

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



## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de **MASTER**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

# THEME

Contribution à l'étude phytochimique et activités  
antioxydante et antimicrobiennes de l'huile essentielle d'une  
plante aromatique maritime : *Otanthus maritimus* (L.)  
Hoffmanns. & Link

Présenté par :

M<sup>elle</sup> BOUNI Fariza

&

M<sup>elle</sup> GUENNOUN Khalida

Soutenu le 15/09/2019 devant le jury :

Mr. HAMADOUCHE T., MCB, UMBB \_\_\_\_\_ Président  
Mr. DAHMANI M., MAA, UMBB \_\_\_\_\_ Examineur  
Mr. BENABDELKADER T., MCB, UMBB \_\_\_\_\_ Promoteur  
Mme. NEGHLIZ H., MCB, UMBB \_\_\_\_\_ Co-Promotrice

-2018/2019-

# ***REMERCIEMENT***

***Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant pour nous avoir donné la force, la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.***

***Nous voudrions dans un premier temps remercier notre directeur de mémoire monsieur BENABDELKADER pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter nos réflexions.***

***Nous tenons, tout particulièrement, à exprimer notre gratitude à notre copromotrice Madame NEGHLIZ et Madame HALLADJ qu'elles ont partagé leurs connaissances et leurs expériences dans ce milieu, tout en nous accordant leurs confiance et une large indépendance dans l'exécution de missions valorisantes.***

***Nos remerciements vont également aux membres de jury monsieur HAMADOUCHE et monsieur DAHMANI qui ont pris soin d'examiner ce mémoire .***

***Nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté et répondu à nos questions durant nos recherches.***

***Merci beaucoup à tous***





## *Dédicace*

*A ma très chère  
mère*

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai pointe remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

*A mon très cher père*

*Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

*Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes frères et sœurs, mes nièces et neveux, mes beaux frères et mes belles sœurs, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui été toujours à mes côtés, mes aimables amis, collègues d'études, et frères de cœur, a tous que j'aime.*

*Khalida*

## *Dédicace*

*Je tiens d'abord et avant tout à exprimer mes sincères remerciements et ma gratitude à mon Dieu qui m'a donné la force et la capacité de mener à bien ce travail. Et je dis الحمد لله رب العالمين.*

*À mes chers parents, à ceux qui m'ont donné tout ce qui est positif pour ceux qui m'ont encouragé à achever ce travail, je leur exprime beaucoup de gratitude et de reconnaissance pour leurs efforts, qui ont été un point fort tout au long de ma carrière universitaire.*

*A mes chers frères khaled et mounir ainsi que mes cheres sœurs siham et son mari RIABI youcef et fatima-zahra.*

*A ma chère tante MERABAT khalida.*

*A mes très chers nièces LINA et TALLA.*

*A mon cher binôme GUENOUN khlalida pour leur patience dans les moments les plus difficiles, ainsi que toute sa famille.*

*A mes copines SAIBI amina, MOUHOUBI imane ainsi que toute leurs familles.*

*A tous mes cousins et cousines.*

*A tous mes amis et amies.*

*A toute la famille BOUNI et MERABET .*

*A toute la promotion de Biochimie 2018-2019*

*Fariza*

## Liste des Figures

<b>Figure I.1.</b> Isoprène (2méthylbuta-1,3-diène.....	8
<b>Figure I.2.</b> Exemples de structures de monoterpènes (A) et de sesquiterpènes (B).....	9
<b>Figure I.3.</b> Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane.....	10
<b>Figure I.4.</b> <i>Otanthus maritimus</i> (L.) Hoffmans. & Link.....	17
<b>Figure II.1.</b> Site géographique (flèche rouge) de la récolte d' <i>O. maritimus</i> utilisée dans cette étude (Google map).....	20
<b>Figure II.2.</b> Montage Clevenger d'hydrodistillation.....	22
<b>Figure III-1.</b> Chromatogrammes ioniques totaux (GC/MS) des huiles essentielles des parties aériennes d' <i>Otanthus maritimus</i> algériennes.....	29
<b>Figure III-2.</b> Teneurs des classes chimiques et le total identifié des HEs des parties aériennes d' <i>Otanthus maritimus</i> .....	31
<b>Figure III-3.</b> Teneurs des constituants majoritaires des HEs des parties aériennes d' <i>Otanthus maritimus</i> .....	32
<b>Figure III-4.</b> Structures chimiques développées des constituants majoritaires des HEs d' <i>Otanthus maritimus</i> d'Algérie.....	33
<b>Figure III-5.</b> Changement de couleur (violet → jaune) du DPPH selon le pouvoir antioxydant de l'HE testée (photo originale).....	38
<b>Figure III-6.</b> Activité antioxydante (piégeage des radicaux libres par DPPH) de l'H.E d' <i>O. maritimus</i> ( <i>Om<sub>1</sub></i> ) en comparaison avec des standards antioxydants.....	39
<b>Figure III-7.</b> Activités antimicrobiennes (zone d'inhibition en mm) de l'HE d' <i>O. maritimus</i> ( <i>Om<sub>1</sub></i> )...40	40

## Liste des Tableaux

<b>Tableau II-1.</b> Conditions opératoires GC/MS utilisées pour l'analyse des HEs d' <i>O. maritimus</i> .....	23
<b>Tableau III-1.</b> Compositions phytochimiques des huiles essentielles des parties aériennes d' <i>Otanthus maritimus</i> algériennes.....	30
<b>Tableau III-2.</b> Rendement et composition chimique majeur des huiles essentielles d' <i>Othantus maritimus</i> à travers le bassin méditerranéen.....	35
<b>Tableau III-3.</b> Concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle d' <i>Otanthus maritimus</i> ( <i>Om<sub>1</sub></i> ) envers les microorganismes cibles.....	41

## Liste des abréviations

BHT= hydroxytoluenebutylé

CMI : Concentration minimale inhibitrice

*O. maritimum* : *Otanthus maritimus*

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

DPPH-H : Diphényl-picrylhydrazine

GC/MS : Chromatographie gazeuse/spectrophotométrie de masse

HE : Huiles Essentielles

I : Le pourcentage d'inhibition

IR : Indices de rétention

Orig = huile essentielle d'*Origanum compactum*.

Rdt : Le rendement

## Résumé

**Contribution à l'étude phytochimique et activités antioxydante et antimicrobiennes de l'huile essentielle d'une plante aromatique maritime : *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link**

Dans le but de contribuer à la valorisation de la flore algérienne en vue d'identifier de nouvelles substances potentiellement intéressantes sur les plans biologique et thérapeutique, nous avons procédé à l'étude des huiles essentielles d'*Otanthus maritimus* originaire de la région de Zemmouri (Boumerdes). L'étude par GC/MS des huiles essentielles de cette espèce a permis d'identifier 39 constituants (87,35-97,7 %). Ces analyses ont permis la découverte, pour la première fois, d'un nouveau chimotype  $\alpha$ -isocomène (15,75-18,84 %) avec quatre composés majoritaires : le germacrène-D (1,47-10,59 %), l'artémisyl acétate (6,63-9,65 %), l' $\alpha$ -epi-bisabolol (6,16-8,96 %) et  $\beta$ -isocomène (6,63-7,92 %). L'évaluation des activités biologiques in vitro a démontré que l'activité antioxydante (DPPH) de l'HE est importante (I = 78,98%). Par contre, cette huile a présentée des activités inhibitrices faibles envers 5 microorganismes cibles avec des zones d'inhibitions allant de 7 à 9 mm.

**Mots clés :** *Otanthus maritimus*, Huiles essentielles, Analyse GC/MS, Nouveau chimotype, Activités biologiques.

## ملخص

**مساهمة في الدراسة الكيميائية النباتية والأنشطة ضد الأكسدة و ضد المكروبات للزيت الطيارة عند النبات العطري *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link البحري**

من أجل المساهمة في تثمين النباتات الجزائرية بهدف تحديد مواد جديدة ذات أهمية بيولوجية وعلاجية محتملة، تم في هذا البحث دراسة الزيوت العطرية الأساسية لنبات *Otanthus maritimus* الذي ينمو بصورة طبيعية في منطقة زموري (بومرداس). أظهرت تحاليل التركيب الكيميائي للزيوت العطرية المتحصل عليها بجهاز الكروماتوغرافيا الغازية المقترنة بمطيافية الكتلة جود 39 مركب (87.35-97.7%). سمحت هذه التحاليل باكتشاف، لأول مرة، نمطاً كيميائياً جديداً ألفا إيزوكومان (15,75-18,84 %) مع أربعة مركبات رئيسية جارماكران دي (1,47-10,59 %)، خلاص الأترمزيل، ألفا إبي بيزابولول (6,16-8,96 %) و بيتا إيزوكومان (6,63-7,92 %).

لقد أثبت تقييم النشاطات الحيوية مخبرياً للزيت المدروس، نشاطاً مضاداً للأكسدة عالياً (78,58 %) ، في حين أظهر نشاطاً مضاداً منخفضاً اتجاه خمسة كائنات حية دقيقة مستهدفة بهالات تثبيط تتراوح بين 7-9 مم.

## الكلمات المفاتيح

*Otanthus maritimus* (L.) ، الزيوت الطيارة، الكروماتوغرافيا الغازية - مطيافية الكتلة، النشاطات الحيوية، نمط كيميائي جديد

## ABSTRACT

**Contribution to the phytochemical and antioxidant and antimicrobial activities study of the essential oil of a maritime aromatic plant: *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link**

In order to contribute to the valorisation of the Algerian flora with a view to identifying new substances of potential biological and therapeutic interest, we proceeded to the study of the essential oils of *Otanthus maritimus* originating from the region of Zemmouri (Boumerdes). The GC/MS analysis of the essential oils of this species made it possible to identify 39 constituents (87.35-97.7%). These analyses led to the discovery, for the first time, of a new  $\alpha$ -isocomene chemotype (15.75-18.84%) with four major compounds: germacrene-D (1.47-10.59%), artemisyl acetate (6.63-9.65%),  $\alpha$ -epi-bisabolol (6.16-8.96%) and  $\beta$ -isocomene (6.63-7.92%).

Evaluation of in vitro biological activities have demonstrated that the antioxidant activity (DPPH) of this EO is important (I = 78.98%). However, this oil exhibited low inhibitory activities towards 5 target microorganisms with inhibitory zones ranging from 7 to 9 mm.

**Key words:** *Otanthus maritimus*, Essential oils, GC/MS analysis, New chemotype, Biological activities.



## Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumés	
Sommaire	

<b>Introduction Générale</b> .....	1
<b>Chapitre I. Synthèse Bibliographique</b> .....	3
<b>I.1 Plantes médicinales et aromatiques</b> .....	4
<b>I.2 Métabolites secondaires</b> .....	4
I.2.1 Définition.....	4
I.2.2 Intérêt.....	4
I.2.3 Classification.....	5
1.3 Les huiles essentielles.....	5
1.3.1 Définition et généralités.....	5
1.3.2 Intérêt des huiles essentielles chez les plantes.....	6
1.3.3 Domaines d'application des huiles essentielles.....	6
1.3.4 Répartition botanique.....	7
1.3.5 Localisation dans la plante.....	7
1.3.6 Composition chimique.....	8
1.3.6.1 Les composés terpéniques.....	8
1.3.6.2 Composés aromatiques.....	9
1.3.6.3 Composés d'origine variée.....	10
1.3.7 Notion de chémotype ou chimiotype de la plante.....	10
1.3.8 Les facteurs influençant la composition quantitative et qualitative des huiles essentielles.....	11
1.3.9 Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	12
1.3.10 Méthodes d'analyse des huiles essentielles.....	12
1.3.11 Activités biologiques des huiles essentielles.....	13
1.3.12 Toxicité des huiles essentielles.....	15
<b>I.4 Aperçu sur la famille Astéracées</b> .....	15
<b>1.5 <i>Otanthus maritimus</i> (L.) Hoffmans. &amp; Link</b> .....	16
1.5.1 Synonymes et noms communs.....	16
1.5.2 Description botanique.....	16
1.5.3 Position systématique.....	17
1.5.4 Usage en médecine traditionnelle.....	17
1.5.5 Travaux antérieurs.....	18
<b>Chapitre I. Matériel et Méthodes</b> .....	19
<b>II.1 Matériel végétal</b> .....	20
<b>II.2. Souches de microorganismes</b> .....	21
<b>II.3. Produits chimiques</b> .....	21
<b>II.4 Extraction des huiles essentielles</b> .....	21
II.4.1 Hydrodistillation.....	21
II.4.2. Calcul du rendement en huile essentielle.....	22
<b>II.5. Analyse des huiles essentielles d'<i>O. maritimus</i> par chromatographie gazeuse</b> .....	22
II.5.1. Analyse des huiles essentielles par couplage chromatographie gazeuse/ spectrophotométrie de	

---

masse.....	22
II-5.2. Identification des composés volatils.....	23
II.5.3 Quantification des composés volatils.....	24
<b>II.6 Evaluation des activités biologiques.....</b>	<b>24</b>
II.6.1 Evaluation de l'activité de piégeage du radical libre par la méthode de DPPH.....	24
II.6.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	24
II.6.2.1 Méthode de diffusion par disque.....	25
II.6.2.1 Méthode de Macrodilution sur milieu solide.....	26
<b>Chapitre III. Résultats et Discussion.....</b>	<b>27</b>
<b>III.1. Caractérisation phytochimique de l'huile essentielle d'<i>O. maritimus</i>.....</b>	<b>28</b>
III.1.1. Résultats.....	28
III.1.1.1. Rendements de l'huile essentielle.....	28
III.1.1.2. Etude phytochimique de l'huile essentielle.....	28
III.1.2. Discussion.....	33
<b>III.2. Activités biologiques <i>in vitro</i> de l'huile essentielle d'<i>O. maritimus</i>.....</b>	<b>38</b>
III.2.1. Résultats.....	38
III.2.1.1. Activité de piégeage des radicaux libres par DPPH.....	38
III.2.1.2. Activités antimicrobiennes de l'huile essentielle d' <i>O. maritimus</i> .....	39
III.2.2. Discussion.....	41
<b>Conclusion et Perspectives.....</b>	<b>43</b>
<b>Références Bibliographique.....</b>	<b>46</b>

# **Introduction Générale**

## **Introduction Générale**

L'utilisation des plantes pour leurs vertus médicinales est une pratique très ancienne. Elle trouve ses origines dans les plus grandes civilisations de l'orient et de l'occident. Comme en témoignent les textes rédigés plusieurs millénaires avant notre époque, les sumériens, les égyptiens, les chinois et les indous, possédaient toute une panoplie de remèdes à base de plantes (Mazars, 2003 ; Clement ,2005).

En effet, les plantes représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, hétérosides, saponosides, quinones, vitamines,...et huiles essentielles (Lafon, *et al.*,1988).

De nos jours, les huiles essentielles (HEs) des plantes aromatiques et médicinales suscitent de plus en plus l'intérêt des chimistes, biologistes et médecins en raison de leurs utilisations 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 comme alternatives aux produits chimiques de synthèse(Farnsworth *et al.*, 1986). Ces huiles essentielles se sont avérées avoir divers effets pharmacologiques: comme antispasmodique, carminative, hépatoprotecteur, antiviraux, anticancéreux (Bowles, 2004; Lahlou, 2004) et antioxydants (Viuda-Martos *et al.*, 2011).

L'Algérie, par sa situation géographique au centre de la méditerranée, abrite une végétation riche et diversifiée. Un grand nombre de plantes aromatiques y poussent spontanément dont les Astéracées qui sont riches en huiles volatiles.

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

Selon Quizel & Santa (1963), *Otanthus maritimus* se développe dans les sables maritimes de toute l'Algérie. Cependant cette espèce, à notre connaissance n'a fait l'objet d'aucune étude phytochimique notamment la caractérisation de ses huiles essentielles. Dans ce travail, nous proposons d'étudier, pour la première fois, cette plante récoltée dans la région de Boumerdes. De ce fait les objectifs fixés par la présente étude sont:

- Extraction des huiles essentielles d'*Otanthus maritimus* L. par hydrodistillation;
- Analyse phytochimique des huiles essentielles par GC/SM;
- Evaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles sur quelques souches microbiennes (bactéries et champignons);
- Evaluation du pouvoir antioxydant des huiles essentielles par la méthode de DPPH.

Le manuscrit de ce mémoire est structuré comme suit :

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

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

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

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

# **Chapitre I**

# **Synthèse Bibliographique**

## **I.1 Plantes médicinales et aromatiques**

Depuis des siècles, l'homme a utilisé les plantes dans plusieurs domaines tels que la parfumerie, la pharmacologie et l'agroalimentaire. Ces plantes sont dites médicinales ou pharmaceutiques si elles contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (médicaments) (Sofowora, 2010).

Les plantes aromatiques sont un ensemble de plantes utilisées en cuisine et en phytothérapie pour les arômes qu'elles dégagent, et leurs huiles essentielles que l'on peut extraire.

Les plantes donnent un grand nombre de composés qui ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures, d'où le nom de métabolites secondaires. En effet, l'action des plantes médicinales viennent principalement de leurs métabolites secondaires.

## **I.2 Métabolites secondaires**

### **I.2.1 Définition**

Les métabolites secondaires sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes, contrairement aux métabolites primaires qui jouent un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal (protéines, lipides, glucides, acides aminés et acides nucléiques).

Ce sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes. Ils sont importants à la survie et à la propagation de l'espèce. Ils jouent un rôle important dans l'odorat, la protection contre les insectes et les herbivores (Calsamiglia *et al.*, 2007). Ils ont aussi un rôle très important dans les interactions de la plante avec son environnement, telle que l'attraction des insectes pollinisateurs (Greathead, 2003).

### **I.2.2 Intérêt**

Les métabolites secondaires végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie: en alimentation, en cosmétologie, en pharmacie, en médecine etc. Ces composés sont en grande mesure illustrés (Mohammedi, 2006) :

- En médecine : Les métabolites secondaires font la base des remèdes pour l'Homme. Flavocoe est un médicament constitué par le flavone non substitué en combinaison avec la rutine et l'isoquercetine est utile dans le traitement de l'athérosclérose. Drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoire extraits des plantes *Melaleuca alternifolia* et *Echinacea angustifolia*.

- En Agriculture : par exemple les huiles de l'arbre *Azadirachta indica* ont des utilisations dans l'agriculture, dans le contrôle de divers insectes et nématodes (vers parasites).
- En alimentation: Les épices et les herbe sont utilisées dans l'alimentation comme condiments et aromates.
- En cosmétique : Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène

### **I.2.3 Classification**

Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes : les composés phénoliques ; les terpènes et les alcaloïdes (Abderrazak & Joël, 2007). Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine.

- Les composés phénoliques "Composés aromatiques" comme les flavonoïdes, les tanins, la lignine, les coumarines.
- Les terpènes, c'est la plus grande catégorie de métabolites secondaires avec plus de 22000 molécules. Cette catégorie contient les hormones végétales, les pigments, les stérols, les hétérosides et une grande partie d'huiles essentielles.
- Les alcaloïdes, par exemple la morphine, la caféine, la nicotine, la cocaïne et l'atropine.

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.

## **1-3 Les huiles essentielles**

### **1.3.1 Définition et généralités**

Les huiles essentielles, essences ou huiles volatiles, sont un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques (Wegrzyn et Lamendinh, 2005). Elles sont le produit de la distillation d'une plante ou d'une partie de plante. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse mais sans corps gras, plus ou moins fluides, très concentrées, incolores ou légèrement teintés offrant une forte concentration en principes actifs (Solène, 2012 ; Lorrain, 2013).

Les huiles essentielles se différencient des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leur composition, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que leurs taches sur le papier sont passagères (Sallé, 1991). Elles se caractérisent par leurs propriétés organoleptiques



(odeur, couleur et goût). A la température ambiante, elles sont généralement liquides de densité souvent inférieure à celle de l'eau, Elles sont incolores ou jaune pâle, sauf quelques exceptions comme les HEs de la cannelle (orange), de l'absinthe (vert) ou de la camomille (bleu). Sont insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques. Elles s'oxydent facilement. Pour éviter cela, il faut les conserver à l'abri de la lumière et de l'air (Duval, 1978).

### **1.3.2 Intérêt des huiles essentielles chez les plantes**

Les plantes aromatiques produisent les HEs en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Rai *et al.*, 2003). Cependant, plusieurs effets apparent utiles ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines ainsi que la protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (Guignard *et al.*, 2000). Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation (Bruneton, 1999; Guignard, 2000).

### **1.3.3 Domaines d'application des huiles essentielles**

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

#### Domaine de cosmétologie et parfumerie

En raison de leurs propriétés odoriférantes, les H.Es 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).

Les huiles essentielles sont utilisées comme matière première de base dans la fabrication des parfums et d'autres produits cosmétiques (Muyima *et al.*, 2002; Fischetti, 2010).

#### Domaine 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). 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).

### Domaine médicinal

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

### **I.3.4 Répartition botanique**

Selon Bruneton (1999), les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, et les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces huiles essentielles sont connues sous le nom de plantes aromatiques. En effet, elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles botaniques, comme par exemple les Lamiacées (lavande, basilic, menthe,...), les Myrtacées (eucalyptus,...), les Lauracées (cannelle et saffran) et les Apiacées (coriandre, cumin, fenouil, persil,...). (Richter, 1993)

### **I.3.5 Localisation dans la plante**

Les huiles essentielles peuvent être localisées dans tous les organes végétaux: les feuilles (*Torilis arvensis*) (Saad *et al.*, 1995), les racines (*Heracleum persicum*) (Mojab & Nickavar, 2003), le bois (*Santalum album*) (Howes *et al.*, 2004), les rhizomes (*Zingiber officinale*) (Geiger, 2005), les écorces (*Cinnamomum verum*) (Jham *et al.*, 2005), les fruits (*Daucus carota*) (Glisic *et al.*, 2007), les graines (*Daucus carota*) (Özcan & Chalchat, 2007) ou les fleurs (*Ferulago angulata*) (Akhlaghi, 2008).

Elles se forment dans des cellules spécialisées, le plus souvent, regroupées en canaux ou en poches sécréteurs et elles sont ensuite transportées dans les différentes parties de la plante, lors de la croissance de cette dernière (Richter, 1993).

### I.3.6 Composition chimique

Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes (ou composés terpéniques, principalement des monoterpènes et sesquiterpènes) et les phénylpropanoïdes (composés aromatiques dérivés du phénylpropane) (Buchanan *et al.*, 2000). Elles peuvent également renfermer divers produits issus d'autre famille des volatils tel que les dérivés d'acide gras (Bruneton, 1999).

#### I.3.6.1 Les composés terpéniques

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques (**Fig. I.1**). Ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute  $(C_5H_8)_n$ .

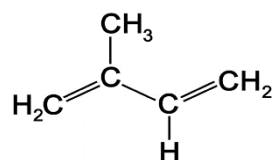


Figure I.1. Isoprène (2méthylbuta-1,3-diène)

Selon le nombre de carbone on distingue: les monoterpènes (C 10), les sesquiterpènes (C 15), et moins fréquemment les diterpènes (C 20), les triterpènes (C 30) et les tétraterpènes (C 40).

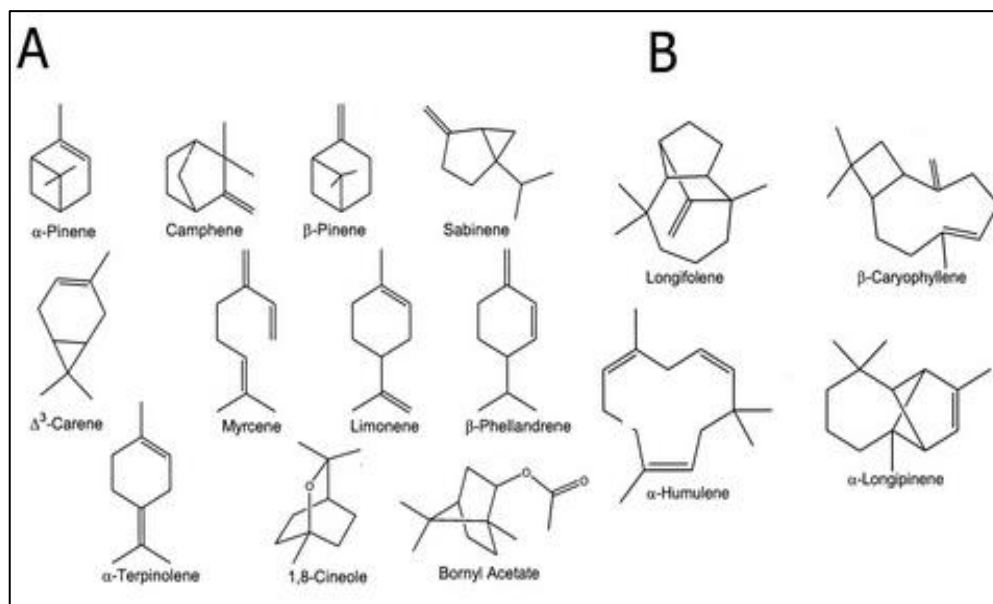
D'après Cuic-Marinier & Lobstein (2013) les composés terpéniques sont classés selon :

- leurs fonctions : alcools (géraniol, linalol), esters (acétate de linalyle), aldéhydes (citral, citronellal), cétones (menthone, camphre, thuyone), éthers-oxydes (cinéole) ;
- leur structure : linéaire (farnésène, farnésol) ou cyclique : monocyclique (humulène, zingiberène), bicyclique (cadinène, caryophyllène, chamazulène) ou tricyclique (cubébol, patchoulol, viridiflorol).

Il convient à souligner que Les huiles essentielles contiennent particulièrement des monoterpènes, des sesquiterpènes et peu souvent de diterpènes: (Finar, 1994)

Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont constitués par le couplage de deux  $(C_{10}H_{16})$  et trois  $(C_{15}H_{12})$  unités isopréniques, respectivement. Ces deux types de terpènes sont volatils entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable (Breneton, 1999),

peuvent comporter plusieurs fonctions chimiques et peuvent être de structure acyclique, monocyclique ou bicyclique (Sens-Olive, 1979). A titre indicatif, quelques structures de monoterpènes et de sesquiterpènes sont représentées sur la figure I.2.



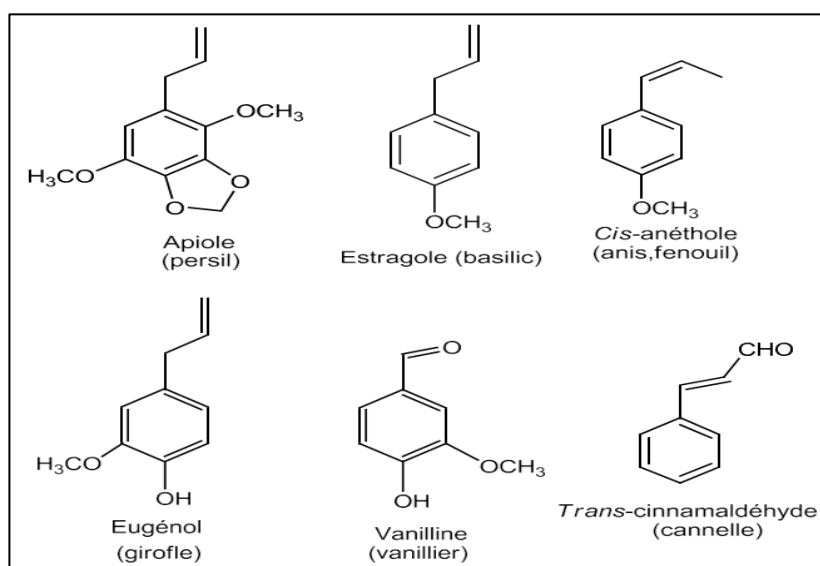
**Figure I.2. Exemples de structures de monoterpènes (A) et de sesquiterpènes (B)**

### 1.3.6.2 Composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>). Ils sont beaucoup moins fréquents dans les huiles que les composés terpéniques.

Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole,... (Fig. I.3). Ils sont fréquemment rencontrés dans les H.Es d'Apiaceae (anis, fenouil, persil, etc...) et sont caractéristiques de celles de la vanille, de l'estragon, du basilic, du clou de girofle,... Ils se distinguent entre eux par:

- ❖ Le nombre et la position des groupements hydroxyle et méthoxy;
- ❖ La position de la double liaison de la chaîne latérale, allylique ou propénylique;
- ❖ Le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (alcool, aldéhyde, cétone ou acide...).



**Figure I.3. Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane**

### 1.3.6.3 Composés d'origine variée

En général, les composés d'origine variée de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions. A titre indicatif, on peut citer :

- ❖ L'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille;
- ❖ Des acides en C<sub>3</sub> et C<sub>10</sub>;
- ❖ Des esters acycliques présents surtout dans les fruits : acétate de butyle (pomme), acétate d'isoamyle (banane);
- ❖ Des aldéhydes comme l'octanal et le décanal des Citrus;
- ❖ Des alcools comme le 1-octèn-3-ol de l'essence de lavande,...

### 1.3.7 Notion de chémotype ou chimiotype de la plante

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce. En effet une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera. Ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes, types biogénétiques, races chimiques ou races biologiques. Parmi les nombreux constituants d'une huile essentielle, l'un domine généralement, on l'appelle composé

majoritaire et ça sera lui qui définit le chémotype de cette huile (exemple : Thymus à thymol, à geraniol, à carvacrol, à linalol) (Cosentino *et al.*, 1999).

### **I.3.8 Les facteurs influençant la composition quantitative et qualitative des huiles essentielles**

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques du patrimoine génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance, facteurs de l'environnement ou de développement de la plante.

#### Facteurs intrinsèques

La composition d'une H.E varie d'abord en fonction de l'espèce productrice. En effet, l'extraction de l'H.E d'un même organe de deux plantes différentes ne donne pas la même composition chimique (Padrini, 1997; Martinetti, 2013), par exemple deux espèces de sauge : la sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la sauge sclérée (*Salvia sclarea*), Et cela peut être vendu à la fois sous le nom de l'huile de sauge. La première, riche en cétones neurotoxiques, peut provoquer des crises d'épilepsie, alors que la seconde possède des esters aromatiques anti-épileptisants (Franchomme, 2007).

Toutefois, pour une même espèce donnée la proportion des différents éléments constitutifs de l'huile essentielle peut varier de façon importante tout au long du cycle de développement végétatif (Garnéro, 1991; Bruneton, 1999). De plus, indépendamment du stade de récolte, tous les HES de la même espèce végétale peuvent renfermer une composition variable selon leurs localisation dans les différentes parties de la plante (fleur, feuille, racine, tige, écorce...etc.) (Dorman & Deans, 2000).

#### Facteurs extrinsèques

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée (Bruneton, 1999; Mohammad *et al.*, 2009; Olle and Bender, 2010).

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'influence de l'origine géographique sur la composition et le rendement des huiles essentielles (Barry, 2001; Mohammedi and Fouzia, 2007; Marzoukia *et al.*, 2009).

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

Les facteurs édaphiques: les propriétés physiques du sol (porosité, rétention d'eau...), la nature (argileuse, sablonneuse...), la composition (teneur en azote, terrains calcaires, siliceux...) etc., sont des facteurs déterminants pour l'huile essentielle (Guignard, 1983).

Le prétraitement du matériel végétal: le séchage, les conditions de conservation ont également une influence sur la composition de l'huile essentielle (Abdoul, 2002).

La méthode d'extraction (Bruneton, 1999 ; Abramson *et al.*, 2007; Silano and Delbò, 2008) et l'état du matériel végétal (Pinto *et al.*, 2006; Hettiarachichi, 2008), influent aussi la composition et le rendement des huiles essentielles.

Il faut aussi signaler que le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles (Besombes, 2008).

### **1.3.9 Méthodes d'extraction des huiles essentielles**

Avant de pouvoir utiliser ou analyser les huiles essentielles, il est nécessaire de les extraire de leur matrice. L'obtention des HEs à partir du matériel végétal est généralement réalisée par distillation, une technique développée par les Arabes en moyens âges (Bakkali *et al.*, 2008). En effet, l'hydrodistillation des HEs est utilisée à ce jour tant que la méthode recommandée par la pharmacopée européenne (European-Pharmacopoeia, 2005). Cette méthode est détaillée dans la partie matériel et méthodes.

D'autres techniques sont également appliquées pour l'extraction des HEs telles que : l'enfleurage (Eltz *et al.*, 2007), l'extraction par fluide supercritique (Moyler, 1993), l'extraction aux microondes (Lucchesi *et al.*, 2004) et l'extraction par sonification (Boukroufa *et al.*, 2010).

### **1.3.10 Méthodes d'analyse des huiles essentielles**

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CG). C'est la technique la plus utilisée, car elle permet de réaliser une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile. Le

spectromètre de masse (SM), que l'on associe souvent à la chromatographie (CG-SM), permet lui d'obtenir la composition précise de l'huile essentielle (Salzer, 1977). La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles (Tomi *et al.*, 1995 ; Platzner, 2002).

### **1.3.11 Activités biologiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques :

#### Activités antimicrobiennes

La majorité des huiles essentielles ont un spectre d'action très étendu contre un large éventail de microorganismes dont les bactéries, les champignons et les levures, les virus. La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (Boyle, 1955). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antimicrobiennes (Burt, 2004).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (Burt, 2004)

Il a été rapporté que les huiles d'agrumes, de lavande, de menthe, de genévrier, de l'arbre à thé, de thym et d'eucalyptus se révèlent particulièrement efficaces contre les staphylocoques dorés résistants à la méthicilline (SARM) (May *et al.*, 2000; Tohidpour *et al.*, 2010) et les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) (Fisher et Phillips, 2009).

Les activités antibactérienne et antifongique sont estimées à la grande complexité de la composition des huiles essentielles. Les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien et antifongique le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol) et des aldéhydes (néral, géranial). En général, l'activité décroît selon le type de fonction chimique: phénol > alcool > aldéhyde > cétone > ester > hydrocarbure (Benjilali *et al.*, 1986). Concernant les virus, il a été démontré que ces derniers sont très sensibles aux phénylpropanoïdes, monoterpènes et sesquiterpènes présents dans les huiles essentielles (Astani *et al.*, 2010; Astani *et al.*, 2011).

#### Activités anti-oxidantes

Plusieurs études ont mis en évidence l'activité antioxydante de nombreuses huiles essentielles (Mantle *et al.*, 1998 ; Karioti *et al.*, 2006; Aazza *et al.*, 2011; Sudipta *et al.*, 2017;



Baschieri et al., 2017; Dib et al., 2017; Dahmane 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).

#### Activités anti-tumorales

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

#### Activité anti-inflammatoire

Les HEs sont utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (Maruyama *et al.*, 2005).

Les huiles essentielles, possédant des aldéhydes, ont des propriétés actives contre l'inflammation, comme l'huile de Gingembre (Ezzat *et al.*, 2017; Rondanelli *et al.*, 2017).

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; 2006) et de son composé principal, l' $\alpha$ -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 induit par le carraghénane.

#### Activité insecticide

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

### **I.3.12 Toxicité des huiles essentielles**

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 néfastes dans l'organisme (allergies, coma, épilepsie, etc...) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques) (Degryse *et al.*, 2008).

L'accumulation des essences dans l'organisme par des prises répétées peut conduire à des nausées, des céphalées, ... L'ingestion de plus de 10 ml d'huile essentielle est neurotoxique et épileptogène par inhibition de l'apport d'oxygène au niveau des tissus encéphaliques (Baudoux, *et al.*, 1997).

### **I.4 Aperçu sur la famille Astéracées**

Le nom Astéracées vient du mot grec Aster qui signifie étoile en relation avec la forme de la fleur (Crete, 1965). La famille des Astéracées est la plus vaste, la plus diversifiée des familles de plantes à fleurs. Elle comprend en effet entre 1600 et 1700 genres et de 24000 à 30000 espèces décrites (Funk *et al.*, 2005). En Algérie, cette famille regroupe 408 espèces réparties sur 109 genres (Quézel et Santa, 1963).

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

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

La famille des Astéracées est d'une grande importance tant pour son utilisation en industrie alimentaire qu'en thérapeutique (Bruneton, 1999). Plusieurs plantes de cette famille sont cultivées pour leur valeur alimentaire (le tournesol, le topinambour, la laitue, la

chicorée, la camomille, *etc.*) ou comme plantes décoratives (les dahlias, les asters, les rudbeckies, les gaillardes, *etc.*) (Singh, 2004). De nombreuses espèces sont utilisées en médecine traditionnelle. Il a été rapporté que les fleurs et les feuilles de certaines plantes de cette famille, tels que le Semencontra (*Artemisia cina* Berge), l'Arnica (*Arnica montana* L.), la Chamomille (*Matricaria chamomilla* L. et *Anthemis nobilis* L.), le pied de chat (*Antenaria dioca* gartn) possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antiviraux et anti-inflammatoires (Matsuda *et al.*, 2002).

### **1.5 *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmans. & Link**

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

#### **I.5.1 Synonymes et noms communs**

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

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

#### **I.5.2 Description botanique**

*O. maritimus* (**Fig. I.4**) est une plante herbacée vivace, fortement aromatique, cotonneuse et blanche dans toutes ces parties, en touffes serrées. Tiges dressées ou ascendantes simples ou rameuses, de 20-40 cm, épaisses, simples ou rameuses. Les feuilles sont de 5–17 mm, oblongues, entières ou dentés, charnues et sessiles. Capitules jaunes, gros comme un gros pois, disposés en corymbes simples ou composés, terminaux (Quezel & Santa, 1963 ; Tutin, 1976).



**Figure I.4 : *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmans. & Link**

### **I.5.3 Position systématique**

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

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes (Magnoliophyta)

Classe : Dicotylédones (Magnoliopsida)

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Sous famille : Asteroideae

Tribu : Anthemideae

Genre : *Otanthus*

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

### **1.5.4 Usage en médecine traditionnelle**

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

utilisés à la fois comme décoration et comme moyen de repousser les insectes volants dans les foyers (Christodouloupoulou *et al.*, 2005).

### **1.5.5 Travaux antérieurs**

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

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

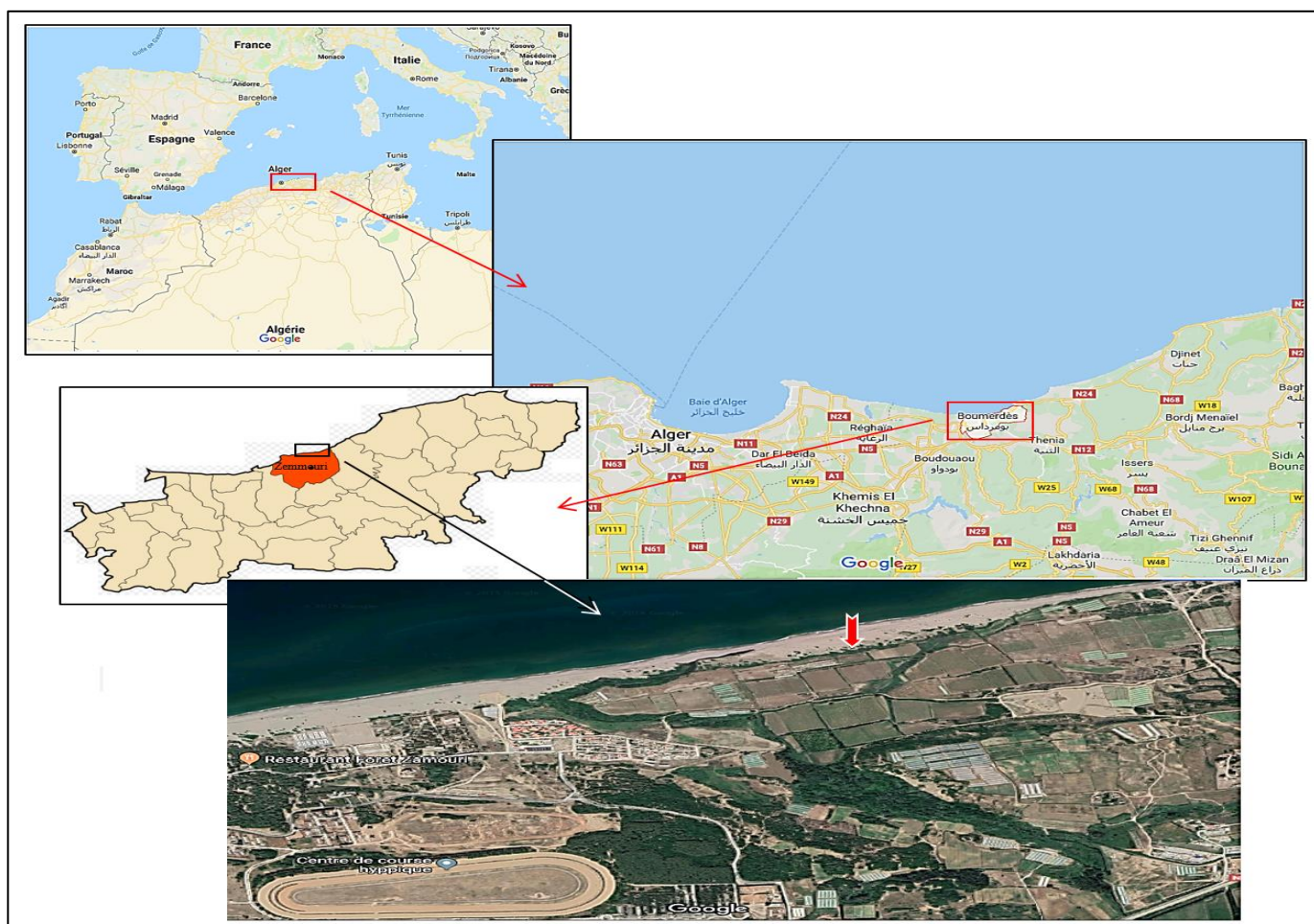
# **Chapitre II**

# **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 des HEs par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse ont été réalisées au laboratoire Biotechnologies Végétales appliquées aux plantes Aromatiques et Médicinales, Faculté des Sciences et Techniques, Université Jean Monnet de Saint Etienne, France.

## II.1 Matériel végétal

Les parties aériennes avec ou sans fleurs d'*Otanthus maritimus* ont été collectées pendant deux périodes (en mois de décembre 2018 et en mois de février 2019) à partir d'une population sauvage sur les dunes de la plage de Zemmouri, W. de Boumerdès (36° 48' 43" N, 3° 36' 20" E, 2 m d'altitude, 60 km d'Alger). (Fig II.1).



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

## **II.2. Souches de microorganismes**

Toutes les souches de microorganismes utilisées dans cette étude appartiennent à la collection du Laboratoire de Microbiologie, de l'Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger (Algérie).

### Bactéries pathogènes cibles

Une sélection de bactéries pathogènes a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'HE d'*O. maritimus*. Il s'agit notamment des bactéries Gram négatif, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* et des bactéries Gram positif, *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* (SARM) (souche résistante à la méthicilline).

### Levures cibles

Nous avons également utilisé la levure *Candida albicans* (M3) lors des tests d'activité antifongique.

## **II.3. Produits chimiques**

Tous les produits chimiques et les solvants utilisés sont achetés auprès de Sigma-Aldrich ou Fluka (Allemagne). L'huile essentielle pure d'*Origanum compactum* utilisée comme standard antioxydant a été achetée dans une pharmacie locale, Saint Etienne (France).

## **II.4 Extraction des huiles essentielles**

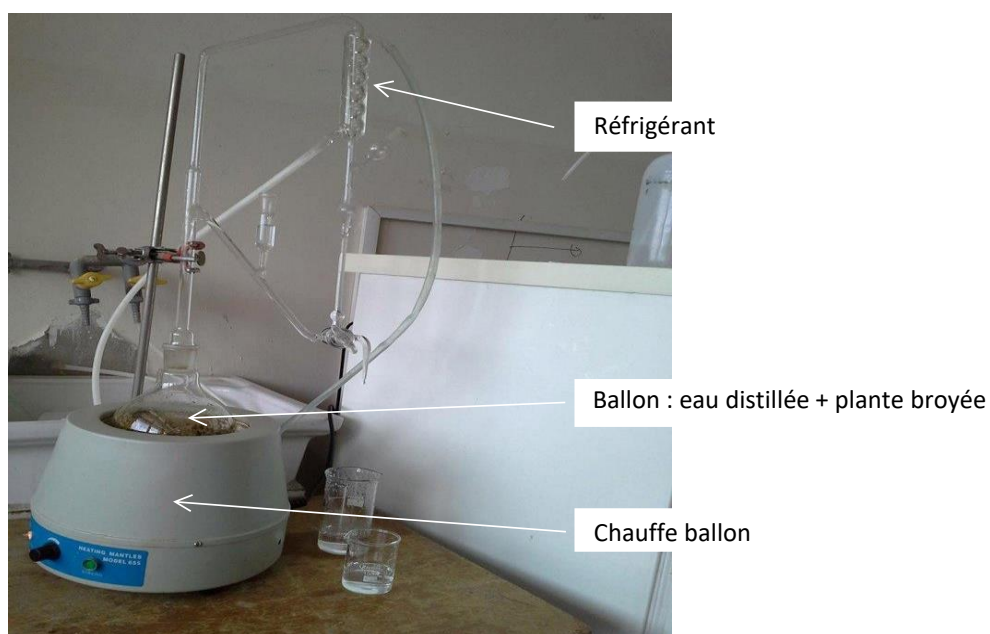
Le matériel végétal (parties aériennes fleuries ou sans fleurs) d'*O. maritimus* utilisé pour l'extraction des huiles essentielles a été séché à l'ombre à température ambiante dans un endroit aéré, puis rendu en poudre par broyeur.

### **II.4.1 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.4.2. Calcul du rendement en huile essentielle**

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

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

Où :

Rdt<sub>HE</sub> : rendement de l'extraction de l'HE en % ;

M : masse de l'HE en gramme ;

M<sub>0</sub> : masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

#### **II.5. Analyse des huiles essentielles d'*O. maritimus* par chromatographie gazeuse**

##### **II.5.1. Analyse des huiles essentielles par couplage chromatographie gazeuse/spectrophotométrie de masse**

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

tableau II-1 suivant.

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

Composant	Particularité et température
<b>GC</b>	
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)
<b>MS</b>	
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-5.2. Identification des composés volatils

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

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

Où :

tRS : temps de rétention absolu du soluté étudié ;

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

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

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

### **II.5.3 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.6 Evaluation des activités biologiques**

### **II.6.1 Evaluation de l'activité de piégeage du radical libre par la méthode de DPPH**

Il s'agit de la méthode la plus largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des drogues végétales. Ce test vise à mesurer la capacité de l'huile à piéger le radical relativement stable, 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Le piégeage des radicaux libres de DPPH provoque un changement de couleur de la solution initiale du violet foncé au jaune suite à la réduction du DPPH en DPPH-H (diphényl-picrylhydrazine).

Selon Brand-Williams *et al.* (1995), à 1 ml d'une solution méthanolique de DPPH fraîchement préparée (0,002+- %), 1 ml de l'HE ou de *O. maritimus* (0.2 mg/ml) ont été ajoutés séparément. Les mélanges sont agités, puis incubés à l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. La disparition de DPPH a été suivie par spectrophotométrie à 517 nm contre un blanc (solution méthanol) à l'aide d'un spectrophotomètre (Schimadzu). Un témoin contrôle négatif a été également préparé en mélangeant 0,75ml de DPPH avec 0,75ml de méthanol.

Des témoins positifs (BHT, l et HE *Origanum compactum* ) ont été traités et testés de la même manière.

Le pourcentage d'inhibition (I %) du radical libre DPPH a été calculé avec la formule suivante :

$$I \% = [(A \text{ blanc} - A \text{ échantillon})/A \text{ blanc}] \times 100$$

Où :

*A blanc* : absorbance de la réaction de contrôle contenant tous les réactifs sauf l'extrait ;

*A échantillon* : absorption de l'échantillon contenant une dose de l'extrait testé.

Tous les tests ont été effectués en triplicata et les pourcentages d'inhibition (I %) ont été reportés en tant que moyenne  $\pm$  SD

### **II.6.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne**

Deux méthodes différentes ont été employées pour la détermination de l'activité antimicrobienne: la méthode de diffusion par disque et la méthode de macrodilution sur milieu solide. Pour les deux méthodes, les premières étapes suivies sont :

### La stérilisation du matériel

L'eau distillée, les tubes à essai utilisés dans la préparation des suspensions bactériennes (Inoculum) ainsi que dans la préparation des dilutions de nos échantillons, ont été stérilisés à l'autoclave.

### La revivification des souches

La revivification des souches a pour objectif l'obtention d'une culture jeune et pure et des colonies bien isolées qui vont servir à préparer l'inoculum. Pour cela, les souches sontensemencées par des stries dans des boîtes de Pétri contenant le milieu Muller-Hinton et incubées à 37°C pour les bactéries et dans des boîtes contenant le sabouraud et incubées à 28 °C pour la levure pendant 24 heures.

### Préparation de la suspension microbienne

A l'aide d'une pipette Pasteur, quelques colonies des souches cibles, bien isolées ont été prélevées à partir d'une culture fraîche de 18 à 24 h.

Puis déchargées dans de l'eau physiologique et homogénéisées à l'aide d'un vortex ; la suspension microbienne est standardisée à  $10^8$  UFC/mL (Mondello *et al.*, 2009) (Abs = 0,6 ;  $\lambda=580$  nm) ;

#### **II.6.2.1 Méthode de diffusion par disque**

Les valeurs des zones d'inhibition de la croissance des microorganismes tests ont été déterminées in vitro en utilisant la méthode conventionnelle de disque sur agar (Bijondi *et al.*, 1993 ; Sökmen *et al.*, 2004).

La gélose nutritive (Mueller Hinton pour les bactéries et le Sabouraud pour les champignons), stérile, fondue (contenant le Tween-80 (0.5 %, v/v) est coulée dans des boîtes de Pétri. Ces boîtes ont été mises à sécher à température ambiante. Après solidification du milieu, des suspensions de chaque souche cible ont été étalées. Des disques (6 mm de diamètre) saturés en 5  $\mu$ l HE (5  $\mu$ l diluée dans le méthanol) d'*O. maritimus* ont été déposés sur la surface de la gélose. Le même test a été effectué sans extrait (méthanol pur) comme témoin négatif. Les boîtes inoculées ont été incubées à 4 °C pendant 2h ensuite à 30 °C/24 h pour les bactéries et à 30 °C/48 h pour les champignons. Après incubation, la mesure de la zone d'inhibition a été réalisée avec une règle.

### **II.6.2.1 Méthode de Macrodilution sur milieu solide**

La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche microbienne donnée est par définition la plus faible concentration à laquelle le microorganisme ne démontre aucune croissance visible. Sa détermination a été effectuée selon le Comité National des Normes du Laboratoire Clinique (NCCLS, 2001) en utilisant la méthode de macro-dilution en milieu solide.

Cette méthode permet la détermination de la CMI à partir d'une gamme de concentrations de l'extrait en milieu solide. Les essais de détermination de la CMI sont effectués selon la méthode de dilution standard sur milieu solide Mueller Hinton pour les bactéries ou Sabouraud pour la levure.

Des séries de dilutions de l'HE sont préparées (0.92, 1.38, 1.84 et 2.3 mg/ml) dans le milieu. Des spots de 2  $\mu$ L d'un inoculum standardisé à  $10^8$  cellules/ml sont déposés sur la surface du milieu dans les boîtes de Pétri qui contiennent les différentes concentrations en HE. Les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37°C et 48 h à 28°C pour les bactéries et la levure, respectivement. La CMI de l'extrait est définie à partir de la première boîte de la gamme dépourvue de croissance microbienne (NCCLS, 2001).

# **Chapitre III**

# **Résultats et Discussion**

### III.1. Caractérisation phytochimique de l'huile essentielle d'*O. maritimus*

#### III.1.1. Résultats

##### III.1.1.1. Rendements de l'huile essentielle

Les extractions par hydrodistillation (appareil Clévenger) ont fournis une HE ayant une coloration bleu foncé, une très forte et persistante odeur caractéristique de la plante avec un aspect liquide à viscosité faible pour les trois récoltes (*Om*<sub>1</sub>, *Om*<sub>2</sub> et *Om*<sub>3</sub>).

L'extraction a été faite plusieurs fois par hydrodistillation-Clevenger sous les mêmes conditions opératoires. Dans toutes les hydrodistillations réalisées, il est apparu que la quantité de l'HE obtenue était élevée au bous de la 1<sup>ère</sup> heure et se diminuait durant le reste de l'opération.

Le rendement en HE de ces extractions est de l'ordre de 0,13 % ± 0,04 (m/m, poids sec). Cette valeur représente la moyenne des rendements d'extraction obtenus sur plusieurs extractions indépendantes à travers les trois récoltes.

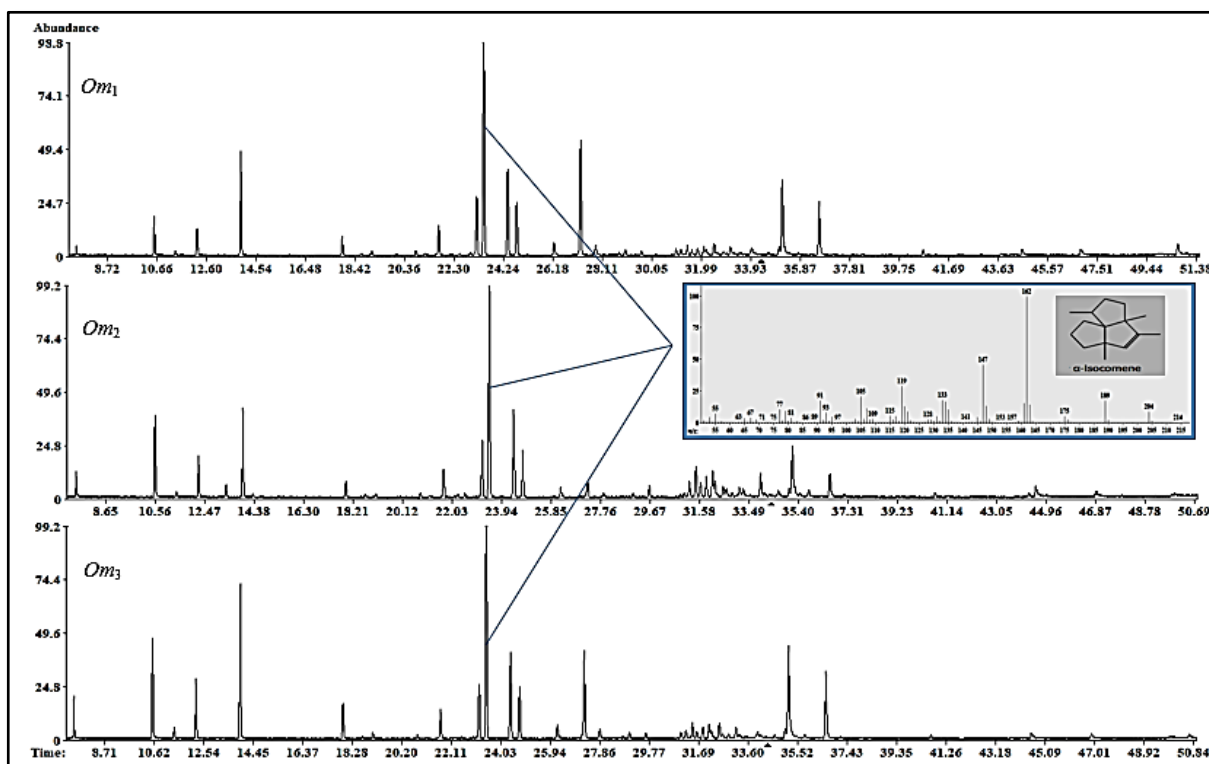
##### III.1.1.2. Etude phytochimique de l'huile essentielle

L'analyse par GC/MS entreprise ici a eu pour but d'identifier et reconnaître la composition phytochimique et surtout la classe chemotypique de l'HE d'*O. maritimus* sauvage algérienne en sachant que l'HE de cette espèce d'origine algérienne n'a jamais fait l'objet d'aucune étude auparavant selon notre recherche bibliographique minutieuse.

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

Ces analyses chimiques par GC/MS ont conduit à l'identification globale de 39 constituants : 35 chez l'HE *Om*<sub>1</sub>, 32 chez l'HE *Om*<sub>2</sub> et 33 chez l'HE *Om*<sub>3</sub>. Ces composés détectés et identifiés ont des aires cumulées qui correspond à un total d'identification de 90,96 %, 87,35% et 97,7 %, respectivement (Tableau III-1). Parmi les 39 composés identifiés dans

les trois HEs, 29 composés sont détectés simultanément entre les trois HEs étudiées, 3 composés (lavanduly acetate,  $\alpha$ -copaene et  $t$ -cadinol) sont présents uniquement dans l'HE  $Om_1$ , 3 d'autres composés (camphor, borneol et  $\beta$ -eudesmol) sont présents uniquement dans l'HE  $Om_2$ , 2 composés ( $\alpha$ -himachalene et  $\alpha$ -cadinol) sont présents simultanément dans l'HE  $Om_1$  et  $Om_2$  et enfin 1 composé (neryl formate) est présent uniquement dans l'HE  $Om_3$  (Tab. III-1).



**Figure III-1. Chromatogrammes ioniques totaux (GC/MS) des huiles essentielles des parties aériennes d'*Otanthus maritimus* algériennes**

L'encadrement à droite représente le spectre de masse du constituant majoritaire ( $\alpha$ -Isocomene) de ces HEs.  $Om_1$  : tiges/feuilles *O. maritimus* récolte février 2019,  $Om_2$  : tiges/feuilles/leurs *O. maritimus* récolte décembre 2019,  $Om_3$  : tiges/feuilles/leurs *O. maritimus* récolte février 2019.



Tableau III-1. Compositions phytochimiques des huiles essentielles des parties aériennes d'*Otanthus maritimus* algériennes

Constituant <sup>a</sup>	IRC <sup>b</sup>	IRA <sup>c</sup>	Composition (%)		
			Om <sub>1</sub>	Om <sub>2</sub>	Om <sub>3</sub>
Yomogi alcohol <sup>d</sup>	993	999	0,65	1,59	2,21
Artemisia alcohol <sup>d</sup>	1078	1080	2,70	5,74	5,91
Filifolone <sup>d</sup>	1100	1103 <sup>1</sup>	0,39	0,43	0,69
Chrysanthenone <sup>d</sup>	1121	1124	2,03	3,12	3,78
Camphor <sup>d</sup>	1146	1141	-	1,05	-
<b>Artemisyl acetate<sup>d</sup></b>	<b>1162</b>	<b>1169</b>	<b>7,5</b>	<b>6,63</b>	<b>9,65</b>
Borneol <sup>d</sup>	1171	1165	-	0,36	-
<i>cis</i> -Chrysanthenyl acetate <sup>d</sup>	1257	1261	1,54	1,29	2,63
1-octen-3-ol butanoate	1273	1280	0,21	0,25	0,15
Neryl formate	1282	1280	-	-	0,63
Lavandulyl acetate <sup>d</sup>	1285	1288	0,36	-	-
Silphiperfol-5-ene <sup>d</sup>	1323	1326	0,45	0,47	0,33
Silphinene <sup>d</sup>	1344	1345	2,63	2,63	2,11
$\alpha$ -Copaene <sup>d</sup>	1373	1374	0,21	-	-
Modhephene <sup>d</sup>	1379	1382	5,42	5,30	4,52
<b><math>\alpha</math>-Isocomene<sup>d</sup></b>	<b>1385</b>	<b>1387</b>	<b>18,84</b>	<b>18,73</b>	<b>15,75</b>
<b><math>\beta</math>-Isocomene<sup>d</sup></b>	<b>1407</b>	<b>1407</b>	<b>7,77</b>	<b>7,92</b>	<b>6,63</b>
$\beta$ -Caryophyllene <sup>d</sup>	1416	1417	4,84	4,60	4,12
$\alpha$ -Humulene <sup>d</sup>	1452	1452	1,18	0,74	1,13
$\alpha$ -Himachalene	1454	1449	0,13	-	0,20
<b>Germacrene-D<sup>d</sup></b>	<b>1478</b>	<b>1484</b>	<b>10,59</b>	<b>1,47</b>	<b>7,13</b>
$\alpha$ -Zingiberene	1493	1493	1,05	0,48	1,05
$\delta$ -Cadinene <sup>d</sup>	1515	1522	0,23	-	0,17
$\beta$ -Sesquiphellandrene	1521	1521	0,58	0,41	0,63
10- <i>epi-cis</i> -Dracunculifoliol	1538	1540	0,38	1,11	0,39
Germacrene-B	1572	1559	0,64	0,42	0,50
Caryophyllene oxide <sup>d</sup>	1578	1582	0,63	1,62	0,69
Gleenol	1588	1586	0,63	1,53	0,73
<i>allo</i> -Cedrol	1594	1589	0,68	2,00	0,86
Ledol	1601	1602	0,88	2,44	1,16
Geranyl isovalerate	1611	1606	1,11	1,12	1,40
Dillapiole	1615	1620	0,34	0,95	0,50
$\gamma$ -Eudesmol	1621	1630	0,41	0,41	0,41
Zingiberenol	1629	1635 <sup>2</sup>	0,85	1,04	0,93
<i>t</i> -Cadinol <sup>d</sup>	1638	1638	0,22	-	-
$\beta$ -Eudesmol <sup>d</sup>	1650	1649	-	2,65	-
$\alpha$ -Cadinol <sup>d</sup>	1651	1652	0,94	-	0,83

Tableau III-1. Suite

Constituant <sup>a</sup>	IRC <sup>b</sup>	IRA <sup>c</sup>	Composition (%)		
			Om <sub>1</sub>	Om <sub>2</sub>	Om <sub>3</sub>
<b><i>α</i>-epi-Bisabolol</b>	<b>1683</b>	<b>1683</b>	<b>8,47</b>	<b>6,16</b>	<b>8,96</b>
Chamazulene <sup>d</sup>	1723	1730	5,48	2,69	5,92
Monoterpènes hydrocarbonés			00	00	00
Monoterpènes oxygénés			5,04	6,94	8,44
Monoterpènes irréguliers			10,85	13,96	17,77
<b>Sesquiterpènes Hydrocarbonés</b>			<b>60,04</b>	<b>45,86</b>	<b>50,19</b>
Sesquiterpènes oxygénés			14,09	18,96	14,96
Autres			0,94	1,63	1,34
Total identifié			90,96	87,35	97,7

<sup>a</sup>) L'ordre d'éluion des constituants et leurs pourcentages sont donnés sur la colonne capillaire apolaire DB-5 <sup>b</sup>) IRC = Indices de rétention calculés sur la colonne apolaire DB-5. <sup>c</sup>) IRA = Indices de rétention reportés par Adams (2007) et autres : <sup>1</sup> Saroglou *et al.*, 2006 ; <sup>2</sup> Bartley & Foley. <sup>d</sup>) Composants précédemment identifiés dans les huiles essentielles d'*O. maritimus*; toutes les autres ont été identifiées pour la première fois dans les huiles produite dans la présente étude. Om<sub>1</sub> : tiges/feuilles *O. maritimus* récolte février 2019, Om<sub>2</sub> : tiges/feuilles/leurs *O. maritimus* récolte décembre 2019, Om<sub>3</sub> : tiges/feuilles/leurs *O. maritimus* récolte février 2019. Les composés et classes majoritaires sont en gras.

Les figures III-2 et III-3 exposent des histogrammes représentant les classes chimiques et les cinq constituants majoritaires des trois HEs d'*O. maritimus*. Tandis que, la figure III-4 présente leurs structures développées.

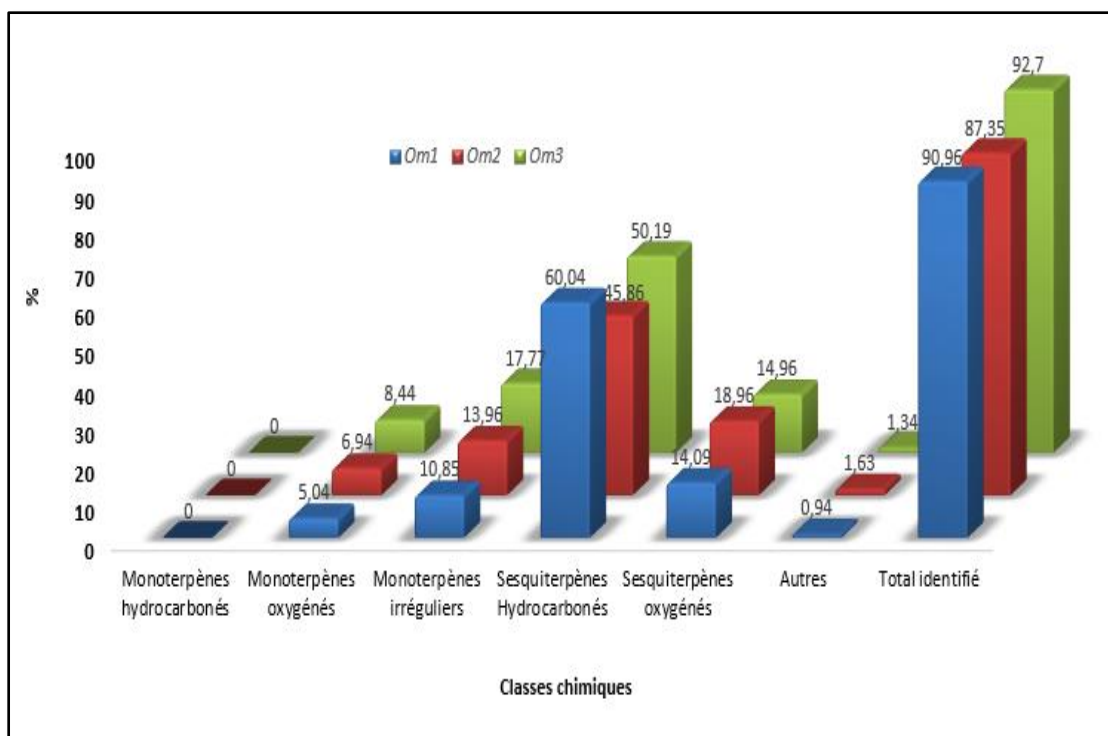
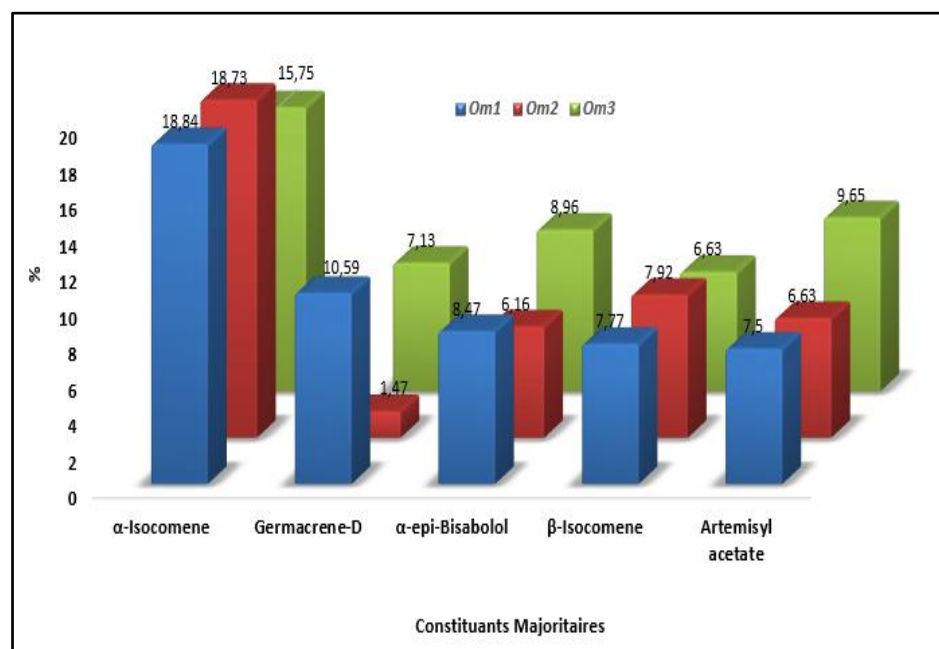


Figure III-2. Teneurs des classes chimiques et le total identifié des HEs des parties aériennes d'*Otanthus maritimus*

Om<sub>1</sub> : tiges/feuilles *O. maritimus* récolte février 2019, Om<sub>2</sub> : tiges/feuilles/leurs *O. maritimus* récolte décembre 2019, Om<sub>3</sub> : tiges/feuilles/leurs *O. maritimus* récolte février 2019.

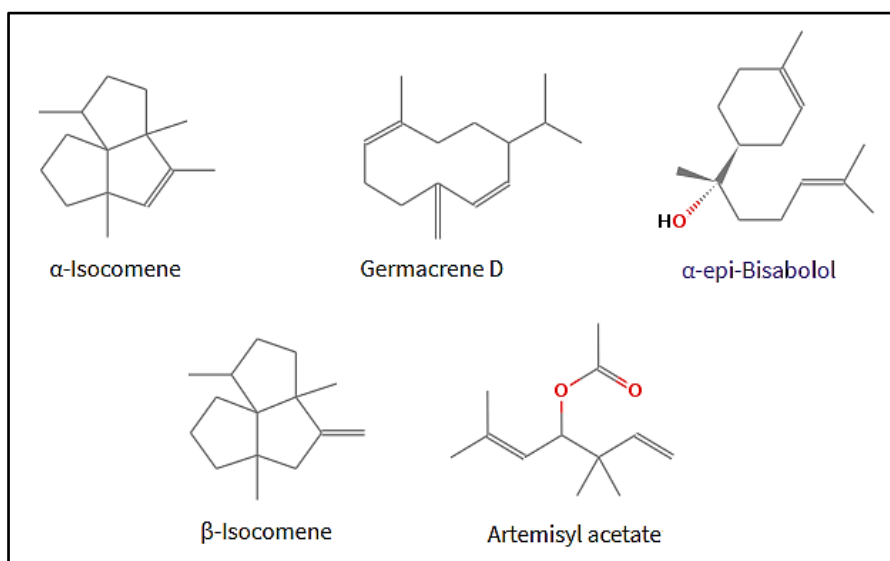
Dans les HEs de cette espèce, les classes de composés présentes sont : les terpènes volatils habituelles des HEs (monoterpènes, inclus les monoterpènes irréguliers, et sesquiterpènes) et d'autres molécules volatils. Ces analyses ont montrées la prédominance du sesquiterpènes hydrocarbonés (45,86-60,04 %) avec l' $\alpha$ -isocomene (15,75-18,84 %) comme composé majoritaire (nouveau chemotype à  $\alpha$ -isocomene) suivie par le germacrene-D (1,47-10,59 %) et le  $\beta$ -isocomene (6,63-7,92 %) (Tab. III-1, Fig. III-3). Ainsi, ces HEs sont riche en sesquiterpènes oxygénés (14,09-18,96 %) en deuxième position représentés par l' $\alpha$ -*epi*-bisabolol (6,16-8,96 %) et en monoterpènes irréguliers en troisième position (10,85-17,77 %) avec l'artemisyl acetate (6,63-9,65 %) comme composé majoritaire de cette classe. Alors que, les monotepènes oxygénés (5,04-8,44%) suivit par les autres composés (0,94-1,63%) ont présentés par ordre des taux faibles dans ces trois HEs. Enfin, les trois HEs ont montrées l'absence totale d'aucun monoterpène hydrocarboné (Tab. III-1).

D'après les résultats exposés sur le tableau III-1 et la figure III-3, on constate que les deux constituants majoritaires des HEs de notre espèce *O. maritimus* d'origine de Zemmouri (Boumerdes, Algérie) sont : l' $\alpha$ -isocomene (18,84%) et le germacrene-D (10,59%) pour l'HE *Om*<sub>1</sub>, l' $\alpha$ -isocomene (18,73%) et le  $\beta$ -isocomene (7,92%) pour l'HE *Om*<sub>2</sub> et enfin l' $\alpha$ -isocomene (15,75%) et l'artemisyl acetate (9,65%) pour l'HE *Om*<sub>3</sub>. De ce fait, les HEs de notre *O. maritimus* présente une variation intra-spécifique et même saisonnière.



**Figure III-3. Teneurs des constituants majoritaires des HEs des parties aériennes d'*Otanthus maritimus***

*Om*<sub>1</sub> : tiges/feuilles *O. maritimus* récolte février 2019, *Om*<sub>2</sub> : tiges/feuilles/fleurs *O. maritimus* récolte décembre 2019, *Om*<sub>3</sub> : tiges/feuilles/fleurs *O. maritimus* récolte février 2019.



**Figure III-4. Structures chimiques développées des constituants majoritaires des HEs d'*Otanthus maritimus* d'Algérie**

D'autre part le profil phytochimique de ces trois HEs met en évidence la présence d'un taux important de monoterpènes irréguliers (10,85-17,77%) caractéristique des HEs des Astéracées et des Apiacées. Ainsi, la présence de quantité notable de chamazulene (2,69-5,92%) sesquiterpène aromatique responsable de la coloration bleue de ces HEs.

### III.1.2. Discussion

Le rendement des extractions des HEs de cette population algérienne des parties aériennes avec ou sans fleurs d'*O. maritimus* sauvage est de l'ordre de 0,13 %  $\pm$  0,04 (m/m, poids sec). Ce rendement peut être considéré comme faible, identique ou fort comparativement à ceux obtenu par hydrodistillation à partir de la partie aérienne de cette espèce hors l'Algérie. Cette espèce n'a jamais fait l'objet d'étude phytochimique auparavant en Algérie. Le Tableau III-2 résume les rendements et la composition chimique majeure des HEs de cette espèce à travers le bassin méditerranéen. Muselli *et al.*, (2007) ont rapporté des rendements faibles en HEs qui varient entre 0,02 et 0,06 % chez plusieurs populations sauvage d'*O. maritimus* d'origine corsienne. En effet, le rendement de l'HE est de l'ordre de 0,14 %, presque identique à cette étude, pour *O. maritimus* de Palermo (Italie) (Basile *et al.*, 2013), alors que des populations portugaise de cette espèce ont présentées des rendements plus fort qui varient entre 0,3 et 0,4% (Cabral *et al.*, 2012).

Même si toutes ces études indiquent des variabilités dans les rendements en HEs des populations sauvages d'*O. maritimus* à travers le bassin méditerranéen, elles sont toutes d'accord sur la teneur relativement faible de cette dernière en HE (plante aromatique).

Les analyses par GC/MS ont prouvé que les HEs de cette population algérienne d'*O. maritimus* sont d'un caractère sesquiterpénique avec un taux variable entre 64,82 et 75,03% représenté par le sesquiterpène l' $\alpha$ -isocomène comme composés majoritaire de tous le profil phytochimique des trois HEs. Ces analyses ont repéré la présence, pour la première fois, la présence d'un nouveaux chémotypes à  $\alpha$ -isocomène d'origine algérienne.

**Tableau III-2. Rendement et composition chimique majeur des huiles essentielles d'*Othantus maritimus* à travers le bassin méditerranéen**

Origine	Période de récolte	Rendement	Partie utiliser	Composition chimique		Références
				Nombre/total identifié	Composés majoritaire	
Crète (Grèce)	Juin 1997 Juillet 1998	-	PA/FL	17/97.8%	- <b>cis-Chrysanthenyl acetate (30.4%)</b> -1,8-Cineole (19,1%) -Camphor (12.9%) -Artemisia alcohol (12.6%) -Isocomene (0,5%) -Chamazulene (00%)	Tsoukatou <i>et al.</i> , 2000
Ajaccio (Corse)	Printemps 2004	0.02-0.06%	PA, RA	63/84.9-97.6	- <b>Yomogi alcool (24,1-34,7%)</b> -Artemisia alcohol (11,5-19,2%) -Camphor (7,0-20,4%) -Artemisyl acetate (4,9-12,6%) -Chamazulene (0,3-1,9%) - $\alpha$ -Isocomene (0,1-7,7%)	Muselli <i>et al.</i> , 2007
Messina (Sicile, Italie)	Mai 2006	-	FE	38/99.3%	- <b>Santolina triene (23,65%)</b> -Artemisia alcohol (17,91%) -Artemisyl acetate (13,19%) - $\gamma$ -Caryophyllene (7,82%) -Chamazulene (00%) - $\alpha$ -Isocomene (00%)	Romeo <i>et al.</i> , 2007
Palermo (Sicile, Italie)	-	0.14% (m/m)	FL	66/91.6%	- <b>Yomogi alcool (20,8%)</b> -Camphore (15,8%) -Artémisyle acetate (15,3%) -Artemisia alcohol (13,7%) -Chamazulene (3.9%) - $\alpha$ -Isocomene (<0,05%)	Basile <i>et al.</i> , 2013

Tableau III-2. Suite

Origine	Période de récolte	Rendement	Partie utiliser	Composition chimique		Références
				Nombre/total identifié	Composés majoritaire	
Portugal	Stade de floraison	0.3-0.4% (v/m)	PA	30/82.3-96%	<b>-Chrysanthénone (40,4-57,2%)</b> -Filifolone (12,2-15,5%) -cis-Chrysantényl acétate (10,1-12,2%) - $\alpha$ -Pinene (6,7-7,2%) -Chamazulene (00%) - $\alpha$ -Isocomene (00%)	Cabral <i>et al.</i> , 2013
Zemmouri (Algérie)	Hiver 2019	0.13% (m/m)	PA/FL	39/87.35-97.7%	<b><math>\alpha</math>-Isocomene (17.75-18.84%)</b> Artemisyl acetate (6.63-9.65%) $\alpha$ - <i>epi</i> -Bisabolol (6.16-8.96%) $\beta$ -Isocomene (6.63-7.92%) Germacrene-D (1.47-10.59%) Chamazulene (2.69-5.92%)	Présente étude

PA : partie aérienne, FE : feuilles, RA : racine, FL, fleurs. Le composé majoritaire représentant le chemotype est en gras.

Selon la littérature, la caractérisation phytochimique de l'HE de la partie aérienne d'*O. maritimus* a fait l'objet de 5 études dans le bassin méditerranéen effectuées depuis 2000 (Tsoukatou *et al.*, 2000 ; Muselli *et al.*, 2007 ; Romeo *et al.*, 2007; Basile *et al.*, 2013; Cabral *et al.*, 2013). Ces études, menées par ces auteurs sur l'HE de cette espèce, ont prouvées l'existence de quatre chemotypes : le chemotype **cis-chrysanthenyl acetate** d'origine de Grèce (Tsoukatou *et al.*, 2000), le chemotype **yomogi alcohol** d'origine de Corse et d'Italie (Muselli *et al.*, 2007 ; Basile *et al.*, 2013), le chemotype **Santolina triene** d'origine d'Italie (Romeo *et al.*, 2007) et le chemotype **chrysanthénone** d'origine de Portugal (Cabral *et al.*, 2013) (**Tab III-2**). Par contre, la présente étude a levée la voile sur la présence d'un nouveau chemotype  **$\alpha$ -isocomene** algérien complètement différent des autres en augmentant le nombre à cinq chemotypes de l'HE d'*O. maritimus* méditerranéenne.

En plus, la comparaison de nos profils phytochimiques avec ceux obtenus par ces études nous amènent à constater que la composition chimique de nos HEs diffère à celles des autres qualitativement et quantitativement. Ces auteurs ont révélé l'absence de certains composés qui sont identifiés dans notre échantillon, à savoir : le composé majoritaire  $\alpha$ -epi-bisabolol ainsi que d'autres composés qui sont minoritaires (voir composé sans le d en astérisque **Tab. III-2**). Inversement, dans notre étude on n'a pas identifié la présence de santolina triene qui représente le chemotype d'Italie. D'autre part, le composé chamazulene, responsable de la coloration bleue de ces HEs, n'a pas été signalé par les études menées par Tsoukatou *et al.*, (2000), Romeo *et al.*, (2007) et Cabral *et al.*, (2013).

D'après les études rapportées par la littérature, les variations des rendements et de la composition chimique des HEs peuvent être attribuées aux plusieurs facteurs biotiques et abiotiques incontrôlés et/ou aux différences génétiques inhérentes comme précédemment décrit pour d'autres plantes productrices d'HE (Putievsky *et al.* 1986 ; Figueiredo *et al.* 1997). La période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage, le stockage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements et la composition chimique des HEs (Flamini, *et al.*, 1999, Figueiredo *et al.*, 2008).



## III.2. Activités biologiques *in vitro* de l'huile essentielle d'*O. maritimus*

### III.2.1. Résultats

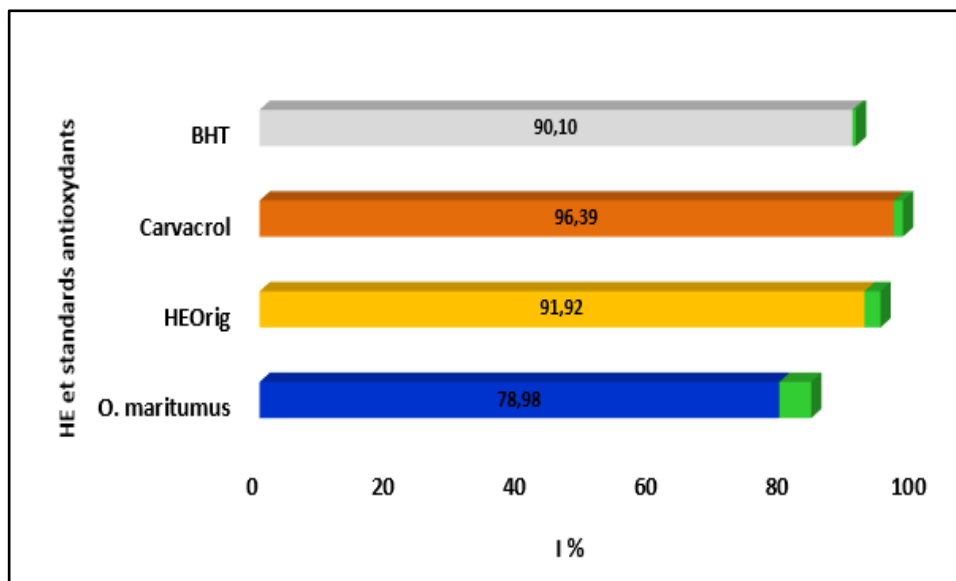
#### III.2.1.1. Activité de piégeage des radicaux libres par DPPH

L'activité antiradicalaire de HE *Om<sub>1</sub>* a été évaluée par la méthode de DPPH. Une solution méthanolique de DPPH (2-2-diphényl-1-picrylhydrazyl) présente une coloration violette sombre, en présence d'un antioxydant, la forme réduite de DPPHH confère à la solution une coloration jaune et par conséquent une diminution de l'absorbance spectrophotométrique (**Fig. III-5**).



**Figure III-5. Changement de couleur (violet → jaune) du DPPH selon le pouvoir antioxydant de l'HE testée (photo originale)**

L'activité de piégeage des radicaux libres de l'HE d'*O. maritimus* (*Om<sub>1</sub>*) évaluée par le test DPPH est exprimée en I %. Le I % est proportionnellement lié à la capacité de piégeage (capacité antioxydante) d'un composé ou d'un extrait, car il exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer le maximum de la concentration du radical libre. Plus la valeur de I est grande, plus l'activité antioxydante est importante. Les valeurs de I% pour l'HE *O. maritimus*, ainsi que pour les produits de référence, le BHT, le carvacrol et l'HE d'*Origanum compactum*, sont présentées sur la **figure III-6**.



**Figure III-6. Activité antioxydante (piégeage des radicaux libres par DPPH) de l'HE d'*O. maritimus* (*Om<sub>1</sub>*) en comparaison avec des standards antioxydants**

I = pourcentage d'inhibition ; BHT = hydroxytoluenebutylé ; HEOrig = huile essentielle d'*Origanum compactum*. Les données sont présentées en tant que moyenne  $\pm$  S.D. (n = 3).

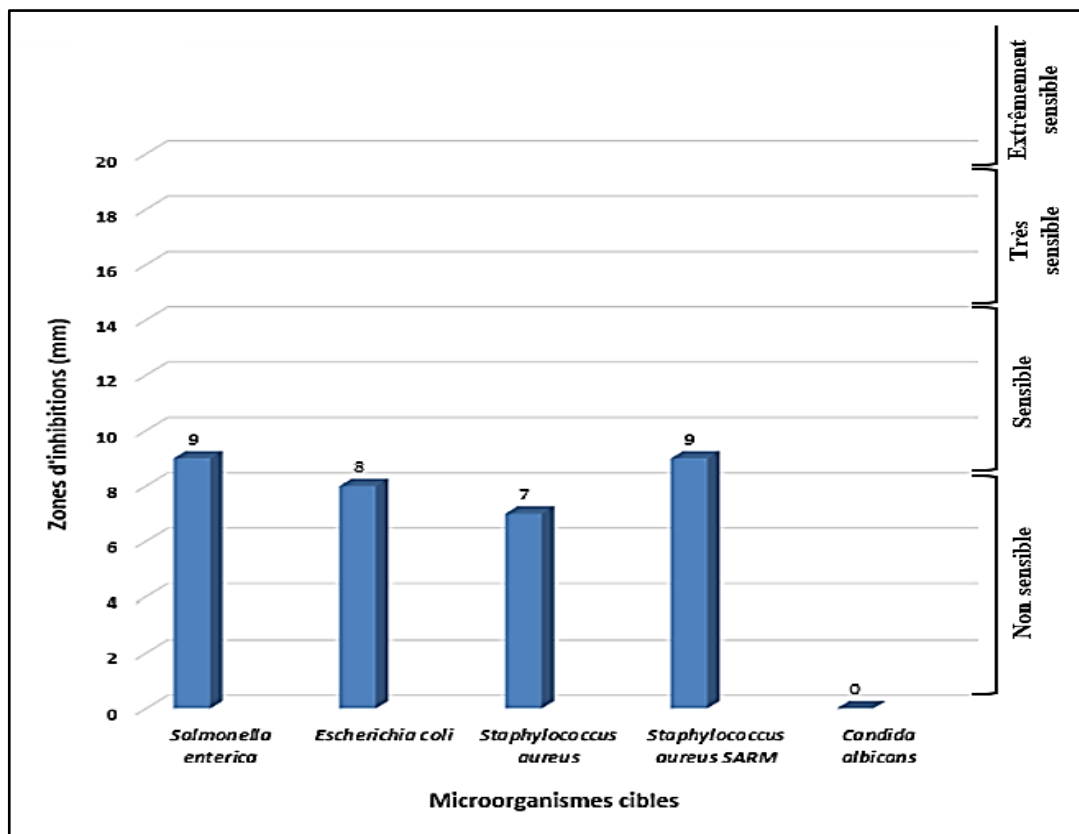
Nos résultats de cette activité montrent que l'HE d'*O. maritimus* a exhibée une bonne activité antioxydante avec une valeur de I = 78,98 %. Les résultats obtenus ont montré que cette HE est dotée d'un pouvoir antioxydant plus faible que celui des produits de références (BHT, carvacrol et HEOrig) dont le I% varie entre 90,10 et 96,39.

### III.2.1.2. Activités antimicrobiennes de l'huile essentielle d'*O. maritimus*

Les activités antimicrobiennes de l'HE d'*O. maritimus* (*Om<sub>1</sub>*) ont été évaluées *in vitro* envers des microorganismes cibles (2 bactéries G<sup>-</sup> : *Salmonella enterica* et *Escherichia coli*, 2 bactéries G<sup>+</sup> *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus aureus* SARM et une levure : *Candida albicans*).

Lors de cette expérience, les tests ont été réalisés par la technique diffusion par de disque sur milieu solide. Les résultats de ce criblage sont illustrés sur la **figure III-7**. Le tween-80 est ajouté dans le milieu pour améliorer la solubilité des HEs. Un milieu avec ou sans tween-80 et disque remplie de méthanol à la place des extraits a servi de contrôle négatif. Pour cette méthode de diffusion sur disque selon Ponce *et al.* (2003) et Moreira *et al.* (2005), une souche microorganisme est considérée comme :

- Non sensible pour un diamètre < 8 mm (extrait non actif) ;
- Sensible pour un diamètre entre 9 et 14 mm (extrait moyennement actif) ;
- Très sensible pour un diamètre entre 15 et 19 mm (extrait très actif) ;
- Extrêmement sensible pour un diamètre > 20 mm (extrait Extrêmement actif).



**Figure III-7. Activités antimicrobiennes (zone d'inhibition en mm) de l'HE d'*O. maritimus* (*Om*<sub>1</sub>)**

SARM = *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline.

Selon ce système d'évaluation par disque, les microorganismes cibles n'ont pas manifesté une sensibilité envers l'HE d'*O. maritimus* avec des zones d'inhibitions très faible entre 7 et 9 mm.

En admettant que la précédente méthode de disque est une méthode préliminaire d'où les résultats sont très variables selon le volume injecté dans les disques, on a procédé à des tests de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur chacune des souches cibles étudiées (Tab. III-3). Ces tests ont été réalisés par la technique de macro-dilution en milieu solide. La CMI est la concentration la plus faible capable d'inhiber toute croissance microbienne visible. Elle est demandée pour mieux préciser le niveau d'activité des molécules et des extraits. La CMI la plus faible présente l'activité la plus grande.

**Tableau III-3. Concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle d'*Otanthus maritimus* ( $Om_1$ ) envers les microorganismes cibles**

Microorganismes	CMI* (mg/ml)
<i>Salmonella enterica</i>	>2,3
<i>Escherichia coli</i>	>2,3
<i>Staphylococcus aureus</i>	>2,3
<i>Staphylococcus aureus</i> SARM	>2,3
<i>Candida albicans</i>	>2,3

\* Concentrations testées 0.92, 1.38, 1.84 et 2.3 mg/ml

Avec des valeurs de CMI supérieurs à 2,3 mg/ml pour tous les microorganismes cibles (valeurs de CMI non déterminés), l'HE d'*O. maritimus* ne présente aucun pouvoir inhibiteur sur la croissance de ces microorganismes.

### III.2.2. Discussion

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

En effet, l'HE de la partie aérienne sans fleurs d'*O. maritimus* a révélée une bonne activité à piéger le radical DPPH. Cette activité antioxydante importante est due à la présence de composés

dites antioxydants dans notre HE. Plusieurs composés détectés dans les HEs ont déjà été décrits comme antioxydants lors de tests de criblage d'antioxydants. Il s'agit notamment, du chamazulène composé antioxydant (Capuzzo *et al.*, 2014) détecté dans notre HE et dans d'autres HEs dites antioxydantes comme les HEs des espèces *matricaria*. Il semble d'après ces informations que la bonne activité antioxydante de notre HE peut être due à la présence de ce composé (2.69-5.92%).

Cette évaluation représente un premier rapport sur l'activité antioxydante de l'HE d'*O. maritimus*.

Les activités antimicrobiennes des extraits de plantes ont été signalées comme étant liées spécifiquement à la présence de composés antimicrobiens. Récemment, des tentatives ont été faites pour identifier les composés responsables d'une telle bioactivité. Les molécules oxygénées qui entrent dans la composition des extraits naturels sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées qui sont, par contre, connues pour leurs faibles pouvoirs antimicrobiens (Kalemba & Kunicka, 2003). Les effets antimicrobiens sont liés, entre autres, à la présence de groupements hydroxyles libres qui permettent une bonne solubilisation de ces composés dans les milieux physiologiques aqueux (Ben Arafa *et al.*, 2006). Compte tenu de la diversité moléculaire des extraits végétaux, il semble plus probable que leur activité antimicrobienne résulte de l'association de plusieurs mécanismes qui s'exercent conjointement sur différentes cibles cellulaires (Burt, 2004). Parmi ceux-ci on cite à titre d'exemple, les thujones (Oussalah, 2007), le 1,8-cinéol (Pattnaik *et al.*, 1997) et le carvacrol (Burt, 2004) qui manifestent une puissante activité antiseptique. De ce fait, nous pouvons suggérer que la faible activité antimicrobienne de notre HE est peut-être due surtout à l'absence de composés oxygénés dits antimicrobiens.

# **Conclusion et Perspectives**

## Conclusion et Perspectives

Lors de cette étude, nous avons, dans un premier temps, procédé à l'extraction des huiles essentielles (HE) par hydrodistillation-Clevenger des parties aériennes fleuries d'*O. maritimus* en croissance spontanée dans la région de Zemmouri, Boumerdes-Algérie. Nous avons tout d'abord analysés la composition chimique des composés volatils constituant les HEs de feuilles/tiges avec ou sans fleurs de cette espèce. Ensuite, nous avons procédé à l'évaluation des potentiels antioxydant et antimicrobiens de l'HE.

L'analyse chimique des composés volatils des HEs d'*O. maritimus* a été effectuée par le couplage GC/MS. Selon cette analyse ces HEs sont caractérisés par une bonne biodiversité chimique. En effet 39 composés (87,35-97,7 %) sont détectés dans les HEs de cette espèce. Nous avons constaté que nos HEs sont dominés par l' $\alpha$ -isocomène avec un taux entre 15,75 et 18,84 %. Ainsi, on signale, d'une part la détection de l' $\alpha$ -épi-bisabolol (6,16-8,96) pour la première fois dans une HE d'*O. maritimus* d'origine algérienne. D'autre part, on note également l'absence totale de santolina triène un monoterpène irrégulier souvent détecté comme substance majoritaire dans les HEs d'*O. maritimus* et même comme chémotype d'une population de l'Italie.

Les connaissances acquises ici sur la composition chimique des HEs d'*O. maritimus* élargissent d'avantage les connaissances actuelles sur la gamme de diversité des composés organiques volatils dans cette espèce avec la première détection d'un nouveau chémotype :  $\alpha$ -isocomène.

L'activité antioxydante de l'HE d'*O. maritimus* a été évaluée en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH. On a remarqué que cette HE a montré une forte activité antioxydante (I = 78,98 %) proche aux standards antioxydants (I = 90,10 - 96,36 %). Cette bonne activité antioxydante de cette HE est due en partie à la présence du chamazulène connu par son pouvoir antioxydant.

Les activités antimicrobiennes de l'HE d'*O. maritimus* ont été évaluées *in vitro* envers cinq microorganismes pathogènes (2 bactéries G<sup>+</sup>, 2 bactéries G<sup>-</sup> et une levure). Généralement et contrairement à l'activité antioxydante, l'activité antimicrobienne de l'HE a été faible.

Les différents travaux préliminaires, réalisés au cours de ces évaluations, ont permis de mettre en avant le pouvoir antioxydant de cette HE d'*O. maritimus*. Néanmoins, cette espèce est avérée être une puissante source d'antioxydant et peut donc avoir un plus grand potentiel applicatif dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et de protection des cultures et des

aliments. Toutes ces informations témoignent de l'intérêt que présentent les HEs pour la recherche de molécules antioxydantes innovantes dans leur mode d'action.

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 d'*O. maritimus* par d'autres techniques telle que le couplage GC/MS avec une colonne polaire et l'RMN. Ainsi, l'analyse de la composition chimique des fractions flavoniques par le couplage LC/MS.
- ✚ L'utilisation d'autres système afin de bien évaluer le pouvoir antioxydant des HEs et même des fractions flavoniques, comme par exemple le système  $\beta$ -carotène etc. Ainsi l'évaluation d'autres activités biologiques : antitumorale, anticancéreuse et anti-inflammatoire, etc.
- ✚ Il serait utile aussi de déterminer les concentrations minimales inhibitrices exacte envers toutes les souches testes pour bien évaluer l'activité antimicrobienne de nos HEs pour des éventuelles applications humaines.



# **Références Bibliographiques**

- Aazza, S., Lyoussi, B and Miguel, M.G. (2011). Antioxidant and Antiacetylcholinesterase Activities of Some Commercial Essential Oils and Their Major Compounds. *Molecules*, 16 (9): 7672-7690.
- Abderrazak, M., Joël, R. (2007). *La botanique de A à Z*. Ed. Dunod. Paris. pp. 177.
- Abdoul, D.S., 2002. Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone du burkina soudanienne du burkina faso : valorisation. Thèse de Doctorat Science Physique. Présentée à l'Université de Ouagadougou, p 162.
- Abramson, C.I., Wanderley, P.A., Wanderley, M.J.A., Silva, J.C.R and Michaluk, L.M., 2007. The Effect of essential oils of sweet fennel and pignut on mortality and learning in africanized Honeybees (*Apis mellifera* L.) (Hymenoptera: Apidae). *Neotropical Entomology*, 36 (6) : 828-835.
- Adams, R. P. (2007). Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Carol Stream, Illinois, USA: Allured Publishing Corporation.
- Ait Mbarek, L.A., Mouse, H.A., Elabbadi N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., Benharref, A., Chait, A., Kamal, M., Dalal, A and Zyad, A. (2007). Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research*. 40: 839-847.
- Akhlaghi, H. (2008). The Essential Oils from Flowers, Stems and Leaves of *Ferulago angulate* from Iran. *Chem Nat Compd*. 44 (3) : 396-397.
- Aly, A.H., Debbab, A., Edrada-Ebel, R., Wray, V., Muller, W.E., Lin, W. and Proksch, P. (2009). A new tetrahydrofuran derivative from the endophytic fungus *Chaetomium* sp. isolated from *Otanthus maritimus*. *Zeitschrift fur Naturforschung C*. 64(5-6):350-354.
- Aprotosoiaie, A.C., Spac, A.D., Hancianu, M., Miron, A., Tanasescu, V.F., Dorneanu, V and Stanescu, U., 2010. The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Farmacia*, 58 (1): 46-54.
- Astani A, Reichling J, Schnitzler P (2010) Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytother Res* 24(5):673-679.
- Astani A, Reichling J, Schnitzler P. 2011. Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils. *Evid Based Complement Alternat Med*. 25,36-43.
- Ayvaz, A., Sagdic, O and Ozturk, I., 2010. Insecticidal Activity of the Essential Oils from Different Plants Against Three Stored-Product Insects. *Journal of Insect Science*: 10 : 21.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. et Idaomar, M. (2008). "Biological effects of essential oils: a review." *Food Chem. Toxicol*. 46(2): 446-475.
- Balandrin, M.F., Klocke, J.A., Wurtele E.S and Bollinger, W.H., 1985. *Natural Plant Chemicals: Sources of Industrial and Medicinal Materials*. Science, 228: 1154-1159.

- Baranauskaite, J., Kubiliene, A., Marksa, M., Petrikaite, V., Vitkevičius, K., Baranauskas, A and Bernatoniene, J. (2017). The Influence of Different Oregano Species on the Antioxidant Activity Determined Using HPLC Postcolumn DPPH Method and Anticancer Activity of Carvacrol and Rosmarinic Acid. *BioMed Research International*, p 7.
- Barclay, L.R.C., Xi, F and Norris, J.Q. (2006). Antioxidant Properties of Phenolic Lignin Model Compounds. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 17 (12): 73-90.
- Bardeau, F. (2009). *Les Huiles Essentielles : Découvrir les Bienfaits et les Vertus d'une Médecine Ancestrale*, Editeur, Fernand Lanore, p 315.
- Bardeau, F., 2009. *Les Huiles Essentielles: Découvrir les Bienfaits et les Vertus d'une Médecine Ancestrale*, Editeur, Fernand Lanore, p 315.
- Barry, N., 2001. Art d'extraire les huiles essentielles. *De parfum à faire soi-même*, p :125-128.
- Baschieri, A., Ajvazi, M.D., Laure, J., Tonfack, F., Valgimigli, L and Amorati, R., 2017. Explaining the antioxidant activity of some common non-phenolic components of essential oils. *Food Chemistry*, 232: 656-663.
- Baser, K.H.C. & Buchbauer, G. (2010). *Handbook of essential oil: Science, Technology, and Applications*. Ed. Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton, Florid, USA.
- Basile, A., D Rigano, S Sorbo, B Conte, S Rosselli, M Bruno and F Senatore. (2013). Antibacterial and antifungal activities of *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link essential oil from Sicily.. *Natural Product Research*, 27, 1548-1555.
- Baudoux, D. (1997). « *Aroma News*», Lettre d'information de N.A.R.D.: *Natural Aromatherapy Research and Development*, Belgique. bees." *Proc. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 274(1627): 2843–2848.
- Belaiche ,P. (1979). *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme*. Ed. Maloine, Paris.
- Ben Arafa A., Combes S. et al. (2006). Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure, *Lett. Appl. Microbiol.* **43**, 149-154.
- Besombes, C. (2008). Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de Doctorat, Université de la Rochelle, France.
- Bessah, R et Benyoussef, E.( 2015). La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Revue des Energies Renouvelables*, 18 (3) : 513-528.
- Boukroufa, M., Boutekedjiret, C., Petigny,L., Rakotomanomana, N and Chemat, F. 2010. Bio-refinery of orange peels waste: A new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24: 72-79.
- Bowles, E.J.(2004). *The chemistry of aromatherapeutic oils*. 3rd Ed. Crows Nest, NSW: Allen & Unwin Academic.

- Boyle, W. (1955) Spices and essential oils as preservatives. *Am. Perfumer Essent. Oil Rev.* 66: 25-28
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology.*, 28, 25-30.
- Bruneton ,J.(1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 3ème éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 4ème 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. p: 1367.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**, 223-253.
- Cabral, C. Cavaleiro, C. Gonçalves, M.J. Cruz, M.T. lopes, M.C. Salgueiro, L. (2013). *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link as a source of a bioactive and fragrant oil. *Ind. Crop. Prod.*, 43: 484–489.
- Caldefie-Chézet F., Fusillier C., Jarde T., Laroye H., Damez M., Vasson M.P. (2006). Potential anti-inflammatory effects of *Malaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes. *Phytotherapy Research* 20: 364-370.
- Caldefie-Chézet F., Guerry M., Chalchat J.C., Fusillier C., Vasson M.P., Guillot J. (2004). Antiinflammatory effects of *Malaleuca alternifolia* essential oil on human polymorphonuclear neutrophils and monocytes. *Free Radical Research.* 38: 805-811.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P.W., Castillejos, L., Ferret, A. (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science.*, 90, 2580-2595.
- Capuzzo A., A. Occhipinti and M. E. Maffei. (2014). Antioxidant and radical scavenging activities of chamazulene. *Natural Product Research*, 28, 2321–2323.
- Castillo, R.H., Stashenko, E and Close, J.E.D. 2017. Insecticidal and Repellent Activity of Several Plant-Derived Essential Oils Against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 33 (1): 25-35.
- Christodouloupoulou, L., Tsoukatou, M., Tziveleka, L.A., Vagias, C., Petrakis, P.V., & Roussis, V. (2005). Piperidinyl amides with insecticidal activity from the maritime plant *Otanthus maritimus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1435–1439.
- Clement, R.P. (2005). *Aux racines de la phytothérapie : entre traditions et modernité*.
- Cosentino, S., Tuberoso, C.I., Pisano, B., Satta, M., Mascia ,V., Arzedi, E. & Palmas, F. (1999). In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett. Appl. Microbiol.* 29(2): 103-105.

- Couic-Marinier, F., Lobstein, A. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actual pharm*; 52 (525): 22-25.
- Crete P. (1965) : Précis de botanique. Masson, Paris, édition 2, P 429
- Dahmane, H., Dob, T., Krimat, S., Nouasri, A., Metidji, H and Ksouri, A. (2017). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils of medicinal plant *Ammodaucus leucotrichus* from Algeria. *Journal of Essential Oil Research* 29 (1): 48-55.
- De Pascual, T.J., San Feliciano, A., Barrero, A.F., Medarde, M., & Tome, F. (1981). Sesquiterpene hydrocarbons from the roots of *Otanthus maritimus*. *Phytochemistry*, 20, 166–167.
- Degryse, A.C.; Delpla, I.; Voinier, M.A. (2008). « Atelier Santé Environnement, Risques et bénéfices des huiles *essentielles* », IGS. EHESP.
- Dib, I., Fauconnier, M.L., Sindic, M., Belmekki, F., Assaidi, A., Berrabah, M., Mekhfi, H., Aziz, M., Legssyer, A., Bnouham, M and Ziyat, E., 2017. Chemical composition, vasorelaxant, antioxidant and antiplatelet effects of essential oil of *Artemisia campestris* L. from Oriental Morocco. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17 (1): 82.
- Dorman, H.J.D. and Deans, H.J.D. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of 98 plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88 (2) 308–316.
- Duval, C., Duval, R. (1978). Dictionnaire de la chimie et ses applications. Technique et documentation. paris France [ INIST-CNRS, cote INIST: L22845]: 1100.
- Edris, A.E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytotherapy Research*. 21: 308-323.
- El Kalamouni, C. (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat, Toulouse, France.
- El-Sayed, N.H., Ishak, M.S., Kandil, F.E., & Mabry, T.J. (1992). Flavonoids of *Otanthus maritimus*. *Revista Latinoamericana De Quimica*, 23, 1.
- Eltz, T., Zimmermann, Y., Haftmann, J., Twele, R., Francke, W., Quezada-Euan, J.J.G. et Lunau, K. (2007). "Enfleurage, lipid recycling and the origin of perfume collection in orchid essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control*. 22: 1715-1722.
- European-Pharmacopoeia. (2005). Sainte Ruffine, Maissoneuve.
- Ezzat, S.M., Ezzata, I.M., Okba, M.M., Menze, T.E and Abdel-Naim, A.B., 2017. The hidden mechanism beyond ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) potent in vivo and in vitro anti-inflammatory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 214 (25): 113123.
- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A.S., Soejarto, D.D., Guo, Z. 1986. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé*, 64(2), p.159-175.

- Farnsworth, N. R.; Akerele, O.; Bingel, A.S.; Soejarto, D.D.; Guo, Z. *Bulletin de l'Organisation mondiale*
- Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. G. and Scheffer J. J. C. (2008). Factors Affecting Secondary Metabolites Production in Plants: Volatile Components and Essential Oils. *J Flavour Frag.* 23(4): 213-226.
- Finar, I.L. 1994. « *Organic chemistry* », Ed. Longman Scientific et Technical, Vol. II, 354.
- Fischetti, F.J., 2010. Flavoring Materials, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.
- Fisher K. and Phillips C. (2009). In vitro inhibition of vancomycin-susceptible and vancomycin resistant *Enterococcus faecium* and *E. faecalis* in the presence of citrus essential oils. *British Journal of Biomedical Science.* 66: 180-185
- Franchomme, P., Jollois, R., Penoel, D. (2007). L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. 1e éd. Paris : Roger Jollois,. p 490.
- Funk, V.A., Randall, J.B, Keeley, S.C., Chan, R., Watson, L., Gemeinholzer, B., Schilling, E., Panero, L.J., Baldwin, B.G., García-Jacas, N., Sussana, A and Jansen, R.K. (2005). Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. *Biol. Skr.* 55: 343–373.
- Garnéro, J. (1991). Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France. 2-20.
- Geiger, J. L. (2005). The Essential Oil of Ginger, *Zingiber officinale*, and Anaesthesia. *Int J Aromather.* 15 (1): 7-14.
- Glisic, S. B., Mistic, D. R., Stamenic, M. D., Zizovic, I. T., Asanin, R. M. and Skala, D. U. (2007). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carrot Fruit Essential Oil: Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Food Chem.* 105 (1): 346-352.
- Greathead, H. (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of The Nutrition Society*, 62, 279 – 290.
- Guba, R. (2001). Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potential. *Int. J. Aromather.* 11: 76-83.
- Guignard J.L., 2001. Botanique Systématique moléculaire, Ed : MASSON. p114 .
- Guignard, J. L. 2000. « *Biochimie végétale* », Masson, Paris, , 166.
- Guignard, J.L., 1983. Abrégé de botanique, Masson, 5 ème édition, Paris, p 259.
- Hamid, A.A., Aiyelaagbe, O.O and Usman, L.A., 2011. Essential Oils: Its Medicinal and Pharmacological Uses. *International Journal of Current Research*, 3: 086– 098.
- Hart P.H., Brand C., Carson C.F., Riley T.V., Prager R.H. and Finlay-Jones J.J. (2000). Terpinen-4ol, the main component of the essential oil of *Malaleuca altemifolia* (tea tree

- oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflammation Research*. 49, 619-626.
- Hettiarachichi, D.S., 2008. Volatile oil content determination in the Australian sandalwood industry: Towards a standardised method. *Sandalwood Research Newsletter*, 23: 1-4.
- Hongping, X., Lanyue, Z., Zhiwen, Y., Chen, F., Zheng, X and Liu, X. (2017). Chemical compositions, antioxidative, antimicrobial, anti-inflammatory and antitumor activities of Curcuma aromatic Salisb essential oils. *Industrial Crops and Products*, 108: 6-16.
- Howes, M.-J. R., Simmonds, M. S. J. and Kite, G. C. (2004). Evaluation of the Quality of Sandalwood Essential Oils by Gas, Chromatography–Mass Spectrometry. *J Chromatogr. A*. 1028 (2): 307-312.
- Jakupovic, J., Boeker, R., Grenz, M., Paredes, L., Bohlmann, F., & El-Din, A.S. (1988). Highly oxygenated guaianolides from *Otanthus maritimus*. *Phytochemistry*, 27, 1135–1140.
- Jham, G. N., Dhingra, O. D., Jardim, C. M. and Valente, V. M. M. (2005). Identification of the Major Fungitoxic Component of Cinnamon Bark Oil. *Fitopatol. bras.* 30 (4): 404-408.
- Jun-Hyung, T and Murray, B.I., 2015. Enhanced Cuticular Penetration as the Mechanism for Synergy of Insecticidal Constituents of Rosemary Essential Oil in *Trichoplusia Ni*. *Scientific Reports*, 5: 12690.
- Kalemba D. and Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.*, 10, 813-829.
- Karioti, A, Vrahimi-Hadjilouca, T, Droushiotis, D, Rancic, A, Hadjipavlou-Litina, D and Skaltsa, H. (2006). Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Med.* 72: 1330-1334.
- Khafagy, S.M., Sabri, N.N., Abd El-Salam, N.A., & El-Din, A.A.S. (1979). Isolation of sesamin-like compound and acacetin 7-O neohesperidoside from *Otanthus maritimus*. *Planta Medica*, 35, 186–187.
- Koh, K.J., A.L. Pearce, G. Marshman, J.J. Finlay-Jones and P.H. Hart, 2002. Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *Br. J. Dermatol.*, 147: 1212-1217.
- Lafon, J.P.; Thorand Prager, C. et 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). Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour .Fragr. J.* 19, 159–165.
- Lakhdar, L. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude in vitro. Thèse de Doctorat de la faculté

- de médecine dentaire de rabat, centre d'études doctorales des sciences de la vie et de la santé. Rabat, Maroc.
- Le Hir, A., Chaumeil, J.C and Brossard, D., 2009. Pharmacie Galénique: Bonnes Pratiques de Fabrication des Médicaments', Elsevier Masson, 382 p.
- Lorrain, E. (2013). 100 questions sur la phytothérapie. Ed. La boétie, Italie.
- Lucchesi, M.E., Chemat, F. et Smadja, J. (2004). "Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation." *J. Chromatogr A* 1043(2): 323–327.
- Luna, A, Lema-Alba, R.C., Dambolena, J.S., Zygadlo, J.A., Labaque, M.C and Marin, R.H. (2017). Thymol as natural antioxidant additive for poultry feed: oxidative stability improvement. *Poultry Science*, 96 (9): 3214–3220.
- Mantle, D, Anderton, J G, Falkous, G, Barnes, M, Jones, P and Perry, E K. (1998). Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 121: 385-391.
- Martinetti, P., *Mon guide des huiles essentielles*, Ed. Lanore. (2013), p.5-6, ISBN : 978285157733.
- Maruyama N., Sekimoto N. and Ishibashi H. (2005). Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *Journal of inflammation*. 2:1-11.
- Marzoukia, H., Elaissib, A., Khaldic, A., Bouzidd, S., Falconierie, D., Marongiu, B., Pirasa, A and Porcedda, S., 2009. Seasonal and geographical variation of *Laurus nobilis* L. essential oil from Tunisia. *The Open Natural Products Journal*, 2: 8691.
- Matsuda, H., Morikawa, T., Toguchidam, I., Harima, S., Yoshikawa, .M . (2002). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 50: 972.
- May J, Chan CH, King A, Williams L, French GL (2000). Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother.* 45: 639-643.
- Mazars, G., (2003) .*Les phytomédicaments ayurvédiques*. *Phytothérapie*. 6: 162-168.
- Miguel, M.G., 2010. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils. *Molecules*, 15 (12): 9252-9287.
- Millet, F., 2010. *Les Formes Galéniques et les Huiles Essentielles*. *Phytothérapie*, 8 : 33–36.
- Mohammad, S., Abu-Darwish and Abu-Dieyeh, Z.H.M., 2009. Essential oil content and heavy metals composition of *Thymus vulgaris* cultivated in various climatic regions of Jordan. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11 (1): 5963.



- Mohammedi, Z and Fouzia, A., 2007. Pouvoir fongistatique de l'huile essentielle d'une plante aromatique sur la croissance des champignons. Université Abou Bakr Belkaïd –Tlemcen, Algérie. 3 p.
- Mohammedi, Z. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen. 155p.
- Mojab, F. and Nickavar, B. (2003). Composition of the Essential Oil of the Root of *Heracleum persicum* from Iran. *Iran J Pharm Res.* 2 (4): 245-247.
- Mondello A, Scaturro M, Ricci M.L. (2009). Determination of *Legionella pneumophila* susceptibility to *Melaleuca alternifolia* cheel (tea tree) oil by an improved broth micro-dilution method under vapour controlled conditions. *Journal of Microbiological Methods.* 77, 243-248.
- Moreira M.R., Ponce A.G., de Valle C.E., Roura S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie-LWT.*, 38, 565-570.
- Moyler, D.A. (1993). "Extraction of essential oils with carbon dioxide." *Flavour Fragr. J.* 8(5): 235–247.
- Muselli, A., Rossi, P.G., Desjobert, J.M., Bernardini, A.F., Berti, L., & Costa, J. (2007). Chemical composition and antibacterial activity of *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmans. & Link essential oil from Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, 22, 217–223.
- Muyima, N.Y.O., Zulu, G., Bhengu, T and Popplewell, D., 2002. The Potential Application of Some Novel Essential Oils as Natural Cosmetic Preservatives in an Aqueous Cream Formulation, *Flavour and Fragrance Journal*, 17 (4): 258-266.
- Ogata, M., Hoshi, M., Urano, S and Endo, T. (2000). Antioxidant Activity of Eugenol and Related Monomeric and Dimeric Compounds. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 48 (10): 1467-1469.
- Olle, M. and Bender, I., 2010. The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *Agronomy Research*, 8 (3) : 687-696.
- Oussalah, M., Caillet, S. et al. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Thyphimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18, 414-420.
- Özcan, M. M. and Chalchat, J. C. (2007). Chemical Composition of Carrot Seeds (*Daucus carota*L.) Cultivated in Turkey: Characterization of the Seed Oil and Essential Oil. *Grasas y Aceites.* 58(4): 359-365.
- Padrini F., L.M., La nature des huiles essentielles, Ed. Dexechi. (1997). p.124.

- 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
- Pattnaik, S, Subramanyam, V. R. et al. (1997). Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils. *Microbios* **89**, 39-46.
- Pérez Alvarez, J.A., Sendra, E. (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of. *Phytotherapie*. 4:171-175.
- Pibiri ,M.C.(2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat ès science. EPFL, Lausanne, Suisse.
- Pinto, E., Pina-Vaz, C., Salgueiro, L., Gonçalves, M.J., Costa-de-Oliveira, S., Cavaleiro, C., Palmeira, A., Rodrigues, A. and Martinez-de-Oliveira J., 2006. Antifungal activity of the essential oil of *Thymus pulegioides* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of Medical Microbiology*, 55 : 1367–1373.
- Platzer, N. (2002). Application de la RMN à la détermination des structures. Base Documentaire, Techniques d'analyse, Dossier : P1092, vol. TA1.
- Ponce A.G., Fritz R., del Valle C.E., Roura S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und – Technologie*., 36, 679-684.
- Quezel, P. and Santa, S. (1962, 1963). Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. 2 Tomes, Editions CNRS. Paris, 1170p.
- Rai, M.K., Acharya D and Wadegaonkar, P. (2003). Plant derived-antimycotics: potential of Asteraceous plants, In: plant-derived antimycotics: Current Trends and Future prospects, Haworth press, N-York, Londin, Oxford. 165-185.
- Razavi, S.M., Nesrollahi, P and Alireza, y. (2017). Antioxidant potential of lettuce treated,by Thymol as an allochemical. *Peertechz. Journal of Biological Research and Development*, 2 (1): 012-015.
- Reutter, L. (1923). *Traite ´ de matie `re me ´dicale et de chimie ve ´ge ´tale*. Paris: Librairie J.B. Baillie` re et Fils.
- Richter, G. (1993) « *Métabolisme des végétaux* », *Physiologie et Biochimie*. Presses polytechniques et universitaires, Romandes, 292p.
- Richter, G. (1993). «*Métabolisme des végétaux* », *Physiologie et Biochimie*. Presses polytechniques et universitaires, Romandes, , 292
- Robard, I.( 2004). *Plantes Médicinales d'Outre-Mer et Pharmacopées: Aspects Juridiques, Economiques et Culturels*. *Phytothérapie*, 2 :16–21.

- Romeo, V., Verzera, A., Ragusa, S., & Condurso, C. (2007). The aerial part headspace constituents of *Otanthus maritimus* L. (Asteraceae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 10, 173–178.
- Rondanelli, M., Riva, A., Morazzoni, P., Allegrini, P., Faliva, M.A., Naso, M., Miccono, A., Peroni, G., Agosti, I.D. and Perna, S., 2017. The effect and safety of highly standardized Ginger (*Zingiber officinale*) and Echinacea pain in NSAIDs poor responders. A pilot study in subjects with knee arthrosis. *Journal Natural Product Research*, 31 (11): 1309-1313.
- Saad, H-E. A., El-Sharkawy, S. H. and Halim, A. F. (1995). Composition of the Essential Oils of the Leaves and Stems of *Torilis arvensis*. *Pharm Acta Helv.* (70) : 85-87.
- Sabri, N.N., Abd El-Salem, N.A., Seif El-Din, A.A., & Khafagy, S.M. (1983). Sesquiterpene lactones of *Otanthus maritimus*. *Phytochemistry*, 22, 201–202.
- Sallé, J. L. (1991). « *Les huiles essentielles; Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie* », Edition Frison – Roche, Paris, 21.
- Sallé, J.L. (1991). « *Le Totum en Phytothérapie* » Approche de phytothérapie. Ed Frison -Roche. Paris
- Salzer, U.J., (1977). The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings- a critical review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 9: 345-373.
- Sens-Olive, G. (1979). « Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Ed Maloine.
- Shahi, C., Leitch, M and Lafort, S., 2009. Marketing Intelligence System for Small Scale Essential Oils Industry of North-Western Ontario, IUFRO 3.08 Small Scale Forestry Symposium Proceedings, Morgantown, West Virginia, p: 227–236.
- Shan, Y., Cai, Z., Sun M and Corke, H., (2005). Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of their Phenolic Constituents. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53 (20): 7749-7759.
- Sharon, S.V., Diego, F.Z., Méndez-Sánchez, S.C., Rodríguez-Sanabria, F., Stashenko, E.E and Luna, J.E.D., 2014. Essential oils with insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 113 (7): 2647– 2654.
- Shunying, Z., Yang Y., Huaidong Y., Yue, Y and Guolin, Z. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *J Ethnopharmacol*, 96 (1-2):151-158.
- Silano, V and Delbò, M., 2008. Assessment report on *Foeniculum vulgare* Miller. EMEA, European Medicines Agency. London, 23 p.
- Singh G. (2004). *Plant Systematics: An Integrated Approach*. Science Publishers.
- Singh, V.K and Singh, D.K. (2008). Pharmacological Effects of Garlic (*Allium sativum* L.). *Annual Review of Biomedical Sciences*, 10: 6-26.

- Sofowora, A. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique*. Ed. Karthala, 22p.
- Solène, J. (2012). *La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité*. Thèse de diplôme d'état de docteur en pharmacie, faculté de pharmacie, Université de Lorraine.
- Srivastava, K.C., Bordia, A and Verma, S.K. (1995). Garlic (*Allium sativum*) for disease prevention. *South African Journal of Science*, 91: 68-75.
- Stefanini, M.B., Ming, L.C., Marques, M.O.M., Facanali, R., Meireles, M.A.A., Moura, L.S., Marchese, J.A and Sousa, L.A., 2006. Essential oil constituents of different organs of fennel (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare*). *Revista Brasileira De Medicina*, 8: 193- 198.
- Steflitsch, W and Steflitsch, M. (2008). Clinical Aromatherapy. *Journal of Men’s Health*, 5 (1) :74–85.
- Sudipta, J., Asit, R., Anwasha, B., Ambika, S., Noohi, N., Suprava, S., Basudeba, K., Jeetendranath, P., Pratap, C.P and Sanghamitra, N., 2017. Chemical composition and antioxidant activity of essential oil from leaves and rhizomes of *Curcuma angustifolia* Roxb. *Natural Product Research*, 31 (12): 2188–2191.
- Teuscher, E., Anton, R. & Lobstein, A. (2004). *Plantes aromatiques : Epices, aromates condiments et huiles essentielles*. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Thanos CA, Georghiou K, Douma DJ, Marangaki CJ. (1991). *Ann. Bot.*; 68: 469–475.
- Tohidpour A., Sattari M., Omidbaigi R., Yadegar A., Nazemi J. (2010). Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) *Phytomedicine*. 17: 142-145
- Tomi, F., Bradesi, P., Bighelli, A. & Casanova, J. (1995). Computer-aided identification of individual components of essential oils using Carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.* 1: 25-34.
- Tsoukatou, M., Vagias, C., Harvala, C., & Roussis, V. (2000). Essential oil and headspace analysis of the maritime *Bombacillaena erecta* and *Otanthus maritimus* species growing wild in Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 12, 360–364.
- Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burges, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., & Weeb, D.A. (1976). Cambridge, UK: Cambridge University Press. *Flora Europea* (Vol. 4, p. 168).
- Vaiyapuri, S.P., Athinarayanan, J and Alshatwi, A.A. (2016). Anticancer activity of an ultrasonic nanoemulsion formulation of *Nigella sativa* L. essential oil on human breast cancer cells. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31: 449-455.
- Van den Dool, H., and Kratz, P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatogr. A.*, 11, 463-471.

- Viuda Martos, M., Mohamady, M.A., Fernández López ,J., Abd El Razik, K.A., Omer, E.A.,
- Viuda-Martos M., Ruiz Navajas, Y., Sánchez Zapata, E., Fernández-López, J and Pérez-Álvarez, J.A., 2009. Antioxidant Activity of Essential Oils of Five Spice Plants Widely Used in a Mediterranean Diet. *Flavour and Fragrance Journal*, 25 (1): 13-19.
- Wegrzyn, R. and Lamendinh, H. (2005). Huiles essentielles et aromathérapie bucco-dentaire. *Le Chirurgien-dentiste de France*, 1225, 62-66.
- Zareiyan, F., Rowshan, W., Bahmanzadegan, A and Hatami, A. (2017). *Gontscharovia popovii*, a new source of carvacrol, its polyphenolic constituents, essential oil analysis, total phenolic content and antioxidant activity. *Natural Product Research*, 28: 1-4.