

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIC ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة أمحمد بوقرة - بومرداس
UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA BOUMERDES
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de **MASTER**
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

THEME

**Contribution à l'étude phytochimique de la diversité des huiles
essentielles d'une plante aromatique maritime : *Otanthus
maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link**

Présenté par :

M^{lle} **CHELLAL Fella**

Soutenu le 15/11/2020 devant le jury :

Mme HALLADJ F., MCB, UMBB _____ Présidente
Melle RAHIM M.Z., MAA, UMBB _____ Examinatrice
Mme NEGHLIZ H., MCB, UMBB _____ Promotrice
Mr BENABDELKADER T., MCB, UMBB _____ Co-Promoteur

-2019/2020-

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, Louange à **ALLAH**, le tout puissant qui m'a donné la santé, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

Je tiens à remercier ma promotrice Mme. **Neghliz H.** d'avoir accepté de m'encadrer, pour son aide, pour l'orientation, la confiance, la patience et surtout sa gentillesse, ses conseils précieux qu'elle prodigué tout le long de mon travail et pour le temps qu'elle a consacré pour moi qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon part.

Je tiens à remercier mon Co-promoteur Mr. **Benabdelkader T.**

Je tiens de remercier également les membres du jury Mme. **Halladj F.** et Mme. **Rahim M.Z.** pour m'avoir honoré d'examiner ce travail.

Le plus grand merci revient à mes très chers parents, qui ont toujours cru en moi et qui m'ont toujours encouragé, me donnant toujours l'envie d'avancer et d'aller vers le meilleur. Jamais je n'aurai réussi sans eux. J'espère que mon travail sera le témoignage de ma gratitude et mon respect le plus profond. Que Dieu les protège et les garde en bonne santé.

Sans oublier l'ensemble des enseignants ayant contribué à ma formation durant mon cycle d'étude

J'espère que ce travail soit la bonne expression de ma gratitude.



Dédicace

A la mémoire de ma grand-mère maternelle qui a été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je te dédie aujourd'hui ma réussite

A mes très chères parents, qui sont toujours près de moi pour m'encourager, me soutenir et me fournir tous le nécessaire pour réaliser ce mémoire, que ce soit moralement ou matériellement. Vous êtes mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant. Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers que je le dois

A mes chères soeurs kenza et Nabila

Surtout a ma grande sœur Lila et mon cher frère Sidahmed vous êtes la lumière de ma vie sans votre présence je ne pourrai jamais avancer

A mes adorables neveux et nièces : Adem, Dania, Imed et Alaa

A ma meilleure amie, sœur et cousine Yousra merci d'être toujours présente pour moi que ce soit dans les moments de joie ou de tristesse

A mes chères tantes et spécialement Dalila et Fadhila

A mon cher oncle Mourad

À tous ceux qui m'aiment.

Fessa

Liste des Figures

Figure I.1.	Formule développée et modèle 3D de l'unité isoprénique (C ₅ H ₈) (Wikipedia.org)	6
Figure I.2.	Structure de quelques alcaloïdes d'une importance économique (Olivoto <i>et al.</i> , 2017)	7
Figure I.3.	Structure de quelques monoterpènes (A) et sesquiterpènes (B) (Dhifi <i>et al.</i> , 2016)	12
Figure I.4.	Structure de quelques composés aromatiques C ₆ -C ₃ caractéristiques des huiles essentielles (Bruneton, 1999)	13
Figure I.5.	Exemples de composés aromatiques C ₆ -C ₁ rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999)	13
Figure I.6.	Montage utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles (Hernandez Ochoa, 2005)	16
Figure I.7.	Montage de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Lucchesi, 2005)	17
Figure I.8.	Principe schématisé de l'extraction des HEs par micro-ondes (Lagunez-Rivera, 2006)	18
Figure I.9.	<i>Othanthus maritimus</i> (tilo-botanica.eu, wikipedia.org)	24
Figure II.1.	Site géographique (flèche rouge) de la récolte d' <i>O. maritimus</i> utilisée dans cette étude (Google map)	27
Figure II.2.	Fleurs d' <i>Othanthus maritimus</i> séchées au laboratoire	28
Figure II.3.	Montage Clevenger d'hydrodistillation	29
Figure III.1.	Chromatogrammes ioniques totaux (GC/MS) des huiles essentielles des feuilles et des fleurs d' <i>Othanthus maritimus</i> Algérienne	34
Figure III.2.	Teneur (%) des classes phytochimiques et le total identifié des HEs des feuilles et des fleurs d' <i>Othanthus maritimus</i>	37
Figure III.3.	Teneurs et structures développées des constituants majoritaires des HEs des feuilles et fleurs d' <i>Othanthus maritimus</i>	37
Figure III.4.	Dendrogramme de l'analyse du cluster hiérarchique des HEs des populations méditerranéennes d' <i>O. maritimus</i>	44
Figure III.5.	Biosynthèse terpénique dans la cellule végétale, à partir de la première étape dédiée dans les voies cytosolique et plastidique	51
Fig. III.6.	Principaux groupes squelettiques des monoterpènes irréguliers	52
Figure III.7.	Biosynthèse proposée des monoterpènes irréguliers (Epstein & Poulter, 1973)	53
Figure III.8.	Mécanismes de réaction conduisant à la formation des sesquiterpènes irréguliers liés à l' α -isocomène identifiés dans l'HE des feuilles d' <i>O. maritimus</i> (modifier depuis Irmish <i>et al.</i> , 2012)	54
Figure III.9.	Mécanismes de réaction conduisant à la formation des monoterpènes réguliers trouvés dans les HEs d' <i>O. maritimus</i> et d'autres monoterpènes apparentés (modifier depuis Keszei <i>et al.</i> , 2008)	56
Figure III.10.	Mécanismes de réaction conduisant à la formation des sesquiterpènes trouvés dans les HEs d' <i>O. maritimus</i> ainsi que d'autres sesquiterpènes apparentés (modifier depuis Keszei <i>et al.</i> , 2008)	58
Figure III.11.	Voie de biosynthèse proposée pour la matricine et sa transformation thermique en chamazulène (regroupé depuis Irmish <i>et al.</i> , 2012 & Stahl, 1954)	59

Liste des Tableaux

Tableau I.1.	Classification des composés phénoliques (Garcia-Salas <i>et al.</i> , 2010)_____	5/6
Tableau I.2.	Classification des terpénoïdes (Kogan <i>et al.</i> , 2006) _____	7
Tableau II.1.	Conditions opératoires GC/MS utilisées pour l'analyse des HEs d' <i>O. maritimus</i> _____	30
Tableau III.1	Composition phytochimique comparative des huiles essentielles des feuilles et des fleurs d' <i>Otanthus maritimus</i> Algérienne_____	35/36
Tableau III.2.	Rendements et compositions chimiques majeurs des huiles essentielles d' <i>Othantus maritimus</i> à travers le bassin méditerranéen_____	41/42

Liste des abréviations

AFNOR	Association française de normalisation
<i>O. mritimus</i>	<i>Otanthus mritimus</i>
DMADP	Diméthyl-allyl diphosphate
DXP	Désoxyxylulose de phosphate
FDP	Farnésyl diphosphate
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
GDP	Géranyl diphosphate
GGDP	Géranylgéranyle diphosphate
HE	Huile essentielle
IDP	Isopentényl diphosphate
IR	Indices de rétention
MVA	Voie du mévalonate
Rdt	Rendement
TR	Temps de rétention

مساهمة في الدراسة الكيميائية النباتية لتنوع الزيوت العطرية لنباتات العطري البحري:

***Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link**

من أجل المساهمة في تمييز النباتات الجزائرية بهدف تحديد مواد جديدة ذات أهمية بيولوجية وعلاجية تم في هذا البحث دراسة الزيوت الأساسية لنبات *Otanthus maritimus* الذي ينمو بصورة طبيعية في شواطئ زموري (بومرداس). أظهرت تحاليل التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية المتحصل عليها بجهاز الكروماتوغرافية الغازية المقترنة بمطيافية الكتلة وجود 40 مركب، 28 في الأوراق (82,2%) و 27 في الأزهار (94,6%). المركبات الأساسية في الزيت الأساسي للأوراق هي: α -isocomene (11,2%)، artemisia acetate (5,3%) و β -isocomene (5,1%) في حين أن المركبات الأساسية في الزيت الأساسي للأزهار هي: artemisia alcohol (30,5%)، yomogi alcohol (13,2%)، camphor (10,7%)، chrysanthenone (10,2%)، artemisia acétate (7,7%) و α -epi-Bisabolol (8,7%). أثبتت هذه التحاليل وجود تباين في النمط الكيميائي بين العضوين المدروسين حيث أظهرت الأوراق النمط الكيميائي α -isocomene (11,2%) في حين أظهرت الأزهار النمط الكيميائي artemisia alcohol (30,5%)، وعليه تم الكشف على هذين النمطين الكيميائيين في هذا النبات لأول مرة في هذه الدراسة.

الكلمات المفتاحية: *Otanthus maritimus*؛ الزيوت الأساسية، GC/MS، التباين في النمط الكيميائي.

Résumé

Contribution à l'étude phytochimique de la diversité des huiles essentielles d'une plante aromatique maritime : *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link

Dans le but de contribuer à la valorisation de la flore algérienne en vue d'identifier de nouvelles substances potentiellement intéressantes sur les plans biologique et thérapeutique, nous avons procédé à l'étude des huiles essentielles (HEs) d'*Otanthus maritimus* originaire de la région de Zemmouri (Boumerdes). L'étude par GC/MS des HEs des feuilles et des fleurs de cette espèce a permis d'identifier 40 constituants, 28 chez les feuilles (82.2%) et 27 et chez les fleurs (94.6%). Les constituants majoritaires de l'huile essentiel des feuilles sont : α -isocomene (11.2%), artemisia acetate (5.3%) et β -isocomene (5.1%). Alors que les constituants majoritaires des fleurs sont : Artemisia alcohol (30.5%), yomogi alcohol (13.2), camphor (10.7%), chrysanthenone (10.2%), α -epi-bisabolol (8.7%) et artemisia acetate (7.7%). Ces analyses ont mis en évidence une variation chemotypique entre les deux organes étudiées. Les feuilles présentent le chemotype α -isocomene (11.2%). Alors que les fleurs présentent le chemotype artemisia alcohol (30.5%). Ces deux chemotypes sont détectés pour la première fois dans la présente étude.

Mots clés : *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link, Huiles essentielles, GC/MS, Variabilité chemotypique

ABSTRACT

Contribution to the phytochemical study of the diversity of essential oils of a maritime aromatic plant: *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link

In order to contribute to the enhancement of the Algerian flora with a view to identifying new substances potentially interesting from a biological and therapeutic point of view, we have carried out the study of the essential oils (EOs) of *Otanthus maritimus* originating from Zemmouri (Boumerdes). The GC/MS analysis of EOs in leaves and flowers of this species identified 40 constituents, 28 in leaves (82.2%) and 27 and in flowers (94.6%). The major constituents of the essential oil of the leaves are: α -isocomene (11.2%), artemisia acetate (5.3%) and β -isocomene (5.1%). While the major constituents of flowers are: Artemisia alcohol (30.5%), yomogi alcohol (13.2%), camphor (10.7%), chrysanthenone (10.2%), α -epi-bisabolol (8.7%) and artemisia acetate (7.7%). These analyzes revealed a chemotypic variation between the two organs studied. The leaves show the α -isocomene chemotype (11.2%). While the flowers exhibit the artemisia alcohol chemotype (30.5%). These two chemotypes are detected for the first time in the present study.

Key words: *Otanthus maritimus*, Essential oils, GC/MS, Chemotypic variability.

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Liste des Abréviations	
Résumés	
Sommaire	

Introduction Générale	1
Chapitre I. Synthèse Bibliographique	
I.1. Plantes médicinales et aromatiques	4
I.2. Métabolites secondaires	4
I.2.1. Définition	4
I.2.2. Classification des métabolites secondaires	5
I.2.2.1. Les composés phénoliques	5
I.2.2.2. Les terpènes	6
I.2.2.3. Les alcaloïdes	7
I.3. Les huiles essentielles	8
I.3.1. Définition	8
I.3.2. Propriétés physico-chimiques	8
I.3.3. Intérêt des huiles essentielles chez les plantes	9
I.3.4. Domaines d'application des huiles essentielles	9
I.3.4.1. En industries alimentaires	9
I.3.4.2. En cosmétologie et parfumerie	9
I.3.4.3. En pharmacie et domaine médical	10
I.3.5. Répartition botanique	10
I.3.6. Localisation dans la plante	10
I.3.7. Composition chimique des huiles essentielles	11
I.3.7.1. Les composés terpéniques	11
I.3.7.2. Les composés aromatiques	12
I.3.8. Notion de chémotype ou chimiotype de la plante	13
I.3.9. Facteurs influençant la composition chimique	14
I.3.9.1. Facteurs intrinsèques	14
I.3.9.2. Facteurs extrinsèques	14
I.3.10. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	15
I.3.10.1. La distillation	15
I.3.10.2. Extraction aux solvants organiques	17
I.3.10.3. Extraction au CO₂ supercritique	17
I.3.10.4. Extraction par ultrasons	18
I.3.10.5. Extraction par Micro-ondes	18
I.3.10.6. Expression à froid	19
I.3.11. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles	19
I.3.11.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	19
I.3.11.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (GC/MS)	19
I.3.12. Activités biologiques des huiles essentielles	20
I.3.12.1. Activité antibactérienne	20

I.3.12.1.	Activité antifongique	20
I.3.12.3.	Activité anti-oxydante	21
I.3.12.4.	Activité anti-inflammatoire	21
I.3.12.5.	Activité anti-tumorale	22
I.3.12.6.	Activité insecticide	22
I.4.	Toxicité des huiles essentielles	22
I.5.	Aperçu sur la famille Astéracées	22
1.6.	<i>Otanthus maritimus</i> (L.) Hoffmans. & Link	23
I.6.1.	Synonymes et noms communs	23
I.6.2.	Description botanique	24
I.6.3.	Position systématique	25
1.6.4.	Usage en médecine traditionnelle	25
1.6.7.	Travaux antérieurs	25
Chapitre II. Matériel et Méthodes		
II.1.	Matériel végétal	27
II.2.	Extraction des huiles essentielles	28
II.2.1.	Hydrodistillation	28
II.3.	Calcul du rendement en huile essentielle	29
II.4.	Analyse des huiles essentielles d'<i>O. maritimus</i> par chromatographie gazeuse	29
II.4.1.	Analyse des huiles essentielles par couplage chromatographie gazeuse/ spectrophotométrie de masse	29
II.4.2.	Identification des composés volatils	30
II.4.3.	Quantification des composés volatils	30
II.5.	Analyse statistique cluster hiérarchique	31
Chapitre III. Résultats et Discussion		
III.1.	Caractérisation phytochimique des huiles essentielles d'<i>O. maritimus</i>	33
III.1.1.	Résultats	33
III.1.1.1.	Caractéristiques organoleptiques et rendements des huiles essentielles	33
III.1.1.2.	Etude phytochimiques des huiles essentielles d' <i>O. maritimus</i>	33
III.1.2.	Discussion	39
	<i>Aspect activités biologiques</i>	46
	<i>Aspect biosynthétique</i>	50
	Conclusion et Perspectives	61
	Références Bibliographiques	64

Introduction Générale

Introduction Générale

Les remèdes naturels, et surtout les plantes médicinales, ont été pendant longtemps le principal, voir l'unique recours traditionnel pour soigner diverses pathologies, et comme matière première pour la médecine moderne (Ould El Hadj *et al.*, 2003). Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits naturels, synthétisés par les plantes elles-mêmes.

De nombreux composés naturels isolés à partir de plantes ont démontré un large spectre d'activités biologiques. Parmi ces différents types de substances naturelles, les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales ont reçu une attention particulière pour leur propriétés antimicrobiennes, anti-oxiantes, anti-inflammatoires, anti-cancéreuses, insecticides (Nicolas, 1991; Mishara & Dubey, 1994; Bowles, 2004; Lahlou, 2004 ; Viuda-Martos *et al.*, 2011). Environ 3000 huiles essentielles sont décrites, parmi lesquelles 300 présentent une importance commerciale dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires et agronomiques (Bakkali *et al.*, 2008 ; Tajkarimi *et al.*, 2010).

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeables (15%) d'espèces endémiques (Gaussen *et al.*, 1982). La valorisation de ces ressources est devenue indispensable pour la découverte de nouvelles substances. Parmi les familles botaniques les plus représentées en Algérie, et les plus utilisées en médecines traditionnelle, la famille des Astéracées, avec plus de 400 espèces (Quezel & Santa, 1963). A cet effet, nous nous sommes intéressés à une astéracée sauvage poussant à l'état sauvage dans le littoral Algérien appelée *Othanthus maritimus* L.

Othanthus maritimus L., appartenant à la famille des Astéraceae, est une plante médicinale connue par ces effets contre les maux de dents, la bronchite asthmatique, la dysenterie et l'inflammation de la vessie urinaire et aussi utilisée comme tonique (Reutter, 1923; Jakupovic *et al.*, 1988; Thanos *et al.*, 1991; Tsoukatou *et al.*, 2000). Très peu d'études ont été consacrées à l'identification de la composition chimique de l'huile essentielle de cette espèce.

Selon Quezel & Santa (1963), *Othanthus maritimus* se développe dans les sables maritimes de toute l'Algérie. Cependant cette espèce, à notre connaissance n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique en Algérie notamment la caractérisation de ses huiles

essentielles. Dans ce travail, nous proposons d'étudier, pour la première fois, cette plante récoltée dans la région de Boumerdes. De ce fait les objectifs fixés par la présente sont :

- L'extraction des huiles essentielles des feuilles et des fleurs par hydrodistillation.
- L'analyse phytochimique de ces huiles par GC/SM (identification du chémotype algérien).

Le manuscrit de ce mémoire est structuré comme suit :

Dans le premier chapitre, nous présentons une synthèse bibliographique décrivant les notions essentielles liés au contexte global de notre travail (les plantes médicinales, les huiles essentielles, utilisations et travaux antérieurs réalisés sur l'espèce étudiée)

Au niveau du second chapitre nous décrivons le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail.

Dans le troisième chapitre nous analysons les résultats obtenus puis nous discutons leur signification par rapport aux données de la littérature.

Au terme de ce mémoire, nous présenterons une conclusion générale dans laquelle nous rappellerons les principaux résultats obtenus, puis nous proposerons quelques perspectives pour notre étude suivie par les références bibliographiques.

Chapitre I

Synthèse Bibliographique

I.1. Plantes médicinales et aromatiques

Depuis la plus haute antiquité, les plantes ont occupé une place prépondérante dans la vie de l'homme. Toutes les civilisations connues ont utilisé les plantes pour se nourrir, se défendre, se vêtir ou se soigner.

Les plantes sont dites médicinales lorsque l'un de leurs organes possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. La définition d'une plante médicinale est très simple. En fait il s'agit d'une plante qui est utilisée pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Elles sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Giani & Sanago, 2006).

Les plantes aromatiques sont, par définition, des plantes dont les tissus sécrètent suffisamment d'essence. Elles contiennent des composés odorants, volatils, hydrophobes et hautement concentrés appelés huiles essentielles (ou huiles volatiles ou étherées) dans un ou plusieurs de leur organes (feuille, fleurs, fruits, graines, écorces, racines) (Brenes & Roura, 2010). Toute plante à odeur n'est pas toujours une plante aromatique : le tilleul est un arbre odorant mais il n'existe pas d'huile essentielle de tilleul (Bechaalany, 2005).

I.2. Métabolites secondaires

I.2.1. Définition

Les plantes renferment une part importante des composés qui interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. On distingue ainsi deux groupes de métabolites, les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Hartmann, 2007). Les métabolites secondaires sont des produits du métabolisme secondaire. Ces métabolites ne présentent aucune fonction reconnue dans les processus vitaux des plantes, comme la photosynthèse, la respiration cellulaire, la synthèse des protéines, le transport des solutés et l'assimilation des nutriments, contrairement aux métabolites primaires (Olivoto *et al.*, 2017). Ils interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement ainsi que la régulation des symbioses et d'autres interactions plantes-animaux, la défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques ou pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits (Judd *et al.*, 2002). Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre, plus de 200.000 structures définies avec une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité (Hartmann, 2007).

I.2.2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles : Les polyphénols, les terpènes et les alcaloïdes (Verpoorte, 1998). Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine.

I.2.2.1. Les composés phénoliques

Cette classe de métabolites secondaires regroupe un vaste ensemble de plus de 8000 molécules (Bahorun, 1997; Garcia-Salas *et al.*, 2010). Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction tel que : éther, ester, hétéroside (Bruneton 1999). Les polyphénols sont classés selon le nombre d'atomes de carbone dans le squelette de base (Dacosta, 2003). Il existe plusieurs classes des polyphénols, principalement, les acides phénoliques simples, stilbènes, coumarines, tanins, quinones, flavonoïdes, lignanes, lignines et xanthones (Tab. I.1).

Tableau I.1. Classification des composés phénoliques (Garcia-Salas *et al.*, 2010)

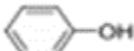
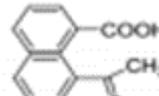
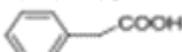
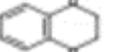
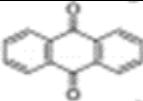
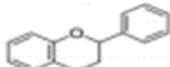
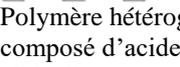
Numéro de carbone	Classe	Structure de base
C ₆	Phénol simple	
C ₆	Benzoquinones	
C ₆ -C ₁	Acide benzoïque	
C ₆ -C ₂	Acétophénone	
C ₆ -C ₃	Acide phénylacétique	
C ₆ -C ₃	Acide cinnamique	
C ₆ -C ₃	Phénylpropène	
C ₆ -C ₃	Coumarines	
C ₆ -C ₃	Chromones	
C ₆ C ₄	Naphthoquinones	
C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	

Tableau I.1. (Suite)

Numéro de carbone	Classe	Structure de base
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	
C ₆ -C ₂ -C ₆	Anthraquinones	
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes, neolignanes	
(C ₆ -C ₁) _n	Tannins hydrolysables	Polymère hétérogène composé d'acide phénolique et sucres simples
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines	Aromatique hautement réticulé polymère

I.2.2.2. Les terpènes

Ou terpénoïdes (isoprénoïdes) sont la classe la plus diversifiée de métabolites secondaires. Ils contiennent plus de 40 000 composés (Bohlmann & Keeling, 2008). Les terpènes sont des hydrocarbures naturels de structure cyclique ou de chaîne ouverte, largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C₅H₈) dérivées du 2-méthylbutadiène (Bakkali *et al.*, 2008) (Fig.I.1). La nomenclature des terpénoïdes est comme illustré par le Tableau I.2.

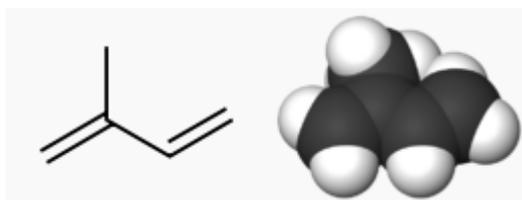


Figure I.1. Formule développée et modèle 3D de l'unité isoprénique (C₅H₈)
(Wikipedia.org)

Tableau I.2. Classification des terpénoïdes (Kogan *et al.*, 2006)

Nombre de carbone	Nom	Exemple
C ₅	Hemiterpènes	Isoprène, prenol, Acide isovalérique
C ₁₀	Monoterpènes	Limonène, eucalyptol, pinène
C ₁₅	Sesquiterpènes	ABA (acide abscisique)
C ₂₀	Diterpènes	Gibberellin
C ₃₀	Triterpènes	Brassinostéroïde, squalène, lanostérol
C ₄₀	Tétraterpènes	Caroténoïdes, lycopène
C _{>40}	Polyterpènes	Vitamine E

I.2.2.3. Les alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique d'origine naturelle (le plus souvent végétale), azoté, plus ou moins basique, de distribution restreinte et doué, à faible dose, de propriétés pharmacologiques marquées (Bruneton, 1999). La plupart des alcaloïdes sont issus des acides aminés (Loomis & Croteau, 1980). Ils sont présents dans environ 20% des espèces végétales et confèrent un rôle défensif contre les herbivores et les attaques d'agents pathogènes (Fraga, 1988 ; Hegnauer, 1988). Un grand nombre d'alcaloïdes biologiquement actifs ont été isolés de plantes (Fig.I.2).

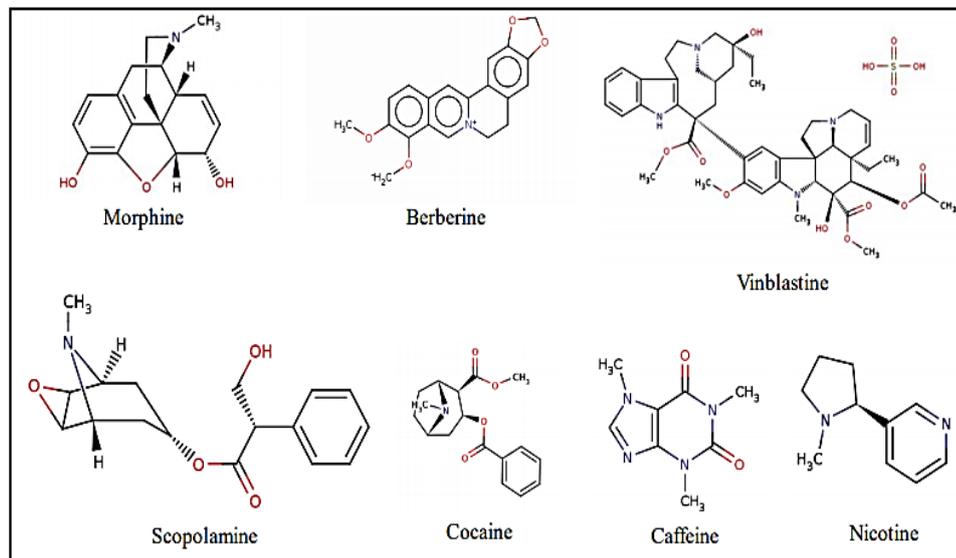


Figure I.2. Structure de quelques alcaloïdes d'une importance économique (Olivoto *et al.*, 2017).

On distingue généralement (Bruneton, 1999) :

- Alcaloïdes vrais, dérivés d'acides aminés, et qui présentent au moins un hétérocycle.
- Proto-alcaloïdes, qui dérivent d'acides aminés, dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique.
- Pseudo-alcaloïdes, présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

I.3. Les huiles essentielles

I.3.1. Définition

Une huile essentielle est un mélange naturel complexe de métabolites secondaires lipophiles, volatils, odorants et souvent liquides contenus dans des tissus végétaux spécialisés (Bruneton, 1993). Selon l'AFNOR (Association française de la normalisation) l'huile essentielle est définie comme : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques, l'huile est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (AFNOR, 2000).

Actuellement, près de 3000 huiles essentielles sont décrites, parmi lesquelles environ 300 présentent une importance commerciale dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques ou dans le domaine de la parfumerie (Bakkali *et al.*, 2008).

I.3.2. Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (Degryse *et al.*, 2008). Elles sont en général liquides à température ambiante, volatiles, inflammables, très odorantes et ne sont que très rarement colorées. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 sauf pour les huiles essentielles de saffran (*Sassafras albidum*), de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et de cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (Bruneton, 1999; Charpentier *et al.*, 2008). Les huiles essentielles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, elles peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol...etc) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (Bernadet, 2000). Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques mais sont peu solubles dans l'eau (Bruneton, 1999). Elles s'oxydent

facilement. Pour éviter cela, il faut les conserver à l'abri de la lumière et de l'air (Duval, 1978).

I.3.3. Intérêt des huiles essentielles chez les plantes

Le rôle exact des huiles essentielles chez les plantes est inconnu (Rai *et al.*, 2003). Cependant, certaines études ont montré qu'elles ont de très grands intérêts dans la vie de la plante. Parmi ses intérêts (Bruneton, 1999; Porter, 2001; Guignard & Dupont, 2004) :

- La réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines.
- la protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux.
- les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation.

I.3.4. Domaines d'application des huiles essentielles

Les huiles essentielles constituent une matière première destinée à divers secteurs d'activités.

s

I.3.4.1. En industries alimentaires

Les huiles essentielles sont utilisées en industrie alimentaire comme arômes et épices alimentaires pour les boissons gazeuses ou alcooliques, les condiments, les confiseries, les produits laitiers, les produits carnés, les produits de boulangerie mais également pour la nutrition animale (Bruneton, 1999). Les plus couramment utilisées sont celles de : menthe, vanille, poivre, basilic, gingembre, eucalyptus...etc (Mapoli, 2003).

Les huiles essentielles, représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires grâce aux activités antimicrobiennes et anti-oxydantes de certains de leurs constituants (Burt, 2004 ; Shan *et al.*, 2005). Ces agents naturels viennent réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques qui présentent des effets néfastes sur la santé (Viuda-Martos *et al.*, 2009 ; Miguel, 2010).

I.3.4.2. En cosmétologie et parfumerie

Les huiles essentielles sont recherchées dans l'industrie des parfums et des cosmétiques en raison de leurs propriétés odoriférantes. L'industrie des cosmétiques, savonneries et parfums constitue le plus gros consommateur d'huiles essentielles (Balandrin

et al., 1985; Shahi, 2009). Elle représente 60 % de la demande totale en substances naturelles, selon le National Research Development Corporation (NRDC) (Lubbe & Verpoorte, 2011). Les huiles essentielles sont aussi consommées en cosmétologie pour parfumer les produits cosmétiques : les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons, etc. (Seu-Saberno & Blakeway, 1984).

I.3.4.3. En pharmacie et domaine médicinal

Les huiles essentielles représentent un outil thérapeutique important qui permet d'élargir le champ des traitements médicaux conventionnels (Robard, 2004; Millet, 2010). Elles peuvent être utilisées directement comme agents thérapeutiques (Bardeau, 2009; Hamid *et al.*, 2011), mais aussi comme matières premières pour la synthèse de principes actifs (Bessah & Benyoussef, 2015). L'utilisation des huiles essentielles dans le traitement de certaines pathologies (digestives, infectieuses, ...) fait appel à leurs propriétés: anti-infectieuse, antalgique, anti-inflammatoire, sédatrice, antimicrobienne, antispasmodique, antioxydants et cytotoxiques (Steflitsch & Steflitsch, 2008 ; Bardeau, 2009; Le Hir, 2009).

I.3.5. Répartition botanique

Les huiles essentielles n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Parmi les 1 500 000 espèces végétales recensées, seulement 10% sont capables de synthétiser une essence. Ces plantes sont alors dites « aromatiques » (Bruneton, 1999 ; Degryse *et al.*, 2008). La capacité d'accumuler les huiles essentielles est cependant la propriété de certaines familles de plantes réparties au sein de l'ensemble du règne végétal, aussi bien représentées par la classe des gymnospermes (Cupressaceae (bois de cèdre) et Pinaceae (pin et sapin)) que celle des angiospermes. Les familles les plus importantes sont les dicotylédones comme celles des Apiaceae (coriandre), Asteraceae (camomille), Geraniaceae (géranium), Illiciaceae (anis), Lamiaceae (menthe), Lauraceae (cannelle), Myristicaceae (noix), Myrtaceae (eucalyptus), Oleaceae (jasmin), Rosaceae (rose), Sandalaceae (bois de santal) et Rutaceae (citron). Les monocotylédones sont principalement représentées par les familles Poaceae (vétiver) et Zingiberaceae (gingembre) (Spichiger, 2002; Khandelwal, 2008).

I.3.6. Localisation dans la plante

Les huiles essentielles peuvent être localiser dans tous les organes végétaux: les fleurs (oranger, rose, lavande; le bouton floral (girofle)), les feuilles (eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin), les racines (vétiver), rhizomes

(gingembre, acore), les fruits (anis, fenouil, badiane), le bois et les écorces (cannelle, santal, bois de rose.) et les graines (noix de muscade, coriandre) (Bruneton, 1993; Anton & Lobstein, 2005).

Les huiles essentielles sont produites par diverses structures spécialement différenciées dont le nombre et les caractéristiques sont très variables : poches sécrétrices schizogènes (Myrtacées) ou poches sécrétrices schizolyziques (Aurantiacées), des canaux sécréteurs (Conifères et Apiacées), poils sécréteurs (Lamiacées et Astéracées), et cellules sécrétrices isolées (Lauracées, Magnoliacées et Pipéracées) (Belaiche, 1979 ; Paris & Hurabielle, 1981; Bruneton, 1999; Ghestem *et al.*, 2001).

I.3.7. Composition chimique des huiles essentielles

Plus de 60 molécules différentes peuvent entrer dans la composition chimique d'une HE. Les composés majoritaires peuvent représenter, à eux seuls, plus de 85% de l'huile alors que d'autres composés ne sont présents qu'à l'état de traces (Senatore, 1996). L'ensemble de ces constituants appartient, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus d'autre famille des volatils tel que les dérivés d'acide gras (Bruneton, 1999).

I.3.7.1. Les composés terpéniques

Déjà défini dans la section I.2.2.2., les monoterpènes et les sesquiterpènes constituent les deux types de terpènes les plus abondants au sein des HEs (Folliard, 2014).

- **Les monoterpènes** contiennent plus de 900 composés connus, se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les monoterpènes linéaires (acyclique): (myrcène, ocimènes), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) : (α - et γ -terpinène, p-cymène) et ceux avec deux cycles (bicycliques) : (pinènes, Δ^3 -carène, camphène, sabinène) (Allen *et al.*, 1977).

- **Les sesquiterpènes** comportent trois unités d'isoprène, leur formule est C₁₅H₂₄ soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes (Belaiche, 1979). Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène, α -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine, β -artémisinine) (Bruneton, 1999; Laouer, 2004). A titre indicatif,

quelques structures de monoterpènes et de sesquiterpènes sont représentées sur la Figure I.3

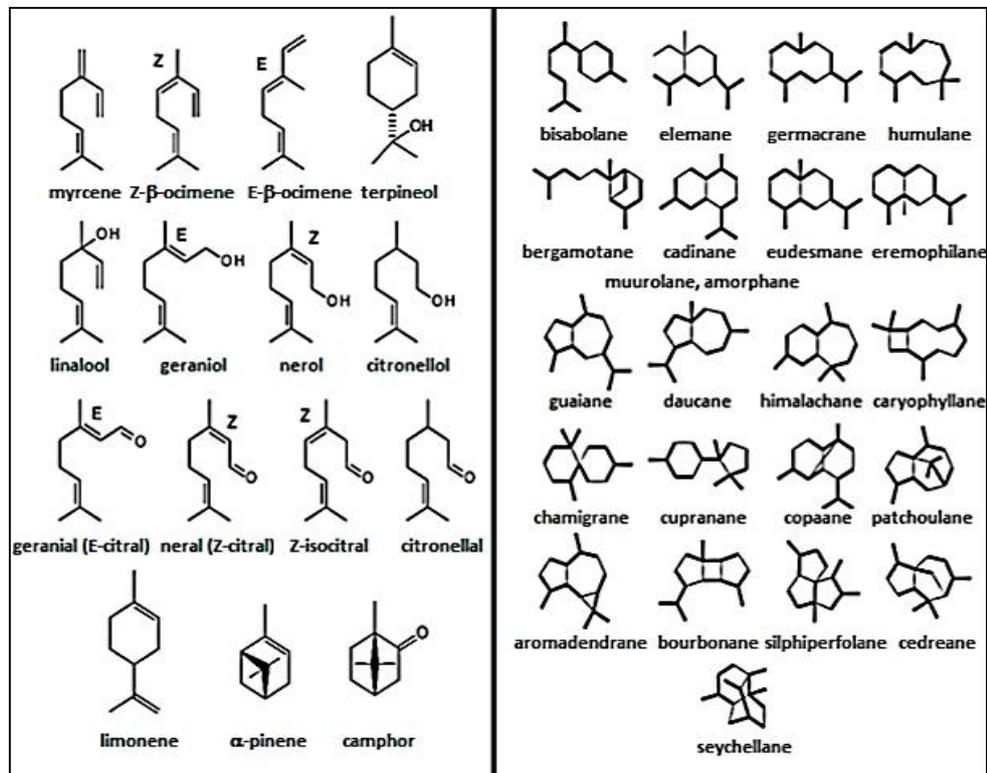


Figure I.3. Structure de quelques monoterpènes (A) et sesquiterpènes (B) (Dhifi *et al.*, 2016)

I.3.7.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C₆-C₃. Ils peuvent comprendre des phénols (chavicol, eugénol), des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou méthylène dioxy (myristicine, safrole) (Bakkali *et al.*, 2008). La structure de quelques molécules est représentée dans la Figure I.4.

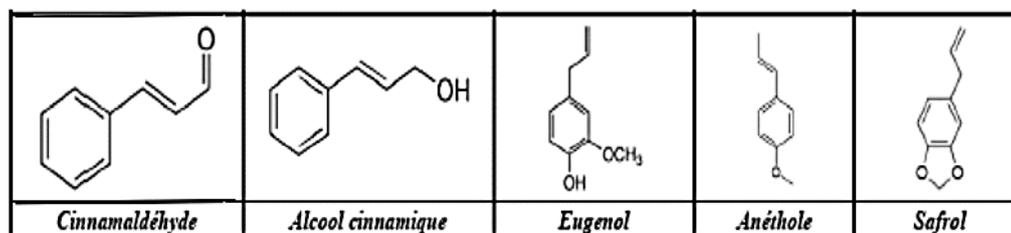


Figure I.4. Structure de quelques composés aromatiques C₆-C₃ caractéristiques des huiles essentielles (Bruneton, 1999)

Il est cependant possible de rencontrer des composés C₆-C₁, comme la vanilline (assez fréquente) et l'antranilate de méthyle (Fig.I.5), ainsi que des lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines, par exemple) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaient par la vapeur d'eau (Bruneton, 1999).

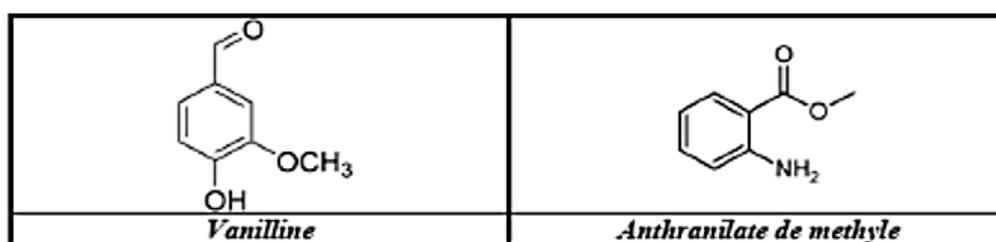


Figure I.5. Exemples de composés aromatiques C₆-C₁ rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999).

I.3.8. Notion de chémotype ou chimiotype de la plante

La notion de chémotype (ou chimiotype ou race chimique) désigne une entité chimique distincte au sein d'une même espèce. Le chémotype est la signature de l'HE et le principe actif que l'on recherche pour ses effets thérapeutiques (Franchomme, 2003). C'est une forme de classification chimique, biologique et botanique désignant la molécule majoritairement présente dans une HE. Cette classification dépend des facteurs liés directement aux conditions de vie spécifique de la plante, à savoir, le pays, le climat, le sol et la période de récolte qui peuvent influencer la composition de l'HE. Cette variation chimique existe chez certaines espèces comme : *Thymus vulgaris*, *Romarin officinalis* et *Eucalyptus* sp. On parle alors d'une huile essentielle chémotypée (Zhiri & Baudoux, 2005).

Le chemotype permet ainsi de différencier entre les HEs extraites d'une même espèce botanique mais de composition biochimique différente et par conséquent aux propriétés différentes. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents

présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

I.3.9. Facteurs influençant la composition chimique

Etant formées de mélanges généralement complexes, les HEs présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent des HEs peuvent être très différentes (Garnéro, 1991; Bruneton, 1999). Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante (Morin & Richard, 1985).

I.3.9.1. Facteurs intrinsèques

Une HE doit avant toute autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal (Barry, 2001). L'influence du stade végétatif (Garnéro, 1991 ; Bruneton, 1999), l'organe de la plante (Maffei & Sacco, 1987 ; Barry, 2001 ; Choudhury *et al.*, 1998), les hybridations, les facteurs de mutation, la polyploïdie (Garnéro, 1991) et le polymorphisme chimique «chimiotypes» (Garnéro, 1991; Anton & Lobstein, 2005; Belyagoubi, 2006) sont les principaux facteurs intrinsèques qui influencent la composition et le rendement des huiles essentielles.

I.3.9.2. Facteurs extrinsèques

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle :

☞ La température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée (Bruneton, 1999 ; Olle & Bender, 2010).

☞ Plusieurs travaux ont mis en évidence l'influence de l'origine géographique sur la composition et le rendement des huiles essentielles (Barry, 2001; Marzoukia *et al.*, 2009).

☞ Les conditions de culture telles que la date de semis, la date de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récolte influencent aussi la composition et le rendement en huiles essentielles (Barry, 2001; Lahlou, 2004; Stefanini *et al.*, 2006; Aprotosoiaie *et al.*, 2010).

- ☞ Les facteurs édaphiques: les propriétés physiques du sol (porosité, rétention d'eau...), la nature (argileuse, sablonneuse..), la composition (teneur en azote, terrains calcaires, siliceux...) etc., sont des facteurs déterminants pour l'huile essentielle (Guignard, 1983).
- ☞ Le prétraitement du matériel végétal: le séchage, les conditions de conservation ont également une influence sur la composition de l'huile essentielle (Abdoul, 2002).
- ☞ La méthode d'extraction (Bruneton, 1999; Abramson *et al.*, 2007; Silano & Delbò, 2008) et l'état du matériel végétal (Pinto *et al.*, 2006; Hettiarachichi, 2008) influent aussi la composition et le rendement des huiles essentielles.
- ☞ Il est à signaler que le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles (Besombes, 2008).

I.3.10. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les principales méthodes d'extraction des HEs couramment utilisées sont :

I.3.10.1. La distillation

Il s'agit de la technique d'extraction des huiles essentielles utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau. Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe : l'hydrodistillation, l'hydrodiffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau (Mann, 1987).

L'Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Elle consiste à porter un mélange (eau - produit naturel), à ébullition pour faire « éclater » les cellules végétales qui renferment les composés organiques odorants, puis à condenser les vapeurs qui se dégagent et entraînent avec eux ses composés (huiles essentielles) (Bruneton., 1999). La condensation provoque la séparation du mélange gazeux en deux phases liquides, une supérieure, dite huile essentielles, contenant la majorité des composés odorants et l'autre inférieure, dite eau aromatique, qui n'en contient que très peu de composés odorants (**Fig.I.6**). Le chauffage, prolongé et trop puissant, engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Lucchesi, 2005).

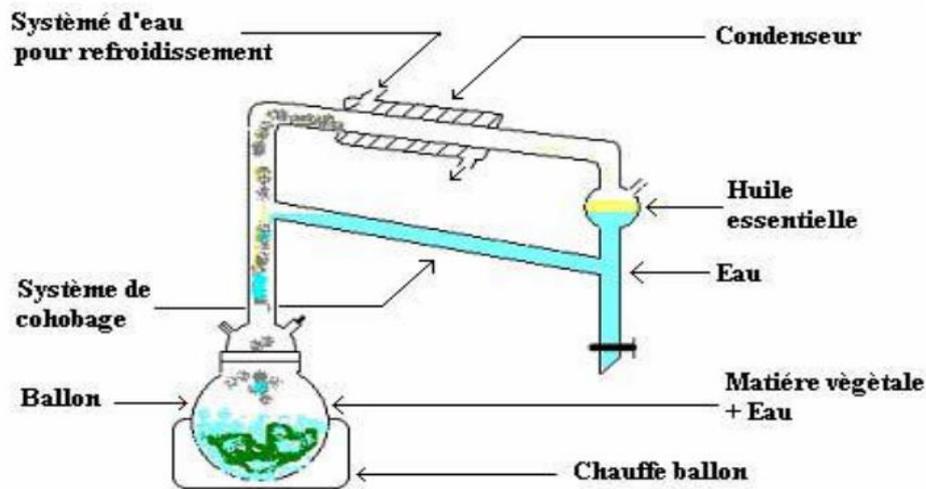


Figure I.6. Montage utilisé pour l'hydrodistillation des huiles essentielles (Hernandez Ochoa, 2005)

L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulvériser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration, qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie (Bassereau *et al.*, 2007).

L'entraînement à la vapeur d'eau

La méthode de distillation à la vapeur (Fig. I.7) est la technique la plus largement appliquée. Fondamentalement, le processus commence par le chauffage de matériel végétal à l'aide de vapeur qui est fournie par un générateur de vapeur. La chaleur est le principal facteur déterminant l'efficacité avec laquelle les structures de la matière végétale se décomposent et éclatent et libèrent les composants aromatiques ou les HEs (Babu & Kaul, 2005). Cette méthode est simple et utilise un équipement peu coûteux, sans produits chimiques dangereux à manipuler (Alitonou *et al.*, 2004).

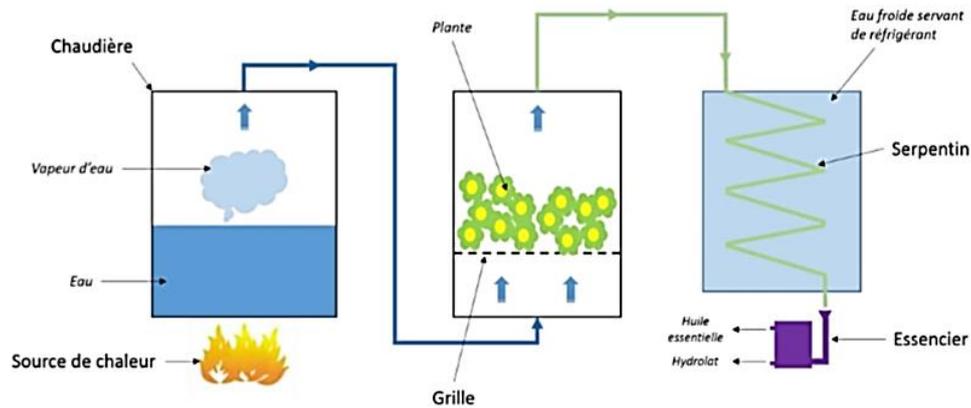


Figure I.7. Montage de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Lucchesi, 2005)

I.3.10.2. Extraction aux solvants organiques

Des solvants ordinaires comme l'acétone, l'éther de pétrole, l'hexane, le méthanol ou l'éthanol ont été mis en œuvre par cette technique pour extraire des matériaux fragiles ou délicats qui ne peuvent pas être extraits à l'aide de la chaleur ou de la vapeur fournie (Tongnuanchan & Benjakul, 2014). En général, les échantillons de plantes sont mélangés avec des solvants à extraire en chauffant légèrement le mélange, et le processus est suivi d'une filtration et d'une évaporation des solvants. Par rapport à d'autres méthodes, cette méthode est plus compliquée pour l'extraction des HEs, et par conséquent, elle prend du temps et elle est plus coûteuse (Li *et al.*, 2009).

I.3.10.3. Extraction au CO₂ supercritique

Il s'agit de procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétale utilisant le gaz carbonique. Cette technique met à profit une propriété originale du CO₂ qui, au-delà du point critique (pression de 73,8 bars et température de 31,1°C), se trouve dans un état intermédiaire entre le liquide et le gaz lui conférant un important pouvoir d'extraction des molécules aromatiques (diffuse comme un gaz à travers le végétal et il solubilise les HEs par son état physique). Le principe général de la méthode est le suivant : Le CO₂, porté aux conditions de température et de pression souhaitées, chemine au travers de la matière première végétale dont elle tire et volatilise les molécules aromatiques. Le mélange passe ensuite dans un séparateur, où le CO₂ est détendu et se vaporise. Il est soit éliminé, soit recyclé. L'extrait se condense et est récupéré (Fernandez & Chemat, 2012).

I.3.10.4. Extraction par ultrasons

Les micro-cavitations, générées par ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines celluloses. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation, des constituants des HEs. L'extraction par les ultrasons est une technique de choix, pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition. 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 (Lagunez- Rivera, 2006).

I.3.10.5. Extraction par Micro-ondes

Le processus utilise des micro-ondes pour exciter les molécules d'eau dans les tissus végétaux, provoquant la rupture des cellules et la libération des HEs emprisonnées dans le tissu extracellulaire des plantes (Belanger *et al.*, 1995). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (France-Ida, 1996). Cette technique (Fig.I.8) ne nécessite pas l'utilisation de solvants chimiques. Elle est économe en énergie, en temps et en investissement. La qualité de l'huile essentielle étant préservée, cela en fait une bonne alternative aux méthodes classiques (Bruneton, 1999 ; Lucchesi *et al.*, 2004).

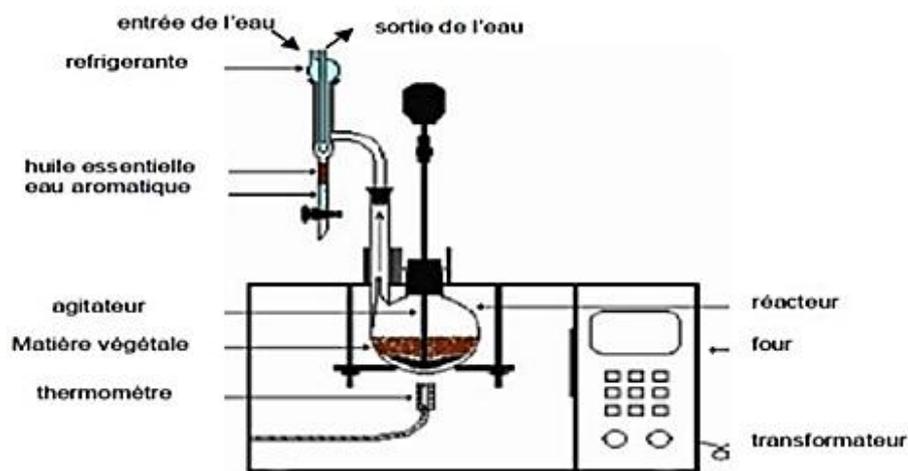


Figure I.8. Principe schématisé de l'extraction des HEs par micro-ondes (Lagunez-Rivera, 2006)

I.3.10.6. Expression à froid

Cette technique est utilisée industriellement pour extraire les HEs des agrumes de la famille des Rutacées (citron, orange, mandarine, etc.). C'est une méthode assez simple qui consiste à briser mécaniquement (abrasion, compression, incision, perforation, ...) les poches à essence (souvent au niveau de l'écorce ou péricarpe du fruit) pour recueillir un mélange d'essences odorantes et d'eau. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation (Richard, 1992).

I.3.11. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles reste une étape indispensable qui, malgré les développements croissants des méthodes analytiques de séparation et d'identification, demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de plusieurs techniques.

L'analyse des huiles essentielles est généralement réalisée par chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie en phase gazeuse –spectrométrie de masse (Keravis, 1997).

I.3.11.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique très répandue. Elle possède plusieurs avantages : sensibilité, polyvalence, rapidité de mise au point des analyses, ce qui augmentent plus son intérêt (Wong *et al.*, 2006). La technique a été perfectionnée et permet maintenant de séparer les constituants des mélanges très complexes contenant jusqu'à 200 composés (Reid *et al.*, 2005).

L'instrument de chromatographie en phase gazeuse vaporise l'échantillon puis sépare et analyse les divers composants. Chaque composant produit idéalement un pic spécifique. Le temps écoulé entre l'injection et l'évaluation est appelé temps de rétention selon lequel l'identification de la molécule est réalisée (Hamid *et al.*, 2011).

I.3.11.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (GC/MS)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses

substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM. Ce couplage permet d'obtenir un spectre de masse interprétable pour des quantités de substance qui vont du microgramme au milligramme (Richard *et al.*, 1992).

Le mode d'ionisation par impact électronique IE, permet le bombardement de substances par un faisceau d'électrons d'énergie de l'ordre de 70eV, provoquant leur ionisation et leur fragmentation. Les fragments ioniques positifs forment alors le spectre de masse caractéristique du composé. Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés avec ceux des produits de référence obtenus dans des bibliothèques informatisées commerciales telles que : Nist Mass Spectral Library (National Institute of Standards and Technology 1999) et Wiley Registry of Mass Spectral Data (Lafferty & Stauffer, 1994).

I.3.12. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont utilisées en phytothérapie à cause de leurs nombreuses propriétés biologiques qui sont étroitement liées à la nature de leurs constituants et aux groupements ou fonctions chimiques qu'elles possèdent.

I.3.12.1. Activité antibactérienne

Il a été démontré que les HEs peuvent agir comme agents antibactériens contre de nombreuses souches bactériennes pathogènes comme *Listeria monocytogenes*, *Linnocua*, *Salmonella typhimurium* (Schmidt *et al.*, 2005). Ces huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à gram positif que sur les bactéries à gram négatif. Toutefois les bactéries à gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (Burt, 2004).

Les HEs de thym et d'origan présentent une inhibition de certaines souche bactériennes telles que *E.coli*, *Salmonella choleraesuis* et *Salmonella typhimurium* (Penalver *et al.*, 2005), où l'inhibition est directement liée aux composants phénoliques du carvacrol et du thymol. La présence d'un groupe hydroxyle phénolique, dans le carvacrol est à l'origine de son activité contre des agents pathogènes comme *Bacillus cereus* (Ultee *et al.*, 1999).

I.3.12.1. Activité antifongique

Les huiles essentielles agissent négativement contre le développement des champignons, en diminuant leur croissance. L'activité antifongique des HEs a fait l'objet de plusieurs études scientifiques *in vitro*, depuis plusieurs années. De nombreuses huiles

essentielles, incluant les huiles essentielles du thym, de la citronnelle, de la cannelle et de l'arbre à thé présentent des activités antifongiques (Burt, 2004). La croissance d'*Aspergillus parasiticus* et la production d'aflatoxines ont été inhibées par les HEs de *Thymus vulgaris* et *Citrus aurantifolia*. De même les huiles essentielles de *Menthaspicata*, *Foeniculum miller*, et *Artemisia dracunculus* inhibent la croissance fongique (Davidson & Naidu, 2000).

Le carvacrol et le thymol se sont révélés efficaces contre les champignons d'origine alimentaire, notamment l'*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, et *Aspergillus parasiticus* (Razzaghi-Abyaneh *et al.*, 2009). Le thymol, l'aldéhyde cinnamique et l'eugénol extraits des huiles de clou de girofle et de cannelle ont également montré des propriétés antifongiques (Davidson & Naidu, 2000).

Il a été démontré que l'activité antifongique augmente selon le type de fonction chimique : Phénols> Alcools> Aldéhydes> Cétones> Ethers> Hydrocarbures. Parmi les aldéhydes, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actifs (Yen & Chang, 2008).

I.3.12.3. Activité anti-oxydante

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs. Les résultats déjà publiés montrent que les huiles essentielles constituent une bonne source d'antioxydants naturels recherchés pour leur innocuité relative (Burits & Bucar, 2000 ; Candan *et al.*, 2003; Tepe *et al.*, 2005). Plusieurs travaux ont mis en évidence l'activité anti-oxidante des huiles essentielles (Mantle *et al.*, 1998 ; Karioti *et al.*, 2006 ; Dib *et al.*, 2017 ; Sudipta *et al.*, 2017). Certains travaux ont démontré que certains constituants des huiles essentielles présentent un pouvoir antioxydant très marqué et sont aujourd'hui commercialisés : c'est le cas de l'eugénol (Barelay *et al.*, 2006 ; Ogata *et al.*, 2006), le thymol (Luna *et al.*, 2017 ; Razavi *et al.*, 2017) et le carvacrol (Baranauskaite *et al.*, 2017 ; Zareiyan *et al.*, 2017). s

I.3.12.4. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est connue pour être associées à certaines maladies, notamment l'hypertension, le cancer et les accidents vasculaires cérébraux (Schmid-Scheonbein, 2006). Il a été démontré que les HEs possèdent une puissante activité anti-inflammatoire. Plusieurs études ont, par exemple, mis en évidence l'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* (Koh *et al.*, 2002; Caldefie-Chézet *et al.*, 2004; Caldefie-Chézet *et al.*, 2006) et de son composé principal, l' α -terpinéol (Hart *et al.*, 2000). Un autre exemple,

l'huile essentielle de géranium (Maruyama *et al.*, 2005) ainsi que le linalol et son acétate (Paena *et al.*, 2002) ont montré une activité anti-inflammatoire sur des œdèmes de pattes de souris induits par le carraghénane.

I.3.12.5. Activité anti-tumorale

Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers (Edris, 2007) comme l'huile essentielle des graines de *Nigella sativa* (Ait Mbarek *et al.*, 2007, Vaiyapuri *et al.*, 2016), l'huile essentielle des rhizome de Curcuma (Hongping *et al.*, 2017), et celle d'*Allium sativum* (Srivastava *et al.*, 1995; Singh & Singh, 2008).

I.3.12.6. Activité insecticide

Il a été démontré que la protection des végétaux peut se faire avec certaines essences naturelles. Une dizaine d'huiles essentielles ont été reporté comme ayant des activités insecticide ou insectifuge sur les moustiques et autres insectes (Ayvaz *et al.*, 2010; Sharon *et al.*, 2014 ; Jun-Hung & Murray, 2015; Castillo *et al.*, 2017).

I.4. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances puissantes et très actives, elles représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Néanmoins, il est important de souligner que l'automédication fréquente et abusive surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe par les essences est nocive. Elle engendre des effets secondaires plus ou moins néfastes dans l'organisme (allergies, coma, épilepsie, etc...) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques) (Degryse *et al.*, 2008).

Certains travaux ont mis en évidence l'effet irritant qui provient des huiles essentielles riches en thymol ou en carvacrole, l'effet allergène provenant des huiles essentielles riches en cinnamaldéhyde (Smith *et al.*, 2000) et l'effet phototoxique résultant des huiles essentielles contenant des furocoumarine (Naganuma *et al.*, 1985).

I.5. Aperçu sur la famille Astéracées

Le nom Astéracées vient du mot grec Aster qui signifie étoile en relation avec la forme de la fleur (Crete, 1965). La famille des Astéracées est la plus vaste, la plus diversifiée des familles de plantes à fleurs. Elle comprend en effet entre 1600 et 1700 genres et de 24000

à 30000 espèces décrites (Funk *et al.*, 2005). En Algérie, cette famille regroupe 408 espèces réparties sur 109 genres (Quezel & Santa, 1963).

Les représentants de cette famille, sont rencontrés dans le monde entier, ces dernières sont essentiellement des plantes herbacées ou vivaces et ont les caractéristiques communes suivantes :

- Des feuilles alternes.
- Des inflorescences en capitule constituées d'un réceptacle sur lequel sont insérées de la base au sommet des bractées vertes stériles.
- Des bractées colorées fertiles axillant chacune une fleur.
- La fleur est petite, possédant un calice très réduit représenté par un bourrelet annulaire, une corolle en tube, un androcée soudé et un gynécée constitué d'un ovaire uniloculaire formé par la soudure de deux carpelles (Guigniard, 2001).

La famille des Astéracées est d'une grande importance tant pour son utilisation en industrie alimentaire qu'en thérapeutique (Bruneton, 1999). Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la chicorée, la camomille, *etc.*) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, *etc.*) (Singh, 2004). De nombreuses espèces sont utilisées en médecine traditionnelle. Il a été rapporté que les fleurs et les feuilles de certaines plantes de cette famille, tels que le Semencontra (*Artemisia cina* Berge), l'Arnica (*Arnica montana* L.), la Chamomille (*Matricaria chamomilla* L. et *Anthemis nobilis* L.), le pied de chat (*Antenaria dioica* gartn) possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires (Matsuda *et al.*, 2002).

1.6. *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmans. & Link

Le genre *Otanthus*, appartenant à la famille des Astéracées est représenté par une seule espèce : *Otanthus maritimus*, espèce pousante dans les sables maritimes, principalement dans la région méditerranéenne (Aly *et al.*, 2009).

1.6.1. Synonymes et noms communs

Achillea maritima (L.) et *Diotis maritimus* (L.).

Diotis cotonneux, Diotis blanc, Achillée maritime, Santoline maritime, Santoline-cyprès (sa forte odeur amère et sucrée expliquant son appellation de santoline)

I.6.2. Description botanique

O. maritimus (Fig. I.9) est une plante herbacée vivace, fortement aromatique, cotonneuse et blanche dans toutes ces parties, en touffes serrées. Tiges dressées ou ascendantes simples ou rameuses, de 20-40 cm, épaisses, simples ou rameuses. Les feuilles sont de 5–17 mm, oblongues, entières ou dentés, charnues et sessiles. Capitules jaunes, gros comme un gros pois, disposés en corymbes simples ou composés, terminaux (Quezel & Santa, 1963 ; Tutin, 1976).

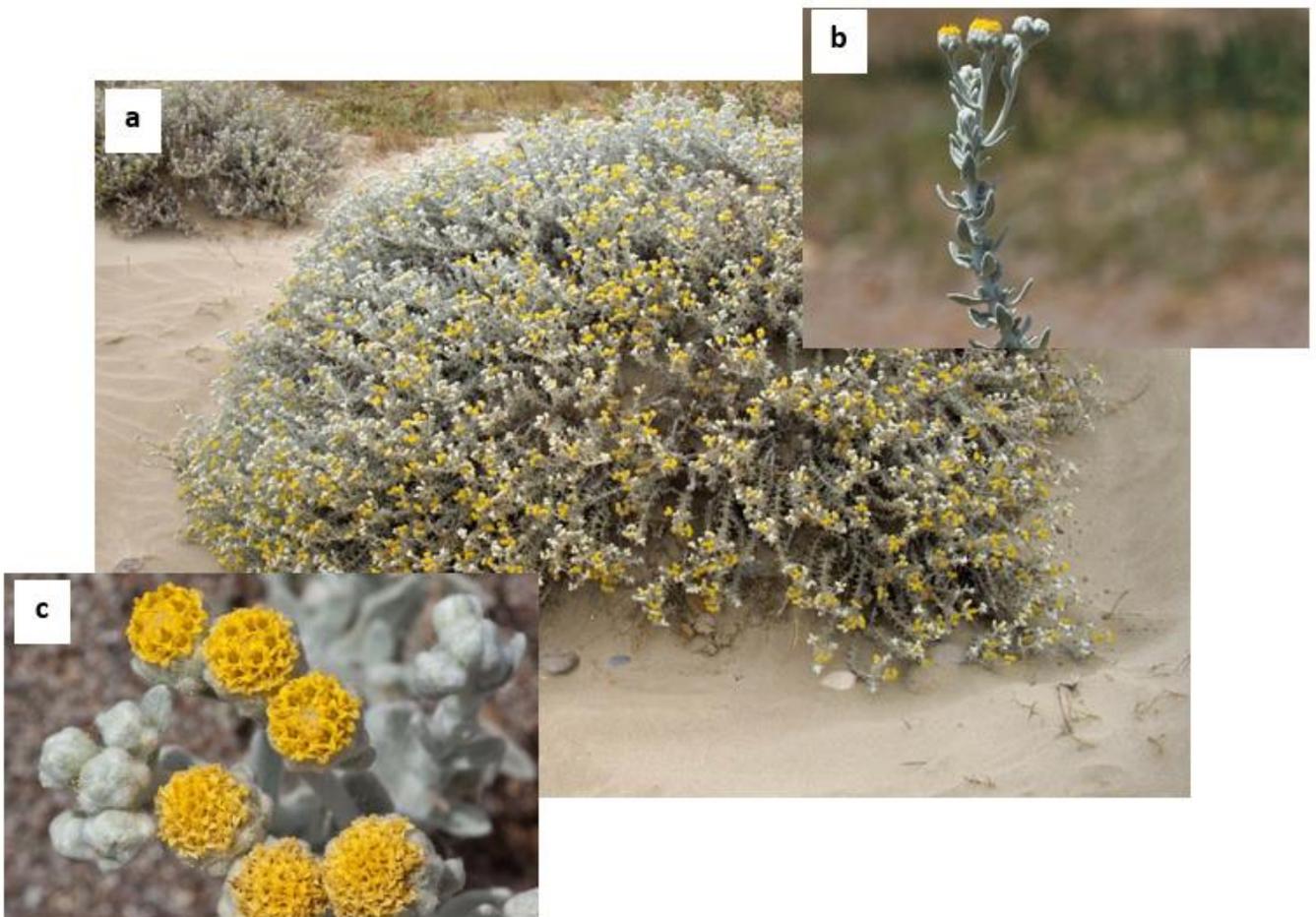


Figure I.9. *Othanthus maritimus* (tilo-botanica.eu, wikipedia.org)

a) Aspect général, b) Rameau feuilles/fleurs, c) fleurs

I.6.3. Position systématique

D'après Quezel et Santha (1963), la systématique d'*Otanthus maritimus* est la suivante :

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes (Magnoliophyta)

Classe : Dicotylédones (Magnoliopsida)

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Sous famille : Asteroideae

Tribu : Anthemideae

Genre : *Otanthus*

Espèce: *Othantus maritimus* (L.) Hoffmans. & Link

1.6.4. Usage en médecine traditionnelle

O. maritimus a été traditionnellement utilisée dans les décoctions comme toniques, dyspeptiques, pour le traitement de maux de dents, bronchite asthmatique, dysenterie et inflammation de la vessie urinaire (Reutter, 1923; Jakupovic *et al.*, 1988; Thanos *et al.*, 1991; Tsoukatou *et al.*, 2000). Les spécimens secs d' *O. Maritimus* ont été traditionnellement utilisés à la fois comme décoration et comme moyen de repousser les insectes volants dans les foyers (Christodouloupoulou *et al.*, 2005).

1.6.7. Travaux antérieurs

Plusieurs travaux ont rapporté l'identification de divers composés, isolés des extraits de la partie aérienne d'*Othantus maritimus*, comme les flavonoïdes (Khafagy *et al.*, 1979 ; El Sayed *et al.*, 1992), les sesquiterpènes lactones et les monoterpènes oxygénés (Jakupovic *et al.*, 1988 ; Sabri *et al.*, 1983; De Pascual *et al.*, 1979).

A notre connaissance, et suite à la recherche bibliographique effectuée lors de cette étude, il n'existe que cinq références concernant la composition chimique de l'huile essentielle extraite de la partie aérienne d'*O. maritimus* (Tsoukatou *et al.*, 2000; Muselli *et al.*, 2007; Roméo *et al.*, 2007; Basile *et al.*, 2013; Cabral *et al.*, 2013), alors qu'*O. maritimus* d'origine Algérienne n'a jamais fait l'objet d'aucune publication phytochimique.

Chapitre II

Matériel et Méthodes

Les travaux d'expérimentation de ce mémoire ont été réalisés aux seins du laboratoire pédagogique d'immunologie du département de Biologie, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara de Boumerdes. Les injections pour les analyses des HEs par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ont été réalisées au laboratoire Biotechnologies Végétales appliquées aux plantes Aromatiques et Médicinales, Faculté des Sciences et Techniques, Université Jean Monnet de Saint Etienne, France.

II.1. Matériel végétal

Les fleurs et les feuilles d'*Otanthus maritimus* ont été collectées en mois de juin 2019, à partir d'une population sauvage sur les dunes de la plage de Zemmouri, W. de Boumerdès (36° 48' 43" N, 3° 36' 20" E, 2 m d'altitude, 60 km d'Alger) (Fig II.1).

L'authentification botanique de l'espèce a été réalisée à l'herbier national du Département de botanique, à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie (ENSA), d'Alger, où des spécimens ont été déposés. L'identité de l'espèce a été également confirmée selon les clés botaniques dans la "Flore de l'Algérie" (Quezel & Santa, 1963).

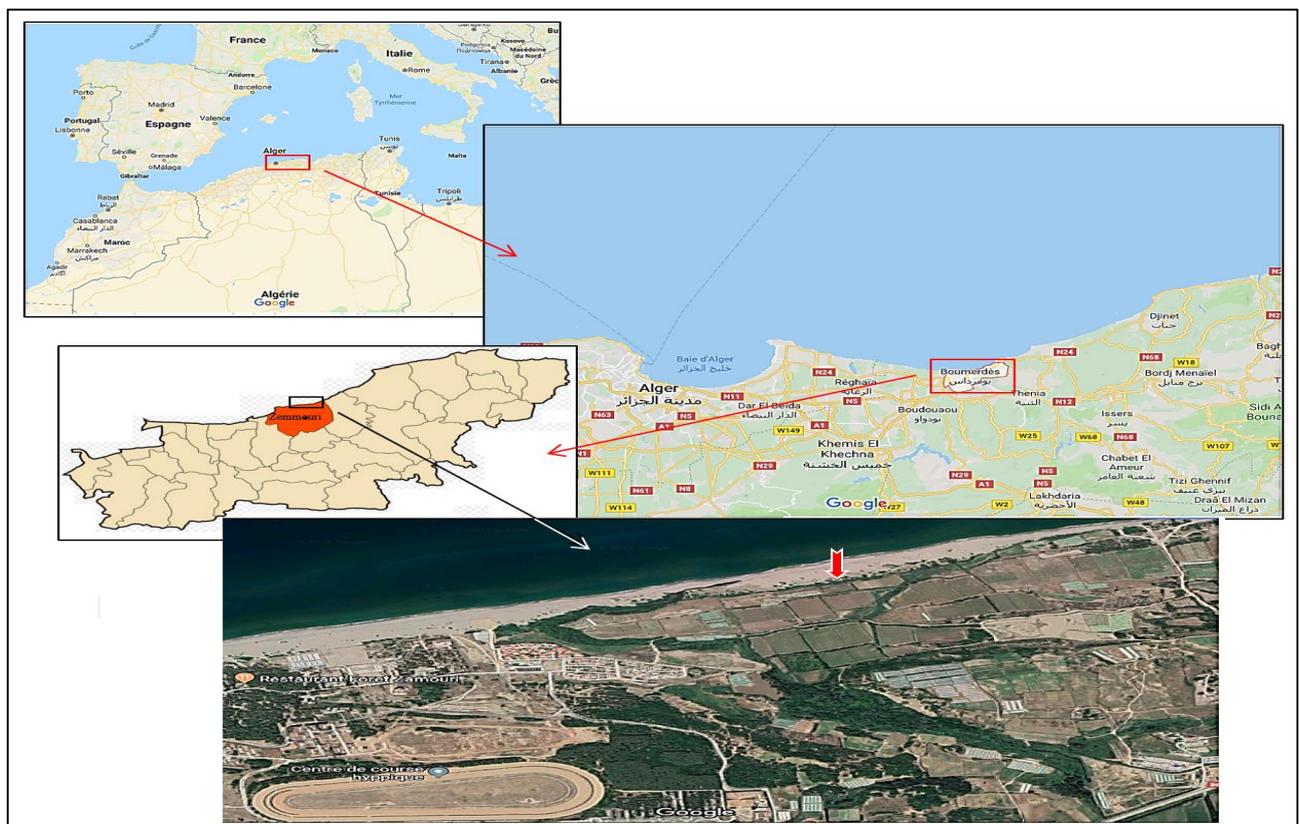


Figure II.1. Site géographique (flèche rouge) de la récolte d'*O. maritimus* utilisée dans cette étude (Google map)

II.2. Extraction des huiles essentielles

Le matériel végétal (feuilles et fleurs) d'*O. maritimus* utilisé pour l'extraction des huiles essentielles a été séché (Fig. II.2) à l'ombre à température ambiante dans un endroit aéré, puis rendu en poudre par broyeur.



Figure II.2. Fleurs d'*Otanthus maritimus* séchées au laboratoire

II.2.1. Hydrodistillation

Dans le montage à hydrodistillation (type Clevenger, Fig.II.3), utilisé à l'échelle du laboratoire sous pression atmosphérique, une quantité de 25 g du matériel végétal est déposée dans un ballon à demi rempli d'eau distillée (400 ml), relié à un système de réfrigération et récupération Clevenger. Le mélange eau distillée/plante est porté à ébullition par un chauffe-ballon pour générer une vapeur d'eau saturée en huile volatile. Le réfrigérant sert à condenser la vapeur en hydrolat et l'extraction débute lorsque les premières gouttes tombent dans le collecteur et se poursuit pendant 3 heures. L'HE se concentre en formant une phase superficielle qui est ensuite récupérée directement par le robinet situé à la base du Clevenger dans des piluliers. L'HE obtenue est pesée et conservée à 4°C avant d'être analysée.

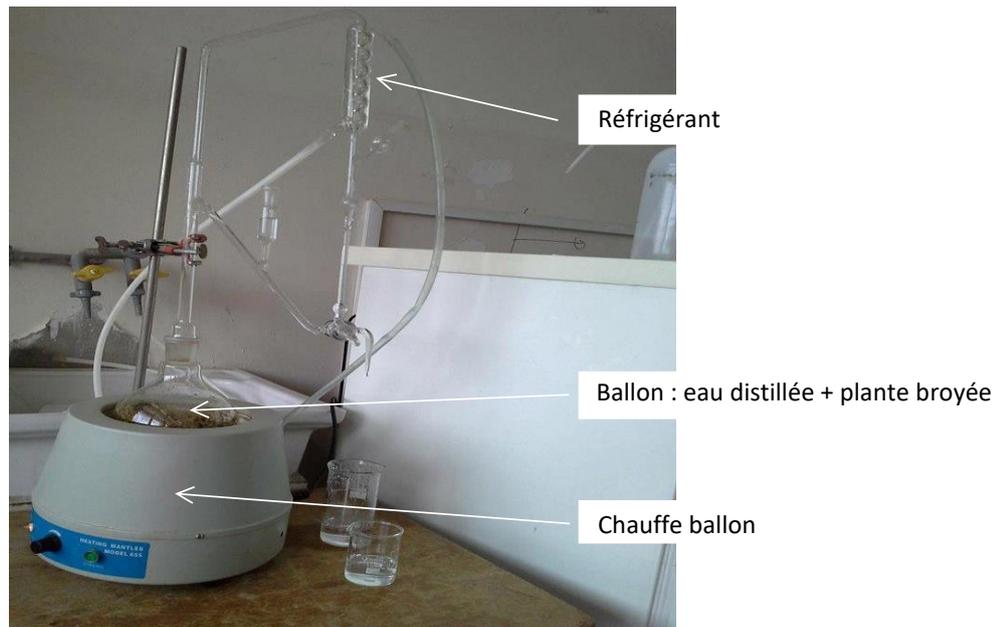


Figure II.3. Montage Clevenger d'hydrodistillation

II.3. Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement (Rdt) des extractions des HEs d'*O. maritimus* a été défini comme étant le rapport entre la masse de l'HE obtenue et la masse de matière végétale utilisée selon la formule suivante :

$$Rdt_{HE} = [M/M_0] \times 100$$

Où :

Rdt_{HE} : rendement de l'extraction de l'HE en % ;

M : masse de l'HE en gramme ;

M₀ : masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

II.4. Analyse des huiles essentielles d'*O. maritimus* par chromatographie gazeuse

II.4.1. Analyse des huiles essentielles par couplage chromatographie gazeuse/ spectrophotométrie de masse

Les spectres de masses des composés volatils des HEs ont été obtenus sur un spectromètre de masse à quadripôle et ionisation par bombardement électronique Agilent couplé à un chromatographe Agilent doté d'un injecteur automatique. Les informations concernant le type de colonne, le détecteur et les réglages du GC/MS sont résumées dans le tableau II.1 suivant.

Tableau II.1. Conditions opératoires GC/MS utilisées pour l'analyse des HEs d'*O. maritimus*

Composant	Particularité et température
GC	
Agilent HP	6850
Injecteur	250 °C
Volume injecté	2 µl dans l'hexane
Mode	Splitless
Gaz vecteur	Hélium, 1 ml/min.
Colonne	Capillaire, DB-5
Dimension de la colonne	30 m, 0.25 mm, 0.25 µm
Gradient	60 → 3 °C/min → 245 °C (4 min)
MS	
Agilent HP	5973
Ionisation	Impact électronique à 70 eV
Balayage automatique	25-350 amu à 2.4 scan/s
Source d'ion	230 °C
MS, quadrupole	150 °C

II.4.2. Identification des composés volatils

L'identification des composés volatils a été faite par GC/MS. Le nom d'une molécule a été trouvé en comparant les spectres de masse obtenus à la base de données électronique WILEY275, ainsi qu'avec la base de données papier Adams (2007) en parallèle avec l'utilisation des indices de rétention (IR). Ces IRs sont calculés en utilisant les temps de rétention (TR) des alcanes d'un mélange de n-alcanes (C8 - C40, Fluka) analysé dans les mêmes conditions chromatographiques (van Den Dool & Kratz, 1963) selon l'équation suivante :

$$IR = 100 \times Z + 100 \times n [(tRS - tRZ)/(tR(Z+n) - tRZ)]$$

Où :

tRS : temps de rétention absolu du soluté étudié ;

tRZ : temps de rétention absolu de l'alcane à Z atomes de carbone qui précède le soluté;

tR(Z+n) : temps de rétention absolu de l'alcane à (Z+n) atomes de carbone qui suit le soluté ;

n : différence du nombre d'atome de carbone entre les deux alcanes (généralement n=1)

II.4.3. Quantification des composés volatils

Les pourcentages relatifs des composés volatils séparés ont été calculés à partir de données des aires des pics en GC/MS générées par une intégration électronique.

II.5. Analyse statistique cluster hiérarchique

L'analyse typologique (distance euclidienne de Pearson) pour mettre en évidence l'existence d'une éventuelle variation chémotypique, a été réalisée avec le logiciel IBM SPSS Statistics version 27.0 (IBM[®], Illinois, USA) sur les données quantitatives (composition en pourcentage déterminé par GC/MS) de tous les constituants des HEs de 11 échantillons issues de 8 populations méditerranéens d'*O. maritimus*.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III.1. Caractérisation phytochimique des huiles essentielles d'*O. maritimus*

III.1.1. Résultats

III.1.1.1. Caractéristiques organoleptiques et rendements des huiles essentielles

Les extractions par hydrodistillation (appareil Clévenger) ont fournis des HEs ayant une coloration bleu violacée foncée, une très forte et persistante odeur caractéristique de la plante avec un aspect liquide à viscosité faible pour les deux parties (Feuilles et fleurs).

L'extraction a été faite plusieurs fois par hydrodistillation-Clevenger sous les mêmes conditions opératoires. Dans toutes les hydrodistillations réalisées pendant trois heures, il est apparu que la quantité de l'HE obtenue était élevée au bout de la 1^{ère} heure et se diminuait durant le reste de l'opération.

Les rendements en HE de ces extractions sont de l'ordre de $0.13 \pm 0.04\%$ et $0.47 \pm 0.07\%$ (m/m, poids sec) pour les feuilles et les fleurs, respectivement. Ces valeurs représentent les moyennes des rendements d'extraction obtenus sur plusieurs extractions indépendantes à travers les deux organes.

III.1.1.2. Etude phytochimiques des huiles essentielles d'*O. maritimus*

Les analyses par GC/MS entreprises ici ont eu pour but d'identifier et reconnaître la composition phytochimique et surtout la classe chimotypique des HEs des feuilles et des fleurs d'*O. maritimus* sauvage Algérienne et la détection d'éventuelle variabilité entre les HEs de ses deux organes. Il est à noter que, selon notre recherche bibliographique minutieuse les HEs de cette espèce d'origine Algérienne n'ont jamais fait l'objet d'aucune publication scientifique auparavant.

Les HEs des feuilles et des fleurs d'*O. maritimus* ont été extraites, puis soumises à des analyses chromatographiques/spectrales détaillées par couplage GC/MS. La figure III.1 représente les chromatogrammes ioniques totaux des HEs étudiées. L'identification des constituants a été réalisée par l'utilisation des indices de rétention (IR) sur la colonne apolaire DB-5, par l'analyse des spectres de masse des composés constitutifs et par la comparaison de ces données à celles de la base de données électroniques, WILEY275, et les bases papiers Adams (2007) et autres. Les constituants identifiés sont listés dans le tableau III.1 selon leur ordre d'élution sur la colonne apolaire DB-5. Leurs indices de rétention et leurs pourcentages relatifs sont également répertoriés dans ce tableau (Tab.III.1).

Ces analyses chimiques par GC/MS ont conduit à l'identification globale de 40 constituants : 28 chez l'HE des feuilles et 27 chez l'HE des fleurs. Ces composés détectés et

identifiés ont des aires cumulées qui correspondent à un total d'identification de 82.2 % pour l'HE des feuilles et 94.6% pour l'HE des fleurs, (Tab. III.1). Parmi les 40 composés identifiés dans les deux HEs, 15 composés sont détectés simultanément entre les deux HEs étudiées (Tab. III.1). 13 composés (nonyl aldehyde, siliphinene, modhephene, β -isocomene, β -caryophyllene, α -humulene, germacrene-D, silphiperfol-5-en-3-ol A, germacrene-B, caryophyllene oxide, β -biotol, myristic acid, hexahydrofarnesyl acetone) sont présents uniquement dans l'HE des feuilles et 11 autres composés (santolina triene, camphene, filifolone, *trans*-carveol, carvone, neryl formate, β -sesquiphellandrene, (E)-dihydroapofarnesol, guaiol, isolongifolan-7- α -ol, α -oxobisabolene) sont présents uniquement dans l'HE des fleurs (Tab. III.1).

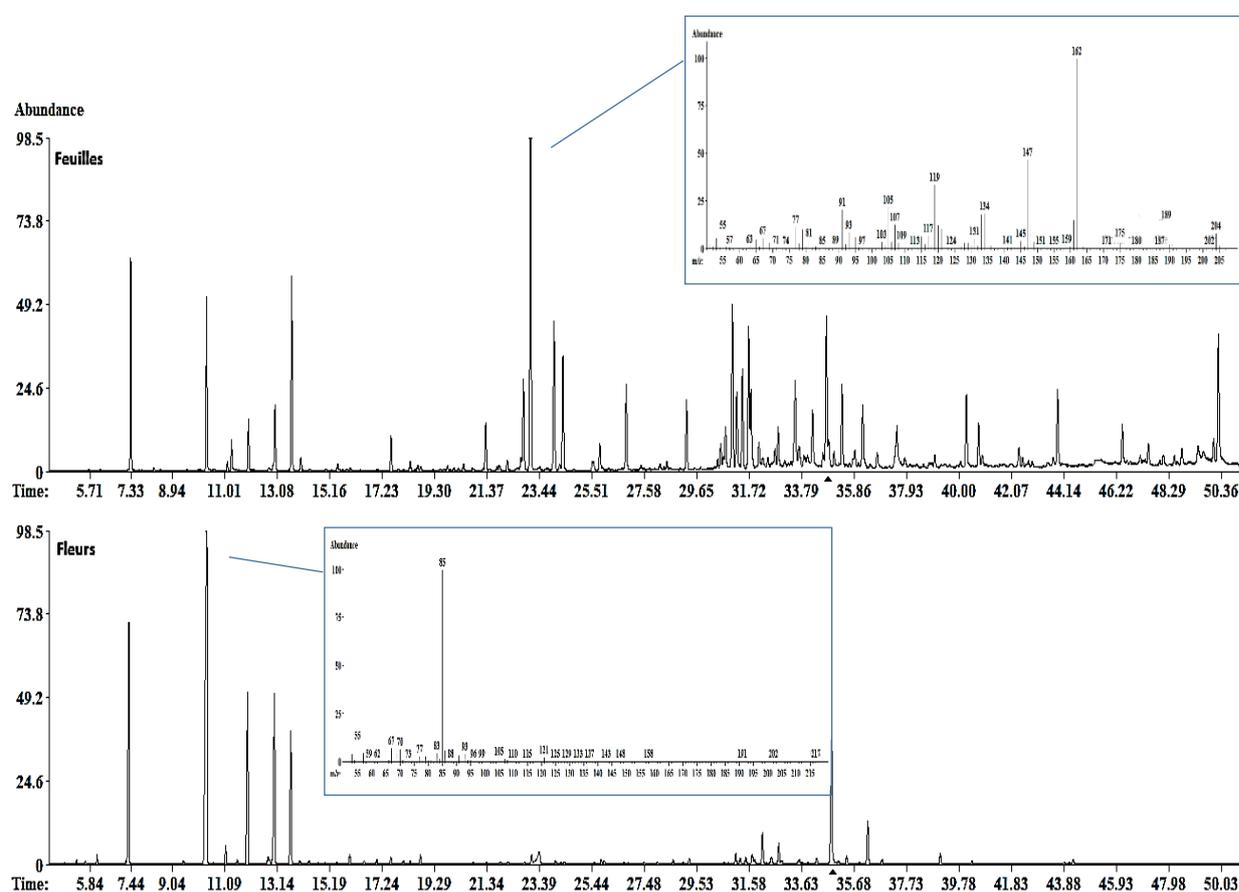


Figure III.1. Chromatogrammes ioniques totaux (GC/MS) des huiles essentielles des feuilles et des fleurs d'*Otanthus maritimus* Algérienne

L'encadrement à droite représente le spectre de masse du constituant majoritaire, α -isocomene et artemisia alcohol de l'HE des feuilles et des fleurs, respectivement.

Tableau III.1 Composition phytochimique comparative des huiles essentielles des feuilles et des fleurs d'*Otanthus maritimus* Algérienne

Constituant ^a	IRC ^b	IRA ^c	Composition (%)	
			Feuilles	Fleurs
Santolina triene ^d	913	906	-	0.1
Camphene	943	946	-	0.4
Yomogi alcohol^d	986	999	4.3	13.2
Artemisia alcohol^d	1071	1080	4.3	30.5
Filifolone ^d	1093	1103 ¹	-	0.9
Nonyl aldehyde	1098	1100	0.8	-
Chrysanthenone^d	1115	1124	1.4	10.2
Camphor^d	1140	1141	2.3	10.7
Artemisia acetate^d	1155	1169	5.3	7.7
<i>trans</i> -Carveol	1210	1215	-	0.7
Carvone	1235	1239	-	0.3
<i>cis</i> -Chrysanthenyl acetate ^d	1247	1261	1.0	0.4
Neryl formate	1274	1280	-	0.5
Silphinene ^d	1335	1345	1.6	-
Modhephene ^d	1370	1382	3.6	-
α-Isocomene^d	1376	1387	11.2	0.6
β-Isocomene^d	1398	1407	5.1	-
β -Caryophyllene ^d	1407	1417	3.9	-
(<i>Z</i>)- β -Farnesene	1442	1440	-	0.2
α -Humulene ^d	1442	1452	1.0	-
Germacrene-D ^d	1468	1484	2.8	-
β -Sesquiphellandrene	1511	1521	-	0.3
10- <i>epi-cis</i> -Dracunculifoliol	1527	1540	2.2	0.4
Silphiperfol-5-en-3-ol A	1562	1557	0.9	-
Germacrene-B	1567	1559	1.9	-
(<i>E</i>)-Dihydroapofarnesol	1578	1590	-	0.4
Caryophyllene oxide ^d	1578	1582	2.6	-
<i>allo</i> -Cedrol	1584	1589	3.3	0.4
Ledol	1601	1602	0.8	1.9
Guaiol	1610	1600	-	0.5
Isolongifolan-7- α -ol	1618	1618	-	1.2
β -Biotol	1621	1612	1.5	-
β -Eudesmol ^d	1639	1649	3.4	0.3
(<i>Z</i>)- α -Santalol	1658	1674	2.1	0.4
α-<i>epi</i>-Bisabolol	1673	1683	4.3	8.7
(<i>Z,E</i>)- α -Bergamotol	1689	1690	2.9	0.5
Chamazulene ^d	1712	1730	2.7	2.9
α -Oxobisabolene	1728	1740	-	0.3

Tableau III.1. (Suite)

Constituant ^a	IRC ^b	IRA ^c	Composition (%)	
			Feuilles	Fleurs
Myristic acid	1750	1751 ²	2.4	-
Hexahydrofarnesyl acetone	1828	1835 ³	2.6	-
Monoterpènes hydrocarbonés			0	0.5
Monoterpènes oxygénés			19.4	74.2
Sesquiterpènes hydrocarbonés			33.8	4
Sesquiterpènes oxygénés			26.6	15
Autres			2.4	0.9
Total identifié			82.2	94.6

^a) L'ordre d'éluion des constituants et leurs pourcentages sont donnés sur la colonne capillaire apolaire DB-5 ^b) IRC = Indices de rétention calculés sur la colonne apolaire DB-5. ^c) IRA = Indices de rétention reportés par Adams (2007) et autres : ¹Saroglou *et al.*, 2006 ; ²da Silva *et al.*, 1999 ; ³Senatore *et al.*, 2005. ^d) Composants précédemment identifiés dans les huiles essentielles d'*O. maritimus*; toutes les autres ont été identifiées pour la première fois dans les huiles produite dans la présente étude. Les composés et classes majoritaires sont en gras.

Les figures III.2 et III.3 exposent des histogrammes représentant les pourcentages des classes phytochimiques et des constituants majoritaires des deux HEs d'*O. maritimus* ainsi que leurs structures développées pour ces dernières qui représentent des teneur cumulées entre 38.2 et 81.6% de la composition phytochimique globale.

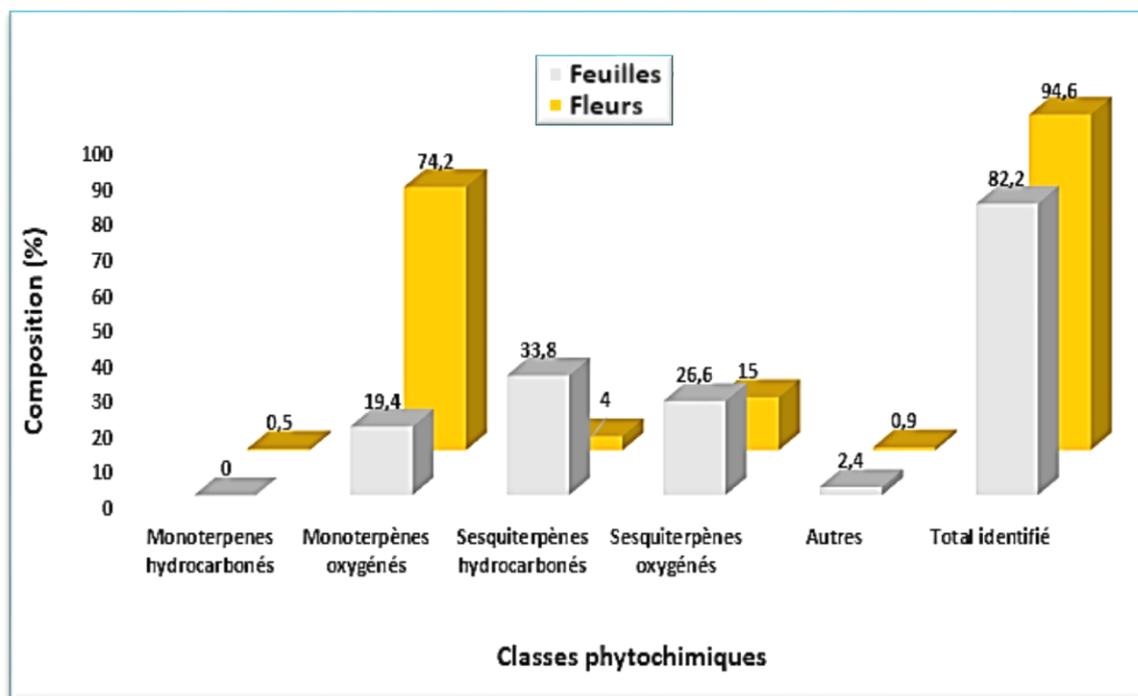


Figure III.2. Teneur (%) des classes phytochimiques et le total identifié des HEs des feuilles et des fleurs d'*Otanthus maritimus*.

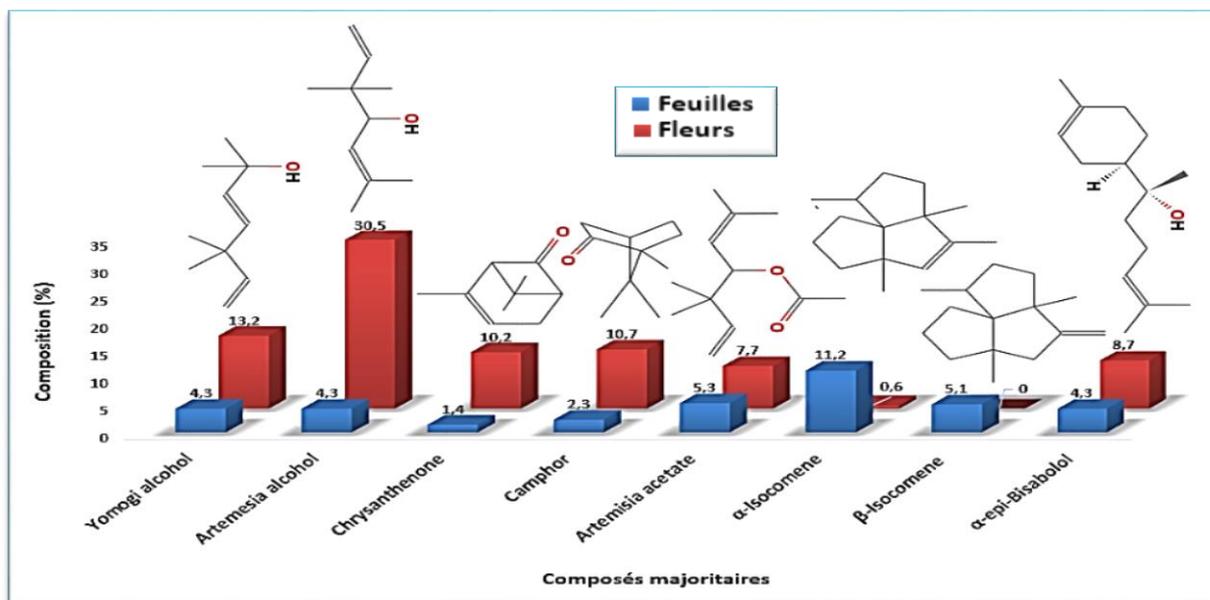


Figure III.3. Teneurs et structures développées des constituants majoritaires des HEs des feuilles et fleurs d'*Otanthus maritimus*

D'après les résultats illustrés dans le Tableau III.1 et sur la Figure III.2, les sesquiterpènes hydrocarbonés (33.8%) suivie par les sesquiterpènes oxygénés (26.6%) et les monoterpènes oxygénés (19.4%) sont les principales classes de composés dans l'HE des feuilles. Alors que, l'HE des fleurs est caractérisée par une teneur élevée de monoterpènes oxygénés (74.2%) suivie par les sesquiterpènes oxygénés (15 %). Généralement, cette dernière HE est une HE très riche en terpènes oxygénés (89.2%).

Dans les HEs de cette espèce, les classes de composés présentes sont : majoritairement les terpènes volatils habituels des HEs (mono- et sesquiterpènes) ainsi que d'autres molécules volatils minoritaires tels que les dérivés d'acides gras. Ces analyses ont montrées la prédominance des sesquiterpènes dans l'HE des feuilles (60.4%) représentés par les volatils suivants : α -isocomene (11.2%), artemisia acetate (5.3%), β -isocomene (5.1%) et α -*epi*-Bisabolol (4.3%) (Tab. III.1, Fig. III.3). Pour les HE des fleurs les analyses GC/MS ont montrées la prédominance du monoterpènes oxygénés (74.2%) représentés par les volatils suivants : artemisia alcohol (30.5%), yomogi alcohol (13.2%), camphor (10.7%), chrysanthenone (10.2%) et artemisia acetate (7.7%) (Tab. III.1, Fig. III.3). En plus, ces deux HEs des feuilles et fleurs sont caractérisées respectivement par des teneurs élevés en monoterpènes oxygénés (19.4%) représentés par yomogi alcohol (4.3%) et artemisia alcohol (4.3%) et en sesquiterpène oxygénés (15%) représentés par α -*epi*-Bisabolol (8.7%) (Tab. III.1, Fig. III.3).

D'après les résultats exposés sur le tableau III.1 et la figure III.3, on constate que les deux ou trois premiers constituants majoritaires des HEs de notre espèce *O. maitimus* d'origine de Zemmouri (Boumerdes, Algérie) sont : l' α -isocomene (11,2%), l'artemisia acetate (5.3%) et le β -isocomene (5.3%) pour l'HE des feuilles et l'artemisia alcohol (30.5%) et le yomogi alcohol (13.2%) pour l'HE des fleurs. De ce fait, les HEs des feuilles et des fleurs de notre *O. maritimus* présente une variation phytochimique liée à l'organe au sein du même individu.

D'autre part les profils phytochimique GC/MS de ces deux HEs en met en évidence la présence d'un taux important de monoterpènes irréguliers (Santolin triene, yomogi alcohol, artemisia alcohol et artemisia acetate), 13.9 et 51.5% pour les feuilles et les fleurs, respectivement. Ainsi On remarque la présence d'un taux important de sesquiterpènes irréguliers (Silphinene, modhephene, et α -isocomene, β -isocomene, silphiperfol-5-en-3-ol A) dans l'HE des feuilles (22.4%). Ces terpènes irréguliers sont caractéristique des HEs des Astéracées et des Apiacées. En plus, On note la présence de quantité notable du chamazulene

dans les deux HEs (2.7-2.9%, Tab. III.1) qui est un sesquiterpène aromatique responsable de la coloration bleue de ces HEs.

III.1.2. Discussion

Les rendements des extractions des HEs des feuilles et des fleurs de cette population algérienne d'*O. maritimus* sauvage sont de l'ordre de 0.13 et 0.47% (m/m, poids sec), respectivement.

Ces rendements peuvent être considérés comme relativement faibles pour les feuilles et forts pour les fleurs comparativement à ceux obtenus par hydrodistillation à partir de la partie aérienne de cette espèce hors l'Algérie. L'HE de cette espèce n'a jamais fait l'objet de publication scientifique auparavant en Algérie. Le tableau III.2 résume les rendements et la composition chimique majeure des HEs de cette espèce à travers le bassin méditerranéen. Muselli *et al.*, (2007) ont rapporté des rendements très faibles en HEs qui varient entre 0.02 et 0.06% chez plusieurs populations sauvage d'*O. maritimus* corsienne. En effet, le rendement de l'HE est de l'ordre de 0.14 % pour les fleurs d'*O. maritimus* de Palermo (Italie) (Basile *et al.*, 2013) plus faible en le comparant avec le rendement des fleurs de notre étude. Tandis que, des rendement plus forts qui varient entre 0.3 et 0.4% ont été enregistré pour la partie aérienne des populations portugaises de cette espèce (Cabral *et al.*, 2012).

Les analyses entreprises ici par GC/MS ont prouvé que les HEs des feuilles et des fleurs de cette population algérienne d'*O. maritimus* sont d'un caractère global variable, HE monoterpénique (74.7%) chez les fleurs et HE sesquiterpénique (60.2%) chez les feuilles représenté par l'artémisia alcool (30.5%) comme composé majoritaire de tous le profil phytochimique de la première HE et par l' α -isocomene comme composé majoritaire de tous le profil phytochimique de la deuxième HE. En attendant la confirmation par une analyse statistique, ces analyses ont repéré la présence, pour la première fois, de deux nouveaux chémotype à α -isocomene et à artémisia alcool d'origine algérienne en comparaison avec les résultats de la littérature résumés dans le tableau III.2).

Selon la littérature, la caractérisation phytochimique des HEs de la partie aérienne ou des organes séparément d'*O. maritimus* a fait l'objet auparavant de 5 études dans le bassin méditerranéen effectuées entre 2000 et 2013 (Tableau III.2) (Tsoukatou *et al.*, 2000 ; Muselli *et al.*, 2007 ; Romeo *et al.*, 2007; Basile *et al.*, 2013; Cabral *et al.*, 2013). Ces études, menées par ces auteurs sur l'HE de différents organes de cette espèce, ont prouvées l'existence de

cinq chémotypes : le chémotype *cis*-chrysanthenyl acetate d'origine de Grèce (Tsoukatou *et al.*, 2000), le chémotype yomogi alcool d'origine de Corse et d'Italie (Muselli *et al.*, 2007 ; Basile *et al.*, 2013), le chémotype santolina triene d'origine d'Italie (Romeo *et al.*, 2007) et le chémotype chrysanthénone d'origine du Portugal (Cabral *et al.*, 2013) (Tab III.2).

Tableau III.2. Rendements et compositions chimiques majeurs des huiles essentielles d'*Othantus maritimus* à travers le bassin méditerranéen

Origine	Méthode d'extraction /Rendement	Partie utilisée	Composition chimique		Références
			Nombre/total identifié	Composés majoritaires	
Crète (Grèce)	HD/-	PA/FL	17/97.8%	-cis-Chrysanthenyl acetate (30.4%) -1,8-Cineole (19,1%) -Camphor (12.9%) -Artemisia alcohol (12.6%) -Isocomene (0,5%) -Chamazulene (00%)	Tsoukatou <i>et al.</i> , 2000
Ajaccio (Corse)	HD /0.02-0.06%	PA, RA	63/84.9-97.6	-Yomogi alcool (24,1-34,7%) -Artemisia alcohol (11,5-19,2%) -Camphor (7,0-20,4%) -Artemisyl acetate (4,9-12,6%) -Chamazulene (0,3-1,9%) - α -Isocomene (0,1-7,7%)	Muselli <i>et al.</i> , 2007
Messina (Sicile, Italie)	HS/-	FE	38/99.3%	-Santolina triene (23,65%) -Artemisia alcohol (17,91%) -Artemisyl acetate (13,19%) - γ -Caryophyllene (7,82%) -Chamazulene (00%) - α -Isocomene (00%)	Romeo <i>et al.</i> , 2007
Palermo (Sicile, Italie)	HD/0.14% (m/m)	FL	66/91.6%	-Yomogi alcool (20,8%) -Camphore (15,8%) -Artémisyle acetate (15,3%) -Artemisia alcohol (13,7%) -Chamazulene (3.9%) - α -Isocomene (<0,05%)	Basile <i>et al.</i> , 2013

Tableau III.2. (Suite)

Origine	Rendement	Partie utilisée	Composition chimique		Références
			Nombre/total identifié	Composés majoritaire	
Portugal	HD/0.3-0.4% (v/m)	PA	30/82.3-96%	- Chrysanthénone (40,4-57,2%) -Filifolone (12,2-15,5%) -cis-Chrysanatényl acétate (10,1-12,2%) - α -Pinene (6,7-7,2%) -Chamazulene (00%) - α -Isocomene (00%)	Cabral <i>et al.</i> , 2013
Zemmouri (Algérie)	HD/0.13% (m/m)	FE	28/82.2	α-Isocomene (11.2%) Artemisia acetate (5.3%) β -Isocomene (5.1%) Artemisia alcohol (4.3%) Yomogi alcohol (4.3%) α - <i>epi</i> -Bisabolol (4.3%) Chamazulene (2.7%)	Présente étude
Zemmouri (Algérie)	HD/0.47% (m/m)	FL	27/94.6%	Artemisia alcohol (30.5%) Yomogi alcohol (13.2%) Chrysanthenone (10.2%) Camphor (10.7%) α - <i>epi</i> -Bisabolene (8.7%) Artemisia acetate (7.7%) Chamazulene (2.9%)	

PA : partie aérienne, FE : feuilles, RA : racine, FL, fleurs, HS: head space analysis, HD : hydrodistillation. Le composé majoritaire représentant le chemotype est en gras.

D'après les résultats présentés dans le tableau III.1, et le regroupement bibliographique de la composition phytochimique de toutes les HEs de toutes les populations d'*O. maritimus* méditerranéenne (données représentées en partie sur tableau III.2) les HEs d'*O. maritimus* présentent une diversité phytochimique qualitative et quantitative importante avec la présence de 6 chémotypes dont deux nouveau signalé lors de cette étude pour la première fois. Bien qu'utilisé brièvement ici, l'analyse statistique est un outil puissant permettant de compléter les méthodes purement analytiques car elle permet notamment dans notre cas, de comparer les différents jeux de données phytochimiques obtenus sur des HEs différentes. Afin d'estimer la nature de l'homogénéité ou de la variabilité de la composition phytochimique de ces HEs. Pour cela nous avons réalisé une analyse de classification hiérarchique. Cette analyse statistique est basée sur une matrice de la composition (%) des HEs incluant uniquement 15 composés majoritaires (>5%). Ces composés unis représentent une proportion de 42 jusqu'à 86.2 % du contenu total de ces HEs. La figure III.4 illustre le dendrogramme de la classification hiérarchique des HEs de 8 populations et 11 échantillons HE d'*O. maritimus* méditerranéennes. L'analyse du cluster hiérarchique a divisé les populations méditerranéennes d'*O. maritimus* étudiées à ce jour en deux grands groupes *I* et *II*. Le premier groupe (*I*) était représenté par les trois populations du Portugal (PO_Pa_Q) exhibant le chémotype chrysanthenone (1) et la population d'origine Grèce (GR_Pa) présentant le chémotype cis-chrysanthenyl acétate (2). Toutes ces quatre populations sont caractérisées par leur richesse en cis-chrysanthenyl acétate (10.1-30.4%) contrairement aux populations du groupe *II* qui sont caractérisées par un taux faible en cis-chrysanthenyl acétate (0-3.9%). Les autres populations (groupe *II*) sont subdivisées en 4 sous-groupes représentant 4 chémotypes. Le sous-groupe IIA est caractérisés par le chémotype yomogi alcohol (3). Ce sous-groupe IIA renferme la partie aérienne (CO_Pa), la racine (CO_Ra) et la plante entière (CO_Pe) d'une population corsienne riche en camphor et en artemisia alcohol et toute seule une population (les fleurs) sicilienne_italienne (IT_PA_Fl, Palermo-Italie) qui est riche en camphor, artemisia acétate et en artemisia alcohol. Cependant, il est bien visible, dans ce groupe *II*, la ségrégation de nos deux HEs des feuilles et des fleurs de cette espèce d'origine algérienne qui présentent deux nouveaux chémotypes, α -isocomene (4) et artemisia alcohol (5), respectivement. Ainsi, au sein de ce groupe *II*, les feuilles de la population sicilienne_italienne (IT_ME_Fe) prennent une position bien distincte des autres populations par l'exhibition du chémotype santolina triene (6). Cette population est caractérisée par une richesse en artemisia alcohol et en artemisia acetate et surtout par la présence unique de γ -caryophyllene (7.82%) qui n'a jamais été détecté dans toute les HEs

de toutes les populations étudiées. Il est intéressant de signaler que le sous-groupe II regroupe quatre chémotypes, dont deux sont nouveaux, caractérisés par une présence importante exceptionnelle d'artémisia alcohol (4.3-17.91%) et d'artémisia acetate (5.3-15.3%). Ces deux monoterpènes irréguliers n'ont jamais été signalés auparavant dans les populations du groupe I sauf chez la population (GR_Pa) qui est en même temps riche en cis-chrysanthenyl acetate justifiant son positionnement en groupe I.

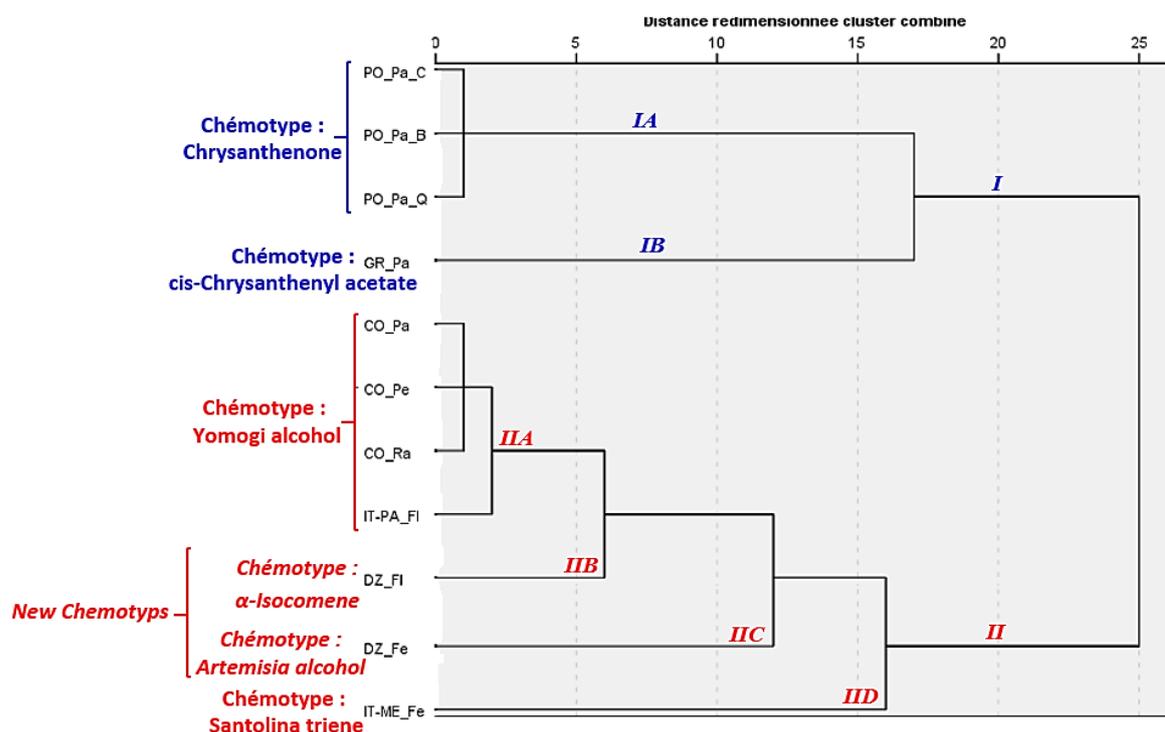


Figure III.4. Dendrogramme de l'analyse du cluster hiérarchique des HEs des populations méditerranéennes d'*O. maritimus*

Cette classification est basée sur les teneurs (%) de 15 constituants majoritaires avec un taux > 5% des HEs de ces populations (données issues de la littérature et de la présente étude, Tableau III.2)

CO_Pa, CO_Ra et CO_Pe = les HEs de la partie aérienne, des racines et de la plante entière, respectivement, d'une population d'origine d'Ajaccio (Corse, France) (Muselli *et al.*, 2007) ; IT-ME_Fe = HE de feuilles d'une population d'origine de Messine (Sicile, Italie) (Romeo *et al.*, 2007) ; IT-PA_Fl = HE de fleurs d'une population d'origine de Palermo (Sicile, Italie) (Basile *et al.*, 2013) ; GR_Pa = HE de la partie aérienne d'une population d'origine de Crète (Grèce) (Tsoukatou *et al.*, 2000) ; PO_Pa_Q, PO_Pa_C et PO_Pa_B = les HEs de la partie aérienne d'une population d'origine de Quiaios beach, Comporta beach et Baleal beach, respectivement (Portugal) (Cabral *et al.*, 2013) ; DZ_Fe et DZ_Fl = les HEs de feuilles et de fleurs, respectivement, d'une population de Zemmouri (Algérie, la présente étude).

En plus, la comparaison de nos profils phytochimiques avec ceux obtenus par ces études nous amènent à constater que la composition chimique de nos HEs diffère à celles des autres qualitativement et quantitativement. Ces auteurs ont révélé l'absence de certains composés qui sont identifiés dans notre échantillon, à savoir : les composés notables l' α -*epi*-bisabolol et l'*allo*-cedrol, le 10-*epi-cis*-Dracunculifoliol, le ledol et le germacrene-B ainsi que d'autres composés qui sont minoritaires (voir composé sans le d en astérisque dans le tableau III.1). Inversement, dans notre étude on n'a pas identifié la présence de quelques composés signalés majoritaires dans les autres études comme le 1,8-cineole (Tsoukatou *et al.*, 2000) et le γ -caryophyllene (Romeo *et al.*, 2007). D'autre part, le composé chamazulene, responsable de la coloration bleue de ces HEs, n'a pas été signalé par les études menées par Tsoukatou *et al.*, (2000), Romeo *et al.*, (2007) et Cabral *et al.*, (2013).

D'après les études rapportées par la littérature, les variations des rendements et de la composition chimique des HEs peut s'expliquer par différents facteurs. Une huile essentielle doit avant tout autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal (Bruneton, 1999). L'influence du stade végétatif (Garnéro, 1991; Bruneton, 1999; Stefanini *et al.*, 2006; Aprotosoiaie *et al.*, 2010), l'organe de la plante (Maffei & Sacco, 1987 ; Barry, 2001 ; Stefanini *et al.*, 2006; Chowdhury *et al.*, 2009), les hybridations, les facteurs de mutation, la polyploïdie (Garnéro, 1991; Aprotosoiaie *et al.*, 2010) et le polymorphisme chimique «chimiotypes» (Garnéro, 1991; Anton & Lobstein, 2005; Belyagoubi, 2006). Ainsi, les conditions environnementales telles que la température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée (Bruneton, 1999). La méthode d'extraction (Bruneton, 1999; Mohamed, 2005; Abramson *et al.*, 2007; Silano & Delbò, 2008) et l'état du matériel végétal (Pinto *et al.*, 2006; Hettiarachichi, 2008) influent aussi sur la composition et le rendement des HEs. Il faut aussi signaler que le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des HEs (Besombes, 2008).

Vu la crise sanitaire mondiale **COVID-19** les étudiants du Master de différentes spécialités n'ont pas complété leurs expérimentations, de ce fait et pour combler ce manque on a jugé utile de discuter nos résultats phytochimique en se basant sur une large littérature selon deux aspects : l'aspect activités biologiques et l'aspect biosynthétique.

Aspect activités biologiques

Notre recherche bibliographique sur les activités biologiques des HEs d'*O. maritimus* a montré la présence d'une activité antibactérienne pour ces huiles. Musseli *et al.* (2007) ont rapporté pour la première fois à travers une étude réalisée sur cinq souches bactériennes (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. jejuni*, *L. innocua*) la présence d'une bonne activité antibactérienne liée à cette HE. Basile *et al.* (2013) ont étudié aussi l'activité antibactérienne et pour la première fois l'activité antifongique de cette HE d'*O. maritimus* qui a exhibé lors de cette étude une forte activité antibactérienne et antifongique. Même résultats démontré aussi par l'équipe Cabral *et al.* (2013) qui ont rapporté en plus une bonne activité anti-inflammatoire in vitro de l'HE de cette espèce.

Ces découvertes ajoutent des informations significatives à l'activité pharmacologique des HEs d'*O. maritimus*, en particulier à ses propriétés antibactérienne, antifongique et anti-inflammatoire, justifiant et renforçant ainsi l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle. Par conséquent, leurs effets bénéfiques et leur utilisation dans la prévention des maladies, en particulier ceux liés aux infections fongiques et à l'inflammation, combinés à l'odeur agréable, devraient être explorés plus en profondeur pour une application ultérieure dans les industries cosmétique et pharmaceutique.

De nombreuses études ont montré que les activités biologiques des extraits naturels des plantes aromatiques et médicinales sont liées directement à leur composition chimique et notamment aux composés majoritaires actifs. Cependant des composés minoritaires peuvent interagir directement, ou d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un mélange plus ou moins doté d'activité biologique.

Nos résultats ont montré la richesse de nos huiles essentielles en composé bioactifs. Plusieurs études ont rapporté l'importance des composés majoritaire détectés dans la présente étude dans les HEs des feuilles et fleurs d'*O. maritimus* :

L'artémisia alcool, le yomogi alcool et l'artémisia acétate, les composés majoritaires de nos deux HEs, sont des monoterpènes irréguliers qui ont été isolés pour la première fois chez les espèces du genre *Artemisia* comme *Artemisia feddei*, pour le yomogie

alcohol (Hayashi *et al.*, 1968). Généralement, ces monoterpènes irréguliers sont signalés chez les Astéracées et ainsi que chez d'autres espèces appartenant aux familles des Apiacées et Lamiacées. Cependant, aucune information n'a été trouvée dans la littérature disponible sur les activités biologiques des monoterpènes irréguliers à titre pur mais souvent sont discutés avec les terpénoïdes oxygénés. Il a été rapporté que les alcools terpéniques sont particulièrement actifs contre les cellules microbiennes car solubles dans les milieux aqueux et ils provoquent d'importants dégâts sur les parois cellulaires des microorganismes (Griffin *et al.*, 1999 ; Dorman & Deans, 2000 ; Carson *et al.*, 2002 ; Hammer *et al.*, 2003). Les alcools possèdent une activité microbicide plutôt que microbistatique (Cox *et al.*, 2001 ; Inoue *et al.*, 2001 ; Hammer *et al.*, 2003). Les terpénols sont plus efficaces contre les bactéries que contre les champignons (Knobloch *et al.*, 1989).

Les activités antimicrobiennes des extraits de plantes ont été signalées comme étant liée spécifiquement à la présence de composés antimicrobiens. Récemment, des tentatives ont été faites pour identifier les composés responsables d'une telle bioactivité. Les molécules oxygénées qui entrent dans la composition des extraits naturels sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées qui sont, par contre, connues pour leurs faibles pouvoirs antimicrobiens (Kalemba & Kunicka, 2003). Les effets antimicrobiens sont liés, entre autre, à la présence de groupements hydroxyles libres qui permettent une bonne solubilisation de ces composés dans les milieux physiologiques aqueux (Ben Arafa *et al.*, 2006). Notre HE de fleurs comprend d'importantes concentrations en terpénoïdes avec des groupes hydroxyle libres, tels que l'artémisia alcohol (30.5%) et le yomogi alcohol (13.2%). De ce fait cette huile pourrait avoir une forte activité biologique à cause de la présence de ces groupes hydroxyles libres qui jouent un rôle important en tant qu'agents antimicrobiens et antioxydants (Alma *et al.*, 2003; Gueetat *et al.*, 2017; El Eshmy *et al.*, 2019; El gawad *et al.*, 2019).

Les **isocomènes** sont des sesquiterpènes irréguliers qui caractérisent généralement les Astéracées (voir plus loin aspect biosynthétique). Dobner *et al.* (2003) ont révélé l'activité biologique de l' α -, β -isocomène et du silphinène (présent dans nos huiles) comme agents antimicrobiens contre *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* et *Streptococcus pyogenes*. L' α -isocomène et le β -isocomène avec d'autres composants présents dans les racines de *Chrysanthemoides monilifera* ont montré un effet allélopathique comme inhibiteur de la croissance des semis de la végétation associée (Ens *et al.*, 2008). Les sesquiterpènes silphinènes sont des agents anti-nourrissants reconnus contre

les insectes. Ces composés ont montré une activité antifeedante significative contre *Leptinotarsa decemlineata* (Doryphore de la pomme de terre) à tous les stades de vie, en particulier au stade adulte (Gonzalez-Coloma *et al.*, 1997; 2002).

Le **camphor** est un produit naturel dérivé du bois des lauriers camphrés (*Cinnamomum camphora*) par distillation à la vapeur et purification par sublimation; les arbres utilisés doivent avoir au moins 50 ans. Le camphor (Zuccarini, 2009). (1,7,7-triméthylbicyclo [2.2.1] heptan-2-one), est un produit naturel utilisé depuis l'antiquité dans un large éventail d'applications, comme dans les arômes alimentaires, les fumigations, les parfums, les cosmétiques, les nettoyeurs ménagers et les analgésiques à application locale (Chen *et al.*, 2013). Ainsi, Le camphre est utilisé depuis longtemps comme antiseptique, antiprurigineux, contre-irritant et rubéfiant (Liebelt & Shannon, 1993 ; Ellenhorn & Barceloux, 1998). Le camphor, détecté dans notre étude tant que troisième composé majoritaire des HEs des fleurs, est connu dans le domaine de la chimie médicale comme une substance naturelle possédant une gamme d'activités biologiques utiles, étant un agent antiviral, antimicrobien, antitussif et analgésique (Sokolova *et al.*, 2013). Santoyo *et al.* (2005) ont démontré une activité antibactérienne envers *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et en particulier envers *Staphylococcus aureus*. Également, le camphor est un composant majeur des liniments pour le soulagement de la fibrosite, de la névralgie et des conditions similaires. Il peut être utilisé comme expectorant doux; lorsqu'il est ingéré, le camphre a des propriétés irritantes et carminatives (Zuccarini, 2009).

D'un autre côté, le camphre est présent dans plusieurs produits en vente libre, son utilisation comme remède familial est communément acceptée, mais un certain manque d'informations persiste chez les consommateurs. Les cas d'intoxication au camphre chez l'homme, en particulier chez les enfants, sont relativement fréquents, principalement en raison d'une ingestion accidentelle (Siegel & Wason, 1986). Plus de 100000 cas d'exposition par ingestion à des produits contenant du camphre ont été enregistrés entre 1990 et 2003 (Manoguerra *et al.*, 2006), provoquant une gamme de symptômes comprenant convulsions, léthargie, ataxie, nausées sévères, vomissements et coma (Koppel *et al.*, 1988; Manoguerra *et al.*, 2006).

L' α -bisabolol, le cinquième constituant majoritaire dans l'HE des feuilles dans la présente étude est un composant important de nombreux produits commerciaux (ex. cosmétiques). Biosynthétiquement il est l'unique précurseur de la hernandulcine (Attia *et al.*, 2012). Il a été démontré que l'hernandulcine est 1000 fois plus sucrée (édulcorant) que le saccharose sans effets mutagènes ou cancérigènes durant les expériences de laboratoire contrairement aux autres édulcorants synthétique (Compadre *et al.*, 1985; 1988). La principale application de l' α -bisabolol dans le secteur pharmaceutique est liée à ses propriétés anti-inflammatoires, antispasmodiques, antibactériennes, sédatives, anti-allergique, antiseptiques et vermifuges (Isaac & Thiemer, 1975; Sell, 1999; De Souza *et al.*, 2008).

Le chrysanthénone, le quatrième constituant majoritaire de l'HE des fleurs dans la présente étude, est une cétone monoterpénique bicyclique rare avec un arôme floral légèrement huileux adapté à l'industrie aromatique (Lawrence, 1992). On ne le trouve que chez les membres de la famille des astéracées, comme *Dyssodia acerosa* (Tellez *et al.*, 1997), *Artemisia herba-alba* (Salido *et al.*, 2004) *Achillea biebersteini* (Sökmen *et al.*, 2004). Pour cette raison, ce composé peut être considéré comme un marqueur chimiotaxonomique de la famille des astéracées. Cependant, aucune information n'a été trouvée dans la littérature disponible sur les activités biologiques de la chrysanthénone.

Le chamazulène, détecté dans les HEs des feuilles (2.7%) et des fleurs (2.9%) d'*O. maritimus* lors de cette étude, a été suggéré possédant une activité anti-inflammatoire (Isaac, 1979; Jakovlev *et al.*, 1983; Safayhi *et al.*, 1994) et est impliqué dans l'activité de piégeage des radicaux (Rekka *et al.*, 1996; Capuzzo *et al.*, 2014) et dans l'activité antioxydante générale (Safayhi *et al.*, 1994; Sizova, 2012; Capuzzo *et al.*, 2014).

D'autres constituants détectés ici avec des pourcentages élevés comme le **β -caryophyllène** (3,9%), l' **β -eudesmol** (3,4%) ont été rapporté pour leurs activités biologiques auparavant. Le β -eudesmol est connu pour son activité anti-tumorale et anti-angiogénique (Long *et al.*, 2008). Le β -caryophyllène, un sesquiterpène majeur de diverses HEs de plantes, est signalée pour plusieurs activités pharmacologiques importantes, notamment les activités antioxydante, anti-inflammatoire, anticancéreuse, cardioprotectrice, hépatoprotectrice, gastroprotectrice, néphroprotectrice, antimicrobienne et immunomodulatrice (Machado *et al.*, 2018). Il possède également un effet neuroprotecteur (Hernandez-Leon *et al.*, 2020).

Aspect biosynthétique

Les composés majoritaires des HEs d'*O. maritimus* assurent de nombreuses interactions écologiques et sont importantes sur le plan industriel. Nous résumons ici les connaissances disponibles sur la biosynthèse de ces constituants et leur pertinence pour les Astéracées afin de fournir une base pour les études écologiques et génétiques de la diversité chimique.

Il y a plusieurs étapes dans les voies de biosynthèse des terpènes qui ont le potentiel d'influencer le rendement, le profil et la composition des huiles dans le règne végétal. Les étapes biochimiques qui influencent le rendement en huile entre les différents organes d'*O. maritimus* se produisent probablement dans les étapes de la voie menant à la synthèse du squelette terpénique. Les différences qualitatives dans les profils des huiles sont plus susceptibles d'être dues à la variation des terpènes synthases et des enzymes de modification des terpènes. La plupart des informations sur la variation moléculaire dans la biosynthèse des terpènes sont basées sur l'analyse de mutants artificiellement dérivés.

Nous discutons ici dans la mesure dans laquelle nous pouvons nous attendre à des corrélations entre les données chimiques et les processus génétiques, sur la base d'études sur d'autres espèces, et identifions les éléments moléculaires à étudier afin de comprendre les variations phytochimique qui ont été décrites ici entre nos deux HEs de *O. maritimus* et avec les autres HEs d'*O. maritimus* du bassin méditerranéen.

La figure III.5 montre les branches individuelles des voies de la biosynthèse des terpènes qui correspondent aux différentes classes de terpènes. Toutes les classes nécessitent différents substrats et enzymes pour leur biosynthèse. L'isopentényl diphosphate (IDP, Fig. III.5) est le précurseur commun le plus simple dédié à la biosynthèse des terpènes et, de manière surprenante, il s'est avéré synthétisé en parallèle via deux voies indépendantes et séparées par compartiments (Eisenreich *et al.* 1998). La voie du mévalonate (MVA) localisée dans le cytoplasme et la voie du phosphate de désoxyxylulose (DXP) localisée dans le plaste. Les gènes des voies MVA et DXP fournissent des candidats appropriés pour l'étude des variations quantitatives majeures de la concentration en terpène. Les deux voies MVA et DXP conduisent à la production d'IDP et de son isomère diméthyl-allyl diphosphate (DMADP), qui à leur tour, sont nécessaires à la synthèse de prényl diphosphate. Les prényl diphosphates produits sont le géranyl diphosphate (GDP), utilisé pour la synthèse de monoterpènes; le farnésyl diphosphate (FDP), utilisé dans la biosynthèse des sesqui- et

triterpènes; et le géranylgéranyl diphosphate (GGDP), utilisé dans la biosynthèse des di- et tétraterpènes.

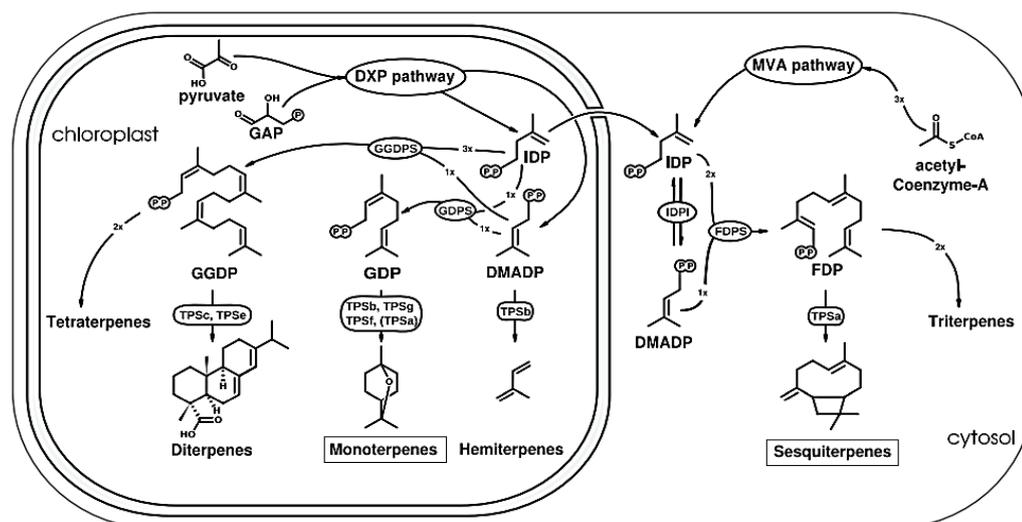


Figure III.5. Biosynthèse terpénique dans la cellule végétale, à partir de la première étape dédiée dans les voies cytosolique et plastidique

Les métabolites primaires sont mis en évidence, les enzymes et les groupes enzymatiques sont encadrés. Les majeurs terpènes (mono- et sesquiterpènes) composant les HEs sont encadrés

Tous les processus décrits précédemment, incorporant différents composés, compartiments et voies de biosynthèse, aboutissent finalement à la synthèse d'un squelette terpénique. Cette étape est catalysée par une seule famille d'enzymes, les terpènes synthases (TPS), quel que soit le substrat spécifique utilisé ou la localisation compartimentale de la réaction. Les terpènes synthases ont été attribuées à des sous-familles par Bohlmann *et al.* (1998a, 1998b) basé sur un critère de 40% d'identité de séquence d'acides aminés.

Le mode d'action des terpènes synthases inclut la création des intermédiaires de carbocation stables par déprotonation ou par addition d'eau couplé à la déprotonation qui peuvent conduire à la synthèse de plusieurs produits par une seule enzyme. Une seule terpène synthase peut être capable de catalyser la conversion de GDP en 10 produits individuels. Cependant, les terpènes synthases qui sont strictement spécifiques au produit unique sont également connues.

Un certain nombre de monoterpènes ne correspondent pas biosynthétiquement à la "règle de l'isoprène" et sont appelés monoterpènes irréguliers. Nos deux HEs d'*O. maritimus* ont présentées une composition monoterpénique irrégulière importante par la présence de 4 monoterpènes irréguliers (Santolina triene, yomogi alcohol, artemisia alcohol et artemisia

acetate) avec un taux globale entre 13.9 et 51.5% dans l'HE de feuilles et de fleurs, respectivement (Tableau III.1).

Il existe quatre principaux types structuraux de monoterpènes irréguliers : les squelettes chrysanthemyl, artemisyl, santolinyl et lavandulyl (Fig. III.6) (Epstein & Poulter, 1973). Les 3 premiers squelettes des monoterpènes irréguliers sont génétiquement liés puisque ne sont signalés que dans la tribu des Anthemidées des Astéracées (ils sont particulièrement bien connus chez le genre *Artemisia*). La classe Lavandulyl se trouve dans les plantes qui sont en dehors des Astéracées, chez les Apiacées et les Lamiacées (Poulter, 1990).

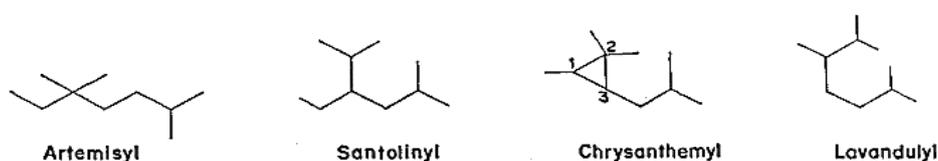


Fig. III.6. Principaux groupes squelettiques des monoterpènes irréguliers

La figure III.7, modifiée depuis Epstein & Poulter (1973), résume les principales voies biosynthétiques des quatre squelettes des monoterpènes irréguliers. Les monoterpènes irréguliers sont issus du couplage du pyrophosphate de chrysanthémyle, lequel provient du couplage de deux molécules de DMAPP. L'existence des terpènes irréguliers s'expliquerait par un mécanisme impliquant la rupture des liaisons du cycle cyclopropanique du chrysanthémane.

L'étape initiale nécessite la dimérisation de deux molécules de pyrophosphate de diméthylallyle (DMAPP) pour donner un intermédiaire activé, le pyrophosphate de chrysanthémyle. Il été suggéré que les voies vers l'artémisia et santolina et leurs dérivés procède par l'ionisation du pyrophosphate de chrysanthémyle hautement réactif. Les chercheurs soutiennent que les alcools d'artémisia et de yomogi sont également dérivés directement du cation par des hydroxylations appropriées. Pour tenir compte de la configuration absolue présumée de l'alcool d'artémisia et de l'acétate d'artémisia, nous proposons que le cation cyclopropylcarbinyne se réorganise en un cation allylique qui est ensuite attaqué de manière stéréospécifique pour donner de l'alcool d'artémisia.

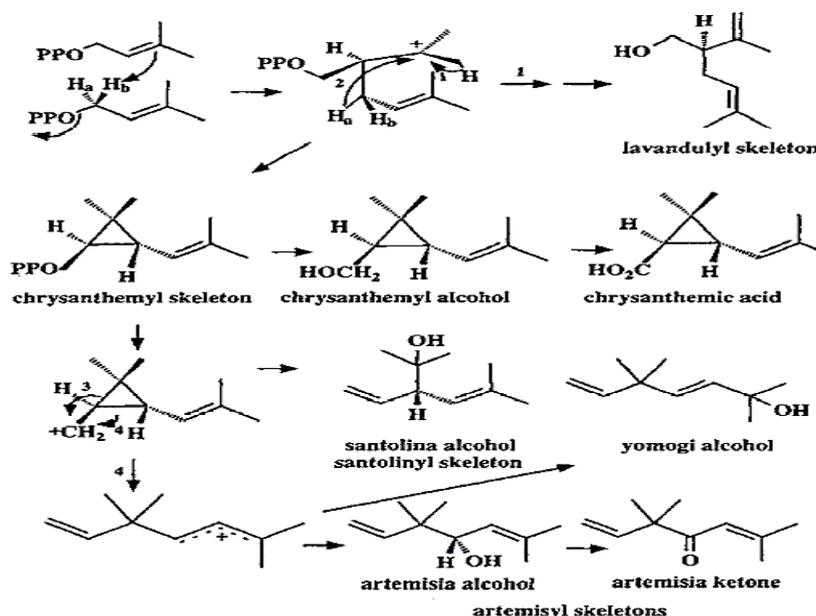


Figure III.7. Biosynthèse proposée des monoterpènes irréguliers (Epstein & Poulter, 1973)

Dans la composition de notre HE des feuilles d'*O. maritimus*, un taux important d' α -isocomène (syn. Berkheyaradulène) (11.2%) a été observé, ainsi que son isomère β -isocomène (5.1%). Les composés isocomènes sont des sesquiterpènes angulaires inhabituels de type triquinane (sesquiterpènes irréguliers) (Fig. III.3), initialement isolés à partir d'*Isocoma wrightii* (Zalkow *et al.*, 1977) et de *Berkheya radula* (Bohlmann *et al.*, 1977). Depuis lors, ces sesquiterpènes irréguliers ont été identifiés comme constituants majeurs dans les extraits ou les HEs presque exclusivement dans les racines ou les rhizomes de plusieurs plantes Astéracées telles que les espèces *Silphium* (Kowalski & Wolski, 2005; Kowalski & Kedzia, 2007; Kowalski, 2008a; 2008b), *Stevia rebaudiana* (Verma *et al.*, 2011) et *Vernonia brasiliiana* (Martins *et al.*, 2015). Ainsi, comme constituants traces toujours dans les racines ou les rhizomes d'autres espèces d'Astéracées comme, *Achillea ptarmica* (Kuroпка *et al.*, 1991), *Artemisia vulgaris* (Blagojevic *et al.*, 2006) et *Echinops kebericho* (Tariku *et al.*, 2011).

De plus, ces sesquiterpènes irréguliers étaient auparavant également trouvés dans les parties aériennes d'autres espèces d'Asteraceae comme *Conyza bonariensis* (Maia *et al.*, 2002), *Artemisia monosperma* (Khana *et al.*, 2012) et *Matricaria chamomilla* (Stanojevic *et al.*,

2016). Ces données de la littérature montrent que les sesquiterpènes tricycliques irréguliers se trouvent exclusivement dans les genres Astéracées en tant que composants spécifiques des Astéracées (composant chimiotaxonomique).

Outre les α - et β -isocomènes, notre HE des feuilles d'*O. maritimus* présentait d'autres sesquiterpéniques irréguliers liés biosynthétiquement aux isocomènes ; le silphinène, le silphiperfol-5-en-3-ol A et le modhephène (Tab. III.1). Irmish *et al.* (2012) ont identifié à partir des racines de *Matricari recutita* une α -isocomène synthase responsable de la biosynthèse de l' α -isocomène comme composé principal en parallèle avec le β -isocomène, le silphinène, le β -caryophyllène, l' α -humulène et le modephène comme composants secondaires (Fig. III.8). Egalement, le β -caryophyllène et l' α -humulène ont été identifiés dans cette HE qui nous a conduit à suggérer la présence d'une enzyme active homologue à cette synthase dans les feuilles de notre *O. maritimus* algérienne. Contrairement, au niveau des fleurs cette possible synthase est inactive ou complètement absente vu que tous ses produits n'ont pas été identifiés sauf pour l' α -isocomène qui est détecté avec un taux très faible (0.6%, Tab. III.1).

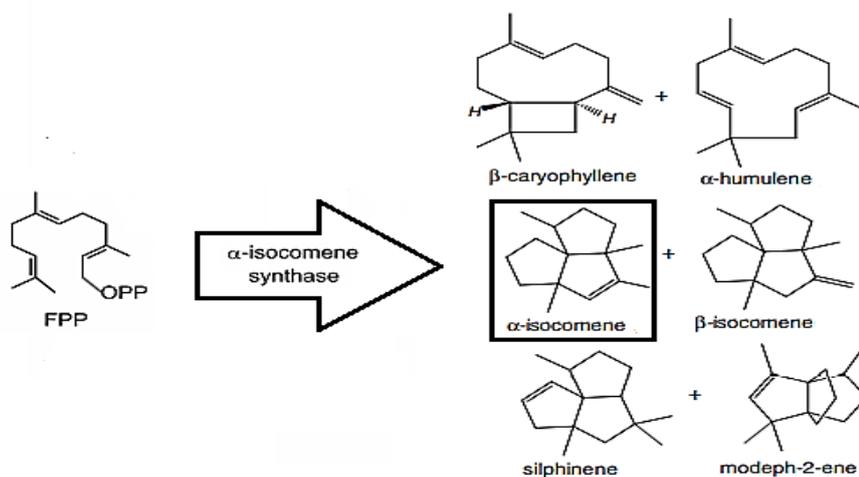


Figure III.8. Mécanismes de réaction conduisant à la formation des sesquiterpènes irréguliers liés à l' α -isocomène identifiés dans l'HE des feuilles d'*O. maritimus* (modifier depuis Irmish *et al.*, 2012).

La structure encadrée en gras (α -isocomène) représente le constituant principal de la α -isocomène synthase et également de l'HE des feuilles d'*O. maritimus*. FPP= farnésyl pyrophosphate.

A partir de l'homogénat de jeunes feuilles de Saugue officinale (*Salvia officinalis*, Lamiacées), 2 enzymes ont été partiellement purifiées (Croteau & Karp, 1976; Croteau & Karp, 1977; Croteau et al., 1978). La bornéol synthétase convertit le diphosphate de bornyle en bornéol dont l'oxydation est catalysée par la bornéol déshydrogénase conduisant au **camphor**.

La bornyl diphosphate synthase, la première étape enzymatique de la biosynthèse du camphor, n'a été clonée qu'une seule fois depuis 1998 chez *Salvia officinalis* (Wise et al., 1998) et récemment par Despinasse et al., (2017) chez *Lavandula angustifolia*. Cette synthase inhabituel est une enzyme multi-produits donnant à la fois plusieurs monoterpènes (α -pinene, camphene, β -pinene, myrcene, limonene, terpinolene, linalool, α -terpineol) en tant que composés mineurs et le bornyl diphosphate en tant que prényl diphosphate majeur qui sera ensuite déphosphorylé, conduisant au monoterpène bornéol (Fig. III.9). Le bornéol est ensuite oxydé en camphor par une bornéol déshydrogénase (Lukman et al., 2012). Ainsi, sur la figure III.9 est représenté d'autres voies biosynthétiques de quelques monoterpènes réguliers identifiés dans les deux HEs d'*O. maritimus* en parallèle avec d'autres monoterpènes.

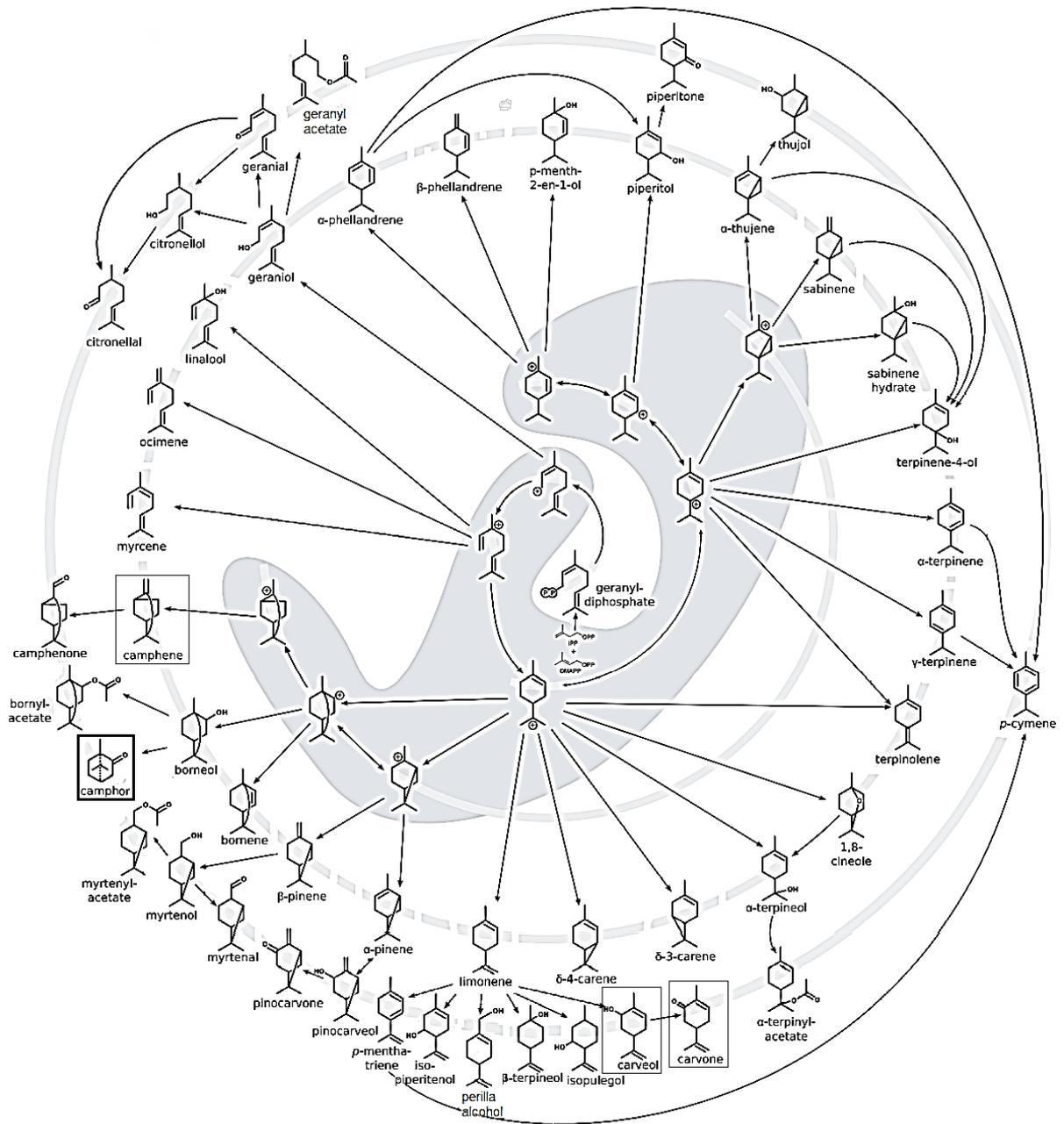


Figure III.9. Mécanismes de réaction conduisant à la formation des monoterpènes réguliers trouvés dans les HEs d'*O. maritimus* et d'autres monoterpènes apparentés (modifier depuis Keszei *et al.*, 2008)

La structure encadrée en gras (camphor) est le constituant majoritaire et les autres sont encadrés en normale.

Contrairement à d'autres études sur les HEs d'*O. maritimus*, l'HE de notre *O. maritimus* algérienne est exceptionnellement renferme et riche en **α -epi-bisabolol** (4.3-8.7%). Le composé α -bisabolol était un sesquiterpène alcool monocyclique qui a été isolé pour la première fois à partir des fleurs de *Matricaria chamomilla* et il a depuis été établi qu'il peut exister naturellement sous quatre stéréoisomères possibles, (-)- α -bisabolol, (+)- α -bisabolol, (-)- α -epi-bisabolol et (+)- α -epi-bisabolol (Flaskamp *et al.*, 1981; Brunke & Hammaerschmidt, 1985).

La biosynthèse de l' α -epi-bisabolol à partir du farnésyl pyrophosphate est supposée être catalysée par une sesquiterpène synthase unique, α -epi-bisabolol synthase, chez *Lippia dulcis* (Attia *et al.*, 2012). Des analyses chimiques détaillées de l' α -bisabolol biosynthétisé chez cette espèce ont confirmées sa configuration en α -epi-bisabolol. D'autre part, l' α -epi-bisabolol est l'unique et unique précurseur de la hernandulcine qui pourrait être développé comme édulcorant puissant hypocalorique (Attia *et al.*, 2012). La figure III.10 représente les voies de la biosynthèse de la majorité des sesquiterpènes identifiés lors de ce travail dans les deux HEs d'*O. maritimus* ainsi que d'autres sesquiterpènes.

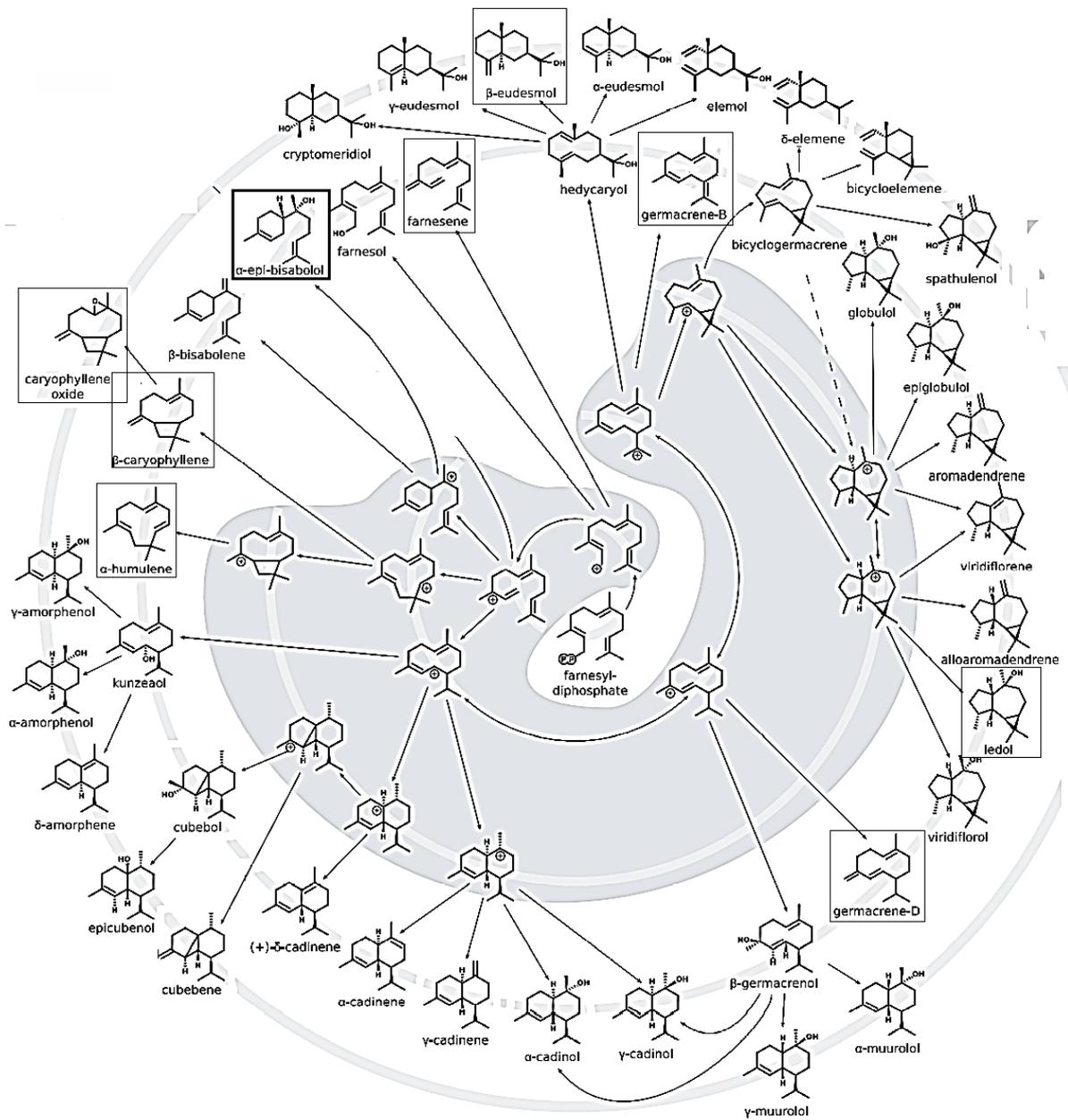


Figure III.10. Mécanismes de réaction conduisant à la formation des sesquiterpènes trouvés dans les HEs d'*O. maritimus* ainsi que d'autres sesquiterpènes apparentés (modifier depuis Keszei *et al.*, 2008).

La structure encadrée en gras (α -*epi*-bisabolol) est le constituant majoritaire et les autres sont encadrés en normale.

Il convient de souligner que le **chamazulène** (pseudo-sesquiterpène bicyclique) a été signalé ici comme constituant notable dans les deux HEs d'*O. maritimus* algérienne comme précédemment rapporté dans cette espèce (Tab. III.1 et III.2). Il est connu que le chamazulène est responsable de la coloration bleue des HEs et est un dérivé thermique de la matricine (prochamazulène sesquiterpène-lactone) pendant le traitement d'hydrodistillation des HEs (Fig. III.11) (Stahl, 1954). De ce fait, le chamazulène n'est pas une substance naturelle biosynthétique mais il s'agit de la transformation thermique d'un sesquiterpène-lactone, la matricine.

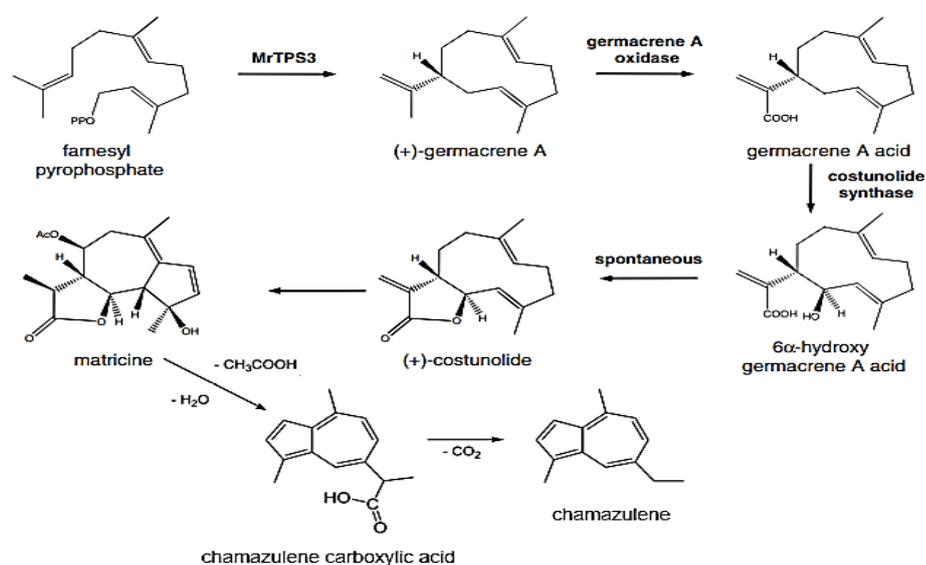


Figure III.11. Voie de biosynthèse proposée pour la matricine et sa transformation thermique en chamazulène (regroupé depuis Irmish *et al.*, 2012 & Stahl, 1954)

En fin les composés organiques volatils des HEs ont également été largement utilisés comme caractères taxonomiques chez les plantes (ex. monoterpènes irréguliers chez les Astéracées). Le polymorphisme chimique n'est utile à des fins taxonomiques que s'il correspond clairement à une différence génétique. Les études moléculaires sur la biosynthèse des composés organiques volatils sont essentielles pour établir le lien entre la variation chimique et génétique. Une meilleure connaissance des déterminants génétiques et environnementaux de la variation chimique contribuerait à réduire l'effort actuellement consacré à la sélection, au raffinage et à la séparation.

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Dans le présent travail, on a tenté de contribuer à la valorisation d'une plante maritime aromatique *Otanthus maritimus* d'une large distribution, utilisée en médecine traditionnelle méditerranéenne pour ses vertus thérapeutiques. Cette étude rapporte pour la première fois les profils chimiques des huiles essentielles des feuilles et fleurs d'*Otanthus maritimus* poussant à l'état sauvage sur les dunes maritimes dans la région Zemmouri de la wilaya de Boumerdes, 60 Km vers l'est d'Alger, Algérie.

Nous avons, dans un premier temps, procédé à l'extraction par hydrodistillation-Clevenger des HEs des feuilles et fleurs de cette espèce. Ensuite, nous avons analysé la composition phytochimique des composés volatils organiques constituant ces HEs. Les huiles essentielles extraites de ces organes possèdent des propriétés organoleptiques très appréciées et seront très convoitées en aromathérapie. Nos résultats ont montré une variation considérable dans la teneur et la composition des HEs de ces deux organes.

Les extractions réalisées à partir des différents organes d'*O. maritimus* ont fourni de bon rendement en huile essentielle pour les fleurs (0.47%) et un rendement relativement faible pour les feuilles (0.13%).

L'analyse phytochimique des composés volatils organiques des HEs d'*O. maritimus* a été effectuée par le couplage GC/MS. Selon cette analyse, ces HEs sont caractérisées par une bonne biodiversité phytochimique qui affecte les constituants majeurs et mineurs en parallèle avec une variabilité chémotypique. En effet 40 composés sont détectés dans les HEs de cette espèce : 28 (82.2%) dans l'HE des feuilles et 27 (94.6%) dans l'HE des fleurs. Vingt-deux des composés identifiés sont détectés ici pour la première fois dans l'HE d'*O. maritimus* notamment l' α -epi-bisabolène (8.7%) dans l'HE des fleurs. L' α -isocomène, le β -isocomène et l'artémisia acétate étaient les constituants majoritaires de l'HE des feuilles. Alors que celle des fleurs était dominée par l'artémisia alcool, le yomogi alcool, le camphor et le chrysanthène. L'interprétation de ces résultats soutenue par l'analyse cluster hiérarchique nous a permis la mise en évidence pour la première fois la présence de deux nouveaux chémotypes pour les HEs d'*O. maritimus* : le chémotype α -isocomène (HE des feuilles) et le chémotype artémisia alcool (HE des fleurs).

Toutes ces données ont montré que différentes voies métaboliques conduisant à des mono ou sesquiterpènes distincts ont lieu dans les feuilles et les fleurs de cette espèce. De

tels résultats peuvent s'expliquer soit par l'expression de plusieurs gènes paralogues n'ayant pas obéi à des facteurs de transcription communs, soit par des réseaux transcriptionnels différents dans les différents organes de la plante. Dans tous les cas, ces données font d'*O. maritimus* un bon candidat pour étudier la régulation biosynthétique de composés spécialisés en relation avec des contraintes biotiques et/ou abiotiques.

Sur la base de la composition phytochimique, la diversité et la variabilité chémotypique des HEs d'*O. maritimus* algérienne, nous pouvons affirmer que les différents organes de cette plante pourraient être considérés comme une bonne source d'HEs bioactifs et de biomolécules susceptibles d'être utilisées dans plusieurs industries, pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire etc. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour évaluer les pouvoirs biologiques (antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, etc.) de ces huiles essentielles et d'autres métabolites secondaires.

Références Bibliographiques

A

- Abdoul, D.S. (2002).** Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone du burkina soudanienne du burkina faso : valorisation. Thèse de Doctorat Science Physique. Présentée à l'Université de Ouagadougou, p 162.
- Abramson, C., Wanderley, P., Wanderley, M., Silva, J. et Michaluk, L. (2007).** The effect of essential oils of sweet fennel and pignut on mortality and learning in africanized Honeybees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae) Neotropical Entomology. 36 (6): P828-835.
- Adams, R. P. (2007).** Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Carol Stream, Illinois, USA: Allured Publishing Corporation.
- AFNOR. (2000).** Recueil de normes: les huiles essentielles. Tome 1. Echantillonnage et méthodes d'analyse. AFNOR. Paris. P440.
- Ait Mbarek, L.A., Mouse, H.A., Elabbadi N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., Benharref, A., Chait, A., Kamal, M., Dalal, A and Zyad, A. (2007).** Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research. 40: 839-847.
- Alitonou, G., Avlessi, F., Wotto, V., Ahoussi, E., Dangou, J. et Sohounhloue, D. (2004).** Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et activités sur les tiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm. Comptes Rendus Chimie. 7 (10): P1051-1055.
- Allen, K.G., Banthorpe, D.V and Charlwood, B.V. (1977).** Metabolic pools associated with monoterpene biosynthesis in higher plants. Phytochemistry. 16: 79-83.
- Alma, M.H., Mavi, A., Yildirim, A., Digrak, M., Hirata, T. 2003.** Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. Biol Pharm Bull. 26 (12):1725-1729.
- Aly, A.H., Debbab, A., Edrada-Ebel, R., Wray, V., Muller, W.E., Lin, W. and Proksch, P. (2009).** A new tetrahydrofuran derivative from the endophytic fungus *Chaetomium* sp. isolated from *Otanthus maritimus*. Zeitschrift fur Naturforschung C. 64(5-6):350-354.
- Anton, R and Lobstein, A. (2005).** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Edition Technique et documentation. Paris. P522.

- Aprotosoia, A., Spac, A., Hancianu, M., Miron, A., Tanasescu, V., Dorneanu, V. et Stanescu, U. (2010).** The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Farmacia*. Vol. 58 (1): P46-54.
- Attia, M., Kim, S.U., Ro, D.K. (2012).** "Molecular cloning and characterization of (+)-epi- α -bisabolol synthase, catalyzing the first step in the biosynthesis of the natural sweetener, hernandulcin, in *Lippia dulcis*". *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 527 (1): 37–44.
- Ayvaz, A., Sagdic, O and Ozturk, I. (2010).** Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*. 10: 21.

B

- Babu, K.G.D., Kaul, V.K. (2005).** Variation in essential oil composition of rose scented geranium (*Pelargonium sp.*) distilled by different distillation techniques. *Flavour and Fragrance Journal*., 20 :222–231.
- Bahorun, T. (1997).** Substances Naturelles Actives: La Flore Mauricienne, Une Source D’approvisionnement Potentielle. Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D and Idaomar, M.(2008).** Biological effects of essential oils- A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 446-475.
- Balandrin, M.F., Klocke, J.A., Wurtele, E.S and Bollinger, W.H. (1985).** ‘Natural Plant Chemicals: Sources of Industrial and Medicinal Materials’, *Science*, Vol. 228, N°4704, pp. 1154 – 1159.
- Barauskaite, J., Kubiliene, A., Marksa, M., Petrikaite, V., Vitkevičius, K., Barauskas, A and Bernatoniene, J. (2017).** The Influence of Different Oregano Species on the Antioxidant Activity Determined Using HPLC Postcolumn DPPH Method and Anticancer Activity of Carvacrol and Rosmarinic Acid. *biomedical Research International*, p 7.
- Barelay, L.R.C., Xi, F and Norris, J.Q. (2006).** Antioxidant Properties of Phenolic Lignin Model Compounds. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 17 (12): 73-90.
- Bardeau, F. (2009).** Les huiles essentielles, Propriétés et utilisations de l’aromathérapie. Ed .Lanore.Collection Santé Pratique 318p.
- Barry, N. (2011).** Art d’extraire les huiles essentielles: de parfum à faire soi-même. Edition. Technique et documentation. Lavoisier. Paris. P125-128.

- Basile, A., Rigano, D., Sorbo, S., Conte, B., Rosselli, S., Bruno, M. and Senatore, F. (2013).** Antibacterial and antifungal activities of *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link essential oil from Sicily.. *Natural Product Research*, 27, 1548-1555.
- Bassereau, M., Chaintreau, A., Duperrex, S., Joulain, D., Leijs, H., Loesing, G., Owen, N., Sherlock, A., Schippa, C. et Thorel, P. (2007).** Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. Quantification of suspected volatile allergens in fragrances.2. Data treatment strategies and method performances. *Journal of agricultural and food chemistry*. 55(1): P25-31.
- Bechaalany, P. (2005).** L'utilisation des huiles essentielles dans les affections inflammatoires en complément du traitement ostéopathique. Mémoire du diplôme ostéopathie animal. *European School of Animal Osteopathy*. P10-11.
- Belaïche, P. (1979).** *Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome I. 1^{er} Aromathérapie.* Ed. Maloine S.A. Paris. *Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome I. 1^{er} Aromathérapie.* Ed. Maloine S.A. Paris.
- Belanger, A., Landry, B., Dextraze, L et al. (1991).** Extraction et détermination des composés volatils de l'eau (*allicum satium*) Rivistraitalian epos. 2:455.
- Belyagoubi, L. (2006).** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaid. P110.
- Ben Arafa A., Combes S. et al. (2006). Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure, *Lett. Appl. Microbiol.* 43, 149-154.
- Bernadet, M. (2000).** *Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Dictionnaire thérapeutique de 530 affections courantes.* Dangles, Toulouse, France, 384p.
- Besombes, C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle. P289.
- Bessah, R et Benyoussef, E. (2015).** La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Revue des Energies Renouvelables*, 18 (3) : 513-528.
- Blagojevic, P., Radulovic, N., Palic, R. and Stojanovic, G. (2006).** Chemical Composition of the Essential Oils of Serbian Wild-Growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 4780-4789.

- Bohlmann, F Le Van, N, Pickardt, J. (1977).** Natürlich vorkommende Terpen-Derivate, 108. Über ein anomales Sesquiterpen aus *Berkheya radula* (Harv.) De Willd. Chem. Ber, 110: 3777.
- Bohlmann, J., Crock, J., Jetter, R., Croteau, R.B. (1998a)** Terpenoid-based defenses in conifers: cDNA cloning characterization and functional expression of wound-inducible (E)-alpha-bisabolene synthase from grand fir (*Abies grandis*). Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 95, 6756–6761.
- Bohlmann, J., Meyer-Gauen, G., Croteau, R.B. (1998b)** Plant terpenoid synthases: molecular biology and phylogenetic analysis. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 95, 4126–4133.
- Bohlmann, J., Keeling, C.I. (2008).** Terpenoid biomaterials. The Plant Journal. 54:656-669.
- Brenes, A., Roura, E. (2010).** Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. Animal Feed Science and Technology. 158:1–14.
- Bruneton, J. (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes Médicinales. Edition .Technique et Documentation .Lavoisier. Paris. P915.
- Bruneton, J. (1999).** « Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales ». Editions Technique & Documentation, Lavoisier, Paris.1120p.
- Brunke, E.J., Hammerschmidt, F.J. (1985).** Constituents of the Essential Oil of *Salvia Stenophylla* — First Identification of (+)-Epi- α -Bisabolol in Nature. In: Svendsen A.B., Scheffer J.J.C. (eds) Essential Oils and Aromatic Plants. Springer, Martinus Nijhoff/Dr. Junk W Publishers, Dordrecht, pp 145-150 ou pp 37–43.
- Burits, M., Bucar, F. (2000).** Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oils. Phytotherapy Research. 14: 323-328.
- Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. International Journal of Food Microbiology. 94, 223-253.

C

- Cabral, C., Cavaleiro, C., Gonçalves, M.J., Cruz, M.T., lopes, M.C., Salgueiro, L. (2013).** *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link as a source of a bioactive and fragrant oil. Ind. Crop. Prod., 43: 484–489.

- Caldefie-Chézet F., Fusillier C., Jarde T., Laroye H., Damez M., Vasson M.P. (2006).** Potential anti-inflammatory effects of *Malaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes. *Phytotherapy Research* 20: 364-370.
- Candan, F., Unlu, M., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A. et Akpulat, A. (2003).** Antioxidant and antimicrobial activity of essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology* 87: P215-220.
- Capuzzo A, Occhipintia A and Maffe ME. (2014).** Antioxidant and radical scavenging activities of chamazulene. *Natural Product Research*, 28(24), 2321-2323.
- Carson, C.F., Mee, B.J., Riley, T.V. (2002).** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. - *Antimicrob. Agents Chemother.* 46,1914-1920.
- Castillo, R.H., Stashenko, E and Close, J.E.D. (2017).** Insecticidal and Repellent Activity of Several Plant-Derived Essential Oils Against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 33(1):25-35.
- Charpentier, B., Hamon-Lorleac'h, F., Harlay, A., Huard, A., Ridoux, L., Chanselle, S. (2008).** *Guide du préparateur en pharmacie*. 3^{ème} édition, Elsevier Masson, Paris, 1358p.
- Chen, W., Vermaak, I., Viljoen, A. (2013).** Camphor—A Fumigant during the Black Death and a Coveted Fragrant Wood in Ancient Egypt and Babylon—A Review. *Molecules*. 18, 5434–5454.
- Chowdhury, J., Mobarok, H., Bhuiyan, N. et Nandi, N. (2009).** Constituents of essential oils from leaves and seeds of *Foeniculum vulgare* Mill. Cultivated in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Botany*. 38(2): P181-183.
- Christodouloupoulou, L., Tsoukatou, M., Tziveleka, L.A., Vagias, C., Petrakis, P.V. and Roussis, V. (2005).** Piperidinyl amides with insecticidal activity from the maritime plant *Otanthus maritimus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1435–1439.
- Compadre CM, Hussain RA, Lopez de Compadre RI, Pezzuto JM and Kinghorn AD. (1988).** The Intensely Sweet Sesquiterpene Hernandulcin: Isolation, Synthesis, Characterization, and Preliminary Safety Evaluation. *Experientia*, 44, 447-449.
- Compadre CM, Pezzuto JM, Kinghorn AD, Kamath SK. (1985).** Hernandulcin: An Intensely Sweet Compound Discovered by Review of Ancient Literature. *Science* 227, 417-419.

- Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L. (2001).** Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. - *J. Appl. Microbiol.*, 91(3), 492-497.
- Crete, P. (1965).** Précis de botanique.V.2 : Systématique des angiospermes. Masson, Paris.(2):429.
- Croteau, R., Hooper, C.L., Felton, M. (1978).** Biosynthesis of monoterpenes. Partial purification and characterization of a bicyclic monoterpene dehydrogenase from sage (*Salvia officinalis*). - *Arch. Biochem. Biophys.*, 188, 182-193.
- Croteau, R., Karp, F. (1976).** Biosynthesis of monoterpenes: enzymatic conversion of neryl pyrophosphate to 1,8-cineole, α -terpineol and cyclic monoterpene hydrocarbons by a cell-free preparation from sage (*Salvia officinalis*). - *Arch. Biochem. Biophys.*, 176, 734-746.
- Croteau, R., Karp, F. (1977).** Demonstration of a cyclic pyrophosphate intermediate in the enzymatic conversion of neryl pyrophosphate to borneol. - *Arch. Biochem. Biophys.*, 184, 77-86.

D

- Dacosta, Y. (2003).** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris. 317p.
- da Silva, U.F.; Borba, E.L.; Semir, J.; Marsaioli, A.J., (1999).** A simple solid injection device for the analyses of *Bulbophyllum* (Orchidaceae) volatiles, *Phytochemistry*, 50, 1, 31-34.
- Davidson, P.M & Naidu, A.S. (2000).** Phytophenols. In: *Natural Food Antimicrobial* . . Edits., A. S. Naidu, pp. 266–339, CRC Press/Taylor and Francis, New York.
- De Pascual, T.J., San Feliciano, A., Barrero, A.F., Medarde, M. and Tome, F. (1981).** Sesquiterpene hydrocarbons from the roots of *Otanthus maritimus*. *Phytochemistry*, 20, 166–167.
- Degryse, A., Delpla, I., Voinier, M. (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Ingénieure du Génie Sanitaire. Atelier santé environnement.
- De Souza AT, Benazzi TL, Grings MB, Cabral V, da Silva EA, Cardozo-Filho L, Antunes OAC. (2008).** Supercritical extraction process and phase equilibrium of *Candeia* (*Eremanthus erythropappus*) oil using supercritical carbon dioxide. *J Supercrit Fluids* 47:182–187.
- Despinasse, Y. Fiorucci, S. Antonczak, S. Moja, Bony, A. Nicolè, F. Baudino, S. Magnard, J.L. Jullien, F. (2017).** Bornyl-diphosphate synthase from *Lavandula*

angustifolia: A major monoterpene synthase involved in essential oil quality. *Phytochemistry*, 137, 24-33.

- Dhifi W., Bellili S., Jazi S., Bahloul N., and Mnif W. (2016).** 'Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review *Medicines*, 3, 25.
- Dib, I., Fauconnier, M.L., Sindic, M., Belmekki, F., Assaidi, A., Berrabah, M., Mekhfi, H., Aziz, M., Legssyer, A., Bnouham, M and Ziyat, E. (2017).** Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17 (1): 82.
- Dobner, M. J.; Schwaiger, S.; Jenewein, I. H.; Stuppner, H. (2003).** Antibacterial activity of *Leontopodium alpinum* (Edelweiss). *J. Ethnopharmacol.* 89, 301-303.
- Dorman, H.J.D., Deans, S.G. (2000).** Antimicrobial agents from plants:antibacterial activity of plant volatile oils. - *J. Appl. Microbiol.*,88, 308-316.
- Duval, C., Duval, R. (1978).** Dictionnaire de la chimie et ses applications. Technique et documentation. Paris France [INIST-CNRS, cote INIST: L22845]: 1100.

E

- Edris, A.E. (2007).** Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytotherapy Research*. 21:308-323.
- Eisenreich W, Schwarz M, Cartayrade A, Arigoni D, Zenk MH, Bacher A. (1998).** The deoxyxylulose phosphate pathway of terpenoid biosynthesis in plants and microorganisms. *Chem Biol* 5:R221–R233.
- El-Gawad, A.A., Elshamy, A., El GA, N., Gaara, A., Assaeed, A. (2019).** Volatiles profiling, allelopathic activity, and antioxidant potentiality of *Xanthium Strumarium* leaves essential oil from Egypt: evidence from chemometrics analysis. *Molecules*, 24(3):584.
- Ellenhorn, M.J., Barceloux, D.G. (1998).** Camphor. In *Medical Technology: Diagnosis and treatment of human poisoning*. New York: Elsevier, pp.: 505-507.
- Elshamy AI, Abd El-Gawad AM, El Gendy AE-NG, Assaeed AM. 2019.** Chemical characterization of *Euphorbia heterophylla* L. essential oils and their antioxidant activity and allelopathic potential on *Cenchrus echinatus* L. *Chem Biodivers*.

- Ens E. J., Bremner J. B., French K., Korth J. (2009).** Identification of volatile compounds released by roots of an invasive plant, bitou bush (*Chrysanthemoides monilifera* spp. *rotundata*), and their inhibition of native seedling growth. *Biol Invasions*, 11, 275-287.
- Epstein, W.W. & Poulter, C.D. (1973).** A survey of some irregular monoterpenes and their biogenetic analogies to presqualene alcohol. *Phytochemistry*, 12, 737-747.

F

- Fernandez, X., Chemat, F. (2012).** La chimie des huiles essentielles. Editions Vuibert. 288p.
- Flaskamp, E., Nonnenmacher, G., und Isaac, O. (1981).** Zur Diastereoisomerie natürlicher und synthetischer α -Bisabolole. *Z. Naturforsch.* 36b, 114-118.
- Folliard, T.(2014).** Le petit Larousse des huiles essentielles. Editions Larousse ; Paris.
- Fraga, B.M. (1988).** Natural sesquiterpenoids. *Natural Product Reports.* 5 :497-521.
- France-Ida, J. (1996).** Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. *Infoessence.* 3:5-6.
- Franchomme, P. (2003).** La science de l'aromathérapie. *Aromathéca.* 1(1). 2.
- Funk, V.A., Randall, J.B, Keeley, S.C., Chan, R., Watson, L., Gemeinholzer, B., Schilling, E., Panero, L.J., Baldwin, B.G., García-Jacas, N., Sussana, A. and Jansen, R.K. (2005).** Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. *Biol. Skr.* 55: 343–373.

G

- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A and Fernández-Gutiérrez, A. (2010).** Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples. *Molecules.* 15:8813-8826.
- Garnéro, J. (1991).** Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France. 2-20.
- Ghestem A., Seguin E., Paris M. and Orecchioni A.M. (2001).** Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. Technique et Documentation, Paris.
- Gian, S. et Sanago, R. (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université de Bamako. Mali : 53.

- Gonzalez-Coloma, A.; Gutierrez, C.; Cabrera, R.; Reina, M. (1997).** Silphinene derivatives: their effects and modes of action on Colorado potato beetle. *J. Agric. Food Chem.*, 45, 946-950.
- Gonzalez-Coloma, A.; Valencia, F.; Martin, N.; Hoffmann, J.J.; Hutter, L.; Marco, J.A.; Reina, M. (2002).** Silphinene sesquiterpenes as model insect antifeedants. *J. Chem. Ecol.*, 28, 117-129.
- Griffin, S.G., Wyllie, S.G., Markham, J.L., Leach, D.N.(1999).** The role of structure and molecular properties of terpenoids in determining their antimicrobial activity. - *Flavour Fragr. J.*, 14(5), 322-332
- Guetat, A., Al-Ghamdi, F.A., Osman, A.K. (2017).** The genus *Artemisia* L. in the northern region of Saudi Arabia: Essential oil variability and anti- bacterial activities. *Nat Prod Res.* 31(5):598-603.
- Guignard J., Dupont F. (2004).** *Botanique-systématique moléculaire*-Ed. Masson. 13^{ème} édition.
- Guignard, J.L. (1983).** *Abrégé de botanique*, Masson, 5^{ème} édition, Paris, p 259.
- Guignard, J.L. (2001).** *Botanique Systématique moléculaire*, Ed : MASSON. p114.

H

- Hamid, A.A., Aiyelaagbe, O.O. and Usman, L.A. (2011).** Essential Oils: Its Medicinal and Pharmacological Uses. *International Journal of Current Research*. Vol.3, Issue, 2, pp.086-098.
- Hammer, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V. (2003).** Antifungal activity of the components of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil. - *J. Appl. Microbiol.*, 95(4), 853-860.
- Hart, P.H., Brand, C., Carson, C.F., Riley, T.V., Prager, R.H. and Finlay-Jones, J.J. (2000).** Terpinen-4ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflammation Research.* 49, 619-626.
- Hartmann, T. (2007).** From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. *Review. Phytochemistry.* 68: P2831-2846.
- Hegnauer, R. (1988).** Biochemistry, distribution and taxonomic relevance of higher plant alkaloids. *Phytochemistry*, 27:2423-2427.

- Hernandez Ochoa L.R. (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.
- Hernandez-Leon, A., González-Trujano, M.E., Narváez-González, F., Pérez-Ortega, G., Rivero-Cruz, F. and Aguilar, M.I. (2020)** .Role of β -Caryophyllene in the Antinociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Tagetes lucida* Cav. Essential Oil. *Molecules*, 25, 675.
- Hettiarachichi, D. (2008).** Volatile oil content determination in the Australian sandalwood industry: Towards a standardised method. *Sandalwood Research Newsletter*, Issue. 23: P1-4.
- Hongping, X., Lanyue, Z., Zhiwen, Y., Chen, F., Zheng, X and Liu, X. (2017).** Chemical compositions, antioxidative, antimicrobial, anti-inflammatory and antitumor activities of *Curcuma aromatic Salisb* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 108:6-16.

I

- Inouye, S., Tsuruoka, T., Uchida, K., Yamaguchi, H. (2001).** Effect of sealing and tween 80 on the antifungal susceptibility testing of essential oils. - *Microbiol. Immunol.*, 45, 201-208.
- Irmisch, S., Krause, S.T., Kunert, G, Gershenzon J, Degenhardt J & Köllner TG. (2012).** The organ-specific expression of terpene synthase genes contributes to the terpene hydrocarbon composition of chamomile essential oils. *BMC Plant Biol* 12, 84.
- Issac O. (1979).** Pharmacological investigations with compounds of chamomile. I. On the pharmacology of (-)- α -bisabolol and bisabolol oxides (review). *Planta Med* 35:118–124
- Isaac O, Thiemer K. (1975).** Biochemical studies on chamomile components/III. In vitro studies about the antipeptic activity of (-)- α -bisabolol. *Arzneimittelforschung* 25:1352-1354.

J

- Jakovlev V, Isaac O, Flaskamp E. (1983).** Pharmacological investigations with compounds of chamomile. *Planta Med.* 49:67–73.

- Jakupovic, J., Boeker, R., Grenz, M., Paredes, L., Bohlmann, F. and El-Din, A.S. (1988).** Highly oxygenated guaianolides from *Otanthus maritimus*. *Phytochemistry*, 27, 1135–1140.
- Judd, W., Campbell, C., Kellogg, E. et Stevens, P. (2002).** Botanique systématique : une perspective phylogénétique. Edition 1: DEBOECK. P: 48-336.
- Jun-Hyung, T and Murray, B.I. (2015).** Enhanced Cuticular Penetration as the Mechanism for Synergy of Insecticidal Constituents of Rosemary Essential Oil in *Trichoplusia Ni*. *Scientific Reports*, 5:12690.

K

- Kalemba, D. and Kunicka, A. (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.*, 10,813-829.
- Karioti, A, Vrahimi-Hadjilouca, T, Droushiotis, D, Rancic, A, Hadjipavlou-Litina, D and Skaltsa, H. (2006).** Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Medica*. 72:1330-1334.
- Keravis, G. (1997).** Spectrometrie de masse et chromatographie dans l'analyse des plantes aromatiques et huilées essentielles. 375-384. Article : Hamid et al 2011.
- Khafagy, S.M., Sabri, N.N., Abd El-Salam, N.A. and El-Din, A.A.S. (1979).** Isolation of sesamin-like compound and acacetin 7-o neohesperidoside from *Otanthus maritimus*. *Planta Medica*, 35, 186–187.
- Khandelwal, K. (2008).** Practical pharmacognosy. Pragati Books.
- Khana, M., Mousa, AA., Syamasundar, KV., and Alkathlan, HZ. (2012).** Determination of chemical constituents of leaf and stem essential oils of *Artemisia monosperma* from central Saudi Arabia. *Natural Product Communications*, 7(8), 1079-1082.
- Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, B., Weigand, H., Weis, N. (1989).** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. - *J. Ess. Oil Res.*, 1(3), 119-128.
- Kogan, S.B., Kaliya, M. and Froumin, N. (2006).** "Liquid Phase Isomerization of Isoprenol into Prenol in Hydrogen Environment." *Applied Catalysis A: General*. 297 (2):231-6.
- Koh, K.J., A.L. Pearce, G. Marshman, J.J. Finlay-Jones and P.H. Hart, (2002).** Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *Br. J. Dermatol.*, 147: 1212-1217.

- Koppel, C., Martens, F., Schirop., Th., Ibe, K (1988).** Hemoperfusion in acute camphor poisoning. *Int Care Med* 14: 431-433.
- Kowalski, R. (2008a).** Antimicrobial activity of essential oils and extracts of rosinweed (*Silphium trifoliatum* and *Silphium integrifolium*) plants used by the American Indians. *Flavour Fragr. J.*, 23: 426–433.
- Kowalski, R. (2008b).** The Chemical Composition of Essential Oils and Lipophilic Extracts of *Silphium integrifolium* Michx. and *Silphium trifoliatum* L. Rhizomes. *Journal of Essential Oil Research*, 20:3, 255-259.
- Kowalski, R and Wolski, T. (2005).** The chemical composition of essential oils of *Silphium perfoliatum* L. *Flavour Fragr. J.*, 20(3), 306-310.
- Kowalski, R and Kedzia, B. (2007).** Antibacterial Activity of *Silphium perfoliatum* Extracts. *Pharmaceutical Biology*, 45(6), 494-500.
- Kuropka, G., Neugebauer, M., and Glombitza, KW. (1991).** Essential Oils of *Achillea ptarmica*. *Ptanta Med.* 57, 492-494.
- Keszei, A., Brubaker, C.L and Foley, W.J. (2008).** A molecular perspective on terpene variation in Australian Myrtaceae. *Australian Journal of Botany*, 56, 197–213.

L

- Lafferty, M.C. and D.B. Stauffer.(1994).** Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th ed. Mass spectrometry library search system BenchTop/PBM, version 3.10 d. Palisade Co., Newfield.
- Lagunez-Rivera, L. (2006).** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse Doctorat, institut national polytechnique de Toulouse. 15-35.
- Lahlou, M. (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy. Research* 18: P435-448.
- Laouer, H. (2004).** Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- Le Hir, A., Chaumeil, J.C and Brossard, D. (2009).** 'Pharmacie Galénique : Bonnes Pratiques de Fabrication des Médicaments', Elsevier Masson.

- Liebelt, E.L., Shannon, M.W. (1993).** Small doses, big problems: a selected review of highly toxic common medications. *Ped Emerg Care* 9: 292- 297.
- Li, X.M., Tian, S.L., Pang, Z.C., Shi, J.Y., Feng, Z.S., Zhang, Y.M. (2009).** Extraction of Cuminumcuminum essential oil by combination technology of organic solvent with low boiling point and steam distillation. *Food Chemistry*.115:1114–1119.
- Long, E.M., Chun, Y.E., Tsuneki, H., Xiao, J.F., Xia, M.Y., Wang, M.W., Kimura, I. (2008).** B-Eudesmol suppresses tummor growth through inhibition of tumour neovascular isation and tumor cell proliferation. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 2, 159-167.
- Loomis, W.D & Croteau, R. (1980).** Biochemistry of terpenoids. Stumpf PK (ed.), *Lipids, structures and functions. The Biochemistry of Plants*, Academic Press, New York, 4:363-418.
- Lubbe, A & Verpoorte, R. (2011).** ‘Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants for Specialty Industrial Materials’, *Industrial Crops and Products*, Vo34, N°1, pp. 785 – 801.
- Lucchesi, M.E. (2005).** Extraction sans solvant assistée par les micro-ondes. Thèse pour le diplôme de docteur en sciences (chimie). Université de la Réunion.
- Lucchesi, M.E., Chemat, F., Smadja, J. (2004).** Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography. A* 1043:323-327.
- Lukman, S.S., Galata, M., Demissie, Z.A., Mahmoud, S.S. (2012).** Molecular cloning and functional characterization of borneol dehydrogenase from glandular trichomes of *Lavandula x intermedia*. *Arch. Biochem. Biophys.* 528, 163e170.
- Luna, A, Lema-Alba, R.C., Dambolena, J.S., Zygadlo, J.A., Labaque, M.C and Marin, R.H. (2017).** Thymol as natural antioxidant additive for poultry feed: oxidative stability improvement. *Poultry Science*, 96 (9): 3214–3220.

M

- Machado, K.C., Islam, M.T., Ali, E.S., Rouf, R., Uddin, S.J., Dev, S., Shilpi, J.A., Shill, M.C., Reza, H.M., Das, A.K., Shaw, S., Mubarak, M.S., Mishra, S.K., Melo-Cavalcante, A.M.C. (2018).** A systematic review on the neuroprotective perspectives of beta-caryophyllene. *Phytotherapy Research*. 1–13.
- Maffei et Sacco. (1987).** Perfumer and flavorist. *Flavour and Fragrance Journal*.13: P61.

- Maia, J. G. S., da Silva, M. H. L., Zoghbi, M. D. G. B. and Andrade E. H. (2002).** Composition of the Essential Oils of *Conyza bonariensis* (L.) Cronquist. *J. Essent. Oil Res.*, 14, 325.
- Mann, J. (1987).** Secondary metabolism. Clarendon press. Oxford. P347.
- Manoguerra, AS., Erdman, AR., Wax, PM., Nelson, LS., Caravati, EM., Cobaugh, DJ., Chyka, PA., Olson, KR., Booze, LL., Woolf, AD., Keyes, DC., Christianson, G., Scharman, EJ., Troutman, WG. (2006).** Camphor Poisoning: an evidencebased practice guideline for out-of-hospital management. *Clin Toxicol (Phila)* 44: 357-370.
- Mantle, D, Anderton, J G, Falkous, G, Barnes, M, Jones, P and Perry, E K. (1998).** Comparison of methods for determination of total antioxydant status: application. to analysis of medicinal plant essential oils. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry & Molecular Biology.* 121:385-391.
- Mapoli, G. (2003).** Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles de *E. citriodora* acclimaté à Pointe-Noire (Congo-Brazzaville). Mémoire d'études approfondies, Université de Congo, 58p.
- Martins, M.M., de Aquino, F.J., de Oliveira, A., do Nascimento, E.A. Chang, R., Borges, M.S., de Melo, G.B., da Silva, C.V., Machado F.C., & de Moraes, S.A.L. (2015).** Chemical Composition, Antimicrobial and Antiprotozoal Activity of Essential Oils From *Vernonia brasiliensis* (Less) Druce (Asteraceae), *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18:3, 561-569.
- Maruyama, N., Sekimoto, N. and Ishibashi, H. (2005).** Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *Journal of inflammation.* 2:111.
- Marzoukia, H., Elaissib, A., Khaldic, A., Bouzidd, S., Falconierie, D., Marongiu B., Pirasa, A. and Porcedda, S. (2009).** Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis*L. Essential oil from Tunisia. *The Open Natural Products Journal*, Vol. 2; PP86-9.
- Matsuda, H., Morikawa, T., Toguchidam, I., Harima, S., Yoshikawa, .M. (2002).**Chemical and pharmaceutical bulletin 50: 972.
- Miguel, M.G. (2010).** "Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review", *Molecules*, Vol. 15, N°12, pp. 9252 - 9287.
- Millet, F. (2010).** Les Formes Galéniques et les Huiles Essentielles. *Phytothérapie*, 8: 33–36.

- Mohamed, N. (2005).** Study on important parameters affecting the Hydro-distillation for ginger oil production. Master Thesis. Universiti Teknologi Malaysia. P172.
- Morin, P., Richard, H. (1985).** Thermal degradation of linalyl acetate during steam distillation in Proc. 4 Fh Weurman Flav. Res. Symp. Elsevier Sci. Publ., B.V. Amsterdam, 563-576p.
- Muselli, A., Rossi, P.G., Desjobert, J.M., Bernardini, A.F., Berti, L. and Costa, J. (2007).** Chemical composition and antibacterial activity of *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmans. & Link essential oil from Corsica. Flavour and Fragrance Journal, 22, 217–223.

N

- Naganuma, M., Hirose, S., Nakayama, Y., Nakajima, K., Someya, T. (1985).** A study of the phototoxicity of lemon oil. In: étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Arch. Dermatol. Res. 278, 31-36.

O

- Ogata, M., Hoshi, M., Urano, S and Endo, T. (2000).** Antioxidant Activity of Eugenol and Related Monomeric and Dimeric Compounds. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 48 (10): 1467-1469.
- Olivoto T., Nardino M., Carvalho I. R., Follmann D.N., Szareski V. J., Ferrari M., de Pelegrin A. J. and V. Q. de Souza. (2017).** Plant secondary metabolites and its dynamical systems of induction in response to environmental factors: A review. African Journal of Agricultural Research 12(2) : 71-84.
- Olle, M. and Bender, I. (2010).** The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. Agronomy Research8 (3): PP687-696.

P

- Paena A.T., D'Aquila P.S., Panin F., Pippia P., Moretti M.D.L. (2002).** Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. Phytomedicine. 9:7216-726.

- Paris, M et Hurabielle, M. (1981).** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson 339 p.
- Penalver, P., Huerta, B., Borge, C., Astorga, R., Romero, R., Perea, A. (2005).** Acta Pathologica Microbiologica Immunologica Scandinavica, 113:1-6.
- Pibiri, M.C. (2005).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat. Polytechniques Fédérale de Lausanne, Suisse.
- Pinto, E., Pina-vaz, C., Salgueiro, L., Gocalves, M., Costa-de-Oliveira, S., Cavaleiro, C., Palmeira, S., Rodrigues, A. and Martinez-de-oliveira, J. (2006).** Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. Journal of Medical Microbiology. 55 : 1367-1373.
- Poulter, D.C. (2009).** Bioorganic Chemistry. A Natural Reunion of the Physical and Life Sciences. J. Org. Chem., 74, 2631–2645.
- Porter, N. (2001).** Essential oils and their production. Crop & Food Research. Number 39.

Q

- Quezel, P & Santa, S. (1963).** Nouvelles flore d'Algérie et des régions désertiques méditerranéennes, p. 659, tome II, Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, France.

R

- Rai, M.K., Acharya D and Wadegaonkar, P. (2003).** Plant derived-antimycotics: potential of Asteraceous plants, In: plant-derived antimycotics: Current Trends and Future prospects, Haworth press, N-York, London, Oxford. 165-185.
- Razavi, S.M., Nesrollahi, P and Alireza, y. (2017).** Antioxidant potential of lettuce treated, by Thymol as an allochemical. Peertechz. Journal of Biological Research and Development, 2 (1):012-015.
- Razzaghi-Abyaneh, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Rezaee, M.B. , Jaimand, K. , Alinezhad, S., Saberi, R. and Yoshinari, T. (2009).** Chemical composition and anti aflatoxigenic activity of *Carum carvi* L., *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils. Food Control, 20, 1018–1024

- Rekka EA, Kourounakis P, Kourounakis PN.** (1996). Investigation of the effect of chamazulene on lipid peroxidation and free radical processes. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 92:361–364.
- Reutter, L. (1923).** *Traité de matière médicale et de chimie végétale.* Paris librairie J.B. Baillière et Fils. Paris. France.
- Richard, H. (1992).** *Epices et Aromates. Technologie et documentation* Lavoisier. Paris. P339.
- Richard, H., Multon, J. (1992).** *Les arômes alimentaires. Sciences et techniques agroalimentaires.* Edition Lavoisier. Paris. P 438.
- Ried, K., Jager, A., Light, M., Mulholland, D., Van Staden J. (2005).** Phytochemical and pharmacological screening of Sterculiaceae species and isolation of antibacterial compounds. *Journal of Ethnopharmacol.* 97(2) : P 285-291.
- Robard, I. (2004).** *Plantes Médicinales d’Outre-Mer et Pharmacopées : Aspects Juridiques, Economiques et Culturels.* *Phytothérapie,* 2:16–21.
- Romeo, V., Verzera, A., Ragusa, S. and Condurso, C. (2007).** The aerial part headspace constituents of *Otanthus maritimus* L. (Asteraceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants,* 10, 173–178.

S

- Sabri, N.N., Abd El-Salem, N.A., Seif El-Din, A.A. and Khafagy, S.M. (1983).** Sesquiterpene lactones of *Otanthus maritimus*. *Phytochemistry,* 22, 201–202.
- Safayhi H, Sabieraj J, Sailer ER, Ammon HPT.** (1994). Chamazulene – an antioxidant-type inhibitor of leukotriene B-4 formation. *Planta Med.* 60:410–413.
- Schmid-Scheonbein, G.W. (2006).** Analysis of inflammation. *Annual Review of Biomedical Engineering.,* 8:93–151.
- Schmidt, E., Jirovetz; L., Buchbauer, G., Denkova. (2005).** Antimicrobial Testings and Gas Chromatographic Analyses of Aroma Chemicals. *J. Essential Oil Bearing Plants,* 8:99-106.
- Sell CS.** (1999). *Ingredients for the modern perfumery industry.* In: Pybus DH, Sell CS (eds) *The chemistry of fragrances.* The Royal Society of Chemistry, UK.
- Senatore, F., Napolitano, F., Arnold, N., Bruno M., Herz, W. (2005).** Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L. (Asteraceae). *Flavour and Fragrance Journal.* 20(3): P291-294.

- Seu-Saberno, M., Blakeway, J. (1984).** « La mouse de chêne, une base de la parfumerie». Pour la science. Edition Française de Scientific American. P83.
- Shahi, C., Leitch, M and Lafortest, S. (2009).**Marketing Intelligence System for Small-Scale Essential Oils Industry of North-Western Ontario, IUFRO 3.08 Small Scale Forestry Symposium Proceedings, pp. 227 – 236, Morgantown, West Virginia, June 7-11.
- Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M and Corke, H. (2005).** ‘Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of their Phenolic Constituents’, Journal of Agriculture and Food Chemistry, Vol. 53, N°20, pp. 7749 – 7759.
- Sharon, S.V., Diego, F.Z., Méndez-Sanchez, S.C., Rodríguez-Sanabria, F., Stashenko, E.E and Luna, J.E.D. (2014).** Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Parasitology Research, 113 (7):2647– 2654.
- Siegel, E., Wason, S (1986).** Camphor toxicity. *Ped Clin North Am* 33: 375-379.
- Silano, V. et Delbo, M. (2008).** Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller. EMEA, European Medicines Agency. London. P23.
- Singh G. (2004).** Plant Systematics: An integrated approach. Science publishers.
- Singh, V.K and Singh, D.K. (2008).** Pharmacological Effects of Garlic (*Allium sativum* L.). Annual Review of Biomedical Sciences, 10: 6-26. Sofowora, A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. Ed. Karthala, 22p.
- Sizova NV. (2012).** Composition and antioxidant activity of essential oils containing azulene derivatives. *Pharm Chem J.* 46:369–371, doi:10.1007/s11094-012-0800-6.
- Smith, C.K., Moore, C.A, Alahi, E.N, Smart, A.T. et Hotchkiss, S.A. (2000).** Human skin absorption and metabolism of the contactallergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *ToxicoS.* In: étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse *Appl. Pharmacol.* 168,189-99.
- Sokolova, A.S., Yarovaya, O.I., Shernyukov, A.V., Pokrovsky, M.A., Pokrovsky, A.G., Lavrinenko, V.A., Zarubaev, V.V., Tretiak, T.S., Anfimov, P.M., Kiselev, O.I., et al.(2013).** New quaternary ammonium camphor derivatives and their antiviral activity, genotoxic effects and cytotoxicity. *Bioorg. Med. Chem.* 21, 6690–6698.
- Spichiger, R. E. (2002).** Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales. PPUR Presses Polytechniques, Lausanne, Suisse.

- Srivastava, K.C., Bordia, A and Verma, S.K. (1995).** Garlic (*Allium sativum*) for disease prevention. *South African Journal of Science*, 91:68-75.
- Stahl, E. (1954).** Über das Cham-Azulen und dessen Vorstufen, II. Mitteil.: Cham-Azulencarbonsäure aus Kamill. *Chemische Berichte*, 87, 505-507.
- Stanojevic LP, Marjanovic-Balaban ZR, Kalaba VD, Stanojevic JS & Cvetkovic DJ. (2016).** Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Chamomile Flowers Essential Oil (*Matricaria chamomilla* L.), *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19:8, 2017-2028.
- Stefanini, M., Ming, L., Marques, M., Facanali, R., Meireles, M., Moura, L., Marchese, J. and Sousa, L. (2006).** Essential oil constituents of different organs of fennel (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare*). *Review. Bras. Pl. Medecine de Botucatu*. Vol.8: P193-198.
- Steflitsch, W & Steflitsch, M. (2008).** Clinical Aromatherapy, *Journal of Men's Health*, Vol. 5, N°1, pp. 74 – 85.
- Sudipta, J., Asit, R., Anwasha, B., Ambika, S., Noohi, N., Suprava, S., Basudeba, K., Jeetendranath, P., Pratap, C.P and Sanghamitra, N. (2017).** Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from leaves and rhizomes of *Curcuma angustifolia* Roxb. *Natural Product Research*, 31 (12): 2188–2191.

T

- Tariku, Y., Hymete, A., Hailu, A. and Rohloff, J. (2011).** In vitro Evaluation of Antileishmanial Activity and Toxicity of Essential Oils of *Artemisia absinthium* and *Echinops kebericho*. *Chemistry & Biodiversity*, 8, 614-623.
- Tepe, B., Deferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. et Polissiou, M. (2005).** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (*Lamiaceae*). *Food Chemistry*. 90(3): P333-340.
- Thanos CA, Georghiou K, Douma DJ, Marangaki CJ. (1991).** Photoinhibition of seed germination in Mediterranean maritime plants. *Anal. Bot.* 68: P469-475.
- Tongnuanchan, P., Benjakul, S.(2014).** Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *The Journal of Food Science.*, 79:1231–1249.
- Tsoukatou, M., Vagias, C., Harvala, C. et Roussis, V. (2000).** Essential oil and headspace analysis of the maritime *Bombycilaena erecta* and *Otanthus maritimus* species growing wild in Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 12, 360–364.

Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., & Weeb, D.A. (1976). Cambridge, UK: Cambridge University Press. Flora Europea (Vol. 4, p. 168).

U

Ultee, A., Kets, W., Smid, E. (1999). Mechanisms of Action of carvacrol on the Food Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68:-4610.

V

Vaiyapuri, S.P., Athinarayanan, J and Alshatwi, A.A. (2016). Anticancer activity of an ultrasonic nanoemulsion formulation of *Nigella sativa* L. essential oil on human breast cancer cells. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31: 449-455.

Van den Dool, H., and Kratz, P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr. A.*, 11, 463-471.

Verma, RS., Padalia, RC., Chauhan, A., Chanotiya, CS. and Yadav, A. (2011). Chemical Investigation of the Root Essential Oil of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Current Bioactive Compounds*, 7, 281-286.

Verpoorte, R. (1998). “Exploration of Nature’s Chemodiversity: The Role of Secondary Metabolites as Leads in Drug Development.” *Drug Discovery Today* 3 (5):232-8.

Viuda-Martos, M., Ruiz Navajas, Y., Sánchez Zapata, E., Fernández-López, J and Pérez-Álvarez, J.A. (2009). ‘Antioxidant Activity of Essential Oils of Five Spice Plants Widely Used in a Mediterranean Diet’, *Flavour and Fragrance Journal*, Vol. 25, N°1, pp. 13 – 19.

W

www.Wikipédia.org

Wise, M.L., Savage, T.J., Katahira, E., Croteau, R., (1998). Monoterpene synthases from common sage (*Salvia officinalis*). *J. Biol. Chem.* 273 (24), 14891-14899.

Wong, C., Li, H., Cheng, K., Chen, F. (2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*. 97: P705-711.

Y

Yen TB., Chang ST. (2008). Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi. *Bioresource of Technology*. 99: 232-236.

Z

Zalkow, L. H., Harris, R. N., Van Derveer, D. and Bertrand J. A. (1977). Isocomene: a novel sesquiterpene from *Isocoma Wrightii*. X-Ray crystal structure of the corresponding diol. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1977, 456-457.

Zareiyan, F., Rowshan, W., Bahmanzadegan, A and Hatami, A. (2017). *Gontscharovia popovii*, a new source of carvacrol, its polyphenolic constituents, essential oil analysis, total phenolic content and antioxidant activity. *Natural Product Research*, 28:1-4.

Zhiri, A., Baudoux, D. (2005). Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies.

Zuccarini, P. (2009). Camphor: risks and benefits of a widely used natural product. *J. Appl. Sci. Environ. Manage.*, 13(2), 69-74.