detection of free radicals in aqueous extracts of cigarette tar by electron spin resonance*. Free Radical Biology and Medicine, 1995. **19**(2): p. 161-167.
4. Schramm, S., *Étude de la composition de différentes fumées de cigarette associées aux tabagismes actif et passif*. 2012, Université de Lorraine.
5. Pryor, W.A., et al., *Fractionation of aqueous cigarette tar extracts: fractions that contain the tar radical cause DNA damage*. Chemical research in toxicology, 1998. **11**(5): p. 441-448.
6. Guan, Z.-Z., W.-F. Yu, and A. Nordberg, *Dual effects of nicotine on oxidative stress and neuroprotection in PC12 cells*. Neurochemistry international, 2003. **43**(3): p. 243-249.
7. Tarantini, A., *Modulation de la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges*. 2009, Université Joseph-Fourier-Grenoble I.

# *CHAPITRE I :*

## *Synthèse*

## *Bibliographique*





*Première partie :*  
*Plantes médicinales*  
*§*  
*Huiles essentielles*



## **I. 1. GÉNÉRALITÉS SUR LES PLANTES MÉDICINALES ET LES HUILES ESSENTIELLES**

### **I. 1. 1. Plantes médicinales**

La nature est une gigantesque armoire à pharmacie dont les médicaments ne demandent qu'à être découverts. Ces produits naturels issus de plantes et d'animaux[1-3], sont à la base des traitements de plusieurs maladies humaines.

Avant l'avènement de la chimie de synthèse, les plantes étaient bien connues comme source naturelle principale de remèdes. Aujourd'hui encore, les plantes médicinales sont utilisées comme source essentielle de médicaments pour l'apaisement ou la guérison dans le monde entier; dans certaines régions et selon l'OMS, jusqu'à 80 % de la population dépend de ces richesses naturelles[4].

Les plantes médicinales sont actuellement en continuelle demande et leur approbation augmente progressivement. Sans aucun doute, ce don divin joue un rôle important en fournissant des services essentiels dans les écosystèmes et sans plantes, les humains et certaine autres organismes vivants ne peuvent pas existé et vivre de la façon dont la vie devrait être [5].

#### **I. 1. 1. 1. Historique**

On peut dire qu'avant l'histoire et depuis que les premiers humains, ont reconnu et exploité les plantes qui les entourent, pour les employées comme combustible, vêtements, abris et nourriture, ils ont plus ou moins pris conscience de leurs propriétés remarquables [5-7].

Les propriétés curatives des plantes ont été découvertes par hasard, sans doute par les premiers hommes dans la quête de la nourriture quotidienne. L'observation selon laquelle les animaux favorisaient certaines plantes, lorsqu'elles étaient blessées ou malades peut avoir aidé à guider l'homme primitif dans la recherche de remèdes pour ses maux. La première utilisation documentée de plantes médicinales se trouve dans les premières cultures égyptiennes et asiatiques [8].

Les égyptiens possèdent une connaissance approfondie des plantes dérivées de leur technique d'embaumement. La connaissance des vertus des plantes médicinales s'est ensuite répandue en Grèce et dans d'autres pays de l'ancien monde occidental. Les Dioscorides grecs ont rigoureusement collecté des informations sur 600 plantes et remèdes et les ont recueillies dans "**Materia Medica**". Au moyen âge, les plantes médicinales ont commencé à être

cataloguées selon leur action thérapeutique et des écoles de médecine comme celle de Salerne, en Italie, ont publié le livre "**Ortus Sanitatis**" [8].

Au cours des XVIII<sup>e</sup> et XIX<sup>e</sup> siècles, les plantes et les médicaments bruts étaient encore utilisés comme poudres, extraits ou teintures. Il est à signaler qu'au cours de cette période, l'isolement et l'identification chimique des composés pharmacologiquement actifs des médicaments bruts ont commencé. Par exemple, la morphine a été isolée en 1803, la strychnine en 1817, la quinine et la caféine en 1820, la nicotine en 1828, l'atropine en 1833, la cocaïne en 1855 et les glycosides en 1868. Le XX<sup>e</sup> siècle était caractérisé par le développement de la chimie de synthèse, qui a commencé à générer un flux de nouveaux médicaments purs qui étaient les meilleurs et les plus ardents et dont la qualité pouvait être facilement contrôlée [8].

### **I. 1. 1. 2. Définitions**

#### **a) Plantes médicinales**

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques, cela signifie qu'une de ses parties (feuille, bulbe, racine, graines, fruits ou fleurs) peut être employée dans le but de guérir [9].

Dans le domaine de la phytochimie, les plantes médicinales ont été caractérisées pour leur composés bioactifs [10], qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces composés actifs ont été étudiés et reproduits synthétiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments [11].

Les plantes médicinales contiennent généralement des mélanges de différents composés chimiques qui peuvent agir indépendamment, additivement ou en synergie avec d'autres produits pour améliorer l'état de santé d'un individu [12].

#### **b) Phytothérapie**

La phytothérapie est l'art d'utiliser les plantes pour se soigner. Du grec "**Phyton**" qui signifie plante et "**Therapein**" qui signifie soigner, il s'agit donc d'une thérapeutique allopathique (c'est-à-dire soigner par des substances qui ont l'effet inverse à la pathologie dont souffre le patient) destinée à prévenir et traiter des troubles fonctionnels et des états pathologiques bénins, par des plantes médicinales dénuées de toxicité dans les conditions normales d'utilisation [13].

### c) Aromathérapie

L'aromathérapie peut être définie comme l'utilisation thérapeutique de substances aromatiques extraites de plantes [14]. Elle consiste à l'emploi des huiles essentielles, obtenues à partir de plantes aromatiques, pour favoriser la santé et le bien-être. Cet ancien art est devenu de plus en plus populaire et est utilisé comme une activité de loisir qui permet aux personnes souffrant de déficiences profondes et multiples, de ressentir un toucher relaxant et apaisant avec des huiles parfumées [15].

### I. 1. 2. Huiles essentielles

Grâce à leurs propriétés odorantes, les plantes aromatiques parmi les plantes médicinales ont attirées l'attention de nombreux scientifiques et chercheurs, pour leurs utilisations dans divers secteurs économique, comme l'industrie de la parfumerie, des produits cosmétiques, alimentaire et pharmaceutique...etc. A vrai dire, la première chose qui vient à l'esprit lorsque nous entendons parler de ce type de plante est les huiles volatiles.

Alors, quelle est cette matière à laquelle les scientifiques ont accordé beaucoup d'attention, en particulier ces derniers temps et qui est toujours une cible pour de nombreuses recherches, même si elle est employée depuis l'antiquité ?

#### I. 1. 2. 1. Définition

Les huiles essentielles (**HEs**) sont des composés complexes, volatils, rarement colorés, responsables de l'odeur caractéristique de la plante. Ces composés sont synthétisés naturellement par les plantes aromatiques et sont appelées communément essence végétale, huile aromatique, ou encore huile volatile [16]. Ces **HEs** considérées comme des métabolites secondaires du métabolisme végétal, se font connaître progressivement pour leurs vertus thérapeutiques et deviennent alors des remèdes courants des médecines traditionnelles.

#### I. 1. 2. 2. Propriétés organoleptiques et physico-chimique

Les **HEs** sont des liquides à la température ordinaire parfois huileux mais ne sont pas des corps gras, ce qui les différencie des huiles fixes, incolores ou jaune pâle, volatiles, odorantes et inflammables [17]. Ces composés ont une faible masse moléculaire comprise entre 30 et 300 g/mol. De plus, ces mélanges complexes contiennent parfois une fonction alcool, cétone, époxyde, acide ou peroxyde. Il est à rappeler qu'au-delà d'une fonction oxygénée, la formation de liaisons hydrogènes intermoléculaires fait perdre en partie, ou totalement le caractère volatil d'une substance chimique [18].

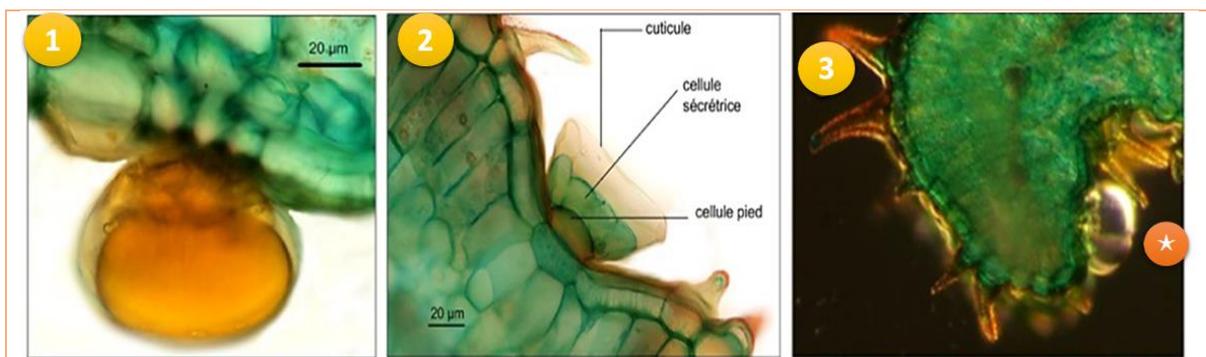
Les **HEs** sont lipophiles, solubles dans les solvants organiques [19] et ont une densité généralement inférieure à celle de l'eau, sauf les **HEs** de sassafras, de girofle et de cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée [20].

Il est impossible de prédire l'odeur exacte d'une molécule à partir de sa structure. Ses propriétés gustatives et olfactives dépendent non seulement de sa formule chimique et de son isomérisation, mais également de sa chiralité. Par exemple : la (+)-carvone issue des graines de *carvi*, a une odeur de cumin alors que la (-)-carvone, issue de *Mentha spicata*, a une odeur de menthe [18].

### **I. 1. 2. 3. Répartition et localisation**

Les **HEs** existent presque dans tous les végétaux supérieurs et peuvent être stockées dans tout organes de ces végétaux [16].

Ces essences naturelles sont normalement formés dans des cellules spéciales, ou des groupes de cellules trouvés dans les feuilles et les tiges (Généralement concentrés dans une région particulière comme les feuilles, l'écorce ou les fruits) [21]. Les **HEs** se forment dans des cellules sécrétrices spécifiques dans le cytosol, où elles se rassemblent soit en gouttelettes comme des substances lipophiles, soit elles s'accumulent dans les vacuoles des cellules épidermiques ou des cellules du mésophyle des pétales[22, 23]. Les cellules sécrétrices qui sont des structures histologiques spécialisées, servant à la synthèse des **HEs** et à leur stockage. Ces cellules souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante, se trouvent rarement à l'état isolé, mais le plus souvent regroupées dans des poches (Myrtacées, Rutacées), dans des canaux sécréteurs (Apiacées), ou dans des poils sécréteurs (Lamiacées) [24]. Un exemple de ces structures est illustré dans la figure 01, en exposant la forme de poils sécrétrice du *Thymus vulgaris*.



**1-Poil sécréteur contenant une goutte d'huile essentielle.**

**2-Poil sécréteur ayant libéré son HE.**

**3-Coupe transversale de l'extrémité d'une feuille avec ses poils tecteurs.**

**★-Un poil sécréteur rempli d'HE.**

**Figure 01 :** Exemple sur la forme de poils sécrétrice du *Thymus vulgaris* [25].

#### I. 1. 2. 4. Biogénèse et composition chimiques

En raison de leur complexité, les **HEs** peuvent contenir plus de 300 composés différents [26]. Il est à noter que plus de 3500 constituants contenus dans les composés, ont été isolés [16], cependant, on en trouve seulement trois jusqu'à cinq ou un peu plus de composants majoritaires caractéristiques de chaque huile, avec des concentrations assez élevées (de 20 à 70 %), par rapport aux autres composants présents à l'état de traces [27].

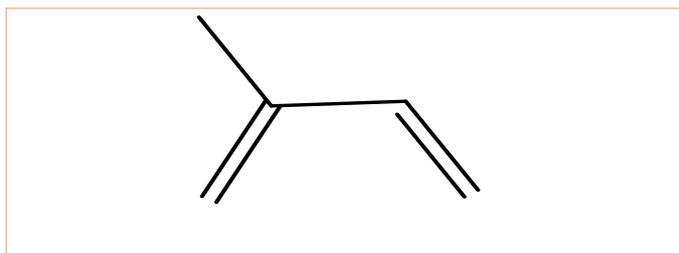
Ces constituants se répartissent en deux classes chimiques principales entièrement distinctes : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes appelés composés aromatiques[28]. En outre, il y a aussi une troisième classe qui n'est pas très importante comme les deux premières et est constituée de dérivés divers issus de processus de dégradation [16], ou certains dérivés d'acides gras [29].

Biogénétiquement, les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes proviennent de différents précurseurs métaboliques primaires et sont générés par des voies de biosynthèse totalement différentes. La biosynthèse des terpènes consiste en la synthèse du précurseur isopentényl-diphosphate (**IPP**), utilisé pour former le précurseur prényldiphosphate des différentes classes de terpènes. La modification des synthétases spécifiques du prényldiphosphate allylique du terpène, formera le squelette terpénique et la modification enzymatique terpénique (réaction redox) du squelette va attribuer des propriétés fonctionnelles aux différents terpènes [19].

Cependant, les mécanismes biochimiques de la synthèse des huiles et des phénylpropanoïdes, ne sont connus que dans une mesure très limitée [23].

### I. 1. 2. 5. Composés terpéniques

Les terpènes sont des hydrocarbures qui représentent les principaux composants des **HEs** et qui se produisent beaucoup plus fréquemment en abondance. Leur particularité structurale la plus importante se manifeste par la présence d'une unité isoprénique (**C5**) dans leur squelette de base (**Fig. 02**) [16]. Plusieurs classes de terpènes sont distinguées, les principaux sont : les monoterpènes (**C10**), formés à partir du couplage de deux unités d'isoprène et les sesquiterpènes qui sont formés de l'assemblage de trois unités d'isoprène (**C15**). Ce sont les molécules les plus représentatives des **HEs** (Avec un pourcentage de 90 %). Le tableau 01 comportera des composés avec plusieurs fonctions contenus dans les **HEs**. Comme le montre ce tableau, l'extension de la chaîne terpénique augmente le nombre de cyclisations, ce qui permet une grande variété de structures[28]. Exceptionnellement, quelques diterpènes (**C<sub>20</sub>H<sub>32</sub>**), peuvent se retrouver dans les huiles essentielles [26]. Les composés notés terpénoïdes sont les terpènes qui comportent dans leur squelette de l'oxygène [19].



**Figure 02** : Isoprène (méthyl-2-buta-1,3-diène).

#### a) Composés aromatiques dérivées du phénylpropane

Les composés aromatiques dérivant du phénylpropane (**C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>**), peuvent contenir différentes fonctions (**Tab. 01**) et sont moins fréquents que les terpènes dans les **HEs** [28]. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, le clou de girofle, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres, auxquels elle donne leurs goûts et odeurs caractéristiques [26, 29].

#### b) Composés d'origine variée

Il existe un nombre non négligeable de composés volatils, issus de la dégradation des terpènes non volatils (C'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et des acides gras (Les petites molécules odorantes, comme le (3Z)- hexén-1-ol ou le décanal, qui sont obtenues à partir des acides linoléique et O-linolénique) [29]. Ces

composés sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions entraînant lors de l'hydrodistillation [19].

#### **I. 1. 2. 6. Chémotype ou HECT**

Le chémotype (ou chimiotype) définit la ou les molécules biochimiquement actives de l'HE, on parle ainsi d'HECT (Huile essentielle chémotypée). Cette mise en évidence est nécessaire car pour une même plante, l'essence synthétisée est biochimiquement différente, en fonction du biotope dans lequel elle se développe. Une plante aromatique peut donc fournir des HEs totalement différentes en fonction du lieu de récolte ou de l'origine géographique [30].

**Tableau 01** : Principaux composants des HEs.

Terpènes		Composés phénolique	Composés riches en soufre
Monoterpènes	Sesquiterpènes		
Carbures	Carbures	Aldéhyde	
<p><b>Acyclique :</b> myrcène, ocimène</p> <p><b>Monocyclique :</b> terpinènes, p-cimène, phellandrènes</p> <p><b>Bicyclique :</b> pinènes, - 3-carène, camphène, Sabinene</p>	<p>Azulène, b bisabolene, cadinenes, curcumenes, elemenes, farnesenes, zingiberene</p>	<p>Cinnamaldéhyde</p>	<p>Les principaux composants sont le monosulfure de diallyle, le disulfure de diallyle, le trisulfure de diallyle et le tétrasulfure.</p>
Alcools	Alcools	Alcool	
<p><b>Acyclique :</b> géraniol, linalol, citronellol,</p> <p><b>Monocyclique :</b> menthol, a-terpinéol, Carveol</p> <p><b>Bicyclique :</b> bornéol, fenchol, Chrysanthénol,</p>	<p>bisabol, cedrol, bnerolidol, farnésol, carotol</p>	<p>Alcool cinnamique</p>	
Aldéhydes	Cétones	Phénols	
<p><b>Acyclique :</b> géraniol,</p>	<p>germacrone, nootkatone,</p>	<p>Chavicol, eugénol,</p>	

### I. 1. 2. 7. Facteurs influençant la variabilité de la composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, cela leur confère la diversité dans leurs activités biologiques. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine naturelle (Génétique, climatique, etc...), ou technologiques (Mode de culture ou d'extraction de l'huile essentielle).

#### a) Origine naturelle

Les principaux facteurs intrinsèques et extrinsèques naturels qui influencent la composition et le rendement des huiles essentielles sont :

##### ➤ Organe de la plante

Chez une même espèce, il arrive que la composition chimique de l'huile essentielle diffère d'un organe à un autre. C'est par exemple le cas de la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum* Blume), dont les feuilles donnent une huile riche en eugénol et les écorces fournissent un extrait où l'aldéhyde cinnamique est majoritaire [31].

##### ➤ Facteur génétique de la plante

Plusieurs facteurs génétiques tels que : l'hybridation et la mutation, ont une influence marquante sur la variabilité de la composition des huiles essentielles [20].

##### ➤ Chémotype

Les composés chimiques présents dans une **HE** ne sont pas constants. Deux plantes identiques, morphologiquement et caryologiquement, peuvent produire des essences différentes. Ces différences de composition peuvent être extrêmement importantes et changer les propriétés de l'huile essentielle du tout au tout [32].

##### ➤ Conditions environnementales

En plus de ce qui a été cité précédemment, la température, la quantité de lumière, le taux d'humidité, la composition du sol et les conditions édaphiques, peuvent autant influencer la variabilité de la composition chimique d'une plante aromatique donnée [29, 33]. Les conditions environnementales auxquelles la plante est exposée, jouent sur l'expression des gènes de la plante en modifiant ainsi, le développement de la biomasse et l'aiguillage de chaque voie métabolique, tant pour le métabolisme primaire que secondaire. Cet impact sur la production de l'huile essentielle est plus ou moins important selon les espèces. L'influence des facteurs climatiques, semble plus grande chez les espèces dont les structures de stockage se trouvent à la surface du végétal, comme par exemple les poils sécréteurs des Lamiacées.

La qualité de l'essence sera plus constante si elle se trouve dans des tissus plus profonds. En outre, l'origine géographique de l'espèce joue aussi sur sa sensibilité aux facteurs climatiques [32].

➤ **Stade végétatif**

La récolte doit avoir lieu pendant le stade végétatif, où la plante est plus riche en essence. Ce moment varie d'une plante à une autre ; par exemple, la menthe doit être récoltée avant la floraison, c'est-à-dire avant qu'elle ne développe des cétones toxiques [34].

**a) Origine technologique**

Le mode de récolte, les conditions de transport, de séchage et de stockage, peuvent générer des dégradations enzymatiques. Néanmoins, les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation, sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (pH, température et lumière) et de la durée d'extraction. D'autres facteurs tels que les traitements auxquels on peut procéder avant ou pendant l'hydrodistillation (Broyage, dilacération, pression ou agitation), contribuent à la variation du rendement et de la qualité d'une **HE** [35].

**I. 1. 2. 8. Procédés d'extraction**

Depuis l'antiquité, et dû à leur simple protocole, les procédés d'hydrodistillation et d'extraction à la vapeur, sont les plus utilisés. Ces procédés respectueux de l'environnement, peuvent produire de l'huile de qualité acceptable et sont relativement sûrs à utiliser par rapport à d'autres. En raison de leurs emplois dans de nombreuses industries telles que, les industries pharmaceutiques et cosmétiques et dû à leurs rendements très faibles (de l'ordre de 1 %) [36, 37], ces **HEs** nécessiteraient des techniques d'extraction à haute performance, afin d'atteindre des rendements plus élevés. Diverses techniques ont été développées, notamment l'extraction par solvant ou par l'emploi de fluide supercritique, l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur, ainsi que d'autres combinaisons entre différentes techniques, telles que les ultrasons et les micro-ondes, qui représentent des processus assistés. Aucun de ces processus n'est universel ; en effet, chaque procédé présente des avantages et des inconvénients particuliers lorsqu'il est utilisé pour un matériau particulier [37].

**a) Choix de la méthode**

La diversité et la complexité des huiles essentielles, rendent le choix du processus de leur obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les

composés polaires et apolaires, ni à induire des réactions biochimiques, ou des dégradations thermiques, par oxydation, par réduction ou par hydrolyse. En plus, ce choix doit conserver leur valeur de pH, ainsi que leurs composés volatils. Pour cela, différents paramètres sont à prendre en considération [38].

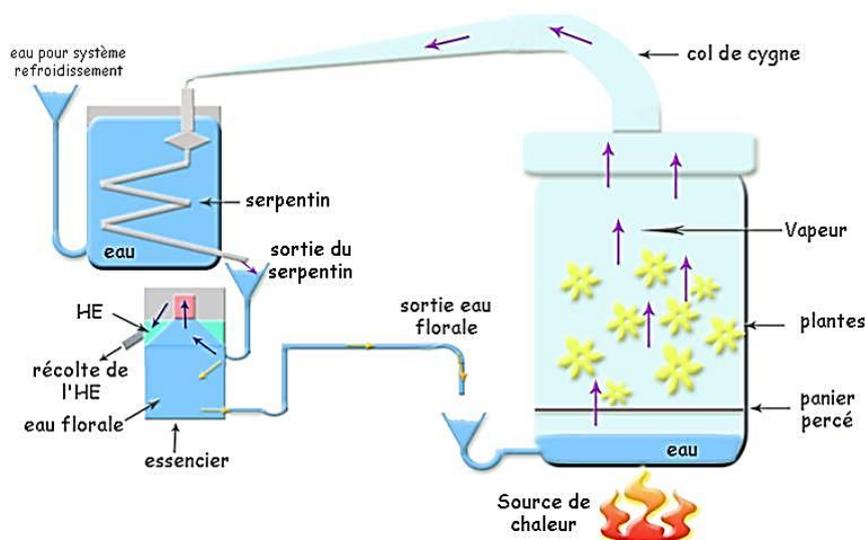
➤ **Distillation**

Le principe de distillation a été employé depuis longtemps, par les Grecs et les Egyptiens et s'est perfectionné durant la civilisation arabe à partir du VIII<sup>e</sup> siècle [39]. La distillation est l'un des procédés d'extraction les plus simples, il est basé sur l'évaporation des constituants volatils des produits bruts, au moyen de la chaleur, puis de leur condensation par le refroidissement [40].

➤ **Extraction par entraînement à la vapeur d'eau**

La distillation par entraînement à la vapeur d'eau, est l'une des techniques les plus économiques, inventée par les Arabes entre le VIII<sup>e</sup> et le X<sup>e</sup> siècle [40]. Dans cette méthode d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils, sont condensées puis décantées. L'injection de vapeur se fait à la base de l'alambic (**Fig. 03**) [35].

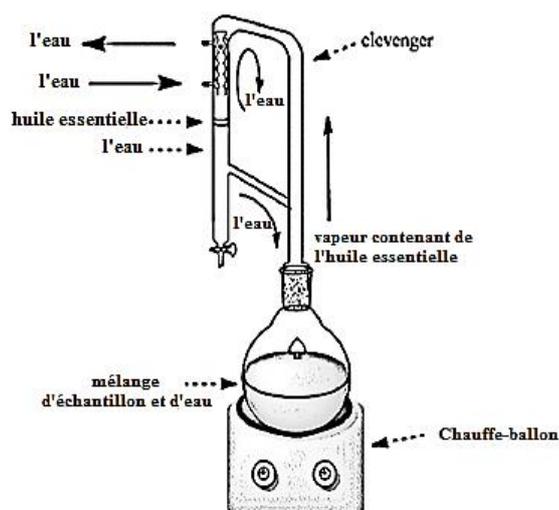
L'avantage de cette technique, c'est qu'elle ne met pas en contact direct l'eau avec la matière végétale à traiter. Les produits à distiller (Fleurs, herbes ou feuilles), sont placés dans la cucurbitule sur des plateaux perforés, puis l'eau du bain-marie contenue dans un double fond de la cuve, est portée à ébullition. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules s'éclatent et libèrent l'huile essentielle, qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange (Eau/ **HE**). Ce dernier, s'échappe par le col de cygne, puis passe dans le serpentin, où il est condensé par le contact d'eau froide. Le distillat obtenu, recueilli dans un vase florentin, décante en deux phases par différence de densité [40]. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale et entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse, ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile obtenue [36].



**Figure 03 :** Illustration d'une extraction par entraînement à la vapeur d'eau.

### ➤ Hydrodistillation

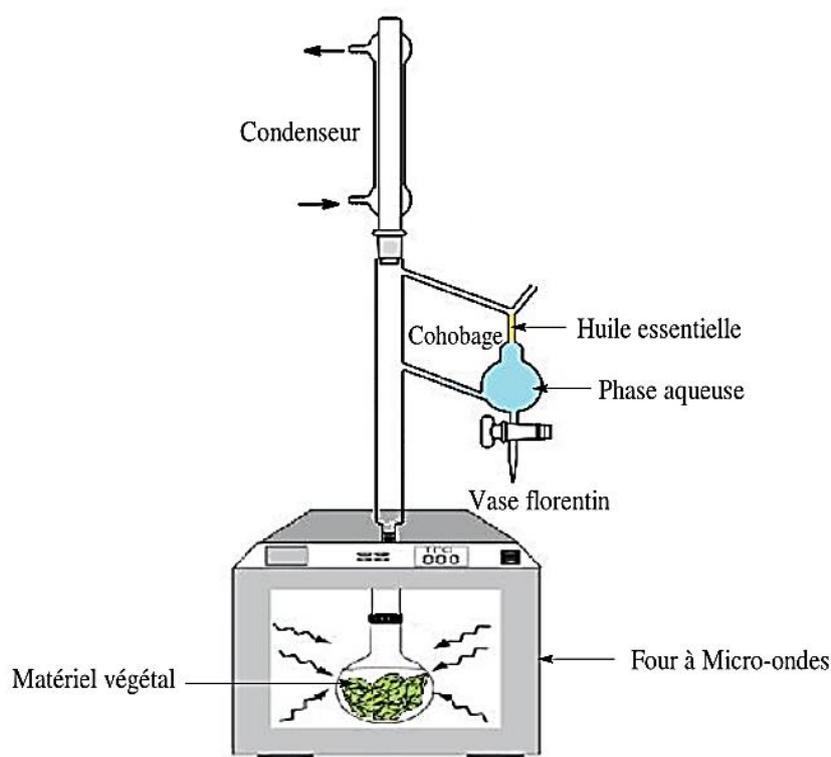
L'hydrodistillation est basée sur l'entraînement des substances volatiles présentes dans les plantes, grâce à la vapeur d'eau. Une quantité, bien déterminée du matériel végétal (broyer), est portée à ébullition dans de l'eau distillée, généralement pendant trois heures, de ce fait les cellules végétales éclatent et libèrent leurs contenus. La vapeur dégagée, chargée de l'eau et des huiles, se condense pour former deux phases et par la différence de densités, les huiles se déposent au-dessus de l'eau (**Fig. 04**) [35]. L'HE obtenue est séparée de la phase aqueuse à l'aide d'une seringue après la congélation du mélange.



**Figure 04 :** Représentation de l'équipement d'hydrodistillation avec collecteur "Clevenger".

### ➤ Hydrodistillation assistée par micro-ondes

L'hydrodistillation assistée par micro-ondes, est un procédé basé entièrement sur le principe de l'hydrodistillation classique, dont une partie du montage est installée dans un four à micro-ondes, et l'autre partie se compose d'un système de réfrigération relié à la partie destinée à récupérer les essences, située à l'extérieur du four (**Fig. 05**). La matière végétale est donc placée en présence d'une quantité d'eau suffisante dans le réacteur disposé dans l'enceinte du four à micro-ondes. D'autres recherches sont menées sur l'extraction des métabolites secondaires, dans l'optique de développement de technologies innovantes à savoir : l'étude de l'extraction par micro-ondes sans l'usage de solvant. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation (Ramenée à quelques minutes) et d'incrémenter le rendement d'extrait [35].



**Figure 05 :** Représentation d'une distillation par micro-ondes [41].

### ➤ Hydrodistillation assistée par ultrasons

Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation des constituants des huiles essentielles. Dans certains cas, les rendements en huile essentielle sont augmentés et les cinétiques sont accélérées, suite à l'association de cet instrument. Une unité d'hydrodistillation équipée d'une fontaine d'ultrasons peut accélérer l'ébullition, mais ne dégonflent pas les bulles et de ce fait, ces ultrasons ne sont pas une bonne option pour les

procédés par ébullition. Cependant, l'extraction assistée de cet outil, est une technique de choix pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction basses (Inférieures au point d'ébullition de l'eau). L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction, d'augmenter le rendement en extrait et de faciliter l'extraction de molécules thermosensibles [35].



**Figure 06 :** Montage d'hydrodistillation assistée par ultrasons [42].

➤ **Distillation sèche (ou pyrogénéation)**

Contrairement à la distillation classique, la distillation sèche consiste à chauffer directement la matière végétale sans additionner d'eau, entraînant avec elle les particules d'essence et la vapeur d'eau libérée par la plante, pour se condenser afin d'être recueillies. Cette technique est utilisée pour obtenir une huile essentielle empyreumatique (Arôme de fumée), à partir de bois (Tel que le cade ou le bouleau), d'écorces ou de racines [43].

➤ **Expression à froid**

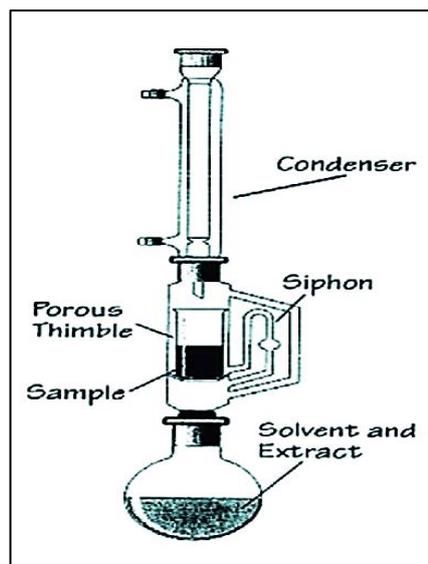
L'expression à froid est une technique simple réservée à la famille des hespéridés (Citron, orange...), dont les huiles essentielles sont contenues dans les petites glandes de leur écorce. La technique utilisée consiste à racler, presser, piquer les cellules oléifères manuellement ou à l'aide de machines tels que des presseoirs ou des centrifugeuses [43]. On rappelle que les technologies actuelles traitent les fruits entiers ou seulement les écorces. Les écorces de fruits sont forcées dans un couloir de plus en plus étroit, sous de violents jets d'eau. Roulés et pliés, leurs tissus superficiels sont déchirés et l'essence est libérée de leurs poches

pour se faire entraîner par l'eau. La séparation de l'essence se fait par centrifugation. D'autres installations permettent en fait la récupération simultanée ou séquentielle des jus de fruits et de l'huile essentielle, celle-ci étant recueillie par jet d'eau après abrasion, avant ou pendant l'expression du jus de fruits. Tous ces procédés produisent l'essence en zeste très fin par rapport à la distillation [40].

➤ **Extraction par solvants volatils**

La technique d'extraction "Classique" par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur, pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé "Concrète". Cette concrète pourra être par la suite, brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après une dernière concentration, on obtient une "Absolue". Les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysant de l'eau ou de la vapeur d'eau. Du fait de l'utilisation de solvants organiques, cette technique présente toutefois des inconvénients qu'il est important de noter. En effet, l'intervention de solvants organiques peut entraîner des risques d'artéfacts et des possibilités de contamination de l'échantillon par des impuretés parfois difficile à éliminer. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, comme il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. Parmi les solvants les plus utilisés, on recense : le méthanol, l'éthanol, l'éther de pétrole ou encore le dichlorométhane [36]. Cependant, depuis quelques décennies, l'extraction par solvant a connu d'intéressantes améliorations comme l'extraction par Soxhlet (**Fig. 07**).

L'extraction par cet appareil, consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours neuf puisque distillé à chaque cycle. Cette technique est loin d'être exclusive aux molécules aromatiques d'origine végétale. Elle est fréquemment utilisée pour l'extraction de lipides, ou de diverses autres catégories de molécules. De plus, cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes [24] et aux ultra-sons [36].



**Figure 07:** Représentation d'un montage à extraction par l'appareil de Soxhlet [44].

#### ➤ Extraction par des techniques innovantes

Les techniques d'extraction traditionnelles peuvent affecter la qualité de l'huile essentielle, en raison de la dégradation des composés thermolabiles, ainsi que l'hydrolyse et l'hydro solubilisation de certains composés. En effet, le profil de saveur et de parfum de plusieurs huiles essentielles isolées par ces techniques traditionnelles peut être modifié en les utilisant.

Pour surmonter ces limites, une nouvelle technique d'isolement, qui est celle de l'extraction par l'emploi de fluide supercritique (EFS), basée sur le pouvoir solvatant des fluides supercritiques, a été utilisée ces dernières années comme alternative[45].

Cette technique repose sur le comportement du solvant utilisé sous des conditions particulières, comme le point critique, qui est caractérisé par une température ( $T_c$ ) et une pression ( $P_c$ ). De ce fait, les corps purs se trouvent dans un état particulier dit supercritique. Dans leurs conditions d'utilisation, les fluides supercritiques ont une masse volumique voisine de celle des liquides, une viscosité proche de celle des gaz et une diffusivité intermédiaire ; leur polarité est modifiée par rapport à l'état liquide et leur pouvoir dissolvant dépend fortement de la température et de la pression [38].

#### ➤ Extraction par fluide supercritique ( $\text{CO}_2$ )

Cette technique d'extraction respectueuse de l'environnement, est très appropriée pour obtenir différents extraits de plantes avec une meilleure qualité (Figure 08). Le fluide supercritique le plus utilisé est le  $\text{CO}_2$ , car il permet des opérations supercritiques, à des pressions relativement basses ( $P_c = 73,6$  bar) et des températures ( $T_c = 31,4$  °C) proches de

la pièce à extraire, en donnant un extrait exempt de solvant. Le  $\text{CO}_2$  est thermodynamiquement stable, insipide, inodore et incolore, il est ininflammable mais peut être asphyxiant à haute concentration [38]. L'inconvénient le plus sérieux de ce procédé, par rapport aux techniques traditionnelles d'extraction à pression atmosphérique, est le coût élevé de l'équipement [45].

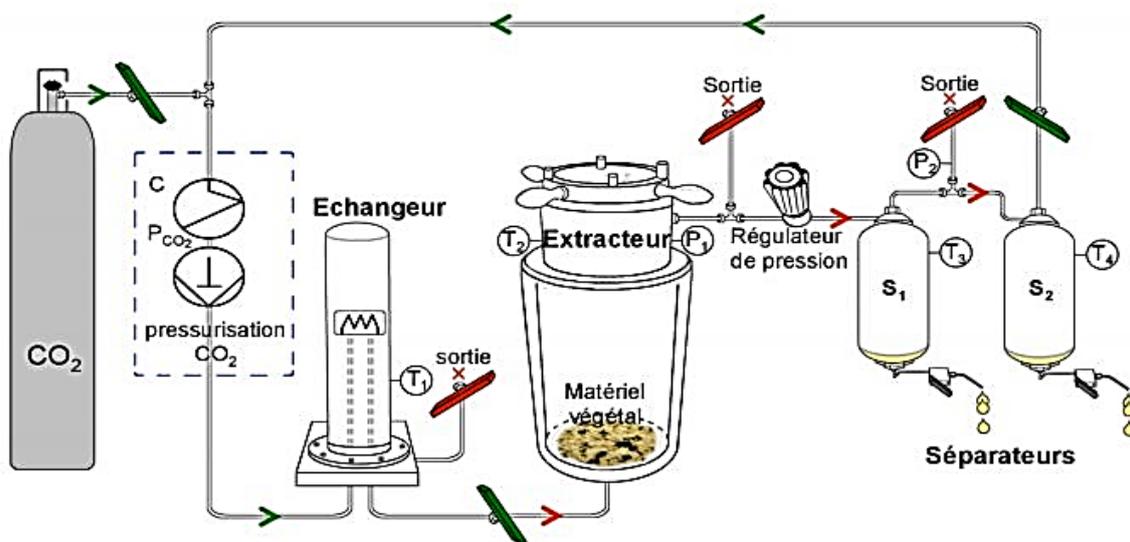


Figure 08 : Illustration de la technique d'extraction par  $\text{CO}_2$  supercritique [46].

### I. 1. 2. 9. Méthodes d'analyse des huiles essentielles

Pour déterminer leurs qualités, les huiles essentielles doivent comparer leurs caractéristiques, avec les critères définis dans des normes internationales **ISO** (International organisation for standardisation), ou françaises **AFNOR** (Association française de normalisation). Ainsi, leurs propriétés organoleptiques et physiques sont contrôlées, à savoir : la coloration, l'odeur, l'indice de réfraction, la solubilité et le point d'éclair, ainsi que leurs propriétés chimiques telles que, l'indice d'acide et d'ester. L'analyse des huiles essentielles est une opération délicate, qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques. La meilleure carte d'identité qualitative et quantitative d'une huile essentielle reste cependant, son profil chromatographique, réalisé par la chromatographie en phase gazeuse (**CPG**), même si d'autres techniques alternatives sont utilisées [47]. Ce moyen d'analyse qui peut être coupler avec d'autres techniques spectroscopiques, comme la spectrométrie de masse (**SM**) et/ou la spectrométrie infra-rouge par transformée de Fourier (**IRTF**), permet l'identification des constituants par comparaison des données spectrales avec celles des produits de référence

contenus dans les banques de données [48]. Le schéma ci-dessous illustre le principe du couplage CPG/SM.

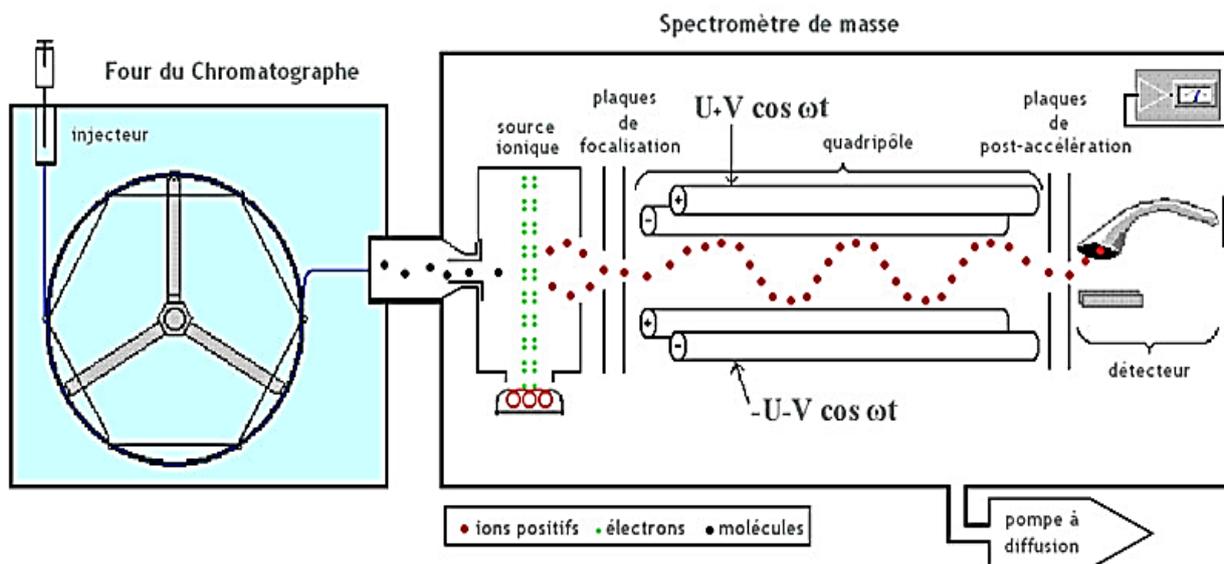


Schéma 01 : Principe du couplage CPG/SM [49].

### I. 1. 2. 10. Conservation des huiles essentielles

Pour préserver leurs qualités, les huiles essentielles doivent être conservées correctement. Avec le temps, elles s'oxydent, ce phénomène étant amplifié par la chaleur, l'air ou la lumière qui a par ailleurs une action néfaste et plus marquée sur les huiles essentielles et les oléorésines. Ce phénomène a été observé par De Cleyn dans le cas de la pipérine, qui sous l'action des rayonnements ultraviolet s'isomérisé en isochavicine (schéma 02) [31].

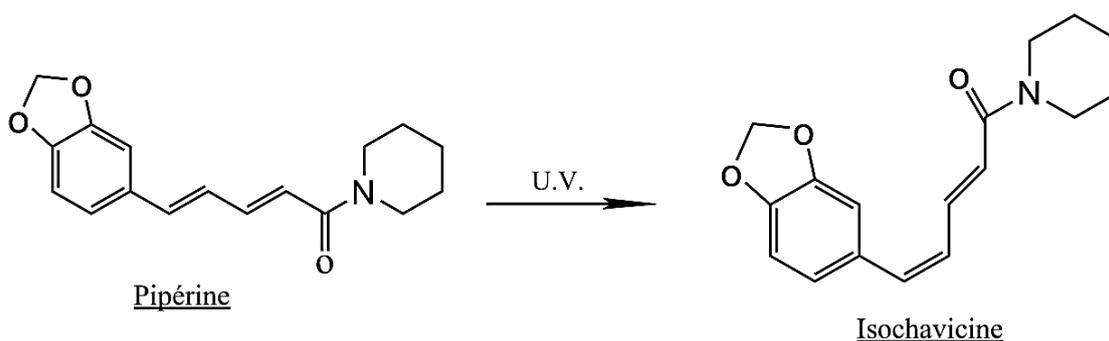


Schéma 02 : Transformation de la pipérine en isochavicine sous l'action des UV.

Il faut alors conserver ces huiles dans un endroit frais, à l'abri de la lumière, dans du verre brun ou de l'aluminium vitrifié et à une température de 4 à 6 °C. On rappelle qu'une essence bien distillée se conserve trois ans au moins [50].

### **I. 1. 2. 11. Toxicité des huiles essentielles**

Le terme "Produit naturel" ne doit jamais être utilisé comme signifiant de bienfaisant, ou sans danger pour l'organisme. Comme les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque [51], l'évaluation de leur toxicité est alors primordiale.

La toxicité de ces composés est variable en fonction de leurs compositions et de leurs voies d'administration. Ces **HEs** posent peu de problèmes à l'intérieur des plantes, cependant, leurs solutions concentrées peuvent être responsables de toxicité. C'est le cas de la sauge : la plante est en vente libre et utilisée comme aromate, alors que son huile essentielle est toxique et son utilisation réglementée [51, 52].

Certaines huiles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant (Huiles riches en thymol, ou en carvacrol), allergène (Huiles riches en cinnamaldhyde), ou photo-toxique (Huiles de citrus contenant des furacourmarines). Il existe quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancer, c'est le cas par exemple des dérivés d'allyldénzène, ou de propenylbenzène qui sont responsables de l'activité hépatocarcinogénique chez les rongeurs [53]. Paracelse, médecin chimiste allemand, écrivait déjà en 1538 : "Toutes les choses sont poisons, et rien n'est sans poison ; seule la dose détermine ce qui n'est pas un poison" [54].

### **I. 1. 2. 12. Fonction physiologique des composés volatils chez les plantes**

La fonction que jouent les composés volatils dans la plante reste obscure. La production d'huile dans la plante, font parties d'un système de protection non spécifique, dont les **HEs** jouent un rôle d'attraction d'insectes pollinisateurs. Certaines molécules volatiles émises par les fleurs, ainsi que par des parties végétatives, ont des propriétés antimicrobiennes, antifongique et pourraient donc jouer également un rôle de défense. Cependant, la synthèse de certains autres composés volatils qui se trouvent à l'état de traces, peut être induite par l'attaque de pathogènes ou d'herbivores dans diverses plantes. Plusieurs études démontraient que le terpène a une action directement répulsive contre le puceron herbivore. Ces molécules anti-herbivores peuvent également avoir une action indirectement répulsive en attirant les organismes ennemis des herbivores. Enfin, on peut dire qu'une plante agressée peut produire une quantité plus importante de l'**HE** [18, 51].

### **I. 1. 2. 13. Utilisations des huiles essentielles**

La richesse et la complexité de la composition chimique des huiles essentielles, les confèrent nombreuses propriétés, assurant leur emplois dans plusieurs domaines tels que : la

phytothérapie ou la pharmacologie, la parfumerie, la cosmétologie, l'agro-alimentaire, l'industrie chimique, ou encore la phytosanitaires.

### I. 1. 2. 14. Principales activités biologiques des huiles essentielles

Grâce à leurs complexités, leur diversité en composé chimiques, les huiles essentielles sont dotées de plusieurs activités biologiques relatives à leurs constitutions. Les principales activités sont résumées dans le tableau suivant [55] :

**Tableau 02** : Principales activités biologiques des HEs [55].

Activité biologique	Effet thérapeutique de l'HE	Les principaux constituants des HEs actifs
<p><b>Activité anti-infectieuse</b> <b>(Bactéricide, antivirale et antifongique)</b></p>	<p>Traitement des infections provoquées soit par une bactérie, un virus ou un champignon.</p>	<p><b>-Phénols monoterpéniques</b> : carvacrol et thymol, ainsi que l'eugénol – Aldéhydes <b>-Aromatiques</b> : cinnamaldéhyde. <b>-Alcools monoterpéniques</b> : géraniol, linalol, citronnellol, menthol, terpinène 1-ol-4. <b>- Aldéhydes monoterpéniques</b> : citrals (néral et géraniol), citronellal, cuminal <b>- Carbures monoterpéniques</b> : limonène, <math>\alpha</math>-pinène, terpinène... <b>-Epoxydes monoterpéniques</b> : 1-8 cinéole, oxyde de linalol</p>
<p><b>Activité antioxydante et anti-inflammatoire</b></p>	<p>Traitement de l'inflammation, qu'elle soit locale, générale ou cutanée. Elles constituent une alternative aux traitements proposés par la médecine conventionnelle.</p>	<p><b>-Aldéhydes monoterpéniques</b> : citrals, citronellal. <b>- Esters</b> : salicylate de méthyle (le plus anti-inflammatoire), acétate de linalyle, acétate de géranyle... <b>- Carbures sesquiterpéniques</b> :</p>

		$\beta$ -caryophyllène, $\alpha$ -farnésène, chamuzalène...
<b>Activité antihistaminique</b>	Inhibent la synthèse des leucotriènes (substances qui favorisent l'inflammation) et la libération de l'histamine (substance responsable des réactions allergiques). Elles sont par conséquent utilisées lors de réactions allergiques.	<b>-Le chamazulène :</b> Il est principalement retrouvé dans l' <b>HE</b> achillée millefeuille ( <i>Achillea millefolium</i> L., Astéracées) (jusqu'à 40 à 45%).
<b>Activité antalgique, analgésique et anesthésique locale</b>	Effet analgésique inhibe la douleur.	Le chamuzalène et autres carbures sesquiterpéniques, ainsi que le salicylate de méthyle et les esters monoterpéniques.
	Une activité anesthésiante locale, bloque la transmission de la douleur le long des nerfs de façon réversible.	Les <b>HE</b> riches en menthol sont les <b>HE</b> de menthe poivrée ( <i>Mentha piperita</i> ) (40 à 50%) et de menthe des champs ( <i>Mentha arvensis</i> ) (70 à 80%). Le camphre, le salicylate de méthyle .
<b>Activité spasmolytique</b>	Gérer le stress et favoriser le sommeil, mais également en présence de contractions musculaires, de crampes, de toux, de spasmes digestifs...	<b>-Esters monoterpéniques :</b> acétate de linalyle, anthranilate de méthyle... <b>- Alcools monoterpéniques :</b> linalol, géranol, $\alpha$ -terpinéol... <b>- Phénols monoterpéniques :</b> (carvacrol, thymol) et eugénol <b>-Ethers :</b> méthyleugénol, myristicine.

<b>Activité neurotrope (action au niveau du système nerveux)</b>	Peuvent calmer, détendre, faciliter le sommeil (action calmante, relaxante).	- L' <b>HE</b> de lavande fine ( <i>Lavandula angustifolia</i> ) potentialise l'immobilité. - L' <b>HE</b> de menthe poivrée est tonique.
<b>Activité antiparasitaire, insectifuge, insecticide, larvicide</b>	Insectifuges, insecticides et parasitocides, c'est à dire qu'elles éloignent ou tuent les insectes et les parasites.	-L'alpha-terpinéol, le camphène et l'alpha-pinène sont pédiculicides et également insecticides.
<b>Activité immunomodulatrice</b>	Les <b>HEs</b> sont très souvent à la fois immunostimulants et immunodépresseurs, c'est à dire qu'elles stimulent ou freinent les réactions du système immunitaire du corps.	Le bornéol

Parmi les familles les plus connues pour produire des **HEs**, il y a : Myrtacées, Rutacées ; Lauracées ; Lamiacées ; Astéracées ; Opiacée ; Cupressacées et Pipéracées [16]. Dans notre travail nous nous sommes concentrés sur les huiles essentielles de deux espèces de type *Juniperus* appartenant à la famille des Cupressaceae.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. G. Kpéra, G. Mensah, and B. Sinsin, "Utilisation des produits et sous-produits de crocodile en médecine traditionnelle au nord du Bénin," *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin*, vol. 44, pp. 1-12, 2004.
2. E. Bernus, "Maladies humaines et animales chez les Touaregs sahéliens," *Journal des Africanistes*, vol. 39, pp. 111-138, 1969.
3. S. Abayomi, *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*, 2010.
4. O. mondiale de la Santé, *Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle*,: Organisation mondiale de la Santé, 2013.
5. F. Jamshidi-Kia, Z. Lorigooini, and H. Amini-Khoei, "Medicinal plants: Past history and future perspective," *Journal of herbmed pharmacology*, vol. 7, 2018.
6. B.-E. Van Wyk and M. Wink, *Medicinal plants of the world*: Cabi, 2018.
7. A. Chevalier, "La culture des Azolla pour la nourriture des animaux de basse-cour et comme engrais vert pour les rizières," *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, vol. 6, pp. 356-360, 1926.
8. F. Capasso, T. S. Gaginella, G. Grandolini, and A. A. Izzo, *Phytotherapy: a quick reference to herbal medicine*: Springer Science & Business Media, 2003.
9. B. B. Petrovska, "Historical review of medicinal plants' usage," *National Institutes of Health*, vol. 6, pp. 1-5 January 2012.
10. D. P. Briskin, "Medicinal plants and phytomedicines. Linking plant biochemistry and physiology to human health," *Plant physiology*, vol. 124, pp. 507-514, 2000.
11. Y. Mahammed, "Extraction et purification d'une protéase coagulant le lait Extraite à partir du rhizome de gingembre (Zingiber Officinale Rosces)," 2016.
12. A. Gurib-Fakim, "Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow," *Molecular aspects of Medicine*, vol. 27, pp. 1-93, 2006.
13. A. Viossat, "Pathologies courantes à l'officine et allaitement maternel," 2013.
14. D. Baudoux, "Aromathérapie: définition et histoire de l'aromathérapie," ed: sn, 2015.
15. H. Sanderson, "Aromatherapy," in *Making Leisure Provision for People with Profound Learning and Multiple Disabilities* pp. 212-226, 1995.
16. T. Bouregaa, "Essais d'amélioration du taux de germination des semences de ferula lutea (poiret) M.: composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle," 2018.

17. B. Bayala, "Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes," 2014.
18. C. Gavira, "Production de terpènes fonctionnalisés par les cytochromes P450 de plantes recombinants," 2013.
19. F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, and M. Idaomar, "Biological effects of essential oils—a review," *Food and chemical toxicology*, vol. 46, pp. 446-475, 2008.
20. A. Bouguerra, "Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de foeniculum vulgare Mill," 2015.
21. J. Gutierrez, C. Barry-Ryan, and P. Bourke, "The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients," *International journal of food microbiology*, vol. 124, pp. 91-97, 2008.
22. O. Chouitah, "Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de Glycyrrhiza glabra," 2012.
23. N. Sangwan, A. Farooqi, F. Shabih, and R. Sangwan, "Regulation of essential oil production in plants," *Plant growth regulation*, vol. 34, pp. 3-21, 2001.
24. J. Kaloustian and F. Hadji-Minaglou, *La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*: Springer, 2012.
25. G. Asmaa, "Elaboration d'une carte de répartition de deux espèces appartenant au genre thymus et analyse de la composition chimiques des huiles essentielles extraites. Cas de Thymus Algeriensis Boiss. & Reut et de Thymus fontanesii Boiss. & Reut dans la région de Djendel-wilaya de Ain Defla," 2017.
26. M. Piochon, *Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse*: Université du Québec à Chicoutimi, 2008.
27. M. Moreira, M. Alvarez, and A. Ponce, "Essential oils," *Postharvest Management Approaches for Maintaining Quality of Fresh Produce*, Springer, 2016.
28. G. A. González-Aguilar, M. R. Ansorena, G. E. Viacava, S. I. Roura, and J. F. Ayala-Zavala, "Plant essential oils as antifungal treatments on the postharvest of fruit and vegetables," *Antifungal metabolites from plants*, Springer, 2013.
29. J. Bruneton, "Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. English," 1999.

30. A. Cuntzmann, "Neoscytalidium dimidiatum et huiles essentielles: vers une nouvelle piste thérapeutique?," 2017.
31. G. Figueredo, "Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne," 2007.
32. R. Deschepper, "Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie," 2017.
33. A. Bouguerra, "Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de foeniculum vulgare Mill," Thèse en doctorat de Biochimie., Université de constantine, 2012.
34. J. Frossard and A. Lacoïnte, "Les variations saisonnières de l'utilisation du carbone chez les arbres au stade végétatif, en zone tempérée (revue bibliographique)," *Bulletin de la Société Botanique de France. Actualités Botaniques*, vol. 135, pp. 9-24, 1988.
35. L. Lagunez Rivera, "Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe," 2006.
36. M.-E. Lucchesi, "Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles," 2005.
37. M. Romdhane and C. Tizaoui, "The kinetic modelling of a steam distillation unit for the extraction of aniseed (*Pimpinella anisum*) essential oil," *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, vol. 80, pp. 759-766, 2005.
38. N. Bousbia, "Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires," 2011.
39. L. Parfums, "Faculte de pharmacie institue des sciences ppharmaceutiques et biollogiques," 1987.
40. C. Girard, "Les parfums dans les produits cosmétiques," Université de Lorraine, 2013.
41. F. Chemat and M. E. Lucchesi, "Extractions assistées par micro-ondes des huiles essentielles et des extraits aromatiques," *Journal de la Société ouest-africaine de chimie*, pp. 77-99, 2005.
42. P. Hielscher, "Hydrodistillation ultrasonique d'huiles essentielles," 2014.
43. L. Parfums, "Faculte de pharmacie institut des sciences pharmaceutiques et biologiques," universite claude bernard-lyon 1, 1987.

44. G. Bhargavi, P. Nageswara Rao, and S. Renganathan, "Review on the Extraction Methods of Crude oil from all Generation Biofuels in last few Decades," IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2018.
45. J. P. Coelho, A. F. Cristino, P. G. Matos, A. P. Rauter, B. P. Nobre, R. L. Mendes, *et al.*, "Extraction of volatile oil from aromatic plants with supercritical carbon dioxide: experiments and modeling," *Molecules*, vol. 17, 2012.
46. N. Herzi, "Extraction et purification de substances naturelles: comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles," 2013.
47. Y. Fillatre, "Produits phytosanitaires: Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem," 2011.
48. J.-F. Cavalli, "Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar," Université Pascal Paoli, 2002.
49. J. Paolini, "Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM (IE et IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux *Asteraceae* endémiques de Corse: *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* et *Doronicum corsicum*," 2005.
50. A. Chaima and M. Fatiha, "Etude de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* L. Récoltée dans deux régions Mekhatria et Bathia," 2018.
51. V. Couderc, "Toxicité des huiles essentielles," 2001.
52. L. C. Véronique, "Toxicité des huiles essentielles," Université Paul-Sabatier, 1971.
53. R. Wafaa and K. Zeyneb, "Initiation à l'Elaboration d'une carte de répartition du genre *Thymus* et l'étude de la composition chimique des huiles essentielles de *Thymus Serpyllum* L. récoltée du massif Dahra Zaccar région d'El Amra-wilaya de Ain Defla," 2017.
54. T. Vetter, "L'enseignement médical à Strasbourg: Du Studium Cyclopaedium vers une faculté (1538-1621)," *Bulletin de la Société de l'Histoire du Protestantisme Français (1903-)*, vol. 135, pp. 98-115, 1989.
55. E. Duvillard, "Les parfums: utilisations thérapeutiques et reformulation," 2013.



*Deuxième partie :*  
*Présentation des plantes*  
*étudiées*



## **I. 2. PRÉSENTATION DES PLANTES ÉTUDIÉES**

Les Cupressacées (Cupressaceae) sont les plus répandus de toutes les familles des conifères appartenant à un groupe très ancien des gymnospermes, dont on trouve des traces dans les couches datant du Jurassique. Elle a été autrefois divisée entre les Cupressacées sensu stricto (Un genre avec des feuilles opposées dans quatre rangs) et les Taxodiacées (Feuilles alternées) [1].

Les Cupressacées sont des arbustes ou arbres résineux aromatiques, elles sont monoïques ou dioïques, avec de feuilles nombreuses, une écorce fibreuse et sillonnée (Lisse ou exfoliante chez certaines espèces de *Cupressus* et de *Juniperus*). Leurs feuilles sont en forme d'aiguille (Aciculaires) ou d'écaille (Squamiformes). Certaines d'entre elles n'ont qu'un seul type de feuille, tandis que d'autres portent les deux types sur un même pied, voire sur une même branche. Leurs cônes sont boisés, coriaces et parfois charnus et ressemblant à des fruits (Cas du *Juniperus*), portant un à plusieurs ovules et parvenant à maturité au bout de 1 à 2 ans[2, 3].

Les plantes de cette famille sont de taille petite à modérément grande, atteignant parfois un âge considérable, d'habitude monopodiale quand elles sont jeunes, le restant pendant une grande partie de leur vie ou devenant très irrégulières avec l'âge [3].

Les Cupressacées (cyprès) sont composées de 30 genres et 142 espèces (Dont 17 sont monotypiques), parmi ces derniers, le *Cupressus* (Cyprès), le *Juniperus* et le *Thuja*, sont les plus représentatifs, avec une distribution mondiale. Le genre le plus commun est le *Juniperus* [3].

### **I. 2. 1. Généralité sur les *Juniperus***

Le *Juniperus* ou genévrier, est le plus grand et diversifié genre de sa famille (Cupressaceae) et la deuxième des gymnospermes après *Pinus* L [4]. Les spécimens de *Juniperus* se trouvent au même niveau que celui de la mer, au-dessus de la limite des bois. Bien que le calcaire soit le substrat préféré de nombreuses espèces de *Juniperus*, d'autres taxons poussent sur les dunes de sable et vont des déserts [5]. Il comprend approximativement 75 espèces d'arbustes ou d'arbres persistants, réparties en 3 sections : *Caryocedrus* (Une seule espèce ; *J. drupaceae* Labill.), *Oxycedrus* (14 espèces) et *Sabina* (Près de 60 espèces) [5]. Ce genre est très répandu dans les régions subtropicales et tempérées de l'hémisphère nord à l'exception de certaines de ses espèces qui s'étendent jusqu'en hémisphère sud notamment en Afrique du Nord et subsaharienne (**Fig. 09**).

En Algérie, le genre *Juniperus* est représenté par deux sections et cinq espèces ; section *oxycedrus* (*J. communis*, *J. oxycedrus*) et la section *Sabina* (*J. thurifera*, *J. phonicea*,

*J. sabina*) (Fig. 09) [2, 6]. Les genévriers occupent une place importante dans le paysage nord-africain, essentiellement en raison de leur rusticité et de leur dynamisme [6]. Sur le pourtour méditerranéen, les genévriers cade et de Phénicie sont les plus courants

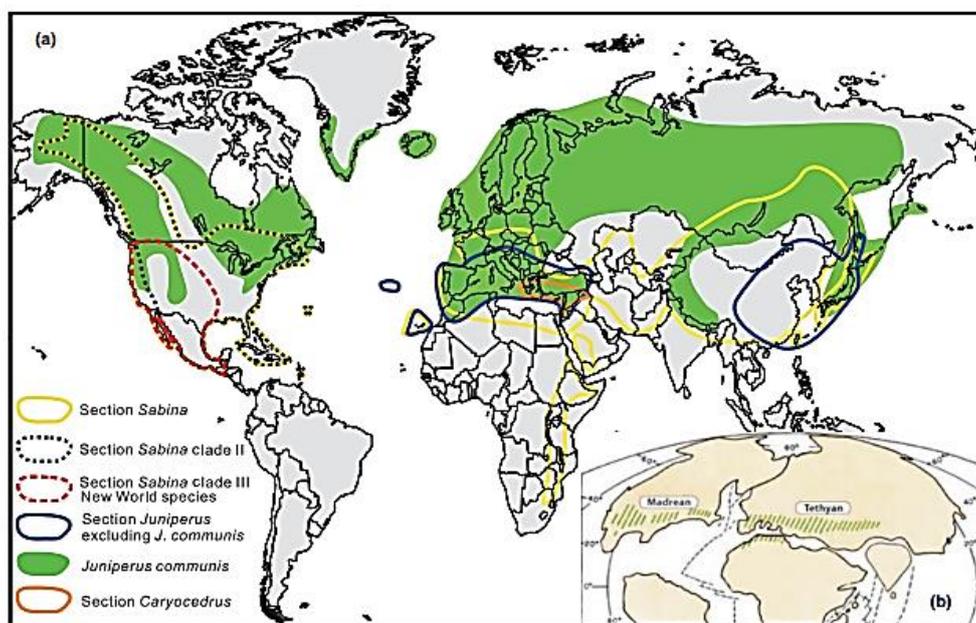


Figure 09 : Distribution de *Juniperus* dans le monde [7].

### I. 2. 1. 1. Taxonomie de *Juniperus oxycedrus* L.

Du point de vue taxonomique, le *Juniperus oxycedrus* est l'une des 14 espèces qui composent la section *Juniperus* dans le monde [8]. Le Genévrier oxycède appelé aussi "Genévrier cade" en français, ou "Taga" en arabe dialectal algérien. Cette espèce a une distribution méditerranéenne typique. La classification botanique du *Juniperus oxycedrus* est représentée dans le tableau 03.

Tableau 03 : Classification botanique de *Juniperus oxycedrus* [9].

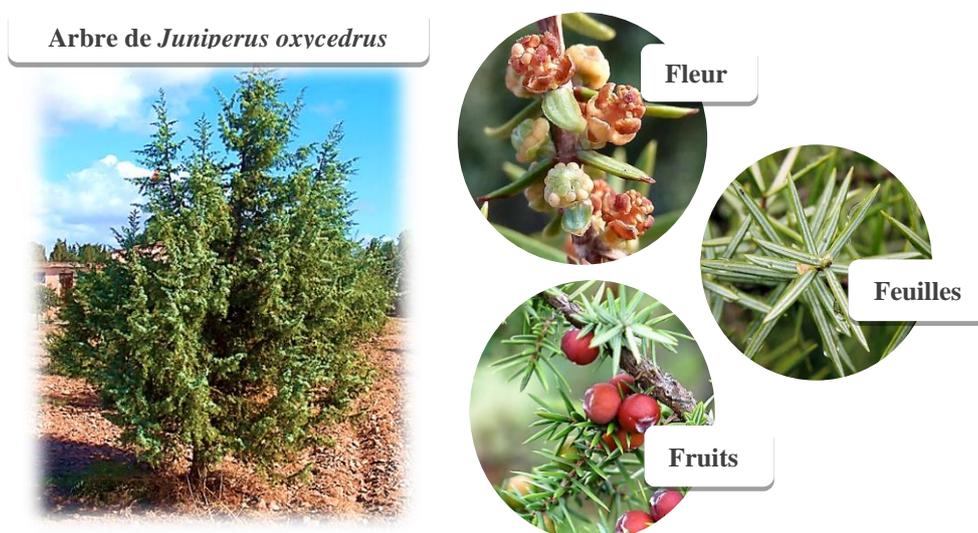
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous- Embranchement</b>	Gymnospermes
<b>Classe</b>	Conifères
<b>Ordre</b>	Coniférales
<b>Famille</b>	Cupressacées
<b>Genre</b>	<i>Juniperus</i>

## Espèce

*Juniperus oxycedrus*

## a) Description morphologique

*Le Juniperus oxycedrus* est un petit arbre ou seulement un arbuste, qui peut néanmoins atteindre 7 à 8 mètres de hauteur lorsqu'il n'a pas été trop malmené par l'homme. Ses bourgeons sont écailleux à ramules obtusément triangulaires. Ses feuilles linéaires en alêne sont très étalées, à pointe fine et piquante, verticillées par trois et disposées sur six rangs. Marquées de deux sillons blanchâtres, ces feuilles sont séparées par la nervure médiane en dessus à carène obtuse et non sillonnées en dessous avec des fleurs dioïques et fruits rouges et luisants à la maturité, sub-globuleux, assez gros (8-10 mm), dépassés ou égalés par les feuilles, variant à fruits plus gros, ovoïdes et feuilles plus larges [10]. La figure suivante illustre la description de ce genre.



**Figure 10** : Présentation de la morphologie de *J. oxycedrus* (*J. ox*).

## b) Écologie et distribution géographique

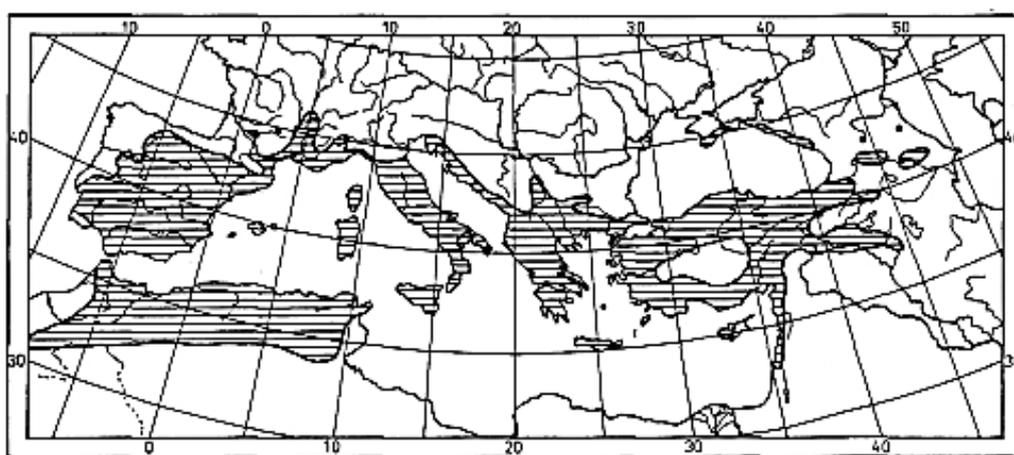
*Le J. oxycedrus* est commun en Afrique du Nord [11], a des fruits brun rougeâtre d'environ 1 cm de diamètre et des aiguilles d'une largeur de 1,0 à 1,5 mm [12]. Cette espèce pousse à l'état sauvage dans des endroits caillouteux des broussailles et des forêts de collines. Il s'agit d'un genre variable, en particulier dans les parties centrale et occidentale de son aire de répartition [13]. Il est présent dans la région méditerranéenne (**Fig. 11**), mais principalement quelque peu à l'intérieur des terres et dans les montagnes, jusqu'à des altitudes de 2300 m en Europe, 2000 à 2100 en Asie et même de 2500 m en Afrique du nord. En poussant dans divers types de forêts méditerranéennes, le *J. oxycedrus* L. Forme également parfois ses propres

communautés, comme par exemple en Grèce, en Anatolie, au Maroc et en Algérie. C'est une espèce pionnière est résistante à la sécheresse, mais exigeante en lumière.

Malgré la description des taxons basée sur des caractères morphologiques, la variation morphologique de *J. oxycedrus* L. n'a pas été étudiée de manière intensive [12]. Peu exigeant pour le sol, Ce genre s'observe surtout sur calcaires, aux étages méso et supra-méditerranéens, en bioclimat sur humide. Il peut apparaître très localement en bioclimat semi-aride où il arrive parfois à former des peuplements presque purs, notamment dans les vallées internes du haut Atlas. Son aspect rappelle le genévrier commun, mais il s'en distingue facilement par ses fruits brun rougeâtres et non bleuâtres. Comme le genévrier de Phénicie, il colonise également les dunes littorales où il est représenté par un type particulier à gros fruits (*J. macrocarpa*) [11].

En outre, ce taxon a un rôle écologique considérable du fait qu'il résiste à la sécheresse, donc à la dégradation des sols et à la pression anthropique, surtout dans les régions les plus arides. Par ailleurs, il est souvent attaqué par la *Arceuthobium oxycedri* ; une plante hémiparasitaire rare de la famille des Santalacées et l'un des principaux parasites obligatoires de plusieurs espèces de la famille des Cupressacées [14].

En Algérie cette plante est très commune dans le sous-bois et les zones dégradées des régions semi-arides. Elle s'étend sur une superficie de 112 000 ha, depuis les dunes littorales jusqu'aux limites du grand Sahara, soit sous la forme d'un arbre de 10 m de hauteur avec un tronc de 1 m de diamètre, le plus souvent sous la forme d'un arbuste buissonnant plus petit [14].



**Figure 11** : Aire de répartition naturelle de *Juniperus oxycedrus* [13].

### I. 2. 1. 2. Taxonomie de *Juniperus phoenicea* L.

Le *Juniperus phoenicea* L. appelé aussi "Genévrier de Phénicie", ou "Genévrier rouge", ou "Genévrier de Lycie" en français, "Phoenician juniper" en anglais, "Araâr" en arabe, "Aqua"

en amazigh [15], est le plus connu dans la famille des cupressacées. Sa classification botanique est représentée dans le tableau 04.

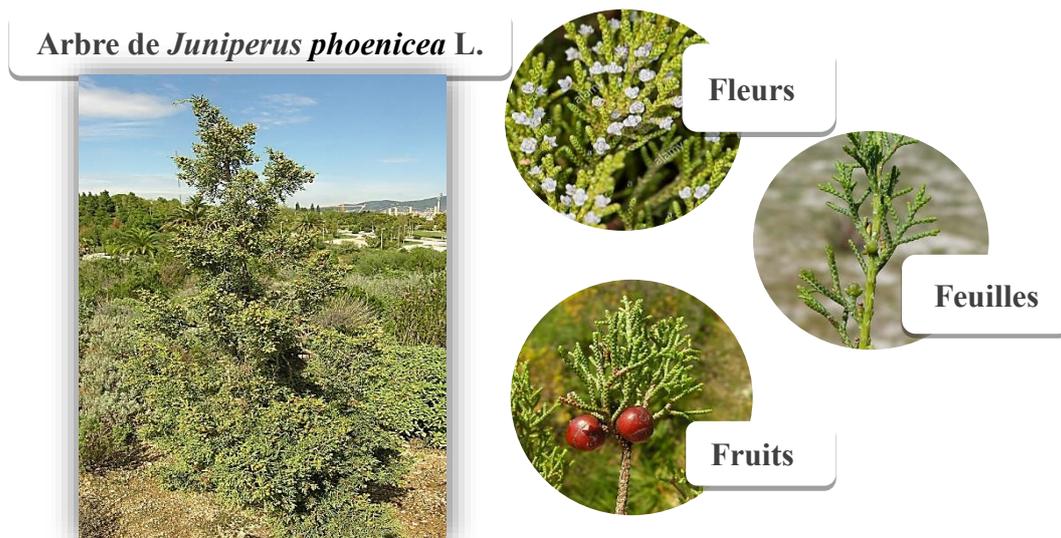
**Tableau 04 :** Classification botanique de genévrier de Phénicie [9].

<i>Embranchement</i>	Spermaphytes
<i>Sous- Embranchement</i>	Gymnospermes
<i>Classe</i>	Conifères
<i>Ordre</i>	Coniférales
<i>Famille</i>	Cupressacées
<i>Genre</i>	<i>Juniperus</i>
<i>Espèce</i>	<i>Juniperus phoenicea</i> L.

#### a) Description morphologique et écologique

Le genévriers de Phénicie est généralement un arbustes touffus de 1 à 3 m de hauteur, mais pouvant atteindre cependant jusqu'à 8 à 10 mètres, notamment sur les hauts Plateaux [11]. À écorce brun rougeâtre, bourgeons nus, ramules cylindriques, ses feuilles sont presque toutes en forme d'écailles très petites, étroitement imbriquées sur 4 à 6 rangs. La floraison se déroule de la fin de l'hiver au printemps (De février à avril) en offrant des fleurs généralement monoïques Ses fruits sont de couleur rouges et luisants, dressés, globuleux et gros (6 à 10 mm) à la maturité[16].

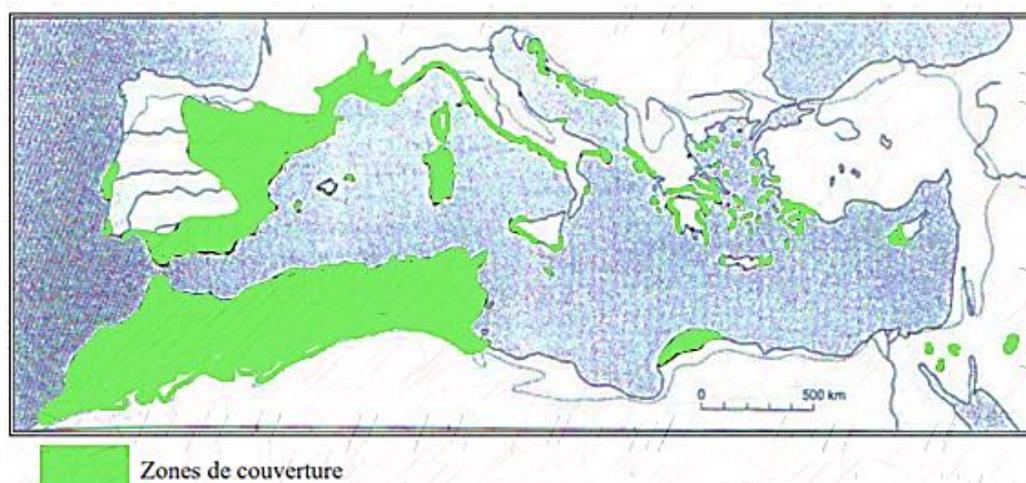
Du point de vue écologique, ce genévrier typiquement méditerranéen caractérise essentiellement les substrats rocailleux arides et fait défaut sur les sols profonds ; indifférent au substrat il est présent en bioclimat surtout semi-aride et aride [11]. Le *J. phoenicea* a un rôle écologique considérable du fait qu'il se comporte comme un élément de forte résistance à l'érosion éolienne et à la pression anthropique [15].



**Figure 12** : Présentation de la morphologie de *J. phoenicea* (*J. ph*) [17].

#### b) Répartition géographique

Le *J. phoenicea* est une espèce qui se trouve dans les différentes régions du monde (**Fig. 13**), mais il est plus fréquent dans la région méditerranéenne. Il se trouve aussi bien dans certaines régions du littoral que sur les basses montagnes dont l'altitude ne dépasse pas 2000 m [18]. Au niveau mondial, il se produit en Europe méridionale (Sud de la France, l'est du Portugal et en Espagne), en Asie tempérée et subtropicale (Turquie, Chypre, l'ouest de l'Arabie Saoudite, Israël, et en Jordanie), dans l'océan atlantique (Îles Canaries)[1]. Ce genre est également originaire d'Afrique du nord, en Algérie et au Maroc [19]. Commun sur l'ensemble du littoral, sur les hauts plateaux et l'Atlas saharien de l'oranaï, de l'algérois et du constantinois Cette espèce occupe environ 290,000 ha en Algérie. Assez rare ailleurs, on le trouve surtout sur les dunes littorales, dans les collines, sur les côtes de Barbarie, comme il constitue au côté du cèdre, la principale couverture végétale dans les montagnes des Aurès [18].



**Figure 13** : Aire de répartition de l'espèce *J.phoenicea* en région méditerranéenne.

### I. 2. 2. Composition chimique des huiles essentielles des espèces étudiées

Des études de la variabilité chimique des huiles essentielles des feuilles et des fruits de *Juniperus phoenicea* L. et *Juniperus oxycedrus*, récolté dans différentes régions, a permis aux chercheurs de définir la composition chimique de leurs huiles, bien que ces huiles sont généralement caractérisées par une teneur élevée en  $\alpha$ -pinène, quelle que soit la sous-espèce et son origine [9].

Les principaux constituants des huiles essentielles de *J.oxycedrus* L., sont des hydrocarbures terpéniques, en particulier  $\alpha$  pinène, myrcène et germacrène dans les huiles des fruits et  $\alpha$ - pinène,  $\beta$ -phellandrène et  $\Delta^3$ -carène dans les huiles des feuilles [9].

Par ailleurs, les huiles essentielles de *Juniperus Phoenicea* sont riches en :  $\alpha$ -pinène suivi de p-cymène,  $\beta$ -phellandrène  $\alpha$ -terpinéol et  $\alpha$ -campholenal avec des déférentes pourcentages, Plusieurs publications ont rapporté que les huiles essentielles des feuilles et des baies de *J. phoenicea* L. du bassin méditerranéen étaient caractérisées par l' $\alpha$ -pinène[9].

### I. 2. 3. Utilisation des espèces étudiées

Le genévrier est utilisé comme plante médicinale depuis l'antiquité, par les Grecs et les Arabes. Au Moyen âge, le genévrier était utilisé comme panacée, ses fumigations étaient réputées désinfectantes (Notamment utilisées dans les rues pour combattre les épidémies de peste et de choléra) [20]. Les plantes de ce genre ont trouvé des applications dans différentes cuisines européennes comme épice, arôme pour les boissons alcoolisées, ainsi que dans les produits cosmétiques.

En outre, ces plantes ont une longue histoire d'utilisation dans la médecine populaire mondiale pour divers troubles, tels que le rhume, les infections urinaires et rénales, les troubles

dermatologiques [21], l'urticaire, la dysenterie, l'hémorragie, la leucorrhée et l'arthrite rhumatismale, pour réguler les menstruations et pour soulager la douleur menstruelle [22].

### **I. 2. 3. 1. Utilisation de *Juniperus oxycedrus***

L'utilisation principale de *J. oxycedrus* L. consiste à la préparation de la soi-disant huile de cade (Également connue en pharmacie sous le nom de goudron de genièvre), par distillation destructive des branches et du bois de la plante. En outre, l'huile de cade rectifiée est utilisée comme composant de parfum dans les savons, détergents, crèmes, lotions et parfums (Leung et Foster, 1996) [20].

En médecine populaire, l'huile de *J. oxycedrus* L. est utilisée en application locale comme parasiticide et antiseptique et dans un certain nombre d'affection de la peau comme la gale, les teignes, la pelade, les alopecies pityriasiques et séborrhéiques, ainsi que le psoriasis (À partir du 19<sup>e</sup> Siècle, l'huile de cade été employée dans le cadre du traitement du psoriasis sous forme d'onguents et de pommades). Son champ d'application était large car elle pouvait être prescrite aussi bien dans le traitement des maladies pulmonaires, des douleurs dentaires et certaines maladies oculaires. Elle fut également utilisée en usage interne, dans le cadre de traitement des lithiases biliaires, de néphrites chroniques, mais surtout en tant qu'antihelminthique chez les enfants qui présentaient une affection vermineuse [23].

En ce qui concerne la pharmacologie ou les activités biologiques, l'huile de cade aurait des propriétés kératolytiques et antiprurigineuses, en plus des activités antimicrobiennes. Des extraits méthanoliques et dichlorométhaniques des feuilles et des tiges de *J. oxycedrus* L. (D'Espagne) réduisent la tension artérielle des rats normo tendus, inhibent la réponse à l'histamine, à la sérotonine et à l'acétylcholine, comme ils présentent des effets anti-inflammatoires. Plusieurs extraits de feuilles, résines, écorces et fruits de *J. oxycedrus* L. (de Turquie) se sont révélés des inhibiteurs de la croissance de plusieurs bactéries [20].

### **I. 2. 3. 2. Utilisation de *Juniperus phoenicea* L.**

L'huile essentielle du *Juniperus phoenicea* L. a des propriétés antimicrobiennes et antifongiques. Les lignines de la plante agissent contre le cancer. En outre, la bibliographie mentionne qu'ils sont utilisés pour les coliques et autres gastrites, comme ils agissent au niveau des voies urinaires par une activité hypoglycémique, diurétique et activité antiseptique. Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction contre le diabète, la diarrhée et le rhumatisme, alors que les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès [15].

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

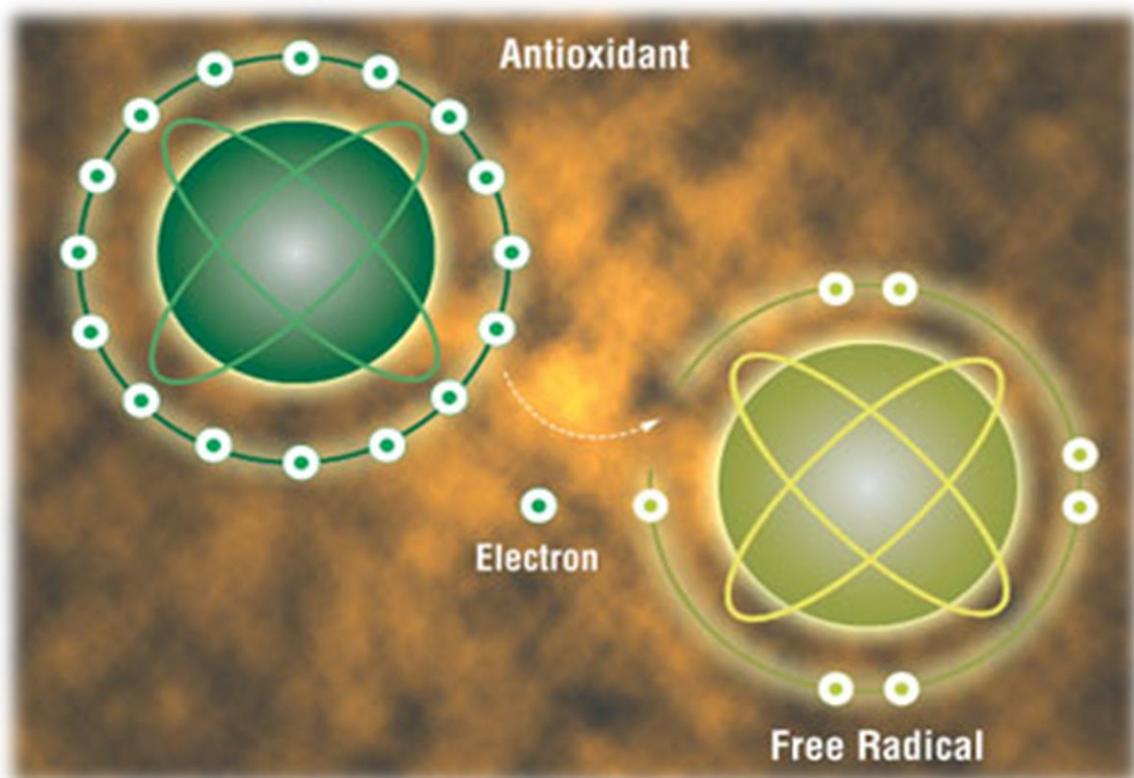
1. Abdelli, W., *Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris*. 2017, Université de Mostaganem-Abdelhamid Ibn Badis.
2. Farrar, J.L., *Les arbres du Canada*. 1996: Les Editions Fides.
3. Page, C., *Cupressaceae*, in *Pteridophytes and Gymnosperms*. 1990, Springer. p. 302-303.
4. Vallès, J., et al., *Molecular cytogenetic studies in western Mediterranean Juniperus (Cupressaceae): a constant model of GC-rich chromosomal regions and rDNA loci with evidences for paleopolyploidy*. *Tree Genetics & Genomes*, 2015. **11**(3): p. 43.
5. Adams, R.P., *Junipers of the world: the genus Juniperus*. 2014: Trafford Publishing.
6. Zeraib, A., *Etude phytochimique et chimio systématique de Juniperus thurifera L. En Algérie*. 2018.
7. Mao, K., et al., *Diversification and biogeography of Juniperus (Cupressaceae): variable diversification rates and multiple intercontinental dispersals*. *New Phytologist*, 2010. **188**(1): p. 255.
8. Medini, H., et al., *Leaf Essential Oil of Juniperus oxycedrus L.(Cupressaceae) Harvested in Northern Tunisia: Composition and Intra- Specific Variability*. *Chemistry & Biodiversity*, 2010. **7**(5): p. 1254-1266.
9. Bouyahyaoui, A., *Contribution à la valorisation des substances naturelles: Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien*. 2017.
10. Gorter, A., *Description de Coste : Juniperus oxycedrus*. 2011.
11. Quezel, P. and M. Gast, *Genévrier*. *Encyclopédie berbère*, 1998: p. 3016-3023.
12. Huh, M.K. and H.W. Huh, *Genetic diversity and population structure of Juniperus rigida (Cupressaceae) and Juniperus coreana*. *Evolutionary Ecology*, 2000. **14**(2): p. 87-98.
13. Klimko, M., et al., *Morphological variation of Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus (Cupressaceae) in the Mediterranean region*. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 2007. **202**(2): p. 133-147.
14. Hafsi, Z., et al., *Étude de la variabilité morphologique (aiguilles, galbules) du complexe spécifique Juniperus oxycedrus L., le Genévrier oxycède, au sein de sept populations d'Algérie*. *Revue d'écologie*, 2017.

15. Mansour, A., *Extraction et caractérisation des métabolites secondaires de plantes médicinales du genre Juniperus et du genre Myrtus*. 2017.
16. Benattia, Z. and A. Hellali, *Evaluation de l'activité antioxydant et antimicrobienne des différents extraits de la plante Juniperus phoenicea L.* 2019, Université Mohamed Boudiaf de M'Sila.
17. The Original Garden, *Plants of juniperus oxycedrus - prickly juniper*. 2016.
18. Youssef, M.A., *Plantes médicinales de Kabylie*. 2006: Ibis Press.
19. Adams, R.P., A. Barrero, and A. Lara, *Comparisons of the Leaf Essential Oils of Juniperus phoenicea, J. phoenicea subsp. eu-mediterranea Lebr. & Thiv. and J. phoenicea var. turbinata (Guss.) Parl.* Journal of Essential Oil Research, 1996. **8**(4): p. 367-371.
20. Salido, S.a., et al., *Chemical studies of essential oils of Juniperus oxycedrus ssp. badia*. Journal of ethnopharmacology, 2002. **81**(1): p. 129-134.
21. Tavares, L., et al., *The neuroprotective potential of phenolic-enriched fractions from four Juniperus species found in Portugal*. Food chemistry, 2012. **135**(2): p. 562-570.
22. Akkol, E.K., A. Güvenç, and E. Yesilada, *A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five Juniperus taxa*. Journal of ethnopharmacology, 2009. **125**(2): p. 330-336.
23. Hoummani, H., et al., *Intoxication infantile au juniperus oxycedrus (huile de cade): à propos de 4 décès*. Toxicologie Analytique et Clinique, 2019. **31**(2): p. 129-133.



*Troisième partie :*

# *Activité antioxydante*



### **I. 3. ACTIVITÉS ANTIOXYDANTS**

La notion de corps gras recouvre les produits d'origine naturelle, en particulier les huiles végétales (Principalement constituées d'acides gras), mais également les cires ou les phospholipides. Ces graisses et huiles sont facilement détériorées par l'oxydation et engendrent des risques oxydatifs.

Pour prévenir leur oxydation, des recherches intensives ont été menées pour valoriser ces propriétés antioxydantes [1]. On rappelle que l'activité antioxydante des huiles essentielles est l'une des propriétés biologiques suscitant un grand intérêt, car elles peuvent préserver les aliments de la toxicité des oxydants [2], éliminer également les radicaux libres, en plus du rôle important qu'elles jouent dans la prévention de certaines maladies telles que : le dysfonctionnement cervicale, les cancers, les cardiopathies, comme elles peuvent décliner le système immunitaire [3].

#### **I. 3. 1. Oxydation**

L'oxydation est le phénomène qui fait rouiller les métaux, rancir les graisses et flétrir les légumes et les fruits en modifiant leurs goût et couleurs [4]. Ce phénomène chimique génère des espèces réactives dont les radicaux libres, les espèces chimiques neutres et/ou chargées. Les espèces réactives générées sont instables et ne cherchent qu'à récupérer un électron dans leur environnement, pour retourner à leur état plus stable. Cette propriété fait que les réactions d'oxydation sont très rapides et se propagent en cascade. Les espèces moléculaires cibles de l'oxydation sont souvent les corps gras comme les phospholipides des membranes cellulaires, mais aussi les protéines.

Dans le cas des enzymes l'oxydation entraîne une modification ou perte de l'activité biologique de la molécule, ce qui provoque des désorganisations cellulaires parfois irréversibles entraînant la mort de la cellule [4].

#### **I. 3. 2. Stress oxydatif**

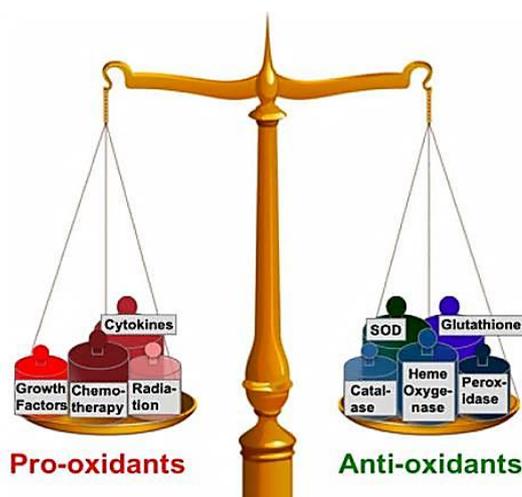
La découverte d'espèces chimiques radicalaires présentes normalement dans l'organisme a bouleversé la compréhension des mécanismes biologiques [5]. Ces radicaux libres sont produits par divers mécanismes physiologiques, car à dose bien précise, ils sont nécessaires pour l'organisme. Cependant, leur production peut devenir excessive, due à plusieurs phénomènes exogènes ou endogènes et de ce fait, l'organisme va devoir se protéger par différents systèmes antioxydants [5].

L'organisme doit alors confronter et contrôler la présence des antioxydants et des pro-

oxydants continuellement. Le stress oxydant désigne le déséquilibre entre la génération des espèces réactives et celle des antioxydants, menant à des dommages oxydants. C'est une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des espèces radicalaire toxiques [6]. Plusieurs cas peuvent engendrer des déséquilibres à savoir :

- Dans des conditions de stress, où l'oxydation augmente au point de ne pas pouvoir être régulée [4].
- Dans des conditions de mauvaise alimentation et alors les quantités d'antioxydants apportés ne sont pas suffisantes pour rétablir l'équilibre [4].

En médecine, la balance oxydative est un concept pour maintenir l'organisme en bonne santé. Son déséquilibre peut conduire à des dommages des biomolécules (Protéines, lipides et acides nucléiques), suivie par la mort cellulaire et provoquant en plus des troubles physiologiques tels que le cancer, le diabète, l'asthme, le vieillissement prématuré, les maladies cardiovasculaires, neurodégénératives et inflammatoires (**Fig. 14**) [7].



**Figure 14** : Modèle d'équilibre entre les pro-oxydants et les antioxydants.

### I. 3. 3. Radicaux libres

#### I. 3. 3. 1. Définition

Un Radical libre est une molécule, ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif [8]. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé : espèces réactives, comme celles de l'oxygène [5].

##### a) Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Ces espèces sont appelées espèces réactives de l'oxygène (**ERO**), car elles sont beaucoup plus toxiques que ne l'est l'oxygène lui-même[5]. Ses métabolites réduits regroupent l'ensemble

des dérivés radicalaires de l'oxygène mais également les composés non radicalaires [9].

➤ **Espèces radicalaires de l'oxygène**

Les espèces radicalaires ou radicales libres de l'oxygène (**RLO**), possèdent un électron non apparié. Du fait de leur très grande réactivité, leur durée de vie est très courte. Il est à noter qu'il existe aussi des espèces radicalaires dérivant de l'azote mais appartenant à la classe des espèces réactives oxygénées. On peut distinguer des radicaux primaires, des radicaux secondaires comme les radicaux peroxydes (**ROO•**) et les radicaux alkoxydes (**RO•**), issus de la réaction des radicaux primaires avec d'autres entités (Lipides, protéines et glucides) (**Tab. 05**) [9].

**Tableau 05** : Récapitulation des espèces radicalaires de l'oxygène.

Dénomination	Formule chimique
Anion superoxyde	$O_2^{\bullet-}$
Radical hydroxyle	$OH^{\bullet}$
Radical perhydroxyle	$HO_2^{\bullet}$
Radical peroxyde	$ROO^{\bullet}$
Radical alkoxyde	$RO^{\bullet}$

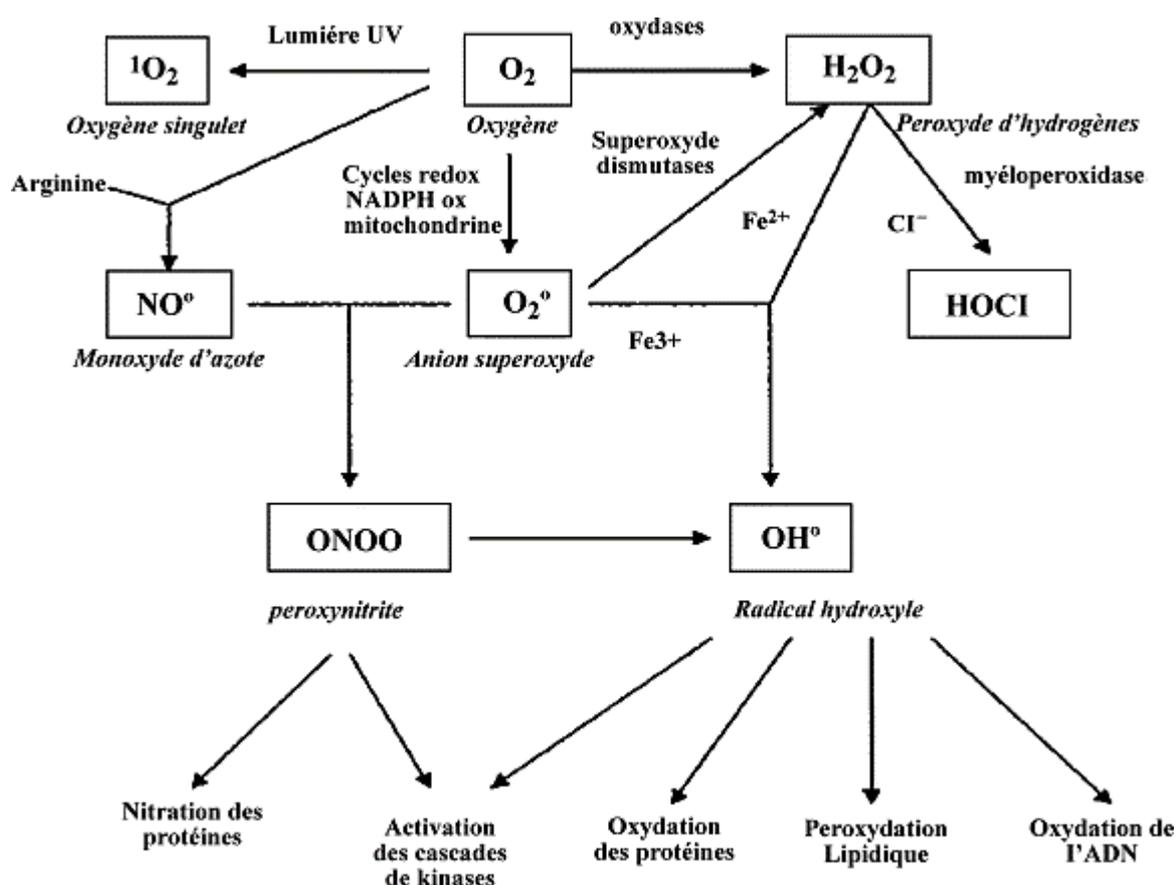
➤ **Espèces non radicalaires oxygénées**

Les dérivés non radicalaires ne possèdent pas d'électron célibataire, ce sont des espèces actives dérivant de l'oxygène ou de l'azote ou du chlore (**Tab. 06**). Ces espèces réagissent souvent avec des métaux [9].

**Tableau 06** : Résumé des espèces non radicalaires oxygénées.

Dénomination	Formule chimique
Oxygène singulet	$^1\text{O}_2$
Peroxyde d'hydrogène	$\text{H}_2\text{O}_2$
Nitreperoxyde	ONOOH
Peroxynitrite	$\text{ONOO}^-$
Ion hypochlorite	HOCl

Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène de ses métabolites est à l'origine des phénomènes de stress oxydant, responsable de nombreuses pathologies comme illustré dans le schéma ci-dessous [10] :



**Schéma 03 :** Origine des différentes espèces réactives de l'oxygène impliquées dans les troubles biologiques [5].

### I. 3. 4. Antioxydant

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats [11].

Ces molécules agissent par échange ou appariement d'électron célibataire. Ces molécules sont pour la plupart apportés par l'alimentation, d'où l'attention portée aux aliments dans le renforcement du système de défense contre le stress oxydant [12].

#### I. 3. 4. 1. Mode d'action

Les antioxydants agissent de différentes manières :

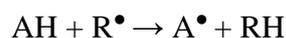
- Ils peuvent empêcher la formation directe des radicaux libres,
- Ils peuvent faire la liaison avec les radicaux libres et les détruire,
- Ils renforcent le système immunitaire de défense,
- Ils réparent les dommages résultants des radicaux libres.

#### I. 3. 4. 2. Types d'antioxydants

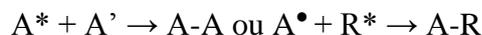
Deux types d'antioxydants sont distingués :

##### a) Antioxydants primaires ou radicalaires ou vrais

Ce type permet l'interruption de la chaîne autocatalytique comme le montre l'équation ci-après :



La molécule AH est considérée comme antioxydante, si le radical formé  $A^{\bullet}$  est plus stable. La stabilité de ce dernier peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires comme dans l'équation suivante :



##### b) Antioxydants secondaires ou préventifs

Ce type assure l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des substances qui décomposent les hydroperoxydes en alcool, les thiols (Glutathion, acides aminés soufrés) ou les disulfures. Elles sont des protecteurs vis-à-vis les UV comme les carotènes, des chélatants de métaux promoteurs d'oxydation (De type fer et cuivre) comme l'acide citrique et les lécithines, ou des séquestrants d'oxygène comme l'acide ascorbique [4].

### I. 3. 5. Mécanisme de production et d'élimination des ROS dans l'organisme

Les **ROS** impliquées dans la perturbation de l'homéostasie cellulaire, peuvent être produites à la fois par des sources exogènes ou endogènes. Les sources exogènes peuvent être : les processus aérobiques comme la respiration cellulaire pendant l'activité physique intensive, ou sous l'action des polluants et toxines tel que : la fumée de cigarette, l'alcool, l'ionisation et radiations UV, les pesticides, l'ozone [13]. Les sources endogènes responsables sont : le cytochrome P450 des mitochondries, les peroxysomes et les cellules inflammatoires, et les xénobiotiques [14].

Les mécanismes de défense contre la toxicité des **ROS** sont nombreux [15] et proviennent aussi de diverses sources. La première source est endogène et est composée de protéines enzymatiques, comme le complexe enzymatique superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase, qui jouent un rôle indispensable dans cette défense [16]. La seconde source qui est très importante, est l'alimentation ; à travers laquelle des petites molécules antioxydantes (Naturelles ou synthétisées) sont consommées, comme les vitamines, les caroténoïdes, les flavonoïdes, les acides phénols, les coumarines, les quinones et les alcaloïdes. Les parties les plus réactives responsables de leurs pouvoir antioxydant sont les hydroxyles libres, les noyaux aromatiques, les doubles liaisons éthyléniques souvent conjuguées, qui permettent de donner des électrons et de rester stables par mésomérie [17].

### I. 3. 6. Méthodes analytiques utilisées pour évaluer l'activité antioxydant

Le potentiel antioxydant des produits naturels est généralement déterminé à travers des réactions sélectives, entre les extraits et des réactifs de dérivatisation. La détection des antioxydants se fait par analyse spectroscopique (UV-Visible) des solutions obtenues [1]. Ces dérivatisations sont généralement basées sur la capacité des antioxydants à réduire les métaux, ou les complexes d'ions métalliques formés, tels que le fer (Pouvoir antioxydant réducteur du fer, **FRAP**), ou à réduire les radicaux libres tels que le radical 2-diphényl-1-28 picrylhydrazyle (**DPPH•**). Cependant, de telles réactions, ne donnent aucune information sur l'individu antioxydants contenu dans l'échantillon. De plus, ces méthodes ne donnent qu'une approximation du potentiel antioxydant, car chaque antioxydant existant dans le mélange peut former des espèces avec un facteur de réponse relatif différent par rapport à l'antioxydant calibrant [2].

### I. 3. 7. Facteurs influençant l'oxydation

Plusieurs sont les facteurs qui peuvent influencer la production des **ROS**. Le facteur qui nous intéresse dans notre recherche est le tabac.

#### I. 3. 7. 1. Stress oxydatifs et tabac

Le tabagisme est parmi les facteurs les plus connus de l'oxydation cellulaire. La fumée de cigarette se compose de deux phases, l'une gazeuse et l'autre solide. Ces deux phases contiennent des goudrons avec une concentration très élevée en **ROS** [1]. En plus de 3000 composés aromatiques, chaque gramme de goudron provenant d'une cigarette contient  $10^{17}$  radicaux libres et de nombreux produits générateurs d'oxydants. En outre, la phase gazeuse contient  $10^{15}$  radicaux par bouffée, ainsi que de nombreux oxydes d'azote [2].

Le tabagisme contribue au déséquilibre de la balance oxydants-antioxydants, car il est associé à une production accrue des **ROS**, qui contribuent largement au développement de plusieurs pathologies, telles que : l'athérosclérose via l'oxydation des lipoprotéines et du cancer du poumon [1]. Retenons également que les fumeurs ont un déficit chronique en vitamines, en minéraux, en oligo-éléments et les autres éléments indispensables pour la santé, puisque les radicaux libres s'attaquent à ces molécules bénéfiques pour l'organisme, ou empêchent leur action. L'augmentation de l'apport nutritionnel en antioxydants visera donc essentiellement à prévenir ces maladies [18].

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Soare, J.R., et al., *Antioxidant activities of some extracts of Thymus zygis*. Free radical research, 1997. **26**(5): p. 469-478.
2. Maestri, D., et al., *Natural products as antioxidants*. Phytochemistry: Advances in research, 2006. **37**(661): p. 105-135.
3. Miguel, M.G., *Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review*. Molecules, 2010. **15**(12): p. 9252-9287.
4. Rolland, Y., *Antioxydants naturels végétaux*. Oléagineux, Corps gras, Lipides, 2004. **11**(6): p. 419-424.
5. Favier, A., *Le stress oxydant*. L'actualité chimique, 2003. **108**.
6. Gurer-Orhan, H., et al., *The role of oxidative stress modulators in breast cancer*. Current medicinal chemistry, 2018. **25**(33): p. 4084-4101.
7. Subedi, L., et al., *Antioxidant activity and phenol and flavonoid contents of eight medicinal plants from Western Nepal*. Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014. **34**(5): p. 584-590.
8. Merouane, A., et al., *Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle*. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 2014. **8**(4): p. 1865-1870.
9. Baskara-Yhuellou, I., *Effet de l'exposition à la fumée de cigarette sur le profil oxydatif et la sénescence des différentes sous-populations lymphocytaires T CD4+*. 2013.
10. Gardès-Albert, M., et al., *Espèces réactives de l'oxygène*. L'actualité chimique, 2003: p. 91.
11. Rahal, A., et al., *Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay*. BioMed research international, 2014.
12. Sekli-Belaidi, F., *Fonctionnalisation de surfaces d'électrodes par un film de poly (3, 4-éthylènedioxythiophène) PEDOT pour l'élaboration de microcapteur spécifique des acides ascorbique et urique: application à l'étude des propriétés antioxydantes du sérum sanguin*. 2011.
13. Poljsak, B. and I. Milisav, *Aging, oxidative stress and antioxidants*. Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases-A Role for Antioxidants, 2013: p. 331-353.
14. Bayala, B., *Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales*

- du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes.* 2014.
15. Govindarajan, R., M. Vijayakumar, and P. Pushpangadan, *Antioxidant approach to disease management and the role of 'Rasayana'herbs of Ayurveda.* Journal of ethnopharmacology, 2005. **99**(2): p. 165-178.
  16. Matés, J.M. and F. Sánchez-Jiménez, *Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes.* Front Biosci, 1999. **4**(4): p. 339-345.
  17. Heim, K.E., A.R. Tagliaferro, and D.J. Bobilya, *Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships.* The Journal of nutritional biochemistry, 2002. **13**(10): p. 572-584.
  18. Koechlin-Ramonatxo, C., *Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires.* Nutrition clinique et métabolisme, 2006. **20**(4): p. 165-177.



*Quatrième partie :*

*Cigarette & tabac*

## I. 4. TABAC ET CIGARETTE

Le tabac prend une grande place dans la société, certaines personnes ont recouru à ce fléau car comme ils croient c'est une commodité courante qui aide à se rétablir et elle est également parfois pratiquée dans certains rituels religieux.

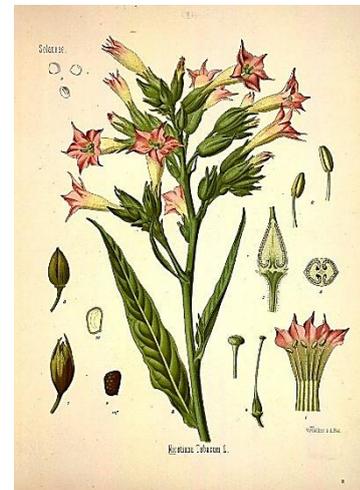
La cigarette est une source de plaisir et les fumeurs peuvent en devenir accros. La dépendance au tabac est maintenant reconnue comme la maladie responsable des taux de morbidité, de pauvreté et de mortalité. Selon l'OMS[1], le tabac tue plus de 8 millions de personnes chaque année, plus de 7 millions d'entre elles sont des consommateurs ou d'anciens consommateurs et environ 1,2 million des non-fumeurs involontairement exposés à la fumée. Ceux-ci a lieu car même si il est évident que le tabac est mauvais pour la santé, les compagnies s'entêtent tout de même à en produire dans le but de faire des profits.

Nous devons donc connaître ce ravageur, dont le monde ne peut se débarrasser actuellement et quelles sont ses composantes addictives et mortelles, afin de trouver des solutions qui réduisent ses risques énormes pour la santé.

### I. 4. 1. Définition

#### I. 4. 1. 1. Tabac

À l'état sauvage, il existe une soixantaine d'espèces de tabacs, dont la plus cultivée est la *Nicotiana tabacum* (90 %, **Fig. 15**)[2]. Cette plante robuste de la famille des Solanacées, est dotée d'une taille variant de 50 à 180 cm, voire plus selon la variété. Cette dicotylédone annuelle présente de grandes feuilles, de l'ordre de 30 à 80 cm de longueur et de 10 à 40 cm de largeur. Sa fleur est tubulaire et colorée à son extrémité.



**Figure 15** : *Nicotiana tabacum*.

Le tabac est utilisé sous plusieurs formes (**Fig. 16**), il peut s'agir du tabac à fumer et du tabac non fumé. Le premier type est utilisé sous forme de tabac à chiquer, à priser ou à sucer. Cependant, le tabac peut être fumé de différentes manières, les plus répandues sont l'emploi de pipe, de celle de narguilé également appelé chicha, ou alors conditionné sous forme de cigarette ou de cigare.



Tabac Virginie



Tabac Burley



Tabac Brun



Tabac Oriental

Figure 16 : Différents types de tabac.

#### I. 4. 1. 2. Cigarette

La cigarette est définie par le professeur **Robert Molimard** comme boudin de feuilles de tabac roulées dans un papier fin. De plus en plus on y ajoute un filtre, souvent en acétate de cellulose. Le filtre et la cigarette sont réunies par le papier "Manchette" qui entoure le filtre, souvent coloré en jaune. Une cigarette contient entre 0,5 et 1 g de tabac selon les marques. Le tabac sec contient entre 15 et 23 mg de nicotine par gramme, la cigarette en contient donc entre 8 et 20 mg. Cela n'a rien à voir avec ce qui est affiché sur les paquets, actuellement limité à 1 mg[3].



Figure 17 : Cigarette.

#### I. 4. 2. Différentes classes de fumées de cigarette

La fumée de cigarette est un matériau chimiquement complexe produit suite à la combustion incomplète du-tabac et la pyrolyse lors du fumage d'une cigarette. Il en résulte alors trois courants issus de cette fumée (**Fig. 18**).

##### I. 4. 2. 1. Courant principal ou Mainstream Smoke (MSS)

Il correspond aux fumées qui traversent le filtre et sont inhalées par le fumeur actif. Ce courant est constitué d'une phase vapeur représente 95,5 % et d'une phase particulaire ne correspond qu'à 4,5 %, si la contribution de l'eau est retirée de la masse de matière particulaire, la matière particulaire sèche ne représente que 3,6 % de la masse de l'ensemble de la fumée [4].

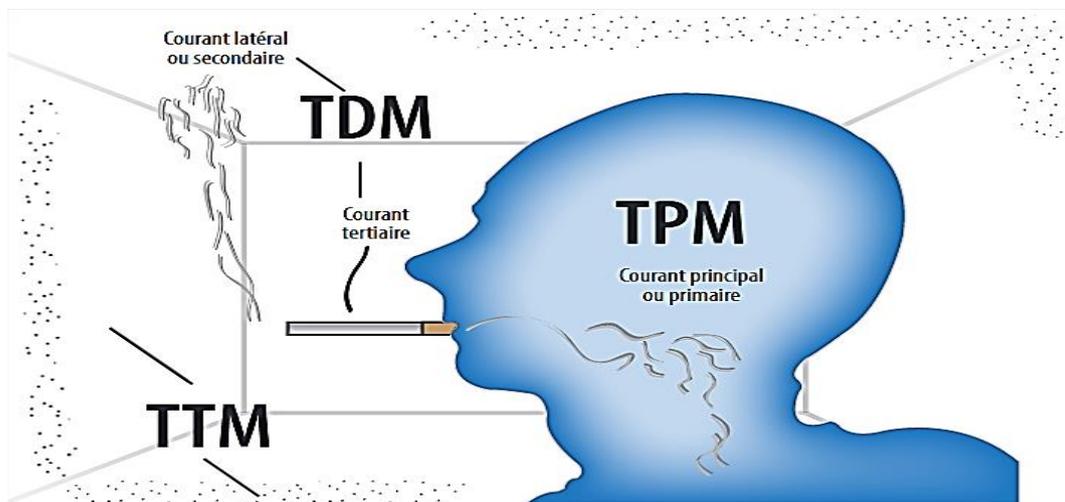
#### I. 4. 2. 2. Courant secondaire ou Sidestream Smoke (SSS)

Constitué par la fumée dégagée entre deux bouffées. Il représente une source majeure de pollution de l'environnement (Deux fois plus de CO et quatre fois plus de benzopyrène).

#### I. 4. 2. 3. Courant tertiaire ou Exhaled Smoke (EXS)

Ce courant est formé par les fumées expirées par les consommateurs entre deux bouffées. Sa composition chimique est différente du courant principale de fumée, car après inhalation de la fumée une partie reste dans son organisme, en particulier les microparticules qui sont piégées dans les voies respiratoires (Bouche, trachée artère et alvéoles pulmonaires) avant d'entrer dans la circulation sanguine[4] et l'autre partie est expirée dans l'atmosphère.

Les fumées secondaires et tertiaires sont susceptibles d'être inhalées par les fumeurs passifs.



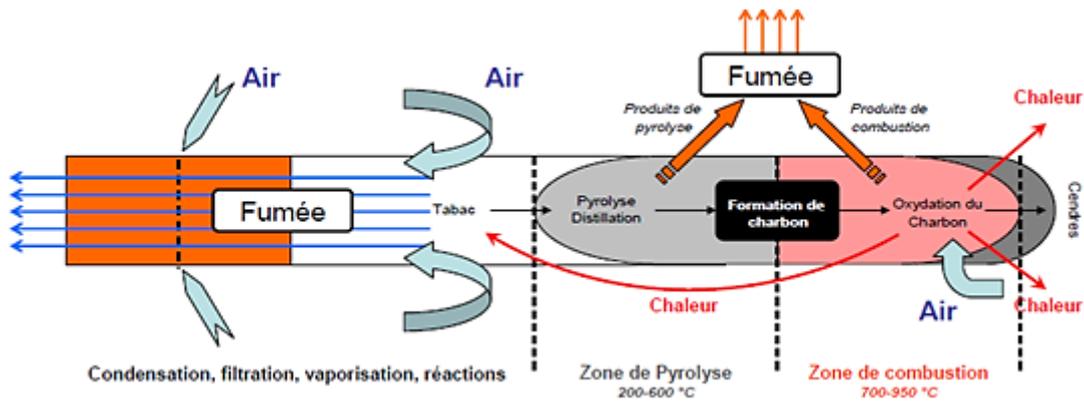
**TPM : tabagisme de première main ; TDM : tabagisme de deuxième main.**

**TTM : tabagisme de troisième main.**

**Figure 18** : Différents courants de fumée de cigarette.

#### I. 4. 3. Parcours des fumées au sein de la cigarette

Pendant la fumigation de la cigarette, la température élevée utile pour ce processus, provoque la combustion et la pyrolyse du tabac, ces derniers créent une série de processus chimiques impliquant la transformation ou la formation de certaines molécules. Ces différents processus se localisent à des endroits spécifiques de la cigarette (**Fig. 19**).



**Figure 19** : Processus mis en œuvre durant le fumage d'une cigarette.

La température à l'extrémité de la cigarette appelée aussi zone de combustion, est comprise entre 700 et 950 °C et se caractérise par un apport important d'oxygène[5]. Les molécules formées dans cette zone sont fortement dépendantes de la quantité d'oxygène apportée au foyer de combustion. Plus la teneur en oxygène est importante, plus les produits formés sont alors essentiellement de l'eau et du dioxyde de carbone, on dit alors que la combustion est complète. La zone suivante, est la zone de pyrolyses et est la plus importante, c'est la zone intermédiaire entre la zone de combustion et le tabac. Elle est caractérisée par une pauvreté en oxygène et une température comprise entre 200 et 600°C. C'est de cette partie de la cigarette que provient l'essentiel de la matière particulaire présente dans les fumées[5]. À un centimètre plus loin de la zone de pyrolyse, la température tombe à 30°C. Le gradient de température et la progression lente du foyer de fumage, sont responsables de l'évaporation et de la condensation subséquente des constituants stables sur la partie inférieure du cylindre de la cigarette. Il est à noter que les bouffées successives ré-évaporent, brûlent ou pyrolysent les constituants condensés en même temps[6].

#### I. 4. 4. Composition chimique de fumé de cigarette

La fumée de cigarette est un aérosol constitué de deux phases, l'une gazeuse et l'autre particulaire. Elle contient d'environ 4000 à 5000 substances différentes[4], dont 40 sont cancérogènes[2] et la plupart se trouve dans la phase particulaire[5]. Les quatre principaux composants sont la nicotine, l'oxyde de carbone, les composés irritants et les goudrons[2].

Lorsque la cigarette est allumée, la combustion entraîne la formation de nombreux composés toxiques comme les goudrons, divers gaz toxiques (Monoxyde de carbone, oxyde d'azote, acide cyanhydrique, ammoniac), des métaux lourds (Cadmium, plomb, chrome, mercure), ainsi que des substances irritantes[2].

Les composés de la phase vapeur représentent entre 90 à 96 % du poids de la fumée principale d'une cigarette sans filtre[4]. Les composés principaux sont l'azote ~ 60 %, l'oxygène ~13 %, le dioxyde de carbone ~13 %, le monoxyde de carbone 3,5 %, l'eau 2 %, l'argon 1 %, l'hydrogène 0,1-0,2 %, l'acétone ~1 % et les oxydes d'azote (NO, NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O) < 0,1% [4].

La phase particulaire est un liquide hydrophile ayant un pH légèrement acide. Les phénols, les acides carboxyliques et l'eau représentent environ 50 % du poids de cette phase. Les constituants alcalins (Alcaloïdes) représentent environ 10 % et les constituants neutres forment le restant. Cette phase particulaire diffère nettement de la phase gazeuse car elle renferme des constituants plus polaires et en général moins volatils[6] .

Les principaux composants de la phase particulaire sont la nicotine (0,2 à 0,6 % du poids de la fumée totale), d'autres alcaloïdes (~0,02 %), et des composés spécifiques tels que les nitrosamines (4-(méthylnitrosoamino) -1-(3-pyridyl) -1-butanone ou NNN). En outre, cette phase contient différents catéchols (~1 %), des hydrocarbures à 3 et 4 noyaux aromatiques ~0.0003-0.007 % soit (3 à 70 ppm) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques **HAPs** carcinogènes (0,3 à 0,7 ppm comme le benzo[ $\alpha$ ]pyrène). Ces proportions relatives de composants de la fumée varient d'un type de cigarette à un autre, mais offrent un ordre de grandeur assez juste de leur répartition. Certaines substances sont très réactives et conduisent à considérer que ce mélange est en constante évolution[4] .

#### I. 4. 5. Généralité sur les HAPs

Les **HAPs** sont des composés organiques constituées de carbone et d'hydrogène, Leur structure comporte deux ou plusieurs cycles aromatiques condensés, Certains **HAP** peuvent contenir des cycles saturés et d'autres peuvent être substitués[7]. Ils sont produits au cours de processus de pyrolyse et de combustion[8], c'est pour ça ils existent parmi les composants de la fumée de cigarette. et De point de vue chimique et biologique Les **HAP** sont des molécules lipophiles qui pénètrent facilement dans les organismes vivants par passage à travers les membranes cellulaires. Leurs absorptions se faire par voie respiratoire, digestive mais également cutanée, et les **HAP** sont métabolisés en composés plus hydrophiles, pour faciliter leur élimination de l'organisme[7]. Les oxydations enzymatiques Pendant cette métabolisation, provoque d'acquérir le pouvoir toxique de certains **HAP**[7].

Certain **HAP** sont classés comme des agents cancérogènes pour l'homme comme le benzo[ $\alpha$ ]pyrène qui provoque le cancer de poumon [4, 9]

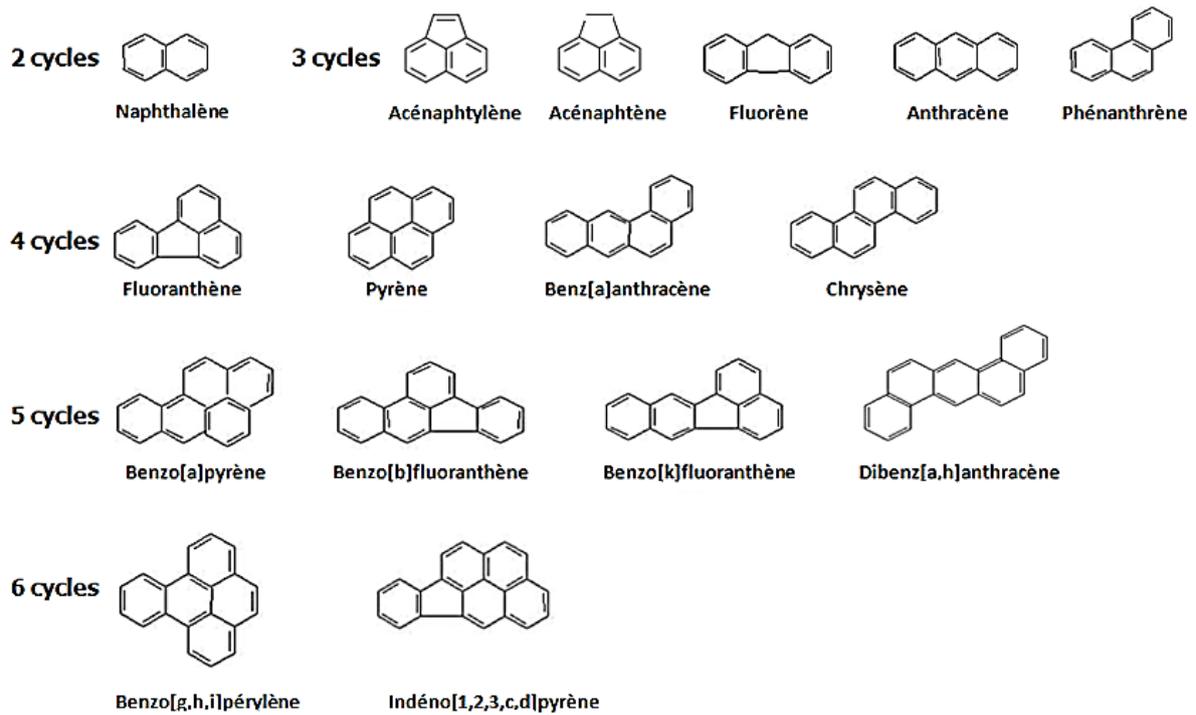


Figure 20 : Présentation des 16 HAP classés prioritaires par l'USEPA[10].

Les composés de la fumée de cigarette sont regroupés dans le tableau 07.

Tableau 07 : Composition de la fumée de tabac dans le courant principal [2, 4] .

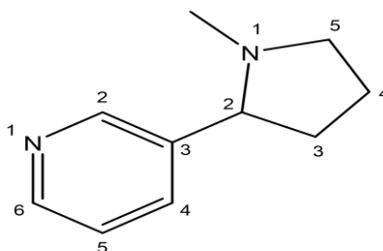
Phase	Composés	Type de toxicité	Quantité dans le courant principal par cigarette
Gazeuse	Monoxyde de carbone	Toxique	26,8-61 mg
	Benzène	Cancérogène	400-500 µg
	Formaldéhyde	Cancérogène	1 500 µg
	3-vinylpyridine	Suspect cancérogène	300-450 µg
	Cyanure d'hydrogène	Toxique	14-110 ng
	Hydrazine	Suspect cancérogène	90 ng

	Oxyde d'azote (NOx)	Toxique	500-2 000 µg
	N-nitrosodiméthylamine	Suspect cancérogène	200-1 040 ng
	N-nitrosopyrrolidine	Suspect cancérogène	30-390 ng
<b>Particulaire</b>	Goudrons	Cancérogène	14-30 mg
	Nicotine	Toxique	2,1-46 mg
	Phénol	Promoteur	70-250 µg
	Catéchol	Suspect Cancérogène	58-290 µg
	O-toluidine	Cancérogène	3 µg
	2-naphtylamine	Cancérogène	70 µg
	4-aminobuphényl	Cancérogène	140 ng
	Benz(a)anthracène	Cancérogène	40-200 ng
	Benz(a)pyrène	Cancérogène	40-70 ng
	Quinoléine	Cancérogène	15-20 µg
	N-nitrosornicotine	Suspect Cancérogène	0,15-1,7 µg
	Nor nitrosomicotine	Suspect Cancérogène	0,2-1,4 µg
	N-nitrosodiéthanolamine	Cancérogène	43 mg
	Cadmium	Cancérogène	0,72 µg

#### I. 4. 6. La dépendance du tabac

La nicotine est responsable de la dépendance au tabac, en stimulant et modulant la libération de nombreux neurotransmetteurs. Elle agit en particulier au niveau des centres de récompense dopaminergiques. Les propriétés pharmacocinétiques et physiologiques de ses récepteurs permettent d'expliquer le grand pouvoir addictif de ce composé lorsqu'il est fumé [11].

La nicotine est le principal alcaloïde du tabac. Elle est constituée par deux noyaux hétérocycliques, mono-azotés (**Fig. 21**), très volatile et elle se retrouvera donc dans la fumée de cigarettes[12]. C'est une base faible, hydrosoluble et lipophile qui peut être rapidement absorbée par les membranes cellulaires. Elle s'en va donc dans les organes qui sont plus riches en lipides, comme le système nerveux central en très peu de temps et en grande concentration. La nicotine est aussi facilement absorbée par les muqueuses[13].



**Figure 21** : Nicotine.

La nicotine est particulièrement addictive lorsqu'elle est fumée, car elle atteint très rapidement le cerveau. D'après les données physiologiques, la nicotine atteint le cerveau en 9 à 19 secondes, plus rapidement qu'après une injection intraveineuse. Son temps de demi-vie d'élimination est d'environ deux à trois heures[11]. Responsable de la toxicité cardiovasculaire[14], la nicotine est une substance toxique mortel, en effet, il ne faut que de 2 à 3 gouttes, ou 30 à 50 mg de nicotine pour tuer un adulte moyen[13].

#### **I. 4. 7. Effet nocif de cigarette**

La cigarette est nocive et dangereuse aussi bien pour les fumeurs que pour les non-fumeurs et les animaux (Tabagisme passif). Les maladie plus grave liée au tabac sont les cancers des voies aérodigestives supérieures, des branches, du poumon, de la vessie, maladies vasculaires, cardio-vasculaires, broncho-pneumopathies chroniques avec insuffisance respiratoire progressive[15], maladie chronique des intestins, carie dentaire, maladies des gencives, ostéoporose, troubles du sommeil et du cataractes, maladie thyroïdienne, le diabète, problème de fertilité, problèmes menstruels[13],...etc.

La plupart des composés de la cigarette sont néfastes pour la santé de l'être humain mais les plus nocive sont : les goudrons qui sont responsables de l'action cancérigène et le risque augmente avec la teneur en goudron, ainsi que les composés de la famille de benzopyrène[14].

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Gisle, L. and S. Demarest, *La consommation de tabac*. Enquête de santé, 2013.
2. Chevalier, C. and A. Nguyen, *Composition et nocivité du tabac*. Actualités Pharmaceutiques, 2016. **55**(560): p. 22-25.
3. Constance, J. and P. Peretti-Watel, *La cigarette du pauvre*. Ethnologie française, 2010. **40**(3): p. 535-542.
4. Kamissoko, A., *Étude par spectrométrie de masse des aérosols associés à la fumée de cigarette*. 2018, Université de Lorraine.
5. Schramm, S., *Étude de la composition de différentes fumées de cigarette associées aux tabagismes actif et passif*. 2012, Université de Lorraine.
6. Angenot, L., *Composition chimique de la fumée de tabac*. Journal de Pharmacie de Belgique, 1983. **38**(3): p. 172-180.
7. Barbeau, D., *Mise au point du dosage du 3-hydroxybenzo [a] pyrène urinaire et utilisation de ce métabolite comme biomarqueur d'exposition aux Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques en population générale et professionnellement exposée*. 2011, Thèse de Pharmacie, Grenoble: Faculté de Pharmacie de Grenoble.
8. Paris, A., *Extractions et analyses des hydrocarbures aromatiques: approches méthodologiques et applications à des matrices fruitières*. 2017.
9. Wang, Z., et al., *Arsenic and benzo [a] pyrene co-exposure acts synergistically in inducing cancer stem cell-like property and tumorigenesis by epigenetically down-regulating SOCS3 expression*. Environment international, 2020. **137**: p. 105.
10. Tarantini, A., *Modulation de la génotoxicité des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en mélanges*. 2009, Université Joseph-Fourier-Grenoble I.
11. Le Houezec, J., *Pourquoi devient-on dépendant du tabac*. Rev Prat Med Gen, 2003. **17**: p. 1675-1678.
12. Anane, R., et al., *Dosage simultané de la nicotine et des fumées noires émises par des cigarettes consommées dans un local: Application aux cas de tabagisme passif dans une entreprise*. 2268-3798, 2016.
13. Nourrisson, D., *Les «fines herbes» du plaisir*. Ethnologie française, 2004. **34**(3): p. 435-442.

14. Kouadi, S., *Analyse d'un facteur de risque: tabac et cancer bronchique*. Cahiers de l'analyse des données, 1984. **9**(4): p. 447-456.
15. Lagrue, G., *Arrêter de fumer?*, 2006: Odile Jacob.

# CHAPITRE II :

## Matériels

§

## Méthodes



Dans le but de bien comprendre, pour mieux expliquer l'effet de diminution des huiles essentielles sur quelques produits toxiques contenus dans la fumée de cigarette, des tests *in-vitro* qui représentent des outils performants pour réaliser des criblages d'activité de substances actives capables de cet effet ont été réalisées. Ces tests permettent de confirmer et faire la concordance de ces activités, avec ceux obtenu après des tests *in-vivo* effectués l'année passée dans le même sujet.

De ce fait, les études élaborées dans notre travail et qui consisterons une continuité d'un travail élaboré auparavant par notre équipe de recherche, vise l'évaluation de plusieurs paramètres qu'on va voir dans ce qui suit, de quatre huiles essentielles obtenues à partir de deux parties aériennes (feuilles et fruits), pour deux espèces de *Juniperus* : *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea* L.

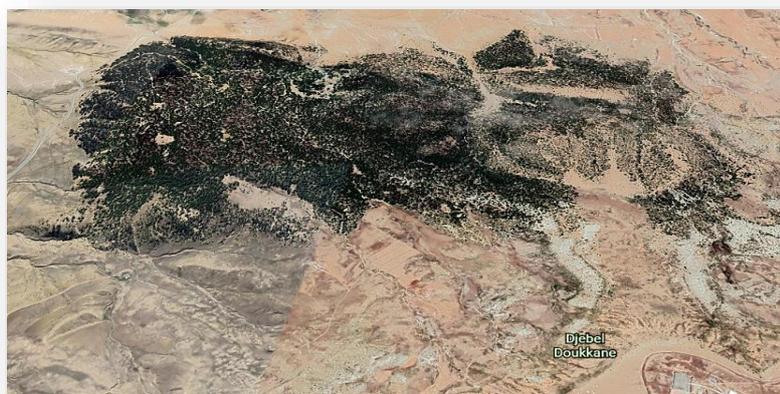
## II. 1. MATÉRIEL VÉGÉTAL

### II. 1. 1. Récolte

Après l'identification des deux espèces investiguées par un botaniste, la récolte de la matière végétale constituée des rameaux contenant les feuilles et les fruites a été faite comme décrit ci-dessous.

#### a) *Juniperus oxycedrus*

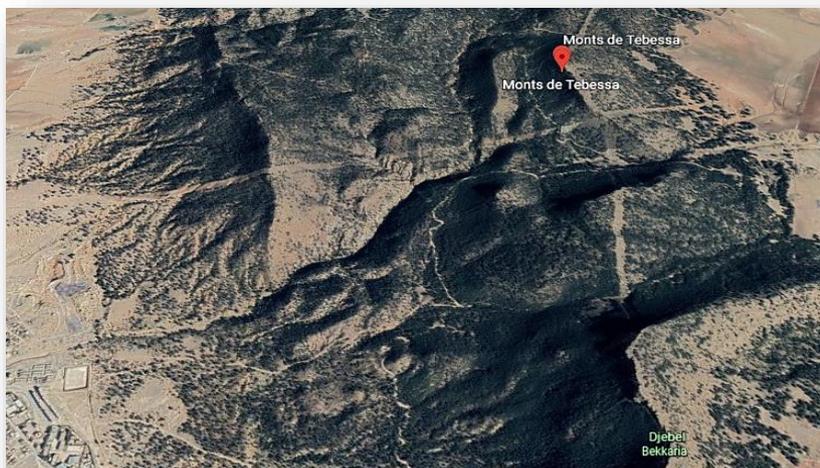
L'espèce *Juniperus oxycedrus* a été récoltée durant la fin du mois de décembre 2019, au niveau de la wilaya de Tébessa, dans la région de Djebel Doukane-Tébessa sur une altitude de 1417 m au coordonné de 35°19'20"N, 8°01'50"E (**Fig. 22**).



**Figure 22** : Carte géographique de la région de récolte de *Juniperus oxycedrus*.

**b) *Juniperus phoenicea* L.**

L'espèce *Juniperus phoenicea* L. a été récoltée au mois de février 2020, à une altitude de 1000 m au coordonné de 35°22'38"N, 8°17'22"E, au niveau de la région de Bakkaria-Tébessa (Fig. 23), sachant que les échantillons ont été transportés dans des sacs en papier étiquetés.



**Figure 23 :** Carte géographique de la région de récolte de *Juniperus phoenicea* L.

**II. 1. 2. Préparation du matériel végétal**

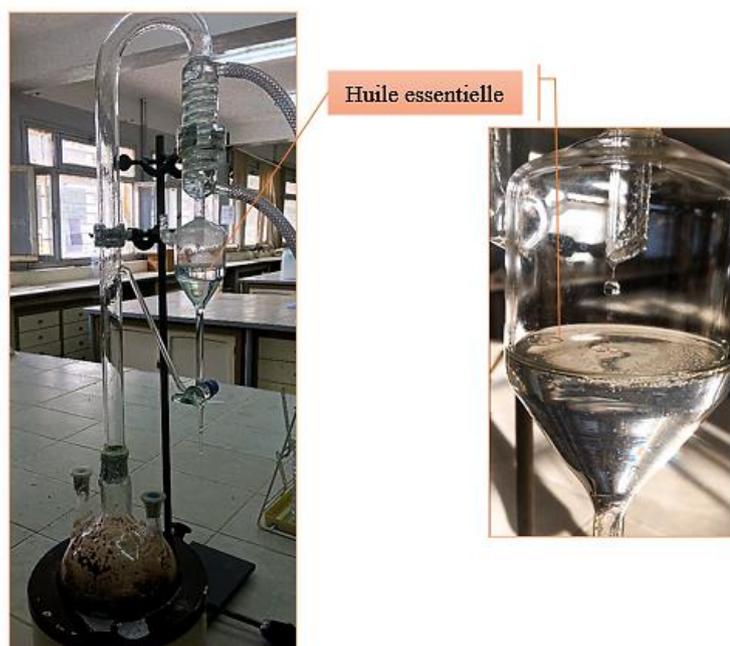
Les feuilles et les fruits des espèces *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea* L., ont été amenées au laboratoire pour extraire leurs huiles essentielles, après un lavage soigneux.

**II. 1. 3. Extraction des huiles essentielles**

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par la technique d'hydrodistillation en employant un appareil de type "Clevenger" (Fig. 24).

**II. 1. 4. Mode opératoire et principe**

Une masse de 300 g du matériel végétal a été introduite dans un ballon en verre de deux litres contenant une quantité suffisante d'eau distillée (1400 mL), placé sur un chauffe-ballon. Les vapeurs chargés d'huiles essentielles passent à travers le tube vertical de 50 cm, puis dans le réfrigérant, où la condensation aura lieu. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube ou l'ampoule remplie au préalable d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau. L'huile obtenue est conservée à une température de 0°C, dans des petits flacons en verre brun étiquetés, fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière jusqu'à son usage.



**Figure 24 :** Appareil d'extraction des huiles essentielles.

### II. 1. 5. Évaluation du rendement d'extraction des huiles essentielles de "*genévrier*" obtenue par hydrodistillation

Afin de choisir la durée de la distillation qui offrira le meilleur rendement, une estimation du temps de distillation (**TD**) a été effectuée. Au cours de chaque essai, une masse de 300 g de matière première a été traitée. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation selon différentes périodes de temps, allant de 180 à 360 min à la recherche du meilleur rendement d'extraction.

### II. 1. 6. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle selon la norme **AFNOR**, est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{Rd\% = \frac{m' \times 100}{m}}$$

Où, **Rd%** : Rendement en huile essentielle en %,

**m'** : Masse d'huile essentielle en gramme,

**m** : Masse de la plante en gramme.

## **II. 2. COMPOSITION CHIMIQUE**

### **II. 2. 1. Analyses par GC/MS**

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation, de la partie aérienne des deux espèces de *Juniperus*, cueillies de la région de Tébessa et fraîchement distillées, ont été analysées par chromatographie gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (GC/MS).

L'analyse de ces **HEs**, a été effectuée par un chromatographe en phase gazeuse "Hewlett Packard Agilent 6890", couplé à un spectromètre de masse" Hewlett Packard Agilent 5973" à quadripôle.

Les spectres GC/MS ont été réalisés pendant 139 min sur chromatographe en phase gazeuse avec un injecteur split, équipé d'une colonne (HP-5MS) de 30 m de longueur et de diamètre interne égal à 0,25 mm. L'épaisseur du film étant de 0,25 µm avec une phase stationnaire composée de 5 % de Phényle, 95 % de diméthylpolysiloxane. Le gaz vecteur (Hélium) utilisé est N6 avec un débit de 0,5 mL/min, la température du four était de 60°C pendant 8 min à raison de 2 °C/min et a été maintenue à 250 °C en isotherme pendant 10 min. Le mode d'analyse du spectromètre de masse était scan TIC (De 30 à 550) d'un piègeur ionique avec un impact électronique de 70 eV. La température de l'interface était de 270°C, et celle de source était de 230 °C.

## **II. 3. DOSAGE DES COMPOSES PHÉNOLIQUES TOTAUX**

Comme il a été mentionné dans le premier chapitre, les phénols présents dans presque tous les produits végétaux, sont dotés d'un pouvoir antioxydant important [1]. Il est à noter qu'il n'existe aucune méthode permettant de doser de manière satisfaisante et simultanée l'ensemble des composés phénoliques présents dans un extrait végétal non purifié. Cependant, une estimation du contenu en composés phénoliques totaux (**CPT**), par un dosage colorimétrique peut être élaborée. Pour cet effet, l'utilisation d'un mélange de phosphomolybdate et de phosphotungstate commercialisé sous la dénomination de réactif de Folin-Ciocalteu (**FC**) est nécessaire [2].

### **II. 3. 1. Principe**

Ce dosage est basé sur une réaction d'oxydoréduction. En milieu alcalin, le réactif de Folin, qui est un acide de couleur jaune, constitué de poly-hétérocycles acides contenant du molybdène et du tungstène, est réduit en présence de polyphénols en oxyde de tungstène et de molybdène en donnant une couleur bleue. Plus précisément, les polyphénols qui ont un

caractère réducteur peuvent se complexer avec les métaux lourds pour former des complexes colorés bleus que l'on peut doser par spectrophotométrie vers 620-760 nm [2].

Cette méthode colorimétrique est utilisée dans notre travail pour déterminer la teneur en **CPT** pour les échantillons des huiles essentielles selon le protocole de Dewanto et *al.* [3].

### II. 3. 2. Protocole opératoire

Une prise de 500  $\mu$ l d'huile essentielle diluée dans du méthanol, est mélangée avec 500  $\mu$ l d'eau distillée et 125  $\mu$ l de réactif de FC. Après une agitation vigoureuse du mélange, suivie d'un repos de 3 minutes, un volume de 1,25 mL de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 7 % est additionné, puis le mélange résultant est ajusté par 3 mL d'eau distillée. Après un repos de 90 minutes à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm par rapport à un blanc dont l'extrait est remplacé par le méthanol.

Une gamme étalon en utilisant l'acide gallique, est préparée dans les mêmes conditions que les échantillons à dosés, avec des différentes concentrations allant de 0,00 à 250  $\mu$ g/mL.

### II. 3. 3. Méthode d'estimation

Les teneurs des **HEs** en polyphénols totaux, sont exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligrammes d'huiles essentielles (EAG/mg d'**HE**), dosée à des concentrations initiales de 920 mg/mL. On note que pour l'**HE** des feuilles du *Juniperus oxycedrus* on a utilisé une concentration initiale de 940 mg/mL. Chaque valeur obtenue correspond à la moyenne de trois répétitions ( $n=3$ )  $\pm$  l'écart-type. Les calculs ont été faits selon la formule suivante :

$$\text{Quantité de polyphénols} = X.F/C_i$$

Où, **X** : Concentration en polyphénols en  $\mu$ g/mL déterminée à partir de la courbe d'étalonnage,

**F** : Facteur de dilution (pour notre étude ;  $F=1000$ ),

**C<sub>i</sub>** : Concentration initiale de l'huile essentielle (mg/mL).

## II. 4. DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE PAR DES TESTS CHIMIQUES IN-VITRO

Différentes techniques sont employées pour mesurer l'activité antioxydante des huiles essentielles des plantes, nos travaux effectués visent l'évaluation de cette activité, en mesurant l'activité antiradicalaire par la méthode du Piégeage du radical libre **DPPH<sup>•</sup>** et par le pouvoir réducteur de fer **FRAP**.

## II. 4. 1. Piégeage du radical libre (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl : DPPH•)

### II. 4. 1. 1. Principe

L'emploi des extraits végétaux dotés d'activité antioxydante, favorise le piégeage des radicaux libres. Pour mieux distinguer ce phénomène, prenant comme exemple le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle **DPPH•** (Fig. 25) qui absorbe à 517 nm. La stabilité de ce radical est due au fait qu'il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. La délocalisation de cet électron empêche la formation des dimères, donc le **DPPH•** reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire et provoque ainsi l'apparition de la couleur violette bien caractéristique de la solution de **DPPH•** [4].

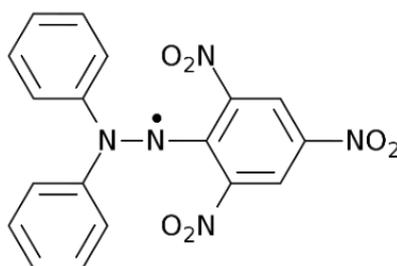


Figure 25 : Structure du radical **DPPH•**.

Comme l'illustre le schéma ci-après, en présence des donneurs d'hydrogène (**AH**) dans les antioxydants, le radical **DPPH•** est réduit en une forme non radicalaire **DPPH-H** (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) et de ce fait sa couleur initiale vire au jaune, ce qui entraîne une diminution de la valeur de son absorbance.

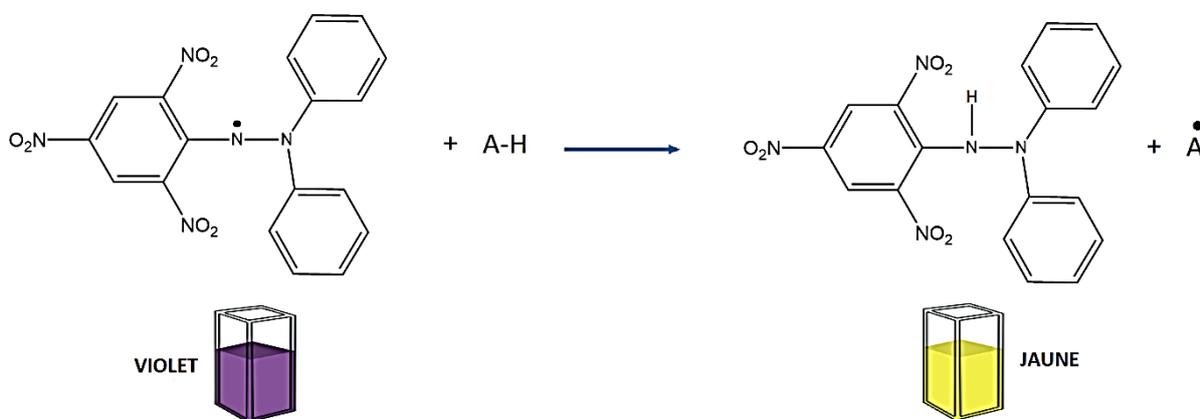


Schéma 04 : Réaction radicalaire de **DPPH•**.

#### II. 4. 1. 2. Révélation par CCM

Pour confirmer le pouvoir antioxydant des extraits (le pouvoir de piégeage du radical **DPPH•**), on réalise un test primaire sur une plaque **CCM**. Ce test se réalise par la déposition de spots des extraits à tester (spots des huiles essentielles investiguées avec le spot d'antioxydant standard qui est l'acide ascorbique) sur des plaques **CCM**, puis pulvériser ces dernières avec une solution méthanolique contenant du **DPPH•** (0,004 %, m/v). Après quelques minutes, l'inspection de la coloration des spots est effectuée. Le test positif est révélé par l'apparition d'une coloration jaune sur fond violet, tandis qu'une coloration violette des spots indique un test négatif [5].

#### II. 4. 1. 3. Mode opératoire

Le piégeage des radicaux libres **DPPH•**, a été élaboré selon le protocole décrit par Hasan et al. [6], avec quelque modification réalisée selon notre étude. 1 mL de chaque solution méthanolique des huiles essentielles étudiées à différentes concentrations (de 0,0 à 92 mg/mL), sont ajoutés à 3 mL de la solution méthanolique à 0,004 % de **DPPH•**. En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 1 mL de méthanol avec 3 mL de la solution méthanolique de **DPPH•**.

La lecture de l'absorbance est faite à 515 nm, après 60 minutes d'incubation à l'obscurité, à une température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; tel que l'hydroxytoluène butylé (**BHT**) dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

#### II. 4. 1. 4. Expression des résultats

Le pouvoir de réduction ou d'inhibition du radical libre **DPPH•** est exprimé par la formule suivante [7] :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(Abs \text{ c} - Abs \text{ e}) / Abs \text{ c}] \times 100$$

Où, **Abs c** : Absorbance du contrôle (la solution de **DPPH•** en absence de l'huile essentielle, ou de l'acide ascorbique).

**Abs e** : Absorbance de la solution de **DPPH•** en présence de l'huile essentielle, ou de l'acide ascorbique

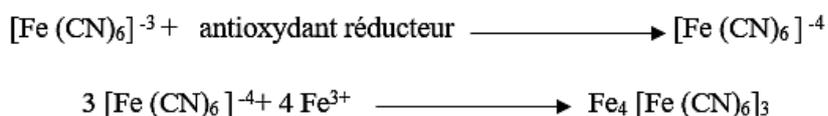
Nos résultats ont été réalisés en triplicata. Pour chaque **HEs** nous avons déterminé la valeur **IC50**, qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50 % de l'activité du radical **DPPH•**.

## II. 4. 2. Pouvoir réducteur du fer (Test FRAP : Ferric reducing antioxydant power)

### II. 4. 2. 1. Principe

Le pouvoir réducteur des huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea* L., a été évalué en utilisant la méthode de **FRAP**, selon le protocole décrit par Oyaizu [8] avec quelques modification. Cette dernière est un test peu complexe, rapide et reproductible [9]. La présence d'un composé réducteur dans les échantillons a testé, entraîne la réduction du fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) du complexe ferricyanure en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Dans un milieu acidifié par l'acide trichloracétique, cette réaction se traduit par le virage de la couleur jaune du ferricyanure de potassium, vers la couleur bleu verte en fonction du pouvoir réducteur des échantillons antioxydants. Le complexe de couleur bleu appelé bleu de Prusse de Perl est formé lorsqu'on ajoute le  $\text{FeCl}_3$ . Par conséquent, la réduction peut être déterminée en mesurant la formation du bleu de Prusse de Perl par spectrophotométrie UV-Vis, à une longueur d'onde de 700 nm, sachant qu'une absorbance plus élevée indique un pouvoir réducteur du fer plus élevé [10].

Le principe de ce test est basé sur les réactions chimiques suivantes [11] :



### II. 4. 2. 2. Mode opératoire

Dans un tube à essai en verre contenant 0,5 mL de l'échantillon à différentes concentrations, 1,25 mL de tampon phosphate à 0,2M (pH 6,6) ont été ajoutés, puis 1,25 mL de ferricyanure de potassium [ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ] à 1%. Le mélange a été incubé au bain-Marie à 50°C pendant 20 minutes, puis refroidi à température ambiante. Un volume de 2,5 mL d'acide trichloracétique (**TCA**) à 10% est ensuite ajouté pour arrêter la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 minutes. 1,25 mL de surnageant sont transféré dans un autre tube auquel, 1,25 mL d'eau distillée et 250  $\mu\text{l}$  de chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ) à 1 % fraîchement préparé sont ajoutés. La lecture de l'absorbance du mélange réactionnel se fait au cours de 30 minutes, à 700 nm. à l'aide d'un spectrophotomètre. Un blanc est préparé en remplaçant l'huile essentielle par Le méthanol, Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard. Dans cette expérience, l'acide ascorbique est utilisé comme contrôle positif, aux mêmes concentrations choisies et dans les mêmes conditions expérimentales.



**Figure 26** : Incubation et centrifugation des **HEs** étudiées

## **II. 5. INHIBITION DE LA NICOTINE**

La nicotine est le composant le plus connu de la cigarette, c'est une substance psychoactive impliquée dans la dépendance au tabac [12]. Cette molécule provoque de nombreux problèmes dans l'organisme qui sont mentionnés dans le chapitre précédent. De nombreuses études étaient consacrées à la recherche de solutions pour diminuer sa toxicité. Ces recherches scientifiques sont en continuelle progression à la recherche d'alternatives efficaces de la nicotine contenue dans le tabac, cependant, l'arrêt complet du tabac reste la solution la plus efficace.

Du fait que la plupart des fumeurs ne peuvent pas arrêter complètement de fumer, donc les chercheurs se trouvent dans l'obligation de fournir d'autres solutions naturelles doivent être en vue de réduire le taux de la nicotine dans l'organisme.

Dans cette optique, l'évaluation *in-vitro* du pouvoir réducteur du taux de la nicotine contenue dans le tabac, par les huiles essentielles investiguées dans cette étude est ciblée.

### **II. 5. 1. Extraction de la nicotine contenue dans le tabac**

La nicotine est un alcaloïde volatile soluble dans l'eau, l'éthanol et les solvants apolaires. La méthode préférée pour l'extraire, est l'extraction par hydrodistillation, afin de récupérer un extrait de nicotine plus pur que la méthode classique. On rappelle que cette dernière à placer le tabac dans une solution aqueuse concentrée d'hydroxyde de sodium, puis à extraire la nicotine à l'aide de dichlorométhane. Malheureusement, du fait que la nicotine obtenue par cette méthode est donc loin d'être pure, car le solvant organique employé va extraire également d'autres composés du tabac, telles que les substances colorées.

### II. 5. 2. Principe

La méthode utilisée[13], est basée sur les propriétés physico-chimiques de la nicotine. Du fait que cette dernière est volatile, elle peut être facilement entraînable par la vapeur d'eau, et elle sera déplacée directement à partir de la plante, par une base fixe comme la soude. On laisse agir la soude sur les feuilles du tabac pour obtenir de la nicotine-basique [14], puis cette dernière est entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, la nicotine se sépare de la partie aqueuse à l'aide d'un solvant organique apolaire par décantation.

### II. 5. 3. Mode opératoire

Dans un ballon de 250 mL, on place 10 g de tabac, puis on introduit 150 mL d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium à 15 %, ainsi que quelques morceaux de pierre ponce. Le mélange est chauffé à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargés d'huiles essentielles passent à travers le tube vertical, puis dans le réfrigérant, où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée. Contrairement à d'autres distillations par hydrodistillation, on n'obtient qu'une seule phase puisque la nicotine est soluble dans l'eau.

Après 90 min, le distillat jaune est récupéré et placé dans une ampoule à décanter et la nicotine est extraite par 3 portions successives de 20 mL de dichlorométhane. La phase organique se colore en jaune tandis que la phase aqueuse devient incolore (**Fig. 27**), prouvant la migration de la nicotine de l'eau au solvant organique. Pour sécher la phase organique il faut ajouter une petite portion de sulfate de sodium anhydre puis filtrer.

Le filtrat est ensuite concentré sous vide (évaporation de la phase organique) pour fournir une huile Jaune transparent.



**Figure 27** : Montage d'extraction de la nicotine.

**Attention :** Cette opération est faite avec précautions rigoureuses, en raison de l'extrême toxicité de la nicotine

#### II. 5. 4. Tentative d'identification de la nicotine

##### II. 5. 4. 1. Méthode colorimétrique

Pour identifier l'extrait obtenu, nous avons commencé par l'élaboration d'une chromatographie sur couche mince. Les résultats furent peu probants, du fait des taches faiblement intenses obtenues et qui ne nous ont rien indiqué. Donc, on avait recours à la méthode colorimétrique simple décrite par Al-Tamrah [15]. Pour la détermination de la nicotine, le procédé est basé sur la réaction de la nicotine avec du permanganate de potassium en présence d'hydroxyde de sodium, pour former un produit vert hydrosoluble. Ce procédé peut être appliqué pour la détermination de petites quantités de nicotine dans divers échantillons de cigarettes.

##### II. 5. 4. 2. Protocole

Une gouttelette de la solution obtenue est déposée sur la plaque CCM, puis cette dernière est imbibée de solution fortement concentrée en permanganate de potassium. Si la couleur de la tache déposée devient jaune verte ou vert, la présence de la nicotine est confirmée.

##### II. 5. 4. 3. Méthode spectrophotométrique

Un spectre UV-visible comportant toujours une longueur d'onde ( $\lambda_{\max}$ ), pour laquelle l'absorbance est maximale  $\lambda_{\max}$ , est une grandeur caractéristique de chaque composé analysé, comme on peut avoir des maxima locaux (plusieurs pics) également caractéristiques du composé. Cette grandeur peut permettre l'identification d'une espèce chimique en solution, néanmoins, des molécules qui se ressemblent peuvent avoir des  $\lambda_{\max}$  très similaires. Il est à noter que la forme du spectre a aussi sa signification [16].

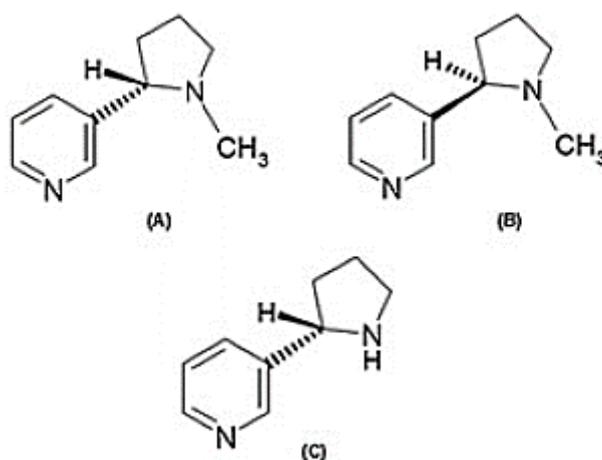
#### II. 5. 5. Dosage de la nicotine

Il y a beaucoup des méthodes d'analyse utilisées pour doser la nicotine, telle que la spectrophotométrie U.V, qui permet des mesures souvent spécifiques pour chaque composé.

**Rappelle :** La nicotine [(S)-3-(1-méthyl-2-pyrrolidiny) pyridine], a un cycle pyridine uni à une méthyl-pyrrolidine. Selon Clayton et al. [17], le tabac présente les deux énantiomères de l'alcaloïde pyridine nicotine ; le [1-méthyl-2-(3-pyridyl) pyrrolidine], (S)- (-) -nicotine] qui est l'isomère dominant dans le tabac et la fumée de tabac. L'autre énantiomère ; (R)-(+)-nicotine n'est présente qu'en petites quantités de (0,2 – 1 %) dans le tabac brut et transformé, tandis que

dans la fumée il se trouve avec 2 à 3 % de la quantité totale de nicotine. Il y a aussi un autre analogue de la nicotine qui existe dans le tabac, c'est l'isomère la nornicotine (**Fig. 28**) présente dans le tabac est généralement inférieure à 5 % de la teneur totale en alcaloïdes.

Ces analytes ont été détectés par leur absorbance dans l'ultraviolet (UV), a le même maximale longueur d'onde 260 nm [18].



**Figure 28 :** Structure moléculaire de (S) - (-) -nicotine (A), de (R)- (+) -nicotine (B) et de (S) - (-) -nornicotine (C).

### II. 5. 5. 1. Dosage par la méthode spectroscopique

Ce dosage a été effectué selon la méthode indirecte avec une gamme d'étalonnage. Cette méthode ne sollicite pas de connaître  $\epsilon$ , via la courbe d'étalonnage  $A = f(c)$ , obtenue par la mesure de l'absorbance des solutions "filles", préparées à partir d'une solution étalon "mère". L'absorbance de la solution à doser est mesurée dans les mêmes conditions, puis extrapolée sur la courbe d'étalonnage, pour déterminer graphiquement la concentration de la solution à doser (la gamme doit encadrer la valeur probable de la solution à doser). Cela permet de vérifier la linéarité en tenant compte des éventuelles erreurs de manipulation (tracé d'une droite statistique).

### II. 5. 5. 2. Mode opératoire

#### ➤ Préparation des échantillons

On prépare deux solutions par la dilution de la nicotine extraite du tabac et la nicotine commercialisée, dans 100 mL de méthanol à 95 %. Les solutions obtenues sont traitées par micro-addition d'huiles essentielles selon le protocole suivant :

On verse 1 mL de la solution diluée de nicotine dans chaque tube à essai, puis diluée le mélange obtenu encore huit fois. Ensuite, on ajoute 5µl de chaque **HEs** à tester dans chaque tube à essais, en laissant un tube témoin exempt de l'**HE**. Après une agitation vigoureuse, les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 15 min.

Après l'incubation, la lecture de l'absorbance des solutions se fait à 260 nm. Les spectres d'absorption UV ont été réalisés entre 300 nm et 200 nm, en utilisant une cellule de 10 mm de longueur de trajet et un spectrophotomètre "Shimadzu UV-1700 Pharmaspec".

Pour chaque mesure d'un nouveau mélange (méthanol plus **HE** testée), une correction est faite par la ligne de base afin d'avoir l'absorbance de la nicotine seule.

Une gamme d'étalon de la nicotine a été préparée dans les mêmes conditions que les échantillons, pour des concentrations variables de 11 à 360 µg/mL.

**Remarque :** D'un point de vue purement chimique, il est intéressant que la (-) -(S)-nicotine naturelle possède globalement les mêmes effets que son analogue synthétique, la (+) -(R)-nicotine. Cependant, les deux énantiomères ont le même spectre d'absorbance car ils possèdent les mêmes propriétés d'absorbance [17, 19]. Pour cette raison on a utilisé la nicotine artificielle pour l'étalonnage des deux énantiomères de nicotine, ceux du tabac et de l'artificielle.

## **II. 6. EFFET DES HUILES ESSENTIELLES ÉTUDIÉES SUR LE TAUX DE GOUDRON NEUTRE, ACIDE ET BASIQUE DE LA FUMÉE DE CIGARETTE**

Dans le but d'obtenir des échantillons contenant le goudron contenu dans la fumée de cigarettes, la technique d'extraction de la fumée par fumage des cigarettes a été employée. Ces composés goudronnés, sont traités avec les huiles essentielles des deux espèces de *Juniperus* (*oxycedrus* et *phoenicea* L.), puis analysés quantitativement, afin d'estimer l'effet de ces huiles essentielles sur la teneur en goudron de la fumée de cigarettes dans les fractions de goudron neutre, acide et basique.

### **II. 6. 1. Piégeage de la fumée de cigarette**

#### **II. 6. 1. Dispositif de fumage et de collecte**

Afin de récupérer une quantité importante des composés contenus dans la fumée de cigarette dont le goudron fait partie, l'élaboration d'une machine à fumer simple a été élaborée.

### a) Principe

Habituellement les machines à fumée développées pour piéger la fumée de cigarettes, doivent respecter un cahier de charges bien défini. Celui-ci doit permettre d'obtenir des échantillons de la phase particulaire des différentes fumées et d'assurer le prélèvement selon la norme ISO 4387 pour les fumées principales, tout en permettant de garder une certaine flexibilité dans l'ajustement des paramètres de fumage de la cigarette (débit d'aspiration, fréquence et durée des bouffées) [20]. On note que, en ce qui concerne le dispositif utilisé dans nos travaux, il n'était pas aussi précis pour permettre de déterminer les quantités exactes des composants de la fumée, cependant, il a pu récupérer la plupart des composés qui existe dans la fumée de cigarette, car il respecte le principe de combustion et de pyrolyse de la cigarette. Ce dispositif est basé sur le principe de la machine élaboré par Emile et Matthey [21], où les cigarettes sont fumées par bouffées successives à intervalles constants, sous une pression constante et à volume d'aspiration constant.

### b) Mode opératoire

Le montage de notre dispositif est simple, il ressemble à celui de la filtration sous vide, mais à la place de Buchner ou du verre fritté, un bouchon de silicone à travers lequel un tube en verre est introduit (**Fig. 29**). Ce dernier a forme tordue de degré de 90°, se ferme à l'extrémité extérieure avec un caoutchouc portant la cigarette. À l'extrémité intérieure, c'est-à-dire dans la fiole à vide, l'autre bout immerge dans la solution organique constituée de benzène d'un volume de 150 mL.



**Figure 29** : Montage du dispositif de fumage.

Nous avons réalisé le fumage des cigarettes de la manière suivante : les aspirations duraient 2 à 3 secondes avec un repos de 15 seconds environ, entre les aspirations. Chaque cigarette était consommée au cours de 14 aspirations. En effet, la solution benzénique

nécessaire utile pour notre étude avait besoin de piéger la fumée de 90 cigarettes, de ce fait, une cigarette était fumée toutes les 238 secondes (presque chaque 4 min).

Nous avons utilisé toujours une même marque de cigarette (cigarette de de tabac noir (RYM), marque algérienne (**Fig. 30**).



**Figure 30** : Photographie de la cigarette employée.

## II. 6. 2. Extraction des fractions goudronnées à partir de la solution benzénique

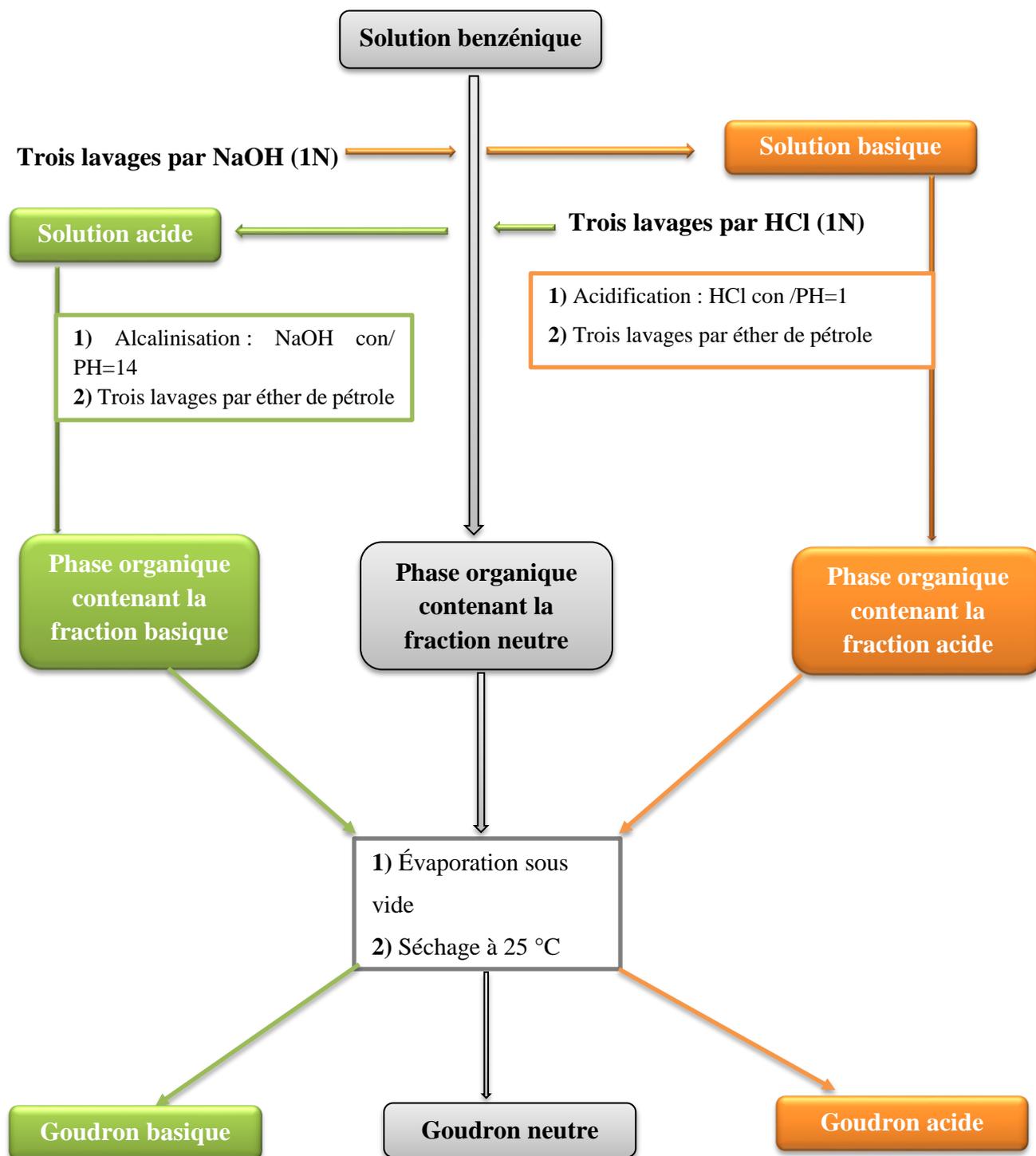
La solution benzénique récupérée (100 mL), contenant les composants organiques de la fumée de 90 cigarettes a été divisé en deux parties ; l'une a été utilisée comme témoin et l'autre a été traitée par les huiles essentielles pour évaluer l'effet de ces huiles sur l'inhibition du goudron. Pour le traitement de 50 mL de la solution benzénique qui contient le goudron, 100  $\mu$ l de l'huile essentielle son a ajoutés, puis après une agitation vigoureuse, les deux solutions témoin et traitée sont laissées au repos, incubé à l'obscurité à température ambiante pendant 18 heures.

Les deux solutions (Témoin et traitée) subissait des extractions acido-basiques afin d'extraire le goudron acide et basique et récupérer le goudron neutre :

On commence d'abord par extraire le goudron acide de la solution benzénique, au moyen de plusieurs lavages avec NaOH (1 N), puis le goudron alcalin par HCl (1 N). Après la récupération de la solution basique et acide, un traitement successivement par NaOH et HCl concentrés jusqu'à l'obtention de solutions à pH=14 et pH=1 est effectué.

Puis on procède à l'extraction des goudrons acide et basique, par trois extractions à l'éther de pétrole pour chaque solution. Les trois solutions récupérées sont : la fraction benzénique (Neutre), la première fraction étherique (Acide) et la deuxième fraction étheriques (Basique), sont évaporées sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif.

Finalement, les solides obtenus sont séchés à 25°C, pendant plusieurs heures, puis leurs masses étaient mesurées en mg, à l'aide d'une balance analytique. Le mode opératoire est résumé dans le schéma suivant (Schéma 05) :



Schémas 05 : Illustration du mode d'extraction des goudrons.

## **II. 7. HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUE**

Les procédés généraux de séparation, d'identification et du dosage des hydrocarbures aromatiques polycyclique (**HAP**), furent les méthodes chromatographiques et spectrophotométriques. Selon le mode d'extraction de Waltz 1963 [22] et les notions de base d'extraction des hydrocarbures aromatiques polycyclique de Alice [23], nous avons opté pour le protocole suivant : la fumée des cigarettes collectée, est immédiatement soumise à une série d'opérations de séparation à savoir, le partage entre phases liquides non miscibles, la chromatographie liquide sur colonne, pour analyser les produits finaux obtenus par spectrophotométrie UV-Vis.

### **II. 7. 1. Extraction et purification**

#### **II. 7. 1. 1. Piégeage de la fumée de cigarette**

Avec le même protocole de collecte de la fumée illustré dans la partie de l'extraction du goudron, qui se résume dans la condensation et le piégeage de la fumée obtenue du fumage de 150 cigarettes, dans un mélange hexane-éthanol (2-1).

#### **II. 7. 1. 2. Partage entre hexane-éthanol et eau**

Dans une ampoule à décanter, on ajoute 50 mL d'eau distillée, sur un volume de 150 mL de la solution organique de la fumée de cigarettes. Après une agitation, une séparation des deux phases est effectuée. La phase inférieure est ensuite lavée trois fois avec 25 mL d'hexane pour chaque lavage. Les phases hexanoïques contenant les HAP ont été collectées, évaporées dans un évaporateur rotatif, à une température ne dépassant pas 40°C.

#### **II. 7. 1. 3. Chromatographique sur gel de silice**

La procédure d'extraction doit être complétée par une étape de purification, généralement réalisée grâce à une chromatographie liquide sur colonne.

Une suspension contenant 20 g de silice et 250 mL d'un mélange hexane-dichlorométhane (1 : 1), est introduite dans une colonne de 2 cm de diamètre (**Fig. 31**). Le résidu de l'évaporation est déposé quantitativement sur le sommet de la colonne (auteur de silice est 20 cm.) par la technique de dépôt solide. L'élution était faite avec 250 mL d'éluant et un débit de 30 mL par 25 min. Des fractions de 8 mL, ont été récupérées dans des petits flacons en verre brun étiquetés. Subséquemment, des microgouttes de toutes les fractions obtenues, ont été déposées sur une plaque CCM, de dimension 10/20 cm, pour être éluées en utilisant le même

éluant employer pour la chromatographie sur colonne (Hexane-dichlorométhane). Toutes les fractions contenant le ou les mêmes substances (Tache (s)) ont été collectées.



**Figure 31** : Chromatographie sur gel de silice.

### II. 7. 2. Prétraitement par l'huile essentielle

Les volumes obtenus pour chaque fraction, ont été divisée en deux pour laisser des lots comme des témoins et d'autres lots qui vont être traité par l'huile essentielles. Un volume de 2.5 $\mu$ l de l'HE de *J. oxycedrus* L., est ajouté dans chaque 4 ml, de chaque fraction. Après agitation du mélange et après une incubation de 15 min à l'obscurité, l'analyse spectrophotométrique est élaborée.

### II. 7. 3. Analyse spectrophotométrique

L'analyse UV est réalisée avec un spectrophotomètre de Shimadzu UV-1700 Pharmaspec. La cuve de mesure de 10 mm est en quartz.

Tout d'abord nous allons réaliser un blanc, c'est à dire que l'on règle l'appareil sur une absorbance nulle pour toutes les espèces qui absorbent en l'absence de l'espèce qui nous intéresse. Ainsi, l'absorbance mesurée est bien due à l'espèce étudiée et sont les **HAP**. Enregistrer les spectres d'absorptions de chaque fraction entre les longueurs d'onde de 200 et 400 nm avant est après le traitement par l'huile essentielle de *J. Oxycedrus*.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Singleton, V.L., R. Orthofer, and R.M. Lamuela-Raventós, *Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent*, in *Methods in enzymology*. 1999, Elsevier. p. 152-178.
2. Fagbohoun, L. *Etude chimique de colorants naturels et matériaux résineux traditionnels au Bénin dans le domaine artisanal*. 2014. Avignon.
3. Dewanto, V., et al., *Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2002. **50**(10): p. 3010-3014.
4. Blois, M.S., *Antioxidant determinations by the use of a stable free radical*. *Nature*, 1958. **181**(4617): p. 1199-1200.
5. Benyagoub, E., N. Nabbou, and S. Moghtet, *Propriétés Anti Radicalaires d'une Plante Saharienne Anastaticahierochuntica L. Issue d'une Région de l'Extrême Sud-Ouest Algérien= Anti-Free Radical Properties of the Saharian Plant Anastaticahierochuntica L. from the Far South Algerian West*. *Revue des Bioressources*, 2015. **257**(5783): p. 1-13.
6. Hasan, S.R., et al., *DPPH free radical scavenging activity of some Bangladeshi medicinal plants*. *Journal of Medicinal plants research*, 2009. **3**(11): p. 875-879.
7. BOUYAHYAOU, A., *Contribution à la valorisation des substances naturelles: Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien*. 2017.
8. Haddoudi, M., et al., *Valorisation du marc du café: extraction de l'huile et évaluation de son activité antioxydante*. *Technologies de Laboratoire*, 2014. **8**(36).
9. Benzie, I.F. and J.J. Strain, *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay*. *Analytical biochemistry*, 1996. **239**(1): p. 70-76.
10. Bougandoura, N. and N. Bendimerad, *Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.) Briq*. *Nature & Technology*, 2013(9): p. 14.
11. Ch, R.K., Y. Madhavi, and T. Raghava Rao, *Evaluation of phytochemicals and antioxidant activities of Ceiba pentandra (kapok) seed oil*. *J Bioanal Biomed*, 2012. **4**: p. 068-073.
12. Chevalier, C. and A. Nguyen, *Composition et nocivité du tabac*. *Actualités Pharmaceutiques*, 2016. **55**(560): p. 22-25.

13. Garcia, C., *Etude et prévention bucco-dentaire chez une population autochtone colombienne: " Les U'was"*. 2017, Université Toulouse III-Paul Sabatier.
14. J. le Houezec, *Sels de nicotine : quels avantages pour les vapoteurs ?* 2017.
15. Al-Tamrah, S., *Spectrophotometric determination of nicotine*. *Analytica chimica acta*, 1999. **379**(1-2): p. 75-80.
16. Chergui, S., *Tout savoir sur le spectre ultraviolet-visible* 2018.
17. Clayton, P.M., et al., *Spectroscopic studies on nicotine and nornicotine in the UV region*. *Chirality*, 2013. **25**(5): p. 288-293.
18. Page-Sharp, M., et al., *Measurement of nicotine and cotinine in human milk by high-performance liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection*. *Journal of Chromatography B*, 2003. **796**(1): p. 173-180.
19. Swain, M.L., et al., *Ultraviolet absorption spectra of nicotine, nornicotine and some of their derivatives*. *Journal of the American Chemical Society*, 1949. **71**(4): p. 1341-1345.
20. Schramm, S., *Étude de la composition de différentes fumées de cigarette associées aux tabagismes actif et passif*. 2012, Université de Lorraine.
21. Matthey, E., *Efficacité du traitement préalable du tabac par un solvant organique, du point de vue de la réduction des substances toxiques dans la fumée*. *Zeitschrift für Präventivmedizin*, 1961. **6**(1): p. 428-443.
22. Waltz, P. and M. Häusermann, *Sur un traitement du tabac en vue de diminuer la teneur en hydrocarbures polycycliques de la fumée de cigarettes*. *Zeitschrift für Präventivmedizin*, 1963. **8**(1): p. 111-124.
23. Paris, A., *Extractions et analyses des hydrocarbures aromatiques: approches méthodologiques et applications à des matrices fruitières*. 2017.



## **Résultats et discussion**



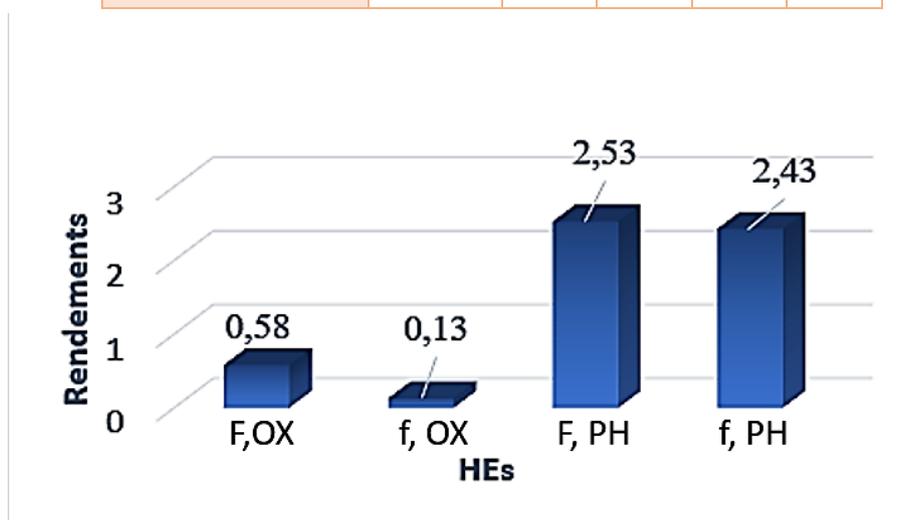
### III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

#### III. 1. RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE

Les rendements en huiles essentielles des parties aériennes de *J. phoenicea* et de *J. oxycedrus* L. obtenues par hydrodistillation, ont été calculés en fonction de la masse du matériel végétal traité (300 g). Les résultats relevés sont résumés dans le tableau 08 et représentés sur la figure 32.

**Tableau 08** : Estimation de la durée de distillation des huiles essentielles.

		Temps de distillation (min)				
		180	240	300	360	
Rendement (%)	<i>J. oxycedrus</i>	Fruits	0,54	0,56	0,57	0,58
		Feuilles	0,06	0,09	0,12	0,13
	<i>J. phoenicea</i>	Fruits	2,50	2,52	2,52	2,53
		Feuilles	2,37	2,38	2,40	2,42



**Figure 32** : Histogramme représentatif des rendements des **HEs** des deux espèces de Juniperus.

D'après l'histogramme (Fig. 32), une différence importante et bien nette entre le rendement des deux espèces a été démontrée. Après 180 min de distillation, les **HEs** des deux parties étudiées de *J. phoenicea* ont consigné des rendements importants (entre 2,3 % et 2,5 %) par rapport aux **HEs** de *J. oxycedrus* L. Cependant, les **HEs** des feuilles et des fruits de *J.*

*oxycedrus* L. ont donné un rendement de 0,13 % et 2,58 % respectivement, après 360 min. Selon les résultats obtenus on a conclu que le temps de distillation nécessaire pour recueillir le maximum d'HE était 180 min, donc il n'y avait pas une grande variation entre les rendements en fonction du temps de distillation.

Par contre, ces résultats ont montré que le rendement en huile essentielle des feuilles de *J. oxycedrus* L. a augmenté progressivement avec le TD (180, 240, 300, et 360 min), afin d'obtenir le meilleur rendement.

Par ailleurs, il est difficile de comparer nos résultats avec ceux de la bibliographie, car le rendement dépend de la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée, la composition de la plante qui varient selon le lieu de la récolte, la période...etc.

### **III. 2. ANALYSES PAR GC/MS**

Les résultats de l'analyse chimique des huiles essentielles étudiées par CG-SM sont regroupés dans les tableaux (A, B, C et D) associés en annexes. D'après ces résultats, la richesse de ces huiles fraîchement distillées en mélanges complexes de composés chimiques (Terpènes et dérivés, alcools, aldéhydes, phénols, etc.) a été distinguée.

#### **III. 2. 1. *Juniperus oxycedrus***

Pour les huiles de cette espèce, plus de 86 % des composants sont détectés. Les huiles des fruites et des feuilles de *J. oxycedrus* L. renferment 76 et 71 composés, soient 86,39 % et 93,16 % respectivement. Le principal composant trouvé dans les fruites était l' $\alpha$ -pinene (57,49 %), suivi par le germacrene D (8,99 %), le  $\beta$ -myrcene (7,96 %), l' $\delta$ -cadinene (1,73 %), le zonarene (1,45 %), le manooloxide (1,55 %), le D-limonene (1,10 %), l'abietadiene (1,04 %).

Pour l'huile des feuilles, le principal composant était l' $\alpha$ -pinene (42,22 %), suivi par le manooloxide (3,24 %), (z)-Pentadec-6-en-2-one (3,122 %), Germacrene D (2,99 %), D-limonene (2,91 %), abietatriene (2,09 %), (E, E) -farnesol (1,96 %), bieta-8(14)13(15) -diene (1,91 %).

#### **III. 2. 2. *Juniperus phoenicea* L.**

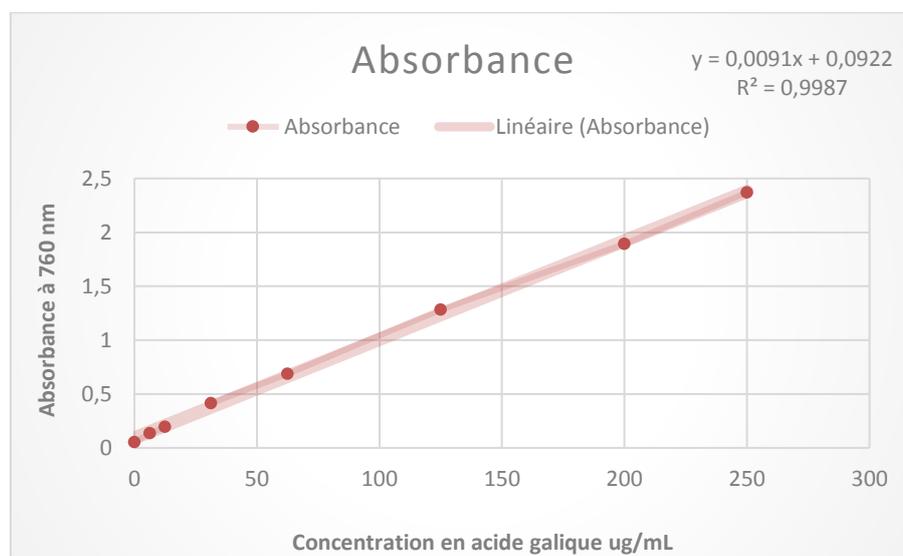
L'analyse des HES des deux parties de cette espèce, a dévoilé la pauvreté de ces huiles en composés comparativement aux HES de l'autre espèce. Les feuilles de *Juniperus phoenicea* L. contenaient plus de 40 composés dont 22 était identifiés, soient 94,81 %. Le principal composant trouvé dans les fruites était le naphtalène,1,2,3,5,6,8a-hexahydr o-4,7 dimethyl-1-(1-methylethyl)-(1S-cis) (19,13 %), puis l' $\alpha$ -pinene (12,45 %), suivi par le cyclohexene, 4-methylene-1-(1-meth ylethyl) (11,88 %), le 3-carene (9,89 %), le 1-h-cyclopropa[a]naphthalene

(9,83 %), le decahydrocyclopropra [d] naphtalène (9,03 %), le germacrene (5,04 %) et le 3,3-Dimethyl-2-méthylénorcamphane (4,18 %).

Tandis que l'huile des fruits contenait plus de 32 composés dont 12 uniquement était identifiés, soient 97,00 %. Le principal composant était l' $\alpha$ -pinène (55,00 %), suivi par la carène (9,89 %), le bêta-pinène (7,71 %), le naphtalène, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-méthyl-4-méthylène-1-(1-méthylethyl) -(1. Alpha., 4a. beta., 8a. alpha) (7,67 %), le caryophyllène (2,17 %), le cyclohexène et le 4-méthylène-1-(1-méthylethyl) (1,35 %).

### III. 3. DOSAGE DES COMPOSES PHÉNOLIQUES TOTAUX

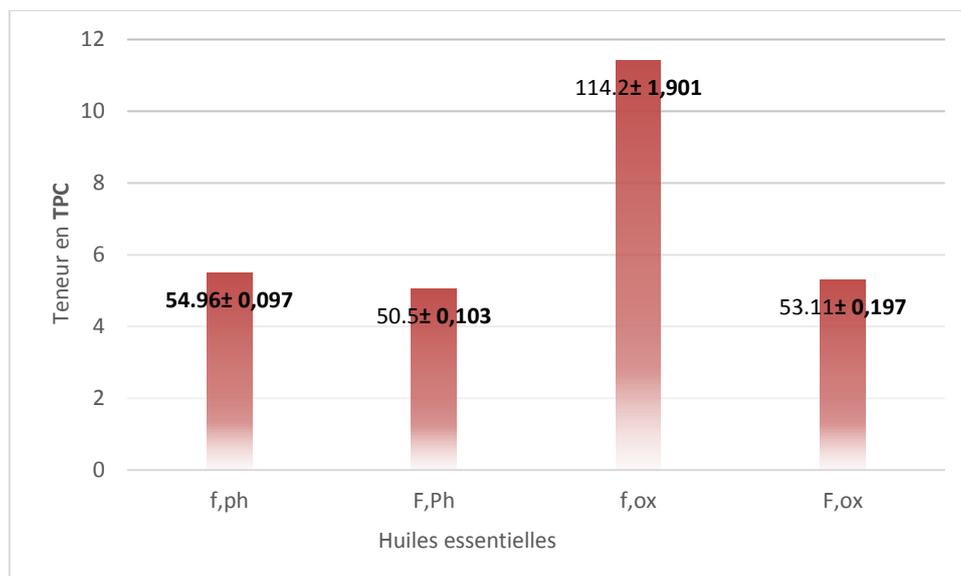
L'évaluation des teneurs en phénols totaux (PT) dans les HEs obtenues, à partir des deux espèces du *Juniperus* : *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea* L. (Feuilles et fruits), a été faite selon la méthode colorimétrique de Folin- Ciocalteu. Les valeurs du dosage obtenues dans cette méthode, sont exprimées en  $\mu\text{g}$  d'équivalent d'acide gallique par mg de l'huile essentielle testée. La valeur de la teneur en composés phénoliques totaux est déterminée, en se référant à la fonction ( $y = 0,0091x + 0,0922$ ) obtenue de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique établie avec un coefficient de corrélation  $R^2 = 0,9987$  (Fig. 33).



**Figure 33 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats obtenus montrent que : l'HE des feuilles de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (f. OX) exhibée une forte teneur en phénols totaux ( $114,23 \pm 1,901 \mu\text{g}$  EAG/mg d'HE). Néanmoins, cette teneur était relativement importante pour les HEs des feuilles de *Juniperus phoenicea* L. (f. PH), des fruites de *Juniperus oxycedrus* (F. OX) et des fruites du *Juniperus phoenicea* L. (F. PH), avec une teneur de  $54,96 \pm 0,097$  ;  $53,11 \pm 0,197$  et  $50,5 \pm 0,103 \mu\text{g}$

EAG/mg d'HE respectivement. Chaque valeur représente la moyenne de trois essais  $\pm$  écart type (Fig. 34).



**Figure 34** : Teneur en composés phénoliques totaux (TPC) en  $\mu\text{g}$  EAG/mg des huiles essentielles investiguées.

A travers les résultats obtenus lors de ce dosage, on peut déduire que la teneur en phénols totaux dans l'HE de feuille *Juniperus oxycedrus* représente 12 %, tandis que ce taux ne dépasse pas 6 % dans les autres HEs (f. PH, F. OX, F. PH). En raison de la nature quantitative de ce dosage, les résultats obtenus pour chaque espèce ne donnent aucune indication sur les composés phénoliques présents dans chaque échantillon.

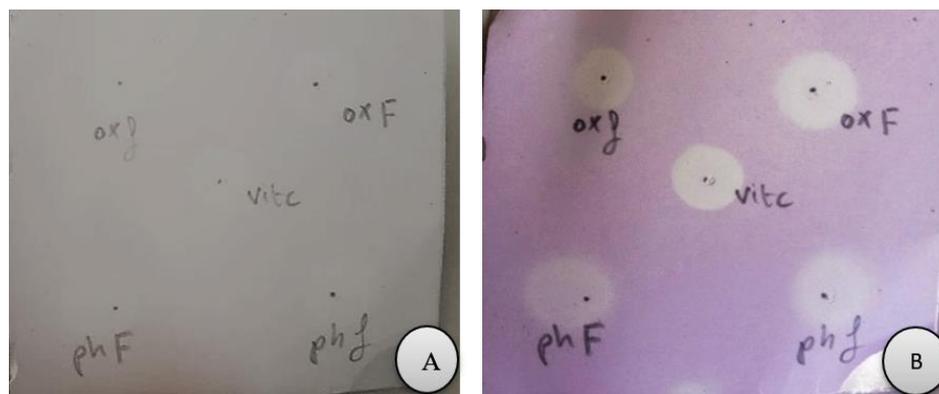
### III. 4. ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE

#### III. 4. 1. Test DPPH•

L'utilisation du radical libre DPPH• fournit un moyen simple et rapide d'évaluer l'activité antioxydante. Dans cette étude, afin de s'engager à évaluer le pouvoir antioxydant des HEs investiguées, le test de dépistage par CCM a été élaboré.

##### III. 4. 1. 1. Révélation par CCM

Les résultats expérimentaux obtenus, montrent que les quatre huiles essentielles investiguées, présentent une activité antioxydante qui s'est manifestée par des spots jaunes au fond violet de la plaque CCM (Fig. 35).



**Figure 35 :** Illustration photographique d'une plaque CCM contenant les HEs pulvérisé par une solution de DPPH• (a) CCM avant pulvérisation, b) après pulvérisation, OX F : HE des fruites de *J. oxycedrus* L. ; OX f : HE des feuilles de *J. oxycedrus* L. ; PH F : HE des fruites de *J. phoenicea* ; PH f : HE des feuilles de *J. phoenicea*.

L'évaluation de la capacité des huiles essentielles de *J. oxycedrus* L. et de *J. phoenicea* à piéger le radical libre DPPH•, a été réalisée par la mesure de l'absorbance de ce dernier en présence des HEs à différentes concentrations. Le virage de la couleur violette du DPPH• au jaune après l'ajout des huiles témoigne leur pouvoir antioxydant (Fig. 36)

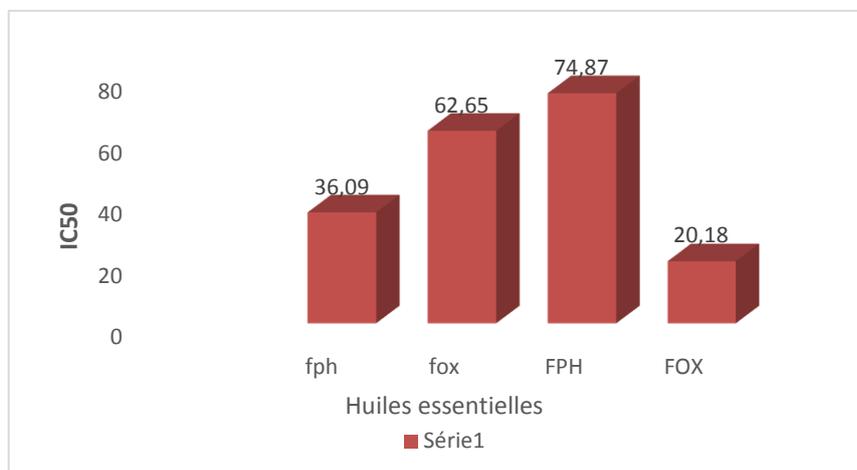


**Figure 36 :** Virage de la couleur violette du radical libre DPPH• au jaune après l'ajout de l'HE des F. OX et des f. PH.

#### III. 4. 1. 2. Dosage spectroscopique

Lorsque le DPPH• accepte un proton donné par un composé antioxydant, il se réduit et sa couleur violette vire vers le jaune, ce qui peut être mesuré quantitativement à partir du changement de sa valeur d'absorbance [3]. Les valeurs d'IC50 des quatre huiles essentielles testées sont rapportées sur l'histogramme (Fig. 37). Chaque valeur représente la moyenne de trois répétitions  $\pm$  l'écart-type.

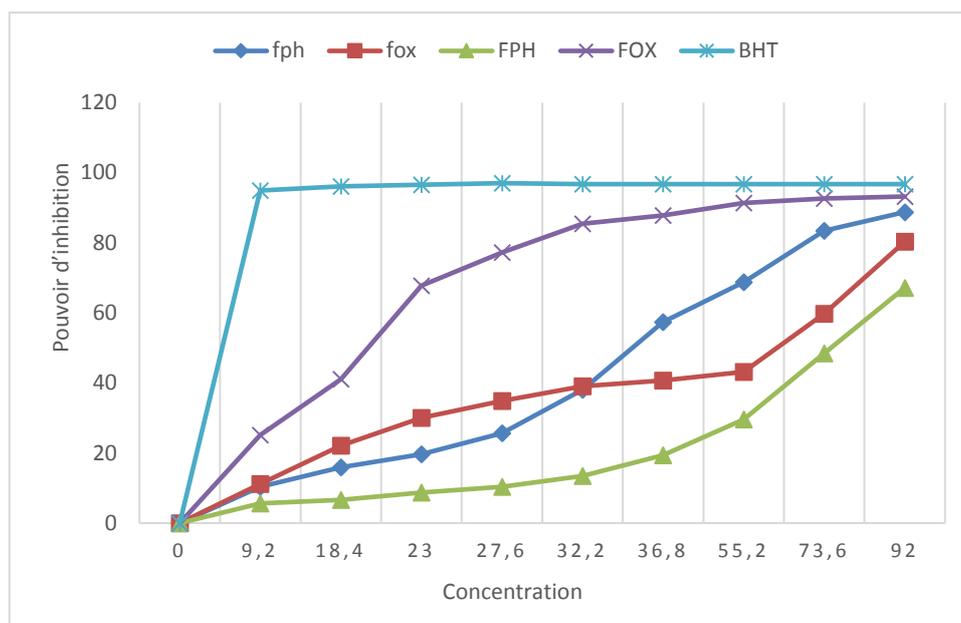
Selon les résultats obtenus, les quatre **HEs** testés ont présenté des valeurs d'**IC50** inférieures à 75 mg/mL, indiquant un bon potentiel antioxydant (Bon piègeurs de radicaux libres). Parmi ces **HEs**, celles des fruits de *J. oxycedrus* L. et des feuilles de *J. phoenicea* ont montrées une plus grande capacité de piégeage du radical libre **DPPH•**.



**Figure 37** : Histogramme présentatif des **IC50** des huiles essentielles testées

**On note que** : le pouvoir de piégeage du **DPPH•** le plus élevé était observé pour l'huile essentielle de fruits de *J. oxycedrus* L., avec une valeur d'**IC50** de  $20,18 \pm 1,01$  mg/mL, suivie par celui de l'huile essentielle des feuilles de *J. phoenicea* ( $36,09 \pm 2,10$  mg/mL). Les deux **HEs** restantes ont exhibées des pouvoirs inférieur, à savoir ; les fruits de *J. phoenicea* et les feuilles de *J. oxycedrus* L. avec les valeurs d'**IC50** respectivement  $74,87 \pm 2,46$  mg/mL et  $62,65 \pm 5,82$  mg/mL.

A la recherche de l'**HE** ayant la meilleure activité antioxydante cette a été élaborée. Les graphes illustrés sur la **Fig. 38**, représentent la variation du pourcentage de réduction de **DPPH•** en fonction de la concentration de l'huile essentielle (Feuilles et fruits) de *J. oxycedrus* L. et *J. phoenicea* avec l'antioxydant **BHT** comme standard.



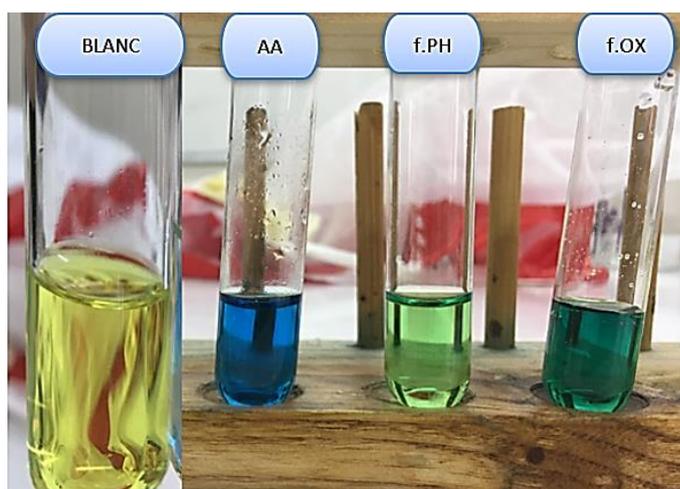
**Figure 38** : Représentation graphique de la variation du pouvoir d'inhibition du radical libre **DPPH•** en fonction des différentes concentrations des quatre huiles essentielles de *Juniperus* avec le **BHT** comme standard.

Ces graphes montrent bien que le pourcentage d'inhibition des radicaux libres **DPPH•** augmente proportionnellement avec la concentration de l'huile essentielle. Cependant, le pouvoir antioxydant des fruits de *J. phoenicea*, est deux fois plus inférieur à celui des feuilles, trois fois plus inférieure à celui des fruits de *J. oxycedrus* L. et peut proche avec celui des feuilles de *J. oxycedrus* L.

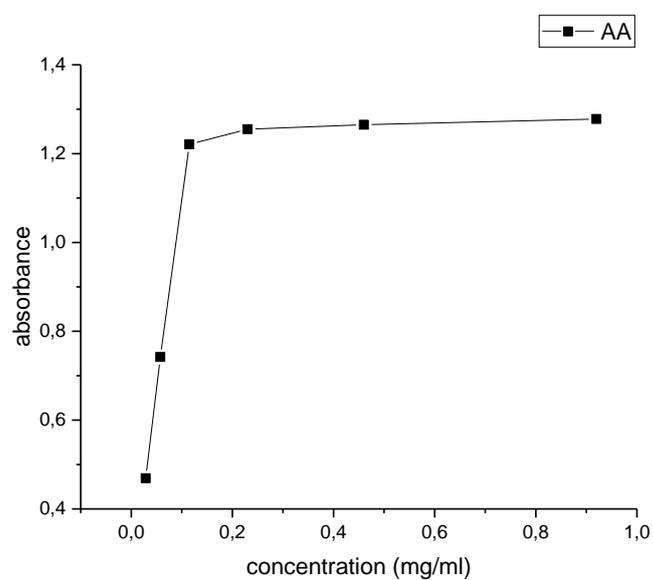
Selon les graphes, à la concentration de 32,2 mg/mL, le pouvoir de piégeage des radicaux libres montré par les feuilles des deux espèces étudiées est presque le même. On outre, l'**HE** des fruites de *J. oxycedrus* L. était le plus actif entre eux car à partir de la concentration de 32,2 mg/mL jusqu'à 92,2 mg/mL, ce pouvoir se rapproche nettement avec celui de **BHT**.

#### II. 4. 2. Test de FRAP

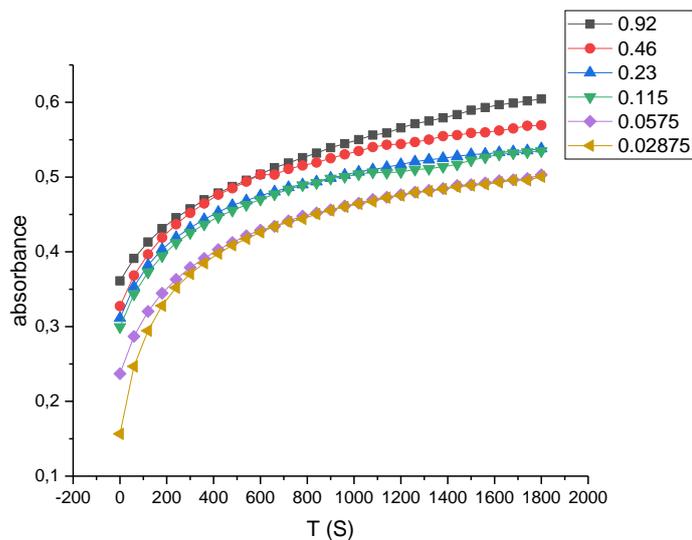
Afin de confirmer le potentiel antioxydant évalué précédemment par le test de piégeage du radical libre **DPPH•**, des quatre **HEs** étudiées, un autre test a été élaboré. Ce dernier est représenté par la réduction de fer par la méthode **FRAP**. Les résultats du pouvoir réducteur de fer des **HEs** (feuilles et fruites) de chaque espèce (*Juniperus oxycedrus* et *Juniperus phoenicea* L.) et de l'acide ascorbique sont représentés dans les figures ci-dessous :



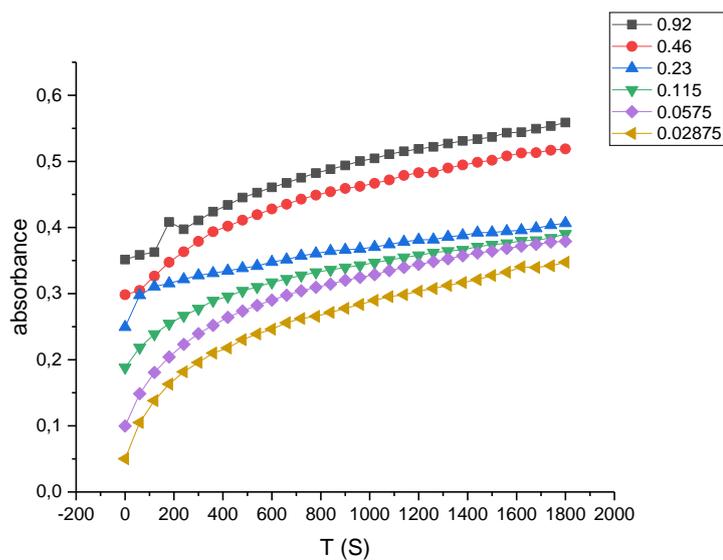
**Figure 39** : Changement de la couleur jaune du ferricyanure de potassium vers la couleur bleu sous l'effet de l'acide ascorbique (AA) et des **HEs** des f. OX et des f. PH.



**Figure 40** : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.



**Figure 41 :** Suivi cinétique de l'effet des **HEs** des feuilles de *J. oxycedrus* sur la réduction du fer.



**Figure 42 :** Suivi cinétique de l'effet des **HEs** des fruits de *J. oxycedrus* sur la réduction du fer.

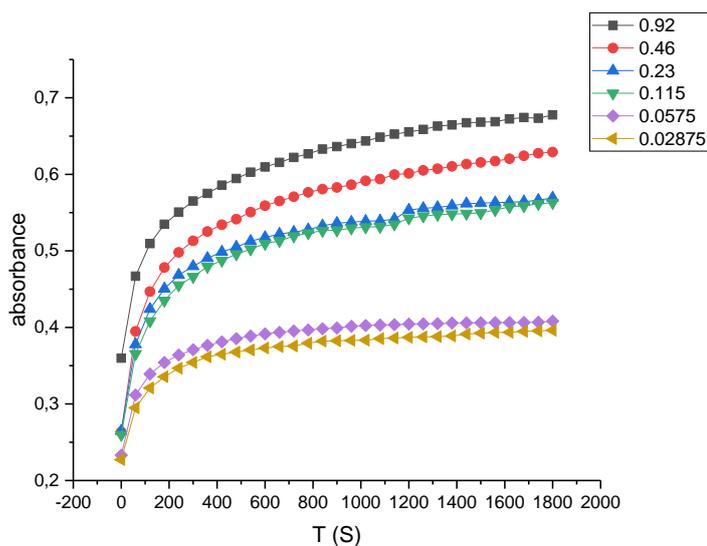


Figure 43 : Suivi cinétique de l'effet des HEs des feuilles de *J. phoenicea* L. sur la réduction du fer.

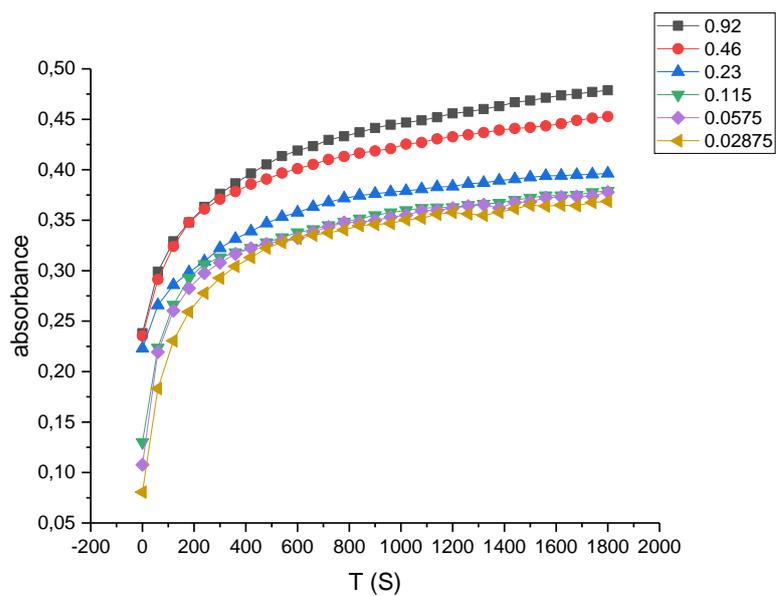
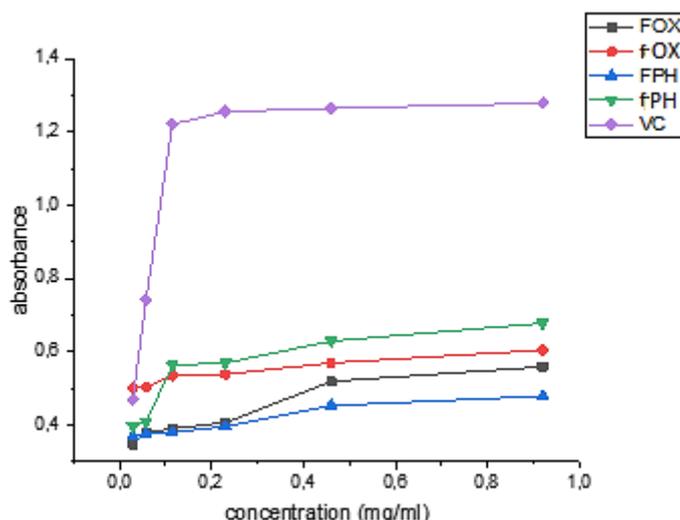


Figure 44 : Suivi cinétique de l'effet des HEs des fruits de *J. phoenicea* L. sur la réduction du fer.



**Figure 45** : Pouvoir réducteur du fer exercé par les HEs et de l'acide ascorbique.

Les courbes obtenues montrent, que l'augmentation de l'absorbance est proportionnelle aux concentrations et au temps, ce qui peut s'expliquer par la présence probable de composés antioxydants capables d'offrir des électrons, réduisant ainsi le  $\text{Fe}^{3+}$  en  $\text{Fe}^{2+}$ .

Les résultats obtenus, indiquent que tous les HEs testés possèdent un pouvoir réducteur plus ou moins important. À une concentration de 9,2 mg/mL ; les HEs de feuilles *J. phoenicea* (f. PH) et les feuilles de *J. oxycedrus* L. (f. OX) présentées une absorbance importante de 0,68 et 0,60 respectivement, tandis que les HEs des fruites de *J. oxycedrus* L. (F. OX) et les fruites de *J. phoenicea* (F. PH), présentées respectivement une absorbance de 0,56 et 0,48. Cependant, les valeurs obtenues sont relativement faibles comparées à celles de l'acide ascorbique.

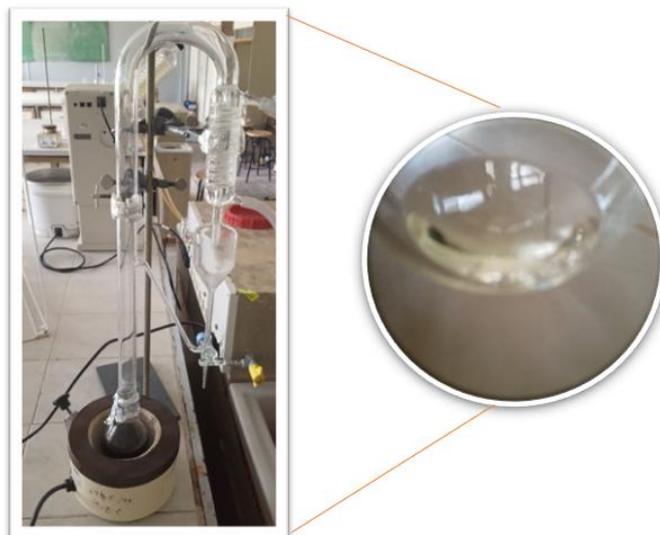
### **III. 5. INHIBITION DE LA NICOTINE**

Dans cette partie, nous avons traité des analyses qualitative et quantitative de la nicotine. Notre but exact est d'étudier et de comparer l'effet des huiles essentielles obtenues de la partie aérienne de deux espèces de (*Juniperus oxycedrus* et *J. phoenicea*), sur la nicotine du tabac et la nicotine commercialisée.

#### **III. 5. 1. Extraction et identification de la nicotine de tabac**

Une extraction de la nicotine du tabac brun (tabac de cigarette RYM), par hydrodistillation avec le Clevenger, suivie d'une extraction liquide-liquide par dichlorométhane selon le protocole décrit précédemment a été élaborée. Après évaporation, une masse de 120 mg de l'extrait a été récupérée.

Selon les propriétés organoleptiques de la nicotine (Tabacum) [4], l'extrait que nous avons obtenu à partir des feuilles du tabac assure ces propriétés, à savoir, un liquide huileux hygroscopique et incolore à jaune pâle.



**Figure 46 :** Nicotine obtenue par hydrodistillation.

On a aussi confirmé la présence de la nicotine par l'obtention d'un couleur jaune vert sur la plaque CCM (**Fig. 47**), après l'ajoute du permanganate de potassium. Comme déjà mentionné, la réaction de la nicotine avec du permanganate de potassium en présence d'hydroxyde de sodium forme un complexe de couleur jaune-vert.

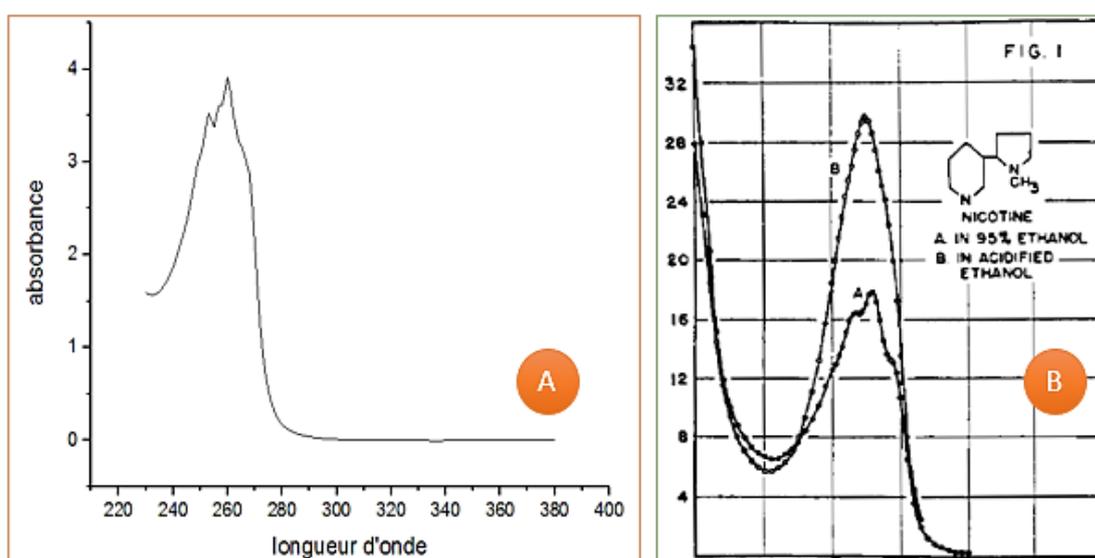


**Figure 47 :** Révélation de la nicotine sur la plaque CCM pulvérisé avec le permanganate de potassium.

### III. 5. 2. Résultat spectroscopique

La grandeur caractéristique de la nicotine est  $\lambda_{\max} = 260$  nm, elle peut donc permettre d'identifier la nicotine en solution par son spectre UV. Cependant, le spectre obtenu de la nicotine extraite a été comparé avec un spectre référence (B) de la nicotine pur (**Fig. 48**)

Selon le résultat spectroscopique obtenu, on constate que les deux spectres, celui de la référence et celui de la nicotine extraite et diluée, ont la même allure, ainsi que la même valeur de  $\lambda_{\max}$  (spectre A, **Fig. 48**). En outre, dans l'intervalle de l'UV-visible, nous n'avons constaté aucun autre pic, ce qui confirme l'absence d'autres composés et garantis la pureté de l'extrait obtenu.



**Figure 48** : Présentation des spectres de nicotine ( A= spectre de nicotine extraite ; B= spectre de nicotine pur (Référence [8]).

Dans le tabac on peut trouver la nicotine sous forme de trois isomères : les deux énantiomères (S)-(-) -nicotine et (R)-(+)-nicotine et l'analogue normnicotine (**Fig. 28**), donc on ne peut pas confirmer par la méthode spectroscopique UV qu'on obtenu seulement la (S)-(-) -nicotine, mais on peut dire que selon Clayton et al. [6], l'isomère le plus dominant dans le tabac est l'énantiomère (S)-(-) -nicotine.

### III. 5. 3. Dosage de la nicotine

Tous les résultats obtenus par le dosage spectroscopique indirecte de la nicotine extraite du tabac et la nicotine artificielle, ont été effectués en triplicata, avec les écart-types, sont rassemblés dans le (**Tab. 09**).

Les concentrations de nicotine exprimées en ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), sont déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage ( $\text{abs} = 18,202[\text{nicotine}] + 0,1124$ ), avec un facteur de corrélation  $R^2 = 0,995$  (Fig. 49).

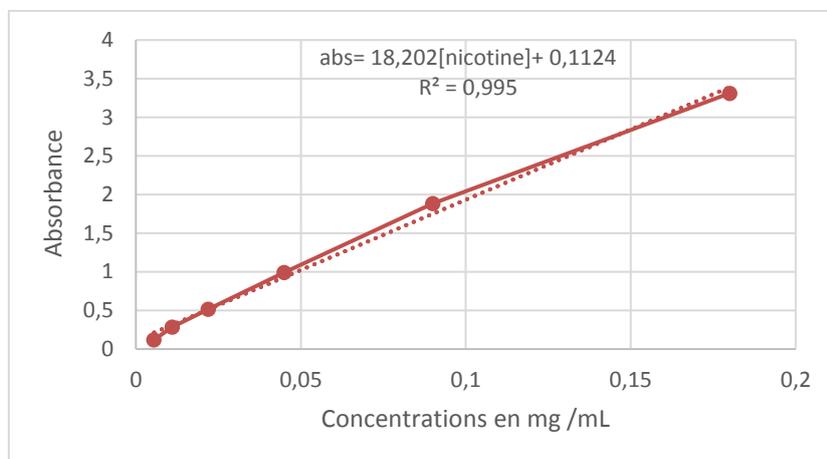


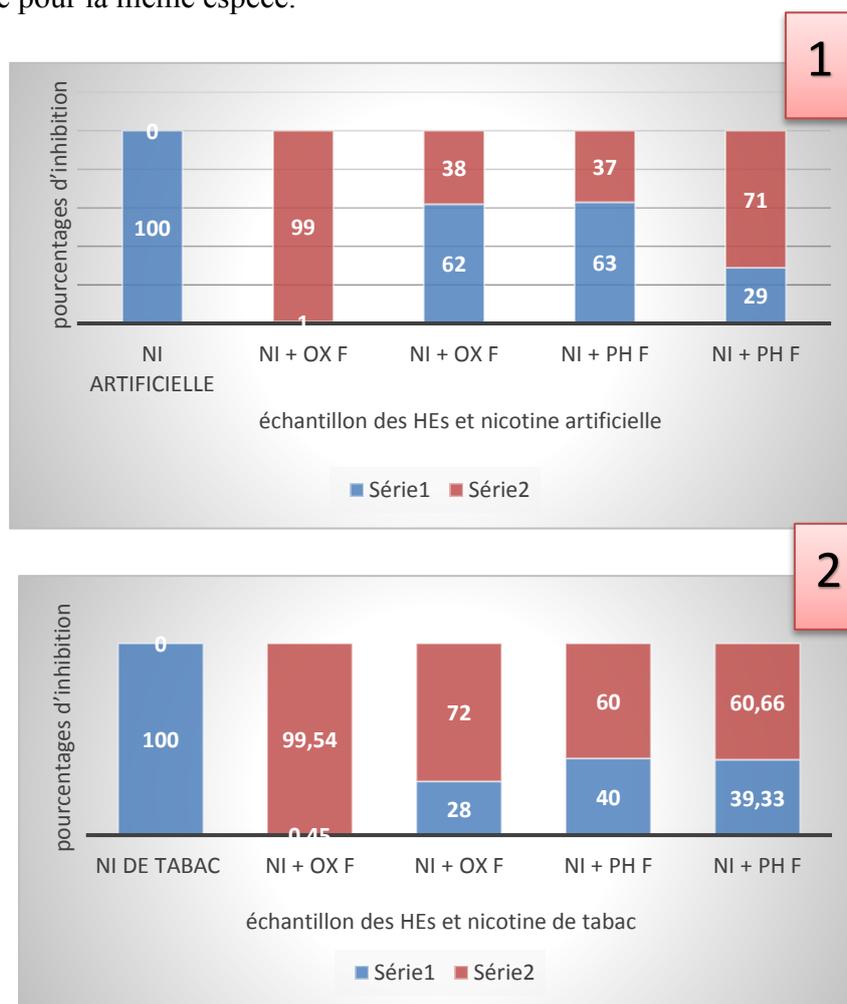
Figure 49 : Courbe d'étalonnage de la nicotine (Concentrations en mg /mL).

Tableau 09 : Résultats obtenus par le dosage spectroscopique indirecte de la nicotine extraite du tabac et la nicotine artificielle.

<i>Echantillon</i>	Absorbance de l'HE	Absorbance de la nicotine mesurée	Concentration de la nicotine calculée ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Taux de la nicotine (%)	Pouvoir d'inhibition de la nicotine (%)
<i>Nicotine extraite du tabac (NE)</i>	/	$2,826 \pm 0,17$	150	100	0,00
<i>NE+ OX F</i>	3,957	$0,100 \pm 0,007$	0,68	0,45	99,54
<i>NE + OX f</i>	3,675	$0,889 \pm 0,024$	42,00	28,00	72
<i>NE+ PH F</i>	1,847	$1,202 \pm 0,009$	60,00	40,00	60
<i>NE+ PH f</i>	3,524	$1,182 \pm 0,025$	59,00	39,33	60,66
<i>Nicotine artificielle (NA)</i>	/	$3,763 \pm 0,028$	200,00	100	0,00
<i>NA+ OX F</i>	3,957	$0,150 \pm 0,015$	2	1	99

<b>NA +OX f</b>	3,675	2,370±0,08	124	62	38
<b>NA+ PH F</b>	1,847	2,406±0,101	126	63	37
<b>NA+ PH f</b>	3,524	1,167±0,003	58	29	71

Comme illustré sur l’histogramme (1) et (2) et sur la figure 50, toutes les **HEs** ont présentées des pourcentages élevés et significatifs vis-à-vis l’inhibitions de la nicotine extraite du tabac pour une concentration de 0,57 mg/mL. Cependant, pour la nicotine synthétique on a obtenu des pourcentages vacillement, où on a constaté que le pouvoir d'inhibition diffère d'une partie à l'autre pour la même espèce.



**Figure 50 :** Histogrammes des pourcentages d’inhibition de la nicotine par les huiles essentielles testées (série1 = pourcentage de la nicotine restante ; série2 = pourcentage d’inhibition de la nicotine) OX F : **HE** des fruits de *J. oxycedrus* L. ; OX f : **HE** des feuilles de *J. oxycedrus* L. ; PH F : **HE** des fruits de *J. phoenicea* ; PH f : **HE** des feuilles de *J. phoenicea*.

(1) Nicotine artificielle traité par les quatre **HEs**.

(2) Nicotine extraite du tabac et traité par les quatre **HEs**.

Ces résultats montraient une comparaison de l'activité d'inhibition de la nicotine par les quatre huiles essentielles. Toutes les huiles essentielles testées ont présenté une diminution notable de la concentration de nicotine par rapport à la concentration utilisée.

On note bien que l'huile essentielle des fruits de *J. oxycedrus* L. a été la plus active sur l'inhibition des deux types de nicotine, sa valeur d'inhibition va jusqu'à 99 %, donc une très forte capacité d'inhibition à une concentration de 0,57 mg /mL. Par la suite, l'huile essentielle des feuilles de *J. phoenicea*, a prouvé un pouvoir d'inhibition de 60,66 % sur la nicotine extraite et de 71 % sur la nicotine artificielle. Les deux autres huiles essentielles des feuilles de *J. oxycedrus* L. et des fruits de *J. phoenicea*, ont montrées un pouvoir élevé aussi sur la nicotine extraite, avec des valeurs d'inhibition successivement de 72 et 60 %, cependant, leurs pouvoir sur la nicotine artificielle a été moyennement actif avec des valeurs faibles par rapport aux huiles essentielles précédente (37-38 %).

A vrai dire, ce test nous a fourni de bons résultats pour l'activité d'inhibition de la nicotine extraite du tabac et l'artificielle par l'essence de *J. oxycedrus* L., *J. phoenicea* et surtout par l'huile essentielle des fruits de *J. oxycedrus* L. qui était le plus puissant.

**III. 6. EFFET DES HUILES ESSENTIELLES ÉTUDIÉES SUR LE TAUX DE GOUDRON NEUTRE, ACIDE ET BASIQUE DE LA FUMÉE DE CIGARETTE**

Notre dispositif de piégeage de la fumée de cigarette a permis à une cigarette de se consumer entièrement, par 14 bouffées pendant 4 min. Comme il a été déjà mentionné, ce dispositif n'imité pas un individu qui fume, cependant, les conditions de cette opération favorisent de libération de tous les composés selon Matthey et Angenot et al. [1, 2].

Les résultats de la perte en poids des fractions goudronnées neutre, alcaline et acide, obtenus après le traitement des solutions benzénique contenant le goudron avec les HEs investiguées et ceux des témoins, sont illustrés dans le (Tab. 10).

**Tableau 10** : Résultats de la perte en poids des fractions goudronnées neutre, alcaline et acide, traitées par les HEs investiguées et ceux des témoins.

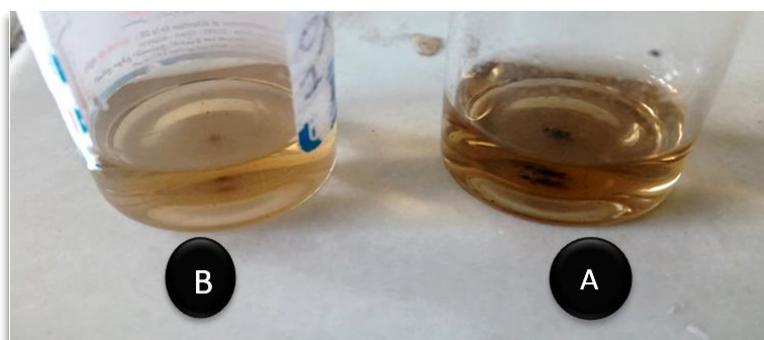
Goudron	Neutre	Acide	Basique
Taux du goudron témoin	291,40 ± 8,8	86,10 ± 4,20	64,80 ± 4,6
Taux du goudron traité par l'HE des feuilles de <i>J. oxycedrus</i> L.	218,73	44,43	24,3
Pourcentage d'inhibition du goudron par l'HE des feuilles de <i>J. oxycedrus</i> L.	2,45 %	48,39 %	37,50 %
Taux du goudron traité par l'HE des fruits de <i>J. oxycedrus</i> L.	90,00	32,00	10,00
Pourcentage d'inhibition du goudron par l'HE des fruits de <i>J. oxycedrus</i> L.	69,11 %	62,86 %	84,57 %
Taux du goudron traité par l'HE des feuilles de <i>J. phoenicea</i>	288,00	79,50	63,50
Pourcentage d'inhibition du goudron traité par l'HE des feuilles de <i>J. phoenicea</i>	1,16 %	7,66 %	2,00 %
Taux du goudron traité par l'HE des fruits de <i>J. phoenicea</i>	290,00	80,10	60,00

Pourcentage d'inhibition du goudron traité par l'HE des fruits de <i>J. phoenicea</i>	0,48 %	6,97 %	7,40 %
---	--------	--------	--------

Les résultats de la perte en poids obtenus, nous ont permis de déduire l'huile essentielle la plus efficace pour diminuer le taux de goudron.

Tout d'abord, nous avons observé que les goudrons alcalins et acide contiennent, comme les goudrons neutres une quantité de produits colorés en brun, mais les composés de la fraction neutre ont une couleur brune plus foncée. D'après bonnet et al. [3], ces composés colorés en brun de goudron, étaient des substances polymérisées, de poids moléculaire plus ou moins grand, qui se forment par pyrolyse lors de la combustion de la cigarette.

Après l'application des huiles essentielles des fruits de l'espèce *J. oxycedrus* L., sur les solutions benzéniques, on a observé une diminution de l'intensité de la couleur brun foncé du goudron neutre (**Fig. 51**). Par contre, aucune altération de la couleur du goudron n'a été notée, pour les HEs des feuilles et des fruits de *J. phoenicea* et de même pour l'HE des feuilles de *J. oxycedrus* L.



**Figure 51** : Diminution de l'intensité de la couleur du goudron neutre après le traitement par l'HE des fruits de *Juniperus oxycedrus*, (A) goudron neutre non traité ; (B) goudron neutre traité.

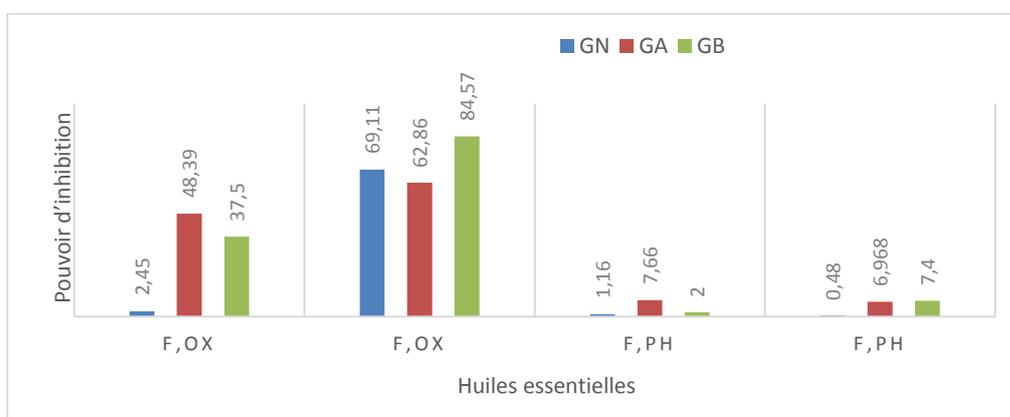
Pendant l'expérience nous avons remarqué que les ballons qui contenaient les goudrons et surtout le goudron neutre, sont très difficile à nettoyer, car les goudrons sont insolubles dans l'eau et très peu soluble dans les solvants organiques à température ambiante. Par contre, les ballons qui contenaient les goudrons traités par les HEs et surtout celles de *Juniperus oxycedrus*, sont très facile à nettoyer, car le goudron devient soluble facilement dans le mélange

huile-éthanol-eau (**Fig. 52**), sachant que le goudron sont particulièrement toxiques et laissent leurs vestiges, en particulier en recouvrant les poumons d'une substance gluante brun-noir. De ce fait, cette bonne efficacité, accorde la propriété d'élimination des goudrons logeant sur les parois des bronches respiratoire[4], aux **HEs** de *Juniperus oxycedrus*, afin d'avoir un meilleur système respiratoire.



**Figure 52 :** (A) Goudron neutre témoin, (B) goudron neutre traité par l'**HE** des feuilles de *Juniperus oxycedrus*.

D'après les résultats obtenus, le pourcentage d'inhibition exprimant moins de 10 % d'inhibition, n'est pas pris en compte pour confirmer la force d'inhibition du goudron par un composé quelconque, car les résultats obtenus par cette méthode pour les goudrons témoins, ont montrés qu'il y a une diminution notée entre 4 et 9 % du goudron sans l'intervention de des huiles essentielle. De ce fait, le pouvoir d'inhibition est confirmé, s'il y a des pourcentages supérieurs à 50 %.



**Figure 53 :** Pouvoir d'inhibition du godron par les huiles essentielles étudiées  
GN : goudron neutre ; GA : goudron acide ; GB : goudron basique.

Les résultats obtenus à partir des histogrammes (**Fig. 53**), révèlent que les huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus*, ont présentait un bon pouvoir de diminuer du taux de goudron.

À partir d'un volume de 100  $\mu$ l, l'**HE** des fruits de *Juniperus oxycedrus*, ont présentées un pouvoir inhibiteur de goudron élevé et significatifs pour les trois fractions de goudron : neutre, acide et basique respectivement avec les pourcentages d'inhibition 69,11 %, 62,86 % et 84,57 %. Ensuite, l'**HE** des feuilles de *Juniperus oxycedrus*, à diminuée le taux du goudron acide et basique avec les valeurs d'inhibition suivant respectivement 48,39 % et 37,50 %, par contre, leur pouvoir inhibiteur du goudron neutre est presque négligeable car leur pourcentage est inférieur à 10 % avec 2,45 %. Pour les **HEs** de *Juniperus phoenicea* L., des feuilles et des fruits, ces huiles ont montré un pourcentage d'inhibition d'environ 0,50 jusqu'à 7,70 %, pour toutes les fractions du goudron, ce qui est inférieur à 10 % et donc on ne peut pas annoncer leurs pouvoirs inhibiteurs pour un volume de 100  $\mu$ l.

### III. 7. HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUE

Dans l'optique de trouver un compromis pour la récupération des **HAP** lourds et légers, un piégeage de la fumée de 150 cigarettes dans une mélange d'hexane-éthanol, a été réalisé. Après le piégeage de cette fumée, une extraction liquide-liquide est effectuée, suivie par la séparation en employant une colonne chromatographique sur gel de silice. Les 17 fractions de volume 8 mL que nous avons récupéré, subissait par la suite à une chromatographie sur couche mince, pour réunir les fractions qui ont les mêmes composés selon la plaque **CCM** (**Fig. 54**).



**Figure 54:** Suivi par CCM de l'évolution de la colonne chromatographique.

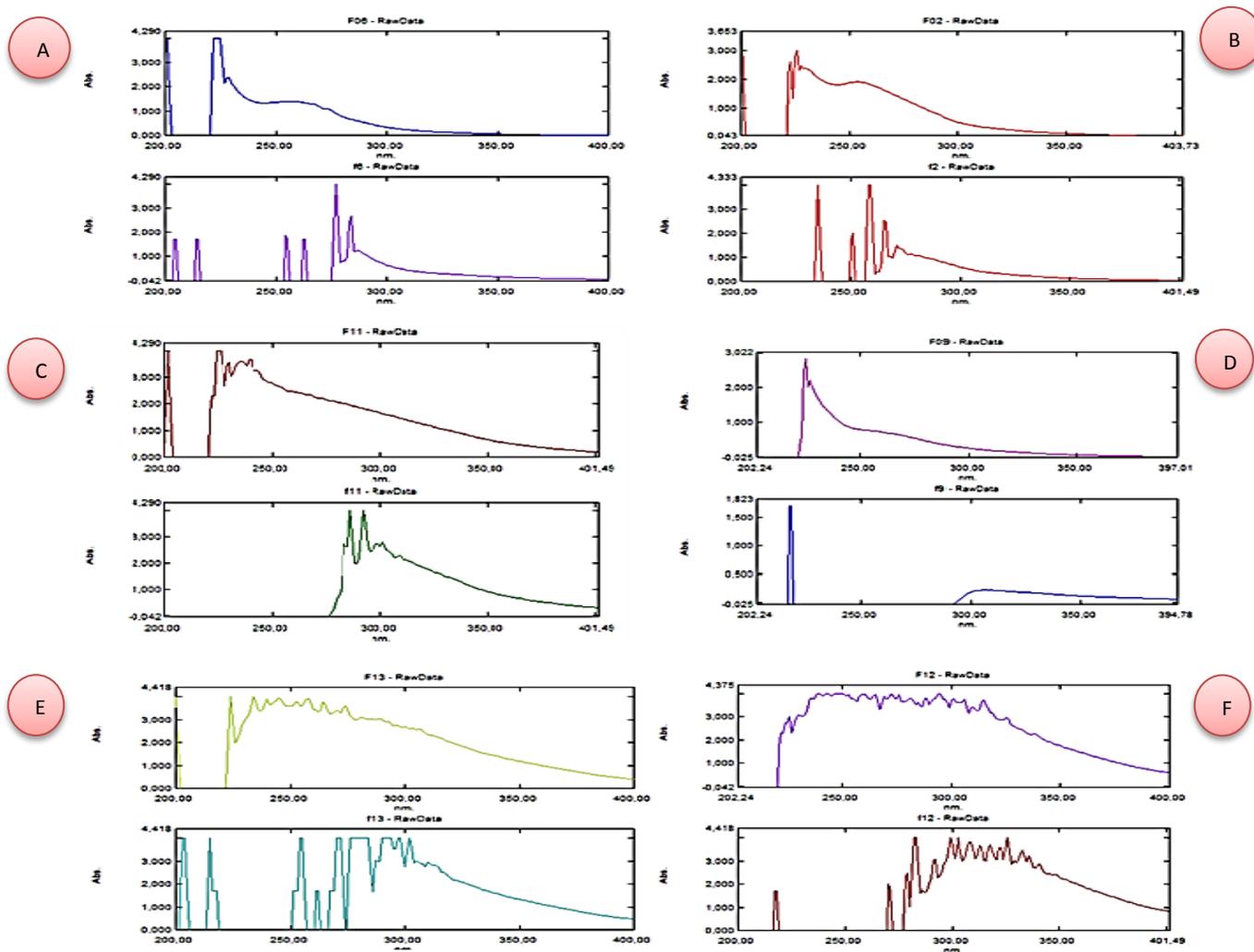
D'après les résultats obtenus, suite au suivi par **CCM** de l'évolution de la colonne chromatographique et après la collecte des fractions on se référant aux rapports frontaux (**Tab. 11**), six solutions ayant les mêmes taches sur la plaque **CCM**, ont été obtenues. Ces solutions,

vont subir un traitement par une huile essentielle, puis une analyse ultérieure par spectrophotométrie UV.

**Tableau 11** : Collecte des fractions suivant l'intervalle du rapport frontale (*R<sub>f</sub>*).

Fractions réunies	A	B	C	D	E	F
Nombre de taches	3	2	1	1	2	2
Intervalle des <i>R<sub>f</sub></i>	0,29 jusqu'à 0,66					

Chacune des solutions obtenues, a été partagée en deux parties, une restera comme référence et l'autre sera traitée par l'HE des feuilles de *J. oxycedrus* L. Les résultats obtenus sont illustrés sur les figures suivantes :



**Figure 55** : Spectre des solutions contenant les HAP traités par l'HE des feuilles de *J. oxycedrus* L. et ceux des références.

### III. 7. 1. Caractérisation des HAPs par l'UV

On rappelle que l'absorption dans l'ultraviolet se traduit par des bandes d'absorption caractéristiques des transitions électroniques mises en jeu et les molécules aromatiques possèdent une structure électronique particulière comme les **HAPs**. Cela est dû à présence de cycle benzénique qui est caractérisé par la présence de trois doublets  $\pi$  délocalisés sur l'ensemble des six liaisons, l'excitation de ces électrons  $\pi$  provoque l'existence de trois bandes d'absorption spécifiques sur le spectre du benzène. Une bande  $\beta$  de forte intensité se situe vers 185 nm dans l'UV lointain, deux bandes  $\rho$  autour de 200 nm, une bande  $\alpha$  entre 230 et 270 nm et de faible intensité dans l'UV proche[5]. Les spectres des **HAPs** sont des homologues supérieurs du benzène, leur allure dépend du nombre de cycles et de leur arrangement dans la molécule. Ces spectres présentent une structuration plus importante pour les composés lourds[5]. L'intervalle d'absorption est commun pour tous les **HAPs**, il s'étend de 200 à 350 nm, mais en générale le domaine d'absorption de la famille des **HAPs** se situe entre 200 et 460 nm [5].

**Remarque :** Le spectre UV ou visible ne permet pas l'identification exacte d'un produit, mais en générale il est utilisé pour les dosages.

### III. 7. 2. Interprétation des spectres obtenus

Afin de confirmer l'obtention des **HAPs** et pour mieux évaluer l'effet de l'**HE** testée sur ces composés, nous avons fait une comparaison entre les spectres obtenus et d'autres spectres rapportés dans la littérature (**Annexe**).

Pour les résultats obtenus de nos analyses et à partir de la comparaison des spectres, nous avons remarqué qu'à partir de la méthode d'extraction employée, nous avons pu récupérer que des **HAPs** légers et lourdes. Cependant, Il est impossible de déterminer exactement ni le type ni le nom de ces **HAPs**, parce que nous n'avons pas des fiches techniques des étalons utilisés pour déterminer ces composés.

A ce stade de recherche, on ne peut que proposer quelques probabilités pour les composés obtenus en se référant, aux spectres rapportés dans la littérature comme déjà mentionné.

➤ Pour la fraction **A** : On a remarqué qu'elle contient au moins trois substances à partir de la **CCM**. D'après les spectres UV (**Fig. 55. A**), trois pics intenses aux valeurs 223 et 226 nm et entre 228 et 230 nm sont distingués, ce qui confirmant que ces substances contiennent des **HAPs** légers, en plus d'autre pic large entre 245 et 325 nm.

- Pour la fraction **B** : On a remarqué d'après la **CCM**, qu'elle a au moins deux substances et selon son spectre (**Fig. 55. B**), on conclut que ces substances contiennent au moins un **HAP** léger, en plus de la présence de deux pics intenses, l'un à 224 nm et l'autre à 229 nm, avec un pic large entre 245 et 330 nm.
- Pour la fraction **C** : Une seule tache d'après la **CCM**, donc probablement une seule substance et d'après son spectre (**Fig. 55. C**), on conclut aussi que c'est un **HAP** léger, par la présence d'un pic intense au 224 nm avec un pic large entre 250 et 300 nm.
- Pour les autres fractions nous avons distingué que la solution **D** contient une seule tache d'après la **CCM**, donc éventuellement une seule substance, deux substances au moins sont présentes dans la fraction **E** et **F**. À partir de leurs spectres (**Fig. 55. D, Fig. 56. E, Fig. 57. F**), les trois dernières fractions sont probablement des **HAPs** lourds, car leurs spectres présentent une structuration ou une allure plus importante dans la région 225 jusqu'à 400 nm.

Les **HAPs** légers proposés pour les fractions **A**, **B** et **C** sont : naphthalène, acénaphthylène et acénaphthène. Néanmoins, pour les **HAPs** lourds nous ne pouvons pas proposer aucune structure en raison de la complexité des spectres et la nécessité de réaliser des analyses complémentaires.

Après avoir analysé les spectres des fractions préalablement traitées par l'huile essentielle de feuilles *J. oxycedrus* L. et en les superposant avec ceux effectués avant le traitement, nous avons observé, qu'il existe une différence nettement claire et bien marquée, soit sur le déplacement chimique, l'intensité des pics, ou l'allure générale du spectre.

- Pour les fractions **A** et **B**, nous avons remarqué que l'allure de leurs spectres a transformée complètement, où d'autres pics fins plus ou moins intenses sont apparus dans la région de l'UV proche entre 200 et 300 (**Fig. 55. A, Fig. 55. B**), indiquant la naissance d'autres produits différant des **HAPs**.
- Pour la fraction **C**, nous avons observé un effet hypsochrome (**voir la figure 55. C**), du pic présent avant le traitement et la disparition de la bande large, ce qui signifie probablement que l'**HAP** se soit transformé en un autre produit par dégradation.
- Pour la fraction **D**, un effet bathochrome a été observé (**voir la figure 55. D**) sur les pics, dû éventuellement à l'accroissement du nombre de cycles, l'augmentation de la conjugaison ou bien l'apparition d'autres substitutions.

➤ De même pour les fractions **E** et **F**, un effet bathochrome a été observé de certain pic, avec l'apparition d'autres pics fins dans la région entre 200 et 275 nm (voir la figure 55. D et 55. F). Ces pics qui sont plus intense dans le spectre de la fraction **F**, indique la transformation des **HAPs** lourds avec la formation d'autre produits.

A travers l'ensemble des résultats obtenus, nous avons conclu que nous ne pouvons pas identifier, lequel des hydrocarbures aromatiques sont obtenus par cette méthode, et de ce fait, nous ne pouvons pas quantifier ces **HAPs** avant et après le traitement par l'huile essentielle. Cependant, à partir de l'allure des spectres obtenus avant et après le traitement, des nouveaux pics apparus suite au traitement, nous pourrions confirmer qu'il y a une interaction entre les **HAPs** et l'huile essentielle des feuilles *J. oxycedrus* L. Cette interaction peut se traduire par, la possibilité de formation d'autres produits différant des **HAPs**, ou une dégradation de ces derniers. Ainsi, pour l'identification de ces nouveaux produits, il est nécessaire d'effectuer d'autres méthodes de séparation et d'identification, sans oublier l'obligation de réaliser des études chimique et biologique, afin d'estimer leur toxicité pour l'organisme.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Matthey, E., *Efficacité du traitement préalable du tabac par un solvant organique, du point de vue de la réduction des substances toxiques dans la fumée*. Zeitschrift für Präventivmedizin, 1961. **6**(1): p. 428-443.
2. Angenot, L., *Composition chimique de la fumée de tabac*. Journal de Pharmacie de Belgique, 1983. **38**(3): p. 172-180.
3. Bonnet, J. and S. Neukomm, *Sur la composition chimique de la fumée du tabac. I. Analyse de la fraction neutre*. Helvetica Chimica Acta, 1956. **39**(6): p. 1724-1733.
4. Flurin, R., *Hygiène respiratoire*. 2001.
5. Crone, M., *Diagnostic de sols pollués par des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) à l'aide de la spectrophotométrie UV*. 2001.



***CONCLUSION GÉNÉRALE***

***&***

***PERSPECTIVE***



Afin d'évaluer le potentiel réducteur de la toxicité de quelques produits contenus dans la fumée de cigarette, par les quatre huiles extraites de deux espèces de *Juniperus*, cette investigation a été conçue.

À partir des résultats prometteurs obtenus, nous avons conclu ce qui suit :

- ✚ Les huiles essentielles des feuilles et des fruites des plantes étudiées, extraites par hydrodistillation ont données des rendements d'extraction modérés. Ceux des feuilles et des fruites de *J. oxycedrus* étaient entre 0,06 - 0,58 % et ceux de *J. phoenicea* variaient entre 2,37 - 2,53 %.
- ✚ L'analyse de la composition chimique des **HEs** extraites réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse, a exhibé leurs richesses en composés terpéniques. Cependant, les **HEs** de *J. oxycedrus* étaient plus variées en ces composés que celles de *J. phoenicea*.
- ✚ Le dosage des polyphénols évalué par la méthode colorimétrique de Folin-ciocalteu a montré que ces **HEs** sont riche en composés polyphénoliques, avec des taux en polyphénols totaux légèrement élevée, ce qui confirme le pouvoir antioxydant élevée, surtout de l'**HE** des feuilles de *Juniperus oxycedrus* représentant une teneur de 12 %.
- ✚ L'évaluation de l'activité antioxydante des **HEs** par deux méthodes, à savoir la réduction relative du radical (DPPH<sup>•</sup>) et le test de réduction du fer (FRAP), a permis de mettre en évidence le potentiel antioxydant de ces huiles. Toutes les huiles présentaient des activités antioxydantes puissante, mais inférieures à celles des références (Acide ascorbique et BHT) et spécialement les **HEs** des fruits de *J. OX* avec une valeur de **IC50** de  $20,18 \pm 1,01$  mg/mL par le test DPPH<sup>•</sup>.
- ✚ Des résultats fascinants ont été obtenus suite à l'évaluation de l'activité inhibitrice de la nicotine par les quatre huiles essentielles testées, avec des pourcentages d'inhibitions de la nicotine de tabac élevés spécialement pour l'**HE** des fruits de *j. oxycedrus*, qui était la plus puissante sur les deux types de nicotine (Naturel et synthétisé). Sa valeur d'inhibition marquée jusqu'à 99 %.
- ✚ Les **HEs** de *Juniperus oxycedrus* était les plus efficace pour diminuer le taux de goudron, à partir d'un volume de 100  $\mu$ L de l'huile essentielle des **F. OX** présentant un pourcentage inhibiteur de goudron élevés pour les trois fractions, variant entre 69 % et 85%, suivie de l'**HE** des **f. OX** qui a diminué le taux de goudron acide et basique avec les valeurs d'inhibition respectives : 48,39 % et 37,5 %. Néanmoins, le volume de 100  $\mu$ L des **HEs**

des **F. PH** et des **f. PH**, n'a pas été pas suffisant pour inhiber ces fractions goudronnées car elles n'ont présentées que des pourcentages d'inhibition inférieurs à 10 %.

✚ Le suivi de l'évolution de la colonne chromatographique par CCM et l'analyse ultérieure par spectrophotométrie UV, ont permis de mieux comprendre le comportement des HAP traités par les **HEs**. Cependant, l'identification spécifique d'un composé peut rarement être faite sur la seule base spectrales UV-Vis. Souvent, le spectre sert de preuve de confirmation de l'identité à l'appui d'autres données analytiques complémentaires. D'après les observations des taches de CCM et l'analyse des spectres obtenus : nous concluons que les fractions A, B, C contient des HAP léger et sont probablement : le naphthalène, l'acénaphthylène et l'acénaphthène. Cette crédibilité est due à la présence des pics parfois larges et parfois intenses. Pour les autres fractions il y a une probabilité de la présence des HAP lourds, sachant qu'on ne peut pas proposer aucune structure en raison de la complexité des spectres obtenu. Après l'interprétation des spectres des fractions traitées par l'huile essentielle des feuilles de *J. oxycedrus* et la comparaison avec ceux effectués avant le traitement, des résultats satisfaisants avaient été obtenu confirmant bien l'évolution d'une interaction entre l'**HE** des **f. OX** à cause manifestée par une différence nette sur les déplacements chimiques, l'intensité des pics et l'allure des spectres résultants.

Enfin, l'ensemble de ces résultats prometteurs nous incite à :

- ✚ Envisager des analyses par LC-MS afin de mettre en évidence les effets de ces huiles sur l'inhibition de la nicotine, des goudrons, ainsi que la destruction des HAPs.
- ✚ L'isolement des molécules responsables des activités inhibitrices.
- ✚ Evaluer les mêmes travaux effectués *in-vivo*.
- ✚ Prévoir l'emploi de ces **HEs** comme antioxydants ou remèdes dans des produits parapharmaceutiques (Compléments alimentaires).

On mentionne que ces travaux ont fait l'objet de deux participations dans une conférence nationale sur les plantes médicinales.



*ANNEXES*



## I. ANNEXES

### I. 1. ANNEXE GC

**Tableau A** : Rapport d'identification de l'huile essentielle des feuilles de *J. oxycedrus*.

N°	TRX	Composé	% A
1	9,58	Tricyclene	0,0754
2	9,9	$\alpha$ -thujene	0,0309
3	10,64	$\alpha$ -Pinene	42,2225
4	10,97	$\alpha$ -Fenchene	0,0831
5	11,17	Camphene	0,1664
6	11,5	Thuja-2,4(10)-diene	0,1002
7	12,47	3,7,7-Trimethyl-1,3,5-cycloheptatriene	0,0445
8	12,67	Sabinene	0,1055
9	12,89	$\beta$ -Pinene	0,5848
10	14,17	$\beta$ -Myrcene	0,6815
11	14,37	$\delta$ -2-carene	0,1162
12	14,68	$\alpha$ -Phellandrene	0,5722
13	15,1	$\delta$ -3-Carene	1,3057
14	15,58	$\alpha$ -Terpinene	0,0319
15	16,21	o-cymene	0,497
16	16,49	D-Limonene	2,9078
17	18,57	$\gamma$ -Terpinene	0,0406
18	20,66	Terpinolene	0,2728
19	20,9	p- cymenene	0,0946
20	21,67	Perillene	0,0215
21	23,45	$\alpha$ -Campholenal	0,3271
22	24,5	cis-Sabinol	0,1563
23	24,86	trans-Verbenol	0,1432
24	25,76	trans-pinocamphone	0,0259
25	25,97	Pinocarvone	0,0504
26	26,5	Borneol	0,0207
27	26,76	p-Mentha-1,5-dien-8-ol	0,1865
28	27,73	Cryptone	0,0662
29	28,4	$\gamma$ -Terpineol	0,1955
30	28,6	Myrtenol	0,1028
31	29,36	verbenone	0,1262
32	30,46	neoiso-Dihydro carveol	0,0777
33	31,21	Thymol methyl ether	0,0431
34	31,62	Cuminaldehyde	0,0259
35	31,84	Carvacrol methyl ether	0,032
36	32,5	Piperionet	0,0628
37	34,6	Bornylacelate	0,1109
38	36,97	Carvacrol	0,0495
39	38,7	$\alpha$ -terpenyl acetate	0,2742
40	40,56	$\alpha$ -Copaene	0,0532

41	41	$\beta$ -bourbonene	0,2974
42	42,36	Longifolene	0,0988
43	43,36	(E)-Caryophyllene	0,2624
44	43,95	$\beta$ -Gurjunene	0,0647
45	44,89	cis-Muuroala-3,5-diene	0,051
46	45,53	$\alpha$ -Caryophyllene	0,2893
47	46,78	$\gamma$ -Muurolene	0,1776
48	47,52	Germacrene D	<b>2,995</b>
49	48,26	trans-Murrola-4(14),5-diene	0,2883
50	48,48	$\alpha$ -Muurolene	0,1132
51	49,4	$\delta$ -cadinene	0,3588
52	49,91	Zonarene	0,4614
53	50,38	trans-cadina-1,4-diene	0,0328
54	50,69	$\alpha$ -cadinene	0,0671
55	51,02	$\alpha$ -Calacorene	0,0674
56	52,43	(E)-Nerolidol	0,9702
57	53,28	Caryophyllene oxide	0,2608
58	54,83	Humulene epoxide II	0,3136
59	55,22	9,10-dehydro-Isolongifolene	0,4481
60	55,3	Citronellyl pentanoate	<b>1,0956</b>
61	55,97	1-epi-Cubenol	0,4626
62	58,36	(z)-Pentadec-6-en-2-one	<b>3,1224</b>
63	59,34	Eudesma-4(15),7-dien-1 $\beta$ -ol	0,6662
64	59,48	(Z,E)-Farnesol	<b>1,032</b>
65	59,8	2-Pentadecanone	0,2033
66	60,69	(2E,6Z)-Farnesal	0,5181
67	61,21	(E,E)-Farnesol	<b>1,9569</b>
68	62,16	(2E,6E)-Farnesal	0,769
69	67,22	(2E,6E)-farnesyl acetate	0,0629
70	74,57	Manooloxide	<b>3,2395</b>
71	75,52	Phyllocladene	0,7341
72	75,92	Kaurene	0,0386
73	77,54	Abietatriene	<b>2,0803</b>
74	78,72	Abietadiene	7,2754
75	81,48	bieta-8(14)13(15)-diene	<b>1,9094</b>
76	81,78	Abienol	<b>1,5236</b>

**Tableau B :** Rapport d'identification de l'huile essentielle des fruits de *J. oxycedrus*.

N°	TRX	Composé	% A
1	9,58	Tricyclene	0,0778
2	9,9	$\alpha$ -thujene	0,0298
3	10,64	$\alpha$ -Pinene	57,4936
4	11,17	Camphene	0,2186
5	11,5	Thuja-2,4(10)-diene	0,0858
6	12,67	Sabinene	0,0775
7	12,89	$\beta$ -Pinene	0,8988

8	14,17	$\beta$ -Myrcene	7,9658
9	15,1	$\delta$ -3-Carene	0,0148
10	15,58	$\alpha$ -Terpinene	0,0393
11	16,21	o-cymene	0,0933
12	16,49	D-Limonene	1,0986
13	18,57	$\gamma$ -Terpinene	0,0458
14	20,66	Terpinolene	0,174
15	20,9	p- cymenene	0,0755
16	21,67	Perillene	0,0378
17	22,76	exo -fenchol	0,0271
18	23,45	$\alpha$ -Campholenal	0,2358
19	24,5	camphor	0.0001
20	24,56	cis-Sabinol	0,6449
21	25,97	Pinocarvone	0,0785
22	26,5	Borneol	0,1176
23	26,76	p-Mentha-1,5-dien-8-ol	0,2217
24	27,28	$\alpha$ -Terpineol	0,1386
25	28,4	$\gamma$ -Terpineol	0,4257
26	29,36	verbenone	0,1823
27	30,46	neoiso-Dihydro carveol	0,0751
28	34,6	Bornylacelate	0,1052
29	38,88	$\alpha$ -Cubebene	0,6309
30	40,23	$\alpha$ -Ylangene	0,0482
31	40,56	$\alpha$ -Copaene	0,1861
32	41,5	$\beta$ -Cubebene	0,0592
33	41,69	$\beta$ -Elemene	0,057
34	42,26	$\beta$ -longipinene	0,0313
35	42,36	Longifolene	0,039
36	43,36	(E)-Caryophyllene	0,7963
37	43,95	$\beta$ -Gurjunene	0,1065
38	44,39	trans- $\alpha$ -Bergamotene	0,0644
39	44,89	cis-Muurolo-3,5-diene	0,0241
40	45,09	trans-Muurolo-3,5-diene	0,0104
41	45,53	$\alpha$ -Caryophyllene	0,8264
42	45,93	(E)- $\beta$ -Famesene	0,2112
43	46,12	cis-Muurolo-4(14),5-diene	0,0406
44	46,78	$\gamma$ -Muurolole	0,0601
45	47,52	Germacrene D	8,9852
46	48,26	trans-Muurolo-4(14),5-diene	0,0278
47	48,48	$\alpha$ -Muurolole	0,3704
48	48,82	$\delta$ -Amorphene	0,093
49	49,03	(Z)- $\gamma$ -bisabolene	0,0379
50	49,4	$\delta$ -cadinene	1,734
51	49,91	Zonarene	1,4463
52	50,38	trans-cadina-1,4-diene	0,0692
53	50,69	$\alpha$ -cadinene	0,1635

54	51,02	$\alpha$ -Calacorene	0,0961
55	52,43	(E)-Nerolidol	0,3889
56	53,28	Caryophyllene oxide	0,2196
57	53,94	salvial-4(14)-en-1-one	0,2105
58	54,49	cedrol	0,0435
59	54,83	Humulene epoxide II	0,2589
60	55,22	9,10-dehydro-Isolongifolene	0,5996
61	55,97	1-epi-Cubenol	0,1258
62	56,26	$\gamma$ -Eudesmol	0,063
63	56,56	Caryophylla-4(12),8(13)-dien-5-ol	0,0292
64	56,86	$\alpha$ -muurolol	0,5219
65	57,13	thujapsan-3one	0,2243
66	59,34	Eudesma-4(15),7-dien-1 $\beta$ -ol	0,4578
67	71,57	Rosa-5,15-diene <ent->	0,059
68	74,57	Manooloxide	1,5474
69	75,52	Phyllocladene	0,1384
70	77,54	Abietatriene	0,3379
71	78,72	Abietadiene	1,0348
<b>TOTAL</b>			<b>93,1549</b>

**Tableau C :** Rapport d'identification de l'huile essentielle des feuilles de *J. phoenicea*.

N°	TRX	Composé	% A
1	9,774	Bicyclo [3.1.1] hept-2-ene, 3,6,6-trimethyl	2,23
2	9,918	$\alpha$ -Pinene	12,45
3	12,914	3-carene	9,89
4	13,934	$\alpha$ -Phellandrene	3,32
5	14,472	Cyclohexene, 4-methylene-1-(1-meth ylethyl)	11,88
6	21,809	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha., .alpha.4-trimethyl-	9,67
7	22,948	$\alpha$ -Citronellol	5,01
8	23,460	3,3-Dimethyl-2-methylenenorcamphane ;	4,18
9	23,823	1H-Cyclopropa[a]naphthalène, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-t Etramethyl-,	1,32
10	24,580	Naphtalène, 1,2,3,5,6,8a-hexahydr o-4,7 dimethyl-1-(1-methylethyl)-(1S-cis)	19,13
11	26	Germacrene	5,04
12	26,388	Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydr o-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.7.beta.)]-	2,45
13	27,132	6-Octen-1-ol	0,89
14	28,440	beta.-Cedren-9-.alpha.-ol;	2,14
15	28,771	1H-Cyclopropa[a]naphthalene	9,83
16	29,997	1H-Cyclopropa[a]naphthalene	1,77

17	30.254	.beta.-Guaiene	1,86
18	30.585	decahydr ocyclopropa[d]naphthalene	9,03
19	31.624	Azulene	2,34
20	31.905	1-Hydroxy-1-methyl-7(methylethenyl	1,00
22	39.968	4'-Fluoro -4-aminobiphenyl	1,17
<b>TOTAL</b>			<b>94,81</b>

**Tableau D :** Rapport d'identification de l'huile essentielle des fruits de *J. phoenicea*.

N°	TRX	Composé	% A
1	9,192	$\alpha$ -Pinene	49,79
2	9,373	$\alpha$ -Pinene	5,21
3	9,505	3-Carene	9,89
4	13,120	.beta.-Pinene	7,71
5	14,478	Cyclohexene, 4-methylene-1-(1-methylethyl)	1,35
6	15,347	(+)-3-Carene	0,62
7	22,485	beta.-Citronellol	0,93
8	23,523	Caryophyllene ;	2,17
9	24,937	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)	5,94
10	26,450	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)	1,73
11	29,384	(+)-Beta-gurjunen	0,57
12	40,024	Pyrimidin-5-amine	0,62
<b>TOTAL</b>			<b>97,00</b>

## I. 2. ANNEXE HAP [1]

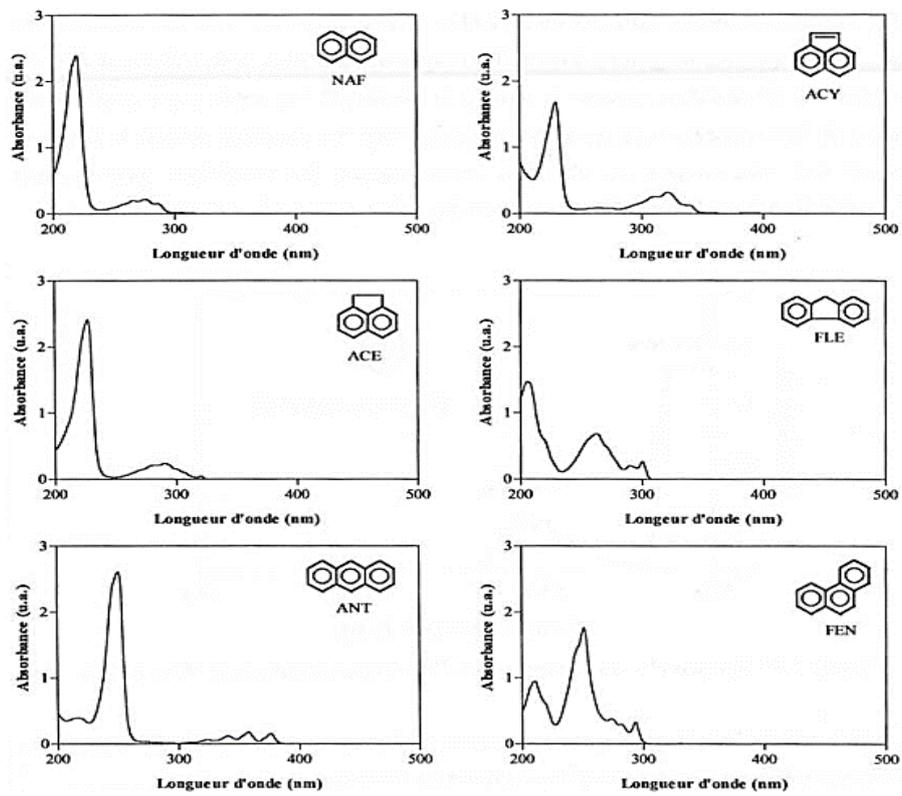


Figure A : Spectres UV des HAP à 2 et 3 cycles dans l'acétonitrile.

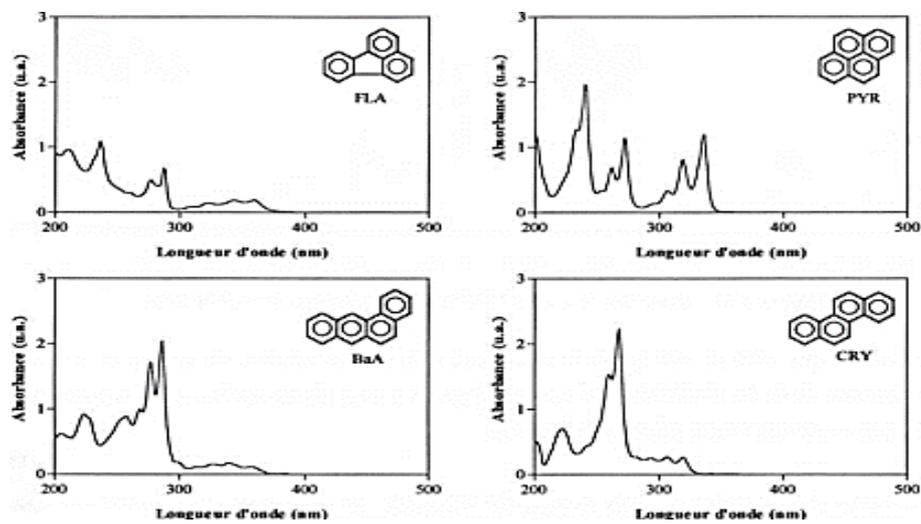


Figure B : Spectres UV des HAP à 4 cycles dans l'acétonitrile.

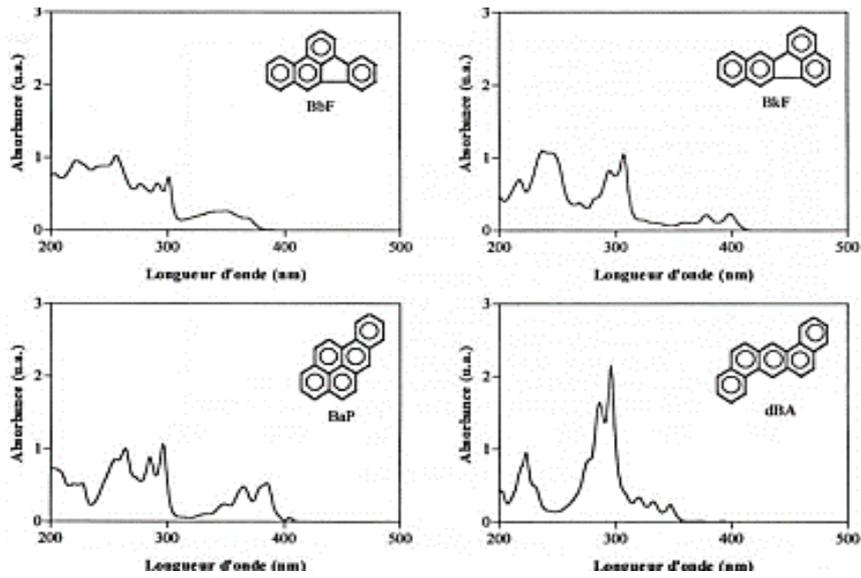


Figure C : Spectres UV des HAP à 5 cycles dans l'acétonitrile.

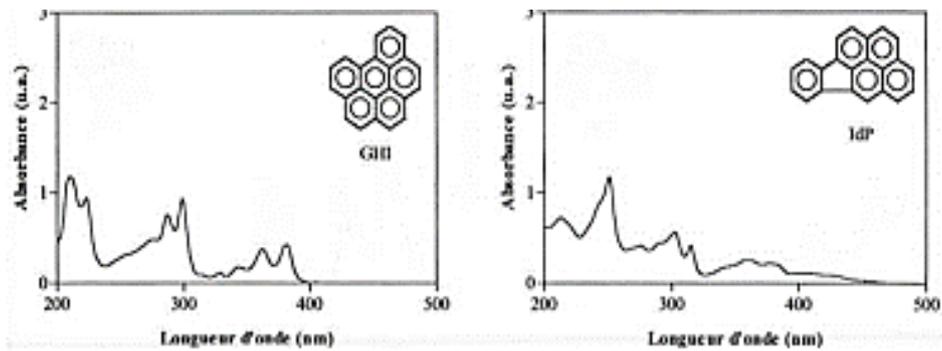


Figure D : Spectres UV des HAP à 6 cycles dans l'acétonitrile.

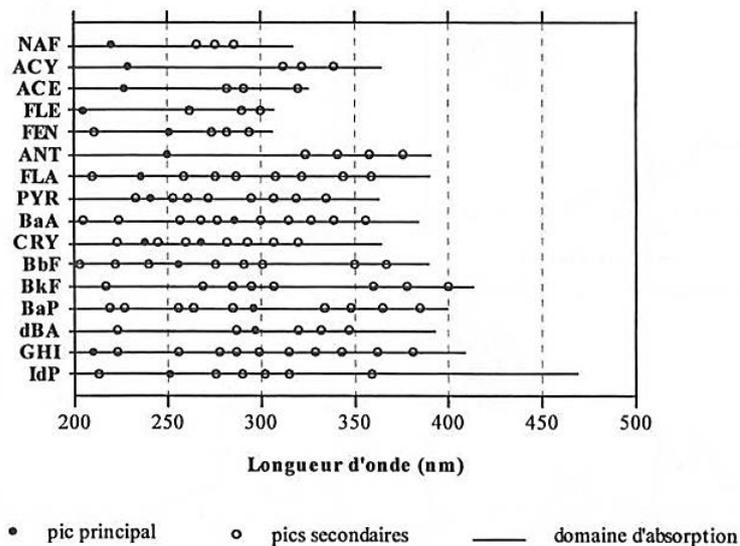


Figure E : Domaines d'absorption des HAP dans l'acétonitrile.



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ LARBI TEBESSI - TEBESSA -  
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE



## Attestation de Participation

Le comité d'organisation de la première journée scientifique sur la Biologie des Plantes Médicinales, tenue à Tébessa le 22 janvier 2020, atteste par la présente que : *Hanane Nasraffah* a participé à cette manifestation par une communication affichée intitulée :

« *Extraction par hydrodistillation des huiles essentielles des fruits de "Juniperus oxycedrus" poussant spontanément dans la région de Tébessa* »

Co-auteurs: *Sameh Boudifa, Fatma zohra Hlaouaouchi, Karima Hanimi, Soraya Hloum, Baya Berka, Merzoug Benahmed and Louiza Boudifa*

Présidente de la journée

Dr. *Samiya BOUSSEKINE*



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ LARBI TEBESSI – TEBESSA –  
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE



## Attestation de Participation

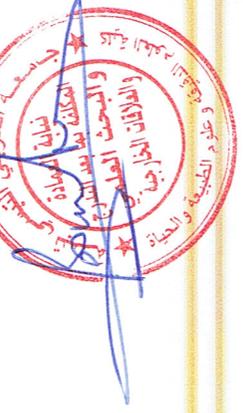
Le comité d'organisation de la première journée scientifique sur la biologie des plantes médicinales, tenue à Tébessa le 22 janvier 2020, atteste par la présente que : *Haouaouchi Fatma zohra*

A participé à cette manifestation par une communication Affichée intitulée :

« Contribution à l'étude de rendement d'extraction d'huile essentielle des feuilles de *Juniperus oxycedrus* obtenue par hydrodistillation »

Co-auteurs: *SamehBoudiba, Hanane Nasrallah, Karima Hanini, Soraya Hioun, Baya Berka, MerzougBenahmed and LouizaBoudiba*

Présidente de la journée  
Dr. Samira BOUSSEKINE





République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessa –Tébessa  
Faculté des Science Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



**Déclaration sur l'honneur de non-Plagiat**  
(À joindre obligatoirement au mémoire; Remplie et signée)



Nous soussignons

Nom, prénom: *Nasrallah Rouane & Haouaouchi Fatma Lohra*

N° de carte d'étudiant: (1) *M201534021708* (2) *M201534021630*

Régulièrement inscrits (es) en **Master** au **Département Sciences de la Matière**

Année universitaire: *2019/2020*

Domaine: **Sciences de la matière**

Filière: **Chimie**

Spécialité: *chimie des produits naturels*

Intitulé du mémoire: *Evaluation in vitro de l'inhibition de la toxicité de Cigarette par les huiles essentielles de Juniperus*

Attestons que notre mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Nous certifions également que nous n'avons ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article, ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

Sanctions en cas de plagiat prouvé:

Les étudiants seront convoqués devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont:

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent.
- L'exclusion d'une année du master.
- L'exclusions définitive.

Fait à Tébessa, le: *20/10/2020*

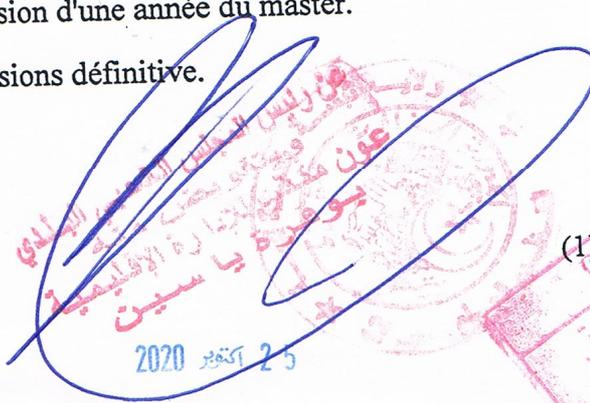
Signature des étudiants (es):

(1):

*[Signature]*

(2):

*[Signature]*





## Formulaire de levée de réserves après soutenance d'un Mémoire de Master

**Données d'identification du candidat (e) :**

Nom et prénom du candidat : *Nassallah Hanane*  
*Haouaouchi Fatma Zohra*

Intitulé du Sujet : *Evaluation in vitro de l'inhibition de la toxicité  
de cigarette par les huiles essentielles de juniperus*

**Données d'identification du membre de jury :**

Nom et prénom : *Boukhdouja Wafja*

Grade : *DBC*

Lieu d'exercice : Université Larbi Tébessi- Tébessa

**Vu le procès-verbal de soutenance du mémoire sus citée comportant les réserves suivantes :**

.....  
.....  
.....  
.....

**Et après constatation des modifications et corrections suivantes :**

.....  
.....  
.....

Je déclare en ma qualité de président de jury de soutenance que le mémoire cité remplit toutes les conditions exigées et permet au candidat de déposer son mémoire en vue de l'obtention de l'attestation de succès.

Le *27/10/2020*

Président de jury de soutenance : (Nom/Prénom et signature)

*Boukhdouja Wafja*