

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE 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 : Biotechnologie Micobienne

THEME

Contribution à l'étude de la composition
phytochimique de l'huile essentielle des fleurs d'une
plante médicinale et aromatique : *Syzygium cumini*
(L.) Skeels.

Présenté par :

M^{lle} FERHANI Khadidja & M^{lle} REZOUG Safia

Soutenue le 00/10/2021 devant le jury :

Mme. AIT KAKI S., Pr, UMBB _____ Présidente
Mme. AMELLAL H., Pr, UMBB _____ Examinatrice
Mme. NEGHLIZ H., MCB, UMBB _____ Promotrice
Mr. BENABDELKADER T., MCA, UMBB _____ Co-Promoteur

-2021/2022-

Remerciement

*Avant tout, nous remercions infiniment **DIEU** le tout puissant de nous avoir donné le courage et la santé pour accomplir ce travail.*

Nous tenons à remercier du fond du cœur, tous ceux et toutes celles qui nous ont dirigés, soutenus, aidés et encouragés.

*Nous exprimons notre profonde gratitude à notre promotrice madame **NEGHLIZ Hayat** pour tous les efforts qu'elle a consenti tout au long de l'élaboration de ce travail .Ses encouragements, et ses précieux conseils.*

*Nous tenons à remercier notre co-promoteur Monsieur **BENABDELKADER Tarek** pour sa disponibilité et ses précieux conseils. Nous avons apprécié son dynamisme et son enthousiasme communicatifs, l'attention et l'intérêt qu'il a porté à notre travail, ainsi que sa gentillesse et ses encouragements dont il a fait preuve à notre égard.*

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements,

*Nos sincères remerciements vont aux membres de jury, Mme **AIT KAKI Sabrina** et Mme **AMELLAL Hayat** pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'examiner et de juger ce travail.*

Enfin, pour leur soutien permanent, nous remercions de tout cœur nos parents, nos frères et sœur pour leur amour, soutien et leur compréhension.

Merci à tous.



Dédicace

Avec l'aide de Dieu le tout puissant qui m'a éclairé les chemins du savoir, je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à :

Mon adorable maman : tu es la femme qui m'arrosé de tendresse et d'espoirs et qui m'a bénie par ces prières. Je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

Mon très cher père : tu es l'homme qui doit ma réussite, Aucun dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect qui toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que t'as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

Que Dieu vous les protège et donne une longue et joyeuse vie.

Mes sœurs : **Basma, Zahra, Chaima** pour tout l'amour qu'elles m'apportent et qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.

Que Dieu les protège et leurs offre chance et le bonheur.

Mon cher frère : **Seif Eddine** tu es mon soutien, ma force, ma vie je t'aime et **Sofiane** et **Abd El ghafour** que je considère comme mes deuxième frères en lui souhaitant tous le succès et tout le bonheur.

Mon petit ange : **Mohamed Islam** que Dieu le garde et de vous faire parmi les justes.

Mes deux professeurs : **Monsieur Ben Abd el Kader** Et **Madame Neghliz** qui ont été une bénédiction de Dieu tout puissant et un soutien pour moi malgré les circonstances et la difficulté que j'ai traversées. je demande à Dieu de le bénir de sa grâce et de protéger leur petit ange **Ishak**.

Mes grands-mères et pères et toutes ma famille **REZoug** et **MEKKARI**.

Mes amies : **Khadidja, Houda, Chaima, Sarah, Yasmine, Hanane, Samia, sabrina, zira**, qui ont partagé avec moi tous les moments qu'on a passé ensemble

Ainsi que tous les membres de ma promotion de biotechnologie microbienne.

Mon adorable binôme **Khadidja** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Sans oublié mes chats **Simo** et **Kahlocha**, qui j'ai perdu et qui avait une raison d'être récompensé par Dieu tout puissant.

« اللهم اني اسالك في كل كبد رطوبة اجر و ان تجعله شفيعي يوم القيامة . »

SAFIA

Dédicace

Avant tout grâce à Dieu qui nous a aidés durant toutes les années de notre cursus universitaire

*Je dédie tout particulièrement ce travail l'être le plus cher à mon cœur **ma mère**, symbole de tendresse et de sacrifices pour son soutien moral et assistance inestimable pendant toutes mes longues années d'études et pour tout l'amour qu'elle m'a donné pour tout ça merci maman, que dieu te garde pour nous*

***Mon père**, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de consentir vous avez fait plus qu'aucun père n'a fait pour que ses enfants suivent le bon chemin. Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond respect et amour, que dieu te garde pour nous*

*A mes précieux sœurs et frère **Narimane, Nour el Houda, Ahmed** vous êtes la lumière de ma vie sans votre présence je pourrai jamais avancer aucun décès ne saurait exprimer tout ce que je ressens pour vous.... je vous aime*

*A ma grande adorable famille grandes père-mère, oncles, tantes, cousins et cousines spécialement **Soumia, Mélina, Youcef et Omar**.*

*Une spéciale dédicace à mon magnifique binôme qui compte énormément pour moi **Safia***

*A tous mes amis spécialement **Haoua, Meriem, Abdou** qui m'ont accompagné, aidé, soutenu et encouragé... merci*

Khadidja

Liste des Figures

Figure I.2.	Formule développée et modèle 3D de l'unité isoprénique (C ₅ H ₈)	<u>8</u>
Figure I.3.	Exemples de monoterpènes (acycliques et cycliques) rencontrés dans les huiles essentielles	<u>13</u>
Figure I.4.	Exemples de sesquiterpènes rencontrés dans les huiles essentielles	<u>13</u>
Figure I.5.	Structure de quelques composés aromatiques C ₆ -C ₃ caractéristiques des huiles essentielles	<u>14</u>
Figure I.6.	Exemples de composés aromatiques C ₆ -C ₁ rencontrés dans les huiles essentielles	<u>14</u>
Figure I.7.	Montage d'extraction par d'hydro-distillation	<u>17</u>
Figure I.8.	Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	<u>18</u>
Figure I.9.	Montage d'extraction par hydrodiffusion	<u>18</u>
Figure I.10.	Montage d'extraction assistée par micro-onde	<u>20</u>
Figure I.11.	Méthode d'extraction par expression à froid	<u>21</u>
Figure I.12.	Cellules d' <i>E. faecalis</i> après l'exposition (a) pas d'HE, (b) HE d'orange à 2 %, (c) vapeur à 15 mg/l d'HE d'orange, (d) exemple de lyse cellulaire	<u>23</u>
Figure I.13.	Sites d'action des HEs sur la cellule bactérienne	<u>25</u>
Figure I.14.	Micrographies en microscopie à transmission des cellules de <i>Staphylococcus aureus</i>	<u>27</u>
Figure I.15.	<i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	<u>34</u>
Figure I.16.	Carte géographique de la répartition de <i>S. cumini</i>	<u>35</u>
Figure II.1.	Site géographique de la récolte de <i>S. cumini</i> utilisée dans cette étude	<u>38</u>
Figure II.2.	Montage Clevenger d'hydrodistillation	<u>39</u>
Figure III.1.	Chromatogramme ionique total (GC/MS) de l'huile essentielle des fleurs de <i>Syzygium cumini</i> algérienne avec le spectre de masse du constituant majoritaire (l'encadrement au-dessus)	<u>44</u>
Figure III.2.	Teneurs des classes chimiques et le total identifié de l'HE des fleurs de <i>Syzygium cumini</i>	<u>46</u>
Figure III.4.	Teneurs et structures chimiques développées des constituants majoritaires de l'HE des fleurs de <i>S. cumini</i>	<u>47</u>
Figure III.4.	Dendrogramme de l'analyse du cluster hiérarchique des HEs des organes de reproductions de plusieurs populations de <i>S. cumini</i> d'origine algérienne, brésilienne, indienne et égyptienne	<u>52</u>

Liste des Tableaux

Tableau I.1	Classification des composés phénoliques_____	<u>6</u>
Tableau I.2.	Classification des terpénoïdes_____	<u>8</u>
Tableau II.1.	Conditions opératoires GC-MS utilisées pour l'analyse de l'HE de <i>S. cumini</i> _____	<u>40</u>
Tableau III.1.	Composition chimique de l'huile essentielle des fleurs de <i>S. cumini</i> cultivée en Algérie_____	<u>45</u>
Tableau III.2.	Rendement et composition chimique majeure des huiles essentielles de <i>S. cumuni</i> dans la littérature_____	<u>50</u>

Liste des abréviations

<i>S. cumini</i>	<i>Syzygium cumini</i>
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HE	Huile essentielle
IR	Indices de retention
TR	Temps de retention

مساهمة في دراسة التركيب الكيميائي النباتي للزيت الأساسية لأزهار النبات العطري الطبي
Syzygium cumini (L.) Skeels.

Syzygium cumini هو نبات استوائي يستخدم على نطاق واسع في الطب التقليدي. في إطار تثمين النباتات الطبية والعطرية الجزائرية، تم في هذا العمل تحديد التركيب الكيميائي للزيت الأساسي لأزهار نبات *Syzygium cumini* المزروع في منطقة بومرداس (الجزائر). أظهر تحليل التركيب الكيميائي باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازية المقترنة بمطيافية الكتلة وجود 32 مركب تمثل (97.70 %) من المحتوى الكلي للزيت الأساسي. يتكون الزيت الأساسي بشكل رئيسي من المونوترينينات الهيدروكربونية (38.60 %) المتبوعة بالسيتوكوينترينينات الهيدروكربونية (33.55 %) والمونوترينينات الأوكسجينية (20.31 %). المركبات الأساسية هي الفا – بينين (15.97 %), زاد – بيتا – اوسيمان (13.80 %), كاريوفيلان أوكسيد (12.65 %), بيتا – كاريوفيلان (12.61 %) وزاد – بيتا – فارنسان (10.32 %).

الكلمات المفتاحية: *Syzygium cumini*, الزيوت الأساسية, الكروماتوغرافيا الغازية/مطيافية الكتلة, الأزهار, الفا – بينين.

Résumé

Contribution à l'étude de la composition phytochimique de l'huile essentielle des fleurs d'une plante médicinale et aromatique : *Syzygium cumini* (L.) Skeels.

Syzygium cumini est une plante médicinale et aromatique tropicale très utilisée en médecine traditionnelle. Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et aromatiques algérienne, nous avons déterminé dans ce travail la composition chimique de l'huile essentielle (HE) des fleurs de *Syzygium cumini* cultivée dans la région de Boumerdes (Algérie). L'analyse par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) a permis l'identification de 32 composés représentant 97.70 % du contenu totale de l'huile. L'HE est constituée principalement de monoterpènes hydrocarbonés (38.60%) suivi de sesquiterpènes hydrocarbonés (33.55%) et de monoterpènes oxygénés (20.31%). Les constituants majoritaires sont l' α -Pinene (15.97%), (Z)- β -Ocimène (13.80%), Caryophyllène oxide (12.65%), β -Caryophyllène (12.61%) et (Z)- β -Farnesène (10.32%).

Mots clés : *Syzygium cumini*, Huiles essentielles, GC-MS, Fleurs, α -Pinene.

ABSTRACT

Contribution to the study of the phytochemical composition of essential oil from leaves of a medicinal and aromatic plant: *Syzygium cumini* (L.) Skeels.

Syzygium cumini is a tropical medicinal plant widely used in traditional medicine. As part of the valorization of Algerian medicinal and aromatic plants, we determined in this work the chemical composition of the essential oil (EO) from flowers of *Syzygium cumini* cultivated in the region of Boumerdes (Algeria). Analysis by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) allowed the identification of 32 compounds representing 97, 70% of the total oil content. EO consists mainly of hydrocarbon monoterpenes (38.60%) followed by hydrocarbon sesquiterpenes (23.58%) and oxygenated monoterpenes (20.31%). The major constituents are l' α -pinene (15.97%), (Z)- β -ocimene (13.80%), caryophyllene oxide (12.65%), β -caryophyllene (12.61%) et (Z)- β -Farnesene (10.32%).

Key words: *Syzygium cumini*, Essential oils, GC-MS, Flowers, α -Pinene.

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, phytothérapie et aromathérapie: Terminologie	4
I.2.	Métabolites secondaires des plantes	4
I.2.1.	Définition	4
I.2.2.	Classification	5
I.2.2.1.	Les composés phénoliques	5
I.2.2.2.	Les Alcaloïdes	7
I.2.2.3.	Les terpènes	8
I.3.	Les huiles essentielles	9
I.3.1.	Définition	9
I.3.2.	Propriétés physico-chimiques	9
I.3.3.	Rôle des huiles essentielles chez les plantes	10
I.3.4.	Secteur d'application	10
I.3.4.1.	Secteur de cosmétologie et parfumerie	10
I.3.4.2.	Secteur alimentaire	10
I.3.4.3.	Secteur médical	11
I.3.5.	Répartition botanique	11
I.3.6.	Localisation dans la plante	11
I.3.7.	Composition chimique	12
I.3.7.1.	Les terpènes	12
I.3.7.2.	Les composés aromatiques	13
I.3.8.	Notion de chémotype	14
I.3.9.	Facteurs influençant la composition chimique des HEs	15
I.3.9.1.	Facteurs intrinsèques	15
I.3.9.2.	Facteurs extrinsèques	16
I.3.10.	Méthodes d'extraction des huiles essentielles	16
I.3.10.1.	La distillation	16
I.3.10.2.	Extraction par les solvants organiques	19
I.3.10.3.	Extraction par CO ₂ supercritique	19
I.3.10.4.	Extraction par ultrasons	20
I.3.10.5.	Extraction par micro-ondes	20
I.3.10.6.	Expression à froid	21
I.3.11.	Les méthodes d'analyses des huiles essentielles	21
I.3.11.1.	Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	21
I.3.11.2.	Chromatographie en phase gazeuse couplé avec la spectrométrie de masse (CPG/SM)	22
I.3.12.	Activités biologiques des huiles essentielles	22

I.3.12.1.	Activité antimicrobienne	<u>22</u>
a)	Activité antibactérienne	<u>23</u>
	Le mode d'action des HEs sur les bactéries	<u>24</u>
b)	Activité antifongique	<u>27</u>
c)	Activité antivirale	<u>28</u>
I.3.12.2.	Activité anti-inflammatoire	<u>29</u>
I.3.12.3.	Activité antioxydante	<u>30</u>
I.3.12.4.	Activité anti-cancéreuse	<u>30</u>
I.3.12.5.	Activité insecticide	<u>31</u>
I.3.13.	La toxicité des HEs	<u>31</u>
I.4.	Aperçu sur la famille Myrtacées	<u>32</u>
I.5.	<i>Syzygium Cumini</i> (L.) Skeels	<u>33</u>
I.5.1.	Classification Botanique	<u>33</u>
I.5.2.	Description botanique	<u>33</u>
I.5.3.	Répartition géographique	<u>35</u>
I.5.4.	Utilisation thérapeutique de <i>S. cumini</i>	<u>35</u>
I.5.5.	Travaux antérieurs sur <i>S. cumini</i>	<u>36</u>
 Chapitre II. Matériel et Méthodes		
II.1.	Matériel végétal	<u>38</u>
II.2.	Extraction des huiles essentielles	<u>39</u>
II.2.1.	Hydrodistillation	<u>39</u>
II.3.	Analyse de l'huile essentielle de <i>S. cumini</i> par chromatographie gazeuse	<u>40</u>
II.3.1.	Analyse de l'huile essentielle par couplage chromatographie gazeuse-spectrophotométrie de masse (GC-MS)	<u>40</u>
II.3.2.	Identification des composés volatils	<u>41</u>
II.3.3.	Quantification des composés volatils	<u>41</u>
II. 4.	Analyse statistique cluster hiérarchique	<u>41</u>
 Chapitre III. Résultats et Discussion		
III.	Caractérisation phytochimique de l'huile essentielle de fleurs de <i>S. cumini</i>	<u>43</u>
III.1.	Résultats	<u>43</u>
III. 2.	Discussion	<u>43</u>
	Conclusion et Perspectives	<u>55</u>
	Références Bibliographiques	<u>57</u>

Introduction

Générale

Introduction générale

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme non seulement de se nourrir, se vêtir, se chauffer, se parfumer mais aussi de maintenir son équilibre, soulager ses souffrances, préserver et soigner les maladies qui nuisent à sa santé. Par ailleurs, les plantes aromatiques et médicinales jouent un rôle économique considérable dans le secteur des industries de l'agroalimentaire, de la parfumerie, des cosmétiques et de la pharmacie (Brunetton, 1999).

L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 81% de l'humanité a recours à la préparation traditionnelle à base de plantes en tant que soins de santé primaire (Who, 2015). Les médicaments à base de plantes sont encore largement utilisés et ont une importance considérable dans le commerce international (Penchev, 2010 ; Leblanc, 2015). En effet, l'activité thérapeutique des plantes médicinales repose sur les principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, hétérosides, saponozides, quinones, vitamines ...et huiles essentielles (Lafon *et al.*, 1988 ; Salé, 1991).

De nos jours, les huiles essentielles suscitent de plus en plus l'intérêt des chimistes, biologistes et médecins en raison de leur utilisation dans le traitement de certaines maladies infectieuses pour lesquelles les antibiotiques de synthèse deviennent de moins en moins actifs ou dans la préservation des aliments contre l'oxydation ou comme alternatives aux produits chimiques (Fransworth *et al.*, 1986; Roux *et al.*, 2007). De plus, les huiles essentielles constituent des produits à forte valeur ajoutée qui peuvent être valorisés dans différents secteurs d'activités : pharmacie, cosmétique ou agroalimentaire. Ces mélanges complexes peuvent renfermer une centaine (et parfois plus) de constituants. La valorisation de ces substances naturelles nécessite de passer préalablement par une étape de caractérisation de leur composition chimique, permettant ainsi de les caractériser, d'en contrôler la qualité et de mettre en évidence une éventuelle spécificité. Partant dans ce constat, nous nous sommes intéressés dans le présent travail à l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle d'une plante médicinale et aromatique très utilisées en médecine traditionnelle. Il s'agit de *Syzygium cumini* (L.) Skeels.

Syzygium cumini (L.) Skeels est une espèce tropicale appartenant à la famille des Myrtacées. Cette espèce a fait l'objet de plusieurs études photochimiques qui ont rapporté sa richesse en certains métabolites secondaire (Ayyanar & Subash-Babu., 2012 ; Mahmoud *et al.*, 2001, Sukmasari *et al.*, 2018) . D'après nos connaissances, à ce jour il n'existe aucune étude pythochimique sur *S. cumini* cultivée en Algérie. Afin de fournir plus d'informations

sur la composition des métabolites secondaires de de cette espèce algérienne, nous proposons d'étudier, pour la première fois, la composition chimique des fleurs de cette espèce cultivée dans la région de Boumerdes.

Le manuscrit de ce mémoire est structuré comme suit :

-Le premier chapitre correspond à une synthèse bibliographique décrivant les notions essentielles liées au contexte global de notre travail (les plantes médicinales et aromatiques, les huiles essentielles, utilisation traditionnelle et travaux antérieurs réalisés sur l'espèce étudiée).

-Le deuxième chapitre est consacré à l'expérimentation relative à l'extraction de l'huile essentielle et son analyse chimique.

-Le troisième chapitre a été consacré à la présentation des résultats obtenus et leurs discussions au regard des données bibliographiques.

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

Chapitre I
Synthèse
Bibliographique

I.1. Plantes médicinales et aromatiques, phytothérapie et aromathérapie: Terminologie

☞ Plantes médicinales

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leurs effets proviennent de leurs composés chimiques (métabolites primaire ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (Sanago, 2006). Selon Sofowora (2010), les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (médicaments).

☞ Plantes aromatiques

Sont définies comme des plantes dont les tissus secrètent suffisamment d'essence pour en permettre extraction et la distillation. Elles contiennent des molécules aromatiques ou odorantes dans un ou plusieurs de leurs organes producteurs : feuilles, fleurs, fruits, graines, racines. Toute plante parfumée n'est pas toujours une plante aromatique (Particia, 2005).

☞ Phytothérapie

Est un mot d'origine grecque : « phyto » qui veut dire plante et « therapeuein » qui veut dire soigner. Autrement dit, au sens étymologique, c'est « la thérapeutique par les plantes » ; elle utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes, en excluant les principes actifs purs issus de celles-ci. Les plantes sont consommées sous plusieurs formes : en l'état (infusions) ou après transformation (extraits, médicaments à base de plantes...) (Hmamouchi, 1999 ; Gazengel et Orecchioni, 2013).

☞ Aromathérapie

Branche de la phytothérapie, elle recourt aux extraits aromatiques des plantes (essences et huiles essentielles). Elle se différencie de la phytothérapie qui fait appel à l'ensemble des éléments contenus dans la plante (Lorain, 2013).

I.2. Métabolites secondaires des plantes

I.2.1. Définition

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base (acides nucléique, lipides, protéine, acide amine et glucide) qui contribuent à la construction et au fonctionnement de la cellule végétale (Hopkins, 2003). Ces métabolites sont aussi

définis comme des molécules qui se trouvent dans toutes les cellules végétales et nécessaires à leur croissance et à leur développement (Raven *et al.*, 2000). Par opposition, les métabolites secondaires ne sont pas issus directement lors de la photosynthèse mais sont synthétisés à partir des métabolismes primaires et résultent des réactions chimiques ultérieures (Croteau *et al.*, 2000 ; Raven *et al.*, 2000).

Le terme « métabolite secondaire », qui a probablement été introduit par Albrecht Kossel en 1891, est utilisé pour décrire une vaste gamme de composés chimiques dans les plantes, qui sont responsables des fonctions périphériques indirectement essentielles à la vie des plantes, telles que la communication intercellulaire, la défense et la régulation des cycles catalytiques (Guillaume, 2008).

Selon Hartmann (2007). Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante, dont plus de 200.000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique.

Les métabolites secondaires peuvent être trouvés dans toutes les parties des plantes, mais ils sont distribués selon leur rôle défensif. Cette distribution varie d'une plante à l'autre (Merghem, 2009). La température, l'humidité, l'intensité lumineuse, l'eau, les sels minéraux, et le CO₂ influencent tous la concentration de ces molécules dans différentes parties de la plante (Ramakrishna et Ravishanker, 2011).

I.2.2. Classification

Les métabolites secondaires peuvent être divisés en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003; Haven *et al.*, 2000).

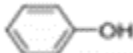
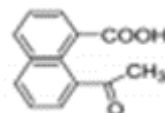
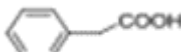
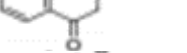
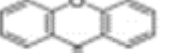
I.2.2.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites secondaires le plus nombreux et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques connues (Lugasi *et al.*, 2003). Ils se caractérisent par la présence d'un noyau benzénique portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction telle que : éther, ester, hétéroside (Bruneton 1999 ; Lugasi *et al.*, 2003). Ces composés sont présents

dans toutes les parties des végétaux supérieurs : racine, tiges, feuilles, fleurs, fruits (Boizot *et al.*, 2006). 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).

Les composés phénoliques jouent un rôle essentiel dans la structure et la protection des plantes (Naczki et Shahidi, 2003 ; Stalikas, 2007). Ils offrent également, pour la santé humaine, une protection contre certaines maladies impliquant un stress oxydatif, comme les cancers et les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives (Sun *et al.*, 2011).

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	
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	

I.2.2.2. 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 et Croteau, 1980). Plus de 12 000 alcaloïdes ont été décrits et environ 20% des plantes accumulent ces substances (De Luca et St. Pierre, 2000). Les alcaloïdes ont des effets bénéfiques sur la plante synthétisante, ils régulent la croissance, désintoxiquent et transforment les substances nocives au végétal, ils protègent la plante contre les rayons ultraviolets et les herbivores (Mauro, 2006). Comme produits utiles à l'homme, les alcaloïdes sont soit extraits des plantes, purifiés et utilisés sous forme thérapeutique (morphine, codéine, vincristine, vinblastine) soit simplement présents dans les aliments (caféine et théine) (Kutchan, 1995; Henriques *et al.*, 1999) (Fig.I.1). 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.

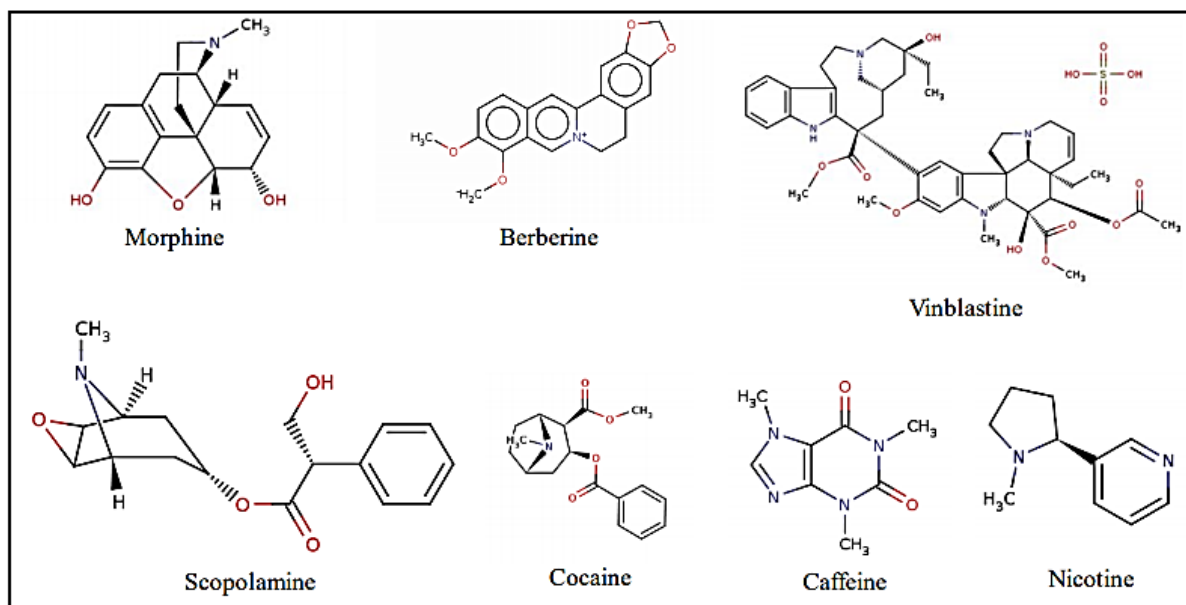


Figure I.1. Structure de quelques alcaloïdes d'une importance économique (Olivoto *et al.*, 2017)

I.2.2.3. Les terpènes

Les terpénoïdes sont la classe la plus diversifiée de métabolites secondaires. Ils contiennent plus de 40 000 composés (Bohlmann et Keeling, 2008). Ce sont des hydrocarbures formés par l'assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques. Ce sont des polymères de l'isoprène (Fig.I.2) de formule brute $(C_5H_8)_n$ (78). Bien que de structures très diverses, les terpènes ont un caractère commun : ils peuvent être virtuellement déconnectés en unités isopréniques (Allinger *et al.*, 1975). Ces unités isopréniques se lient entre elles le plus souvent par des liaisons dites régulières de type tête-queue (Teisseire, 1991); comme ils peuvent se lier par des liaisons dites irrégulières type artèmèsyl, santolinyll, lavandulyl et chrysanthémyle (Poulter *et al.*, 1977). La nomenclature des terpénoïdes est comme illustré par le Tableau I.2.

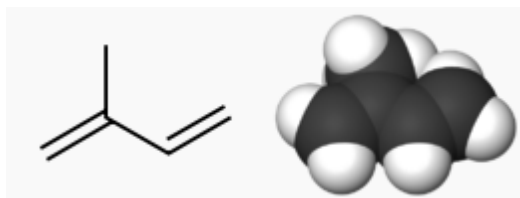


Figure I.2. Formule développée et modèle 3D de l'unité isoprénique (C_5H_8)
(Wikipedia.org).

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 abscissique)
C_{20}	Diterpènes	Gibberellin
C_{30}	Triterpènes	Brassinostéroïde, squalène, lanostérol
C_{40}	Tetraterpènes	Caroténoïdes, lycopène
$C_{>40}$	Polyterpènes	Vitamine E

La famille des terpènes comprend des hormones (Gibbérellines et acide abscissique), des pigments caroténoïdes (Carotène et xanthophylle), des stérols (Ergostérol, sitostérol, cholestérol), des dérivés de stérols (Hétérosides digitaux), le latex (qui est à la base du caoutchouc naturel) ainsi qu'une grande partie des huiles essentielles qui confèrent aux plantes aromatiques leur parfum ou leur goût (Hopkins, 2003).

Notre travail s'orientera vers l'étude des huiles essentielles, pour cela c'est ce type de métabolites secondaires qui sera détaillé dans ce chapitre.

I.3. Les huiles essentielles

I.3.1. Définition

Les HEs, également appelés essences, huiles volatiles ou parfums sont des substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, avec une forte concentration en principes actifs. L'obtention d'un millilitre d'HE nécessite une grande quantité de matière végétale séchée (Nogaret-Ehrhat, 2008).

Selon la pharmacopée européenne, une HE « est un produit odorent, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique appropriée sans chauffage. L'huile est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Selon Hurabielle (1981), ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau de végétaux ou de parties de végétaux, soit par d'autres procédés d'extraction.

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 sassafras (*Sassafras albidum*), de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et de cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévie la lumière polarisée (optiquement active) (Bruneton, 1999; Charpentier *et al.*, 2008 ; Desmares *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). Entraînables à la vapeur d'eau, elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille (Martini et Seiller, 1999). Elles sont également très altérables et s'oxydent au contact de l'air et de la lumière (Bruneton, 1993).

I.3.3. Rôle des huiles essentielles chez les plantes

Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique des plantes aromatiques qui est important pour attirer les insectes pollinisateurs et favoriser ainsi la pollinisation (Bruneton, 1999 ; Guignard, 2000). En plus, les HEs jouent un rôle défensif contre les prédateurs et les maladies (De Sousa, 2015). Ce rôle est lié à leur activité antibactérienne, antifongique et antiviral assurant alors une protection des plantes (Croteau, 1992 ; bakkali *et al.*, 2008).

I.3.4. Secteur d'application

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

I.3.4.1. Secteur de cosmétologie et parfumerie

En raison de leurs propriétés odoriférantes, les HEs sont recherchées dans l'industrie des parfums et des cosmétiques. L'industrie des cosmétiques, savonneries et parfumeries constituent le plus gros consommateur d'huiles essentielles (Balandrin *et al.*, 1985; Shahi *et al.*, 2009).

I.3.4.2. Secteur alimentaire

Les huiles essentielles et leurs composants, sont employés comme arômes alimentaires. Elles sont aussi utilisées pour la conservation des aliments grâce aux effets antimicrobiens et antioxydants de certains de leurs constituants (Burt, 2004 ; Shan *et al.*, 2005). L'HE du thym et du romarin est utilisée pour la conservation du *smen* par exemple (Teissedre et waterhouse, 2000). 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.3.4.3. Secteur médical

Les HEs 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 et Benyoussef, 2015). L'utilisation des HES dans différentes pathologies (digestive, infectieuse...) fait appel à leurs propriétés: anti-infectieuse, antalgique, antiinflammatoire, sédatrice, antimicrobien, antispasmodique, antioxydants et cytotoxiques (Steflitsch et Steflitsch, 2008; Bardeau, 2009; Le Hir *et al.*, 2009).

I.3.5. Répartition botanique

A priori toutes les plantes possèdent la faculté de produire des composés volatils mais seulement à l'état de traces le plus souvent. Parmi les espèces végétales, 10% seulement sont dites « aromatiques » (Bruneton, 1999). La capacité à accumuler l'HE 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), Sandatalaceae (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 HEs peuvent être stockées dans tous les organes végétaux, végétatifs et reproducteurs, en particulier les sommités fleuries (lavande, menthe, bergamotier, tubéreuse) mais aussi les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier) et bien que cela soit moins habituel, dans les écorces (cannelier), les bois (bois de rose, santal, camphrier), les racines (vétiver), les rhizomes (curcuma, gingembre), les fruit (tout épices, anis, badiane), les graines (muscade) et les boutons floraux (clou de girofle) (Belaiche, 1970 ; Paris et Hurabielle, 1981).

La synthèse et l'accumulation des HEs sont fréquemment liées à la présence de structures histologiques spécialisées, qui se trouvent souvent sur ou à proximité de la surface de la plante (Bruneton, 1999 ; Baser et Buchbauer, 2010). Ces structures peuvent être (Belaiche, 1979; Paris et Hurabielle, 1981; Bruneton, 1999) :

- des cellules sécrétrices isolées (Lauracées, Magnoliacées et Pipéracées):
- des organes sécréteurs, regroupant : les poches sécrétrices des Myrtacées et Aurantiacées; les canaux sécréteurs des Apiacées et des Conifères et les poils sécréteurs des Lamiacées et Astéracées.

I.3.7. Composition chimique

La composition chimique des HEs est extrêmement compliquée de deux points de vue : d'une part, en raison du grand nombre de constituants présents et d'autre part, en raison de la grande diversité de leurs structures. Plus de 60 molécules différentes peuvent entrer dans la composition chimique d'une huile essentielle. 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). En effet, les HEs sont un mélange de molécules variées qui se répartissent en deux grands groupes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpenoïdes (ou composés terpéniques) et les phenylpropanoïdes (composés aromatiques dérivés du phénylpropane) (Buchanan *et al.*, 2000). D'autres composés entrent dans la constitution de certaines HEs en faible proportion (acides organiques, esters et autres) (Bruneton, 1997).

I.3.7.1. Les terpènes

Déjà défini dans la section I.2.2.3., 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 structurelles: 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 $C_{15}H_{24}$ 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 les figures I.3 et I.4

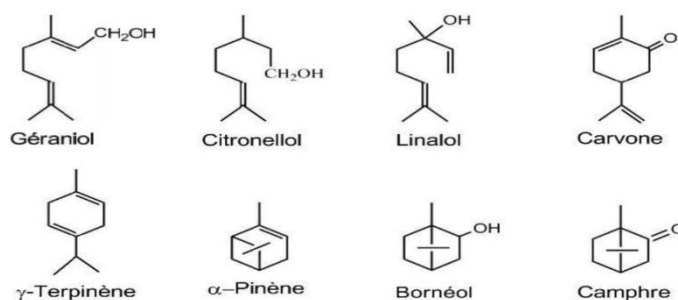


Figure I.3. Exemples de monoterpènes (acycliques et cycliques) rencontrés dans les huiles essentielles. (Wikipedia.org).

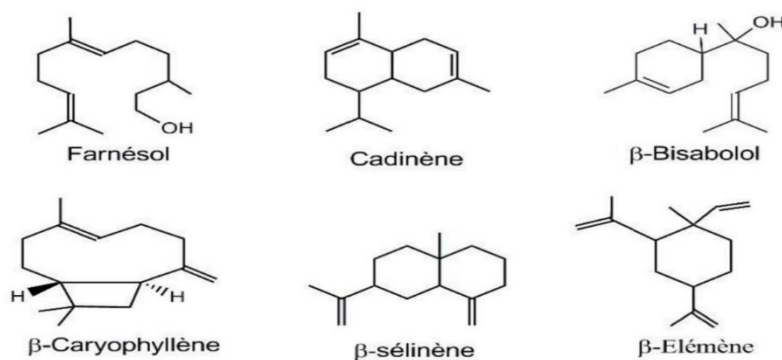


Figure I.4. Exemples de sesquiterpènes rencontrés dans les huiles essentielles. (Wikipedia.org).

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.5.

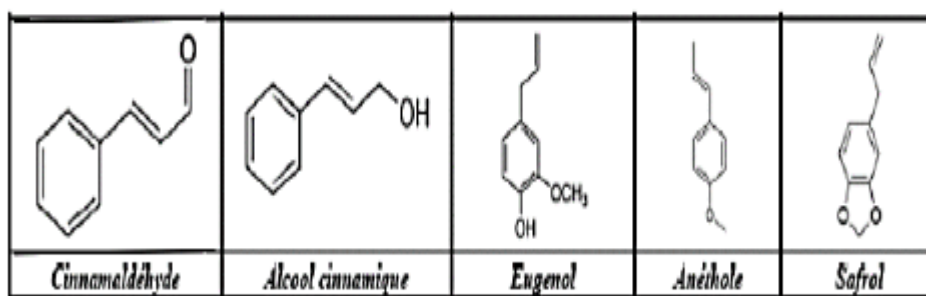


Figure I.5. Structure de quelques composés aromatiques C6-C3 caractéristiques des huiles essentielles (Bruneton, 1999).

Il est cependant possible de rencontrer des composés C6-C1, comme la vanilline (assez fréquente) et l'antranilate de méthyle (Fig.I.6), ainsi que des lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines, par exemple) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînables par la vapeur d'eau (Bruneton, 1999).

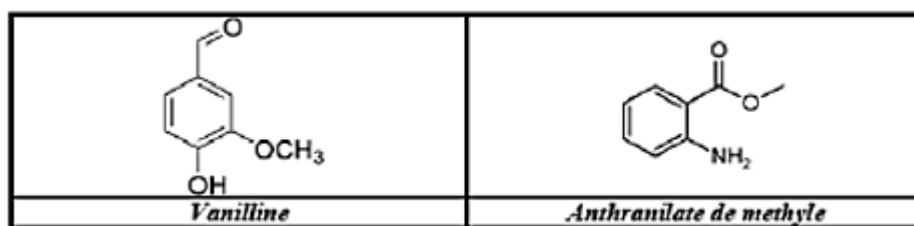


Figure I.6. Exemples de composés aromatiques C6-C1 rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999).

I.3.8. Notion de chémotype

La composition chimique de l'HE peut au sein d'une même espèce de plante présenter des profils chimiques ou chémotypes (chimiotypes) différents. Le chémotype est une référence spécifique qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, retrouvée dans l'HE. C'est la caractéristique qui permet de distinguer des HEs extraites d'une même variété botanique mais, avec des compositions biochimiques différentes. Cette classification permet de choisir les bonnes huiles pour une utilisation plus précise, plus sûre et plus efficace. Il est important de noter que les HEs à chémotype différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces de plusieurs familles. L'un des exemples le plus démonstratif qu'on peut citer est celui du thym (*thymus vulgaris* L.). Cette espèce a six chémotype différents. Cette différence est due à la nature du monoterpène majoritaire qui peut être soit le géraniol, le linalol, terpinéol, le 4-thuyanol, le carvacrol ou le thymol (Thompson *et al.*, 2003).

I.3.9. Facteurs influençant la composition chimique des HEs

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent des huiles essentielles peuvent être très différentes (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 et Richard, 1985).

I.3.9.1. Facteurs intrinsèques

L'espèce

La composition chimique d'une huile essentielle, varie selon l'espèce productrice (Padrini et Lucheroni, 1996). Il est donc nécessaire de s'assurer de l'identité de la plante que l'on veut extraire en précisant le genre, l'espèce et la sous espèce.

L'organe

La composition et le rendement d'une huile essentielle varient selon la partie de la plante à partir de laquelle est extraite (Roulier, 2000).

Le chémotype

Le premier paramètre influençant la composition chimique d'une plante est sa biosynthèse et donc son profil génétique. C'est la raison pour laquelle, une même espèce peut présenter plusieurs chémotypes de profils chimiques différents. Il existe de nombreux exemples d'un tel phénomène, notamment chez le thym, la sauge...etc (Thompson *et al.*, 2003; Fellah *et al.*, 2006).

Le cycle végétatif

La constitution d'une huile essentielle, peut varier tout au long du développement de la plante d'origine. Des variations parfois très importantes sont couramment observées dans certaines espèces. C'est le cas de l'HE de basilic *Ocimum gratissimum*, qui contient 90% d'Eugénol quand la plante est jeune, contre une majorité de Thymol et de monoterpènes à maturité (Cortial, 2005). De ce fait, le choix d'une date de récolte s'impose (récolte avant, pendant ou après la floraison).

I.3.9.2. Facteurs extrinsèques

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant affecter la composition chimique de l'HE. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la pluviométrie, les conditions édaphiques (composition du sol), ainsi que la technique d'extraction, représentent autant de causes potentielles de variation de la composition chimique de l'HE (Bruneton, 1999).

Selon Fluck (1963), le climat et le sol sont les deux facteurs écologiques les plus importants. Chez la *Mentha piperita* par exemple, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofuranne. Lorsque la température est élevée les Citrus ont une teneur en HEs plus forte (Bruneton, 1999). Les fleurs de *Chrysanthemum coronarium* ont une teneur en HE plus élevée en raison de l'effet fertilisant (Alvarez *et al.*, 2003).

I.3.10. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des HEs. En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles,...), du rendement en l'huile et de la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (Crespo *et al.*, 1991 ; Hellal, 2011).

I.3.10.1. La distillation

L'hydro-distillation

L'hydro-distillation (Fig.I.7) est la méthode la plus simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux. Elle consiste à mettre en contact la matière végétale avec une quantité d'eau. Le tout est porté à ébullition. L'élévation de la température provoque l'éclatement des cellules végétales et la libération des composés volatils. La vapeur émise composée d'un mélange d'HE et de vapeur d'eau va ensuite passer dans le réfrigérant.

Le distillat refroidi, est composé de deux phases, une phase huileuse et une phase aqueuse (eau florale). L'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. Cependant, l'hydro-distillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Bruneton, 1999; Lucchesi, 2005).

A l'échelle de laboratoire, l'hydro-distillation est réalisée en utilisant un montage appelé le Clevenger

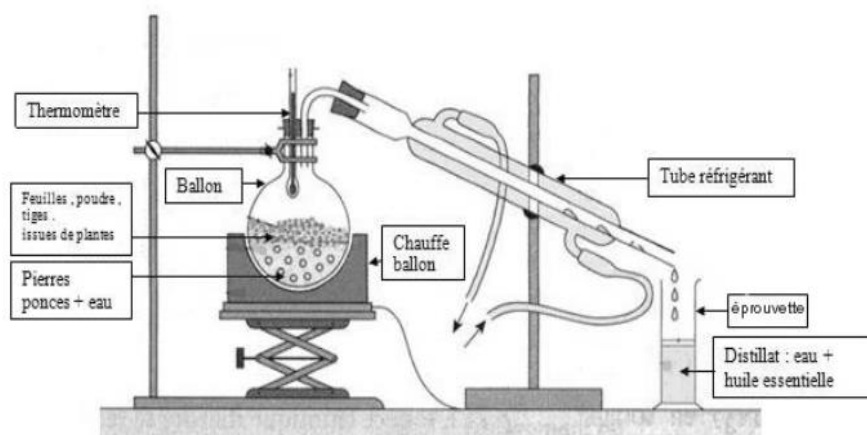


Figure I.7. Montage d'extraction par d'hydro-distillation (Bruneton, 1999).

Entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction (**Fig I.8**), le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau, il est placé sur une grillé perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. Cette dernière endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques ; le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (Franchomme *et al.*, 1990 ; Richard, 1992 ; Lucchesi, 2005).

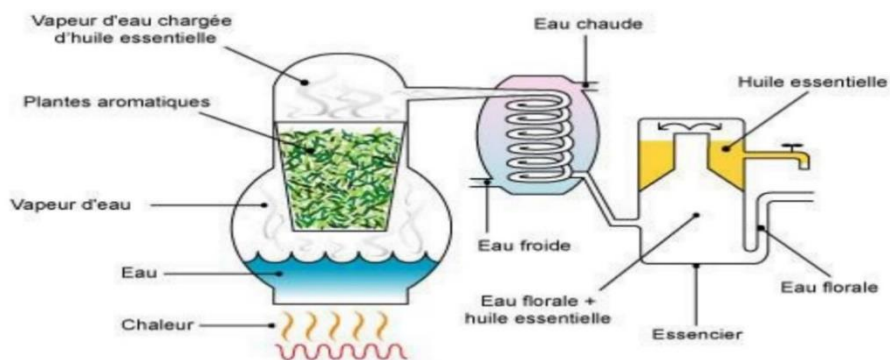


Figure I.8. Montage d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau (Lucchesi, 2005).

L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulvériser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas (Fig.I.9). 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).

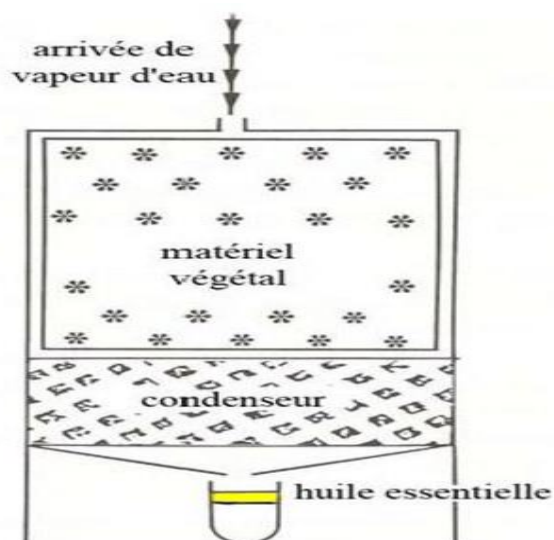


Figure I.9. Montage d'extraction par hydrodiffusion (Wikipedia.org).

I.3.10.2. Extraction par les solvants organiques

Il s'agit d'extraits de plantes obtenus au moyen de solvants non aqueux. Les plus utilisés sont l'hexane, le cyclohexane et l'éthanol, moins fréquemment, le dichlorométhane et l'acétone (Dapkevicius *et al.*, 1998 ; Kim et Lee, 2002 ; Hernandez- Ochoa, 2005). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres (Richard, 1992 ; Robert, 2000). Les plantes sont immergées totalement dans le solvant à froid sauf pour les grains et les racines où l'extraction est réalisée à chaud. Le temps de contact est environ 30 minutes, après quoi le solvant initial est soutiré et remplacé par une deuxième charge puis une troisième à leurs tours soutirées. La plus grande partie du solvant est évaporée et recyclée. On recueille une solution concentrée distillée sous vide. Il reste une pâte, liquide, à chaud appelée concrète. L'extraction à l'aide de solvants organiques pose un problème de toxicité des solvants résiduels ce qui n'est pas négligeable lorsque l'extrait est destiné aux industries pharmaceutique et agroalimentaire (Bruneton, 2009).

I.3.10.3. Extraction par CO₂ supercritique

Cette méthode consiste à traiter une matière première aromatique végétale et naturelle avec du CO₂ à l'état supercritique. Le CO₂ est supercritique lorsqu'il atteint une température et une pression spécifique (T=31.1 et P=73,8bars) grâce à cette propriété le CO₂ permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO₂ supercritique entraîne les molécules odorantes dans un séparateur. La pression est ensuite abaissée afin de séparer le CO₂ de l'extrait. L'extrait devient insoluble dans le CO₂ et précipite au fond de l'enceinte. Le CO₂ est ensuite liquéfié et peut être à nouveau utilisé. L'extrait récupéré ne contient aucune trace de solvant résiduel qui est facilement éliminé sous forme gazeuse, le CO₂ est ensuite recyclé et ramené à l'état supercritique (Fernande, 2012).

Le CO₂ supercritique est un solvant idéal puisqu'il est naturel, inerte chimiquement, inflammable, non toxique, sélectif, aisément disponible et peu coûteux. Outre ces avantages, le principal point fort est la qualité irréprochable de l'extrait puisqu'aucun réarrangement ne s'opère lors du processus. Son unique point faible est le coût très élevé de son installation (Pellerin, 2001).

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

Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-onde (Fig.I.10) dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite d'une manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formé à partir de la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques condensateur, refroidissement, et décantation. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé (Hemwimon *et al.*, 2007).

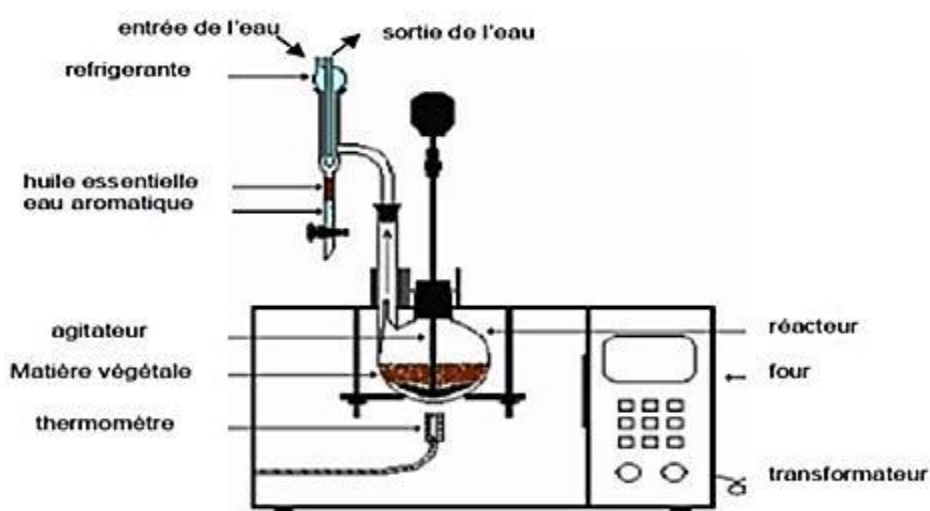


Figure I.10. Montage d'extraction assistée par micro-onde. (Luchesi *et al.*, 2004)

I.3.10.6. Expression à froid

L'expression à froid est une extraction sans chauffage réservée aux fruits d'hespéridés ou d'agrumes. Le principe de ce procédé mécanique (abrasion, compression, incision, perforation, ...) est basé sur la rupture des péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'HE ainsi libérée est entraînée par un flux d'eau. Une émulsion constituée d'eau et d'essence se forme. L'essence est alors isolée par décantation ou centrifugation (Richard, 1992).

L'expression à froid permet de limiter l'oxydation en conservant les antioxydants naturels présents dans la fraction non volatile de l'essence. Le produit obtenu porte le nom d'essence car il n'a subi aucune modification chimique (Ferhat et Meklati, 2007).

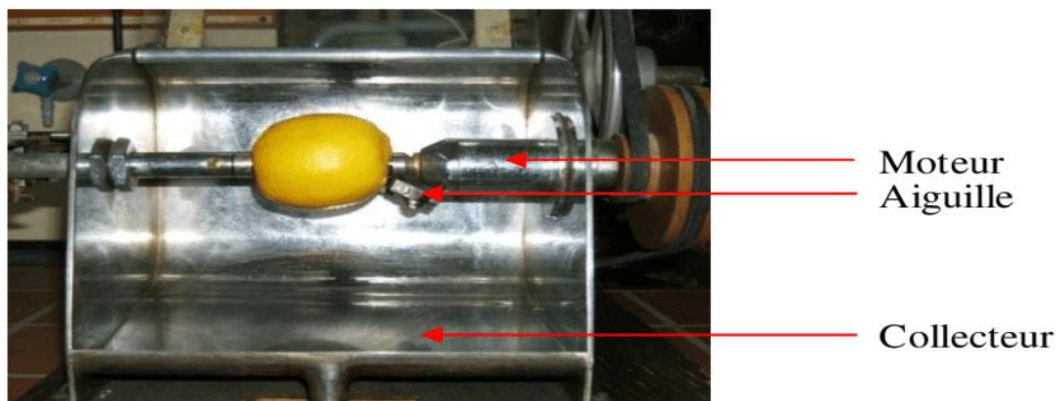


Figure I.11. Méthode d'extraction par expression à froid (Wikipedia.org).

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

I.3.11.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La CPG est la technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles. Elle permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit (Arpino *et al.*, 1995).

Pour chacun des composés, deux indices de rétention, polaire et apolaire, peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir de temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (Indice de Kovats) (Kovats, 1965) ou en programmation de température (Indice de Rétention) (Van Den Dool

& Kratz, 1963). Ils sont ensuite comparés avec ceux de produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature). Toutefois, il est fréquent d'observer des variations, parfois importantes, lorsque l'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire et ceux de la littérature.

I.3.11.2. Chromatographie en phase gazeuse couplé avec la spectrométrie de masse (CPG/SM)

D'un point de vue analytique, d'importants progrès ont été réalisés en couplant la CPG avec des appareils tels que le spectromètre de masse (SM). La CPG couplée à la SM est la technique de routine la plus utilisée pour l'analyse des huiles essentielles. Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons une molécule qui sera fragmentée ; les différents fragments obtenus, chargés positivement, constituent le spectre de masse de cette molécule. Très souvent, le spectre de masse est caractéristique d'une molécule donnée et, en théorie, il est donc possible d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux de composés de référence, contenu dans des bibliothèques de spectres informatisées commerciales (Adams, 2001).

Dans la pratique, l'utilisation conjointe de la spectrométrie de masse (utilisation conjointe de banques laboratoire et littérature) et des indices de rétention calculés sur deux colonnes de polarité différente en CPG, permet, en général l'identification d'un grand nombre de constituants dans les mélanges complexes tels que les huiles essentielles (Liang et al., 2004; Senatore et al., 2004).

I.3.12. Activités biologiques des huiles essentielles

I.3.12.1. Activité antimicrobienne

Les HEs sont parmi les métabolites secondaires les plus actifs vis-à-vis des microorganismes (Fig. I.12). Ces substances volatiles possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne contre non seulement les bactéries, y compris les espèces multi résistantes, mais aussi vis-à-vis des champignons et les virus (Burt, 2004; Edris, 2007). Toutefois, il existe une disparité dans l'activité antimicrobienne des HEs, car elle est plus dirigée envers les champignons que les bactéries et beaucoup plus actives contre les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif (Burt, 2004).

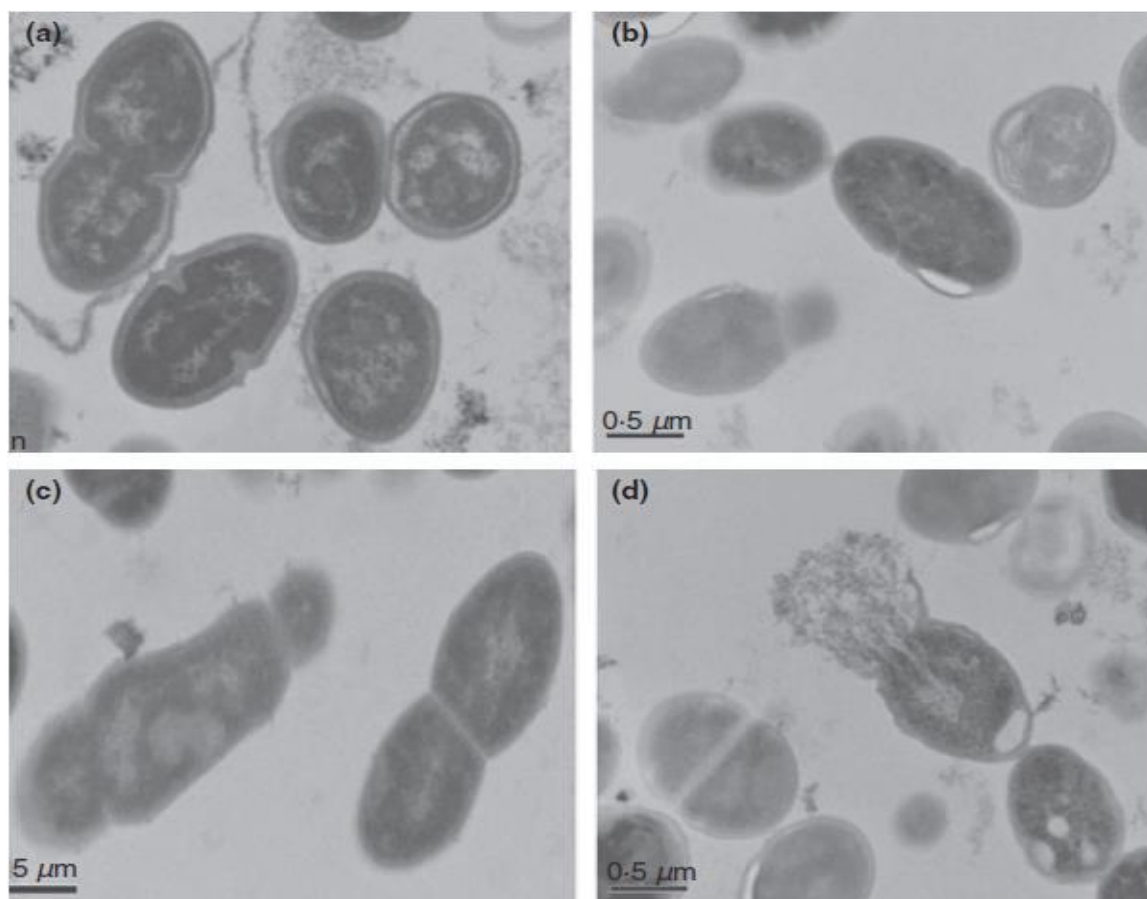


Figure I.12. Cellules d'*E. faecalis* après l'exposition (a) pas d'HE, (b) HE d'orange à 2 %, (c) vapeur à 15 mg/l d'HE d'orange, (d) exemple de lyse cellulaire (Fisher & Phillips, 2009).

a) Activité antibactérienne

Les HEs sont connus pour avoir un effet antibactérien (Deans et Ritchie, 1987 ; Carson *et al.*, 1995), et ceci sur les deux groupes de bactéries gram-positif et gram-négatif, qui ont démontrées une importante sensibilité *in vitro* (Inoue, 2001 ; Carson et Hammer, 2011). Une activité antibactérienne a été démontrée contre un large spectre de souches bactériennes telles que *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Salmonella typhimurium*, *Echerichia coli*, *Shigella dysenteria*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* (Hulin *et al.*, 1998). Rahman *et al.*, (2016) ont montré que l'HE de *Premna integrifolia* possède une activité antibactérienne contre un ensemble de souches pathogènes et cela peut être due à la présence de mono et sesquiterpènes. D'autres HEs ont aussi présenté un effet antibactérien sur les enthéropathogènes zoonotiques y compris *Salmonella* sp, *Echerichia coli* O157 : H7, *Camphilobacter jejunii*, *Clostridium perfringens*. Bharti *et al.*, (2012) ont montré que

plusieurs HEs sont avérées actives sur un ensemble de bactérie et principalement l'HE de *Tymus vulgaris* et *Melaleuca alternifolia* qui ont inhibé la croissance de plusieurs souches principalement de *staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hoinis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumonia*. Une étude expérimentale menée par Kelly (1998) a prouvé que treize HEs parmi seize testées ont inhibé la croissance d'*Helicobacter pylori* qui est associé aux gastrites.

Plusieurs travaux ont étudié l'effet antibactérien des composants des HES. Parmi les composants des HES qui présentent un effet contre *Helicobacter pylori* se sont surtout le carvacrol, l'isoeugénol, le nérol, le citral et le sabinène (O'Gara *et al.*, 2000). Les composés majeurs de l'HE de thym et d'origan, qui sont le thymol et le carvacrol ont montré un effet inhibiteur sur les bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* (Burt, 2004). L'eugénol, le terpén-4-ol et le carvacrol ont inhibé la croissance de quatre souches d'*Echerichia coli* O157 : H7 et de *Listeria monocytogenes* (Santoyo *et al.*, 2006).

Il est important aussi de signaler que les mélanges de différentes HEs ont montré un important effet antibactérien notamment contre *Bacillus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia coli* O157 : H7 et *Listeria monocytogenes* (Gutierrez *et al.*, 2008). La combinaison d'huiles essentielles de clou de girofle et de romarin a produit un effet additif contre les bactéries Gram-positive et les bactéries à Gram négatif, à savoir *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* et (Fu *et al.*, 2007). L'HE de *Thymus vulgaris* ou l'HE de *Pimpinella anisum* utilisée seule contre *Pseudomonas aeruginosa* n'étaient pas actifs à la concentration utilisée la plus élevée (500,0 g/ml) alors que leur combinaison (1:1) a inhibé la croissance de cette bactérie (Al-Bayati, 2008).

Le mode d'action des HEs sur les bactéries

Lorsque l'on parle d'activité antimicrobienne, on distingue deux sortes d'effets. Un effet bactéricide (bactéricidie) : exerçant une activité mortelle, et un effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance. Ces actions des huiles essentielles sur la cellule bactérienne demeure encore insuffisamment élucidée (Saad *et al.*, 2013). Cette ambiguïté est attribuée à plusieurs facteurs, notamment la variété des composés actifs existants au sein d'une HE donnée, avec la possibilité de synergie ou antagonisme entre ces molécules. En revanche, ce qui est sûr selon pas mal d'études, la cible d'action de la plupart

des HEs est focalisée envers les membranes cytoplasmiques des microorganismes (Kalemba et Kunicka, 2003; Burt, 2004).

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction (Wendakoon & Sakaguchi, 1995 ; Tsuchiya, 1996). Également, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intra-cytoplasmique peuvent subvenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de L'ATP, et du phosphate inorganique (Tsuchiya *et al.*, 1996 ; Daroui-Mokaddem, 2011).

D'une manière générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois phases (Fig.I.13) :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

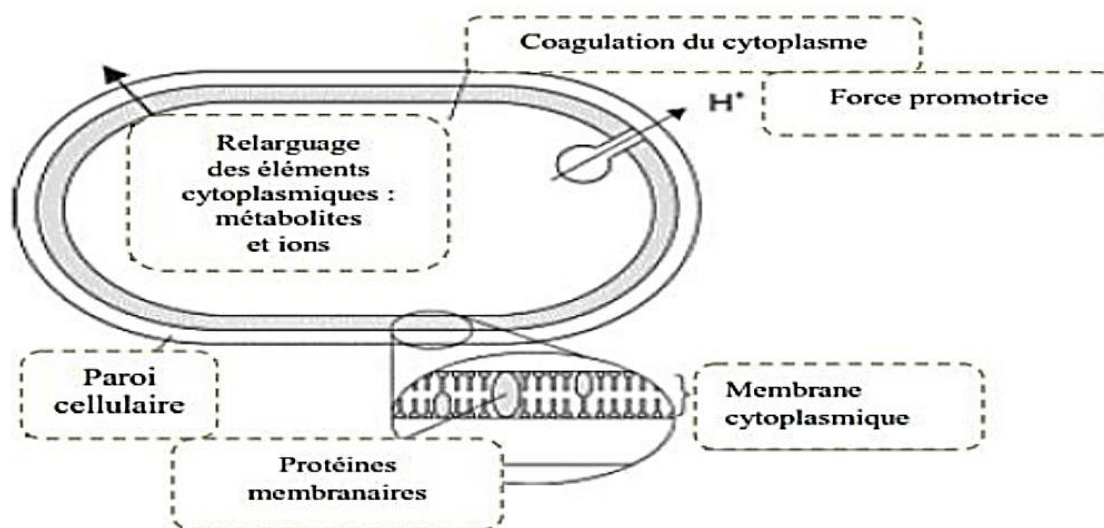


Figure I.13. Sites d'action des HEs sur la cellule bactérienne (Burt, 2004).

Par ailleurs, le mode d'action de certains composés volatils est bien étudié, Le Thymol et le Carvacrol agissent sur la perturbation de la fraction lipidique de la membrane plasmique des bactéries, ce qui entraîne des modifications létales dans leurs propriétés physiologiques, notamment la perméabilité membranaire (Cristani *et al.*, 2007). En outre, d'après une étude portée sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne du Carvacrol envers *Bacillus cereus*, les auteurs ont constaté que ce phénol induit l'inhibition de la synthèse d'ATP à la conséquence d'une fuite de protons intracellulaire (Ultee et Smid, 2001).

Selon la littérature, le cinnamaldéhyde est parmi les molécules volatiles les plus actives envers les microorganismes connus actuellement. Son mode d'action envers les bactéries est similaire à celui des phénols, où il provoque l'inhibition de leur production d'ATP intracellulaire (Gill et Holley, 2004). En revanche, d'autres auteurs supposent que l'aldéhyde cinnamique agit d'une façon plus compliquée sur les bactéries. Des observations sous microscopie électronique à balayage ont montré que le cinnamaldéhyde cause des modifications morphologiques graves au niveau des bactéries cibles. Chez *Bacillus cereus*, cet aldéhyde empêche la formation complète des *septa* de division et du coup, il entraîne des déformations cellulaires (Kwon *et al.*, 2003). Tandis que chez *S. aureus* le cinnamaldéhyde provoque des pertes du contenu cellulaire en raison des dommages au niveau de la membrane cytoplasmique (Carson *et al.*, 2002).

En raison de son activité antimicrobienne très effective envers les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, le mode d'action du terpinène-4-ol (composé majoritaire de l'HE de *Melaleuca alternifolia*) a été bien étudié. Aussi semblable aux phénols, le terpinène-4-ol cause le dysfonctionnement de la membrane cytoplasmique des bactéries, ce qui conduit à la vidange des cellules de son contenu et la formation des structures qui ressemblent aux lysosomes (**Fig.I.14**) (Carson *et al.*, 2002).

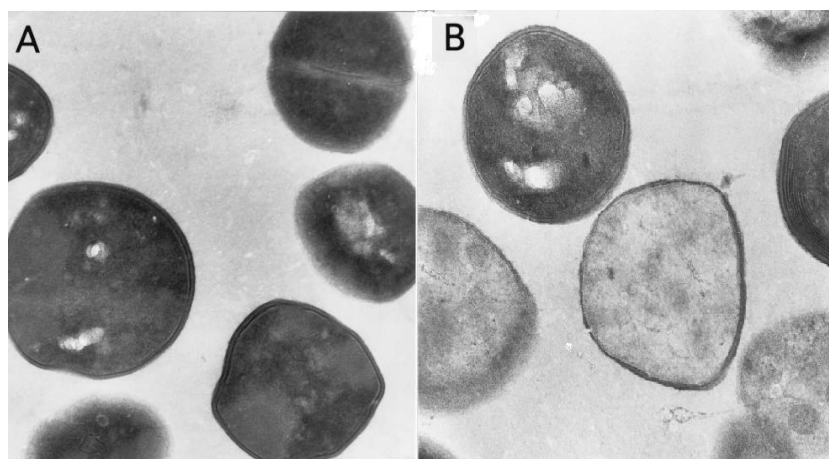


Figure I.14. Micrographies en microscopie à transmission des cellules de *Staphylococcus aureus*. (A) : sans traitement $\times 11,500$ (B) : après traitement avec 0,3% du terpinène-4-ol $\times 14,200$ (Carson *et al.*, 2002).

Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

Les méthodes utilisées pour évaluer cette activité sont souvent des techniques de diffusion ou de bio autographie (Rios *et al.*, 1988). La technique de diffusion est souvent celle des disques ou de puits, tandis que les techniques de dilution en milieu liquide ou solide servent à déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) (Kalema et Kunica, 2003; Burt, 2004; Lahlou, 2004; Holley et Patel, 2005; Wilkinson, 2006).

b) Activité antifongique

Un large spectre de pathogènes fongiques humains, animaux et agricoles ont montré une importance sensibilité aux HEs *in vitro*, ce qui accroît l'intérêt pour leur application thérapeutiques ou industrielle. Parmi les pathogènes humains et animaux ciblés, les levures du genre *Candida* et les dermatophytes comme *Epidermophyton*, *Microsporoum* et *Trichophyton* qui ont attiré le plus grand intérêt (Hammer *et al.*, 1996; Hammer *et al.*, 1999; Yu *et al.*, 2004; Preuss *et al.*, 2005). Un effet antifongique important a été démontré contre les champignons responsables de la détérioration des aliments notamment sur plusieurs espèces d'*Aspergillus*, *Microsporoum*, *Mucor*, *Penicillium*, *Eurotium*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Zygosaccharomces* et *Candida* (Cosentino *et al.*, 2003; Holley *et al.*, 2005).

Parmi les composants des HEs responsables de l'activité antifongiques, le carvacrol et le thymol qui ont prouvé une action sur des espèces fongiques responsables de l'altération

des aliments telles qu'*Aspergillus niger*, *Asperillus flavus* et *Aspergillus parasticus* (Razzaghi-Abyaneh *et al.*, 2009).

Comme pour l'activité antibactérienne, le pouvoir antifongique est attribué à la présence de certaines fonctions chimiques dans la composition des HEs. En effet, les composés terpéniques des HEs est plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (Knobloch *et al.*, 1989). Selon Cox *et al.* (2000), l'action antifongique de ces composées est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique est donc la mort de la levure.

c) Activité antivirale

Les HEs des différentes familles botaniques présentent des actions antivirales, mais le degré d'efficacité varie selon la souche et la structure virale. C'est en raison de structures moléculaires particulières trouvées dans chaque type viral, que les HEs pénètrent dans les entités à des degrés divers (Davidson *et al.*, 2005). Les recherches ont découvert qu'un certain nombre d'HE ont une activité antivirale contre certaines souches virales de la grippe, les adénovirus, les souches de la fièvre glandulaire, de l'entérite virale, de l'entérocolite virale et le VIH-1 (Schnitzler *et al.*, 2001).

Des chercheurs ont montré que certains composés spécifiques des HEs, testés séparément, possèdent une activité antivirale remarquable. Il s'agit de l'acétate d'anéthol, carvone, beta-caryophyllène, citral, eugénol, limonène, linalol et linalyle (Belaiche, 1979).

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques et certaines infections virales graves peuvent montrer une grande amélioration par la phytothérapie (Hayahi *et al.*, 1994). La synergie entre les composés d'huile tels que cinéole-monoterpénol a été utilisée pour traiter des infections virales des voies respiratoires ; cétones et composés cryptones des HEs ont montré une capacité de lutte contre le virus nu (Bhaskara-reddy *et al.*, 1998).

Plusieurs méthodes d'action antivirales ont été proposées pour les huiles essentielles bien que pour leurs composés. Certaines huiles interfèrent avec la glycoprotéine de surface dans l'enveloppe virale, empêchant ainsi l'attachement du virus avec la cellule hôte. On croit que les autres huiles attaquent le virus dans la cellule hôte, possiblement au niveau de la membrane cellulaire (Belaiche, 1979).

I.3.12.2. Activité anti-inflammatoire

L'inflammation est connue pour être associées à certaines maladies, y compris l'hypertension, le cancer et les accidents vasculaires cérébraux (Schmid-Scheonbein, 2006). Les médicaments les plus couramment utilisés pour la gestion d'affections inflammatoires sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), qui ont plusieurs effets indésirables en particulier l'irritation gastrique conduisant à la formation d'ulcères gastriques (Bennett, 2005 ; Tripathi, 2008).

Les HEs ont une place particulièrement intéressante dans le traitement des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Maruyama *et al.*, 2005). Elles constituent une alternative aux traitements allopathique classiques de type AINS (Anti-inflammatoire non stéroïdiens) qui sont connus pour leur effet secondaire digestif au long court. L'huile essentielle de Gaulthérie odorante est très utilisée dans les douleurs musculaires, les tendinites... (Millet, 2015). Il a été prouvé que l'inhalation des vapeurs des huiles a un effet anti-inflamatoire et réduit l'asthme (Inouye *et al.*, 2001).

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 oedèmes de pattes de souris induits par le carraghénane. L'Aloe vera et l'un des meilleures plantes connues par leur activité anti-inflammatoire (Volger et Ernst, 1999). L'HE d'Aloe vera présentait la plus grande activité inhibitrice de la lipoxigénase (96%), suivie de l'HE de thym (86%) et l'HE de bergamote (85%) à une concentration de 0,5 $\mu\text{g/mL}$. L'HE de camomille a montré une forte activité induisant la lipoxigénase à 5 $\mu\text{g/mL}$ (Wei et Shibamoto, 2010).

Il a été reporté que les familles biochimiques à action anti-inflammatoire et/ou antalgique qui constituent les composés de différentes huiles essentielles sont : les Aldéhydes monoterpéniques, les Esters terpéniques, les Sesquiterpènes et les Monoterpènes, l'Eugénol (phénol aromatique), l'Eucalyptol (oxyde terpénique) ou 1,8 cinéole, Alcools terpéniques (Sesquiterpénols, Monoterpénols), les Cétones terpéniques, les Phénol méthyl-éthers (Spinola, 2016).

I.3.12.3. Activité antioxydante

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui peut retarder ou empêcher l'oxydation des substrats biologiques (Boyd *et al.*, 2003). Ce sont des composés capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit.

Diverses études ont montré que les huiles essentielles sont des sources naturelles idéales d'antioxydants (Mantle *et al.*, 1998 ; Karioti *et al.*, 2006; Aazza *et al.*, 2011; Sudipta *et al.*, 2017; Dib *et al.*, 2017).

Certains constituants des huiles essentielles présentent un pouvoir antioxydant très marqué et sont aujourd'hui commercialisés, c'est le cas de l'eugénol (Ogata *et al.*, 2000; Barclay *et al.*, 2006), le thymol (Luna *et al.*, 2017; Razavi *et al.*, 2017) et le carvacrol (Zareiyan *et al.*, 2017; Baranauskaite *et al.*, 2017).

Ruberto et Baratta (2000), qui avaient étudié l'activité antioxydante de 98 composants purs de l'huile essentielle de *Teucrium marum*, représentant les principales classes des composés typiques des huiles essentielles, ont montré que les hydrocarbures sesquiterpéniques exerçaient un effet antioxydant faible, alors que les hydrocarbures monoterpéniques ont montré un effet antioxydant significatif, avec plusieurs variantes en raison des différents groupes fonctionnels. Teixeira *et al.*, (2013) ont décrit l'activité antioxydante élevée de l'huile essentielle du clou de girofle indienne et ont rapporté que cette activité est due à son composé majoritaire l'eugénol qui est un phénylpropanoïde, connu comme un puissant antioxydant.

I.3.12.4. Activité anti-cancéreuse

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 arvensis* (Ait Mbarek *et al.*, 2007, Vaiyapuri *et al.*, 2016), l'huile essentielle des rhizomes de curcuma (Hongping *et al.*, 2017), et celle d'*Allium sativum* (Srivastava *et al.*, 1995; Singh et Singh, 2008). L'HE d'*Elsholtzia ciliata* a montré une activité antiproliférative *in vitro* contre les cellules du cancer de pancréas et de sein (Pudziuvėlyte *et al.*, 2017).

De nombreux isoprénoïdes présents dans les HEs inhibent la prolifération des lignées cellulaires cancéreuses in vitro, notamment le carvacrol, le citral, le p-cymène, le farnésol, le géraniol, limonène, le nérolidol, l'alcool périllylique, le pinène, le terpinéol, le thymol, le verbénone et la α -ionone (Elson *et al.*, 1999; Joo et Jetten, 2009).

I.3.12.5. Activité insecticide

La conservation des denrées entreposées est généralement assurée par des insecticides synthétiques qui peuvent être le moyen le plus efficace et le moins coûteux pour contrôler les insectes. Cependant l'utilisation abusive des insecticides chimiques a des effets nocifs (Guarrera, 1999), ce qui oriente les travaux actuels vers la recherche des substances extraites des végétaux qui présentent une activité insecticide, répulsive ou anti-appétant à l'égard des insectes (Barkire, 1996). 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 et Murray, 2015; Castillo *et al.*, 2017).

Les principaux constituant des HEs comme les monoterpènes, sont intéressants pour les marchés industriels en raison de leurs activités biologiques puissantes en plus de leur toxicité pour les insectes (Lee *et al.*, 2001). Un exemple et celui de l'HE de romarin et de *Zanthoxylum monophyllum* qui ont montré une importante activité insecticide contre le Charançon du riz (Lee *et al.*, 2001; Prieto *et al.*, 2011).

I.3.13. La toxicité des HEs

Les HEs 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 néfaste dans l'organisme (allergies, coma, épilepsie...) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques) (Degryse *et al.*, 2008). Les effets secondaires des HEs varient en fonction de leur nature chimique (Traoré, 2006), certaines sont toxiques par voie cutanée en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) (Smith *et al.*, 2000) ou phototoxique (huile de citrus contenant des furocoumarines (Naganuma *et al.*, 1985). D'autre HEs ont un effet

neurotoxique, notamment celles riches en cétones comme α -thujone (Franchomme *et al.*, 1990).

I.4. Aperçu sur la famille Myrtacées

La Famille des myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 3000 espèces réparties en plus de 100 genres (Heywood, 1993 ; Paiva, 1997). Les principaux genres sont :

- *Eucalyptus* (près de 600 espèces) ;
- *Eugenia* (400 espèces) ;
- *Syzygium* (300 espèces d'Australie et d'Asie) ;
- *Myrcia* (près de 300 espèces surtout d'Amérique tropicale) ;
- *Melaleuca* (environ 200 espèces d'Australie et d'Indo-Malaisie) ;
- *Psidium* (une centaine d'espèces d'Amérique tropicale) ;
- *Calyptanthes* (100 espèces).

Ce sont des arbustes à feuilles entières et opposées ; fleurs axillaires hermaphrodites ; 5-mère. Calice cupuliforme. Etamines très nombreuses, insérées avec les pétales au sommet du tube calycinal. Gynécée infère ou semi-infère à 5 carpelles uniloculaires, à ovules nombreux, à placentation axile. Fruit bacciforme bleuâtre, globuleux, de 5-8mm de diamètre (Quezel et Santa, 1963).

Beaucoup de plantes de cette famille sont utiles dans divers domaines : Comme bois d'oeuvre, certains fruits sont comestibles, certaines plantes sont aromatiques, avec une abondance en huile essentielle d'où l'usage condimentaire ou médicinal. Certaines plantes de cette famille sont traditionnellement utilisées pour la conservation des denrées post-récolte dans les pays en voie de développement (Ho *et al.*, 1994 ; Tapondjou *et al.*, 2000).

La majorité des études phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces de la famille des myrtacées a montré leur richesse en métabolites secondaires tels que : les flavonoïdes (Haron *at al.*, 1992 ; Souza-Moreira *et al.*, 2018), les huiles essentielles (Henriques *et al.*, 1993 ; Ogunwande *et al.*, 2005 ; Stefanello *et al.*, 2011 ; Medeiros *et al.*, 2018), et les terpénoïdes (Michael & Santhwell, 2003 ; Tatsuya *et al.*, 2008 ; Padovan *et al.*, 2014 ; Bustos-Segura *et al.*, 2017).

I.5. *Syzygium Cumuni* (L.) Skeels

Syzygium cumini (L.) Skeels est une espèce tropicale appartenant à la famille des Myrtacées. Elle est connue populairement sous plusieurs noms comme : jamun en Inde, prune noire, jamblon ou jambolan en Europe et jambolão au Brésil (Corrêa, 1974).

I.5.1. Classification Botanique

Selon Morton (1987), la position systématique de *S. cumini* est comme suit :

Règne : **Plantae**

Sous Règne : **Tracheobionta (Plantes vasculaires)**

Embranchement : **Magnoliophyta (Angiospermes)**

Classe : **Magnoliopsida (Dicotylédones)**

Famille : **Myrtaceae**

Genre : ***Syzygium* Gaertn.**

Espèce : ***Syzygium cumini* (L.) Skeels**

En botanique, *Syzygium cumini* à plusieurs synonymes :

- *Syzygium jambolanum* DC.
- *Eugenia cumini* Druce
- *Eugenia. jambolana* Lam.
- *Eugenia. djouat* Perr.
- *Myrtus cumini* L.
- *Calyptranthes jambolana* Willd.

I.5.2. Description botanique (Morton 1987, Orwa *et al.*, 2009)

Syzygium cumini (Fig. I.15) est un arbre de taille moyenne de 10 à 30 m de haut. Il atteint sa hauteur maximale en 40 ans. Le diamètre de son tronc est compris entre 0,6m à 0,9m. L'écorce de la partie basse du tronc s'écaille, est décolorée et rugueuse tandis que la partie haute est lisse et gris clair. Les feuilles (Fig. I.15) sont coriaces, rosées lorsqu'elles sont jeunes puis deviennent vertes olive à maturité. Elles possèdent l'odeur caractéristique de la térébenthine. Elles sont opposées, pétiolées, oblongues mesurant de 5 à 20cm de longs pour 2,5 cm de large. La partie inférieure de la feuille est d'un vert plus clair. Il y a de nombreuses nervures. Les fleurs (Fig. I.15) petites, blanches et odorantes, apparaissent sur des branches dépourvues de feuilles et sont regroupées en cymes. Elles possèdent une centaine d'étamines blanchâtres, les anthères sont de couleur jaune pâle. Les pétales sont

soudés et tombent rapidement lors de l'épanouissement des fleurs, de sorte que celles-ci ne sont alors plus composées que d'un calice en forme d'entonnoir et de nombreuses étamines.

Les fruits (Fig. I.15) sont des baies oblongues, noires violacées à maturité avec une peau fine et luisante. Ils sont comestibles lorsqu'ils se détachent de leurs pédoncules. La pulpe pourpre est molle, astringente, lorsque le fruit n'est pas mûr. Elle renferme de l'anthocyanine qui bleuit la bouche. Elle contient une graine unique qui est allongée et arrondie ou deux à cinq graines qui sont comprimées et qui donnent ainsi l'aspect d'une seule graine. Cette fructification est importante de mars à mai.

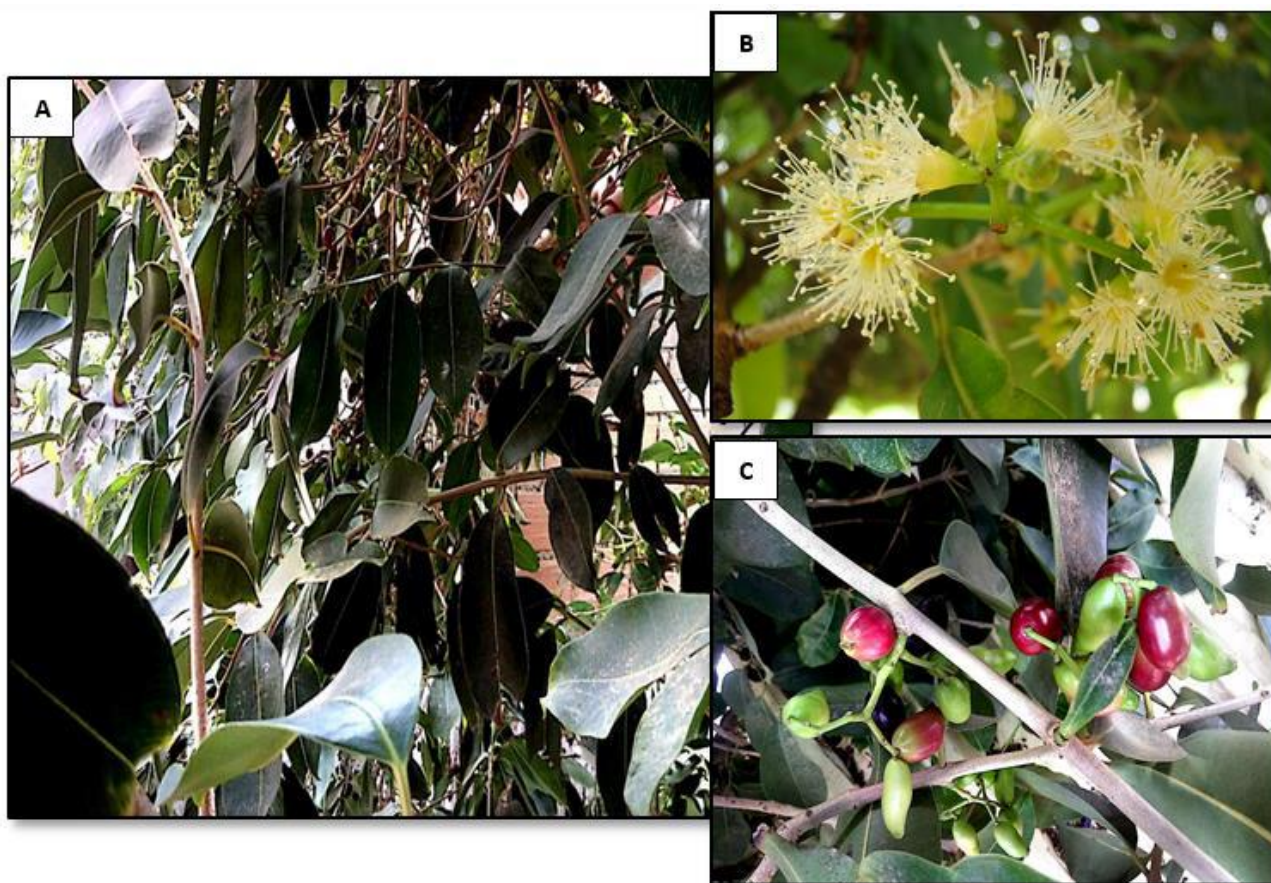


Figure I.15. *Syzygium cumuni* (L.) Skeels

A : Feuilles (photo original), B : fleurs (<https://fr.wikipedia.org>), C : fruits (photo original).

I.5.3. Répartition géographique

S. cumini est un grand arbre originaire du sous-continent indien, mais largement cultivée dans de nombreux pays d'Asie, d'Afrique et d'Amérique du Sud (Srivastava et Chandra, 2013) (Fig. I.16).



Figure I.16. Carte géographique de la répartition de *S. cumini*

➤ *D'origine de (native)*

Inde, Malaisie, Myanmar, Philippines, Thaïlande et Sri Lanka.

➤ *Les régions exotiques*

Algérie, Antigua-et-Barbuda, Australie, Bahamas, Barbade, Colombie, Cuba, Dominique, République Dominicaine, Ghana, Grenade, Guadeloupe, Guatemala, Guyana, Haïti, Honduras, Indonésie, Jamaïque, Kenya, Martinique, Mexique, Montserrat, Népal, Antilles néerlandaise, Nicaragua, Panama, Afrique du Sud, Sainte-Lucie, Saint -kittes et - Nevis, Soudan, Tanzanie, Ouganda, États Unis, , îles vierges américaines, Zambie, Zimbabwe (Orwa *et al.*, 2009)

I.5.4. Utilisation thérapeutique de *S. cumini*

En médecine traditionnelle *S. cumini* est connu pour posséder une large gamme de propriétés médicinales, qui ont été attribuées à la présence de composés bioactifs dans différentes parties de la plante. Les feuilles sont utilisées dans les dermopathies, les gastropathies, la constipation, la leucorrhée et le diabète. Les fruits sont utilisés dans le traitement de la pharyngite et des maladies spléniques ; tandis que les écorces sont utilisées comme astringentes, anthelminthiques et carminatives. De plus, les graines sont utilisées comme astringentes, diurétiques et surtout dans le traitement du diabète (Warrier, 1997 ; Helmstadter, 2008 ; Baliga *et al.*, 2011).

Des études pharmacologiques ont élargi les activités biologiques de *S. cumini*, qui comprennent antihyperglycémiant, anti-inflammatoire, antibactérien, cardioprotecteur et antioxydant (Kumar *et al.*, 2008a ; Rekha *et al.*, 2008 ; Sharma *et al.*, 2008b ; 2011 ; Mastan *et al.*, 2009 ; Arun *et al.*, 2011 ; Tanwar *et al.* , 2011).

I.5.5. Travaux antérieurs sur *S. cumini*

Le genre *Syzygium* et en particulier *Syzygium cumini* a fait l'objet de plusieurs études phytochimiques, Des études remarquables menées sur les propriétés pharmacologiques, les constituants phytochimiques et la valeur nutritive de *S. cumini* ont été publiées au cours de la dernière décennie (Helmstadter, 2008 ; Ayyanar & Subash-Babu., 2012 ; Baliga *et al.*, 2013 ; Srivastava et Chandra, 2013).

Divers métabolites secondaires ont été signalés dans différentes parties de *S. cumini*. Les feuilles de cette espèce contiennent des niveaux élevés de flavonoïdes, en particulier la quercétine, la myricétine, myricitrine, le kaempférol et leurs dérivés glucosidiques, en plus des acides phénoliques comme l'acide férulique, l'acide chlorogénique et l'acide gallique (Mahmoud *et al.*, 2001; Timbola *et al.*, 2002; Ruan *et al.*, 2008). L'huile essentiel des feuilles est dominé par les terpènes tels que l' α -pinène, le β -pinène, l' α -limonène, l' α -cadinol, le pinocarvone, le pinocarveol (Shafi *et al.*, 2002; *et al.*, 2013). Les graines sont la partie la plus étudiée de la plante, Les études de Modi *et al.*(2010) et Kumar *et al.* (2009) ont montré la présence d'alcaloïdes, de composés phénoliques,

Chapitre II

Matériel et Méthodes

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

II.1. Matériel végétal

Les fleurs de *S. cumini* cultivée dans un jardin privé dans la région de Boumerdes (36° 46' 00" N, 3° 28' 00" E, 10 m d'altitude, 45 km d'Alger) (Fig II.1) ont été collectées au maximum de la floraison (Juin 2019).

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.

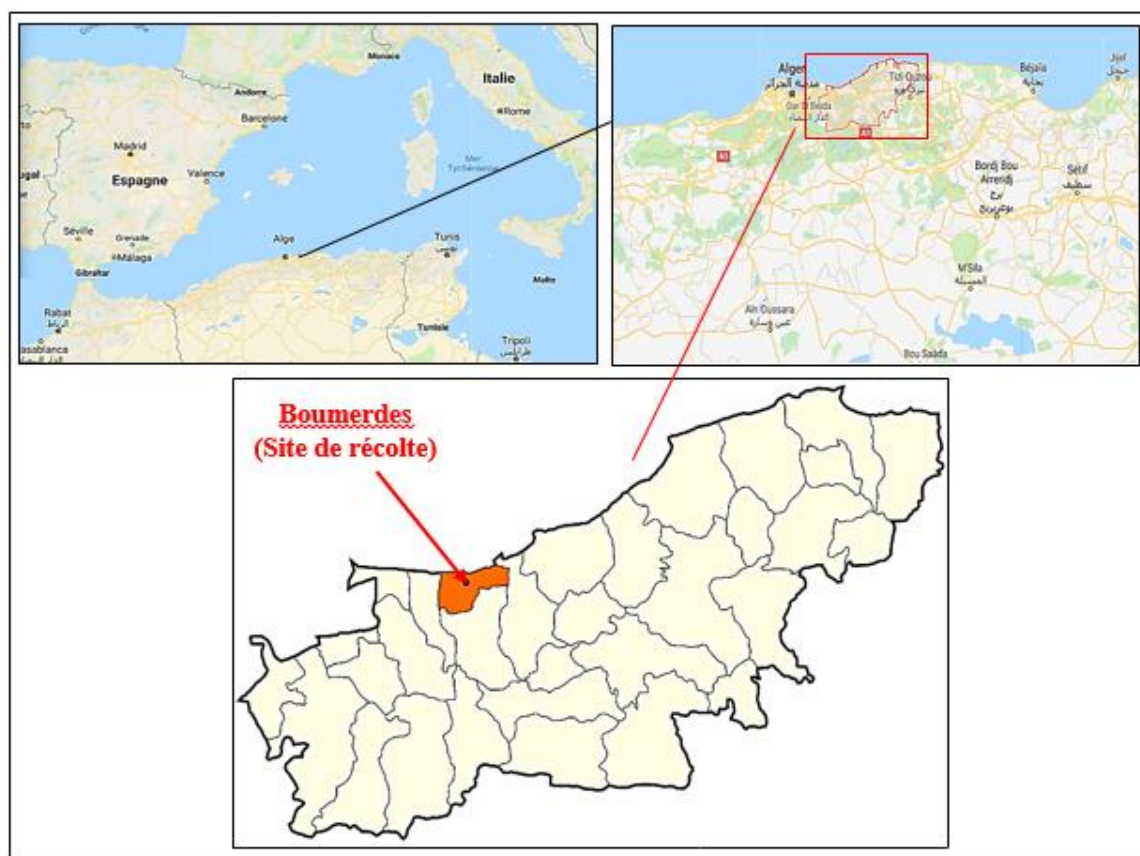


Figure II.1. Site géographique de la récolte de *S. cumini* utilisée dans cette étude
(Google map)

II.2. Extraction des huiles essentielles

Les fleurs de *S. cumini* utilisées pour l'extraction de l'HE ont été séchées à l'ombre à température ambiante dans un endroit aéré, puis rendu en poudre par broyeur.

II.2.1. Hydrodistillation

Dans le montage à hydrodistillation (type Clevenger, (Fig. II.2), 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.

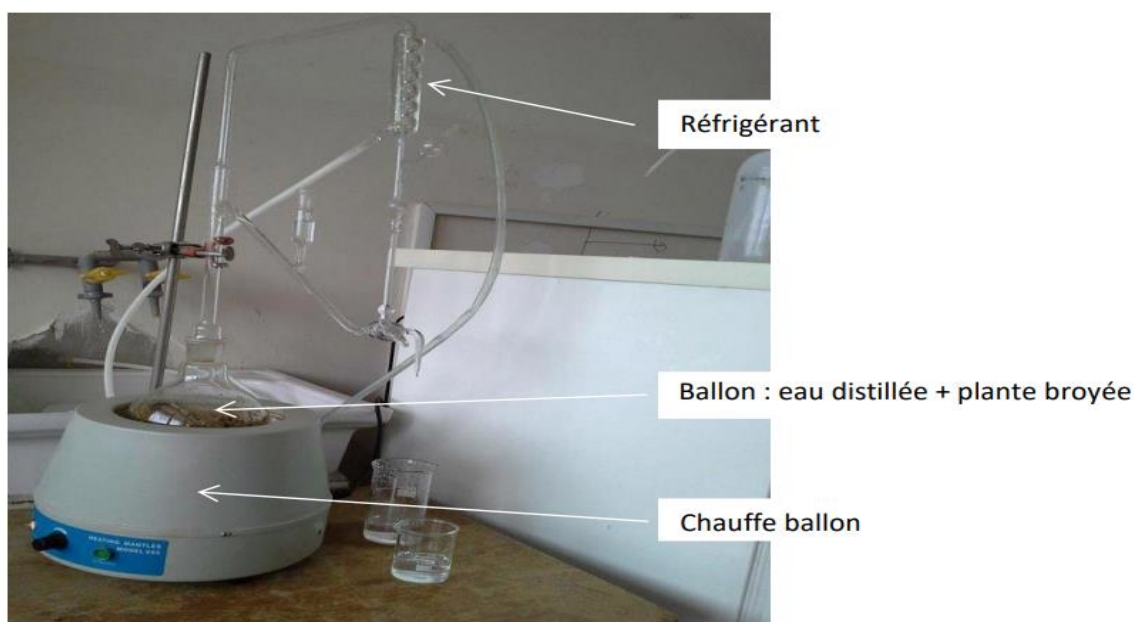


Figure II.2. Montage Clevenger d'hydrodistillation

II.3. Analyse de l'huile essentielle de *S. cumini* par chromatographie gazeuse

II.3.1. Analyse de l'huile essentielle par couplage chromatographie gazeuse-spectrophotométrie de masse (GC-MS)

Les spectres de masses des composés volatils de l'HE 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.

Tableau II.1. Conditions opératoires GC-MS utilisées pour l'analyse de l'HE de *S. cumini*

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.3.2. 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 et Kratz, 1963) selon l'équation suivante :

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

Où :

t_{RS} : temps de rétention absolu du soluté étudié ;

t_{RZ} : temps de rétention absolu de l'alcane à Z atomes de carbone qui précède le soluté ;

$t_{R(Z+n)}$: temps de rétention absolu de l'alcane à (Z+n) atomes de carbone qui suit le soluté;

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

II.3.3. 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. 4. Analyse statistique cluster hiérarchique

L'analyse typologique (distance euclidienne de Pearson) pour mettre en évidence l'existence d'une éventuelle variabilité compositionnelle ou chémotypique, a été réalisée avec le logiciel  version 2021.3.1 (Addinsoft, Paris, France) sur les données quantitatives (composition en pourcentage déterminé par GC/MS) des constituants majoritaires (>5%) des HEs de 7 échantillons issues de 5 populations, algérienne, égyptienne, brésilienne et indienne, de *S. cumini*.

Chapitre III

Résultats et Discussion

III. Caractérisation phytochimique de l'huile essentielle de fleurs de *S. cumini*

III.1. Résultats

L'analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (GC/MS) entreprise ici a eu pour but d'identifier et de reconnaître la composition phytochimique, et la classe chemotypique de l'HE des fleurs de *S. cumini* cultivée dans la région de Boumerdes.

L'HE des fleurs de *S. cumini* cultivée en Algérie, a été soumise à une analyse chromatographique et spectrale détaillée par couplage GC/MS. La figure III.1 représente le chromatogramme ionique total de l'HE étudiée. L'identification des constituants a été réalisée par l'utilisation des indices de rétention (IR) sur la colonne apolaire DB-5, 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 la base bibliographique Adams (2007). Les constituants identifiés sont listés dans le Tableau III.1 selon leur ordre d'élution sur la colonne DB-5. Leurs indices de rétention et leurs pourcentages relatifs sont également répertoriés dans ce tableau III.1.

Cette analyse chimique par GC/MS a conduit à l'identification de 32 constituants. Ces composés détectés et identifiés ont une aire cumulée qui correspond à un total d'identification de 97.70% (Tab. III.1). Parmi les 32 composés identifiés (Tab. III.1). Au meilleur de notre connaissance, 7 des composés identifiés sont détectés ici pour la première fois dans l'HE de fleurs de *S. cumini* (voir les composants indiqués par d en exposant dans le (Tab. III.1). En revanche, d'autres composés précédemment trouvés dans les HE de *S. cumini* de différentes origines n'ont pas été détectés dans notre HE, par exemple le δ -cadinene, α -caryophyllene, bornyl acetate, camphene, muurolene, globulol, viridiflorol etc.

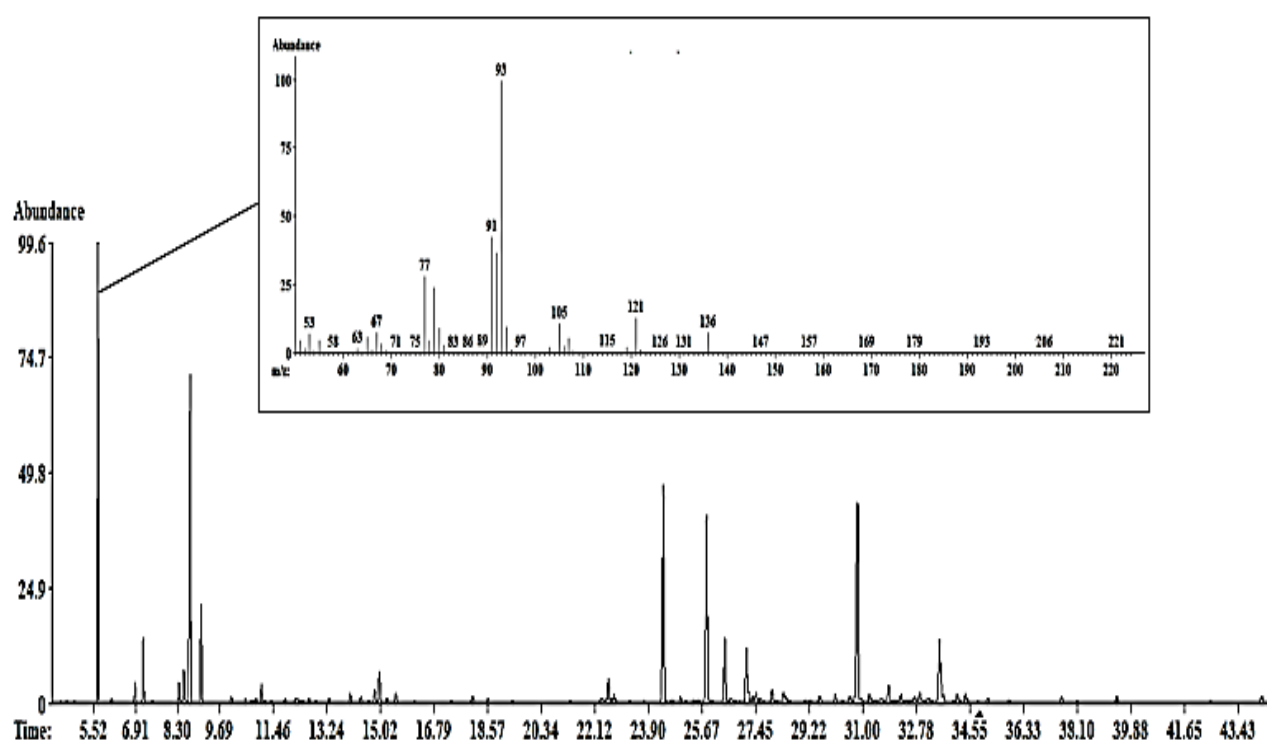


Figure III.1. Chromatogramme ionique total (GC/MS) de l'huile essentielle des fleurs de *Syzygium cumini* algérienne avec le spectre de masse du constituant majoritaire (l'encadrement au-dessus)

Tableau III.1. Composition chimique de l'huile essentielle des fleurs de
S. cumini cultivée en Algérie

Constituant ^a	IRC ^b	IRA ^c	Composition (%)	Méthode d'identification
α-Pinene	927	932	15.97	IR, SM
β -Pinene	971	974	0.70	IR, SM
Myrcene	980	988	2.31	IR, SM
<i>p</i> -Cymene	1018	1020	0.75	IR, SM
Limonene	1022	1024	1.26	IR, SM
(Z)-β-Ocimene	1028	1032	13.80	IR, SM
(<i>E</i>)- β -Ocimene	1038	1044	3.81	IR, SM
(5Z)-Octenol ^d	1065	1065	0.31	IR, SM
Linalool	1092	1095	0.75	IR, SM
endo-Borneol	1163	1165	0.43	IR, SM
Terpineol-4	1172	1174	0.31	IR, SM
Methyl salicylate ^d	1183	1190	0.60	IR, SM
α -Terpineol	1187	1186	1.48	IR, SM
<i>cis</i> -4-Caranone ^d	1200	1200	0.44	IR, SM
α -Copaene	1364	1374	1.15	IR, SM
β-Caryophyllene	1407	1417	12.61	IR, SM
<i>trans</i> - α -Bergamotene ^d	1421	1432	0.33	IR, SM
(Z)-β-Farnesene	1442	1440	10.32	IR, SM
4,5- <i>di-epi</i> -Aristolochene	1457	1471	3.52	IR, SM
Eremophilene	1475	1486 ¹	3.55	IR, SM
α -Selinene	1483	1498	0.54	IR, SM
β -Bisabolene ^d	1496	1505	0.69	IR, SM
δ -Cadinene	1505	1513	0.83	IR, SM
(<i>E</i>)-Nerolidol	1549	1561	0.41	IR, SM
Caryophyllene oxide	1568	1582	12.65	IR, SM
Himachalene epoxide ^d	1578	1578	0.49	IR, SM
Humulene epoxide II	1594	1608	1.06	IR, SM
Caryophylla-4(12)8(13)-dien-5(β)-ol	1622	1639	0.61	IR, SM
α -Eudesmol	1639	1652	4.72	IR, SM
Selin-11-en-4- α -ol	1643	1658	0.37	IR, SM
δ -dodecalactone ^d	1663	1676	0.52	IR, SM
Hexadecanoic acid	1952	1959	0.40	IR, SM

Tableau III.1. (Suite)

Constituant	Composition (%)
Monoterpènes hydrocarbonés	38.60
Monoterpènes oxygénés	3.41
Monoterpènes	42.01
Sesquiterpènes Hydrocarbonés	33.55
Sesquiterpènes oxygénés	20.31
Sesquiterpènes	53.85
Autres	1.84
Total identifié	97.70
Nombre de composés identifiés	32

^{a)} L'ordre d'élution 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 ¹ Pino *et al.* (2005). ^{d)} Composants identifiés pour la première fois dans une huile produite par *S. cumini*. IR = identification par comparaison avec l'indice de rétention. SM = identification par comparaison avec le spectre de masse. Les composés et classes majoritaires sont en gras.

Les **Figures III.2** et **III.3** exposent respectivement des histogrammes représentant les classes chimiques et les constituants majoritaires avec leurs structures développées de l'HE des fleurs de *S. cumini*.

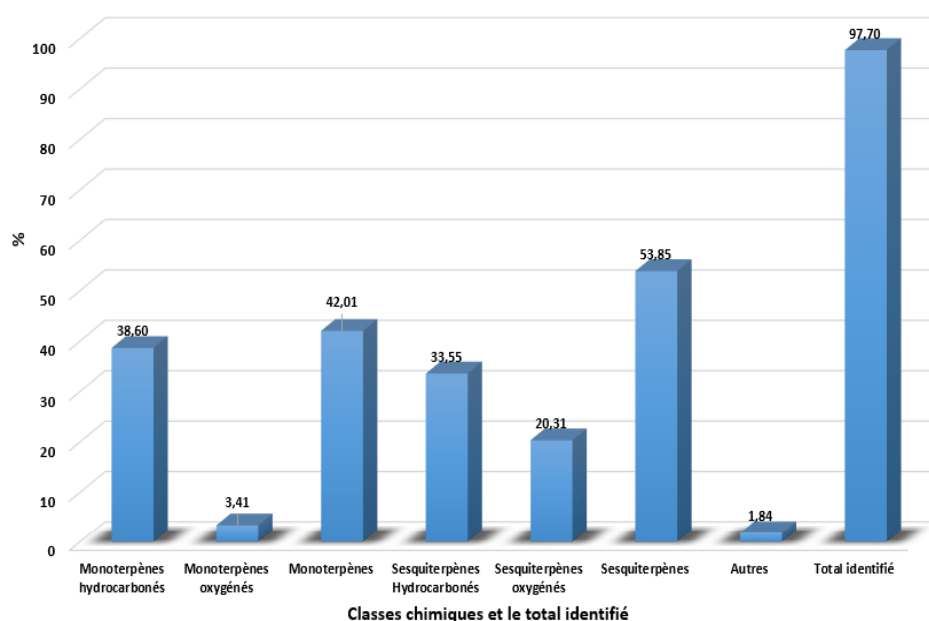


Figure III.2. Teneurs des classes chimiques et le total identifié de l'HE des fleurs de *Syzygium cumini*

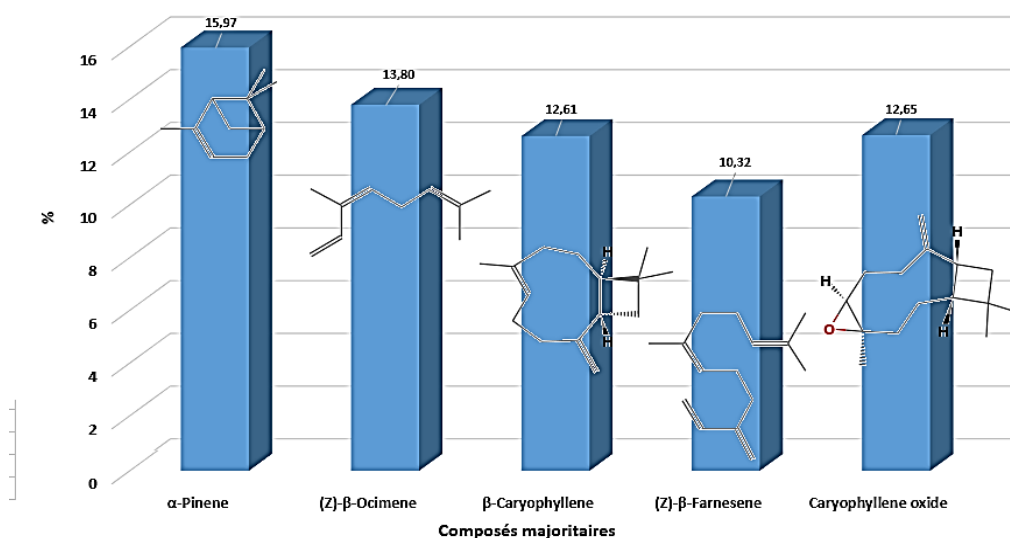


Figure III.4. Teneurs et structures chimiques développées des constituants majoritaires de l'HE des fleurs de *S. cumini*

D'après les résultats cités dans le Tableau III.1 et la Figure III.2, l'HE des fleurs de *S. cumini* Algérienne est constituée principalement de trois classes phytochimiques : monoterpènes hydrocarbonés (38.60%), les sesquiterpènes hydrocarbonés (33.55%) et les sesquiterpènes oxygénés (20.31%). Par contre les monoterpènes oxygénés sont détectés à une teneur très faible (3.41 %). En outre, cette HE se caractérise par l'absence totale des phénylpropanoïdes souvent détectés dans les HEs.

La Figure III.3 illustre un histogramme représentant les constituants majoritaires de l'HE des fleurs de *S. cumini* et leurs structures développées. L'α-pinene (15.97%), le (Z)-β-ocimene (13.80%), le caryophyllene oxide (12.65%), le β-caryophyllene (12.61%) et le (Z)-β-farnesene (10.32%) sont les constituants majoritaires de l'HE étudiée. (Tab. III.1 et Fig. III.3). De ce fait notre HE des fleurs de *S. cumini* cultivée en Algérie présente le chémotype α-pinene (15.97%), le (Z)-β-ocimene (13.80%).

III.1.2. Discussion

On rappelle qu'aucune étude phytochimique n'a été faite sur cette espèce cultivée en Algérie. A notre connaissance et selon la recherche bibliographique réalisée lors de ce travail toutes les études antérieures sur l'analyse chimique des HEs de *S. cumini* ont été faites sur les feuilles, seules deux études étaient focalisées sur les fruits (Craveiro *et al.*, 1983 ; Nishandini *et al.*, 2015), une seule sur les tiges (Craveiro *et al.*, 1983) et une seule aussi sur les graines (Scharef *et al.*, 2016). La composition chimique des fleurs n'a jamais été étudiée auparavant (Tab. III.2).

Le présent travail a mis en évidence la présence de L' α -pinène (15.97%), le (Z)- β -ocimène (13.80%), le caryophyllène oxide (12.65%), le β -caryophyllène (12.61%) et le (Z)- β -farnésène (10.32%) sont les constituants majoritaires de l'HE étudiée.

Nos résultats concernant la composition chimique de l'HE des fleurs de *S. cumini* sont cohérents avec les études précédentes sur les HEs de cette espèce. La plupart des études faites sur les HEs extraites des feuilles de *S. cumini* d'Egypte, du Brésil et d'Inde ont signalé l' α -pinène comme premier composé majoritaire (Abdelhady *et al.*, 2012 ; El Anssary *et al.*, 2012 ; Mohamed *et al.*, 2013 ; Badawy et Abdelgaleil, 2014 ; Craveiro *et al.*, 2013 ; Dias *et al.*, 2013 ; Siani *et al.*, 2013 ; Sbral-Souza *et al.*, 2014, Pereira *et al.*, 2017, Nishandini *et al.*, 2015, Saroj *et al.*, 2015, Evrton, 2020 ; Hanif *et al.*, 2020, Reis *et al.*, 2021) (Tab III. 2). De même, les huiles essentielles obtenues à partir de tiges et de fruits de *S. cumini* du Brésil et d'Inde étaient dominées par le -pinène (Craveiro *et al.*, 1983 ; Nishandini *et al.*, 2015)(Tab.III 2). En revanche d'autres études ont signalé d'autres composés comme premier constituant majoritaire, il s'agit du méthyl eugénol (Abdelhadi *et al.*, 2012 ; α -caryophyllène (Machado *et al.* 2013), β -caryophyllène (Reis *et al.*, 2021), Pinocarvéol (Jirovetz *et al.*, 1999), α -humulène (Khumar *et al.*, 2004), cardinol (Nishandini *et al.* 2015 ; Sarma *et al.*, 2020), isocaryophyllène (Evrton *et al.*, 2020) et le fenchol (Hanif *et al.*, 2020).

Le (Z)- β -ocimène, notre deuxième constituant majoritaire a été aussi rapporté comme constituant majoritaire dans l'HE de *S. cumini* par d'autres études antérieures (Craveiro *et al.*, 1983 ; Siani *et al.*, 2013 ; Dias *et al.*, 2013 ; Nishandini *et al.*, 2015, Saroj *et al.*, 2015).

Il est à noter que le Caryophyllène oxide, notre troisième constituant majoritaire n'a été détecté comme produit majoritaire dans l'HE de *S. cumini* que dans une seule étude ; la seule étude réalisée sur les graines par Scharef *et al.*, (2016). Concernant d'autres espèces du genre *Syzygium*, nos résultats sont cohérents avec ceux de Rameshkumar *et al.*, (2015). Ces auteurs dans leur étude sur six espèces du genre *Syzygium* (*S. arnottianum*, *S. caryophyllatum*, *S. hemisphericum*, *S. laetum*, *S. lanceolatum* and *S. zeylanicum* var. *zeylanicum*) du sud de l'Inde ont rapporté la prédominance des sesquiterpènes avec la présence de caryophyllène et caryophyllène oxide dans l'HE de toutes ces espèces étudiées à l'exception de *S. laetum*.

Il est important de noter aussi que Le (Z)- β -farnesène ; notre cinquième constituant majoritaire n'a été détecté comme constituant majoritaire de l'HE de *S. cumini* dans aucune étude antérieure (Tab III. 2). En plus il est intéressant de souligner que certains composés déjà signalés comme constituants majoritaires de l'HE de *S. cumini* dans les études antérieures (Tab III.2) comme le β -pinène, limonène, le (τ)-Cadinol ont été absents ou détectés avec un taux faible dans notre HE.

Ces différences de composition des HEs de *S. cumini* peuvent être attribuées aux facteurs biotiques et abiotiques incontrôlés ou aux différences génétiques inhérentes comme précédemment décrit pour d'autres plantes productrices d'HE (Putievsky *et al.* 1986 ; Figueiredo *et al.* 1997).

Tableau III.2. Rendement et composition chimique majeure des huiles essentielles de *S. cumuni* dans la littérature

Origine/partie utilisée	Rendement (%)	Nombre/Composés majoritaires (%)	Référence
Egypte/fruits	1.2	25/Methyl eugenol (22.5), limonene (14.43), terpineol (12.04)	Abdelhady <i>et al.</i> , 2012
Egypte/feuilles	0.125	29/ α -Pinene (17.53), α -terpineol (16.67), alloocimene (13.55), α -bornyl acetate (6.37)	Elansary <i>et al.</i> , 2012
	-	49/ α -Pinene (32.32), β -pinene (12.44), <i>trans</i> -caryophyllene (11.19), 1,3,6-octatriene (8.41)	Mohamed <i>et al.</i> , 2013
	-	-/ α -Pinene (17.26), β -pinene (11.28) and α -terpineol (13.88)	Badawy & Abdelgaleil, 2014
Brezil/feuilles	-	8/ α -Pinene (30), β -pinene (20), <i>trans</i> -ocimene (9.5), <i>cis</i> -ocimene (9)	Craveiro <i>et al.</i> , 1983
	0.52	11/ α -Pinene (31.85), β -(Z)-ocimene (28.98), β -(E)-ocimene (11.71)	Dias <i>et al.</i> , 2013
	-	12/ α -Caryophyllene (25.24), β -caryophyllene (16), α -terpineol (9.08)	Machado <i>et al.</i> , 2013
	0.05	39/ α -Pinene (22.2), <i>cis</i> -ocimene (10.2), β -caryophyllene (9.45), limonene (7.31)	Sciani <i>et al.</i> , 2013
	0.08	14/ α -Pinene (30.04), <i>trans</i> - β -ocimene (26.85), β -ocimene (11.13), β -fenchyl alcohol (7.27)	Sobral-Souza <i>et al.</i> , 2014
	-	26/ α -Pinene (48.09), nerolidol (8.73), nerol (7.15), nonalol (6.76)	Pereira <i>et al.</i> , 2017
Brezil/tiges	-	14/ α -Pinene (18.56), <i>cis</i> -ocimene (14.83), β -pinene (12.61), <i>trans</i> -ocimene (12.24)	Craveiro <i>et al.</i> , 1983
Brezil/fruits	-	10/ α -Pinene (30.13), <i>cis</i> -ocimene (18.50), <i>trans</i> -ocimene (12.10), β -pinene (10.81)	
Inde/feuilles	0.04	-/Pinocarveol (15.1), α -terpeneol (8.9), myrtenol (8.3), eucarvone (6.6), muurolol (6.4)	Jirovetz <i>et al.</i> , 1999
	-	-/ α -Humulene (12.30), β -caryophyllene (6.34), <i>cis</i> -farnesol (5.04)	Khumar <i>et al.</i> , 2004
	-	66/ α -Pinene (21.5), α -terpinene (9.5), δ -cadinene (8.3), <i>trans</i> -ocimene (6.8)	Nishandhini <i>et al.</i> , 2015
	-	61/ α -Pinene (17.2), β -(Z)-ocimene (10.9), β -pinene (8.6)	Saroj <i>et al.</i> , 2015
Inde/fruits	-	34/ α -Cadinol (25.8), α -pinene (12.4), myrcene (8.4), β -pinene (8)	Nishandhini <i>et al.</i> , 2015
Inde/grains	0.05-0.11	β -Caryophyllene (12.3-42.5), caryophyllene oxide (28.9-37.3), α -humulene (9.5-22.2), humulene epoxide II (13.1-17.1).	Scharf <i>et al.</i> , 2016
Algérie/fleurs	0.05	32/ α -pinene (15.97), (Z)- β -ocimene (13.8), Caryophyllene oxide (12.65), β -caryophyllene (12.61), <i>cis</i> - β -farnesene (10.32)	Présente étude

D'après les résultats présentés dans le tableau III.1, et le regroupement bibliographique de la composition phytochimique de toutes les HEs des organes de reproductions de toutes les populations de *S. cumini* à travers le monde étudiées à ce jour (données représentées en partie sur le tableau III.2) les HEs de *S. cumini* présentent une très importante diversité phytochimique qualitative et quantitative. Bien qu'utilisé brièvement ici, l'analyse statistique est un outil puissant permettant de compléter les méthodes purement analytiques. Cette analyse statistique permet notamment dans notre cas, de comparer les différents jeux de données phytochimiques obtenus sur des HEs de fleurs (uniquement la présente étude puisque bibliographique aucune étude n'a été réalisée sur les fleurs de cette espèce), fruits et graines (organes de reproductions) de différentes populations afin d'estimer la nature de l'homogénéité ou de la variabilité de la composition phytochimique de ces HEs. Bien que bibliographiquement la plus part des études sont réalisées sur les HEs de feuilles de cette espèce. Le choix des organes de reproductions pour cette analyse statistique est fondé sur les liens physiologiques entre les fleurs, les fruits et les graines. Pour cela nous avons réalisé une analyse de classification hiérarchique comparative entre les HEs des organes de reproduction disponible dans la bibliographie. Cette analyse statistique est basée sur une matrice de la composition (%) des HEs incluant uniquement 18 composés majoritaires qui présentent une teneur >5%. Ces composés unis représentent une proportion de 69 % jusqu'à 83.32 % du contenu total de ces HEs.

La figure III.4 illustre le dendrogramme de la classification hiérarchique des HEs de fleurs, de fruits et de graines de 5 populations et représentées par 7 échantillons HE de *S. cumini* à travers 4 pays (Algérie, Egypte, Brasil et Inde) où cette espèce est cultivée ou spontanée. L'analyse du cluster hiérarchique a divisé les HEs de ces populations de *S. cumini* étudiées à ce jour en deux grands groupes *I* et *II*. Le premier groupe (*I*) une seule HE de fruits de cette espèce d'origine égyptienne, EG_FR, qui est une HE distincte des HEs des autres populations par le chémotype **méthyl eugenol** et aussi avec la détection unique de 1,8-cineol, linalyl propanate et spathulenol.

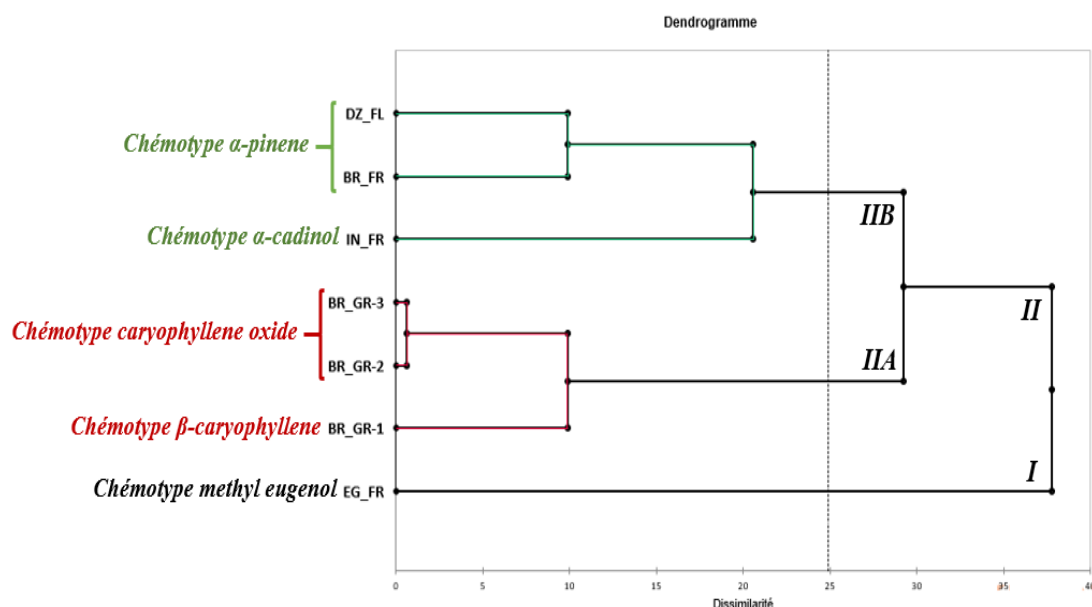


Figure III.4. Dendrogramme de l'analyse du cluster hiérarchique des HEs des organes de reproductions de plusieurs populations de *S. cumini* d'origine algérienne, brésilienne, indienne et égyptienne

Cette classification est basée sur les teneurs (%) de 18 constituants majoritaires (>5%) des HEs de ces populations (données issues de la littérature et de la présente étude). L'HE de la présente étude sont mentionné par DZ. BR_GR-1, BR_GR-2, BR_GR-3 = HEs de graines d'une population brésilienne (Scharf *et al.*, 2016) ; IN_FR, = HE de fruits d'une population indienne (Nishandhini *et al.*, 2015) ; EG_FR = HE de fruits d'une population égyptienne (Abdelhady *et al.*, 2012) ; BR_FR = HE de graines d'une population brésilienne (Craveiro *et al.*, 1983) ; DZ_FL = HE de fleurs de la population algérienne de Boumerdes de la présente étude.

Au sein du groupe *II* toutes les autres HEs sont groupées avec la distinction de 4 chémotypes. Le chémotype **β -caryophyllène** pour l'HE des graines d'une population brésilienne (BR_GR-1), le chémotype **caryophyllène oxide** pour les HEs des graines de la même dernière population brésilienne (BR_GR-2 et BR_GR-3), le chémotype **α -cadinol** pour l'HE des fruits d'une population indienne (IN_FR) et enfin le chémotype **α -pinene** (le plus abondant des HEs des feuilles) pour les fruits d'une populations brésilienne (BR_FR) et les fleurs de notre population algérienne de cette étude. Les HEs de ce groupe (*II*) se distinguent par la présence de β -caryophyllène (0.4-42.5%) et l'absence totale de méthyl eugenol, de 1,8-cineol, de linalyl propanate et de spathulenol contrairement au profil de l'HE de la population du groupe *I*. A noter aussi, la distinction de plusieurs chémotypes dans le groupe *II* est expliqué par la présence ou l'absence de tel composé ou de tel jeu de composé. Dans ce groupe (*II*) est bien claire la

ségrégation du groupe (*IIB*) qui rassemble les HEs de graines de *S. cumini* d'origine brésilienne (BR_GR-1, BR_GR-2 et BR_GR-3) et le groupe (*IIA*) qui réunis les HEs des fruits et fleurs de cette espèce d'origine indienne, brésilienne et algérienne (IN_FR, BR_FR et DZ_FL). Cette séparation est expliqué par l'absence du (Z)- β -ocimene dans le premier groupe (*IIB*) et sa présence dans le deuxième groupe (*IIA*, 0.6-18.5%).

Il est intéressant de signaler que d'après cette analyse statistique (Fig. III.4), le facteur organe n'a aucune influence sur le chémotype de l'HE puisque les HEs des graines ont présentées 2 différents chémotypes et pour celles des fruits ont présentées 3 différents chémotypes. Au contraire, cette analyse a prouvé que les HEs de *S. cumuni* représentent une extraordinaire biodiversité en relation principalement avec les conditions géographiques et génétiques.

Conclusion et perspectives

Conclusion et Perspectives

Le présent travail, nous a permis d'apporter une contribution à la valorisation d'une plante tropicale très utilisée en médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutiques mais non connu en Algérie. Cette étude rapporte pour la première fois la composition chimique des fleurs de *Syzygium cumini* cultivée dans la région de Boumerdes.

Nous avons, dans un premier temps, procédé à l'extraction par hydrodistillation-Clevenger de l'HE des fleurs de *S. cumini*. Ensuite, nous avons analysé la composition chimique des composés volatils constituant cet HE.

L'analyse chimique des composés volatils de l'HE de *S. cumini* a été effectuée par le couplage GC/MS. Selon cette analyse, cet HE est dominé par les monoterpènes hydrocarbonés (38, 60%), les sesquiterpènes hydrocarbonés (33,55%) et les sesquiterpènes oxygénés (20, 31%). Donc notre HE a un caractère sesquiterpénique (53, 85%). 32 composés ont été détectés dans cet HE avec la dominance de l' α -pinène (15,97%), le (Z)- β -ocimène (13,80%), le caryophyllène oxide (12,65%), le β -caryophyllène (12,61%) et le (Z)- β -farnésène (10,32%). De ce fait l'HE de *S. cumini* cultivée en Algérie présente le chémotype α -pinène, ce qui est cohérent avec plusieurs études antérieures sur *S. cumini* de différentes origines.

Vu l'importance que jouent les plantes aromatiques et médicinales pour notre santé et dans notre vie quotidienne, et en tenant compte des résultats obtenus dans cette étude, des études complémentaires pourront être envisagées dans plusieurs domaines.

- ✚ Il serait très intéressant de compléter l'analyse de la composition chimique de l'HE de *S. cumini* par d'autres techniques telles que le couplage GC/MS avec une colonne polaire et l'RMN.
- ✚ L'étude des activités biologiques de cet HE comme l'activité antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire.

Références Bibliographiques

- Adams R. P. 2001.** Identification of Essential Oil Component by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. 3rd edition Carol Stream: Allured Publishing. Corporation, États-Unis, 456 p.
- Ait Mbarek L.A., Mouse H.A., Elabbadi N., Bensalah M., Gamouh A., Aboufatima R., Benharref A., Chait A., Kamal, M., Dalal A., Ziad A. 2007.** Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. Braz. J. Med. Biol. Res., 40: 839-847.
- Al-Bayati F.A. 2008.** Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. J. Ethnopharmacol., 116: 403–406.
- Allen K.G., Banthorpe D.V., Charlwood B.V. 1977.** Metabolic pools associated with monoterpene biosynthesis in higher plants. Phytochemistry, 16:79-83.
- Allinger N.L., Cava M.P., De Jongh D.C., Johnson C.R., Lebel N.A., Stevens C.L. 1975.** «Chimie organique », Ediscience/Mc Graw-Hill, Paris, 813 p.
- Alvaez-Castellanos P.P., Pascual-Viialobos M.J. 2003.** Effect of fertilizer on yield and composition of flowerhead essential oil of *Chrysanthemum caronarium* (Asteraceae) cultivated in Spain. Baser. Ind. Corps Prod. 17, 77-81.
- Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P. 1995.** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Masson, Paris.
- Assami K., Pingret D., Chemat S., Meklati B.Y., Chemat F. 2012.** Ultrasound induced intensification and selective extraction of essential oil from *Carum carvi* L. seeds. Chem Eng Process Intensif., 62: 99-105.
- Ayvaz A., Sagdic O., Karaborklu S., Ozturk I. (2010).** Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. J. Insect Sci., 10 (1) : 1-13.
- Aazza S., Lyoussi B., Miguel M.G. (2011).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of some commercial essential oils and their major compounds. Molecules, 16 (9):7672-7690.
- Balandrin M.F., Klocke J.A., Wurtele E.S., Bollinger W.H. (1985).** Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. J. Sci., 228(4704), 1154-1160.
- Bakkali F., Averbek S., Averbek D., Idaomar M. 2008.** Biological effects of essential oils- a review. Food Chem. Toxicol., 46: 446-475.
- Baranauskaite J., Kubiliene A., Marksa M., Petrikaite V., Vitkevičius K., Baranauskas A., 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. Biomed Res. Int., 2017:1-7.
- Barclay L. R. C., Xi F., Norris J. Q. 2006.** Antioxidant Properties of Phenolic Lignin Model Compounds. J. Wood Chem. Technol., 17 (12) : 73-90.
- Bardeau F. 2009.** Les huiles essentielles, Propriétés et utilisations de l'aromathérapie. Ed. Lanore. Collection Santé Pratique 318p.
- Barkire B. 1996.** Les ressources naturelles d'origine végétale au Niger : les possibilités de leur valorisation sous forme de biopesticides. Séminaire-atelier, Niamey, Niger, 28 octobre-8 novembre 1996.
- Baser K.H.C., Buchbauer G. 2010.** Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton. New York, 994p.
- Bassereau M., Chaintreau A., Duperrex S., Joulain D., Leijls H., Loesing, G., Owen N., Sherlock A., Schippa C., Thorel P.J., Vey M. 2007.** Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. Quantification of suspected volatile allergens in fragrances. Data treatment strategies and method performances. J Agric Food Chem., 55: 25-31.
- Baudoux D. 1997.** Un procédé, une analyse, une définition. Aroma News. Lettre d'information de N.A.R.D: Natural Aromatherapy Research and Development, Belgique.

- Belaiche P. 1979.** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.
- Bennett P.N., Brown M.J. 2005.** Clinical pharmacology. Churchill Livingstone: New Delhi.
- Bernadet M. 2000.** Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Dictionnaire thérapeutique de 530 affections courantes. Dangles, Toulouse, France, 384p.
- Bessah R., Benyoussef E. 2015.** La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. Revue des Energies Renouvelables, 18 (3) : 513-528.
- Bharti P., Bai S., Seasotiya L., Malik A., Dalal S., 2012.** Antibacterial activity and Chemical Composition of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against selected Bacteria. Int. J. Drug Dev. & Res., 4 (4): 342-351.
- Bhaskara-Reddy M.V., Angers P., Gosselin A., Arul J. 1998.**Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruits. Phytochemistry, 42 (8): 1515-1520.
- Burt S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. Int. J. Food Microbiol., 94: 223-253.
- Boizot N., Charpentier J.P. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cah. tech. INRA: 79-82.
- Bohlmann J., Keeling C.I. 2008.** Terpenoid biomaterials. Plant J.,54(4): 656-669.
- Boullard B. 1997.** Plantes et champignons : dictionnaire. 2ème édition. Estem, Paris. 24 p.
- Boyd B., Ford C., Koepke Michael C., Gary K., Horn E., McAnelley S., McAnelley C. 2003.** Étude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. GlycoScience et Nutrition, 4(6) : 7p.
- Bruneton, J. 1993.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition, technique et documentation .Lavoisier. Paris, 915p.
- Bruneton J. 1997** « Éléments de phytochimie et pharmacologie », Editions Tec & Doc Lavoisier, Paris 1997, pp. 405–426.
- Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L. (2000).** Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists: Rockville, MD. 1367p.
- 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.
- Caldefie-Chézet F., Guerry M., Chalchat J.C., Fusilliers C., Vasson M.P., Guillot J. 2004.** Anti-inflammatory effects of *Malaleuca alternifolia* essential oil on human polymorphonuclear neutrophils and monocytes. Free Radical Res., 38, 805-811.
- 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. Phytother Res., 20: 364-370.
- Capillon. 2006.** Agriculture durable : faut-il repenser les systèmes de culture ? Rapport de Dossier. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, Montpellier : 57-87.
- Carson CF., Mee B.J., Riley T.V. 2002.** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined par time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. Antimicrob. Agents Chemother., 46: 1914-1920.
- Carson F. A., Hammer K. 2011.** Chemistry and bioactivity of essential Oils. In: Lipids and essential oils as antimicrobial agents. (Ed. Thormar H.). John Wiley & Sons. Island. 336p.

- Castillo R.H., Stashenko E., Close J.E.D. 2017.** Insecticidal and repellent activity of several plant-derived essential oils against *Aedes aegypti*. J. Am. Mosq. Control Assoc., 33 (1) :25-35.
- Cortial S. 2005.** Précis d'aromathérapie vétérinaire à l'usage des pharmaciens d'office. Diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Université de Nantes. France.
- Cosentino S., Barra A., Pisano B., Cabizza M., Pirisi F. M., Palmas F. 2003.** Composition and antimicrobial properties of Sardinian *Juniperus* essential oils against foodborne pathogens and spoilage microorganisms. J. Food Protect., 66 : 1288-1291.
- Courvalin P., Drugeon H., Flandrois J.P., Goldstein F. 1990.** Bactericide, Aspects théoriques et thérapeutiques, 110p.
- Cox, S., C. Mann, J. Markham, H. Bell, J. Gustafson, J. Warmington, et S. Wyllie, 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). J. Appl. Microbiol., 88(1) :170-175.
- Crespo M.E., Jiménez J., Navarro C. 1991.** Special methods for the essential oils of the genus *Thymus*. In: Modern Methods of Plant Analysis, (edited by H.F. Linskens and J.F. Jackson), pp 41-46. Vol 12, New series, Essential oils and waxes. Springer-Verlag, Berlin
- Cristiani M., D'arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G., Micieli D. 2007.** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. J. Agric. Food Chem., 55(15): 6300-6308.
- Croteau R. 1992.** Biochemistry of monoterpenes and sesquiterpenes of the essential oils. In: Herbs, Spices, bio and Medicinal Plants, Recent Advances in Botany, Horticulture, and Pharmacology. Food Product Press., 1: 81-133.
- Croteau R., Kutchan T.M., Lewis N.G. (2000).** Biochemistry and Molecular Biology of Plants, B. Buchanan, W. Gruissem, R. Jones, (Eds.). American Society of Plant Physiologists, 1250-1316.
- Dacosta Y. 2003.** Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta, Paris, 317 p.
- Dapkevicius A., Venskutonis R., Van Beek T.A., Linssen J.P.H. 1998,** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. J. Sci. Food Agric., 77(1): 140-146.
- Daroui-Mokaddem H., 2011.** Etude phytochimique et biologique des espèces : *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniololus* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae). Thèse de Doctorat, Université Badji-Mokhtar, Annaba.
- Davidson P.M., Sofos J. N., Branen A. L. 2005.** Antimicrobials in Food (éd. Third Edition). Boca Raton: CRC Press, 429p.
- Deans S.G., Ritchie G. 1987.** Antibacterial properties of plant essential oils. Int. J. Food Microbiol., 5(2), 165-180p.
- Degrès A.C., Delpla I., Voinier M.A. 2008.** Atelier Santé Environnement, Risques et bénéfique des huiles essentielles, IGS. EHESP.
- De Luca V., St Pierre B. 2000.** «The cell and developmental biology of alkaloid biosynthesis » Trends Plant Sci, 5 (4): 168-173.
- Delaveau P., 2001.** Vademecum du vocabulaire de la santé. Elsevier Masson, Paris. 17p.
- Desmares C., Laurent A., Delerme C. 2008.** Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. AFSSAPS. Anatole, France, 18p.
- De Sousa D.P. 2015.** Bioactive essential oils and cancer. 1st Ed. New York, USA: Springer International Publishing. 292p.

- Dib I., Fauconnier M.L., Sindic M., Belmekki F., Assaidi A., Berrabah M., Mekhfi H., Aziz M., Legssyer A., Bnouham M., Ziyat E. 2017.** Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. *BMC Complement Altern. Med.*, 17 (1): 82.
- Edris A.E. 2017.** Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother Res.*, 21:308-323.
- Elson C.E., Peffley D.M., Hentosh P., Mo H. 1999.** Isoprenoid-mediated inhibition of mevalonate synthesis: potential application to cancer. *Exp. Biol. Med.*, 221: 294-311.
- Farnsworth N.R., Akerele O., Bingel A.S., Soejarto D.D., Guo Z. 1986.** *Bull. O.M.S.*, 64 (2): 159-175.
- Fellah S., Romdhane M., Abderraba M. 2006.** Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis*. l cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. *J.soc.alger.chim.*,16(2) :193-202.
- Ferhat M.A., Meklati B.Y., Chemat F. 2007.** Comparison of different isolation methods of essential oil from *Citrus* fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour Frag.J.*, 22 (6), 494-504.
- Fischetti F.J., 2010.** Flavoring Materials, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Fisher K., Phillips C. 2009. **In vitro inhibition of vancomycin-susceptible and vancomycin resistant *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* in the presence of citrus essential oils.** *Br. J. Biomed. Sci.*, 66: 180-185.
- Folliard T. 2014.** Le petit Larousse des huiles essentielles. Editions Larousse, Paris.
- Fu Y., Zu Y., Chen L., Shi X., Wang Z., Sun S., Efferth T. 2007.** Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytother Res.*, 21(10) :989-994.
- Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A., et al. 2010.** Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*,15(12): 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.
- Gazengel J.M., Orecchioni A.M. 2013.** Le préparateur en pharmacie. *Guide théorique et pratique*, 374p.
- Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A.M., 2001.** Le préparateur en pharmacie. Dossier : Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homeopathie. Ed.Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Gill A.O., Holley R.A. 2004.** Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70: 5750-5755.
- Guarrera P. M. 1999.** Traditional antelmintic, antiparasitic and repellent uses of plants in central Italy. *J. Ethnopharmacol.*, 68 :183-192.
- Guignard J. L. 2000.** « Biochimie végétale », Ed. Masson, Paris.166p.
- Guinoiseau E. 2010.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Université de Corse.
- Gutierrez J., Barry-Ryan C., Bourke P., 2008.** The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *Int. J. Food Microbiol.*, 124: 91-97.
- Hamid A.A., Aiyelaagbe O.O., Usman L.A. 2011.** Essential Oils: Its Medicinal and Pharmacological Uses. *International Journal of Current Research*, 3: 86– 98.
- Hammer K.A., Carson C.F., Riley T.V. 1999.** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol.*, 86(6):985-90.

- Hayashi K., Hayashi T. 1994.** Virucidal effects of the steam distillate from *Houttuynia cordata* and its components on HSV-1, influenza virus and HIV. *Planta Med.*, 61 :237-241.
- Hellal Z. 2011.** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites de Citrus. Application à la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. 120p.
- Hemwimon S., Pavasant P., Shotiprux A. 2007.** Microwave assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*. *Sep. Purif. Technol.*, 54:44-50.
- Henriques A.T., Kerber V.A., Moreno P.RH. 1999.** Alcaloides: generalidades e aspectos básicos. In: *Farmacognosia - Da Planta Ao Medicamento*, Simoes, et al. Ed. Porto Alegre/Florianopolis: Ed. UFRGS/Ed. UFCS, p. 641-656.
- 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.
- Hmamouchi M. 1999.** Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Editions Fedala, Mohammedia, 389p.
- Holley R.A., Patel D. 2005.** Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiol.*, 22: 273-292.
- Hongping X., Lanyue Z., Zhiwen Y., Chen F., Zheng X., Liu X. 2017.** Chemical compositions, antioxidative, antimicrobial, anti-inflammatory and antitumor activities of Curcuma aromatic Salisb essential oils. *Ind Crops Prod.*, 108: 6-16.
- Hopkins W.G., Physiologie Vegetale. 2003.** Université des sciences et technologie de Lille. Paris, Edition de Boeck Supérie, 532p.
- Hulin V., Mathot A., Mafart P., 1998.** Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sci. Aliments*, 18 :563-582.
- Hurabielle Paris M., Hurabielle M. 1981.** Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie, Tome I, édition Masson.
- 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.*, 5 :201-208.
- Jean-Christophet T., Chadouli S.M. 2012.** Les plantes aromatiques et médicinales. Exposition photographique, 5p.
- Joo J.H., Jetten A.M. 2009.** Molecular mechanisms involved in farnesol-induced apoptosis. *Cancer Lett.*, 287:123-135.
- Jun-Hyung T., Murray B.I. 2015.** Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of *Rosemary* essential oil in *Trichoplusia Ni*. *Sci.Rep.*, 5:126-90.
- Kalemba D., Kunicka A. 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.*, 10: 813-829.
- Karioti A., Vrahimi-Hadjilouca T., Droushiotis D., Ranic A., Hadjipavlou-Litina D., Skaltsa H. 2006.** Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Med.*, 72(14), 1330-1334.
- Kelly D. 1998.** The physiology and metabolism of the human gastric pathogen (*Helicobacter pylori*). *Adv. Microb. Physiol.*, 40: 137-189.
- Khandelwal K. 2008.** Practical pharmacognosy. Pragati Books, 220p.

- Kim N.S., Lee D.S. 2002.** Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 98:31-47.
- 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., Kaliya M., Froumin N. 2006.** Liquid phase isomerization of isoprenol into prenol in hydrogen environment. *APPL CATAL A-GEN*., 297(2): 231-236.
- Kohen R., Nyska A. 2002.** Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods of their quantification. *Toxicol Pathol.*, 30 (6): 620-50
- Kováts E. 1965.** Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography*, Chap. 7, 229-247.
- Krief S. 2003.** Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de Chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda, Activités biologiques et étude chimique de plantes Consommées. Thèse de doctorat, Museum national d'histoire naturelle, Paris, 346p.
- Kutchan T.M. 1995.** «Alkaloid biosynthesis [mdash] the basis for metabolic engineering of medicinal plants.» *Plant Cell.*, 7 (7):1059-1070.
- Kwon J.A., Yu C.B., Park H.D. 2003.** Bacteriocidal effects and inhibition of cell separation of cinnamic aldehyde on *Bacillus cereus*. *Lett. Appl. Microbiol.* 37: 61-65
- Lafon J.P., Thorand Prager C., Levy G. 1988.** « *Biochimie structurale* » Biologie des plantes cultivées. Tome 1. Lavoisier. TEC. & DOC, b) Sallé J.L. 1991. « *Le Totum en Phytothérapie* » Approche de phytothérapie. Ed Frison- Roche. Paris.
- Lahlou M. 2004.** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother. Res.*, 18(6) : 435-448.
- 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.
- 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.
- Lorrain E. 2013.** 100 questions sur la phytothérapie. Ed. La boétie, Italie.
- Liang Y.Z., Xieb P., Chan K. 2004.** Quality control of herbal medicines. *J Chromato B.*, 812: 53-70
- Lee B.H., Choi W.S., Lee S.E., Park B.S. 2001.** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Prot.*, 20:317-320.
- Le Hir A., Chaumeil J.C., Brossard D. 2009.** Pharmacie Galénique : Bonnes Pratiques de Fabrication des Médicaments, Elsevier Masson.
- Lucchesi M.E., Chemat F., Smadja J. 2004.** Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *J.Chromato A.*, 1043, 323-327.
- Lugasi A., Hovari J., Sagik., Biro L. 2003.** The Role of Antioxidant Phytonutrients in the Prevention of disease. *J.Acta.Biologica. Szegediensis.*, 47(14): 119-125.
- Luna A., Lema-Alba R.C., Dambolena J.S., Zygodlo J.A., Labaque, M.C., Marin R.H. 2017.** Thymol as natural antioxidant additive for poultry feed: oxidative stability improvement. *Poultry Science*, 96 (9): 3214–3220.

- Madhavi D., Deshpande S., Salunkhe D.K. 1995.** Food antioxidants: Technological: Toxicological and health perspectives: CRC Press.
- Macheix J. J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. PPUR, Lausanne, 91-92p.
- Mantle D., Anderton J. G., Falkous G., Barnes M., Jones P., Perry E. K. 1998.** Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils. *Comp. Biochem. Physiol.*, 121(4):385-391.
- Martini M.C., Seiller M. 1999.** Actifs et additifs en cosmétologie. Procédés d'extraction des huiles essentielles. Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales, 563p.
- Maruyama N., Sekimoto N., Ishibashi H. 2005.** Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *J. Inflamm.*, 2 (1): 1-11.
- Merghem R. 2009.** Eléments de biochimie végétale. Bahaeddine Editions: 95-121.
- Miguel M. G. 2010.** Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *J Molecules*, 15(12) : 9252-9287.
- Millet F. 2010.** Les Formes Galéniques et les Huiles Essentielles. *Phytothérapie*, 8: 33–36.
- Millet F. 2015.** Le grand guide des huiles essentielles: Marabout.
- Moreau B. 2003.** Maître de conférences de pharmacognosie à la Faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et Travaux Pratiques de Pharmacognosie de 3^{ème} Année de Doctorat de pharmacie.
- Morin P., Richard H. 1984.** Thermal degradation of linalyl acetate during steam distillation. Paper presented at the 4. Weurman flavour research symposium.
- Movellan J., Rocher F., Faucher M., Marivngt-Mounir C., Bonnemain J.L., Chollet Triplet P. 2015.** Dictionnaire de la diversité biologique et de la conservation de la nature. 721p
- Muyima N.Y.O., Zulu G., Bhengu T., Popplewell D. 2002.** The Potential Application of Some Novel Essential Oils as Natural Cosmetic Preservatives in an Aqueous Cream Formulation. *Flavour Fragr J.*, 17 (4): 258-266.
- Naczki M., Shahidi F. 2003.** Phenolics in food and nutraceuticals. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Nogaret-Ehrhart. 2008.** Nogaret-Ehrhart A-S. La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris.
- O'Gara E., Hill D., Maslin D., 2000.** Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66 : 2269-2273.
- Padrini F., Lucheroni M.T. 1996.** Le grand livre des huiles essentielles. Edition Vecchi. Page 115. Italie.
- Paris M., Hurabielle M. 1981.** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome 1 : généralités, monographies. Ed. Masson, Paris.
- PATRICIA B. 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, 10-11.
- 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 : 721-726
- Pellerin P. 2001.** Extraction par le CO₂ à l'état supercritique. *Ann. Fals. Exp. Chim. V.* 94:51-62.
- Penchev P.I. 2010.** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, thèse de doctorat en Génie des procédés et de l'environnement, Toulouse.

- Pibiri M.C. 2005.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctorat. Polytechniques Fédérale de Lausanne.
- Poulter C.D., Marsh L.L., Hughes J.M., Argy le J.C., Satterwhite D. M., Goodfellow R.J., Moesinger S.G. 1977.** J. Am. Chem. Soc., 99:3816–3823.
- Pourmortazavi S.M., Hajimirsadeghi S.S., 2007.** Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. *Journal of Chromatography A*, 1162:2-24
- Prieto J. A., Patiño O. J., Delgado W. A., Moreno J. P., Cuca L. E., 2011.** Chemical composition, insecticidal, and antifungal activities of fruit essential oils of three colombian zanthoxylum species. *Chil. J. Agric. Res.*, 71(1):73-82.
- Preuss H. G., Echard B., Enig M., Brook I., Elliott T. B., 2005.** Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. *Mol. Cell. Biochem.*, 272:29-34.
- Pudziuvelyte L., Stankevicius M., Maruska A., Petrikaite V., Ragazinskiene O., Draksiene G., Bernatoniene J. 2017.** Chemical composition and anticancer activity of *Elsholtzia ciliata* essential oils and extracts prepared by different methods. *Ind. Crops Prod.*, 107: 90-96.
- Ramakrishna A., Ravishankar G .A. 2011.** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signal. Behav.*, 6(11):1-12.
- Raven H., Evert R. F., Eichhorn S. E. 2000.** Biologie végétale. 6ème édition. Traduit par Jules Bouharmont avec la collaboration scientifique de Charles-Marie Evrard. De Boeck Université - Paris, 944p.
- Razavi S.M., Nesrollahi P., Alireza Y. 2017.** Antioxidant potential of lettuce treated, by Thymol as an allochemical. *Peertechz.J.Biol.Res.*, 2 (1): 12-15.
- Razzaghi-Abyaneh M., Shams-Ghahfarokhi M., Rezaee M.B., Jaimand K., Alinezhad S., Saberi R., 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.
- Richard H. 1992.** Epices et Aromates. Technologie et documentation Lavoisier. Paris. P339.
- Rice E. L. 1984.** Allelopathy. 2nd edition, Academic. Press, Newyork. 422 p.
- Robard I. 2004.** Plantes Médicinales d'Outre-Mer et Pharmacopées : Aspects Juridiques, Economiques et Culturels. *Phytothérapie*, 2:16–21.
- Robard I. 2004.** Plantes Médicinales d'Outre-Mer et Pharmacopées : Aspects Juridiques, Economiques et Culturels. *Phytothérapie*, 2:16–21.
- Robert G. 2000.** Les Sens du Parfum. Osman Eroylls Multimedia. Paris. 224 p.
- Roux D., Catier O. 2007.** «Botanique, pharmacognoise, phytothérapie » 3eme Ed, Porphyre.
- Saad H-E. A., El-Sharkawy S.H., Halim A.F. 1995.** Composition of the Essential Oils of the Leaves and Stems of *Torilis arvensis*. *Pharm. Acta Helv.*, 70:85-87.
- Salle J.L. 1991.** « Le Totum en Phytothérapie » Approche de phytotherapie. Ed Frison-Roche, Paris.
- Sanago R. 2006.** Le Rôle Des Plantes Médicinales En Médecine Traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.
- Schmidt F.R. 2004.** The challenge of multidrug resistance: actual strategies in the development of novel antibacterials. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 63: 335-343
- Schnitzler P., Schon K., Reichling J. 2001.** Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. *Pharmazie*, 56:343–347
- Santoyo S., Caverio S., Jaime L., Ibanez E., Senorans J., Reglero G. 2006.** Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with antimicrobial activity from *Origanum vulgare* L.: Determination of optimal extraction parameters. *J. Food Prot.*, 69: 369-375.

- Senatore F. 1996.** Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *J. Agric. Food Chem.*, 44:1327- 1332.
- Shahi C., Leitch M., Laforest 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., Ca Y.Z., Sun M., Corke H. 2005.** Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of their Phenolic Constituents. *J. Agric. Food Chem.*, 53(20): 7749 – 7759.
- Sharon S.V., Diego F.Z., Méndez-Sanchez S.C., Rodríguez-Sanabria F., Stashenko E.E., Luna, J.E.D. 2014.** Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.*, 113 (7):2647– 2654.
- Singh V.K., Singh D.K. 2008.** Pharmacological Effects of Garlic (*Allium sativum* L.). *Annu. Rev. Biomed. Sci.*, 10 : 6-26.
- Sofowora A. 2010.** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. Ed. Karthala, 22p.
- Spichiger R.E., Figeat-Hug M., Jeanmono D. 2002.** Botanique systématique des plantes à fleurs: une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales: PPUR presses polytechniques.
- Spinola M. 2016.** Prise en charge de l’arthrose par les thérapeutiques alternatives et/ou complémentaires à l’allopathie (homéopathie – phytothérapie – aromathérapie – compléments alimentaires).Thèse Présentée à la Faculté de Pharmacie de Dijon pour l’obtention du Diplôme d’État de Docteur en Pharmacie. Université de Bourgogne UFR des Sciences de Santé Circonscription Pharmacie.
- Srivastava K.C., Bordia A., Verma S. K. 1995.** Garlic (*Allium sativum*) for disease prevention. *S. Afr. J. Sci.*, 91:68-75.
- Stalikas C. D. 2007.** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.*, 30:3268–3295.
- Steflitsch W., Steflitsch M. 2008.** Clinical Aromatherapy. *World J Mens Health.*, 5(1): 74 – 85.
- Sudipta J., Asit R., Anwesha B., Ambika S., Noohi N., Suprava S., Basudeba K., Jeetendranath P., Pratap C.P., 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.
- Sun L., Zhang J., Lu X., Zhang L., Zhang Y. 2011.** Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food Chem Toxicol.*, 49: 2689-2696
- Tatman D., Mo H., 2002.** Volatile isoprenoid constituents of fruits, vegetables and herbs cumulatively suppress the proliferation of murine B16 melanoma and human HL-60 leukemia cells. *Cancer Lett.*, 175: 129-140.
- Teissedre P. L., Waterhouse A. L. 2000.** Inhibition of Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins by Phenolic Substances in Different Essential Oils Varieties. *J Agric Food Chem.*, 48(9):3801-3805.
- Teixeira B., Marques A., Ramos C. 2013.** Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Ind Crops Prod.*, 43: 587-595.,
- Thompson J. D., Chalchat J. C., Michet A., Linhart Y. B., Ehlers B. 2003.** Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *J. Chem. Ecol.*, 29:859–880.

- Torres A., Oliva R. M., Castellano D., Cross P. 1996.** Proceedings of First World Congress on Allelopathy. A Science of the Future. SAI, University of Cadiz, Cadiz, Spain, 278p.
- Tsuchiya H., Sato M., Miyazaki T., Fujiwara S., Tanigaki S., Ohyama M., Tanaka T., Linuma M. 1996.** Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Ethnopharmacol., 50 (1): 27-34.
- Tripathi K.D. 2008.** Essentials of medical pharmacology. 6th ed. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd., New Delhi.
- Ultee A., Kets W., Smid E. 1999.** Mechanisms of Action of carvacrol on the Food Borne Pathogen *Bacillus cereus*. Appl. Environ. Microbiol., 65(10) :4606-4610.
- Vaiyapuri S.P., Athinarayanan J., 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., Kratz P.D. 1963.** A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography, J. Chromatog., 11: 463-471.
- Vinatoru M. 2001.** An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Ultrason Sonochem., 8(3):303-313.
- Viuda-Martos M., Ruiz Navajas Y., Sánchez Zapata E., Fernández-López J., Pérez-Álvarez J.A. 2009.** ‘Antioxidant Activity of Essential Oils of Five Spice Plants Widely Used in a Mediterranean Diet, Flavour Fragr. J., 25(1):13 – 19.
- Vogler B.K., Ernst E. 1999.** *Aloe vera*: A systematic review of its clinical effectiveness. Br. J. Gen. Pract., 49:823–828.
- Wei A., Shibamoto T. 2010.** Antioxidant/lipoxygenase inhibitory activities and chemical compositions of selected essential oils. J. Agric. Food Chem., 58:7218-7225.
- Wendakoon C.N., Sakaguchi M. 1995.** Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. J. Food Prot., 58 (3):280-283
- Wilkinson J.M. 2006.** Methods for testing the antimicrobial activity of extracts, In: Modern Phytomedicine. Turning Medicinal Plants into Drugs (Eds, Ahmad F. A. et Owais M.), Wiley-VCH, Weinheim, Germany, pp. 157-171
- WHO. 2015.** A report of the consultation meeting on traditional and modern medicine: Harmonizing two approaches, Beijing, Geneva: 22-26
- Yu J., Lei J., Yu H., Cai X., Zou G. 2004.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Scutellaria barbata*. Phytochemistry, 65:881-884.
- Zareiyan F., Rowshan W., Bahmanzadegan A., Hatami A. 2017.** *Gontscharovia popovii*, a new source of carvacrol, its polyphenolic constituents, essential oil analysis, total phenolic content and antioxidant activity. Nat. Prod. Res., 28:1-4.