



Republique Algerienne Democratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
**Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen**  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre  
et de l'Univers  
Département de Biologie  
**Laboratoire des Produits Naturels**



## **Thèse de Doctorat en Biologie**

**Option: Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse**

**Présentée par:**

**Mlle ATTOU Amina**

### ***Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent)***

### ***Etude de Leurs Activités Antioxydante et Antimicrobienne***

Soutenue le : 21/12/2017

#### **Membres de Jury**

<b>Président</b>	Mr. CHABANE SARI Daoudi (Pr)	Université de Tlemcen
<b>Directeur de thèse</b>	Mr. LAZOUNI Abderrahmane Hamadi (Pr)	Université de Tlemcen
<b>Examineurs</b>	Mr. ABDELOUAHED Djamel eddine (Pr)	Université de Tlemcen
	Mr. BELLAHCENE Miloud (Pr)	Centre universitaire Ain Témouchent
	Mr. MAMI Anes (MCA)	Centre universitaire Ain Témouchent
	Mr. MAKHLOUFI Ahmed (MCA)	Université de Béchar

**Année universitaire : 2017/2018**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

« وَقَالُوا الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي هَدَانَا لِهَذَا وَمَا كُنَّا لِنَشْكُرَهُ لَوْلَا أَنْ هَدَانَا اللَّهُ »

سورة الاعراف: الآية 43

خير الكلام ما قل ودل ولم يطل فيمل

## Remerciements

Avant tout, je tiens à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Au terme de la rédaction de ce mémoire, c'est un devoir agréable d'exprimer en quelques lignes la reconnaissance que je dois à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail.

Je tiens à remercier tout d'abord à Mr. BENMANSOUR A. mon premier directeur de thèse, Professeur au département de l'Ecologie et Environnement, Faculté des SNV-STU, Université de Tlemcen, pour son encadrement fructueux, pour sa disponibilité et son aide précieuse, et je lui souhaite la santé et le bonheur.

Par la même volonté et la même chaleur, je remercie Mr. LAZOUNI H.A. d'avoir accepté de diriger ce travail dans une période vraiment sensible, pour le soutien et la confiance qu'il m'a accordé,

Un grand merci pour Mr. DAVENNE D. (Professeur à l'université de Rennes, Faculté de Pharmacie, Département de Pharmacognosie, et l'expert et le créateur du Laboratoire Rosier Davenne, société spécialisée dans la distribution d'huiles essentielles pour les industries cosmétiques et pharmaceutiques et la production de compositions aromatiques actives, situé à Avignon (France)), pour son aide pour la réalisation des analyses chromatographiques, et pour ses conseils précieuses. Je vous suis reconnaissante pour votre implication et votre gentillesse.

Je remercie aussi les membres de jury :

- Mr CHABANE SARI D. Professeur à l'université ABOU BEKR BELKAID –Tlemcen- De me faire l'honneur de présider cette thèse.
- Mr ABDELOUAHED D. Professeur à l'université de -Tlemcen-, pour avoir accepté d'être examinateur de ce travail. Je tiens à vous exprimer ma sincère reconnaissance et mon plus profond respect.

Je suis très reconnaissante aux rapporteurs externes qui ont consacré de leur temps pour lire et examiner ce travail et de rapportés leurs observations pertinentes :

- Mr BELLAHCENE M. Professeur au centre universitaire d'Ain Témouchent ;
- Mr MAMI A. Maitre de conférence classe A au centre universitaire d'Ain Témouchent ;
- Mr MAKHLOUFI A. Maitre de conférence classe A à l'université de Bechar.

Mes remerciements vont également à Mme ATIK BEKKARA F., Professeur au département de Biologie, Faculté des SNV-STU, Université de Tlemcen, laboratoire des Produits naturels «LAPRONA », pour m'avoir accueilli au sein de son équipe, je lui suis reconnaissante pour son aide et ses conseils.

Ainsi que mes sincères remerciements pour tout l'équipe de laboratoire de Produits naturels, pour tous les moments qu'on a partagé et pour l'ambiance qu'on a vécu pendant ces neuf dernières années.

Un remerciement particulier pour Mr ZIANE M. et Mr BENAMARA M. des Maitres de conférence au centre universitaire d'Ain Témouchent, Pour leur aider qui mérite d'être remerciée et appréciée.

Je n'oublierai jamais l'expérience que j'ai vécue avec l'équipe du laboratoire d'analyses microbiologiques de l'hôpital militaire régional et universitaire d'Oran et leur chef Mr BENMAHDI L., pour leur aide, conseils, leur bonne humeur et leur gentillesse.

Mes plus profonds remerciements vont à mes parents. Tout au long de mon cursus, ils m'ont toujours soutenu, encouragé et aidé. Sans eux je n'y arriverais jamais à être la personne que je suis. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude.

A mes sœurs, Amel, Ghania, Soria et Aicha et à mes frères Djamel, Amar et Larbi pour ce bonheur d'avoir grandi ensemble et pour tous ces bons moments que l'on continue à passer.

A mes neveux et nièces : Djillali, Sarah, Mehdi, Kaoutar, Boumediene, Abdrazak, Mohamed, Mohamed amine, Anes, Nada, Imene, Abderrahmene et Djinan, pour la joie et le sourire qu'ils ne cessent de la semer dans ma vie.

A mes belles sœurs, Samia et Fatima.

A mes beaux frères, Larbi, M. Ahmed, K. Ahmed et A. Ahmed.

A mes amies

Celles de toujours : Asmaa, Aicha, Imene, Nadia et Wafaa , on en a vécu des aventures ensemble, A celles connues ensuite : Ikram, Khadidja, Nacéra, Maghnia, Ghania, Meriem..., merci pour ces bons moments passés ensemble.

## Table des matières

Liste des tableaux

Liste des photos

Liste des figures

Résumé

الملخص

Abstract

Introduction	1
Première Partie : Huiles essentielles et leurs propriétés biologiques	
I. Historique de l'usage des plantes aromatiques	3
II. L'apparition de l'aromathérapie moderne	5
III. Qu'est-ce qu'une huile essentielle ?	6
IV. Les méthodes d'extraction	7
IV.1. Entraînement à la vapeur d'eau	7
IV.2. Distillation sèche	8
IV.3. Expression à froid	8
IV.4. Autres méthodes d'obtention des huiles essentielles	9
IV.4.1. Percolation ou hydrodiffusion	9
IV.4.2. Extraction au CO <sub>2</sub> supercritique	9
IV.4.3. Enfleurage	9
IV.4.4. Hydrodistillation	9
IV.4.5. Procédure par épuisement	10
V. La toxicité des huiles essentielles	11
V.1. Dermocausticité	11
V.2. Photosensibilisation	11
V.3. Risque allergique	11
V.4. Hépatotoxicité	12
V.5. Néphrotoxicité	12
V.6. Neurotoxicité et risque abortif	12
VI. Modes d'administration	13
VI.1. La voie orale	13
VI.2. La voie rectale	13
VI.3. La voie cutanée	14
VI.4. La voie respiratoire	14

VII. Précautions d'emploi	15
VIII. Les principales molécules chimiques entrant dans la composition des huiles essentielles et leurs Propriétés pharmacologiques	16
Deuxième partie : Les plantes étudiées (description et recherches antérieures)	
I. <i>Ammoides verticillata</i> (Desf.) Briq.	25
I.1. Description	25
I.2. Synonymes	26
I.3. Noms communs	26
I.4. Propriétés thérapeutiques	26
I.5. Composition chimique	27
II. <i>Mentha pulegium</i> L.	29
II.1. Description	29
II.2. Synonymes	29
II.3. Noms communs	29
II.4. Propriétés thérapeutiques	30
II.5. Composition chimique	30
III. <i>Satureja calamintha</i> Scheele. sp. <i>nepeta</i> (L.) Briq.	32
III.1. Description	32
III.2. Synonymes	33
III.3. Noms communs	33
III.4. Propriétés thérapeutiques	33
III.5. Composition chimique	34
IV. <i>Satureja candidissima</i> (Munby.) Briq.	36
IV.1. Description	36
IV.2. Synonymes	36
IV.3. Noms communs	36
IV.4. Propriétés thérapeutiques et composition chimique	36
Troisième partie : Matériel et Méthodes	
I. Le matériel végétal	38
II. L'extraction d'huile essentielle	38
III. Analyse CG/SM	39
IV. Evaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles	39
IV.1. La densité relative à 20 °C	39
IV.2. L'indice de réfraction	40

IV.3. L'indice d'acide	40
V. Evaluation d'activités biologiques, <i>in vitro</i>	41
V.1. Evaluation de l'activité antioxydante	41
V.1.1. Capacité antioxydante totale	41
V.1.2. Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)	41
V.1.3. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)	42
V.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne	42
V.2.1. Méthode de disques	43
V.2.2. Détermination des CMI, CMB	44
V.2.3. L'indice aromatique	44
Quatrième Partie : Résultats	
I. Les rendements en huiles essentielles et leurs compositions chimiques	46
II. Evaluation de l'activité antioxydante	51
III. Evaluation de l'activité antimicrobienne	54
III.1. Méthode de disque	54
III.2. Méthode de microdilution	55
III.3. Indice aromatique	58
Cinquième Partie : Discussion	
I. Rendement en huile essentielles des différentes plantes	63
I.1. <i>Ammoides verticillata</i> (Desf.) Briq.	63
I.2. <i>Mentha pulegium</i> L.	63
I.3. <i>Satureja calamintha</i> Scheele. sp. <i>nepeta</i> (L.) Briq.	63
I.4. <i>Satureja candidissima</i> (Munby.) Briq.	63
II. Analyses chromatographiques des huiles essentielles	64
II.1. <i>Ammoides verticillata</i> (Desf.) Briq.	64
II.2. <i>Mentha pulegium</i> L.	65
II.3. <i>Satureja calamintha</i> Scheele. sp. <i>nepeta</i> (L.) Briq.	66
II.4. <i>Satureja candidissima</i> (Munby.) Briq.	68
III. L'activité antioxydante	69
III.1. <i>Ammoides verticillata</i> (Desf.) Briq.	70
III.2. <i>Mentha pulegium</i> L.	71
III.3. <i>Satureja calamintha</i> Scheele. sp. <i>nepeta</i> (L.) Briq. et <i>Satureja candidissima</i> (Munby.) Briq.	71
IV. Propriétés antimicrobiennes	72

IV.1. Méthode de disque, CMI, CMB	72
IV.1.1. <i>Ammoides verticillata</i> (Desf.) Briq.	72
IV.1.2. <i>Mentha pulegium</i> L.	73
IV.1.3. Les deux espèces de Satureja	74
IV.2. Les indices aromatiques	74
V. Récapitulatif et établissant une relation composition-activité	76
Conclusion	80
Références Bibliographiques	82
Annexes	93



## Liste des tableaux

Tableau n°1: Principaux groupes chimiques des huiles essentielles	17
Tableau n°2: Comparaison de la composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes et graines d' <i>Ammoides verticillata</i> de différents pays	28
Tableau n°3: Les souches microbiennes utilisées et leurs origines	43
Tableau n°4: Rendements et caractères physicochimiques des huiles essentielles	46
Tableau n°5: La composition chimique par CG/SM de l'HE d' <i>Ammoides verticillata</i>	47
Tableau n°6: La composition chimique par CG/SM de l'HE de <i>Mentha pulegium</i>	48
Tableau n°7: La composition chimique par CG/SM de l'HE de <i>Satureja calamintha</i> Scheele. sp. <i>nepeta</i>	49
Tableau n°8: La composition chimique par CG/SM de l'HE de <i>Satureja candidissima</i>	50
Tableau n°9: Les activités antioxydantes des quatre huiles essentielles	51
Tableau n°10: Les diamètres des zones d'inhibition des différentes huiles essentielles (en mm)	54
Tableau n°11: Concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) des huiles essentielles en µl/ml et le rapport CMB/CMI	57
Tableau n°12: Les germes responsables d'infection chez les patients	59
Tableau n°13: Indices aromatiques pour chaque germe et les indices moyen pour chaque huile essentielle	62

## Liste des photos

Photo n°1: <i>Ammoides verticillata</i> (Desf.) Briq.	26
Photo n°2: <i>Mentha pulegium</i> L.	30
Photo n°3: <i>Satureja calamintha</i> Scheele. sp. <i>nepeta</i> (L.) Briq.	32
Photo n°4: <i>Satureja candidissima</i> (Munby.) Briq.	37

## Liste des figures

Figure n°1: Montage d'entraînement à la vapeur d'eau	8
Figure n°2: Carte de localisation des stations de récoltes	38
Figure n°3: Chromatogramme CG/SM de l'HE d' <i>Ammoides verticillata</i>	47
Figure n°4: Chromatogramme CG/SM de l'HE de <i>Mentha pulegium</i>	48
Figure n°5: Chromatogramme CG/SM de l'HE de <i>Satureja calamintha</i> Scheele. sp. <i>nepeta</i>	49
Figure n°6: Chromatogramme CG/SM de l'HE de <i>Satureja candidissima</i>	50
Figure n°7: Les IC <sub>50</sub> de piégeage de DPPH des huiles essentielles et control positif en µg/ml	52
Figure n°8: Les CE <sub>50</sub> de réduction de fer des huiles essentielles et control positif en mg/ml	52
Figure n°9: Capacité antioxydante totale exprimée en mg EAA/g HE des huiles essentielles	53

## Résumé

Le présent travail contribue, en premier lieu, à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes de quatre huiles essentielles de plantes aromatiques très utilisées dans l'ouest Algérien pour des fins culinaires et thérapeutiques.

En second lieu, une détermination de la composition chimique de ces huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, a permis de mettre en évidence la relation « composition-activités biologiques ».

Les quatre plantes médicinales et aromatiques sont : une Apiacée, il s'agit d'*Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. connue sous le nom de Noukha, et trois Lamiacées, à savoir : *Mentha pulegium* L., *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq., et *Satureja candidissima* (Munby.) Briq. appelées par la population locale par Fliou, Nabta el khadra et Nabta elbida successivement. Les rendements en huiles essentielles sont plus ou moins importants, *Ammoides verticillata* étant la plus riche en composés volatils qui constituent 2.59% de la partie aérienne sèche. Notre étude sur *Satureja candidissima* qui à nos meilleures connaissances, est la première sur cette espèce, a révélé un rendement de 0.93%.

L'évaluation de l'activité antioxydante par trois méthodes chimiques, a révélée des capacités antiradicalaires et réductrice remarquables ; L'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est la plus apte à inhiber le radical libre DPPH avec une CI50 de 20.84 µg/ml, et à réduire le fer (CE50=0.53 mg/ml), les huiles essentielles des espèces de Lamiacées étant moins actifs avec des CI50 supérieurs à 183 µg/ml et des CE50 comprise entre 28.89 mg/ml pour *Satureja candidissima* et 57.64 mg/ml pour *Mentha pulegium*. Tout en sachant que la capacité antioxydante totale (CAT) des quatre huiles essentielles dépasse les 282 mg équivalent d'acide ascorbique par gramme d'huile essentielle.

Une activité antimicrobienne puissante des quatre huiles essentielles a été remarquée, avec des CMI comprises entre 0.19 et 12.5 µl/ml, sauf pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* qui reste toujours la mystérieuse résistante souche. Avec l'étude de l'indice aromatique, on a pu aussi qualifier les extraits volatils des quatre plantes comme étant des « **Germicides majeures** », avec des indices aromatiques total comprises entre 0.616 et 0.924.

La détermination de la composition chimique des huiles essentielles vient vraiment soutenir les résultats des activités biologiques, d'où on constate que l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est la plus active sur le plan antioxydant et antimicrobien, grâce à la présence de phénols qui en raison de leurs groupes hydroxyle peuvent interagir avec la membrane cellulaire des microorganismes sans oublier également le rôle de substituant alkyle incorporé dans quelques monoterpènes, ou bien pour les autres huiles essentielles grâce à la présence de fonctions oxygène dans les cétones. L'efficacité antioxydante d'*Ammoides verticillata* est due grâce aux propriétés donatrice de protons et/ou d'électrons des phénols et des monoterpènes. Ce qui n'est pas le cas pour les cétones qui forment la majorité des autres trois huiles essentielles.

**Mots clés :** huile essentielle, Activité antioxydante, activité antimicrobienne, Apiaceae, Lamiaceae, CG/SM, *Ammoides verticillata*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Satureja candidissima*.

## الملخص

هذا العمل يساهم، أولاً، في دراسة الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات لأربعة زيوت أساسية لنباتات عطرية مستخدمة على نطاق واسع في غرب الجزائر لأغراض علاجية و أيضاً ضمن كمكهاض لبعض الأطباق التقليدية.

"وثانياً، تحديد التركيب الكيميائي لهذه الزيوت العطرية لإظهار العلاقة بين الأنشطة البيولوجية و التركيب الكيميائية.

النباتات الطبية والعطرية الأربعة هي: *Mentha pulegium* L., *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq., *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq., *Satureja candidissima* (Munby.)Briq.

و التي يطلق عليها المحليون أسماء: النوخة، فليو، نابطة الخضراء و نابطة البيضاء على التوالي.

النوخة هي الأغنى بالمركبات الطيارة التي تشكل 2.59% من الجزء الجوي الجاف. دراستنا حول النابطة البيضاء هي الأولى من نوعها حول هذه النبتة، و تحتوي على 0.93% من الزيوت الطيارة.

و كشف تقييم النشاط المضاد للأكسدة بثلاث طرق كيميائية عن قدرات مضادات الأكسدة جد ملحوظة؛ النوخة الأكثر نشاطاً لتثبيط الجذور الحرة DPPH (CI50) تقدر بـ 20.84 ميكروغرام / مل) و الحد من الحديد (CE50) تقدر بـ 0.53 مليغرام / مل)، أما الزيوت الأخرى فهي أقل نشاطاً لتثبيط DPPH (CI50) أكبر من 183 ميكروغرام / مل) ، لكن الملحوظ أن الزيت الطيار للنابطة البيضاء يمتلك قدرة على الحد من الحديد CE50 تقدر بـ 28.86 مليغرام / مل.

مع العلم أن إجمالي القدرة المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية الأربعة تتجاوز 282 ملغ ما يعادل حمض الاسكوربيك لكل غرام من الزيت العطري.

لوحظ أيضاً أن الأربعة زيوت الأساسية هي مضادات جرثومية فعالة، مع حد أدنى من التركيز المثبط للجرثوم في حدود 0.19 الى 12.5 ميكرو لتر/مل. و مؤشر العطرية ما بين 0.616 و 0.924، وبذلك يمكن اعتبار الزيوت الأربعة كـ "مضادات الميكروبات جد فعالة". إلا في حالة الميكروب *Pseudomonas aeruginosa* التي تعتبر من الكائنات المجهريّة شديدة المقاومة.

تحديد التركيب الكيميائي للزيوت العطرية في الحقيقة يدعم نتائج الأنشطة البيولوجية، حيث وجدنا أن الفينولات و المونوتاربيينات المركبة لزيت النوخة تمنحه الخصائص المضادة للميكروبات بفضل مجموعتها الهيدروكسيل التي يمكن أن تتفاعل مع غشاء الخلية من الكائنات الدقيقة، و أيضاً الى الروابط الأحسينية عند الكيتونات و الصحولات الوحيدة التاربان التي تشكل الزيوت الطيارة للنباتات الأخرى.

أما الفعالية المضادة للأكسدة التي تملكها النوخة فهي راجعة للخصائص المانحة من البروتونات و / أو الإلكترونات للفينولات و المونوتاربيينات و هذا ليس هو الحال بالنسبة للكيتونات التي تشكل غالبية الزيوت الأساسية الثلاثة الأخرى.

كلمات المفتاح: الزيوت الطيارة، الزيوت العطرية، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد حيوي، CG/SM ، النوخة، فليو، النابطة الخضراء، النابطة البيضاء

## Abstract

The present work contributes, in the first place, to the study of the antioxidant and antimicrobial activities of four essential oils of aromatic plants widely used in the Algerian west for culinary and therapeutic purposes.

Secondly, a determination of the chemical composition of these essential oils by gas chromatography coupled with mass spectrometry enabled the relationship "composition-biological activities" to be demonstrated.

The four medicinal and aromatic plants are: one Apiaceae, *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq.

Known as Noukha, and three Lamiaceae, namely: *Mentha pulegium* L., *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq., and *Satureja candidissima* (Munby.) Briq. Called by the locals by Fliou, Nabta el khadra and Nabta elbida successively.

The yields of essential oils are more or less important, *Ammoides verticillata* being the richest in volatile compounds which constitute 2.59% of the dry aerial part. Our study on *Satureja candidissima* which to our best knowledge, is the first on this species, revealed a yield of 0.93%.

The evaluation of the antioxidant activity by three chemical methods, revealed remarkable antioxidant capacities; The essential oil of *Ammoides verticillata* is the most active to inhibit the free radical DPPH with an IC<sub>50</sub> of 20.84 µg / ml and to reduce iron (EC<sub>50</sub> = 0.53 mg / ml), the essential oils of the Lamiaceae species being less Active with IC<sub>50</sub> greater than 183 µg / ml and EC<sub>50</sub> between 28.89 mg / ml for *Satureja candidissima* and 57.64 mg / ml for *Mentha pulegium*.

Knowing that the total antioxidant capacity (CAT) of the four essential oils exceeds 282 mg equivalent of ascorbic acid per gram of essential oil.

A powerful antimicrobial activity of the four essential oils was observed, with MICs between 0.19 and 12.5 µl / ml, except for the *Pseudomonas aeruginosa* strain, which remains the mysterious resistant strain. With the study of the aromatic index, the volatile extracts of the four plants were referred as "**major germicides**", with total aromatic indices ranging from 0.616 to 0.924.

Determination of the chemical composition of essential oils really supports the results of biological activities, which shows that the essential oil of *Ammoides verticillata* is the most antioxidant and antimicrobial, thanks to the presence of phenols due to their hydroxyl groups can interact with the cell membrane of the microorganisms, without forgetting also the role of alkyl substituent incorporated in some monoterpenes or else for other essential oils thanks to the presence of oxygen functions in ketones. The antioxidant efficacy of *Ammoides verticillata* is due to the donor properties of protons and / or electrons of phenols and monoterpenes. This is not the case for the ketones which form the majority of the other three essential oils.

**Key words:** Essential oil, antioxidant activity, antimicrobial activity, Apiaceae, Lamiaceae, GC / MS, *Ammoides verticillata*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Satureja candidissima*.

## **Introduction**

**D**epuis la plus haute antiquité, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition. Qu'est-ce qui les a guidés à employer une plante plutôt qu'une autre? Le hasard? La religion? La superstition? L'expérience, certainement. Jusqu'au XIXe siècle, les médecins se contentaient, pratiquement, de puiser dans la «pharmacie du bon Dieu» pour soulager les maux de leurs contemporains. C'est alors que les chimistes ont réussi à isoler les principes actifs de certaines plantes importantes (la quinine du quinquina, la digitaline de la digitale, etc.). Poursuivant leurs recherches, au début du XXe siècle, ils ont fabriqué des molécules synthétiques. Désormais, croyait-on, on allait prescrire exclusivement des médicaments issus des cornues, les plantes ne servant plus que de réserves à molécules chimiques utiles. Excessive, cette vision a engendré par contrecoup une «vague verte», un renouveau de la phytothérapie suscité par l'attente d'une grande partie de la population, en accord avec l'« esprit écologique » actuel (1).

Le regain d'intérêt aux plantes médicinales et leurs extraits telles les huiles essentielles, vient essentiellement d'une prise de conscience des malades et de leur désir profond de revenir aux moyens naturels et efficaces (2). Car les plantes offrent un espoir de guérison dans le domaine des maladies contemporaines, et le besoin d'information sur les nouveaux produits phytothérapeutiques s'accroît (3). Le malade tend de plus en plus à fuir les substances chimiques et à éviter les dangers qu'elles peuvent induire (2).

Aujourd'hui, on estime que les principes actifs provenant des végétaux représentent environ 25% des médicaments prescrits. Soit un total de 120 composés d'origine naturelle provenant de 90 plantes différentes. En Afrique, près de 6377 espèces de plantes sont utilisées, dont plus de 400 sont des plantes médicinales qui contribuent pour 90% du traitement médicaux. Jusqu'en 2004, on a estimé que près de 75% de la population africaine ont toujours recours aux plantes pour se soigner. De plus ce type de soin est considéré souvent comme faisant partie de la médecine douce (4).

Ces molécules, de grand intérêt pour la médecine, n'auraient jamais pu être découvertes sans la médecine traditionnelle et l'ethnopharmacologie. Des traditions orales ancestrales enrichies par des connaissances de terrain et du vécu thérapeutique des végétaux restent un savoir à sauver pour le bien de la santé humaine et animale.

La phytothérapie reste la médecine la plus employée de par le monde. Nous savons depuis toujours que certaines plantes possèdent des activités antiseptiques, bactéricides, antifongiques, antivirales, antimitotiques, hormonales, antirhumatismales, circulatoires, antidiabétiques, immunostimulantes, hyper ou hypotensives, tonifiantes, antispasmodiques, stomachiques ou hépatiques. Toutes les civilisations antiques ont développé à côté de

l'agriculture, la médecine par les plantes et la plupart des grands médecins du passé ont été des phytothérapeutes (5).

L'aromathérapie fait partie de ce patrimoine végétal qu'il faut préserver et protéger. Les huiles essentielles ont un très large spectre d'action sur diverses thérapies. Rien que sur le plan pathologique, personne ne peut nier actuellement, l'efficacité anti-infectieuse des huiles essentielles. Les problèmes de l'abus des antibiotiques présentent l'usage des huiles essentielles comme l'unique alternative de substitution dans la plupart des cas d'infection, avec leur composition, leur nature et avec une posologie dosée et étudiée cliniquement, n'induisent ni résistance des germes, ni atteinte du système immunitaire, ni sélectivité des flores saprophytes et pathogènes.

Le temps est venu de prendre conscience que la médecine allopathique n'est plus seule à pouvoir garantir une bonne santé. Toute science, et surtout la médecine et la pharmacie, doit principalement nous éduquer à nous responsabiliser pour entretenir notre corps et le maintenir en bonne santé (5).

Ce travail de thèse est alors réalisé pour valoriser les extraits végétaux aromatiques (les huiles essentielles) de quatre plantes aromatiques et médicinales (*Ammoides verticillata* (Desf.) Briq., *Mentha pulegium* L., *Satureja calamintha* Scheele. ssp. *nepeta* (L.) Briq., et *Satureja candidissima* (Munby.) Briq.) très utilisées par la population locale à des fins thérapeutiques et culinaires et d'étudier leurs activités antioxydante et antimicrobienne

Cette thèse est divisée en cinq parties :

La première aborde une étude bibliographique qui donne des approches sur les huiles essentielles et leurs propriétés biologiques; leurs modes d'administration, précautions d'emploi et leur toxicité

La deuxième partie est réservée à la description des plantes étudiées.

La troisième partie illustre le matériel et les méthodes utilisés.

La quatrième et la cinquième parties sont consacrées à la présentation et la discussion des résultats obtenus. Enfin, cette étude s'achève par une conclusion générale et des perspectives pour le futur.

**Première Partie**  
**Huiles essentielles et leurs propriétés biologiques**



L'histoire de l'aromathérapie se divise en quatre grandes périodes au cours desquelles la connaissance des plantes aromatiques et de leur usage s'est affinée.

Au départ, les plantes à essence étaient utilisées telles quelles, incorporées dans l'alimentation, macérées, infusées ou décoctées. Le lien entre leurs vertus thérapeutiques et leur caractère aromatique n'était pas encore établi.

Lorsque l'intérêt thérapeutique de la substance odorante a été envisagé, les procédés d'utilisation ont évolué, les plantes étaient alors brûlées, macérées ou infusées dans des huiles végétales. Plus tard l'invention de la distillation a permis d'extraire les substances odorantes, le concept « huile essentielle » est né. Mais c'est la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle qui marque les débuts de l'aromathérapie moderne.

### **I. Historique de l'usage des plantes aromatiques**

L'utilisation des arômes pour soigner n'est pas une technique récente. Dans toutes les civilisations de l'antiquité, la mention des arômes est présente, pour des usages religieux, cosmétiques, mais aussi thérapeutiques. D'abord on se servit des plantes entières pour apporter soulagement et bien-être (sous forme de cataplasmes, infusions, macérations, décoctions (6). Ensuite l'homme s'est intéressé à « détacher de son support » le principe aromatique d'une plante (7). En cela l'Inde, la Chine et l'Égypte semblent avoir été à l'origine de la recherche.

À Sumer (région de la basse Mésopotamie où vivait, au IV<sup>e</sup> millénaire av. J.-C., un peuple à l'origine des premières cités-États et d'une des premières formes connues d'écriture), on connaissait déjà l'intérêt des arômes pour lutter contre certaines maladies (8). Dans les ruines de Nippur (une des plus grandes cités de l'époque), on a retrouvé une tablette d'argile écrite en caractères cunéiformes par un médecin sumérien qui vivait vers la fin du III<sup>e</sup> millénaire av. J.-C. Sur cette tablette, il a rassemblé ses prescriptions les plus précieuses. Ce document, considéré comme le plus vieux manuel de médecine au monde, montre que pour composer ses médicaments, le médecin utilisait des substances animales (lait, peau de serpent, écaille de tortue), minérales, mais aussi végétales (myrte, thym) (9). Les égyptiens de l'époque pharaonique (3150-1085 av. J.-C.) utilisaient l'embaumement, avec notamment un mélange d'huiles aromatiques composé d'huile de cèdre et de basilic, qui manifestait une pratique assez sûre des plantes aromatiques (10,11). Des « recettes » d'huiles aromatiques à l'attention des embaumeurs, mais aussi des médecins de l'époque, ont été retrouvées. Le célèbre Imhotep (vers 2778 av. J.-C.), architecte constructeur de la pyramide de Saqqarah, médecin du pharaon Djoser (III<sup>e</sup> dynastie – vers 2880 av. J.-C.), pratiquait la médecine en utilisant largement les

plantes aromatiques. Parmi elles, figuraient l'ail, l'anis, la cannelle, la cardamome, le cumin, l'encens, le laurier, la menthe (8).

En Inde, c'est dans le millénaire à cheval sur le début de notre ère que se sont constitués les grands traités (samhitâ) de la médecine ayurvédique. L'âge d'or de la médecine ayurvédique coïncide avec l'apogée du bouddhisme en Inde (de 327 av. J.-C. à 750 apr. J.-C.) et la grande expansion continentale et maritime qui a donné naissance à l'Inde extérieure (12). Massages et bains font intervenir différents arômes. Un célèbre médecin ayurvédique, Susruta, connaissait déjà l'art de l'anesthésie pratiquée à l'aide de plantes (chanvre indien) et enseignait comme règles de santé, l'hygiène et la diététique. Il conseillait couramment les plantes médicinales et aromatiques (8). À l'époque, on utilisait déjà la cannelle, la coriandre, le gingembre, la myrrhe et le santal (11).

La Chine, 2 000 ans av. J.-C., publie des traités de médecine dans lesquels sont répertoriées des plantes aromatiques utilisées notamment en infusions et macérations huileuses. L'empereur Chen-Nong (2800 av. J.-C.), médecin érudit, consigne son savoir relatif aux plantes médicinales dans un livre, le Pen Ts'ao, parmi lesquelles figurent l'anis, la cannelle, le curcuma et le gingembre. Ce livre fera autorité jusqu'au XVI<sup>e</sup> siècle où il est revu et corrigé par un médecin botaniste et pharmacologue curieux et lettré, Li Che Tchen qui ne recense pas moins de 1 000 plantes médicinales utiles (8). En Grèce, le temple d'Epidaure, dédié à Asclépios est, au Ve siècle av. J.-C., un des hauts lieux de la médecine grecque où se mêlent magie, usage de plantes et thermalisme (8). Hippocrate indique dans les Aphorismes qui lui sont attribués, l'utilité des bains aromatiques dans le cadre du traitement des maladies de la femme. À Athènes, il lutta contre les épidémies, et tout particulièrement contre la grande peste qui ravagea la ville, en faisant brûler de la lavande, du romarin, de l'hysope et de la sarriette (9). Plus tard, une utilisation plus systématique des arômes se développa en Grèce, tout particulièrement sous forme de massage (9). Les romains sont de grands consommateurs d'épices et de plantes aromatiques comme nous l'indique l'Histoire naturelle universelle de Pline l'Ancien (23-79). **Dioscoride**, médecin du I<sup>er</sup> siècle apr. J.-C. et grand voyageur, dresse dans son « De Materia medica » l'inventaire de 519 espèces de plantes.

Cependant, les vrais fondateurs de l'aromathérapie sont les Arabes qui, avec l'invention de l'alambic ont affiné la technique de la distillation. **Avicenne** (980-1037), produit la première huile essentielle pure, l'huile essentielle de *Rosa centifolia*, et en décrit plusieurs autres dans le « Canon de la médecine ». **Ibn khaldoun**, pour sa part, donne de nombreux détails techniques sur l'art de la distillation à feu nu et sur la fabrication de sucres végétaux et des huiles par pression.

A la fin du XVI<sup>ème</sup> siècle, les propriétés thérapeutiques de plus d'une centaine d'huiles essentielles sont connues. De nombreuses préparations sont préparées et utilisées à des fins préventif et thérapeutique.

Malgré leur intérêt, les huiles essentielles ont vu leur usage tomber en désuétude jusqu'à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle (13).

## **II. L'apparition de l'aromathérapie moderne**

A partir des années 1880, les progrès de la chimie ont aidé à isoler les composants des huiles essentielles, et ainsi leur rôle thérapeutique a commencé à s'éclaircir.

Parmi les premiers travaux, ceux de Koch en 1881 sur l'huile essentielle de térébenthine, Michel en 1883 sur le pouvoir bactéricide du thymol, Chamberland 1887 et Cadéac et Meunier 1888 sur les propriétés antiseptiques des huiles essentielles d'origan, cannelle et de girofle.

Cependant, Le mot aromathérapie est un néologisme créé en 1928 par le chimiste "René-Maurice Gattefossé", un pharmacien français. Ce terme servira de titre d'un ouvrage publié en 1937, dans lequel sont décrites les relations structure-activité des composantes aromatiques.

En 1918, l'intérêt de Gattefossé dans le domaine est survenu après que ce dernier se brûlait la main lors d'une explosion dans son laboratoire. Il a alors le réflexe de la plonger dans un récipient rempli d'huile essentielle de Lavande vraie. Le soulagement est immédiat et la cicatrisation de la plaie est d'une rapidité déconcertante. Il va alors consacrer de longues années de recherche à l'étude des propriétés des huiles essentielles (14).

Après un déclin vers les années cinquante du au progrès des drogues modernes, il a fallu attendre jusqu'à 1960 pour que le "Docteur Jean Valnet" reprend les travaux de Gattefossé et publie des ouvrages de référence. Il crée la Société française de phytothérapie et d'aromathérapie, après avoir utilisé abondamment les plantes pendant la guerre d'Indochine en tant que chirurgien militaire.

**Tous deux –Gattefossé et Valnet- sont considérés comme les pères de l'aromathérapie moderne.**

À partir des années 1970, quelques avancées scientifiques et thérapeutiques sur les huiles essentielles, démontrées par des chercheurs et des médecins (tels que Valnet, Belaiche, Duraffourd, Sevelinge, Pellecier, Penoël, Franchomme, Mailhebiau, etc.), ont permis à l'aromathérapie de se positionner en tant que médecine de l'avenir et de sortir de son image d'utilisation issue de la tradition. Les chercheurs ont voulu lui donner une valeur scientifique

en étudiant la composition des huiles essentielles et en attribuant aux molécules qu'elles contiennent des propriétés thérapeutiques (15).

### **III. Qu'est-ce qu'une huile essentielle (HE)?**

Selon sa profession, chacun répondra à la question d'une manière différente. Une huile essentielle peut être un ensemble de molécules pour un chimiste, un arôme pour un parfumeur ou encore la quintessence ou l'esprit d'un végétal pour un alchimiste (16).

Avant tous, il ne faut pas confondre essence et huile essentielle. Une essence est une sécrétion naturelle élaborée par un organisme végétale tandis qu'une huile essentielle est un extrait naturel de plantes ou d'arbres aromatiques obtenu par distillation.

Par conséquence, l'huile essentielle est une essence extraite et modifiée selon les procédés d'obtention mis en œuvre. Elle répond aux critères de la norme AFNOR NF 75-006 (février 1998) comme étant un « produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (17).

Selon la monographie de la Pharmacopée européenne, la matière première végétale peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, à l'exception des fruits du genre Citrus qui sont toujours traités à l'état frais. Les huiles essentielles peuvent subir un traitement ultérieur approprié. Elles peuvent être commercialement dénommées comme étant déterpénée, désesquiterpénée, rectifiée ou privée de « x ».

- Une huile essentielle déterpénée est une huile essentielle privée, partiellement ou totalement, des hydrocarbures monoterpéniques.
- Une huile essentielle déterpénée et désesquiterpénée est une huile essentielle privée, partiellement ou totalement, des hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques.
- Une huile essentielle rectifiée est une huile essentielle qui a subi une distillation fractionnée dans le but de supprimer certains constituants ou d'en modifier la teneur.
- Une huile essentielle privée de « x » est une huile essentielle qui a subi une séparation partielle ou complète d'un ou plusieurs constituants (18).

Pour être de qualité optimale, une huile essentielle doit être 100% naturelle (c'est-à-dire non dénaturée par des molécules de synthèse chimique), 100% pure (c'est-à-dire non mélangée avec d'autres huiles essentielles ayant des caractéristiques proches) et 100% intégrale (c'est-à-dire que le distillateur aura recueilli la totalité des molécules contenues dans la matière végétale distillée). La détermination du chémotype permet de le garantir (19).

Une huile essentielle contient souvent de 50 à 100 molécules différentes et peut à l'extrême en comprendre jusqu'à 300 travaillant en synergie pour donner à l'huile essentielle ses propriétés (20). Sa composition biochimique n'est par ailleurs jamais rigoureusement identique. Il est impossible de reproduire en laboratoire cette complexité présente à l'état naturel. C'est ce qui explique notamment la grande efficacité des huiles essentielles dans le cadre de la lutte contre les bactéries, les champignons ou les virus (19). Les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels, entraînaibles à la vapeur d'eau, très peu solubles dans l'eau. Elles sont composées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atomes de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15) (18). Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants variés en concentration variable dans des limites définies. Ces constituants appartiennent principalement mais pas exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes et les substances bio-synthétisées à partir de l'acide shikimique (donnant naissance aux dérivés du phénylpropane) (21).

#### **IV. Les méthodes d'extraction**

A l'heure actuelle, seules 3 méthodes d'obtention d'HE à usage thérapeutique sont autorisées par la pharmacopée européenne : l'entraînement à la vapeur d'eau, la distillation sèche et l'expression à froid pour les HE des péricarpes des plantes du genre Citrus (18)

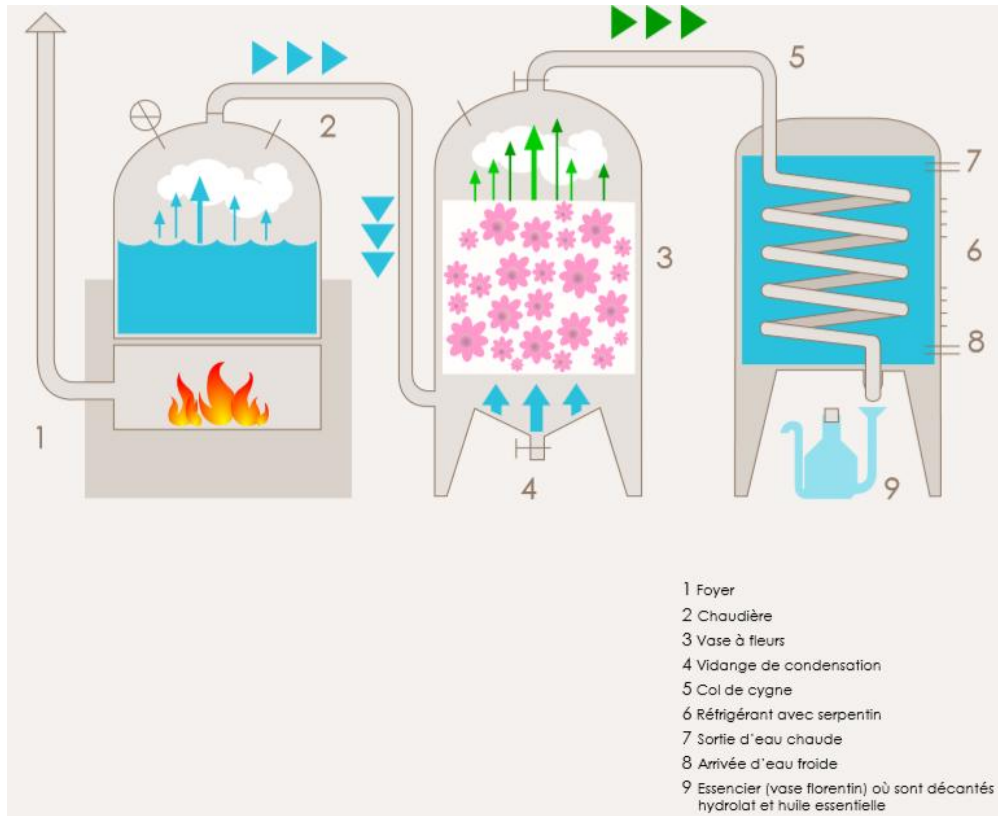
##### **IV.1. Entraînement à la vapeur d'eau :**

De l'eau, de la chaleur, un alambic de qualité, de la patience et du savoir faire... la distillation est un principe simple mais tout à fait fascinant et son résultat si merveilleux (22).

L'alambic a été inventé par les Pharaons et a été perfectionné par la civilisation Arabe. Il s'agit en général d'une cuve en métal inerte comme le cuivre ou l'inox avec un tamis au fond pour que les végétaux ne soient pas en contact direct avec l'eau. La vapeur générée traverse le végétal et arrache par les micros gouttelettes d'huile essentielle. Cette vapeur d'eau chargée est refroidie dans un serpentín par un circuit d'eau froide, retourne donc à l'état liquide pour se séparer dans l'essencier ou vase florentin. L'HE étant hydrophobe et souvent moins dense que l'eau, surnage dans la majorité des cas à sa surface et est recueillie après décantation, grâce à un vase florentin ou essencier (23).

La distillation de chaque espèce végétale est mystérieuse et de nombreux paramètres nuancent la qualité de l'huile essentielle et de l'eau florale obtenue, les caractéristiques de la plante

interviennent bien sûr grandement, mais la beauté d'un végétal aromatique ne pourra s'exprimer sans la maîtrise de l'extraction. Le distillateur, par le choix de son matériel et des paramètres de distillation peut révéler pour une même plante de grands crus ou au contraire des qualités bien inférieures (22).



**Figure n°1 :** Montage d'entraînement à la vapeur d'eau (22)

#### IV.2. Distillation sèche

Lors d'une distillation sèche, la plante n'est pas en contact direct avec l'eau. La masse végétale est disposée sur une plaque perforée et de la vapeur d'eau y est injectée au travers. Il est possible de travailler en surpression modérée (de 1 à 3 bars) afin de gagner en temps et en énergie mais la qualité de l'HE peut en souffrir (24). Cette méthode est utilisée pour les écorces, bois et racines.

#### IV.3. Expression à froid

C'est le procédé le plus ancien et le plus simple pour obtenir une HE. Cependant, il reste limité car il ne s'applique qu'aux agrumes dont le péricarpe des fruits possède des poches sécrétrices d'essences. Cette technique, née en Sicile et en Calabre, est uniquement mécanique et consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais afin de détruire les poches sécrétrices d'essences et donc de libérer l'essence qu'elles contiennent. L'expression à froid permet de limiter l'oxydation en conservant les antioxydants naturels présents dans la fraction non

volatile de l'essence. Le produit final obtenu est appelé essence car il n'a subi aucune modification chimique lors de son procédé d'extraction (23,25).

#### **IV.4. Autres méthodes d'obtention des huiles essentielles**

D'autres méthodes ne sont autorisées par la pharmacopée européenne pour obtenir une HE de qualité pharmaceutique.

##### **IV.4.1. Percolation ou hydrodiffusion**

La percolation est une méthode consistant à envoyer la vapeur d'eau de haut en bas et non de bas en haut comme pour la distillation. Cette méthode a l'avantage d'être plus rapide et donc moins préjudiciable à la qualité des substances aromatiques. Cependant, la percolation possède l'inconvénient de charger les HE en substances non volatiles. Il en résulte des « essences de percolation » et non des HE à proprement parler (26).

##### **IV.4.2. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique**

Ce procédé, très moderne, consiste à faire éclater les poches à essences des végétaux et ainsi entraîner les substances aromatiques en faisant passer un courant de CO<sub>2</sub> à haute pression dans la masse végétale (en générale les fleurs). On utilise le CO<sub>2</sub> car il possède de nombreux atouts : il s'agit d'un produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, facile à éliminer totalement, aisément disponible, peu réactif chimiquement et enfin peu coûteux. Le CO<sub>2</sub> a également la capacité de fournir des extraits de compositions très proches de celles obtenues par les méthodes décrites dans la pharmacopée européenne. Tous ces avantages permettent à ce procédé de se développer malgré un investissement financier important (27, 28).

##### **IV.4.3. Enfleurage**

L'enfleurage est une technique ancienne mettant en contact l'organe producteur (généralement la fleur) avec une graisse qui se sature en HE après quelques jours. On obtient alors des pommades qui sont utilisées telles quelles ou extraites par de l'éthanol. Les extraits alcooliques aux fleurs ainsi obtenus sont appelés « absolues » (29).

##### **IV.4.4. Hydrodistillation**

Décrite en matériels et méthodes. Maintenant, des méthodes d'hydrodistillation améliorées sont inventées, on peut citer :

- **Hydrodistillation sous pression** : bien que ce procédé conduise à une amélioration du rapport d'entraînement, donc, à des économies d'énergie, l'influence d'une température élevée (supérieure à 100°C) sur la qualité de l'huile essentielle donne lieu à certains artéfacts.

- **Le système de thermopompage** : consiste à pomper la chaleur du condenseur et à l'utiliser pour la production de vapeur. Les économies d'énergie calorifique et d'eau de refroidissement se situeraient entre 60 et 90%.

- **Turbodistillation** : Pour activer la distillation à la pression atmosphérique, l'alambic est équipé d'une turbine qui permet d'une part, la dilacération des matières végétales, d'autre part une agitation turbulente, d'où un meilleur coefficient de transfert thermique et une augmentation de la surface de vaporisation (30).

- **Hydrodistillation par micro-ondes** : méthode très rapide (temps de travail divisé par 5 à 10 par rapport à l'hydrodistillation traditionnelle), peu consommatrice d'énergie (température plus basse) et de qualité supérieure à l'hydrodistillation traditionnelle. Elle consiste à chauffer sélectivement une plante par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte où la pression est diminuée de façon séquentielle : l'HE est alors entraînée dans un mélange azéotrope formé par la vapeur d'eau de la plante traitée (sans ajout d'eau pour les produits traités en frais) (31).

#### **IV.4.5. Procédure par épuisement**

Les HE peuvent être extraites par des solvants volatils, type benzène. A partir des concrètes de feuilles et de fleurs obtenues, des « absolues » sont obtenues après extraction par de l'éthanol. L'évaporation de l'éthanol conduit aux « essences concrètes ». Ces dernières contiennent généralement 2 à 3% de solvants résiduels et ne peuvent être utilisées que pour l'aromachologie (26).



## **V. La toxicité des huiles essentielles (24, 25, 26, 32, 33, 34, 35, 36)**

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "**ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme**". En effet, bien que naturelle, il est capital d'intégrer la notion de la dualité « efficacité-toxicité » car toute substance thérapeutiquement active est potentiellement toxique. La toxicité des HE est directement liée à leur composition chimique, les composés poly-insaturés étant plus toxiques que les autres (cétones, lactones, phénols...).

### **V.1. Dermocausticité**

Les huiles essentielles riches en phénols, aldéhydes aromatiques et terpéniques sont irritantes pour la peau et les muqueuses. Il faudra toujours les diluer avec une huile végétale (20% d'huile essentielle maximum dans 80% d'huile végétale) et les appliquer sur des surfaces corporelles bien localisées.

### **V.2. Photosensibilisation**

La photosensibilisation se caractérise par une augmentation de la sensibilité cutanée aux rayonnements solaires, notamment aux rayons ultraviolets, provoquant des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la carcinogénèse.

Toutes les essences des zestes de Citrus (Citron, Orange, Mandarine, Lime, Cédrat, Pamplemousse, Combawa) ainsi que *Ammi visnaga* (Khella) et *Angelica archangelica* (Angélique) peuvent présenter un risque de photosensibilisation après application et exposition solaire. Elles ne doivent par conséquent, jamais être utilisées avant une exposition solaire ni dans les 48 heures qui suivent l'application.

### **V.3. Risque allergique**

Les lactones sesquiterpéniques, l'aldéhyde cinnamique, les phénylpropanoïdes et les peroxydes sont les principales molécules responsables de phénomènes allergiques dont le risque varie évidemment avec le terrain du patient.

Même les huiles essentielles qui sont censées combattre les réactions prurigineuses allergiques peuvent, après un usage sur de très longues périodes, provoquer des réactions allergisantes chez le patient hypersensible comme *Mentha piperita* (Menthe poivrée), *Salvia officinalis* (Sauge officinale), *Lavandula* sp. (toutes les espèces de lavandes et de lavandins), *Melissa officinalis* (Mélisse).

Cela confirme le fait qu'une huile essentielle ne doit pas être utilisée à longueur d'année sous peine de voir un jour ou l'autre une réaction d'intolérance. En pratique, il convient d'effectuer le test simple, qui consiste à appliquer dans le pli du coude deux gouttes de l'huile essentielle à utiliser, et attendre vingt minutes pour constater d'éventuelles réactions allergiques. On peut

dans certains cas pour les plus allergisantes faire le test et attendre vingt quatre heures en cas d'hypersensibilisation retardée.

#### **V.4. Hépatotoxicité**

Les phénols à haute dose et sur une durée prolongée peuvent altérer les hépatocytes. Le plus toxique étant le carvacrol. Les pyrannocoumarines (*Ammi visnaga*) sont aussi hépatotoxiques. Les doses fortes doivent être utilisées au maximum dix jours. Pour des traitements plus longs, seules des doses faibles sont à envisager. Il faut d'ailleurs associer des huiles essentielles hépatoprotectrices : *Daucus carota* (Carotte cultivée), *Citrus limon* (Citron jaune) et *Mentha piperita* (Menthe poivrée).

la consommation de safrole par le rat a montré un risque d'apparition de carcinome hépatique. L'huile essentielle d'*Ocotea pretiosa* (Sassafras) sera rejetée de tout emploi médical. Rappelons aussi le caractère carcinogène génotoxique à forte dose de l'estragole (methylchavicol ou chavicol ME) contenu notamment dans les huiles essentielles d'estragon (*Artemisia dracunculus*) et de Basilic exotique (*Ocimum basilicum var. basilicum*), deux huiles essentielles très répandues.

#### **V.5. Néphrotoxicité**

L'absorption orale prolongée d'HE riches en monoterpènes (pinène, camphène) est susceptible d'enflammer et d'abîmer les néphrons. Ces HE surtout ceux des *Pinus* sp (toutes les espèces de Pin), des *Abies* sp (toutes les espèces de Sapin), des *Juniperus* sp (toutes les espèces de Genévrier), de même pour le *Santalum album* (Santal blanc de Mysore) seront donc à éviter en cas d'insuffisance rénale, ou de façon générale chez les personnes âgées.

#### **V.6. Neurotoxicité et risque abortif**

Les huiles essentielles d'Absinthe, l'Armoise, le Cèdre, l'Hysope, la Saugue officinale, le Thuya, la Menthe poivrée... sont contre-indiquées en cas d'antécédents d'épilepsie, chez les personnes âgées avec troubles nerveux et chez les enfants de moins de 7 ans. La neurotoxicité s'explique par la forte affinité des cétones pour les lipides, il y aurait passage de la barrière hémato-encéphalique, destruction des gaines de myéline et perturbations électriques des neurones avec excitation puis dépression. Les HE à cétones ont également un effet abortif du à l'activité utéro-tonique et seront par conséquent totalement contre-indiquées en cas de grossesse.

## **VI. Modes d'administration (16, 25, 26, 34, 37)**

On retrouve quatre voies principales d'administration des huiles essentielles : la voie orale, la voie rectale, la voie cutanée et la voie respiratoire.

### **VI.1. La voie orale :**

- Les HE peuvent être appliquées pures ou en mélanges sous la langue pour celles qui ne sont pas irritantes. Cette voie permet le passage rapide dans la circulation générale en évitant le premier passage hépatique. Le problème est le goût prononcé des huiles essentielles d'où la préférence de boire de l'eau ou infusion tiède après administration, ou bien mélanger HE avec du miel (miellat), sirop d'érable, huile végétale, mie de pain ou sur un morceau de sucre de canne.
- En solution, les HE étant peu hydrosolubles cela nécessite l'emploi d'un excipient pour favoriser la prise en solution aqueuse. L'éthanol à 95% v/v n'est plus utilisé car mélangé aux HE donne une solution homogène mais dès que remis en milieu aqueux les HE surnagent, pour cela il est préférable le mélange avec des huiles hydrophile puisque qu'elles donnent des émulsions suffisamment stable pour être absorbée, ou bien les HE peuvent être diluées dans des teintures mères, leur fort degré alcoolique facilite leurs solubilité, cas utilisé aussi pour la formulation des ampoules à base de complexe d'HE.
- Les HE peuvent être déposées sur des comprimés neutres ou enrobées dans de la gélatine pour faciliter leur prise et limiter leur effet irritant.

### **VI.2. La voie rectale:**

- Cette voie est utilisée pour une action locale ou générale, en cas d'infections pulmonaires chez les enfants ou les patients ayant une mauvaise tolérance gastrique.
- Les HE sont absorbées rapidement par les veines hémorroïdaires inférieures et se déversent rapidement dans le système artériolaire des alvéoles pulmonaires, d'où la possibilité d'administration d'importantes quantités.
- Les excipients utilisés dans ce cas sont constitués de glycérides semi-synthétiques.
- Cette voie est interdite depuis 2012 chez les enfants de moins de 30 mois et ceux ayant des antécédents de convulsion fébrile ou d'épilepsie.
- Des ovules d'HE préparées avec les mêmes excipients peuvent être utilisées pour un effet local anti-infectieux sur la muqueuse vaginale.

### **VI.3. La voie cutanée :**

- Largement utilisée en aromathérapie, car l'effet est au même temps local et général car les HE pénètrent facilement et rapidement les couches cutanées pour gagner la microcirculation périphérique puis la circulation générale.
- L'application se fait en regard de l'organe cible : sur le dos et thorax pour l'action sur l'arbre pulmonaire, colonne vertébrale : action sur le système nerveux, abdomen : action sur les organes internes (estomac, foie, reins...), et puis nuque, tempe, front, lobes des oreilles pour l'action sur les céphalées et migraines.
- Les huiles végétales sont les meilleurs excipients pour l'administration, les crèmes, gels et pommades peuvent être aussi utilisés.

### **VI.4. La voie respiratoire :**

- Grâce à leur action antiseptique et caractère volatile, les HE ont un intérêt pour les voies respiratoires supérieures et profondes par leur diffusion dans l'air et par inhalation.
- L'inhalation permet l'arrivée directe des HE au niveau des sinus puis carrefour rhinopharyngé et enfin au niveau trachéo-bronchique, d'où le contact direct entre les HE et les germes pathogènes, alors action similaire à celle obtenue lors d'un antibiogramme.
- Pour l'utilisation en gouttes nasales les HE doivent être diluées pour éviter le traumatisme des muqueuses.
- Les collutoires ont selon leur composition : une action antiseptique, anti-inflammatoire ou anesthésique.
- Les aérosols sont très efficaces mais utilisés après prescription médicale car une surveillance et un test de tolérance sont nécessaires.
- L'inhalation humide (inhaler des vapeurs chaudes chargées d'HE) utilisée contre les affections respiratoires, pulmonaires et les maux de tête d'origine nerveuse, tandis que l'inhalation sèche consiste en l'inspiration d'HE directement déposée sur mouchoir, oreiller ou sur les mains après les avoir frictionnées.
- Diffusion dans l'air en utilisant les différents types de diffuseurs ou les formes commercialisées de spray, cette méthode est plutôt utilisée pour créer une ambiance de bien-être, éliminer les odeurs désagréables ou assainir l'atmosphère.

## **VII. Précautions d'emploi (16,26)**

Pures, très concentrées et composées de nombreuses molécules volatiles actives, les huiles essentielles peuvent être très actives: il faut donc les utiliser avec précaution.

- Les HE utilisées en aromathérapie doivent être impérativement de très bonne qualité, pures, naturelles à 100% et si possible biologiques (exemptes de pesticides).
- Eviter l'exposition au soleil après application sur la peau car certaines HE sont photosensibles comme les essences des agrumes (Mandarine, Citron, ...).
- Ne jamais appliquer d'huile essentielle pure sur les yeux, les muqueuses auriculaires, digestives, nasales et urogénitales, sauf sous avis médical ou pharmaceutique.
- Il ne faut jamais injecter d'huiles essentielles par voie intramusculaire ou intraveineuse.
- Il est important de se laver les mains à l'eau et au savon après une application d'HE.
- Les personnes présentant un terrain allergique doivent systématiquement procéder à un test allergique de tolérance en mettant par exemple deux gouttes d'huile essentielle dans le pli du coude et en observant toute réaction cutanée.
- En cas d'irritation ou de brûlure, il faut nettoyer la peau avec de l'huile végétale neutre, mais surtout pas avec de l'eau.
- Il est interdit de faire des aérosols d'huiles essentielles aux patients allergiques et asthmatiques sans contrôle médical, ainsi que chez les personnes ayant des antécédents épileptiques ou convulsifs.
- Il faut faire attention aux interactions avec les traitements des patients. Les huiles essentielles peuvent interagir avec un médicament. Par exemple, l'huile essentielle d'ail stimule la thyroïde alors que celle de fenouil diminue son activité.
- Toutes les huiles essentielles sont contre-indiquées, chez les femmes enceintes, allaitantes, les nourrissons, les asthmatiques, les épileptiques, chez les personnes ayant des maladies dégénératives ou des antécédents de cancers hormonaux dépendants sauf exceptions.
- Les HE ne doivent pas être utilisées ni diffusées en continu. La diffusion est limitée à une heure par jour (10 minutes par heure au maximum) et est contre-indiquée dans la chambre d'un enfant de moins de 3 ans ou dans la chambre d'un enfant de 3 à 10 ans en sa présence.
- Respecter les doses recommandées est primordial (nombre de gouttes, fréquence d'application ou encore durée d'utilisation). Le fait d'augmenter les doses

n'augmentera pas l'efficacité du traitement mais au contraire, il augmentera le risque d'apparition d'effets secondaires potentiellement graves.

- En cas d'absorption accidentelle d'une grande quantité d'HE per os il convient de faire boire à la personne environ 30 ml d'une huile végétale alimentaire (telle que l'huile d'olive ou l'huile de tournesol) ou de lui administrer 2 à 4 comprimés de charbon végétal et de s'adresser au centre antipoison le plus proche ou à défaut de s'orienter vers les urgences.
- En cas de projection oculaire, il convient de nettoyer la surface oculaire avec quelques gouttes d'une huile végétale ou à l'aide d'un coton imprégné d'huile végétale.
- En cas d'ingestion accidentelle, contacter le centre antipoison le plus proche et surtout ne pas faire vomir, sous peine d'irriter à nouveau le tube digestif.
- Pour toute utilisation par voie cutanée, l'HE doit être diluer dans une huile végétale, crème, gel ou pommade.
- Ne jamais laisser les flacons d'HE à la portée des enfants.
- Il est fondamental de bien conserver les HE pour garder intactes leurs vertues pendant plusieurs années, il faut les protéger de la lumière, la chaleur, l'air (l'oxydation augmente les risques d'irritation), de l'humidité et des écarts de température.

### **VIII. Les principales molécules chimiques entrant dans la composition des huiles essentielles et leurs Propriétés pharmacologiques (tableau n°1)**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants appartenant, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes :

- Le groupe des terpénoides (les plus fréquents) ;
- Le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (moins fréquents).



**Tableau n°1: Principaux groupes chimiques des huiles essentielles (38,39,40,41)**

Classe de constituants	Propriétés	Exemples d'huile essentielles
<p><b>Monoterpènes (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les monoterpènes sont de puissants décongestionnants respiratoires et lymphatiques.</li> <li>- En diffusion, ils ont une grande efficacité antiseptique. Mais sont peu microbicides par contact.</li> <li>- Ils sont des stimulants généraux, ils agissent sur les glandes mucipares, le système vasculaire et notamment le système veino-lymphatique.</li> <li>- Certains monoterpènes que l'on trouve dans le Pin Sylvestre (<i>Pinus sylvestris</i>) et l'Épinette Noire (<i>Picea mariana</i>) ont une activité cortison-like (stimulant la glande endocrinienne) et stimulent le système immunitaire.</li> <li>- Antalgiques en usage percutané et ont une action révulsive utile en cas de douleurs localisées.</li> <li>- Leur utilisation doit être limitée dans le temps et à doses minimales sinon ils deviennent dermocaustique et agressifs pour les muqueuses, comme ils peuvent être néphrotoxiques.</li> <li>- Sont des expectorants balsamiques</li> <li>- Stimulants cortico-surrénaux</li> <li>- Antiviraux</li> <li>- Stimulants digestifs</li> <li>- Positivante (+++)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>□ <i>Pinène alpha</i> : Épinette Noire (<i>Picea mariana</i>), Pin Sylvestre (<i>Pinus sylvestris</i>), Genévrier Commun (<i>Juniperus communis</i>), Ciste Ladanifère (<i>Cistus ladaniferus CT pinène</i>) ;</li> <li>□ <i>Paracymène</i> : Thym Vulgaire (<i>Thymus vulgaris</i>), Sariettes des Montagnes (<i>Satureja montana</i>) ;</li> <li>□ <i>Limonène</i> : Citron (<i>Citrus limon zeste</i>), Orange (<i>Citrus aurantium zeste</i>), Mandarine (<i>Citrus reticula blanco zeste</i>) ;</li> <li>□ <i>Ocimène</i> : Lavande Vraie (<i>Lavandula angustifolia</i>),</li> <li>□ <i>Terpinène α et β</i> : Citronnier (<i>Citrus limon</i>), Coriandre Doux (<i>Coriandrum sativum</i>), Limetier (<i>Citrus latifolia</i>) ;</li> <li>□ <i>Terpinolène</i> : Tea-tree (<i>Malaleuca alternifolia</i>) ;</li> <li>□ <i>Pinène β</i> : Sapin Baumier (<i>Abies balsamea</i>), Carotte Cultivée (<i>Daucus carota var. sativa</i>), Romarin Officinale (<i>Rosmarinus officinalis</i>), Lavande Vraie (<i>Lavandula angustifolia</i>), Orange Bigarade (<i>Citrus aurantium</i>) ;</li> <li>□ <i>Sabinène</i> : Ravintsara (<i>Cinnamomum camphora CT cinéole</i>), Millefeuille (<i>Achillea millefolium</i>), Lédon du Groenland (<i>Ledum groenlandicum</i>) ;</li> </ul>



<b>Alcools monoterpéniques (monoterpénols)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les monoterpénols sont anti-infectieux, et grâce à leurs absence de toxicité et propriétés similaires des phénols, peuvent être utilisés avantageusement lors des traitements anti-infectieux pour les enfants;</li> <li>- Sont d'excellents immunostimulants ;</li> <li>- Sont des toniques généraux (surtout neurotoniques) d'action moins violente que les phénols, et très peu irritants pour la peau;</li> <li>- Des immunomodulants (modulent leur action en fonction des besoins du corps);</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> D et L-linalool: bois de rose (<i>Aniba rosaeodora</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> L-linalool et lavandulol: lavande vraie (<i>Lavandula angustifolia</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> D-linalool: coriandre (<i>Coriandrum sativum</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Geraniol: geranium (<i>Pelargonium graveolens</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Nérol: neroli (<i>Citrus aurantium</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Terpinen-4-ol: arbre à thé (<i>Melaleuca alternifolia</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Menthol: menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Citronnellol: rose de Damas (<i>Rosa damascena</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Thujanol: sarriette des montagnes (<i>Satureja montana</i>).</li> </ul>
<b>Sesquiterpènes (C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>) et Azulènes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ils sont hypotenseurs, calmants et sédatifs, cholérétiques et cholagogues;</li> <li>- Ils ont également des propriétés anti-allergiques, antalgiques.</li> <li>- Le chamazulène a des propriétés anti-allergiques et anti-inflammatoires remarquables. C'est lui qui donne cette magnifique couleur bleue sombre aux huiles qui en contiennent.</li> <li>- Ils sont hormone-like et agissent sur l'axe hypophyso-ovarien.</li> <li>- Contrairement aux monoterpènes, ils sont mieux tolérés par la peau et ne provoquent pas d'irritation cutanée.</li> <li>- Négativante (+)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Arbre de myrrhe (<i>Commiphora myrrha</i>): α-bisabolène;</li> <li><input type="checkbox"/> Camomille allemande (<i>Matricaria recutita</i>): chamazulène;</li> <li><input type="checkbox"/> Poivre noir (<i>Piper nigrum</i>): caryophyllène</li> <li><input type="checkbox"/> Génévrier de Virginie (<i>Juniperus virginiana</i>): α-cedrene</li> <li><input type="checkbox"/> Patchouli (<i>Pogostemon cablin</i>): patchoulène;</li> <li><input type="checkbox"/> Santal blanc (<i>Santalum album</i>): α et β-santalène;</li> <li><input type="checkbox"/> Gingembre (<i>Zingiber officinalis</i>): α et β-zingiberène.</li> </ul>
<b>Alcools sesquiterpéniques (sesquiterpénols)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sont de bons toniques et stimulants généraux;</li> <li>- Peu anti-infectieux;</li> <li>- Sont décongestionnants veineux et lymphatiques et antiparasitaires;</li> <li>- Sont souvent des alcools spécifiques d'une huile essentielle (santalol de <i>Santalum album</i>, carotol de <i>Daucus carota</i>);</li> <li>- Farnésol a des propriétés bactéricides est utilisé dans les déodorants;</li> <li>- Bisabolol de la camomille allemande est antalgique et anti-inflammatoires, l'a-santalol est antiseptique urinaire.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Carotol: graines de carottes (<i>Daucus carota</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Farnésol: géranium (<i>Pelargonium graveolens</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> A-santalol: citronnelle de Ceylan (<i>Cymbopogon nardus</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Nerolidol: jasmin (<i>Jasminum officinale</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Patchoulol: patchouli (<i>Pogostemon cablin</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Santalol: Santal blanc (<i>Santalum album</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Viridiflorol: niaouli (<i>Melaleuca quinquenervia</i>).</li> </ul>

<b>Phénols</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les phénols sont de fort anti-infectieux (bactéricides, virucides et parasitocides); immunostimulants, ils relèvent les globulines;</li> <li>- Hyperthermisants et hypertensifs;</li> <li>- Toniques à faible dose, deviennent excitants à dose plus élevée;</li> <li>- Doivent être utilisés prudemment car sont irritants pour les muqueuses et dermocaustiques d'où la nécessité de leur dilution dans les huiles végétales pour l'usage sur la peau, sont également hépatotoxiques à doses fortes et répétées;</li> <li>- L'utilisation d'huiles essentielles riches en phénols doit être associée à l'absorption d'autres huiles essentielles ou plantes (chardon-marie, l'artichaut, desmodium) qui sont régulatrices et décongestionnantes de la sphère hépato-biliaire, afin de faciliter leur assimilation.</li> <li>- Sont peu fréquents et spécifiques de certaines huiles essentielles, le carvacrol est le phénol le plus toxique.</li> <li>- Sont interdites aux enfants de moins de 3 ans.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Sariette: <i>Satureja hortensis</i> et <i>Satureja montana</i> (carvacrol et thymol);</li> <li><input type="checkbox"/> Thym: <i>Thymus capitalus</i> (carvacrol), <i>Thymus vulgaris</i> (chénotypes thymol et carvacrol);</li> <li><input type="checkbox"/> Origan: <i>Origanum vulgare</i> (carvacrol);</li> <li><input type="checkbox"/> Giroflier (<i>Syzigium aromaticum</i>), feuilles de cannelle (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) (eugénol).</li> <li><input type="checkbox"/> Gaïac: <i>Guaiacum officinale</i> (gaïacol);</li> <li><input type="checkbox"/> Piment couronné: <i>Pimenta racemosa</i> (chavicol).</li> </ul>
<b>Alcools diterpéniques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les deux isomères du phytol contenus dans le jasmin (10-20% de l'huile), confèrent à la plante son parfum caractéristique, cet alcool diterpénique à aussi des propriétés d'équilibrage émotionnel;</li> <li>- Sclaréol trouvé dans la sauge sclarée, est un diterpène et bi-alcools, a une structure proche des hormones stéroïdes humain (estradiol et androstenediol), d'où son action régulatrice au niveau hormonal et stimulatrice; il entraîne le relargage d'hormones hypothalamiques. C'est un immunostimulant, entraîne une diminution significative du niveau d'IL-4, pourrait améliorer le résultat du traitement du cancer du sein par suppression des cellules T régulatrices, il est aussi stimulant, adaptogène, facilitateur de la mémoire, par stimulation de l'adénylate cyclase, interaction avec les mécanismes GABA-ergiques et dopaminergiques. Effet inhibiteur de cellules cancéreuses de colon humain HCT116 chez la souris;</li> <li>- Le sclaréol est très utilisé dans la synthèse de nombreux produits naturels à activité biologique, et utilisé dans l'industrie comme matière première dans la synthèse de l'Ambrox, une molécule d'hémisynthèse aromatique à odeur d'ambre gris</li> <li>- Salviol présente aussi des propriétés aestro-gène-like, et anti-inflammatoire.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Phytol: jasmin (<i>Jasminum officinale</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Sclaréol: sauge sclarée (<i>Salvia sclarea</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Salviol: sauge officinale (<i>Salvia officinalis</i>)</li> </ul>

<b>Aldéhydes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Puissants anti-inflammatoires;</li> <li>- Agissent favorablement sur le système nerveux;</li> <li>- Contrairement aux phénols, ils sont hypothermisants et hypotenseurs;</li> <li>- Calmants, sédatifs, litholytiques (action surtout sur la vésicule biliaire et les reins) et favorisent la stimulation exocrine digestive;</li> <li>- Le noyau benzénique présent dans l'aldéhyde cinnamique, lui donne des propriétés excitante et anti-infectieuse;</li> <li>- Tandis que l'absence du noyau benzénique dans le citronnellal, lui confère des propriétés anti-inflammatoires;</li> <li>- Sont antiviraux; des antistress;</li> <li>- Peuvent être irritants pour la peau, d'où la nécessité de dilution dans les huiles végétales;</li> <li>- Quelques aldéhydes sont aphrodisiaques, c'est pourquoi sont parmi les substances les plus précieuses pour les producteurs des parfums et des produits de beauté, tel que la vanilline responsable de la saveur des gousses de vanille;</li> <li>- Les isomères du aldéhyde cinnamique sont utilisés pour donner le gout du cannelle aux sucreries.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Aldéhyde cinnamique: cannelle de Ceylan (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) et cannelle de chine (<i>Cinnamomum cassia</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Cuminaldéhyde: cumin (<i>Cuminum cyminum</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Néral et citronnellal: melisse (<i>Melissa officinalis</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Citronnellal: eucalyptus citronné (<i>Eucalyptus citriodora</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Géranial: bigaradier (<i>Citrus aurantium</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Vanillinaldéhyde: vanille (<i>Vanilla planifolia</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Valeranal: valériane (<i>Valeriana officinalis</i>).</li> </ul>
<b>Oxydes</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ce sont des fluidifiants des sécrétions bronchiques, expectorants , décongestionnants respiratoires et mucolytiques;</li> <li>- Ont des propriétés antibactériennes et antivirales;</li> <li>- Soulagent les infections respiratoire;</li> <li>- L'ascaridol est vermifuge, neurotoxique et hépatotoxique;</li> <li>- Les oxydes de sesquiterpénols et de diterpénols ont des propriétés hormonales;</li> <li>- Sont en général tolérés pour l'utilisation cutanée, tandis que 1,8-cinéole est irritant des voies respiratoires, peut entraîner des crises d'asthme chez es asthmatiques.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> 1,8 cinéole: romarin ç cinéole (<i>Rosmarinus officinalis cineoliferum</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Oxyde de rose: rose de damas (<i>Rosa damascena</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Oxyde de bisabolol: camomille allemande (<i>Matricaria recutita</i>)</li> </ul>

<p><b>Ethers</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Les éthers sont des spasmolytiques puissants et antalgiques, calmants mais peu toniques; D'excellents rééquilibrants nerveux et de bons sédatifs;</li> <li>- Ce qui est à savoir, que les ethers isolés et pure sont toxique dans les conditions du laboratoire, d'où les aromathérapeutes évitent l'utilisation des huiles qui en contiennent à des concentrations considérables, cela n'empêche que quelques plantes sont normalement utilisées par la population car contiennent de faible concentration en éthers ;</li> <li>- Asarole cause des tumeurs du duodénum chez les souris;</li> <li>- Safrole n'est pas un véritable éther (contient une fonction acétal), mais ses propriétés sont voisines des éthers, c'est un anti-inflammatoire par voie cutanée, mais carcinogène, causant des tumeurs du foie chez des rats traités par le composé purifié;</li> <li>- Apiole et escaridole sont agressifs sur le système nerveux, de forte dose en huile de boldo qui contienne ascaridole cause des convulsions, mais utilisé à dose limitée contre la gonorrhée ;</li> <li>- Myristicine qui constitue 4% de l'huile de noix de muscade n'a pas de contre-indications si c'est l'huile totale est utilisée, tandis que la myristicine pure est hallucinogène;</li> <li>- L'apiol et la myristicine sont des éthers-oxydes avec des propriétés utérotoniques et spasmolytiques mais abortifs, hépatotoxiques et néphrotoxiques à fortes doses.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Méthylchavicol: basilic exotique (<i>Ocimum basilicum</i> var.<i>basilicum</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Apiol: graine de persil (<i>Petroselinum sativum</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Ascaridole: boldo (<i>Peumus boldus</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Asarole: acore odorant (<i>Acorus calamus</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Elimicine: élémie (<i>Canarium luzonicum</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Safrole: Laurier des Iroquois (<i>Sassafras albidum</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Myristicine: muscadier (<i>Myristica fragrans</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Estragole: estragon (<i>Artemisia dracunculus</i>).</li> </ul>
<p><b>Coumarines</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sont des sédatifs nerveux et anticonvulsivantes (actives même à l'état de traces dans les huiles essentielles);</li> <li>- Sont hypothermisants et hypotensives, et aussi de bons anticoagulants;</li> <li>- Sont antispasmodiques, antiviraux, antibactériens et antifongiques;</li> <li>- Les coumarines de l'huile essentielle du khella (<i>Ammi visnaga</i>) a été utilisée pour ses propriétés bronchodilatantes pour traiter l'asthme;</li> <li>- Quelques furanocoumarines sont photosensibilisantes (sont caractéristiques du bergamote);</li> <li>- Les pyranocoumarines sont hépatotoxiques;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Fève de tonka (<i>Dipteryx odorata</i>), lavande, romarin, sauge sclarée, cannelle, trèfle des prés (<i>Trifolium pratense</i>), nard, flouve odorante (<i>Anthoxanthum odoratum</i>)...</li> </ul>

<p><b>Cétones et les dicétones (diones)</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- À faible dose sont mucolytiques, faiblement antiseptiques, vermifuges, antimycosiques, cholagogues, cholérétiques;</li> <li>- Ce sont des molécules apaisantes, relaxantes (action sur le système nerveux central) , hypothermisantes et cicatrisantes ;</li> <li>- À doses fortes ou répétées sont neurotoxiques, stupéfiants, épileptisants;</li> <li>- Les thuyones deviennent abortives à doses plus ou moins fortes, fonction de la sensibilité de la patiente;</li> <li>- Les huiles essentielles contenant des cétones sont interdites pour les bébés, femmes enceintes ou allaitantes, par voie orale, rectale ou cutanée.</li> <li>- Les diones sont moins toxiques que les cétones, sont anti-inflammatoires, anticoagulants et antispasmodiques, sont actives contre les hématomes en application locale; tandis qu'ils ne sont pas validés pour l'usage interne à cause du risques théoriques d'hémorragies.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> D-Carvone: carvi (<i>Carum carvi</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> L-carvone: menthe verte (<i>Mentha spicata</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Pulégone: menthe pouliot (<i>Mentha pulegium</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Menthone: menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Pipéritone: eucalyptus mentholé (<i>Eucalyptus dives</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Camphre: camphrier (<i>Cinnamomum camphora</i>), romarin à camphre (<i>Rosmarinus officinalis</i> CT camphre);</li> <li><input type="checkbox"/> Verbénone: romarin à verbénone (<i>Rosmarinus officinalis</i> CT verbenone);</li> <li><input type="checkbox"/> Thuyone: grande absinthe (<i>Artemisia absinthium</i>), sauge officinale (<i>Salvia officinalis</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Pinocamphone: hysope officinale (<i>Hyssopus officinalis</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Jasmone: jasmin (<i>Jasminum officinale</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Fenchone: fenouil commun (<i>Foeniculum vulgare</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Diones: hélichryse italienne (<i>Helichrysum italicum</i>).</li> </ul>
<p><b>Esters</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sont principalement antispasmodiques;</li> <li>- Sont à la fois calmants et toniques: ce sont des rééquilibrants nerveux;</li> <li>- Sont très doux sur la peau et décongestionnants;</li> <li>- Les esters des huiles essentielles correspondent aux alcools qu'ils contiennent, l'acétate de linalyle dérivé du linalol est l'ester le plus fréquent;</li> <li>- Les esters du géranium sont antifongiques.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Acétate de linalyl: bergamote (<i>Citrus bergamia</i>), sauge sclarée (<i>Salvia sclarea</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Acétate de néryl: immortelle (<i>Helichrysum angustifolium</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Formate de géranyl: géranium (<i>Pelargonium graveolens</i>)</li> <li><input type="checkbox"/> Acétate de bornyl: romarin à verbénone (<i>Rosmarinus officinalis</i> CT. Verbénone), inule odorante (<i>Inula graveolens</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Acétate de terpényl: laurier noble (<i>Laurus nobilis</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Benzoate de benzyl: Ylang-ylang (<i>Cananga odorata</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Salicylate de méthyl: Gaulthérie couchée (<i>Gaultheria procumbens</i>) ; Gaulthérie odorante (<i>Gaultheria fragrantissima</i>)</li> </ul>

<b>Lactones</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Des molécules puissantes agissant même à faible doses;</li> <li>- Certaines sont allergènes par voie cutanée (lactone de massoia);</li> <li>- Sont non toxiques;</li> <li>- Sont mucolytiques et expectorants;</li> <li>- Quelques lactones sont des phéromones, comme népétalactone qui est phéromone sexuelle des chattes;</li> <li>- L'huile essentielle du cataire est sédative pour les souris, les rats, les chats et même l'Homme.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Nepetalactone : cataire (<i>Nepeta cataria</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Limettine: bergamote (<i>Citrus bergamia</i>), lime (<i>Citrus aurantiifolia</i>), citron (<i>Citrus limon</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Alantolactone: ciste, hibiscus, inules...</li> </ul>
<b>Composés soufrés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ont des propriétés antibactériennes, antiparasitaires;</li> <li>- Sont généralement inutilisables à cause de leurs forte et persistante odeur, et aussi sont dermocaustiques et révulsives.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Thiobenzoate de S-méthyl: niaouli (<i>Melaleuca quinquinervia</i> s.b. <i>viridiflorol</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Diallyl disulfide, diallyl trisulfide: ail (<i>Allium sativum</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Allylpropyl disulfide et méthylpropyl trisulfide: oignon (<i>Allium cepa</i>)</li> </ul>
<b>Composés azotés</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- De puissants calmants du système nerveux</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Méthyl anthranilate: orange douce (<i>Citrus sinensis</i>), citron (<i>Citrus limon</i>), mandarine (<i>Citrus reticulata</i>), neroli (<i>Citrus aurantium</i> var. <i>amara</i> flos.), Ylang-Ylang (<i>Cananga odorata</i>), jasmin (<i>Jasminum officinale</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Méthyl N-méthyl anthranilate: <i>Citrus reticulata</i>;</li> <li><input type="checkbox"/> Indole: neroli et jasmin.</li> </ul>
<b>Composés à nombre de carbone inférieur à 10 et les acides carboxyliques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Leurs propriétés correspondent aux fonctions qu'ils portent.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="checkbox"/> Acide angélique: angélique (<i>Angelica archangelica</i>),</li> <li><input type="checkbox"/> acide anisique: anis (<i>Pimpinella anisum</i>),</li> <li><input type="checkbox"/> acide benzoïque: onycha (<i>Styrax benzoin</i>),</li> <li><input type="checkbox"/> acide cinnamique: cannelle (<i>Cinnamomum verum</i>),</li> <li><input type="checkbox"/> acide citronellique: citronnelle (<i>Cymbopogon nardus</i>),</li> <li><input type="checkbox"/> acide phénylacétique: néroli (<i>Citrus aurantium</i>);</li> <li><input type="checkbox"/> Acide prussique: amande amer (<i>Prunus amygdalus</i> var. <i>amara</i>)</li> </ul>

<b>Phthalides</b>	- Sont des draineurs des émonctoires (les organes de l'organisme responsables de l'élimination des toxines comme le foie, les reins et les intestins)	<input type="checkbox"/> Livèche (ou céleri sauvage, <i>Levisticum officinalis</i> ): Z-ligustilide, z-butylidenphthalide ; <input type="checkbox"/> Céleri ( <i>Apium graveolens</i> ): 3-n-butylphthalide
-------------------	---	--

- **Les composants biochimiques des huiles essentielles, de façon isolée, sont très souvent toxiques et leurs utilisations à cet état pure exigent certaines précautions d'emploi;**
- **Tout de même les huiles essentielles constituées de ces molécules peuvent être utilisée (avec précaution aussi) grâce à la synergie moléculaire qui rend ces molécules relativement plus ou moins toxique, car les effets des uns compensent et équilibrent les effets des autres;**
- **Il est alors impératif que les phytothérapeutes connaissent la composition des huiles essentielles, pour savoir leurs propriétés et contrôler les posologies;**
- **Alcools/éthers, aldéhydes/cétones, acides carboxyliques/esters, sont des paires chimiquement liées;**
- **Vous trouvez en annexe les schémas de quelques molécules constitutives des huiles essentielles.**

## **Deuxième partie**

### **Les plantes étudiées (description et recherches antérieures)**



## **I. *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq.**

### **I.1. Description :**

C'est une plante fortement aromatique appartenant à la famille des Apiaceae, pousse spontanément dans le nord d'Afrique (Algérie, Tunisie, Maroc et Egypte), et en Asie (Iraq, Iran, Pakistan, Afghanistan et l'Inde). Grâce à son large utilisation dans le domaine médicale et même culinaire, *Ammoides verticillata* est cultivée en Egypte, Iraq, Iran, Afghanistan et surtout en Inde, qui entre 2000 et 2001, environ 2900 tonnes de graine ont été produites à partir de 13600 ha, tandis que 962 tonnes de graines et 200 kg d'huile ont été exportées. L'Inde est le plus grand producteur et exportateur de graine d'ajowan dans le monde vers environ 46 pays (42).

En Algérie, elle est appelée Nounkha ou Nûnkha tirée du nom Perse «Nankhah» qui est utilisée en Iran, comme aromate dans le pain. En effet, «Nan» et « Khah » signifient respectivement pain et goût (43).

Plante annuelle grêle à souche filiforme, à tige très ramifiée de 60-90 cm (42), sans rosette de feuilles basales. Feuilles inférieures pétiolées à nombreux segments multifides verticillés, les supérieures pennatifides à segments linéaires. Fleurs blanches groupées en ombelles de 8-15 rayons capillaires inégaux (44) fleurissent du mois de mai jusqu'au juillet. Les Fruits sont ovoïdes de 2-3 mm de long avec méricarpes brun-grisâtre. Les fruits ont la même taille et forme de ceux du persil. Ils ont un gout aromatique et piquant, lorsque moulus dégagent une odeur de thym (*Thymus vulgaris*) (42). Ces fruits séchés sont utilisés comme épice et connus sous le nom d'Ajowan. La plante a un nombre de chromosomes somatiques de  $2n = 18$ . Les fleurs sont auto-fertiles, mais la pollinisation croisée se produit à travers les insectes (42).

On la trouve généralement dans les champs, les pelouses, les montagnes et les forêts et elle nécessite une saison de croissance chaude et longue sans gel. Il faut du temps chaud surtout pendant le développement de la graine (42).

*Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. Est classée dans :

**Domaine :** Biota

**Règne :** *Plantae* Haeckel., 1866

**Sous-Règne :** *Viridiaeplantae*

**Division :** *Magnoliophyta* Cronquist, Takhtajan & W. Zimmermann., 1966

**Classe :** *Equisetopsida* C.Agardh., 1825

**Sous-Classe :** *Magnoliidae* Novák ex Takht., 1967

**Super-Ordre :** *Asteranae* Takht., 1967

**Ordre :** *Apiales* Nakai., 1930

**Famille** : *Apiaceae* Lindl., 1836

**Genre** : *Ammoides* Adans., 1763

**Espèce** : *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq., 1914 (44)



**Photo n°1** : *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. (25 Juin 2013)

### **I.2. Synonymes:**

*Ptychotis ammoides* Koch., or *Ammoides pusilla* (Brot.) Breistr.; *Petroselinum ammoides* Rchb.Fil (45,46); *Trachyspermum ammi* L. Sprague.; *Ammi copticum* L.; *Carum copticum* L. Benth & Hook (47), *Trachyspermum copticum* L., *Ptychotis coptica* DC. et *Lingusticum ajowain* Roxb. (42), *Carum aromaticum* Druce., *Bunium copticum* Spreng. (48)

### **I.3. Noms communs:**

En anglais: les graines sont appelés bishop's weed, carum seed, et la plante entière est appelé « False Parsley ». En français : faux ammi fluet. En arabe : Nunkha (42,48).

### **I.4. Propriétés thérapeutiques :**

L'*Ammoides verticillata* est très connue depuis l'antiquité pour ses utilisations en automédications.

Elle utilisée en entier ou son huile essentielle dans le traitement des affections gastro-intestinales, le manque d'appétit et les problèmes bronchiques. C'est une herbe potentielle et est largement utilisé pour guérir diverses maladies chez les humains et les animaux. De nombreuses propriétés ont été rapportées: effets fongicides, antimicrobiens, antiviraux et antiagrégatifs sur les humains. Le fruit possède des propriétés stimulantes, antispasmodiques et carminatives. Il est un important agent correcteur de la flatulence, de la dyspepsie atonique et de la diarrhée, ainsi que d'autres activités sont prouvées: hypotensive, hépatoprotectrice,

antitussive, anticholinergique, anti-inflammatoire, antipaludique et anthelmintique Antispasmodique, carminative, diurétique, bronchodilatatrice, expectorante. Les graines sont utilisées en petites quantités pour aromatiser de nombreux aliments (pain, rôti, soupe), comme conservateurs, en médecine et pour la fabrication d'huile essentielle en parfumerie (47, 50, 51).

En Algérie, la plante entière ou ses graines sont très utilisés en cuisine, le plat très populaire qui ne se prépare que si un bouquet des parties aérienne d'*Ammoides verticillata*, et *Thymus vulgaris* soit présent est la soupe d'escargot.

### **I.5. Composition chimique :**

Puisque très puissante divers études sur la plante entière et les graines d'Ajowan ont été réalisées.

La graine d'ajowan a une composition chimique qui varie selon la variété, la région et le stade de la récolte. La composition chimique des graines est l'humidité 8,9%, les protéines 15,4%, les graisses (extrait étheré) 18,1%, les fibres brute 11,9%, les glucides 38,6%, la matière minérale 7,1%, le calcium 1,42%, le phosphore 0,30%, le fer 14,6 mg / 100 g (42).

L'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* a une importance majeure dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire, pour cela plusieurs travaux se sont concentrés sur sa composition chimique (tableau 2) et ses propriétés thérapeutiques, ci-dessous les résultats de quelques études :

- Chialva et *al.*, 1993 (52), ont pu identifier 27 composés dans l'huile essentielle des graines extraite par distillation à la vapeur, le thymol étant le composant majeur avec 61%, suivi de p-cymene (15.6%) et  $\gamma$ -terpinene (11.9%).
- 17 constituants dont 39.36% thymol, 30.97%  $\gamma$ -terpinene, 19.47% p-cymene, 5.45 %  $\beta$ -pinene et 1.48%  $\alpha$ -pinene, sont présents dans l'HE de graines d'ajowan d'après l'étude de Nagalakshmi et *al.*, 2000 (47).
- Selon Khajeh et *al.*, 2004 (53), l'analyse de l'huile extraite par hydrodistillation de la plante entière a révélée la présence de 8 composés dont thymol 49%,  $\gamma$ -terpinene 30.8%, p-cymene 15.7%,  $\beta$ -pinene, myrcene et limonene 3.6%.
- Après l'analyse de l'HE de la partie aérienne d'*Ammoides verticillata*, El Ouariachi et *al.*, 2011 (46) ont pu identifiés 19 constituants, le carvacrol 44.6%, p-cymene 9.4%, limonene 18.4%,  $\gamma$ -terpinene 9.5%, thymol 3.4%. Geranyl acetate 4.7%.

- Tandis que Kambouche et El Abed 2003 (54), ont trouvé que l'isothymol est le composé majoritaire (50%) dans l'HE extraite des parties aériennes cueillies d'Oran, mais L'isothymol n'avait pas été bien caractérisé et pouvait se référer à la fois au 2-isopropyl-4-méthylphénol et au 3-isopropyl-6-méthylphénol (carvacrol) (47), et puis les études de Bekhechi et al. 2010 (55) dans l'ouest d'Algérie ont montré que l'isothymol était le composant majeure des parties aériennes juste au début de la floraison, si non à maturité, le thymol était majoritaire.

La variation significative des constituants chimiques de l'huile d'*Ammoides verticillata* provenant de différentes régions peut être considérée comme des chymotypes tels que thymol, p-cymene, carvacrol et  $\gamma$ -terpinene chymotypes (47,56).

**Tableau n°2 :** Comparaison de la composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes et graines d'*Ammoides verticillata* de différents pays

Pays Constituants	Algerie		Maroc	Inde		Egypt	Turquie (G)		Iran
	(55) (PA)	(54) (PA)	(46) (PA)	(53) (G)	(56) (G)	(58) (PA)	(52)	(59)	(60) (G)
$\alpha$ -thujene									
$\alpha$ -pinene	0.70	0.62	1.00	1.28	2.29	0.80	0.32		
$\beta$ -pinene		0.16	0.70	0.08	8.12	3.30	3.31	6.74	
myrcene	0.80	0.40	1.30	0.13	1.67	0.10	0.56		0.35
<b>p-cymene</b>	10.4	14.08	9.40	37.83	12.30	24.00	15.57	<b>33.06</b>	11.97
<b>limonene</b>	18.2	11.89	18.40		0.44	0.20	2.08		
<b><math>\gamma</math>-terpinene</b>	11.7	6.79	9.50	2.51	<b>55.75</b>	24.50	11.86	28.66	
borneol									
terpinen-4-ol	0.40	0.79	0.30		0.65		1.13		
$\alpha$ -terpineol									0.51
<b>thymol</b>	<b>51.6</b>	12.96	3.40	<b>55.70</b>	15.56	<b>41.00</b>	<b>61.31</b>	24.11	<b>72.3</b>
<b>carvacrol</b>	0.30	0.25	<b>44.60</b>			1.00	0.6		
$\alpha$ -terpinene	0.30				1.32				0.28
$\beta$ -phellandrene					0.97		0.18		0.37
isothymol		<b>51.20</b>							
sabinene	0.30		2.2						0.57
terpinolene									13.12

(PA : partie aérienne, G : graine).

## **II. *Mentha pulegium* L.**

### **II.1. Description :**

*Mentha pulegium* L. est une plante aromatique appartenant à la famille des Lamiacées, Originaire d'Europe et d'Asie Mineure, la menthe pouliot est répandue en Amérique. Elle pousse sur des sols humides et les lieux inondés en hiver en Afrique du nord (1), en Algérie elle pousse surtout dans le Tell, la partie aérienne portant des trichomes glandulaires qui sont responsables de la sécrétion d'huile essentielle (45, 61). Le nom pulegium vient du latin pulex, puce, car on dit que la fumée du pouliot chaffe les puces (62) c'est éloigner les puces (60).

Plante vivace de 10 à 40 cm de hauteur, velue à glabrescente, à tiges généralement ascendantes rameuses, très aromatique ; feuilles ovales, d'environ 10 mm de longueur, pétiolées et presque entières. Fleurs roses ou lilacées, disposées en pseudo-verticilles espacés, à l'aisselle 5 à 15 feuilles superposées ; calice bilabié, à gorge fermée par un anneau de poils ; corolle de 5 à 7 mm de longueur, à 4 lobes égaux. Akènes ponctués d'alvéoles. Floraison en juillet et août. (63).

Pour sa classification, la menthe pouliot appartient au:

**Domaine :** *Biota*

**Règne :** *Plantae* Haeckel., 1866

**Sous-Règne :** *Viridiaeplantae*

**Division :** *Magnoliophyta* Cronquist, Takhtajan & W. Zimmermann., 1966

**Classe :** *Equisetopsida* C.Agardh., 1825

**Sous-Classe :** *Magnoliidae* Novák ex Takht., 1967

**Super-Ordre :** *Asteranae* Takht., 1967

**Ordre :** *Lamiales* Bromhead., 1838

**Famille :** *Lamiaceae* Martinov., 1820

**Genre :** *Mentha* L., 1753

**Espèce :** *Mentha pulegium* L., 1753 (44)

### **II.2. Synonymes :**

*Mentha gibraltarica* Willd. et *Mentha numidica* Poiret. (45).

### **II.3. Noms communs :**

En français : pouliot, pouliot royal, herbes aux puces, herbe de saint Laurent, dictamme de Virginie, frétillet. En allemand : Feldminze, Poleiminze, Flohkraut. En anglais : pennyroyal, field mint, pudding grass. En espagnol: póleo, póleo omún, póleo negro. En italien: menta terragnola, menta poggio, menta pulezzo. En portugais: poejo. En arab : habaq. Appelé par la population Maghrébine locale : Fliou (48).



**Photo n°2:** *Mentha pulegium* L. (15 Juillet 2013)

#### **II.4. Propriétés thérapeutiques :**

Les parties aériennes fleuries de *Mentha pulegium* ont été utilisées depuis longtemps comme antiseptique, pour le traitement de grippe, sinusite, cholera, intoxications alimentaires et tuberculose (64). C'est est un excellent digestif. Elle stimule les sécrétions gastriques, réduit les flatulences et les coliques, et, à l'occasion, élimine les vers intestinaux. Elle fait baisser la fièvre, favorise la sécrétion des muqueuses et constitue un bon remède contre les maux de tête et les infections respiratoires bénignes. Elle favorise l'apparition des règles. En infusion, la menthe pouliot apaise les démangeaisons et les sensations de picotement, et les rhumatismes, dont la goutte (1).

La menthe pouliot a aussi des propriétés antioxydantes, carminatives, expectorantes, diurétiques, et antitussives, mais il est aussi à noter l'effet abortif et cytotoxique (64).

Elle est connue pour ses qualités culinaires par sa présence dans plusieurs sauces et soupes, en Algérie elle est célèbre par le plat très populaire « Batata fliou » (le ragout de pommes de terre au pouliot) (65).

#### **II.5. Composition chimique :**

Plusieurs études sur la composition chimique de la plante et surtout sur son huile essentielle à travers le monde ont été réalisées, d'où on peut constater une grande variabilité, voici quelques résultats:

- D'après l'étude de Çöteli et *al.* 2013, l'extrait des feuilles de *Mentha pulegium* L. de Turquie sont riche en :

malondialdéhyde (MDA) :  $17,43 \pm 1,57 \mu\text{g} / \text{g}$ ,

Forme réduite glutathion (GSH) :  $185,71 \pm 10,61 \mu\text{g} / \text{g}$ ,

Forme oxydée glutathion (GSSG) :  $280,48 \pm 24,58 \mu\text{g} / \text{g}$ ,

Riche en vitamine C ( $282,86 \pm 9,24 \mu\text{g} / \text{g}$ ), vitamine B2 ( $43,11 \pm 7,02 \mu\text{g} / \text{g}$ ),  
vitamine B3 ( $16,91 \pm 1,59 \mu\text{g} / \text{g}$ ), vitamine B6 ( $81,88 \pm 9,47 \mu\text{g} / \text{g}$ ), en plus de  
vitamine A, vitamine E, vitamine B9 et  $\beta$ -carotène,

La quantité de phénols totaux est de  $136,85 \pm 11,39$  (mg / g d'équivalent d'acide  
gallique) et la quantité de flavanoïde est de  $65,2 \pm 1,07$  (mg / g équivalent de  
quercétine) (66).

- Vingt-deux composants représentant 89,9% de l'HE de *Mentha pulegium* ont été identifiés, d'après l'étude de Chalchat et al. 2000 (67), le composé majeur était menthone (30,9%), puis pulegone (14,1%) et le néomenthol (13,8%) et l'oxyde de caryophyllène (9,0%).
- Le rendement en HE du pouliot du sud Iranien était de 0,6% (v / p). Au total, 55 composés ont été identifiés dont les monoterpènes oxygénés étaient dominants. Les principaux constituants étaient la pulegone (46,18%), la pipériténone (19,56%), le 1,8-cineol (4,55%) et l'oxyde de pipériténone (4,23%) (68), tandis que l'espèce étudiée par Mahboubi et Haghi 2008 révèle une autre composition : piperitone (38.0%), piperitenone (33.0%), alpha-terpineol (4.7%), et pulegone (2.3%) sont les composés majoritaires (64).
- L'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. d'origine cubaine, trente-trois composés ont été identifiés, dont le neoisomenthol (20,68%) et la pulegone (25,14%) ont été les principaux constituants (69).
- Les principaux composés sont la pulegone (43,5%), la pipéritone (12,2%), le p-menthane-1,2,3-triol (6,5%), le  $\gamma$ -elemenène (3,6%), le guaiène (cis- $\beta$ ), De l'acétate de carvacrol (2,6%) et de l'alcool phényléthylique (2,4%) dans l'HE Egyptienne (70).
- Mkaddem et al. 2007 (71) ont analysé L'HE tunisienne et ont pu identifier trente-quatre composants représentant 78,4%. La pulegone (41,8%), suivie par l'isomenthone (11,3%) et la carvone (6,2%) ont été les principaux composés. Les quantités de menthofurane et de menthol ne dépassaient pas respectivement 3,7% et 2,8%.
- La composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* de Bulgarie a été déterminée par CG et CG / SM. Les rendements en huile obtenus par distillation à l'eau et à la vapeur étaient respectivement de 1,54% et 1,48%. Les composants majoritaires parmi les 21 identifiés étaient la pulegone (42,9-45,4%), la pipériténone

(21,7-23,1%) et l'isomenthone (11,3-12,8%) et ainsi pas de différence qualitative significative entre les huiles obtenues par les deux méthodes, c'est ce qui était constaté par Stoyanova et *al.* 2005 (72).

- L'étude des huiles essentielles obtenues à partir de 10 populations sauvages de *Mentha pulegium* L. en Grèce a montré que la teneur en pulegone varie beaucoup, allant de <0,1-90,7% de l'huile totale. Seules deux populations sont des huiles riches en pulegone (42,9% et 90,7%), tandis que les autres ont une faible teneur en pulegone (jusqu'à 35,6%). Ces derniers sont riches soit en menthone / isomenthone, soit en pipéritone / pipériténone ou en pipéritone (jusqu'à 97,2% de l'huile totale) (73).

### **III. *Satureja calamintha* Scheele. ssp. *nepeta* (L.) Briq.**

#### **III.1. Description :**

C'est une plante médicinale de la famille des Lamiaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle algérienne et comme condiment alimentaire, répandue dans les régions méditerranéennes, Sud ouest de l'Asie et d'Amérique (74), son nom « Satureja » » vient du mot latin "saturare" = nourrir ou "satura" = pot à fleur (ornemental) (75).

La plante est d'environ 40-80 cm, velue-grisâtre, à odeur forte peu agréable, à souche courte ; tige très rameuse ; feuilles petites, pubescentes, courtement ovales, à pétiole court, à limbe presque aussi large que long, finement dentelée. Plante vivace. Inflorescences en cymes lâches et pédonculées. Calice restant tubuleux à maturité, de 6-7 mm à dents subégales, les inférieures à peine plus longues que les supérieures. Corolles roses ou violacées, bien plus longues que le calice, et des fleurs hermaphrodites longues de 8-15 mm (45), pousse dans les pelouses, forêts et broussailles, dans le Tell et surtout en montagne.



**Photo n°3:** *Satureja calamintha* Scheele. ssp. *nepeta* (L.) Briq. (22 Aout 2013)



*Satureja calamintha* Scheele. ssp. *nepeta* (L.) Briq est classée dans:

**Domaine** : Biota

**Règne** : *Plantae* Haeckel, 1866

**Sous-Règne** : *Viridaeplantae*

**Division** : *Magnoliophyta* Cronquist, Takhtajan & W. Zimmermann., 1966

**Classe** : *Equisetopsida* C.Agardh., 1825

**Sous-Classe** : *Magnoliidae* Novák ex Takht., 1967

**Super-Ordre** : *Asteranae* Takht., 1967

**Ordre** : *Lamiales* Bromhead., 1838

**Famille** : *Lamiaceae* Martinov., 1820

**Genre**: *Satureja*

**Espèce**: *Satureja calamintha* Scheele.

**Sous espèce** : *nepeta* (L.) Briq. 1895

### III.2. Synonymes :

*Calamintha officinalis* Moench. (45), *Calamintha nepetoides* Jord., *Calamintha vulgaris* Clairv., *Calamintha thessala* Hausskn., *Satureja calamintha* ssp. *nepetoides* (Jord.) Br., *Satureja nepeta* (L.) Scheele., *Clinopodium nepeta* (L.) Kuntze. ssp. *nepeta*; *Melissa nepeta* L., *Calamintha nepeta* (L.) Savi. ssp. *nepeta* (76).

### III.3. Noms communs :

En arabe : meuta, nabta (45). En Italien : mentuccia, nipitella, (76) en français : calament, en anglais : calamint.

### III.4. Propriétés thérapeutiques :

En raison de leur agréable odeur de menthe, de nombreuses espèces de *Calamintha* sont utilisées comme épices dans diverses recettes culinaires. Ils sont utilisés dans la médecine populaire comme les menthes, principalement comme stimulant, digestif, tonique, antiseptique. Ces plantes sont utilisées comme antispasmodique, emmenagogue, diaphorétique, diurétiques, carminatives expectorant et pour le renforcement du système nerveux central, et en cas de crises épileptiques. Son thé est utilisé pour les gaz coliques, et en usage externe, il est utile dans les cataplasmes pour les ecchymoses. Les huiles essentielles de certaines espèces exercent des activités sédatives et antipyrétiques importantes chez le rat, probablement en raison de la présence de monoterpènes pulegone, menthone et eucalyptol. Les huiles essentielles de *Calamintha* sp. sont également utilisés pour les maux d'estomac et la gorge et les troubles rénaux. En raison de son activité antiseptique et cicatrisante, il est utilisé sur les piqûres d'insectes et les plaies. En plus de ces usages traditionnels, plusieurs

travaux ont prouvé des propriétés : antioxydantes, antimicrobiennes, insecticides, hypoglycémiantes, antiprolifératives contre les cellules cancéreuses...

La plante a été traditionnellement utilisée comme agent aromatisant et son huile essentielle est utilisée en cuisine comme facteur aromatisant et également pour améliorer la saveur et le parfum de plusieurs produits pharmaceutiques (74, 76,77).

### III.5. Composition chimique :

Des études phytochimiques sur les sous espèces *Satureja* ont révélé des huiles volatiles, des tanins, composés phénoliques, stérols, acides, gomme, mucilage et pyrocatechol en tant que composants principaux (78).

D'après plusieurs travaux sur la composition des huiles essentielles de *Satureja calamintha* Scheele. ssp. *nepeta* (L.) Briq. de divers regions, on peut constater un polymorphisme chimique très important:

- L'espèce de Maroc est composée principalement de borneol (34,52 %), de  $\alpha$ -campholenic aldéhyde (14,26 %), de cedren-13-ol (6,45 %), et de manoyloxyde (3,78%) accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles : diepicedrene-1-oxide (2,05 %), spathulenol (2,15 %), aristolene epoxide (2,42 %), et (-) spathulenol (2,63 %), totalisant 68,26 % (77).
- L'huile essentielle *Satureja calamintha* ssp. *nepeta* (L.) Briq. cueilli en Algérie et obtenue par hydrodistillation, a été étudiée en utilisant à la fois des techniques capillaires de CG et de CG-SM et testée pour ses activités antimicrobiennes et antioxydantes. Vingt-six composants représentant 98,2% de l'huile ont été caractérisés. Les monoterpènes oxygénés (97,4%) étaient la classe prédominante avec la pulegone (39,5%), le néo-menthol (33%) et l'isomenthone (19,6%) comme constituants majeurs (79).
- Une importante variabilité chimique a été observée pour l'HE de Corse. Un total de 40 échantillons ont été analysés, et la moitié a été caractérisée par la prédominance de menthone (teneur moyenne 43,4%). pulegone (18,9%), l'oxyde de trans-pipéritone (8,3%) et le limonène (5,2%) étaient également des constituants importants. D'autres composés sont parfois présents en quantités importantes: isomenthone (jusqu'à 16%), pipéritone (jusqu'à 12,2%), néomenthol (jusqu'à 10%) et pipériténone (jusqu'à 7,1%) (80).
- Selon l'étude de Pérez-Alonso et al. 1993, la *C. nepeta* d'Espagne est riche en limonène (11.5%), 1,8-cineole (34.9%) et carvone (37.6%) (81).

- En Italie, une grande variabilité qualitative et quantitative est observée, selon l'étude de Monforte et *al.* 2011 (82), 64 constituants identifiés représentant 99.7%, dont le carvone est le composant majoritaire (38.7%) suivi du neo-dihydrocarveol (9.9%), dihydrocarveol acetate (7.6%), dihydrocarveol (6.9%), 1,8 cineole (6.4%), cis-carvyl acetate (6.1%), and pulegone (4.1%). Tandis que l'huile de Calabria (située à l'extrême sud-ouest de la péninsule Italienne) en début de floraison est riche en pulegone (58.85%) (83). L'huile essentielle de 46 plantes spontanées de *Calamintha nepeta* (L.) Savi. ssp. *nepeta* en pleine croissance dans le Sud, en Italie (Salento, Apulia), ont été étudiées par CG / SM, et alors quatre chémotypes ont été identifiés: oxyde de pipéritone, oxyde de pipériténone, piperitone-menthone et pulegone (84).
- L'huile extraite du calament portugais était principalement composée d'isomenthone (35,8% -51,3%), de 1,8-cineol (21,1% -21,4%) et de trans-isopulegone (7,8% -6,0%) ce qui rend cette huile assez particulière et assez différente de celles d'autres origines; Les auteurs l'ont marqué comme un nouveau chémotype (85).

#### **IV. *Satureja candidissima* (Munby.) Briq.**

##### **IV.1. Description :**

Plante de la famille des Lamiacées, couverte sauf dans l'inflorescence, d'un épais tomentum velouté blanchâtre. Feuilles ovoïdes. Fleurs courtement pédicellées rosées de 8-12 mm. Calice et inflorescence glabres. Pousse entre les lauriers-roses et les pelouses rocailleuses. En Algérie elle pousse spontanément à Oran et ses environs (45).

Le classement de *Satureja candidissima* dans le règne des plantes est comme suit :

**Domaine :** *Biota*

**Règne :** *Plantae* Haeckel., 1866

**Sous-Règne :** *Viridiaeplantae*

**Division :** *Magnoliophyta* Cronquist, Takhtajan & W. Zimmermann., 1966

**Classe :** *Equisetopsida* C.Agardh., 1825

**Sous-Classe :** *Magnoliidae* Novák ex Takht., 1967

**Super-Ordre :** *Asteranae* Takht., 1967

**Ordre :** *Lamiales* Bromhead., 1838

**Famille :** *Lamiaceae* Martinov., 1820

**Genre:** *Satureja*

**Espèce:** *Satureja candidissima* (Munby.) Briq.

##### **IV.2. Synonymes :**

*Melissa candidissima* (Munby.) [1847] (45), *Calamintha candidissima* (Munby.) Straight., *Clinopodium candidissimum* (Munby.) Kuntze. (86), *Calamintha candidissima* (Munby.) var *laxiflora* Faure et Maire. [1848](44).

##### **IV.3. Noms communs :**

Zaater cheleuh (45), Nabta elbida.

##### **IV.4. Propriétés thérapeutiques et composition chimique :**

Comme cette plante n'a pas fait l'objet d'études avant, on a fait une petite recherche sur ses utilisations traditionnelles, selon la population locale, « Nabta el bida » était efficace en cas de grippe, les vers intestinaux, les infections, et comme pansement pour la cicatrisation des brûlures et blessures.

L'appartenance de *Satureja candidissima* à la famille des lamiacées, et la richesse de son huile essentielle en pulegone et en monoterpènes confère à cette plante plusieurs autres propriétés tels que: antimicrobienne, insecticide, larvicide et herbicide, spasmolytique, contre

les troubles gastro-intestinal tels que l'indigestion et la diarrhée, anti-inflammatoire et analgésique.

En cuisine, elle est utilisées pour aromatiser les sauces ou pour préparer un plat traditionnel de la région, appelé « Rfiss » qui est une préparation avec de la semoule, beurre, sel, eau et la plante fraîche découpée, après cuisson on la découpe en morceaux et on la mélange avec du lait ou du beurre fondu, la même recette peut être faite avec *Satureja calamintha* Scheele. ssp. *nepeta*.



**Photo n°4 :** *Satureja candidissima* (Munby.) Briq. (20 Novembre 2013)

**Troisième partie**  
**Matériel et Méthodes**

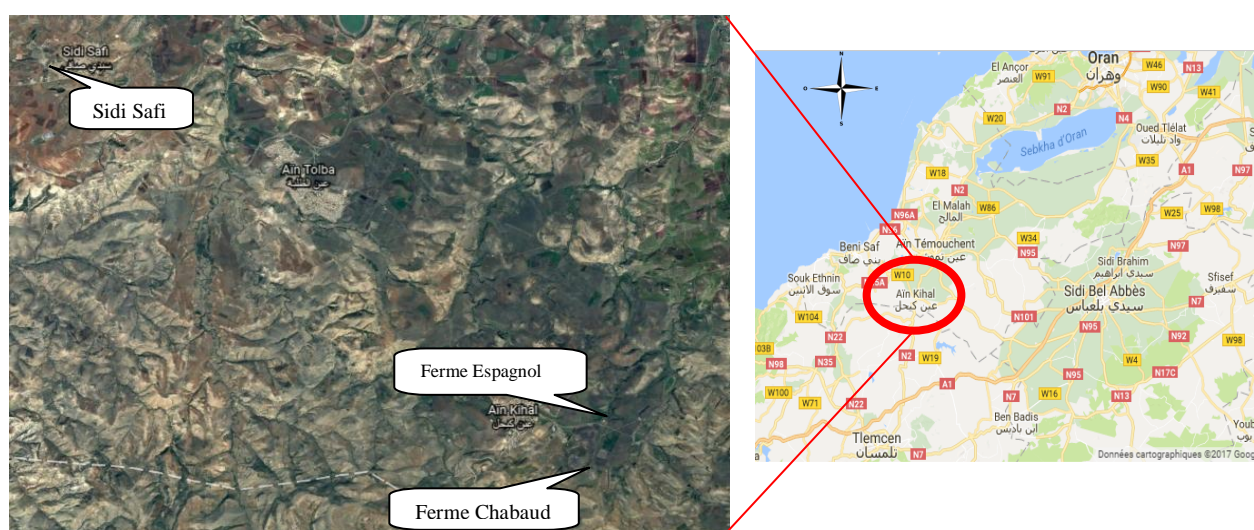
## I. Le matériel végétal:

Les plantes ont été récoltées dans leurs périodes de floraison allant du mois de Juin à Novembre 2013, de la wilaya d'AIN TEMOUCHENT.

*Ammoides verticillata* recueillie de le domaine appelé « Sidi Mohamed Benchouiref » à coté de la ferme « Chabaud Enjalbert Fages » (appellation de l'époque coloniale) située à 35° 10' 59" N, 1° 10' 23" W, à une altitude de 561 m.

L'espèce *Mentha pulegium* était recueillie à coté de la ferme appelé « Espagnol » dans la route entre Ain kihal et Aghlal, située à 35° 10' 00" N, 1° 10' 19" W, à une altitude de 524 m

Les deux espèces de satureja ont été recueillies de la région de Sidi Safi située entre 35° 16' 54" N, 1° 19' 34" W et 35° 17' 01" N, 1° 19' 17" W, à une altitude entre 223 et 230 m.



**Figure n°2 :** Carte de localisation des stations de récoltes

Les plantes, fraîchement récoltées, sont lavées puis laisser sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 10 à 15 jours, jusqu'à une humidité résiduelle de 21 à 23%.

Des spécimens des quatre plantes ont été identifiés par l'équipe du laboratoire de Botanique à l'Université de Tlemcen et par Monsieur AMARA Mohamed, Enseignant chercheur au Centre Universitaire BELHADJ Bouchaib d'Ain Témouchent.

## II. L'extraction d'huile essentielle

Est effectuée par hydrodistillation de la partie aérienne, où 100g de la plante sèche est introduite dans un ballon, et imprégné d'eau, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs d'eau chargées d'huile essentielle, en traversant le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence

de densité. Le rendement est le rapport entre le poids de l'huile essentielle extraite et le poids de la plante traitée.

Le rendement en pourcentage (R) est calculé par la formule suivante :  $R = P_H / P_P \times 100$

Où  $P_H$  : poids de l'huile essentielle extraite en g  $P_P$  : poids de la plante traitée en g

### **III. Analyse Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse CG/SM**

Les huiles essentielles ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse, type Perkin Elmer CLARUS 500, avec détecteur d'ionisation de flamme (FID), couplé à la spectrométrie de masse Perkin Elmer Clarus 600, deux colonnes capillaires de silice fondues (30mx0.25mm, 0.25µm épaisseur de film) sont utilisées: L'Elite-WAX est une colonne polaire avec du polyéthylène glycol comme phase stationnaire et la colonne Elite 1 de la phase stationnaire 100% Dimethyl Polysiloxane en tant que colonne non polaire. Le gaz de transport est l'hydrogène avec un débit de 45 ml / min. La température initiale est de 50 ° C et s'élève à 3 ° C / min puis maintenue isothermiquement à 230 ° C (20min). Volume d'injection: 0,2 µl d'huile pure.

L'identification des composants a été effectuée par la comparaison des temps de rétention et de spectre de masse avec les données de la base de données atomiques de l'Institut National des Normes et de la Technologie (NIST), de la bibliothèque ADAMS et de la base de données propre au laboratoire de Rosier Davenne.

### **IV. Evaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles**

#### **IV.1. La densité relative à 20 °C:**

La densité relative à 20 °C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile, à la masse d'un égal volume d'eau distillée. A l'aide d'un pycnomètre, pesé successivement de volumes égaux d'huile essentielle et d'eau à la température de 20 °C.

La densité est ainsi donnée par la formule :

$$m_2 - m_0 / m_1 - m_0$$

Où :  $m_0$  : est la masse, en grammes, du pycnomètre vide,  $m_1$  : est la masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'eau,  $m_2$  : est la masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'huile essentielle.



## IV.2. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction (RI) est utilisé :

- Pour identifier une HE.
- Comme critère de pureté des huiles essentielles.
- Pour vérifier la qualité de la distillation : une distillation trop rapide, à température trop élevée, trop lente abaisse l'indice de réfraction

L'indice de réfraction des HE est généralement élevé. Il est supérieur à celui de l'eau à 20 °C = 1.3356.

- L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante. - Utiliser un réfractomètre permettant la lecture directe d'indices de réfraction situés entre 1.300 et 1.700, l'appareil est ajusté de manière à donner, à la température de 20 °C, une valeur de 1.333 pour l'eau distillée.

## IV.3. L'indice d'acide

L'indice d'acide permet de vérifier la qualité d'une H.E, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage.

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle.

Le test consiste en la neutralisation de la solution d'huile essentielle dissoute dans l'éthanol, à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium, en utilisant la phénolphtaléine comme indicateur coloré.

L'indice d'acide est donc donné par la formule :  $5.61 \frac{V}{m}$

Où : V : est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée, m : est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

## V. Evaluation d'activités biologiques, *in vitro*

### V.1. Evaluation de l'activité antioxydante

#### V.1.1. Capacité antioxydante totale :

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verte. Une prise de 100 µl de l'huile essentielle diluée dans le méthanol est mise en réaction dans un tube avec 1ml d'une solution composée d'acide sulfurique (0.6 N), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 mn. Après refroidissement jusqu'à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant que du méthanol à la place de la solution d'huile essentielle. Comme la composition des huiles essentielles n'est pas encore connue, l'activité antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait (87).

#### V.1.2. Réduction du fer : FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) :

La méthode est basée sur la réaction de réduction du  $Fe^{3+}$  présent dans le complexe ferrocyanure de potassium en  $Fe^{2+}$ , la réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en couleur bleu vert du fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ), l'intensité de cette coloration est mesuré spectro-photométriquement à 700 nm.

Le protocole expérimental utilisé est celui de Yildirim et *al.* 2001 (88) où : 0.5 ml de l'huile essentielle à différentes concentrations, est mélangé avec 1.25 ml d'une solution tampon phosphate à 0.2 M (pH= 6.6) et 1.25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000g pendant 10 min. 1.25 ml du surnageant sont ajoutés à 1.25 ml d'eau distillée et 250 µl d'une solution de chlorure de fer ( $FeCl_3, 6H_2O$ ) à 0.1%. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm.

La concentration efficace médiane (CE50) est la concentration de l'huile correspondante à une absorbance de 0.5, obtenue par l'interprétation de la courbe de régression linéaire ( $D.O = f([ ])$ ). L'activité de l'huile essentielle est enfin comparée à celle de l'acide ascorbique.

### V.1.3. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) :

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différentes huiles essentielles, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH comme un radical libre relativement stable qui absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 à 520 nm. Le test consiste à mettre le radical DPPH (de couleur violette), en présence des molécules dites antioxydantes afin de mesurer leur capacité à le réduire. La forme réduite (diphényl picryl-hydrazine : de couleur jaune) n'absorbe plus à 515 nm, ce qui se traduit par une diminution de l'absorbance (89). Selon le protocole décrit par MANSOURI et *al.* 2005 (90), la solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol ( $6 \times 10^{-5}$  M). 25  $\mu$ l des solutions d'huiles essentielles ou d'acide ascorbique sont ajoutés à 975  $\mu$ l DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon}}{\text{Abs contrôle}} \times 100 \quad (\text{Abs : absorbance})$$

IC50 (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC50 (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement à l'aide de la courbe des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testées (91).

### V.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été évaluée contre des souches de référence (Tableau n°3) obtenues du laboratoire des Produits Naturelles, Département de Biologie, Université Abou Bekr BELKAID, Tlemcen.

Deux méthodes de vérification *in vitro* de l'activité antimicrobienne ont été utilisées, la méthode de diffusion en disque sur milieu gélosé pour évaluer l'activité en contact, et la méthode de micro-dilution sur microplaque pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et des concentrations minimales bactéricides (CMB).

On a essayé aussi d'attribuer à chaque huile essentielle son indice aromatique, pour cela l'activité antimicrobienne était réalisée sur un échantillon de 146 souches responsables d'infection chez des patients hospitalisés à l'Hôpital Militaire Universitaire d'Oran durant deux mois (Janvier, Février et Mars) 2014, et puis l'indice aromatique est calculé comme expliqué ci-dessous.

**Tableau n°3:** les souches microbiennes utilisées et leurs origines

	<b>Microorganismes</b>	<b>Gram</b>	<b>Référence</b>	<b>Origine</b>
<b>Bactérie</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853	NMNH
	<i>Escherichia coli</i>		ATCC 8739	NMNH
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		IBMC Strasbourg	NMNH
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538	NMNH
	<i>Listeria monocytogenes</i>		ATCC 19111	LAPRONA
	<i>Bacillus cereus</i>		ATCC 25921	LAPRONA
	<i>Micrococcus luteus</i>		ATCC 9341	NMNH
<b>Levure</b>	<i>Candida albicans</i>		ATCC 10231	NMNH

**ATCC:** American Type Culture Collection; **NMNH:** National Museum of Natural History (Paris); **IBMC:** Institute of Molecular and Cellular Biology; **LAPRONA:** Natural Products Laboratory (University of Tlemcen).

### V.2.1. Méthode de disques

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été testée selon la méthode de diffusion de disque selon le Comité National pour les Normes de Laboratoire Clinique (NCCLS) (92), en utilisant 100 µl de suspension microbienne, contenant  $2 \times 10^8$  UFC / ml pour les bactéries,  $1-5 \times 10^6$  UFC / ml pour *Candida albicans*. La gélose Mueller-Hinton et la gélose Sabouraud stérilisées ont été distribuées dans des boîtes de Petri stérilisées de 9 cm de diamètre, après solidification, elles ont été inoculées avec les microorganismes testés. Les disques de papier filtre (6 mm de diamètre) imprégnés de 10 µl d'huile sont ensuite placés sur les géloses. Les boîtes de Petri ont été maintenues à 4 ° C pendant 2 h, puis incubées à 37 ° C pendant 24 h pour les bactéries et à 30 ° C pendant 24 et 48 h pour la levure. Les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés, y compris le diamètre des disques. Tous les tests ont été réalisés en double.

Les huiles essentielles seront ainsi classées selon l'échelle de Ponce et *al.* 2003 (93) en :

- HE non active (-): si le diamètre d'inhibition ne dépasse pas 8mm
- HE active (+) : si  $9 < \text{diamètre} < 14\text{mm}$
- HE très active (++) : si  $15 < \text{diamètre} < 19\text{mm}$
- HE extrêmement active (+++) : si le diamètre dépasse 20mm

### **V.2.2. Détermination des CMI, CMB**

La méthode de microdilution sur microplaque en utilisant du Mueller Hinton liquide a été utilisée pour la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI), Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) des huiles essentielles actives (diamètre  $\geq 9$  par la méthode de disques), selon la technique publiée par le Comité national des normes du laboratoire cliniques (92).

Les huiles essentielles ont été dissoutes dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) à 1% à la concentration la plus élevée, puis une gamme de dilution de demi en demi a été préparée dans le bouillon Mueller Hinton préalablement distribué dans les cupules, puis sont ajoutés les inocula microbiens à des concentrations finales de  $5 \times 10^5$  UFC/ml pour les bactéries et  $2.5 \times 10^6$  UFC/ml pour *C. albicans*.

Après incubation de 24h à 37°C, la CMI est définie comme la plus faible concentration de l'huile essentielle qui ne montre aucune croissance bactérienne visible (pas de trouble visuelle). Pour déterminer la CMB, des aliquotes de 10 ul sont prélevées à partir de cultures au niveau des puits ne présentant pas de turbidité visible, et ensemencées sur des milieux gélosés et incubées pendant 24h à 37 °C, la CMB est la plus faible concentration qui inhibe toute culture visible sur gélose après la période d'incubation.

Le rapport CMB / CMI a également été calculé pour mettre en évidence la nature de l'effet antimicrobien de l'huiles essentielle testée. Lorsque le rapport est inférieur à 4, l'huile essentielle est considérée comme une huile essentielle bactéricide et lorsque le ratio est supérieur à 4, elle est considérée comme une huile essentielle bactériostatique (94).

### **V.2.3. L'indice aromatique (13, 95)**

On appelle indice aromatique d'une HE le rapport entre le diamètre, exprimé en millimètres, du halo d'inhibition obtenu par un aromatogramme et celui d'une HE idéale et fictive dont l'action germicide serait maxima dans 100 % des cas.

Il suffit pour cela, dans un premier temps, de définir l'indice de croix de chaque HE. Le diamètre de la zone d'inhibition mesuré en millimètres, après 24 heures d'incubation à 37 °C, est symbolisé par un nombre de croix variant de 1 à 3 : 1 croix lorsque le halo d'inhibition mesure 1 à 2 mm, 2 croix lorsqu'il mesure 2 à 3mm, 3 croix lorsqu'il mesure 3mm et plus. Le symbole 3 croix (+++) représente donc l'activité germicide maxima. On additionne ensuite le nombre total de croix obtenues pour chaque HE pour obtenir l'indice de croix.

Pour définir l'indice de croix d'une HE idéale et fictive dont l'action germicide est maximale dans 100 % des cas, il suffira de faire le produit du nombre de cas par le chiffre 3.

Pour obtenir l'indice aromatique d'une HE donnée, il suffira d'effectuer le rapport :

**Indice de croix de l'HE à tester**

---

**Indice de croix de l'HE idéale, efficace à 100 %**

Le résultat est compris entre 0 et 1 : plus l'indice aromatique se rapproche de 1, plus l'HE est germicide. Et les huiles essentielles seront ainsi classées en :

- **HE germicides majeures** : Il comprend des HE dont l'action antibactérienne est forte et constante. L'indice aromatique se situe sensiblement entre 0,45 et 1, aussi bien sur les Gram + et les Gram – que sur les champignons (*Candida albicans*). Elles semblent agir indépendamment du terrain et leur action est certainement plus bactéricide que bactériostatique.
- **HE germicides médiums** : Elles se situent à mi-chemin entre les majeures et les HE du groupe 3 dont le pouvoir antiseptique est imprévisible et inopiné. Leur indice aromatique se situe approximativement au dessous de 0,45, mais leur indice aromatique moyen est supérieur à 0,1.
- **HE dites de terrain** : Elles présentent inopinément une action antiseptique. Elles n'ont pas de réponses constantes et agissent en fonction du terrain sur lequel s'est développé le germe pathogène.

**Quatrième Partie**  
**Résultats**

### I. Les rendements en huiles essentielles et leurs compositions chimiques :

Les rendements en huile essentielle des quatre espèces ainsi que leurs indices physicochimiques sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau n°4 :** Rendements et caractères physicochimiques des huiles essentielles

<i>Espèces</i>	<b>Rendement % (p/p)</b>	<b>Densité à 20°C</b>	<b>Indice de réfraction</b>	<b>Indice d'acide</b>
<i>Ammoides verticillata</i>	2.59 ± 0.235	0.8983	1.5055	27.9
<i>Mentha pulegium</i>	1.37 ± 0.080	0.9379	1.4805	69.88
<i>Satureja calamintha</i>	0.43 ± 0.030	0.9123	1.4750	36.06
<i>Satureja candidissima</i>	0.93 ± 0.035	0.9257	1.4835	58.53

Les huiles essentielles ont été analysées par CG/SM, les chromatogrammes ainsi que les profils de composants avec les pourcentages et les temps de rétention pour chaque composants sont représentés ci-dessous, d'où on peut constater :

- L'HE d'*Ammoides verticillata* : 12 composés ont été identifiés représentant 96.67% de l'huile, dont 49.07% sont des phénols et 46.2% sont des monoterpènes. Les principaux composants étant : le thymol (45.77%), p-cymene (20.19%), limonene (15.70%), et à moindre pourcentage, le  $\gamma$ -terpinene et carvacrol à 8.42 et 3.30% respectivement.
- L'HE de *Mentha pulegium* est composée de 88.56 % de cétones, dont les majoritaires sont : le pulegone (45.17%), menthone (33.98%), et on constate aussi la présence du trans-dihydrocarvone, iso-menthone et le piperitenone. Au total, 19 composants ont été identifiés, représenant 92.11% des composés volatils de l'HE.
- 18 composants représentant 97.71% de la composition de l'huile de *Satureja calamintha* Scheele. ssp. *nepeta* ont été identifiées, dont les principaux sont : iso-menthone (45.61%), iso-menthol (21.23%) et pulegone (17.99%), tandis que 9.82% est représenté par  $\beta$ -phellandrene, cineole, limonene, menthone, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol et piperitone. Cela nous permis de déduire la présence des classes chimiques suivantes : Monoterpènes (5.03%) , Alcools monoterpéniques (23.97%), Sesquiterpènes (0.99%) et Cétones (67.72%).
- *Satureja candidissima* a une huile essentielle riche en cétones ( 72.12%), cette famille chimique est représenté par la pulegone (47.62%) et menthone (24.50%). Les alcools monoterpéniques représentent 14.68% de cette huile, dont le terpinen-4-ol (11.63%),



en plus de 2 autres alcools et 7 monoterpènes, 90.61% du total de l'huile a été identifié.

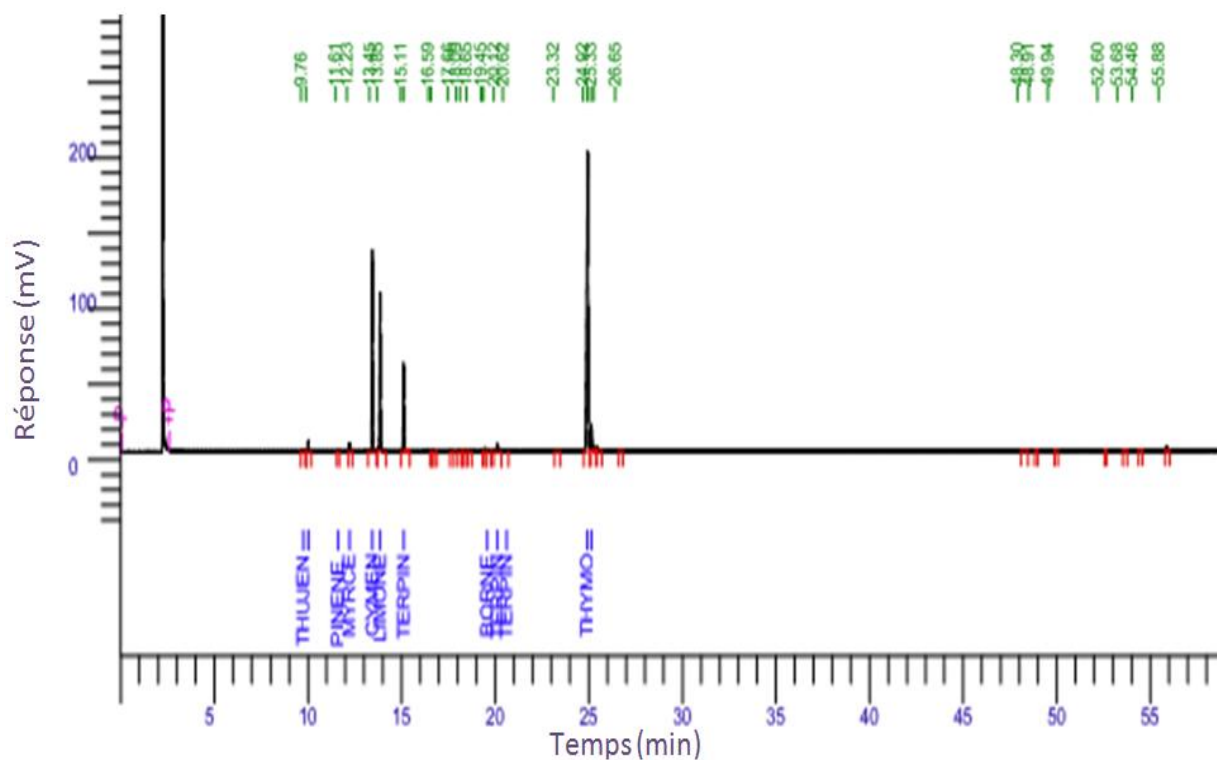
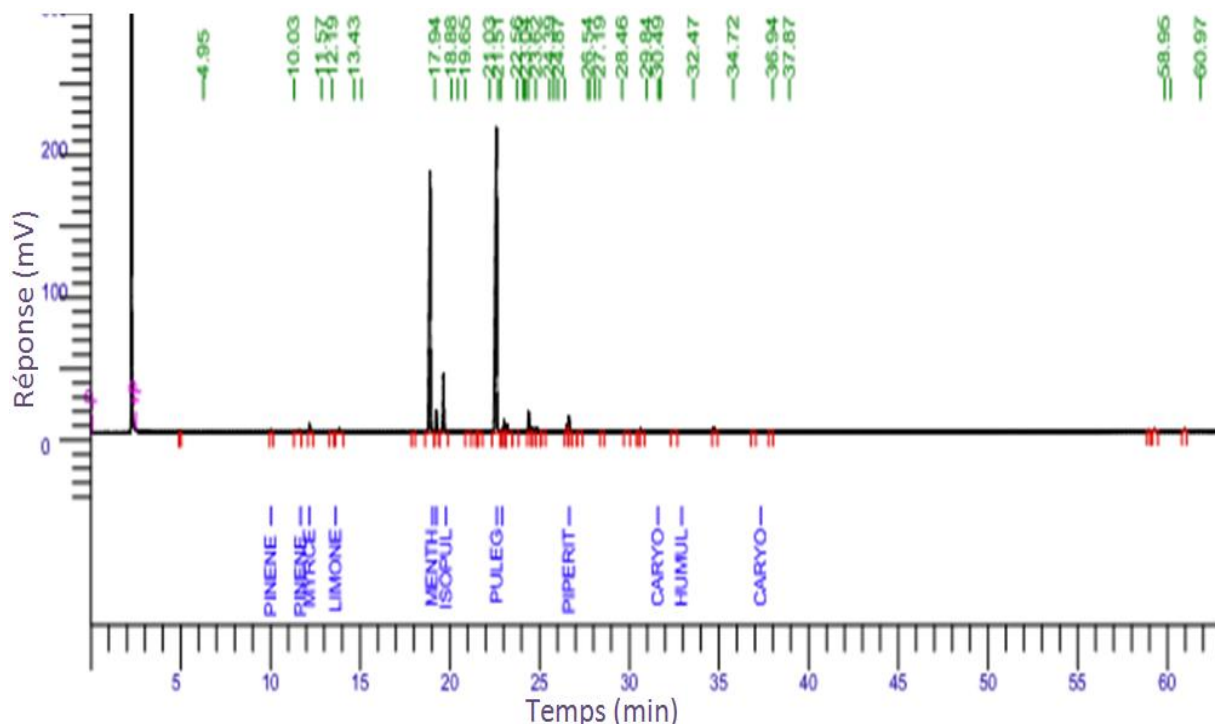


Figure n° 3: Chromatogramme CG/SM de l'HE d'*Ammoides verticillata*

Tableau n° 5: La composition chimique par CG/SM de l'HE d'*Ammoides verticillata*

(TR : temps de rétention, NI: non identifié)

TR (min)	Constituents	%
9.76	$\alpha$ -thujene	0.15
10.03	$\alpha$ -pinene	0.88
11.61	$\beta$ -pinene	0.10
12.23	myrcene	0.76
13.45	<b>p-cymene</b>	<b>20.19</b>
13.85	<b>limonene</b>	<b>15.70</b>
15.11	<b><math>\gamma</math>-terpinene</b>	<b>8.42</b>
19.58	borneol	0.31
20.12	terpinen-4-ol	0.82
20.62	$\alpha$ -terpineol	0.27
24.92	<b>thymol</b>	<b>45.77</b>
25.16	<b>carvacrol</b>	<b>3.30</b>
	NI	3.33
	Total des composés identifiés	<b>96.67</b>
	Monoterpènes	<b>46.2</b>
	Alcools monoterpéniques	1.4
	phénols	<b>49.07</b>



**Figure n° 4:** Chromatogramme CG/SM de l'HE de *Mentha pulegium*

**Tableau n° 6:** La composition chimique par CG/SM de l'HE de *Mentha pulegium*  
(TR : temps de rétention, NI: non identifié)

TR (min)	Constituents	%
3.00	$\alpha$ -thujene + $\alpha$ -pinene	0.25
4.31	$\beta$ -pinene	0.22
4.59	sabinene	0.04
5.65	myrcene	0.02
6.40	limonene	0.30
6.52	cineole <1,8>	0.04
8.43	menthe -3,8-diene <p>	0.06
13.01	octanol <3>	0.81
14.88	<b>menthone</b>	<b>33.98</b>
15.77	iso-menthone	1.94
18.63	iso-pulegol	0.37
19.12	iso-pulegone	0.63
20.20	<b>dihydrocarvone &lt;trans&gt;</b>	<b>5.18</b>
21.30	<b>pulegone</b>	<b>45.17</b>
22.29	$\alpha$ -humulene	0.20
23.91	D-germacrene	1.11
30.22	Piperitenone	1.66
32.32	Caryophyllene oxide	0.13
	NI	7.89
<b>Total des composés identifiés</b>		<b>92.11</b>
	Monoterpènes	0.89
	Alcool monoterpéniques	1.18
	Oxyde monoterpéniques	0.04
	Sesquiterpènes	1.31
	Oxyde sesquiterpéniques	0.13
	Cétones	<b>88.56</b>

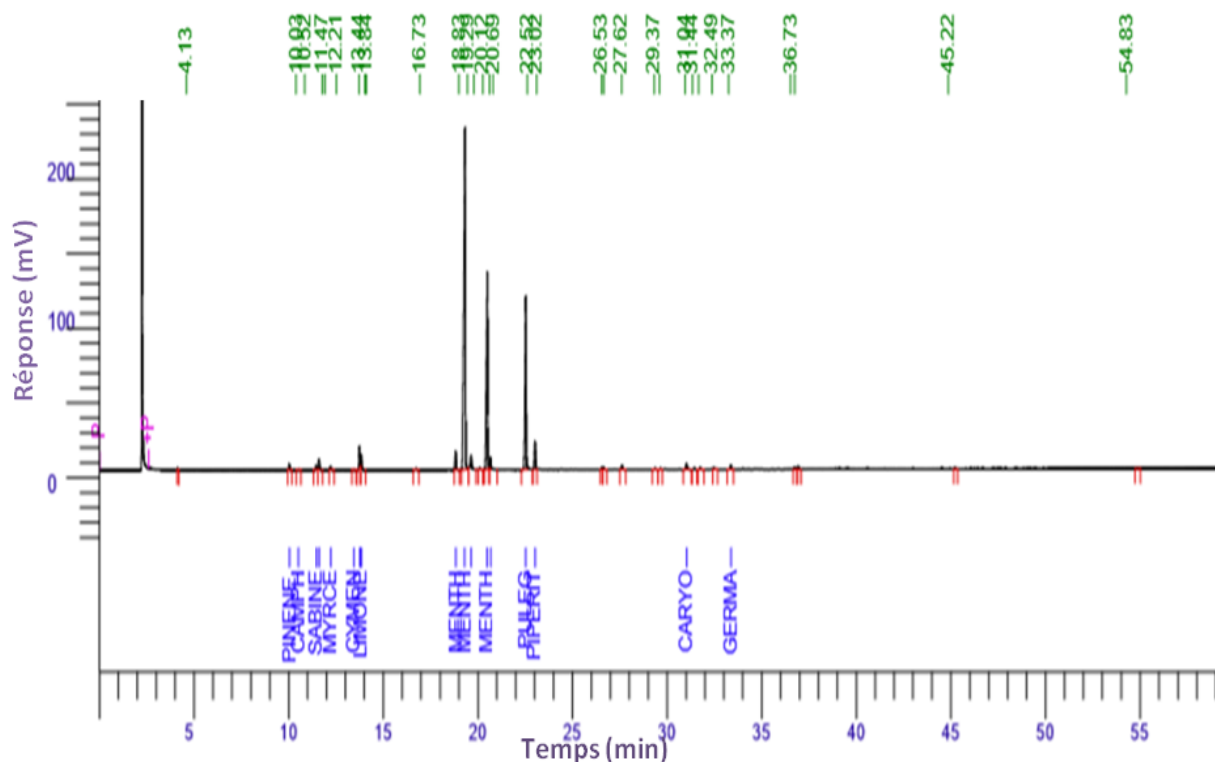


Figure n°5 : Chromatogramme CG/SM de l'HE de *Satureja calamintha* scheele. ssp *nepeta*

Tableau n°7 : La composition chimique par CG/SM de l'HE de *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (TR : temps de rétention, NI: non identifié)

TR (min)	Constituents	%
10.03	$\alpha$ -pinene	0.40
10.52	camphene	0.06
11.47	sabinene	0.35
11.62	$\beta$ -pinene	0.78
12.21	myrcene	0.40
13.44	p-cymene	0.08
13.75	$\beta$ -phellandrene+cineole	1.79
13.84	limonene	1.17
18.83	menthone	1.60
19.29	<b>iso-menthone</b>	<b>45.61</b>
19.63	terpinen-4-ol	1.60
20.48	<b>iso-menthol</b>	<b>21.23</b>
20.69	$\alpha$ - terpineol	1.14
22.52	<b>pulegone</b>	<b>17.99</b>
23.02	piperitone	2.52
31.04	E- Caryophyllene	0.58
0.41	D-germacrene	0.41
	NI	2.28
<b>Total des composés identifiés</b>		<b>97.71</b>
Monoterpènes		5.03
Alcools monoterpéniques		<b>23.97</b>
Sesquiterpènes		0.99
Cétones		<b>67.72</b>

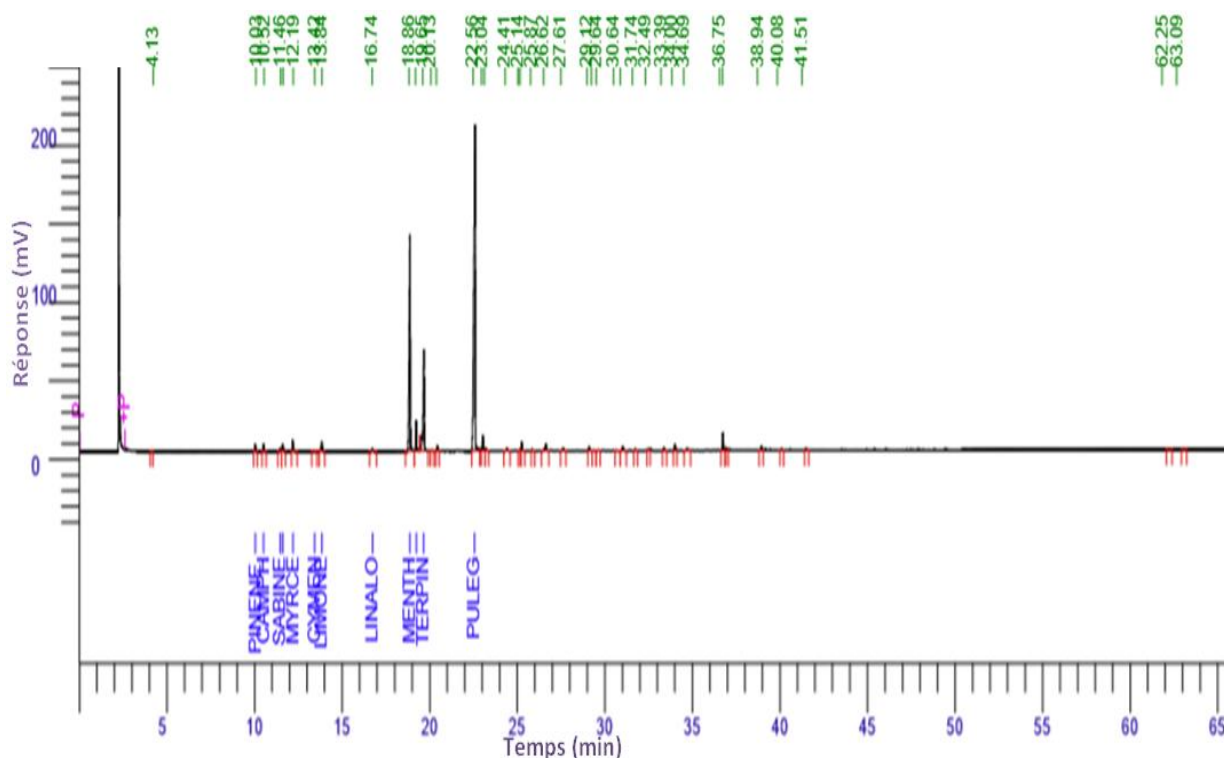


Figure n° 6: Chromatogramme CG/SM de l'HE de *Satureja candidissima*

Tableau n° 8: La composition chimique par CG/SM de l'HE de *Satureja candidissima*

(TR : temps de rétention, NI: non identifié)

TR (min)	Constituents	%
10.03	$\alpha$ -pinene	0.53
10.52	camphene	0.53
11.46	sabinene	0.24
11.62	$\beta$ -pinene	0.56
12.19	myrcene	0.99
13.42	p-cymene	0.06
13.84	limonene	0.90
16.74	linalool	0.25
18.86	<b>menthone</b>	<b>24.50</b>
19.23	iso-menthol	2.80
19.65	<b>terpinen-4-ol</b>	<b>11.63</b>
22.56	<b>pulegone</b>	<b>47.62</b>
	NI	9.39
Total des composés identifiés		<b>90.61</b>
Monoterpènes		3.81
Alcools monoterpéniques		<b>14.68</b>
Cétones		<b>72.12</b>

## II. Evaluation de l'activité antioxydante

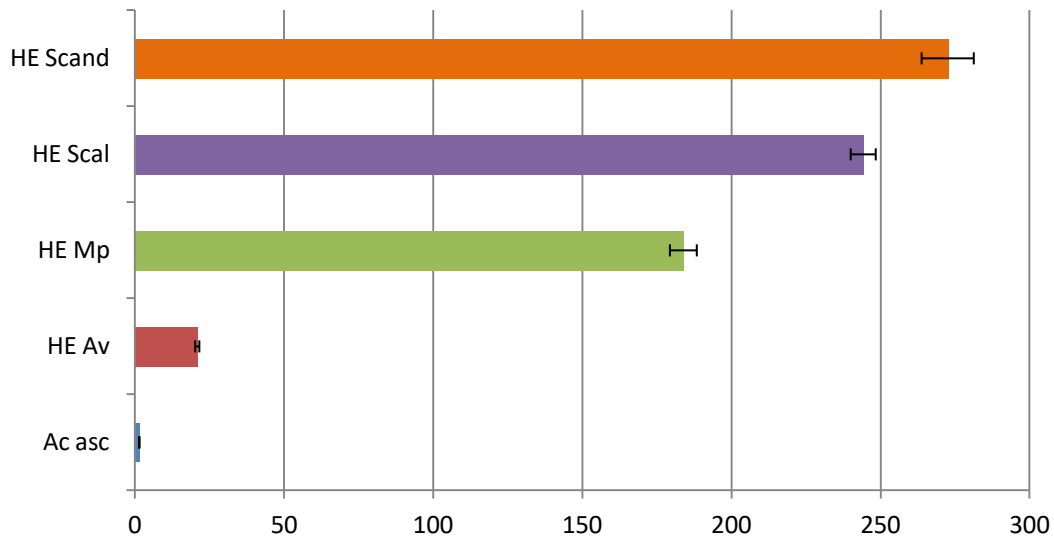
L'activité antioxydante des huiles essentielles a été évaluée par trois méthodes, à savoir, le test de réduction de fer (FRAP), le piégeage du radical libre DPPH et la capacité antioxydante totale (CAT), à partir des représentations graphiques on a pu mesurer les valeurs critiques représentées dans le tableau suivant :

**Tableau n°9:** Les activités antioxydantes des quatre huiles essentielles

	Capacité antioxydante totale (mg EAA/g HE)	CI <sub>50</sub> / DPPH (µg/ml)	CE <sub>50</sub> / Réduction du fer (mg/ml)
<i>HE Ammoides verticillata</i>	318.06± 5.204	20.841± 0.696	0.5346± 0.012
<i>HE Mentha pulegium</i>	290.36± 0.484	183.861± 4.507	57.640± 1.321
<i>HE Satureja calamintha</i>	282.62± 0.360	244.175± 4.205	36.313± 0.848
<i>HE Satureja candidissima</i>	329.72± 1.708	272.523± 8.745	28.892± 0.726
<i>Acide ascorbique</i>	/	1.406± 0.075	0.0147±0.004

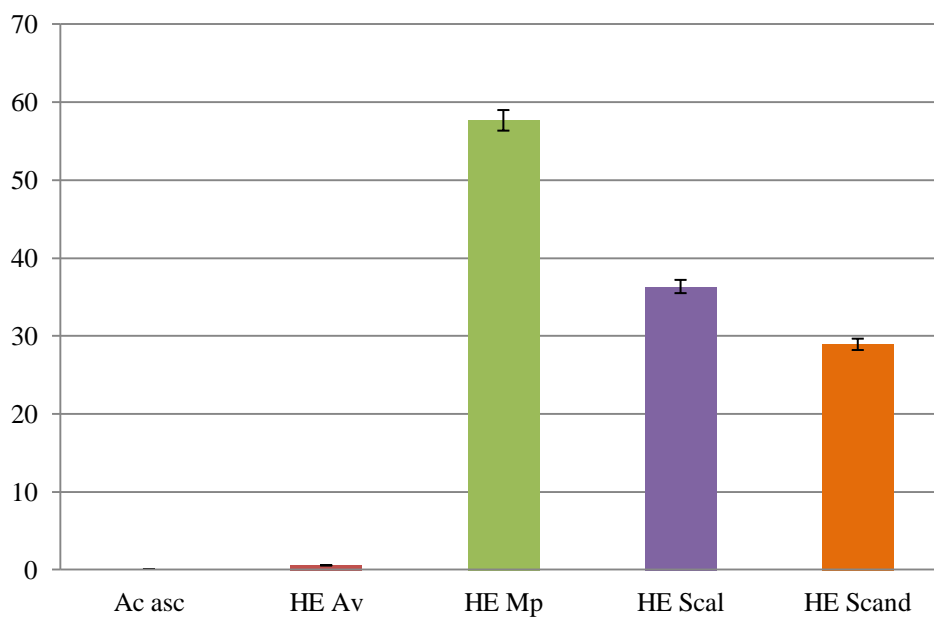
(mg EAA/g HE : mg équivalent d'acide ascorbique/ g d'huile essentielle)

- Commenant par la capacité de piégeage du radical libre DPPH, d'après les résultats du tableau n°9 on peut constater que l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est le plus actif avec une concentration de 20.841 µg/ml pour piéger 50% du radical libre DPPH, suivi de *Mentha pulegium* avec une CI<sub>50</sub> de 183.86 µg/ml, tandis que les deux espèces de *Satureja* sont les moins actives avec des CI<sub>50</sub> dépassant les 240 µg/ml.
- En passant à la réduction de fer, l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* reste toujours la plus capable à réduire cet ion avec une CE<sub>50</sub> de 0.53 mg/ml, mais les deux espèces de *Satureja* sont plus actives que *Mentha*, *Satureja candidissima* étant la plus active des trois. L'histogramme représenté dans la figure n°8 montre mieux les huiles essentielles les plus actives, et que malgré ça leurs activités sont nettement moins importante que celle du control positif.



**Figure n° 7:** Les CI<sub>50</sub> de piégeage de DPPH des huiles essentielles et control positif en µg/ml.

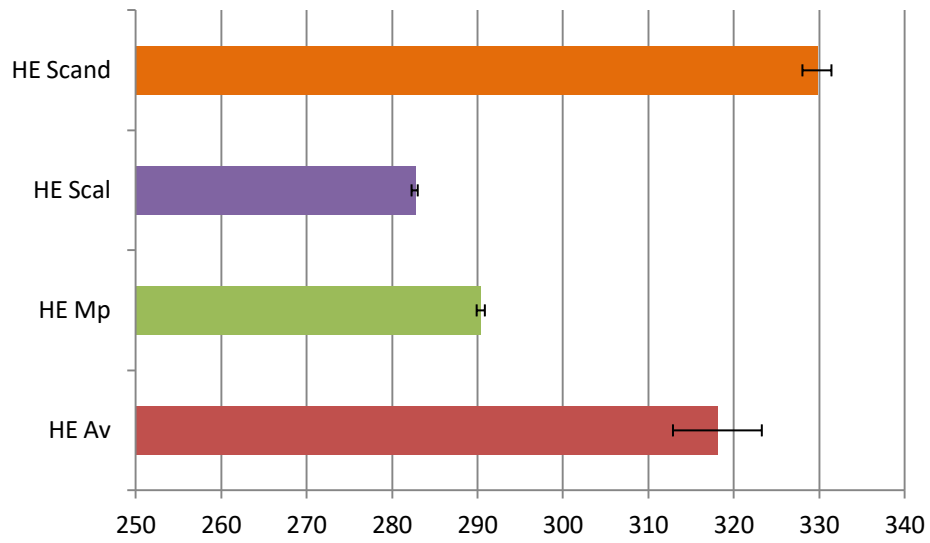
Ac asc : acide ascorbique, Av : *Ammoides verticillata*, Mp : *Mentha pulegium*, Scal : *Satureja calamintha*, Scand : *Satureja candidissima*.



**Figure n° 8:** Les CE<sub>50</sub> de réduction de fer des huiles essentielles et control positif en mg/ml.

Ac asc : acide ascorbique, Av : *Ammoides verticillata*, Mp : *Mentha pulegium*, Scal : *Satureja calamintha*, Scand : *Satureja candidissima*.

- Les résultats indiquent aussi que la capacité antioxydante totale des quatre huiles essentielles dépasse les 280 mg équivalent d'acide ascorbique/ g d'huile essentielle. L'huile de *Satureja candidissima* étant la plus actif malgré que sa capacité à piégé DPPH ou réduire le fer ne sont pas si élevées d'où l'intérêt d'évaluer d'autres activités dans nos prochaines études sur cette espèce.



**Figure n° 9:** Capacité antioxydante totale exprimée en mg EAA/g HE des huiles essentielles.

Av : *Ammoides verticillata*, Mp : *Mentha pulegium*, Scal : *Satureja calamintha*, Scand : *Satureja candidissima*.

### III. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des quatre huiles essentielles évaluée contre sept bactéries et une levure, en premier lieu, la méthode de disque est utilisée pour discriminer les huiles les plus actives, qu'on évalue leurs concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) par la méthode de microdilution sur microplaque.

Une étude de l'indice aromatique des quatre huiles essentielles a été aussi effectuée, par l'évaluation de l'activité sur un échantillon de souches responsables d'infection chez des malades hospitalisés.

#### III.1. Méthode de disque

Les résultats des diamètres d'inhibition sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau n°10:** les diamètres des zones d'inhibition des différentes huiles essentielles (en mm)

HE \ Souches microbiennes	<i>Ammoides verticillata</i>	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Satureja calamintha</i>	<i>Satureja candidissima</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.5±0.70	6±0	6±0	6.5±0.70
<i>Escherichia coli</i>	23.5± 0.70	8±0	11.75±0.35	13±0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9.5± 0.35	7±0	7±0	7.5±0.70
<i>Staphylococcus aureus</i>	33± 1.41	15±1.41	17.5±0.70	17.5±0.70
<i>Listeria monocytogenes</i>	32±0	11±0	16.5±0.70	14±0
<i>Bacillus cereus</i>	35± 1.41	14±1.41	15.5±2.12	35±1.41
<i>Micrococcus luteus</i>	45±1.41	17±0.70	23.25±1.60	18±1.41
<i>Candida albicans</i>	43± 1.41	40.5±2.12	27±1.41	25±1.41

- A une concentration de 10 µl/ disque, on peut observer que les quatre huiles essentielles présentent une activité antibactérienne et anti-levure remarquable ;
- L'HE d'*Ammoides verticillata* a l'activité la plus élevée, elle est extrêmement active contre cinq souches bactériennes et la levure avec des diamètres d'inhibition dépassant les 23mm, tandis qu'une faible activité est remarqué contre *Klebsiella pneumoniae*, et la souche *Pseudomonas aeruginosa* étant résistante, cette HE est alors plus actif contre les Gram (+) que les Gram (-).
- L'HE de *Mentha pulegium* est extrêmement active contre *C. albicans*, et considérée comme moyennement active contre *S.aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus* et *M.luteus*



avec des zones d'inhibition ne dépassant pas les 17 mm, tandis que les trois autres bactéries sont résistantes ;

- Les deux espèces de *Satureja* ont des HE plus ou moins actives, l'espèce *calamintha* est la plus active avec un indice de deux croix (++) contre *M. luteus* et la levure *C.albicans*, cette dernière est aussi sensible à l'HE de *S.candidissima* ainsi que *Bacillus cereus* avec un diamètre d'inhibition de 35mm, mais comme pour toutes les autres HE, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* sont aussi résistantes.

### III.2. Méthode de microdilution

Après la vérification de l'existence d'une activité antimicrobienne à l'aide de la méthode de disque, la méthode de micro-dilution en milieu liquide est réalisée pour les souches dont la zone d'inhibition est importante (>9 mm) (88).

La CMI est alors la concentration de la première cupule où on n'observe pas un trouble à l'œil nu et l'inoculation du contenu des cupules au-delà de CMI, sur milieu gélosé est nécessaire pour déterminer la nature de l'activité antimicrobienne (bactéricide ou bactériostatique) et déduire la CMB.

Pour la détermination de ces valeurs critiques une fourche de concentration d'HE dans le DMSO, allant de 0.195 à 100 µl/ml pour les HE d'*Ammoides verticillata*, *Mentha pulegium* et *Satureja candidissima*, tandis que la concentration la plus élevée est de 25 µl/ml pour l'HE de *Satureja calamintha* (par manque d'HE).

Les résultats des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des différentes huiles essentielles sont représentés dans le tableau n°11.

En vu des résultats on peut constater que :

- Les valeurs des CMI viennent confirmer les résultats de la méthode de disque, pour l'HE d'*Ammoides verticillata* qui induisait les zones d'inhibitions les plus larges, les CMI ne dépassent pas 2.34 µl/ml, la levure est la plus sensible avec une CMI de 0.195 µl/ml, puis à 0.78 µl/ml pour *S. aureus*, *M. luteus* et *B. cereus*, tandis que *Klebsiella pneumoniae*, la souche la plus résistante à cette HE, est inhibée à une concentration plus élevée de 25 µl/ml ;
- HE de *Mentha pulegium* inhibe la levure *C. albicans* et *S. aureus* à une CMI =0.78 µl/ml, et les autres souches sensibles à partir de 3.125 µl/ml ;
- HE de *Satureja calamintha* inhibe la croissance des bactéries Gram (+) à des concentrations entre 1.17 et 1.56 µl/ml, à une concentration moins importante (0.78

µl/ml) pour la levure, et à une CMI plus importante (12.5 µl/ml) pour inhiber *Escherichia coli* ;

- HE de *Satureja candidissima*, exerce une inhibition de croissance à des concentrations ne dépassant pas 6.25 µl/ml contre les Gram (+), la plus sensible étant *S. aureus* (0.78 µl/ml) et la levure *C. albicans*, la seule bactérie Gram (-) sensible à cette HE, *Escherichia coli* est inhibée à 12.5 µl/ml.
- Les CMB les plus remarquables, sont aussi ceux de l'HE d'*Ammoides verticillata*, où l'effet bactéricide sur *C. albicans* est à 0.78 µl/ml, entre 3.125 et 6.25 µl/ml pour *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* et *M. luteus*, tandis qu'elle est supérieure à 100 µl/ml pour *B. cereus* et *K. pneumoniae*.

**Tableau n° 11:** Concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) des huiles essentielles en µl/ml et le rapport CMB/CMI

HE Souches	<i>Ammoides verticillata</i>			<i>Mentha pulegium</i>			<i>Satureja calamintha</i>			<i>Satureja candidissima</i>		
	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
<i>Escherichia coli</i>	1.56	3.125	<b>2.003</b>	/	/	/	12.5	>25	/	12.5	100	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25	>100	>4	/	/	/	/	/	/	/	/	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.78	4.6875	6.009	0.78	100	128.20	1.56	12.5	8.012	0.78	100	128.205
<i>Listeria monocytogenes</i>	2.3425	6.25	<b>2.668</b>	12.5	>100	>8	1.17	25	21.367	6.25	50	8
<i>Bacillus cereus</i>	0.78	>100	> 128	6.25	>100	>16	1.17	>25	/	3.125	>100	>32
<i>Micrococcus luteus</i>	0.78	6.25	8.012	3.125	100	32	1.56	3.125	<b>2.003</b>	6.25	50	8
<i>Candida albicans</i>	0.195	0.78	<b>4</b>	0.78	12.5	16.025	0.78	2.3425	<b>3.003</b>	0.78	6.25	8.012

- En deuxième lieu vient *Satureja calamintha* avec des CMB de 2.34 et 3.125 µl/ml contre *C. albicans* et *M. luteus* respectivement, pour les autres souches les concentrations bactéricides sont supérieures à 12.5 µl/ml.
- L'effet bactéricide de l'HE de *Satureja candidissima* est moins important, avec une CMB de 6.25 µl/ml contre la levure, et des CMB ≥ 50 µl/ml contre les différentes bactéries.
- L'HE de *Mentha pulegium* ayant l'activité bactéricide la plus faible, qu'il soit contre la levure avec CMB=12.5 µl/ml, et CMB ≥ 100 µl/ml pour les bactéries Gram (+).

- Le rapport CMB/CMI nous une idée plus précise sur l'effet d'une substance antimicrobienne, en rappelant que si ce rapport est inférieure à 4, l'HE est considérée comme bactéricide et s'il est supérieure à 4, l'HE est ainsi considérée comme bactériostatique.
- De ce fait, l'HE du « NOUKHA » est qualifiée comme bactéricide contre le bacille Gram (-) '*E. coli*', et le bacille Gram (+) '*L. monocytogenes*', et la levure '*C. albicans*', mais bactériostatique pour les autres bactéries.
- L'HE de « NABTA EL KHADRA » a aussi le ratio CMB/CMI <4, et ainsi a effet bactéricide contre la levure *C. albicans* et la cocci Gram (+), *M. luteus*, tandis que les autres bactéries étaient plus résistantes, et l'HE de *Satureja calamintha* n'a pu avoir qu'un effet bactériostatique.
- Les HE de *Mentha pulegium* « FLIOU » et de *Satureja candidissima* « NABTA EL BIDA » sont à effet bactériostatique contre toutes les souches sensibles.

### III.3. Indice aromatique

L'indice aromatique est une valeur statistique qui donne une idée à l'aromathérapeute sur le pouvoir bactéricide d'une huile essentielle, et ainsi de lui permettre de démarrer une aromathérapie d'urgence en attendant les résultats de l'aromatogramme, toute en ayant plus de chance de faire le bon choix.

Le grand nombre d'aromatogramme réalisé sur le même germe prélevé sur différents terrains permet d'apprécier mieux l'effet d'une huile essentielle, car on sait très bien qu'une même souche issue de deux terrains différents donnera deux aromatogrammes souvent très différents, d'où l'intérêt d'avoir l'indice aromatique d'une huile essentielle qu'on qualifie germicide plus l'indice est proche de 1.

D'après l'étude réalisée sur un échantillon de 146 souches isolées de différents types de prélèvement chez des patients à l'Hôpital Militaire Universitaire d'Oran dans la période Janvier-Février-Mars 2014.

Avant tous, il faut savoir que les infections urinaires représentent 43.15% de l'ensemble des infections rencontrées à cette période, suivi des infections purulentes des plaies avec 28.08%, tandis qu'on a mis sous la catégorie "autres": les prélèvements vaginaux, nasals, d'écoulement mammaire, sperme, hémoculture, ainsi que les prélèvements de cathéter, regroupés représentent 23.98%.

L'ensemencement des prélèvements a permis d'isoler des Gram (-) depuis 77.38% des cas, et des Gram (+) à partir de 22.6% des cas (tableau n°12), *Escherichia coli* étant le germe

responsable de plus de 37%, *Klebsiella pneumoniae* 10.27%, *Pseudomonas aeruginosae* 9.59%, *Staphylococcus aureus* seule est responsable de 10.27% des infections.

L'aromatogramme à l'aide des quatre huiles essentielles sur les souches rencontrées a permis d'établir des indices aromatiques partiels selon le germe isolé de différents terrains et puis des indices aromatiques généraux contre chaque groupe de germe : Gram (+) et Gram (-) (tableau n°13).

**Tableau n° 12:** les germes responsables d'infection chez les patients

	Germe	Nombre des cas	%
<b>Gram -</b>	<i>Escherichia coli</i>	55	37,67
	<i>Proteus mirabilis</i>	11	7,53
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14	9,59
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15	10,27
	<i>Enterobacter cloacae</i>	5	3,42
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	9	6,16
	<i>Serratia marcescens</i>	4	2,74
<b>Gram +</b>	<i>Enterococcus faecalis</i>	8	5,48
	<i>Streptococcus sp</i>	8	5,48
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	1,37
	<i>Staphylococcus aureus</i>	15	10,27

En premier lieu, l'indice de croix est défini selon la zone d'inhibition induite par l'huile essentielle contre le germe :

- une zone < 8mm est symbolisée par une croix (+) ;
- 8mm ≤ une zone ≤ 9mm symbolisée par 2 croix (++) ;
- et enfin une zone > 9mm est symbolisée par 3 croix (+++).

Et puis l'indice aromatique de chaque HE contre un germe définis, Indice aromatique contre le groupe des bactéries Gram (+) ou (-), ainsi que l'indice aromatique moyen de l'HE contre toutes les souches isolées sont calculés.

Les résultats sont représentés dans le tableau n°13, et on peut conclure :

- l'HE d'*Ammoides verticillata* est la plus active contre les souches isolées quelque soit le terrain de prélèvement, où on remarque que l'indice aromatique est très proche ou égale à 1 pour toutes les bactéries, sauf pour *Pseudomonas aeruginosa* qui est résistante dans la plus part des cas, 3 souches /14 isolés de différents prélèvements sont faiblement sensibles avec des zones d'inhibition entre 9 et 11mm. De ce fait l'indice aromatique contre les Gram (-) c'est diminué vers 0.881, par contre les Gram (+) sont tous sensibles et leur indice aromatique est égale à 1.
- Les autres huiles essentielles sont moins efficace contre les Gram (+) ou (-), et leurs activités sont terrain dépendantes.
- Si on commence avec l'HE de *Mentha pulegium*, elle est inactive contre *Pseudomonas aeruginosa* dans tous les types de prélèvements, une activité faible contre *Serratia marcescens*, tandis que les autres Gram (-), provenant de différents terrains, sont sensibles. Pour les Gram (+), *Enterococcus faecalis* est la plus résistante (10 souches/24 sont résistantes) seulement 14 souches/24 sont inhibées avec des zones  $\geq$  10mm.
- L'huile de *Mentha pulegium* a donc un indice aromatique de 0.688 contre les Gram (-) et de 0.842 pour les Gram (+), et un indice moyen de 0.744.
- *Satureja calamintha* a une HE plus active sur les Gram (+) que sur les Gram(-), avec un indice de 0.869 pour les premiers et 0.472 pour les deuxièmes, le fait de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* et *Serratia marcescens* a diminué l'indice aromatique sur les Gram (-) ainsi que l'indice global vers 0.616, malgré que l'activité contre les autres souches isolées de plusieurs prélèvements était modérée à bonne, avec l'indice de 0.616 cette HE est la moins active parmi les quatre étudiées.
- L'huile de *Satureja candidissima* a révélé une bonne activité antibactérienne contre les souches pathogènes isolées pendant la période d'étude, avec des indices aromatiques dépassant 0.5 contre 6 bactéries Gram(-), en parlant d'*E.coli*, *P.mirabilis*, *K.pneumoniae*, *A. baumannii*, *S. marcescens* et *E. cloacae*, tandis que *P. aeruginosa* est aussi résistante à l'effet de cette huile, alors un indice de 0.166 est trouvé c'est-à-dire que seulement 3 souches/ 11 isolées à partir de différents terrains étaient plus ou moins sensible avec des zones d'inhibition entre 9 et 12mm. De ce fait l'HE de *Satureja candidissima* et *Ammoides verticillata* seulement peuvent avoir une certaine activité contre cette bactéries qui révèle des résistances incroyable vis-à-vis des extraits naturelles ou même les produits de synthèse.

- Pour *Satureja candidissima*, l'indice aromatique contre les Gram (-) est de 0.679, alors plus active que l'autre espèce du même genre (*Satureja calamintha*), et aussi pour les Gram +, les 4 souches pathogènes sont sensibles quelque soit le type de prélèvement, et on n'a pu avoir un indice de 0.910, plus élevé que celui de l'HE de *Mentha pulegium* et *Satureja calamintha*.
- On a aussi calculé l'indice aromatique moyen contre toutes les bactéries pathogènes isolées pendant la période d'étude, et alors on peut classer les quatre HE du plus active vers le plus faible comme suit :

*Ammoides verticillata* > *Satureja candidissima* > *Mentha pulegium* > *Satureja calamintha*  
 0.924 > 0.763 > 0.744 > 0.616

- Selon la classification de Belaiche 1979, et malgré les réponses inopinées de quelques souches contre les HE, cela n'empêche que les quatre HE de notre étude sont qualifiés comme des « GERMICIDES MAJEURES ».

**Tableau n° 13:** Indices aromatiques pour chaque germe et les indices moyen pour chaque huile essentielle.

		<i>HE Ammoides verticillata</i>			<i>HE Mentha pulegium</i>			<i>HE Satureja calamintha</i>			<i>HE Satureja candidissima</i>		
<i>Indice</i> <i>Germe</i>		IC	IA	IA par Gram	IC	IA	IA par Gram	IC	IA	IA par Gram	IC	IA	IA par Gram
		<i>Gram -</i>	<i>Escherichia coli</i>	165	1	0.881	158	0,957	0.688	126	0.763	0.472	155
<i>Proteus mirabilis</i>	33		1	31	0,939		29	0.878		32	0.969		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8		0,19	3	0,071		2	0.047		7	0.166		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	44		0,977	37	0,822		11	0.244		27	0.6		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	27		1	26	0,962		21	0.777		23	0.851		
<i>Serratia marcescens</i>	12		1	4	0,333		0	0		6	0.5		
<i>Enterobacter cloacae</i>	15		1	11	0,733		9	0.6		11	0.733		
<i>Gram +</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	24	1	1	14	0,583	0.842	15	0.625	0.869	17	0.708	0.910
	<i>Streptococcus sp</i>	24	1		20	0,833		21	0.875		23	0.958	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	1		6	1		6	1		6	1	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	45	1		43	0,955		44	0.977		44	0.977	
<i>IA Moyen</i>		<b>0.924</b>			<b>0.744</b>			<b>0.616</b>			<b>0.763</b>		

IC : Indice de Croix, IA : Indice Aromatique, IA par Gram : Indice aromatique selon le Gram des germes.



**Cinquième Partie**

**Discussion**

## **I. Rendement en huile essentielles des différentes plantes**

### **I.1. *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq.**

La plante qu'on a récoltée d'Ain Témouchent a un rendement de 2.59 % (m/m), ce qui est proche de celle obtenue par El Ouariachi et *al.*, 2011, au Maroc (2%) (46), Khajeh et *al.*, 2004 de l'Iran (2,8% (v/w)) (53) et par Bendahou, 2007 (2.7%) (97), tandis que c'est moins important que l'étude sur la même espèce en Pakistan d'Ashraf et Batty (1975) ou le rendement est de 3,5 à 5,2% (98), et aussi les résultats apportées par Kambouche et El-Abed, 2003, l'étude faite sur l'espèce récoltée d'Oran (54), l'étude de Bekhechi (99) sur l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* récoltée à différents stages de floraison a permis d'avoir des rendements proches ou plus élevés que notre espèce récoltée d'Ain Témouchent.

### **I.2. *Mentha pulegium* L.**

Montes et *al.*, 1986 rapportent que *Mentha pulegium* de provenance de Chili a un rendement en huile essentielle de 2,3%, (96) ce qui est plus important que la notre. Par ailleurs, Sivropoulou et *al.*, 1995 (97) ont obtenu une teneur en huile essentielle de *Mentha pulegium* récoltée dans trois stations en Grèce, de l'ordre de 1,6 à 2% (v/m). Par contre Teixeira Duarte et *al.*, 2005 (98), avancent que le rendement en huile essentielle de cette même espèce végétale d'origine Brésilienne est très faible, de l'ordre de 0,42% (m/m). Cette dernière étude rapporte un rendement nettement plus faible que la notre (1.37%).

### **I.3. *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq.**

L'espèce récoltée dans différentes stations en Corse, sont faibles de l'ordre de 0,17 à 1,2% (80, 103). Par ailleurs, Fraternali et *al.* en 1998 (104), révèlent que cette espèce végétale est très pauvre en huiles essentielles, avec un rendement de l'ordre de 0,22cc/100g (v/w), même l'espèce récoltée par Ech-Chahad et *al.* (77), en Maroc a une teneur aussi faible de 0.082%, plus faible que la notre qui a donné 0.43% d'huile essentielle.

### **I.4. *Satureja candidissima* (Munby.) Briq.**

Puisque notre étude sur l'espèce *Satureja candidissima*, est considérée comme la première faite en Algérie et même au monde, selon nos meilleurs connaissances, on a seulement fait une comparaison par rapport aux autres espèces du même genre.

Le rendement en huile essentielle des parties aériennes de notre spécimen récolté d'Ain Témouchent est de 0,90% (p / p), c'est un rendement important par rapport à d'autres espèces

de genre *Satureja*, comme *Satureja calamintha. nepeta* L. (appelée par le même nom par les habitants: Nabta) d'Algérie (0,45%) ou *Satureja Calamintha* (L.) Scheele. du Maroc avec un rendement de 0,082% (73) ou plusieurs *Satureja* sp. de la Turquie (0,4 à 1,1%) (105).

## II. Analyses chromatographiques des huiles essentielles

### II.1. *Ammoïdes verticillata* (Desf.) Briq.

Les huiles essentielles *d'Ammoïdes verticillata* ont fait l'objet de plusieurs travaux décrivant leurs compositions chimiques très variés:

- Les premiers travaux effectués par Nigram et *al.* en 1963 (106), rapportent que l'huile essentielle extraite des graines de cette espèce provenant d'Inde est riche en thymol et en  $\gamma$ -terpinène.

- L'analyse de l'huile essentielle des graines de cette espèce végétale de provenance de Pakistan (98) et celle de provenance de Turquie (52), leur a permis d'obtenir des teneurs élevées en thymol, en  $p$ -cymène et en  $\gamma$ -terpinène.

- Une étude de la composition chimique de l'huile essentielle des graines et de la partie aérienne de cette plante, effectuée par Balbaa et *al.* en 1973 (58), révèle l'existence de deux groupes chimiques différents, soit: thymol/  $p$ -cymène/ $\gamma$ -terpinène (graines);  $\gamma$ -terpinène/ $p$ -cymène/thymol (partie aérienne).

- L'huile essentielle *d'Ammoïdes verticillata*, de provenance d'Ethiopie, révèle sa richesse en carvacrol (69%) (107).

- Khajeh et *al.* en 2004 rapportent également que l'huile essentielle des graines de cette plante, récoltée en Inde, est riche en thymol (49,0%), en  $\gamma$ -terpinène (30,8%) et  $t$  ou  $p$ -cymène (15,7%) (53).

- Par contre, la caractérisation de l'huile essentielle des graines *d'Ammoïdes verticillata*, récolté en Inde, montre que les huiles essentielles de cette plante présentent de fortes teneurs de carvone (46,2%) et de limonène (38,1). Ce type chimique a été signalé uniquement par Choudhury et *al.* en 1998 (108).

- L'huile essentielle *d'Ammoïdes verticillata* d'Algérie a fait l'objet de quelques études. Kambouche et El-Abed (2003) ont déterminé la composition chimique de l'huile essentielle *d'Ammoïdes verticillata*, récolté dans la région d'Oran. L'analyse de cette huile par différentes méthodes a permis la mise en évidence de  $p$ -cymène (14,08%), le thymol (12,96%), le limonène (11,89%) et le  $\gamma$ -terpinène (6,79%). et carvacrol en très faible teneur, de l'ordre de

0,25% (54), par contre l'isothymol étant le composé majoritaire ( 51,20%), a été démontré par l'étude de Bekhechi et *al.* 2010 (55) dans l'ouest d'Algérie que l'isothymol était le composant majeure des parties aériennes juste au début de la floraison, si non à maturité, le thymol était majoritaire.

- Bendahou (2007) a analysé l'huile essentielle de cette même plante récoltée à Terni (région de Tlemcen). Les composés majoritaires sont: thymol (50,1%), suivi de p-cymène (15,6%), de limonène (15,0%), de carvacrol (8,8%) et de  $\gamma$ -terpinène (6,6%) (97).

- En effet, il a été démontré que les teneurs en thymol et en carvacrol diminuent alors que les proportions en  $\gamma$ -terpinène et en p-cymène augmentent après un stockage prolongé des graines de cette espèce (109).

- Les résultats d'étude de Bekhechi sur la variabilité de l'huile essentielle de cette espèce ont révélé que ces huiles appartiennent à un seul groupe chimique à savoir thymol/limonène/p-cymène/ $\gamma$ -terpinène (98), et c'est le même chémotype rencontré dans notre échantillon.

## **II.2. *Mentha pulegium* L.**

Plusieurs études sur l'huile essentielle de cette espèce ont été réalisées à travers le monde, car c'est une plante très utilisée en médecine traditionnelle et en cuisine, d'où la nécessité de découvrir la composition de huile essentielle responsable de son arôme fort et caractéristique. Toutes ces études ainsi que la présente, se rejoignent de la richesse de cette espèce en pulegone à des pourcentages différents dus généralement aux différences climatiques entre les zones d'étude.

L'analyse CG/SM de notre échantillon a révélé 19 composants, dont les majoritaires sont : le pulegone (45.17%), menthone (33.98%), qui peuvent être rencontrés dans la plus part des huiles essentielles de cette espèce de provenance de différentes régions, en plus on peut constater la présence du trans- dihydrocarvone (5.18%), iso- menthone (1.94%), piperitenone (1.66%) et D- germacrene (1.11%).

Les diverses études effectuées sur la caractérisation de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* ont permis d'avancer l'existence d'une variabilité chimique de cette huile essentielle:

- La première étude effectuée sur la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* est celle de Zwaving et Smith en 1971, qui ont identifiés les

composés majoritaires suivants : la pipéritone (70%), le limonène (11%), le menthone (8%) et l'isomenthone (7%), à partir de pieds récoltés en Australie (110).

- L'huile essentielle de l'espèce récoltée en Angola, est riche en pulégone (42%), le menthol (16,24%), l'isopulégone (6,80%) et l'isomenthone (5,02%) (111).

- L'huile essentielle de *Mentha pulegium* provenant d'Uruguay, contient de la pulégone (26,8 - 41,1%) et de l'isomenthone (35,6 - 40,6%) (112).

- En 1995, les travaux réalisés par Sivropoulou et *al.*, sur l'huile essentielle *Mentha pulegium* provenant de 3 provinces de Grèce, ont montré l'existence de 3 races chimiques différentes à savoir: pulégone/piperitone, pulégone/isomenthone et isomenthone/menthone (101).

- L'huile essentielle de *Mentha pulegium* du Maroc avait la composition suivante: piperitone (35.56%), piperitenone (21.18%),  $\alpha$ -terpineol (10.89%), pulegone (6.452%), pipéritone oxide (4.02%), menthol (3.28%), menthone (3.09%), neomenthol (2.80%), menthofuran (2.15%), isomenthone (1.56%), carvone (1.13%), geranyl acétate (1.06%), D-germacrène (1.03%) et limonène (1.02%) (113).

- Et enfin l'étude de Bekhechi en 2009 sur la variabilité de la composition de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* dans la région de Tlemcen, a montré la forte concentration en pulégone et menthone, représentant entre 62.7 à 78 % et 7.7 à 23.1% respectivement (114).

### **II.3. *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq.**

Notre huile essentielle est caractérisé par la présence d'Isomenthone comme composé majoritaire à 45.61%, suivi par l'isomenthol (21.23%) et puis le pulegone (17.99%), autres monoterpènes oxygénés ont été identifiés à savoir : menthone et terpineol-4-ol (1.60% chacun),  $\beta$ -phellandrene +cinéole (1.9%), en plus d'autres composant comme piperitone (2.52%),  $\alpha$ -terpineol (1.14%) et  $\beta$ -pinène (0.78%).

Des sesquiterpènes hydrocarboné ou oxygéné ont été aussi identifiés, le D-germacrène (0.41%). Le E-caryophyllène (0.58%).

Ce type d'huile essentielle de *Satureja calamintha* caractérisé par l'Isomenthone/Isomenthol n'était pas rapporté dans les études antérieures.

D'après plusieurs travaux sur la composition des huiles essentielles de *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq. de divers regions, on peut constater un polymorphisme chimique très important:

- Le borneol comme composé majoritaire (34,52 %), de  $\alpha$ -campholenic aldéhyde (14,26 %), de cedren-13-ol (6,45 %), et de manoyl-oxide (3,78%) accompagnés d'autres constituants à des teneurs relativement faibles : diepicedrene-1-oxide (2,05 %), spathulenol (2,15 %), aristolene-oxide (2,42 %), et spathulenol (2,63 %), totalisant 68,26 %, est le profil de l'espèce de Maroc (77).
- L'espèce Algérienne a fait l'objet de quelques études. Vingt-six composants représentant 98,2% de l'huile ont été caractérisés par l'étude de Kerbouche et *al.* 2013, les monoterpènes oxygénés (97,4%) étaient la classe prédominante avec la pulegone (39,5%), le néo-menthol (33%) et l'isomenthone (19,6%) comme constituants majeurs (79), tandis que l'étude de variabilité dans la région de Tlemcen rapporté par Bekhechi en 2009 (114), un autre type a été identifié dont les composants majoritaire sont le pulegone et l'isomenthone à des concentration de (33.3-35.5%) et (17.2-27.1%) respectivement.
- 40 échantillons de Corse ont été analysés, et la moitié sont caractérisée par la prédominance de menthone (teneur moyenne 43,4%). pulegone (18,9%), l'oxyde de trans-pipéritone (8,3%) et le limonène (5,2%) étaient également des constituants importants. D'autres composés sont parfois présents en quantités importantes: isomenthone (jusqu'à 16%), pipéritone (jusqu'à 12,2%), néomenthol (jusqu'à 10%) et pipériténone (jusqu'à 7,1%) (80).
- La *C. nepeta* d'Espagne est riche en limonene (11.5%), 1,8-cineole (34.9%) et carvone (37.6%) (81).
- Monforte et *al.* 2011 (82) ont étudié des échantillon d'Italie, 64 constituants identifiés représentant 99.7%, dont le carvone est le composant majoritaire (38.7%) Tandis que l'huile de Calabria (située à l'extrême sud-ouest de la péninsule Italienne) en début de floraison est riche en pulegone (58.85%) (83).
- Quatre chémotypes ont été identifiés: oxyde de pipéritone, oxyde de pipériténone, piperitone-menthone et pulegone, pour l'huile essentielle de 46 plantes spontanées de *Calamintha nepeta* (L.) Savi sp. *nepeta* en pleine croissance dans le Sud d'Italie (Salento, Apulia) (84).
- Un nouveau chémotype a été identifié dans les huiles extraites du calament portugais avec l'isomenthone (35,8% -51,3%), de 1,8-cineol (21,1% -21,4%) et de trans-isopulegone (7,8% -6,0%) comme composés majoritaire (85).

#### II.4. *Satureja candidissima* (Munby.) Briq.

Cette plante est très rare par rapport aux autres espèces du même genre, elle était récoltée et identifiée la première fois à Oran par Faure et Maire. en 1848 (44), malgré sa rareté, mais la population locale l'utilise toujours pour remédier contre la grippe et fièvre et aussi les troubles gastro-intestinaux, mais aussi comme antimicrobien et antifongique, et même en cuisine pour aromatiser les sauces, car elle a une odeur agréable.

Selon les résultats du Tableau n°8, on peut constater la richesse de son huile essentielle en monoterpènes à savoir, pulegone (47.62%), menthone (24.50%), en plus du terpinen-4-ol (11.63%) et isomenthol (2.80%).

Selon nos connaissances notre étude est la première sur cette espèce, alors on a fait une comparaison de sa composition avec d'autres espèces du même genre.

- On peut remarquer que la composition de l'huile essentielle de *Satureja candidissima* est très différente que celle de *Satureja calamintha* apporté un peu plus haut, malgré que la population locale les appelle avec le même nom (Nabta). Cette deuxième espèce est riche en isomenthone/isomenthol/pulegone.
- Selon l'étude d'Azaz et al. En 2002, sur les huiles essentielles de quelques espèces du genre *Satureja*, une grande variabilité a été remarquée.
- Les analyses montrent que le carvacrol (42.1-59.2%) est le composé majoritaire de *S. icarica*, *S. pilosa* et *S. boissieri*, en plus de p-cymène (8.1-35.5%) et borneol (4.5-6.3%). Une autre espèce *S. coerulea* contient principalement des sesquiterpènes comme  $\beta$ -caryophyllène (10.6%), d-germacrène (4.7%) et caryophyllène-oxide (8%) (105).
- Une analyse des huiles essentielles de deux espèces d'origine Croatie, la *S. montana* et *S. cuneifolia* a aidé à identifier le carvacrol (63.4%) et thymol (19.4%) comme composés majoritaires pour l'espèce montana, carvacrol (17.7%) et spathulenol (13.2%) pour l'espèce cuneifolia.

L'espèce *candidissima* analysée dans notre étude révèle une composition plus proche à ses membres de la même famille (Lamiaceae), que les espèces du même genre qui représentent une grande diversité compositionnelle.

Les variations rencontrées dans la composition chimique des huiles essentielles, du point de vue qualitatif et quantitatif, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, à la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et à la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques.

### III. L'activité antioxydante

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires (89,115).

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le  $\beta$ -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}\cdot$ ) et superoxydes ( $\text{O}_2\cdot$ ) (115,116).

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes  $\text{ROO}\cdot$  par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter); ou les radicaux  $\text{ABTS}\cdot$  (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre  $\text{DPPH}\cdot$  (diphényl-picrylhydrazyle) (115, 116, 117).

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester (118,119).

Dans ce cadre, dans notre étude, on s'est intéressé à l'évaluation de l'activité antioxydante par trois différentes méthodes, à savoir :

- La capacité antioxydante totale : Il s'agit d'un indice de la capacité combinée de tous les antioxydants présents dans l'aliment ou l'extrait naturel à neutraliser les radicaux libres.
- Le test DPPH (Diphenylpicrylhydrazyl): Ce procédé est basé sur la réduction du radical synthétique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, qui est un radical stable et de coloration violette.



- Et enfin l'évaluation de l'activité antioxydante par réduction de fer (FRAP) est une méthode facile et reproductible.

### **III.1. *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq.**

L'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* qu'on a récoltée de la région d'Ain Témouchent, a révélé une bonne capacité antioxydante totale de 318.06 mg EAA/g HE, une concentration d'inhibition de 50% du radical DPPH de 20.84 µg/ml, et une EC<sub>50</sub> réduction de fer de 534.6 µg/ml.

Les résultats de piégeage du radical DPPH est proche de celle obtenue par El Ouariachi et *al.* en 2007 sur l'huile essentielle de la même espèce récoltée au Maroc (46).

Tandis que les huiles essentielles des feuilles et fleurs d'*Ammoides verticillata* de plusieurs régions de Tlemcen, ont inhibé 50% du radical DPPH à des concentrations plus poussées, de l'ordre de 131,6 et 154,1 µg/ml pour les feuilles des stations Terni et Ouzidane, et de l'ordre de 78,52 et 123,2 µg/ml pour les fleurs. La station de Beni Snous a révélé une activité antioxydante plus importante qui s'est traduit par des IC<sub>50</sub> de l'ordre de 76,47 et 78,81 µg/ml (120).

La composition de l'huile essentielle supporte sa capacité de piégeage de DPPH, le composant principal "thymol" présent dans l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* réagit avec le DPPH à la fois par les mécanismes HAT et SPLET, qui donnent à l'huile un potentiel élevé, sans oublier le rôle des monoterpènes (limonène, p-cymène Et γ-terpinène) pour améliorer l'activité en tant que donneurs d'hydrogène (121).

### **III.2. *Mentha pulegium* L.**

La concentration d'huile essentielle de *Mentha pulegium* qu'on a recueilli d'Ain Témouchent qui inhibe 50% de DPPH est de 183.86 µg/ml, un résultat comparable à celui trouvé par Ouakouak et *al.* en 2014, la plante était récoltée de la région de Reguiba, El-Oued (IC<sub>50</sub> = 157 µl/ml) (122).

EC<sub>50</sub> réduction de fer = 57.64 mg/ml pour notre spicimen, Teixeira et *al.* (123) ont rapporté une capacité de réduction de 6 µmol de Fe<sup>2+</sup> /g d'huile essentielle, et un IC<sub>50</sub> DPPH de 60.2 mg/ml, ce qui est nettement supérieure à l'IC<sub>50</sub> de notre huile essentielle.

Il est bien connu que l'activité antioxydante des huiles essentielles de plantes contenant des terpènes est due à leur capacité à être donneurs d'atomes d'hydrogène ou d'électrons et à capturer les radicaux libres, et c'est le cas pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium*.

### **III.3. *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq. et *Satureja candidissima* (Munby.) Briq.**

Les huiles essentielles des deux espèces de *Satureja* étaient les moins actives, qu'il soit pour piéger le radical libre DPPH ou réduire le fer, la même chose a été prouvé par Cherrat et *al.* en 2014, où *Satureja calamintha* Scheele. était la moins active parmi *Mentha pulegium* et *Lavandula stoechas* (124).

Malgré ça, leurs capacités antioxydante totale est importante de l'ordre de 282.62 et 329.72 mg EAA/g HE pour *Satureja calamintha* et *candidissima* respectivement, ce qui est prometteux, que ces deux huiles peuvent avoir des effets antioxydants autre que le pigeage de DPPH et réduction de fer.

## IV. Propriétés antimicrobiennes

### IV.1. Méthode de disque, CMI, CMB

#### IV.1.1. *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq.

L'huile essentielle de cette plante a exercé une très bonne activité antimicrobienne contre toutes les souches testées, Gram (-) ou (+) et même sur la levure *C. albicans*, sauf *P.aeruginosa*.

Plusieurs études confirment nos résultats :

- L'huile essentielle de la même espèce en Iran présentait des activités antimicrobiennes contre toutes les bactéries testées dans la dilution 0,05% (v / v) à l'exception de *P. aeruginosa*. L'huile essentielle a montré une forte activité antimicrobienne contre *S. aureus* et *B. subtilis* (CMI, 0,00025% v / v). La valeur de CMI pour *E. coli* était de 0,0005% (v / v) tandis que contrairement à notre huile, *K. pneumoniae* et *C. albicans* semblaient être les microorganismes présentant une résistance significative (60).
- Ceci est lié à la composition respective des huiles volatiles végétales, à la configuration structurale des composants constitutifs des huiles volatiles et à leurs groupes fonctionnels et aux interactions synergiques possibles entre les composants (125), les structures phénoliques telles que le thymol - le composant principal d'*Ammoides verticillata* et le carvacrol (3,30%) sont très actifs contre les microbes en raison de la présence du groupe hydroxyle. L'effet inhibiteur des phénols s'explique par des interactions avec la membrane cellulaire des microorganismes et est souvent corrélée à l'hydrophobicité des composés (126). Une augmentation de l'activité dépend également du type de substituant alkyle incorporé dans une structure cyclique non phénolique telle que vue dans le limonène (20,19%) et le p-cymène (15,70%). Toute cette information soutient l'activité antimicrobienne potentielle de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*.
- Malgré les caractéristiques antimicrobiennes du thymol et du carvacrol, Chamberlain et Dagley (127) ont constaté que la souche de *Pseudomonas* est capable de dégrader complètement le thymol et le carvacrol partiellement (128), ce qui explique sa résistance. Mais le thymol a démontré une activité antifongique par sa capacité à modifier la paroi cellulaire et la membrane des levures *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans* (129).
- Sinon, *Klebsiella pneumoniae* possède une capsule composée de polysaccharides acides complexes, protégeant les bactéries contre la phagocytose ou lorsqu'elles sont

exposées à des facteurs sériques bactéricides, et elles comportent des systèmes enzymatiques complexes qui semblent empêcher les huiles essentielles d'accéder à la fragile membrane interne (130).

#### **IV.1.2. *Mentha pulegium* L.**

Selon les résultats de la méthode de disque, l'huile essentielle de *Mentha pulegium* est plus active contre les Gram (+) avec des diamètres d'inhibition de 11 à 17mm, tandis que les Gram (-) sont résistants (6-8mm).

Les CMI, viennent aussi confirmer cette bonne activité, avec des valeurs ne dépassant pas 12.5 µl/ml, tandis que les CMB sont trop importantes et dépassant les 100µl/ml, ce qui a donné des rapports CMB/CMI supérieure à 4 et ainsi l'huile a un effet bactériostatique contre les bactéries testés.

La levure *C. albicans* est la plus sensible avec des zones d'inhibition de 40.5±2.12 mm, CMI=0.78 µl/ml et une CMB=12.5 µl/ml, mais toujours un rapport CMB/CMI > 4, et l'huile est bactériostatique contre la levure aussi.

Plusieurs études ont démontré l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* à travers le monde :

- L'étude de Mahboubi et Haghi, 2008 (Iran) sur l'huile de *Mentha pulegium* riche en : piperitone (38.0%), piperitenone (33.0%), vient confirmer l'effet de l'huile surtout sur les Gram (+) avec des zones d'inhibitions (8-21 mm) et  $0.25 \leq \text{CMI} \leq 4$  µl/ml, et une forte résistance des Gram (-) surtout *E.coli* (65).
- L'huile essentielle de l'espèce Portugaise riche en pulegone, a aussi une bonne activité contre *E.coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria spp.* et *Pseudomonas putida*, avec des CMI de 1.2 à 9.3 mg/ml, ces résultats sont suffisamment supérieure aux nôtres mais cela n'empêche que cette huile exerce une activité antimicrobienne, cette activité est surement due à la présence de pulegone, menthone et menthol (123), Duru et al. 2004, ont pu démontrer l'excellente activité antimicrobienne du pulegone sur une panoplie de bactéries (131). L'étude de la cytotoxicité de cette huile essentielle par Bakkali et al. 2008, a permis de découvrir le mode d'action, la cytotoxicité de cette huile est traduit par des détériorations de la membrane bactérienne qui se produit lorsque l'huile passe à travers la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique et perturbe la structure de leurs différentes couches de polysaccharides, acides gras et phospholipides (132).

#### IV.1.3. Les deux espèces de *Satureja*

L'espèce *calamintha* est la plus active avec un indice de deux croix (++) contre *M. luteus* et la levure *C.albicans*, cette dernière est aussi sensible à l'HE de *S.candidissima* ainsi que *Bacillus cereus* avec un diamètre d'inhibition de 35mm, mais comme pour toutes les autres HE, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* sont aussi résistantes.

En passant aux valeurs des CMI , on remarque que les deux espèces ont des CMI comprises entre 0.78 et 12.5 µl/ml, tandis que l'effet bactéricide de *calamintha* est plus important avec des CMB allant de 2.34 µl/ml, mais *candidissima* a des CMB plus élevées. Et puis les rapports CMB/CMI montrent que *calamintha* a un effet bactéricide pour la levure *C. albicans* et la bactérie Gram (+) *Micrococcus luteus*, et bactériostatique contre les autres souches, l'huile de l'espèce *candidissima* est bactériostatique contre toutes les souches testées.

- L'étude de Cherrat et *al.* 2014, (124) démontre que leur espèce *Satureja calamintha* est moins active que *Mentha pulegium*, ce qui n'est pas le cas dans notre étude, cela est due à la différence de composition, leur huile est riche en 1,8-cinéole qui est démontré qu'il a la plus faible activité antimicrobienne en comparaison avec autres monoterpènes oxygénés (133), tandis que notre huile essentielle est riche en iso-menthone, iso-menthol et pulegone qui sont connus par leurs capacités antimicrobienne.
- L'huile de l'espèce *candidissima* est riche en pulegone et menthone, ce qui interprète son effet sur plusieurs bactéries.

#### IV.2. Les indices aromatiques

Les études sur les indices aromatiques des huiles essentielles sont rares depuis que le médecin Belaiche P. a établie cette notion qui peut donner une idée sur l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles même avant d'établir l'aromatogramme surtout en cas d'urgence.

D'après les résultats de notre étude, on peut remarquer clairement que les quatre huiles essentielles sont actives contre les Gram + et les Gram- provenant de plusieurs types de prélèvements.

Les huiles essentielles *d'Ammoides verticillata* et *Satureja candidissima*, ayant des indices aromatiques supérieures à 0.5 pour chaque souche séparément, et aussi un indice moyen de 0.924 et 0.763, lui confère la notion de germicides majeurs car ces huiles essentielles exercent leurs effets quelque soit le terrain de prélèvement ;

En comparant avec les indices aromatiques regroupés dans le tableau de Belaiche P., 1979 (13), on peut constater que les huiles de thym et d'origan d'Espagne qui sont riches en thymol en phénols, comme le cas pour *Ammoides verticillata*, sont aussi considérées comme germicides majeurs avec des indices moyens de 0.711 et 0.873 successivement.

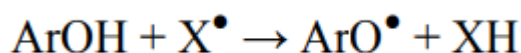
L'espèce du même genre que *Satureja candidissima*, qui est la sarriette des montagnes a un indice moins important que notre espèce, un indice de 0.457, cela est dû normalement à la différence de composition.

Les deux autres huiles essentielles de cette étude, à savoir, *Mentha pulegium* et *Satureja calamintha* ont des indices un peu moins importants est cela est dû à des fluctuations dans l'effet antibactérien sur les souches testées selon le terrain de prélèvement. Mais leurs indices sont plus importants que les espèces rapportées dans le tableau des indices (annexe 3), où on remarque un indice de 0.073 pour une espèce de menthe, et 0.457 pour une sarriette.

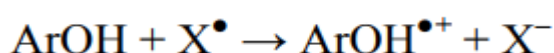
## V. Récapitulatif et établissant une relation composition-activité :

- L'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est riche en phénols et en monoterpènes ;
- Les huiles des trois espèces de Lamiacées sont riches en cétones ;
- Pulegone et menthone sont les composés majoritaires dans l'huile de *Mentha pulegium* et *Satureja candidissima*, tandis que *Satureja calamintha* est riche en iso-menthone et pulegone ;
- Présence d'alcools monoterpéniques dans les huiles des deux espèces de *Satureja* ;
  
- L'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* de la région d'Ain Témouchent appartient au même chémotype que les espèces recueillies à Tlemcen et à Oran, et c'est le chémotype : thymol/limonène/p-cymène/γ-terpinène ;
- Le chémotype de l'huile volatile de *Mentha pulegium* est : pulegone/menthone/dihydrocarvone, ou on remarque que le dihydrocarvone n'était pas présent dans les autres études sur cette espèce en Algérie ;
- Un nouveau chémotype pour l'espèce *Satureja calamintha* Sheele. sp.nepeta est identifié dans notre étude, c'est l'isomenthone/isomenthol/pulegone ;
- D'après notre étude qui est la première étude sur l'espèce *Satureja candidissima* (Munby.) Briq. en Algérie, on a pu identifier le chémotype : pulegone/menthone/terpinen-4-ol.
  
- L'huile volatile d'*Ammoides verticillata* est la plus active sur le plan antioxydant et antimicrobien ;
- *Satureja candidissima* est la plus active des trois Lamiacées.
- Les phénols présentant un ou plusieurs noyau aromatique, alors un système conjugué très apte pour délocaliser un électron non apparié et un ou plusieurs groupes hydroxyle susceptibles de céder un atome d'hydrogène ou un électron à un radical libre, pour cela sont plus piègeurs de radicaux libres, d'où on peut expliquer l'effet de piégeage du radical libre DPPH de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata*, mais cela n'empêche que ces phénols ont aussi des pouvoirs réducteurs d'ion, chélateurs de métaux et capteurs de l'oxygène singulier. Et dans ce contexte on ne peut passer sans parler du mécanisme de réaction des phénols avec les radicaux libres, appelé réaction « HAT and SPLET » (121, 134) qui consiste en :

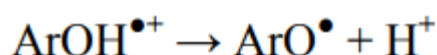
- **HAT (Hydrogen atom transfer)** : En premier lieu, le phénol réagit directement avec le radical libre qui est neutralisé, et une forme réduite de l'antioxydant phénolique apparaît.



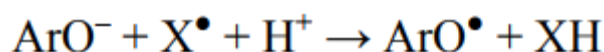
- **SET-PT (Single-electron transfer followed by proton transfer)**: cette réaction se déroule en deux étapes. Dans la première étape, la molécule antioxydante phénolique réagit avec le radical libre, pour donner une forme cationique de phénol et une forme anionique du radical apparaît. Cette réaction est thermodynamique.



Dans la deuxième étape, la forme cationique de l'antioxydant phénolique se décompose en un phénol réduit et un proton.



- **SPLET (Sequential proton loss electron transfer)**: là la forme anionique du phénol formé auparavant réagit avec un autre radical et le neutralise.



- Les monoterpènes à leurs tours sont de bons donneurs d'hydrogène, surtout ceux qui sont cycliques avec plus de deux double liaisons qui ont une réaction antioxydante comparable aux phénols (135), et c'est le cas du limonène, p-cymène et  $\gamma$ -terpinène qui représentent 44.31% de l'huile essentielle d'*Ammodendron verticillata*, tandis que les monoterpènes ne représentent que 5.08 de l'huile de *Satureja calamintha* et 3.81 de l'huile de *Satureja candidissima*.
- Le pulegone qui est parmi les composés majoritaires des huiles essentielles de *Mentha pulegium*, et les deux espèces de *Satureja*, était démontré qu'il a une activité antioxydante modérée (136), est ainsi plusieurs études sur des espèces de *Mentha pulegium* et *Satureja calamintha* dans différentes régions ont révélé une activité antioxydante modérée à faible (124, 137), tandis que les extraits aqueux ou méthanoliques de *Mentha pulegium* ont une



- bonne activité antioxydante grâce à la forte présence de phénols et de flavonoïdes dans ces extraits (138).
- La présence des alcools monoterpéniques dans les huiles des deux espèces de *Satureja*, peut expliquer l'activité antioxydante modérée, cela grâce aux groupes hydroxyles qui rendent ces alcools de bons donateurs d'hydrogène, et aussi d'électrons grâce à la présence de doubles liaisons comme le cas pour le linalool, terpinen-4-ol et iso-menthol qui représentent les monoterpénols de *Satureja calamintha* et *Satureja candidissima*.
  - Maintenant, la question qui peut se poser, pourquoi ces différences de pouvoir antioxydant entre des espèces proches sur le plan composition, comme le cas de nos deux *Satureja*, ou entre les effets de la même espèce mais provenant de divers zones d'études ???, alors cela est due soit à la configuration spatiale des différents composants ou à l'emplacement des groupes fonctionnels, ou bien aux interactions synergiques ou antagonistes entre les constituants majeurs et mineurs d'une huile essentielle. Pour cela il était nécessaire d'évaluer l'effet antioxydant par plusieurs méthodes car les huiles essentielles réagissent différemment selon l'oxydant présent dans le milieu réactionnel. En revenant aux résultats, on remarque que les quatre huiles essentielles ont des capacités antioxydantes totales (CAT) dépassant 280 mg équivalent d'acide ascorbique par gramme d'huile essentielle, ce qui est prometteur pour tester l'activité antioxydante de ces huiles essentielles avec d'autres systèmes chimiques, et contre d'autres oxydants.
  - De même l'activité antimicrobienne est très reliée fortement à la composition chimique d'une huile essentielle ;
  - Les composés phénoliques sont en tête de liste, d'après plusieurs études, le carvacrol, l'eugénol et le thymol sont des antimicrobiens très actifs, d'ailleurs c'est le cas des membres de la famille des phénols, qui sont connus pour leurs effets bactéricides ou bactériostatiques tout dépend de leur concentration ou des souches testées, cela est due leur hydrophobicité qui leur permettent de s'intercaler entre couches des membranes cellulaires, les sensibilisent, et provoquant ainsi une augmentation de la perméabilité et des fuites de constituants intracellulaires vitaux, et l'altération du système enzymatique bactérien et la respiration cellulaire (125, 139, 140).
  - Les groupes hydroxyles présents sur le noyau phénolique, ainsi que leurs positions jouent aussi un rôle dans l'amélioration de l'efficacité antimicrobienne, c'est le cas de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* qui contient 49.07% de phénols (thymol et carvacrol) ;

- Pour les monoterpènes, une substitution alkyl améliore encore l'activité, ainsi que l'inclusion de double liaison dans cet alkyl, par exemple limonene est relativement plus active que le p-cymene (125) ;
- Selon les études de Pelezar et *al.* 1988, l'alkylation améliore la réaction contre les Gram négatif (141). Toutes ces informations, viennent confirmer la meilleure activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* par rapport aux autres huiles de notre étude ;
- L'étude Naigre et *al.* 1996 (142) sur les cétones, démontre que la présence d'oxygène dans la structure de ces molécules, ainsi que dans tous les terpénoïdes carbonylés, révèle une activité antimicrobienne intéressante, cela peut alors expliquer l'activité des trois huiles de Lamiacées qui sont riches en cétones et en alcools monoterpéniques ;
- Il est aussi important de dire que les Gram-positif sont plus résistants aux huiles essentielles que les Gram-négatif (143), cela est dû à la différence structurelle des membranes des deux types de bactéries.
- Malgré les caractéristiques antimicrobiennes de thymol et de carvacrol, Chamberlain et Dagley (127) ont constaté que la souche *Pseudomonas* est capable de dégrader complètement le thymol et partiellement de carvacrol (128), ce qui explique sa résistance. Sinon, *Klebsiella pneumoniae* possède une capsule composée de complexes acido-polysaccharidique, qui protège les bactéries contre la phagocytose ou lorsqu'elle est exposée à des facteurs de sérum bactéricides, et elle porte des systèmes enzymatiques complexes, ce qui semble empêcher les huiles essentielles d'accéder à la fragile membrane intérieure (130).

**Conclusion**

**D**e nos jours tout le monde parle de stress oxydatif, de radicaux libres oxygénés, de la résistance aux antibiotiques acquise par les microorganismes. De l'apparition de toutes ces maladies qui ont résulté de ces déséquilibres dans nos corps et notre atmosphère. Et surtout des effets secondaires des produits de synthèse, qui étaient qualifiés de «miracles» car ils provoquent une spectaculaire guérison pour des maladies autrefois considérées comme incurables.

Donc, il est devenu nécessaire d'explorer de nouvelles pistes, et peut être il est temps de y revenir à la nature et essayer de valoriser les plantes médicinales qui sont utilisées depuis longtemps pour traiter des pathologies et pour améliorer santé et bien être.

D'où l'objectif de ce travail de thèse qui est d'étudier les activités antioxydantes et antimicrobiennes des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques qui sont très utilisées par la population locale pour se remédier de plusieurs maladies, mais aussi pour aromatiser des plats délicieux caractéristique de la région.

Il s'agit d'*Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. (Noukha) de la famille des Apiaceae, et trois espèces de la famille des Lamiaceae à savoir, *Mentha pulegium* L. (Fliou), *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq. (Nabta el khadra) et *Satureja candidissima* (Munby.) Briq. (Nabta el bida).

Des résultats prometteux ont été démontrés, qu'il soit sur le plan activité antioxydante ou antimicrobienne.

L'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est la plus active à piéger le radical DPPH ou réduire le fer, sa capacité antioxydante totale est très élevée aussi, les autres huiles sont moins actives à inhiber DPPH et réduire l'ion fer mais possèdent aussi des capacités antioxydantes totales, d'où il est important d'évaluer leurs activités avec d'autres protocoles pour positionner leurs mode d'action, et même *in vivo* car on sait très bien que ces produits naturels pour réagir différemment.

L'activité antimicrobienne évaluée par la méthode de disque, le recherche des CMI, CMB des quatre huiles essentielles, nous a permis de qualifier l'huile de « Noukha » comme bactéricide contre les souches testés, tandis que l'huile de « Fliou, Nabta el khadra et Nabta el bida » sont à effet bactériostatique.

L'attribution d'un indice aromatique pour ces huiles essentielles est d'une importance majeure pour aider les aromathérapeutes à choisir l'huile la plus efficace selon le terrain de prélèvement.

L'huile d'*Ammoides verticillata* est alors démontré d'être bactéricide majeur quelque soit le type de prélèvement, les autres huiles ont des indices élevés mais leurs réponses est inopinés et imprévisibles selon le terrain d'isolement du germe pathogène.

La composition des huiles essentielles, bien sure, à un rôle très important dans ces activités, d'où c'était nécessaire d'analyser nos échantillons, qui révèle des profils différents

qu'apportés par la littérature, et c'est ça la magie de la nature qui reflète la puissance du DIEU.

Toute plante s'adapte à son climat et aux changements environnementaux pour pouvoir synthétiser ces substances miraculeuses, qui servent non seulement pour se défendre des maladies, des herbivores et des prédateurs, mais aussi qui nous servent d'agents médicinaux pour combattre les maladies et améliorer la santé.

Enfin comme perspectives à nos travaux, on a prévu :

- L'étude de l'activité antioxydante par d'autres méthodes, surtout après qu'on a remarqué une bonne capacité antioxydante totale, et surtout l'évaluation *in vivo* pour confirmer ce potentiel antioxydant, et pourquoi pas utilisé ces huiles essentielles comme de naturels antioxydants dans l'industrie alimentaire ou pharmaceutique;
- L'activité antimicrobienne intéressante, peut aussi nous ouvrir les portes vers l'évaluation *in vivo*, pour une future utilisation des huiles essentielles comme agents antimicrobiens à la place des produits de synthèse ;
- L'évaluation d'éventuelles activités sera aussi de nos perspectives pour ces extraits naturels ;
- Et puis puisque l'espèce *Satureja candidissima*, étudiée pour la première fois par ce travail, ça nous ouvre tous les opportunités vers l'étude de variabilité et des activités biologiques d'autres extraits de cette plante...

## **Références bibliographiques**

- (1) Iserin P. et *al.*, 2001, Encyclopédie des plantes médicinales, Ed 2 : Larousse.
- (2) Bernadet M., 2000, Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles, Editions Dangles.
- (3) Bremness L., 1998, Les plantes aromatiques et Médicinales, Bordas Editions.
- (4) KAR A.; 2007; Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie; Ed 2: New Age International Publishers.
- (5) Zhiri A. et Baudoux D., 2005, Huiles Essentielles Chémotypées et Leurs Synergies, Edition Inspir Development, Luxembourg.
- (6) Lardry J.M., Haberkorn V., 2003, Les formes galéniques destinées à l'usage externe. Kinésithérapie, Les Annales, n° 16, p :21-25.
- (7) Deschamp S., 1990, 60 huiles essentielles de plantes. Paris, Éditions Arys.
- (8) Roulier G., 1990, Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes, Éditions Dangles.
- (9) Kramer S.N., 1994, L'histoire commence à Sumer. Éditions Flammarion, 316 pages.
- (10) Franchomme P., Pénoël D. et Jollois R., 1990, L'aromathérapie exactement – Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. Éditions Jollois, 445 pages.
- (11) Abrassart J.L., 1997, Aromathérapie essentielle : huiles essentielles : parfums pour le corps et l'âme. Éditions Guy Trédaniel, 271 pages.
- (12) Huard P. et Wong M., 1967, La médecine des chinois. L'univers des Connaissances. Éditions Hachette, 256 pages.
- (13) Belaiche P., 1979, Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie, Tome 1 : L'aromatogramme ; Ed: Paris, Maloine.
- (14) Pitman V., 2004, Aromatherapy: A Pratical Approach; Ed: Nelson Thornes, 137 pages.
- (15) Zhiri A., 2006, Aromathérapie ; Nutranews ; Ed: Fondation Libre Choix ; p: 2-16.
- (16) Moro Buronzo A., 2008, Le Grand Guide des Huiles Essentielles: Santé, Beauté, Bien être; Ed : Hachette Pratique, p: 14- 43.
- (17) Clarke S., 2008, Essential oils; Ed 2: Churchill Livingstone, Elsevier; p: 42- 77.
- (18) AFSSAPS (Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé), 2008, Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles.
- (19) Chassaing V., 2006, L'Aromathérapie: les huiles essentielles au service du cheval; Ed: Violaine Chassaing ; p: 4- 8.

- (20) Lahlou M., 2004, Methods of Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential oils; Phytotherapy Research 18; Wiley & Sons; p: 435- 448.
- (21) Shirley P., Pénoël D. et Price L., 1999, Aromatherapy: for health professionals; Ed 2: Elsevier Health Sciences; p: 8-33.
- (22) Lemesle S., 2012, Huiles essentielles et eaux florales de Madagascar : Guide pratique d'une aromathérapie innovante ; 2<sup>ème</sup> Edition ; Sologne Graphic ; ISBN : 978-2-7466-3697-2.
- (23) Baudoux D., Breda M., Zhiri A., 2012, Aromathérapie scientifique : Huiles essentielles chémotypées. 1e éd. Belgique : J.O.M, 98 pages.
- (24) Bruneton J., 2009, Pharmacognosie : Phytochimie : Plantes médicinales. 4e éd. Paris : Tec & Doc, 1269 pages.
- (25) Roux D., 2011, Conseil en aromathérapie. 2e éd. Pays-Bas : Pro-Officina, 187 pages.
- (26) Velé H., 2015, Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie, Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments, Université Angers.
- (27) Keville K. et Green M., 1995, Aromatherapy: A complete guide to healing art, Ed 1: The Crossing Press; p: 120-140.
- (28) Baysal T. et Starmans D.A.J., 1999, Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carvone and Lionene from Caraway Seeds, Journal of Supercritical Fluids 14, p: 225-234.
- (29) Lardry J.M. et Haberkorn V., 2007, Les Huiles Essentielles : principes d'utilisation, Kinesitherapy Reviews 61, p: 18-23.
- (30) Cu J.Q., Ziouani H., Martel J.P. et Perineau F., 1999, Production d'huile essentielle de Badiane de Chine par turbo-distillateur ; Parfums, Cosmétiques, Arômes 93, p: 67-74.
- (31) Skaria B.P. et *al.*, 2007, Aromatic Plants, Ed: New India Publishing Agency, p: 37-43.
- (32) Marinier F.C., 2009, Huiles essentielles : l'essentiel (Conseils pratiques en aromathérapie pour toutes la famille au quotidien, autoédition.
- (33) Baudoux D., 2000, L'aromathérapie : Se soigner par les huiles essentielles. 1e éd. Biarritz : Atlantica, 223 pages.
- (34) Franchomme P., Jollois R., Penoel D., 2007, L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. 1e éd. Paris : Roger Jollois, 490 pages.
- (35) Pacchioni I., 2014, Aromatherapia : Tout sur les huiles essentielles. Paris : Aroma Thera, 351 pages.
- (36) Pierron C., 2014, Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine.



- (37) Duval L., 2012, Les Huiles Essentielles à l'officine, thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, Ufr de Médecine et de Pharmacie de Rouen.
- (38) Boukhobza F. et Goetz P., 2014, Phytothérapie en odontologie (guide clinique), Edition CdP, ISBN 978-2-84361-244-2/ISSN 1242-899X.
- (39) Rhind J.P., 2012, Essential oils: a handbook for aromatherapy practice, 2<sup>nd</sup> edition, Singing Dragon London and Philadelphia, eISBN 978-0-85701-072-8.
- (40) Stewart D., 2005, The chemistry of essential oils made simple: God's love manifest in molecules, Marble Hill, Missouri, ISBN 978-0-934426-99-2/LCCN 2004091768.
- (41) Tisserand R. et Young R., 2014, Essential oil safety: a guide for health care professionals, 2<sup>nd</sup> edition, Churchill Livingstone, Elsevier, ISBN 978-0-443-06241-4.
- (42) Peter K.V., 2004, Handbook of herbs and spices, Woodhead Publishing Ltd (Cambridge England) and CRC Press LLC (Boca Raton Boston New York Washington, DC).
- (43) Daira N., Maazi M.C. et Chefrour A., 2016, Contribution à l'étude phytochimique d'une plante médicinale (*Ammoides verticillata* (Desf.) Briq.) de l'Est Algérien, Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 85, p: 276-290
- (44) <https://inpn.mnhn.fr/accueil/index> (23/03/2017)
- (45) Quezel P. et Santa S., 1963, Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Desertiques Méridionales. Tome II. CNRS. Paris.
- (46) El Ouariachi E. et al., 2011, Chemical composition and antioxidant activity of essential oils and solvent extracts of *Ptychotis verticillata* from Morocco. Food and Chemical Toxicology. 49, p: 533-536.
- (47) Lim TK., 2013, Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, Vol 5. Fruits, Dordrecht: Springer Science + Business Media.
- (48) Seidermann J., 2005, World spice plants: economic usage, botany, taxonomy, Springer Verlag Berlin Heidelberg.
- (49) Abdelouahid D.E. et Bekhechi C., 2004, Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle d'*Ammoïdes verticillata* ( Nûnkha ), Biologie & Santé vol. 4, n° 2.
- (50) Pole S., 2013, Ayurvedic Medicine The principles of Traditional Practice. Singing Dragon Ed.
- (51) Pruthi JS., 1992, Spices and Condiments. Fourth Edition. New Delhi: National Book Trust.
- (52) Chialva F., Monguzzi F. et Manitto P., 1993, Essential oil constituents of *trachyspermum copticum* L. Link fruits, J Essential Oil Res. 5, p: 105-106.

- (53) Khajeh M., Yamini Y., Sefidkon F. et Bahramifar N., 2004, Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods, Food Chemistry. 86, p: 587-591.
- (54) Kambouche N. et El-Abed D., 2003, Composition of the volatile oil from the aerial parts of *Trachyspermum ammi* L. Sprague from Oran Algeria, J of Essentiel Oil Research. 15, p:10-11.
- (55) Bekhechi C., Boti J.B., Bekkara F.A., Abdelouahid D.E., Casanova J. et Tomi F., 2010, Isothymol in ajowan essential oil, Nat Prod Commun. 5(7), p:1107-1110.
- (56) Chauhan B., Kumar G. et Mohamed A., 2012, Composition of volatile oil of *Carum copticum* Benth & Hook. Fruits, IRJP. 3(7), p: 131-132.
- (57) Bhargava P.P. et Hakasas C.N., 1959, Examination of essential oil from ajowan seeds, Perfum Essent Oil Res. 50, p:204-206.
- (58) Balbaa S.I., Hilal S.H. et Haggag M.Y., 1973, The volatile oil from the herb and fruits of *Carum copticum* at different stages of growth, Planta Medica. 23, p:312-319.
- (59) Chalchat J.C., Ozcan M.M. et Figueredo G., 2011, The composition of essential oils of different parts of Laurel, Mountain Tea, Sage and Ajowan, Journal of Food Biochemistry. 35, p:484-499
- (60) Oskuee R.K., Behravan J. et Ramezani M., 2011, Chemical composition, antimicrobial activity and antiviral activity of essential oil of *Carum copticum* from Iran, Avicenna Journal of Phytomedicine, Vol. 1, No. 2, p: 83-90
- (61) Rodrigues L. et al., 2013, Trichomes micromorphology and essential oil variation at different developmental stages of cultivated and wild growing *Mentha pulegium* L. populations from Portugal, Industrial Crops and Products 43, p:692-700
- (62) Dictionnaire Universel François Et Latin, Vulgairement appelé dictionnaire de Trévoux, Tome 7, La Compagnie des Librairies Associés, Paris.
- (63) Gruenwald J. et al., 2000, PDR for Herbal Medicines, Medical Economics Company, Inc. at Montvale.
- (64) Mahboubi M. et Haghi G., 2008, antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil, Journal of ethnopharmacology, 119, p: 325-327
- (65) Baba Aissa F., 1991, les plantes médicinales en Algérie, Coédition Bouchène et Ad Diwan, Alger.
- (66) Çötelci E., Erden Y. et Karataş F., 2013, Investigation of Amounts of Malondialdehyde, Glutathione and Vitamins with Total Antioxidant Capacity in Plant *Mentha pulegium* L., Journal of Natural and Applied Science 17(2), p: 4-10

- (67) Chalchat J.C., Gorunovic M.S., Maksimovic Z.A. et Petrovic S.D., 2000, Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L from Yugoslavia, Journal of Essential Oil Research, 12, p: 598–600.
- (68) Khalilipour A. et Dejam M., 2014, Essential oil composition of Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) from Southern Iran, Journal of Herbal Drugs, Vol. 5, No. 1, p: 33-38
- (69) Pino J.A., Rosado A. et Fuentes V., 1996, Chemical Composition of the Essential Oil of *Mentha pulegium* L. from Cuba, Journal of Essential Oil Research, Volume 8, Issue 3, p: 295-296
- (70) El Ghorab A.H., 2006, The Chemical Composition of the *Mentha pulegium* L. Essential Oil from Egypt and its Antioxidant Activity, Journal of Essential Oil Bearing Plants, Volume 9, Issue 2.
- (71) Mkaddem M. , Boussaid M. et Ben Fadhel N., 2007, Variability of Volatiles in Tunisian *Mentha pulegium* L. (Lamiaceae), Journal of Essential Oil Bearing Plants, Volume 19, Issue 3.
- (72) Stoyanova A. , Georgiev E. , Kula J. et Majda T., 2005, Chemical Composition of the Essential Oil of *Mentha pulegium* L. from Bulgaria, Journal of Essential Oil Bearing Plants, Volume 17, Issue 5.
- (73) Kokkini S. , Hanlidou E., Karousou R. et Lanaras T., 2002, Variation of Pulegone Content in Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) Plants Growing Wild in Greece, Journal of Essential Oil Bearing Plants, Volume 14, Issue 3.
- (74) Bougandoura N. et Bendimerad N., 2013, Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* sp. *Nepeta* (L.) Briq., Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09, p: 14-19
- (75) Hanane K., 2016, Extraction et dosage de polyphénols et de flavonoïdes des extraits des plantes : *Marrubium vulgare*, *Satureja calamintha*, *Mentha pulegium* et *Salvia officinalis*, Mémoire d'obtention de master en biologie.
- (76) Božovic M. et Ragno R., 2017, *Calamintha nepeta* (L.) Savi and its Main Essential Oil Constituent Pulegone: Biological Activities and Chemistry, Molecules 22, p: 290.
- (77) Ech-Chahad A., Farah H. et Bouyazza L., 2013, Composition chimique de l'huile essentielle de *Satureja calamintha* (L.) Scheele du Maroc, Afrique Science 09(3), p: 77 – 81.
- (78) Čavar S., Edita Šolić M. et Maksimović M., 2013, Chemical composition and antioxidant activity of two *Satureja* species from Mt. Biokovo, Botanica serbica 37 (2), p: 159-165

- (79) Kerbouche L., Hazzit M. et Baaliouamer A., 2013, Essential Oil of *Satureja calamintha subsp. nepeta* (L.) Briq. from Algeria: Analysis, Antimicrobial and Antioxidant Activities, *Journal of Biologically Active Products from Nature*, volume 3, issue 4.
- (80) Baldovini N., Ristorcelli D., Tomi, F. et Casanova J., 2000, Intraspecific variability of the essential oil of *Calamintha nepeta* from Corsica (France), *Flavour Fragrance Journal* 15, p: 50–54.
- (81) Perez-Alonso M.J., Velasco-Neguerula A. et Lopez Saez J.A., 1993, The volatiles of two *Calamintha* species growing in Spain, *Calamintha nepeta* (L.) Savi, *Acta horticulturae*. 333, p: 255-260.
- (82) Monforte M.T., Tzakou O., Nostro A., Zimbalatti V. et Galati E.M., 2011, Chemical composition and biological activities of *Calamintha officinalis* Moench. essential oil. *J. Med. Food*, 14, p: 297–303.
- (83) Araniti F., Lupini A., Sorgonà A., Statti G.A. et Abenavoli M.R., 2012, Phytotoxic activity of foliar volatiles and essential oils of *Calamintha nepeta* (L.) Savi. *Nat. Prod. Res.*, 27, p: 1651–1656
- (84) Negro C., Notarnicola S., De Bellis L. et Miceli A., 2013, Intraspecific variability of the essential oil of *Calamintha nepeta subsp. nepeta* from Southern Italy (Apulia). *Nat. Prod. Res.*, 27, p: 331–339.
- (85) Marongiu B., Piras A., Porcedda S., Falconieri D., Maxia A., Gonçalves M.J., Cavaleiro C. et Salgueiro L., 2010, Chemical composition and biological assays of essential oils of *Calamintha nepeta* (L.) Savi subsp. *nepeta* (Lamiaceae). *Nat. Prod. Res.*, 24, p: 1734–1742.
- (86) <http://www.tropicos.org/Name/100169611> 28/03/2017
- (87) Prieto P., Pineda M., et Aguilar M., 1999, Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E; *Analytical Biochemistry* 269, p: 337– 341.
- (88) Yildirim A., Mavi A. et Kara A. A., 2001, Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts; *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, p: 411-420.
- (89) Sanchez-Moreno C., 2002, Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems; *International Journal of Food Science and Technology* 8; p: 121-137.
- (90) Mansouri A., Embarek G., Kokkalou E. et Kefalas P., 2005, Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*); *Food Chemistry* 89; p: 411-420.

- (91) Torres R. et al., 2006, Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudates of *Haplopappus multifolius*, *Phytochemistry* 67, Ed: ELSEVIER; p: 984-987
- (92) NCCLS "National Committee for Clinical Laboratory Standards", 2001, Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement, M100-S11, Wayne, PA, USA.
- (93) Ponce A.G., Fritz R., Del Valle C. et Roura S.I., 2003, Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Society of Food Science and Technology*, 36(7), p: 679-684.
- (94) Lakhdar L., Ennibi O.K., Farah A., 2016, Composition pharmacologique de l'origan (huile essentielle) a effet antibacterien sur *d'Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, brevet WO 2016076689 A1. (<https://www.google.com/patents/WO2016076689A1?cl=fr>)
- (95) Teuscher E., Anton R., Lobstein A., 2005, *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles* Paris, Lavoisier.
- (96) Dramane S. et al., 2010, Evaluation des activités antimicrobiennes et antiradicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'Ivoire, *Euro Journal of Scientific Research* 40 (2), p: 307-317.
- (97) Bendahou M., 2007, *Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de l'Ouest Algérien*. Thèse de Doctorat d'Etat, option Biochimie, université Abou Bah Belkaïd.
- (98) Ashraf M. et Bhatti M.K., 1975, Studies on the essential oils of Pakistani species of the family umbelliferae. Part I. *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague (ajowan) seed, *Pakistan J. Sci. md. Res.* 18, p: 232-235.
- (99) Bekhechi C., 2002, *Analyse de l'huile essentielle d'Ammoides verticillata de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien*, Thèse de Magister, option Biochimie, université Abou Bah Belkaïd.
- (100) Montes M., Valenzuela L., Wilkomirsky T. et Niedmann C., 1986, Détermination de la pulégone dans l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. originaire de Chili, *Ann. Pharmaceutiques français*, 44, p :133 - 136.
- (101) Sivropoulou A., Kokkini S., Lanaras T. et Arsenakis M., 1995, Antimicrobial activity of mint essential oils, *J Agric. Food Chem.*, 43, p: 2384 - 2388.
- (102) Teixeira Duarte M.C., Mara Figueira G., Sartoratto A., Rehder V. L. G. et Delarmelina C., 2005, Anti-candida activity of Brazilian medicinal plants. *J of Ethnopharmacology*, 97, p :305-311

- (103) Ristorcelli D., Tomi F. et Casanova J., 1996, Essential oils of *Calamintha nepeta subsp. nepeta* and *subsp. glandulosa* from Corsica (France). J of Essential Oil Research, 8, p:363 - 366.
- (104) Fraternali D., Giamperi L., Ricci D. et Manuta A., 1998, Composition of essential oil as taxonomic Marker for *Calamintha nepeta* (L.) Savi ssp. *nepeta*, J. of Essential Oil Research, 10, p: 568-570.
- (105) Azaz D., Demircib F., Satila F., Kürkcüoğlu M. et Hüsnü Can Baser K., 2002, Antimicrobial Activity of Some Satureja Essential Oils, Z. Naturforsch, 57c, p: 817-821.
- (106) Nigram C., Shakum W. et Levi L., 1963, Determination of trace constituents of oil of Ajowan, Perfumery Essential Oil Record, 54, p: 25 - 28.
- (107) Demissew S., 1993, A description of some essential oil bearing plants in Ethiopia and their indigenous uses, J of Essential Oil Research, 5, p: 465 - 479.
- (108) Choudhury S., Ahmed R., Kanjilal P. B. et Leclerc P. A., 1998, Composition of the seed oil of *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague from Northeast India, J of Essential Research, 10, p: 588 - 590.
- (109) Georgiev E.V. et Khadziiski T.T., 1969, Changes in essential and glyceride oils during storage of raw materials: changes in oils during storage of Carum ajowan fruits, Nauch. Tr., Vissh Inst. Khranit. Vkusova Prom., Plovdiv, 16, p: 155 – 163
- (110) Zwaving J.H. et Smith D., 1971, Composition of the essential oil of Austrian *Mentha pulegium*, J of Phytochemistry, 10, p: 1951 - 1953.
- (111) Proença Da Cunha A., Roques O. R. et Cardoso Do Vale J., 1976, Estudo cromatografico e quimico do oleo essencial de *Mentha pulegium* L. de Angola, Bol. Fac. Farm. Coimbra, 1, p: 23-36.
- (112) Bigo De Grosso M. et Moyna P., 1985, Composicion quimica de las esencias de Mentha del Uruguay, An. Real Acad Farm., 51, p: 333 -338.
- (113) Derwich E., Benziane Z., Taouil R., Senhaji O. et Touzani M., 2010, Comparative Essential oil Composition of Leaves of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* a Traditional Herbal Medicine in Morocco, American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 4(1), p:47-54
- (114) Bekhechi C., 2009, Analyse des huiles essentielles de quelques espèces aromatiques de la région de Tlemcen par CPG/SM et RMN et étude de leur pouvoir antibactérien, thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.

- (115) Popovici C., Saykova I. et Tylkowski B., 2009, Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, *Revue de génie industriel* 4, p : 25-39.
- (116) Bartosz G., 2003, Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicology*, 9, p: 5-21.
- (117) Ricardo da Silva J.M., Darmon N., Fernandez Y. et Mitjavila S., 1991, Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, p: 549-1552.
- (118) Hua L., Xiaoyu W., Peihong L., Yong L. et Hua W., 2008, Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Powder Assessed by Different Methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 16 (6), p: 67-73.
- (119) Wong S. P., Leong L. P. et Koh J.H.W., 2006, Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants; *Food Chemistry* 99, p: 775–783.
- (120) Beldjord A., 2014, Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* de la région de Tlemcen, Mémoire d'obtention de diplôme master en amélioration végétale, Université Abou Bekr Belakaid, Tlemcen.
- (121) Charles J.D., 2013, *Antioxidant Properties of Spices Herbs and other Sources*. New York: Springer Science+Business Media.
- (122) Ouakouak H., Chohra M., Denane M., 2015, Chemical Composition, Antioxidant Activities of the Essential Oil of *Mentha pulegium* L., South East of Algeria, *International Letters of Natural Sciences*, Vol. 39, p: 49-55.
- (123) Teixeira B. et al., 2012, European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil, *Industrial Crops and Products* 36, p: 81-87.
- (124) Cherrat L., Espina L., Bakkali M., Pagan R. et Laglaoui A., 2014, Chemical composition, antioxydant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha scheele* essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 22, p : 221-229.
- (125) Dorman H.J.D., Deans S.G., 2000, Antimicrobial agents from plants, Antibacterial activity of plant volatile oils, *J of Applied Microbiology*, 88, p: 308-316.
- (126) Ben Arfa A., Combes S., Preziosi-Belloy L., Gontard N., Chalier P., 2006, Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure, *Letters in Applied Microbiology*, 43 (2), p:149-154.

- (127) Chamberlain E.M. et Dagley S., 1968, The metabolism of thymol by a *Pseudomonas*. *Biochemical Journal*. 110:755-763.
- (128) Numpaque M.A., Oviedo L.A. , Gil J.H., Garcia C.M., Durango D.L., 2011, Thymol and carvacrol biotransformation and antifungal activity against the plant pathogenic fungi *Colletotrichum acutatum* and *Botryodiplodia theobromae*. *Tropical Plant Pathology*. 36 (1): 3-13.
- (129) Braun L. et Cohen M., 2015, Herbes & Natural Supplements, An Evidence-Based Guide. Vol 2. 4<sup>th</sup> Edition. Elsevier Australia.
- (130) Fournomiti M. et al., 2015, Antimicrobial activity of essential oil of cultivated Oregano (*Oreganum vulgare*), Sage (*Salvia officinalis*) and Thyme (*Thymus vulgaris*) against clinical isolates of *Escheriachia coli*, *Klebsiella oxytoca* and *Klebsiella pneumoniae*. *Microbial Ecology in Health & Disease*. 26, p: 1-7.
- (131) Duru M.E., Ozturk M., Ugur A., et Ceylan O., 2004, The constituents of essential and *in vitro* antimicrobial activity of *Micromeria cilicica* from Turkey, *J. Ethnopharmacol*, 94, p: 43-48.
- (132) Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idoamar M., 2008, Biological effects of essential oils – a review, *Food Chem, Toxicol*, 46, p: 446-475.
- (133) Ait-Ouazzou A., Cherrat L., Espina L., Lorán S., Rota C. et Pagán R., 2011, The antimicrobial activity of hydrophobic essential oil constituents acting alone or in combined processes of food preservation, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 12, Issue 3, p: 320–329.
- (134) Urbaniak A., Molski M. et Szeląg M., 2012, Quantum-chemical Calculations of the Antioxidant Properties of trans-p-coumaric Acid and trans-sinapinic Acid, *Computational Methods In Science And Technology*, 18(2).
- (135) Jeyakumar H., 2012, *Advances in Food and Nutrition Research*, volume 67, Academic press, Elsevier, ISBN: 978-0-12-394598-3, ISSN: 1043-4526.
- (136) Ruberto G. et Baratta M.T, 2000, Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems, *Food Chemistry*, 69, p: 167-174.
- (137) Cavar S., Maksimović M., Solić M.E., Jerković-Mujkić A. et Besta R., 2008, Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two Satureja essential oils, *Food Chemistry*, 111, p:648-653.
- (138) Kamkar A., Javan A.J., Asadi F. et Kamalinejad M., 2010, The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil, *Food and Chemical Toxicology*, 48, p:1796-1800.

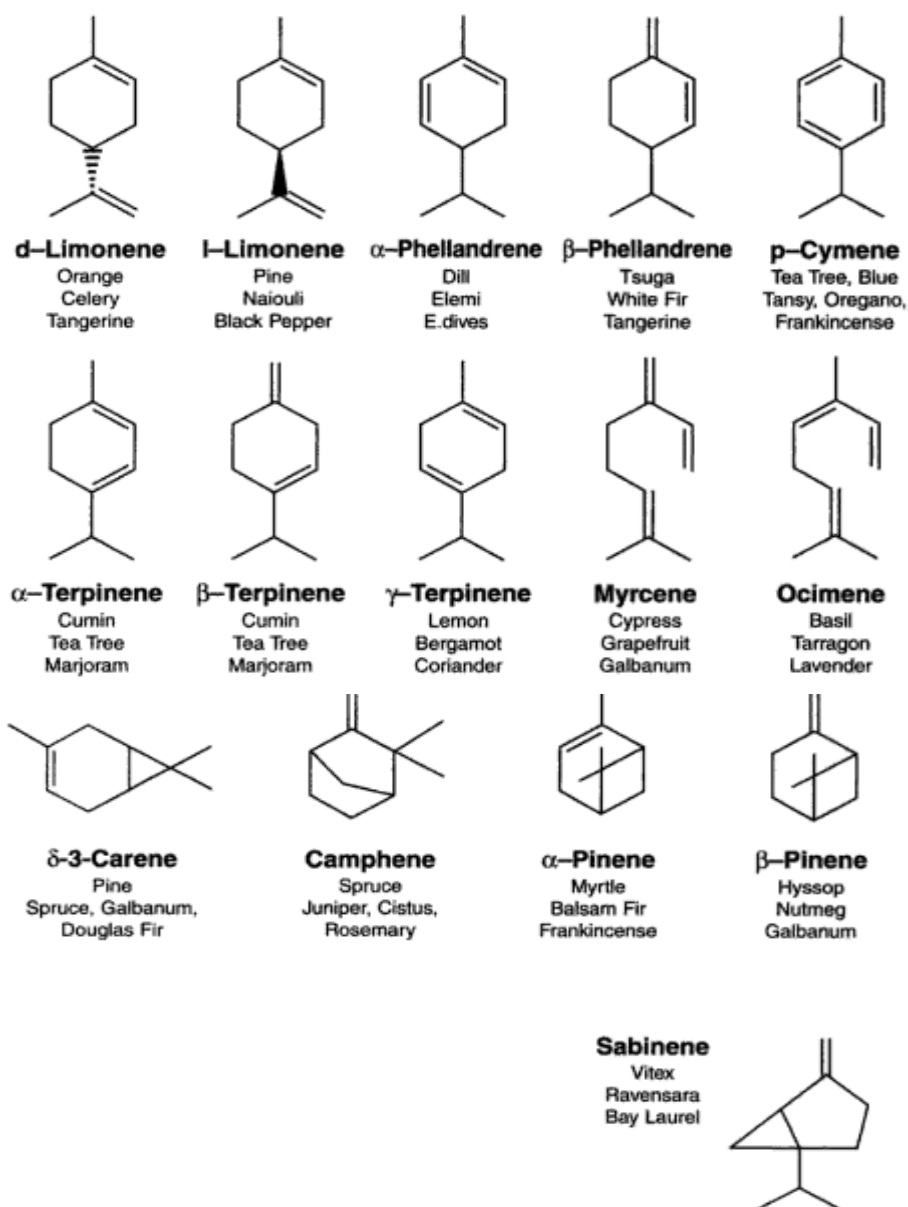


- (139) Singh N., Singh R.K., Bhunia A.K., Strohshine R.L., 2002, Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing escherichia coli O157:H7 on lettuce and baby carrots. *LebensmittelWissenschaft und -Technologie*, 35, p: 720–729.
- (140) Moreira M.R., Ponce A.G., De Valle C.E., Rouba S.I., 2005, Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie-LWT*, 38, p: 565–570.
- (141) Pelczar M.J., Chan E.C.S. et Kreig N.R., 1988, Control of microorganisms, the control of microorganisms by physical agents, In *Microbiology*, New York: McGraw-Hill International, p: 469-509.
- (142) Naigre R., Kalck P., Roques C., Roux I. et Michel G., 1996, Comparison of antimicrobial properties of monoterpenes and their carbonylated productes, *Planta Medica*, 62, p: 275-277.
- (143) Zaika, L.L., 1988, Spices and herbs: their antibacterial activity and its determination. *J. Food. Saf.* 23, p: 97-118.

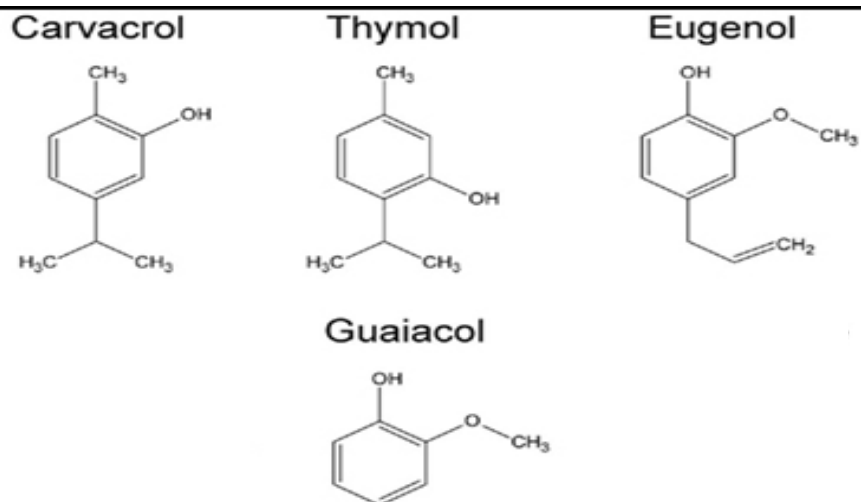
## **Annexes**

## Annexe 1: structures de quelques composants des huiles essentielles

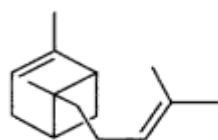
### Monoterpènes



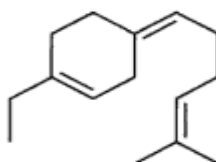
### Phénols



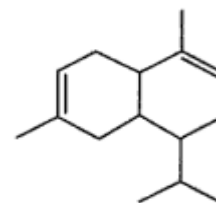
Sesquiterènes



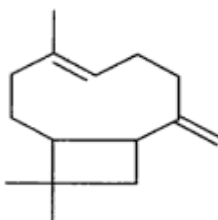
**$\alpha$ -Bergamotene**  
Fleabane  
Bergamot



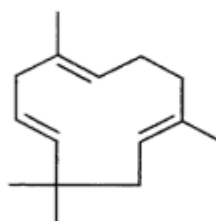
**Bisabolene**  
Myrrh, Ginger  
German Chamomile



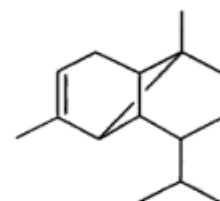
**$\delta$ -Cadinene**  
Ginger  
Cedarwood  
White Fir



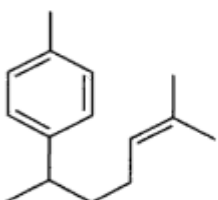
**$\beta$ -Caryophyllene**  
Black Pepper, Melissa,  
Cinnamon, Vitex, Clove,  
Mt. Savory, Frankincense  
Ginger, Helichrysum,



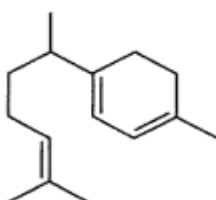
**Humulene**  
**( $\alpha$ -Caryophyllene)**  
Sage, Clove, Hops



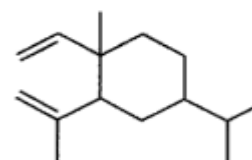
**$\alpha$ -Copaene**  
Rosewood, Frankincense



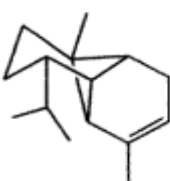
**$\alpha$ -Curcumene**  
Ginger



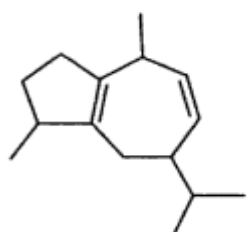
**$\gamma$ -Curcumene**  
Helichrysum



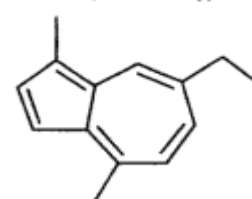
**$\beta$ -Elemene**  
Elemi, Myrrh, Blue Cypress



**$\alpha$ -Ylangene**  
Juniper  
Birch Bud  
Ylang Ylang



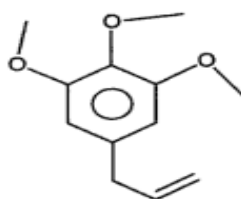
**Guaiene**  
Patchouly  
Geranium



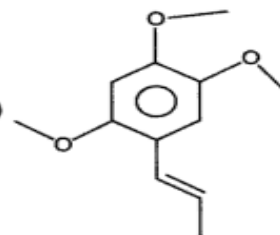
**Chamazulene**  
German Chamomile  
Yarrow, Blue Tansy  
Helichrysum

Ethers

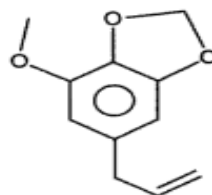
**Elemicin**  
 $C_{12}H_{16}O_3$   
Elemi Oil



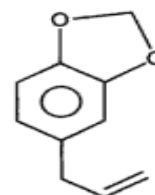
**Asarole**  
**(Asarone)**  
 $C_{12}H_{16}O_3$   
Calamus Oil



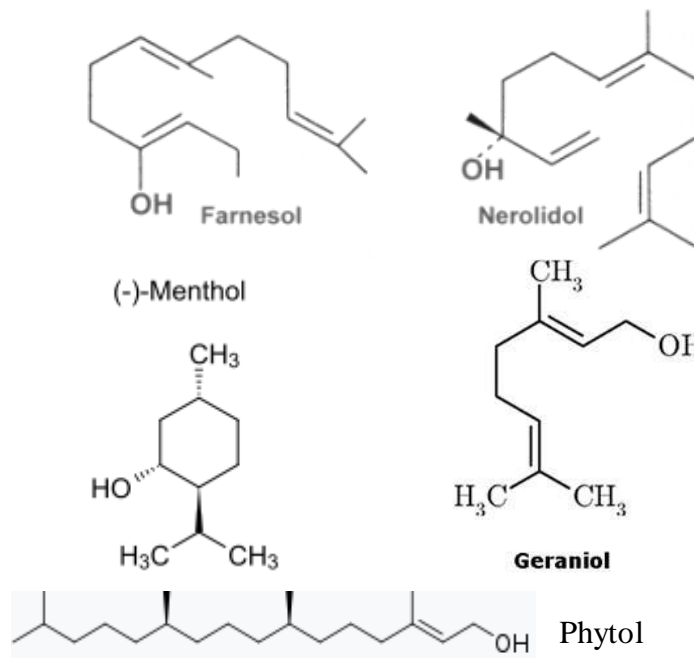
**Myristicin**  
 $C_{11}H_{12}O_3$   
Nutmeg Oil  
Parsley Seed Oil



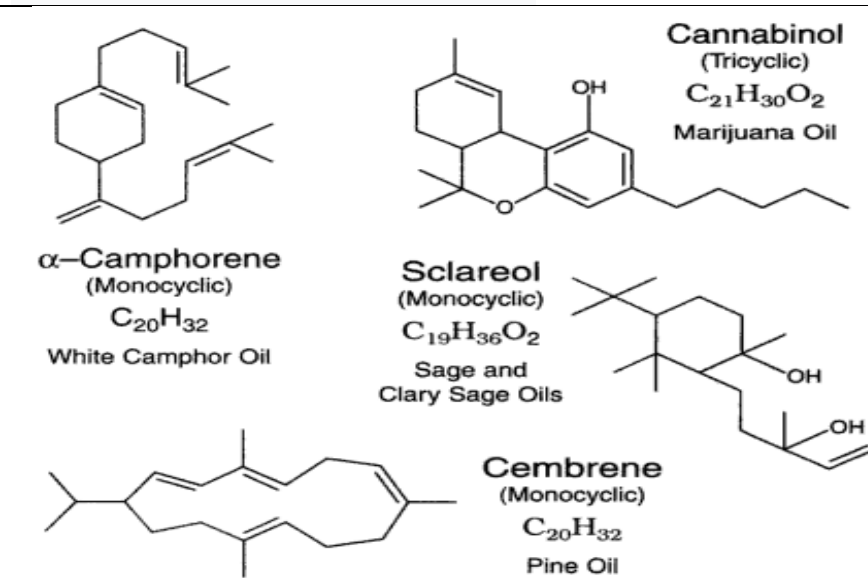
**Safrole**  
 $C_{10}H_{10}O_2$   
Sassafras Oil



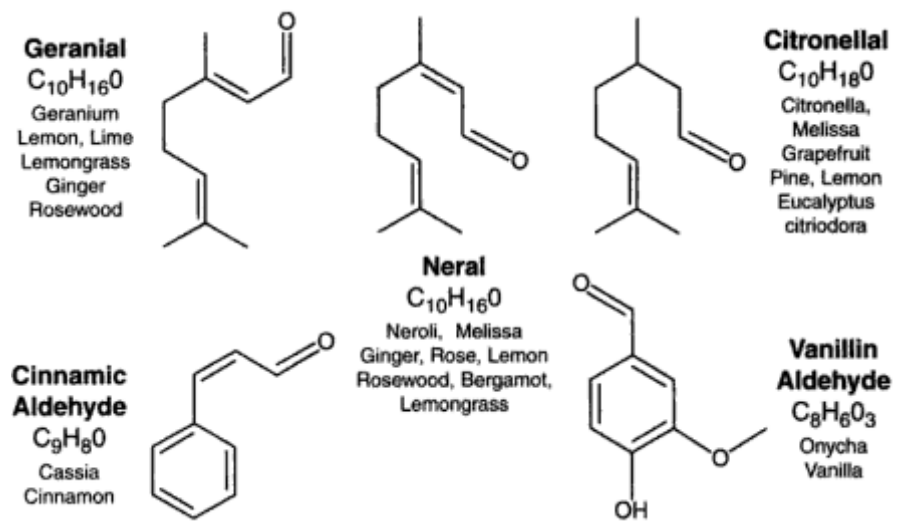
Alcools



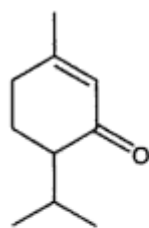
Diterpènes



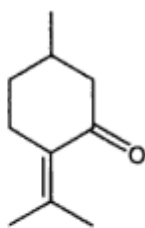
Aldéhydes



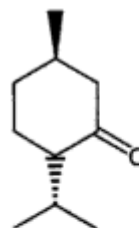
Cétones



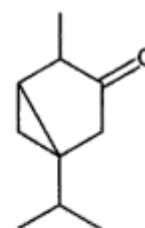
**Piperitone**  
 $C_{10}H_{16}O$   
 Peppermint  
 Black Pepper  
 Eucalyptus dives



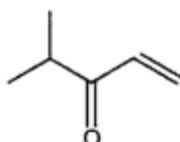
**Pugelone**  
 $C_{10}H_{16}O$   
 Peppermint  
 Corn Mint



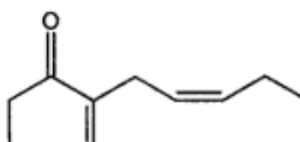
**Menthone**  
 $C_{10}H_{18}O$   
 Corn Mint  
 Peppermint  
 Geranium



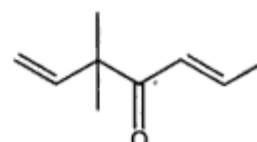
**$\alpha$ -Thujone**  
 $C_{10}H_{16}O$   
 Sage, Clary Sage,  
 Rosemary, Hyssop,  
 Thyme, Yarrow



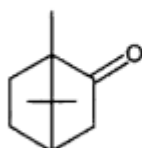
**Pentanone**  
 $C_6H_{10}O$   
 Myrrh



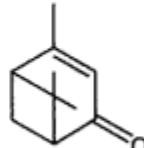
**Jasmone**  
 $C_{10}H_{16}O$   
 Jasmine, Neroli



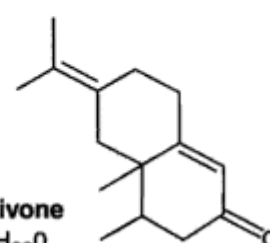
**Tagetone**  
 $C_9H_{14}O$   
 Marigold, Yarrow



**Camphor**  
 $C_{10}H_{16}O$   
 Basil, Coriander, Thyme,  
 Lavandin, Mt. Savory

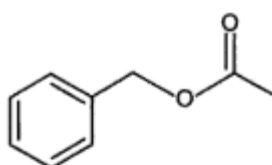


**Verbenone**  
 $C_{10}H_{14}O$   
 Rosemary,  
 Frankincense

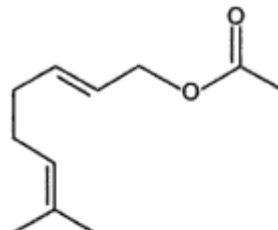


**$\alpha$ -Vetivone**  
 $C_{15}H_{22}O$   
 Vetiver

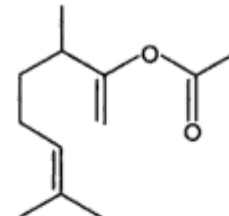
Esters



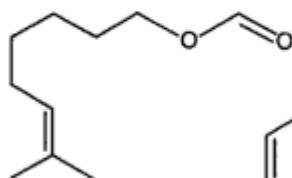
**Benzyl Acetate**  
 $C_9H_{10}O_2$   
 Ylang Ylang, Jasmine,  
 Neroli



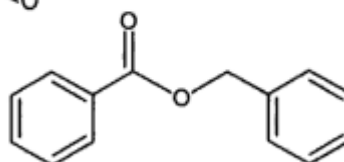
**Geranyl Acetate**  
 $C_{15}H_{24}O_2$   
 Citronella, Neroli, Geranium,  
 Orange, Lemon, Bergamot  
 Lavender, Petitgrain



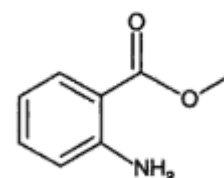
**Linalyl Acetate**  
 $C_{15}H_{24}O_2$   
 Lavandin, Neroli, Mandarin  
 Orange, Lemon, Bergamot,  
 Lavender, Clary Sage



**Citronellyl Formate**  
 $C_{15}H_{24}O_2$   
 Geranium, Citronella

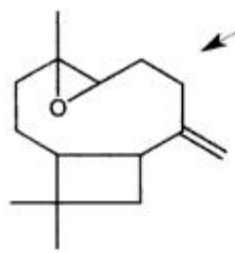


**Benzyl Benzoate**  
 $C_{14}H_{12}O_2$   
 Tolu, Ylang Ylang

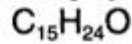


**Methyl Anthranilate**  
 $C_8H_9NO_2$   
 Neroli, Jasmine, Mandarin  
 Orange, Lemon, Bergamot

Oxydes

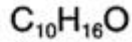


**Caryophyllene Oxide**

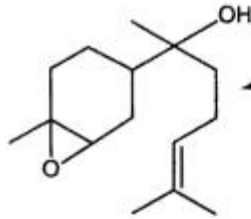


A sesquiterpene oxide found in small amounts in many oils such as clove, mountain savory, lavender, melissa, juniper, hyssop, and yarrow

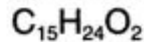
**$\alpha$ -Pinene Oxide**



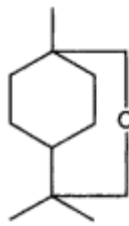
A monoterpene oxide found in peppermint eucalyptus (*E. dives*)



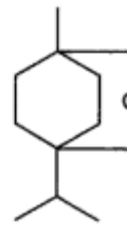
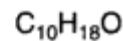
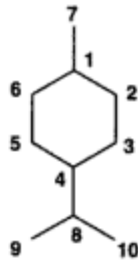
**$\alpha$ -Bisabolol Oxide**



An oxide derived from a sesquiterpene alcohol comprising 32-42% of German chamomile oil

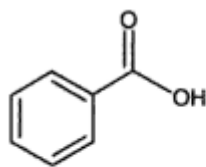


**1,8 Cineole**  
Eucalyptus  
Oils



**1,4 Cineole**  
Melaleuca  
Oils

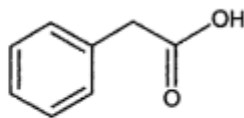
Acides  
carboxyliques



**Benzoic Acid**



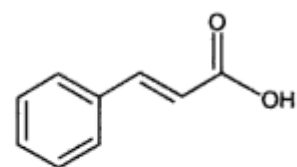
Onycha, Peruvian  
Balsam (Tolu)



**Phenylacetic Acid**



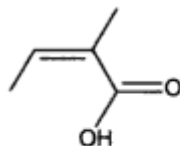
Neroli



**Cinnamic Acid**



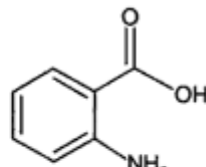
Cinnamon, Cassia,  
Onycha, Tolu, Coca



**Angelic Acid**



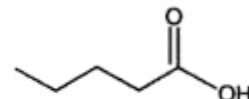
Roman Chamomile  
Angelica



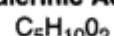
**Aminobenzoic Acid**



Neroli, Mandarin  
Orange, Lemon, Bergamot

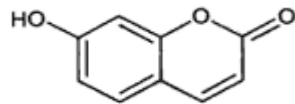


**Valeric Acid**



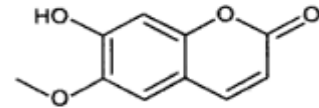
Valerian

Lactones et coumarines

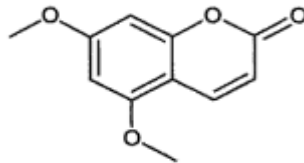


**Umbelliferone**  
 $C_9H_6O_3$   
 Lavender, Anise, German Chamomile, Fennel, Dill

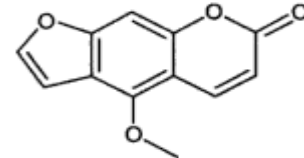
Go to page 1 to see  
**Ambrettolide**  
 $C_{15}H_{26}O_2$   
 Hibiscus



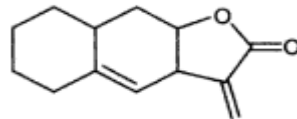
**Scopoletin**  
 $C_{10}H_8O_4$   
 Anise, Tarragon, Roman Chamomile



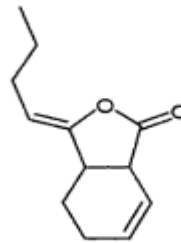
**Nepetalactone**  
 $C_{10}H_{14}O_2$   
 Catnip



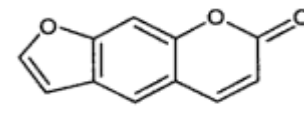
**Bergaptene**  
 $C_{12}H_{16}O_4$   
 Lime, Lemon, Bitter Orange, Grapefruit, Fennel



**Alantolactone**  
 $C_{12}H_{16}O_2$   
 Cistus, Hibiscus, Inula, Conyza

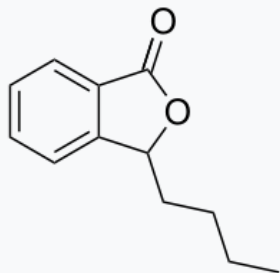


**ζ-Ligustolide**  
 $C_{12}H_{14}O_2$   
 Dill, Caraway



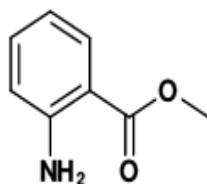
**Psoralen**  
 $C_{11}H_6O_3$   
 Bitter Orange, Bergamot

Phtalides

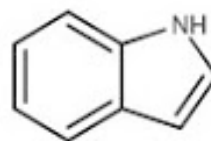


**3-n-butylphthalide**

Composés azotés

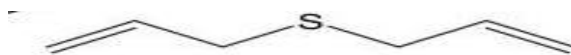


**Methyl Anthranilate**

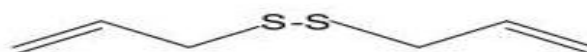


**Indole**

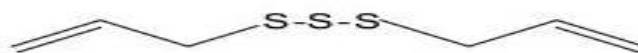
Composés soufrés



**Diallyl sulfide (DAS)**



**Diallyl disulfide (DADS)**

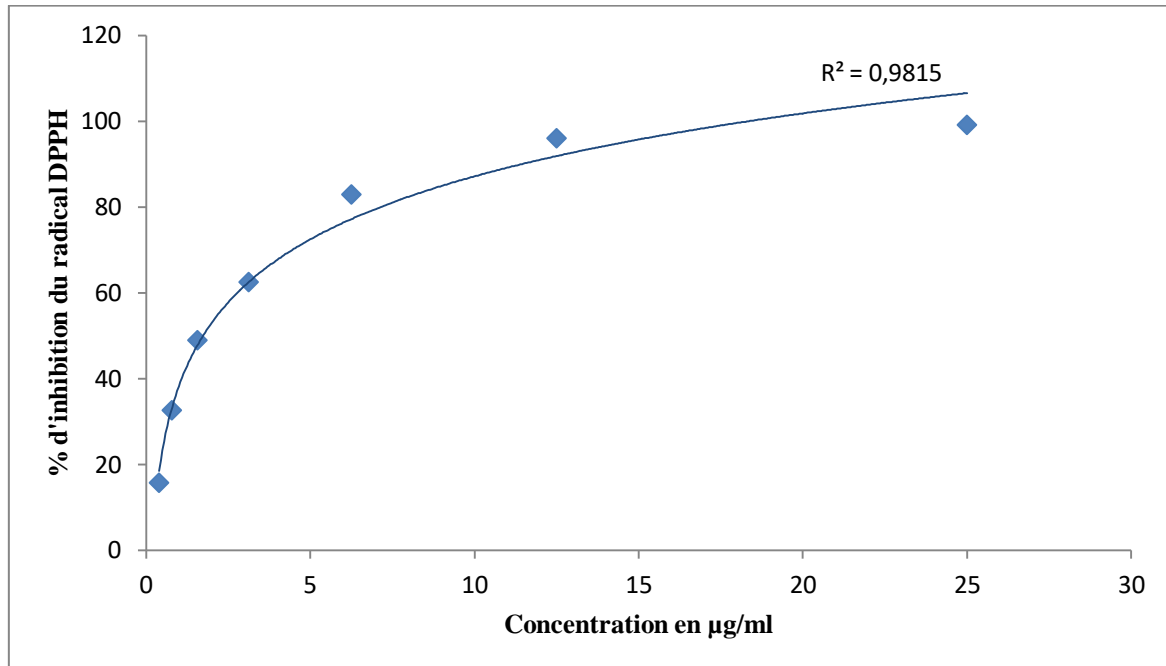


**Diallyl trisulfide (DATS)**

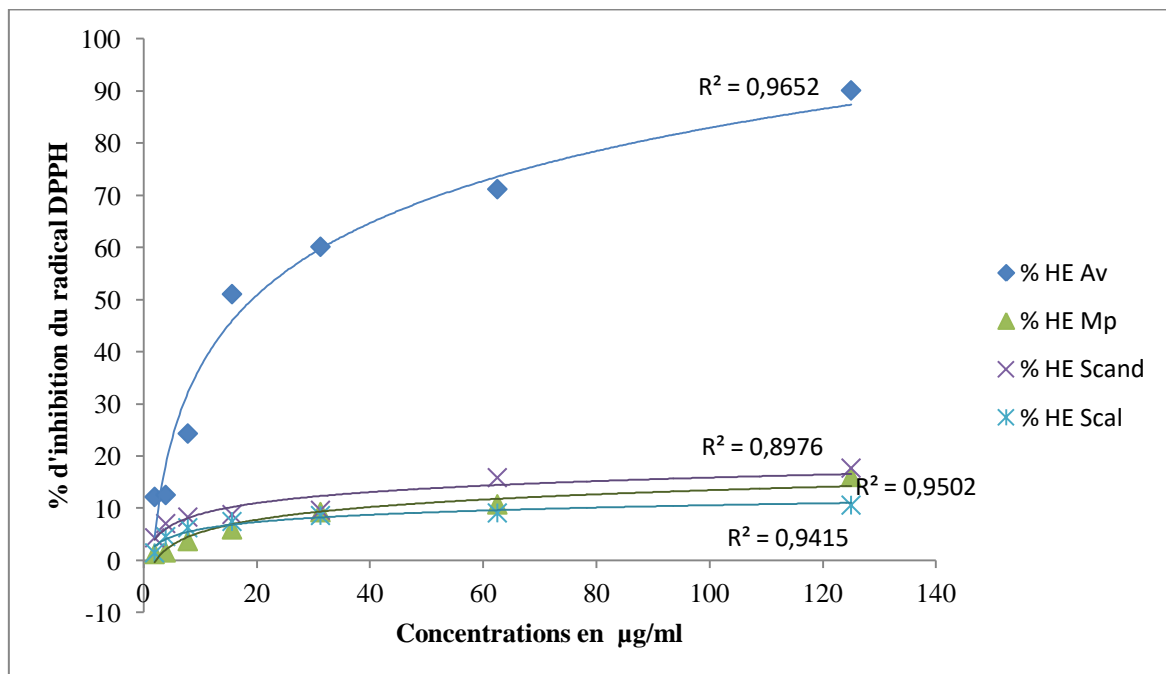


## Annexe 2 : Les courbes d'évaluation des activités antioxydantes

### - Piégeage du radical libre DPPH :

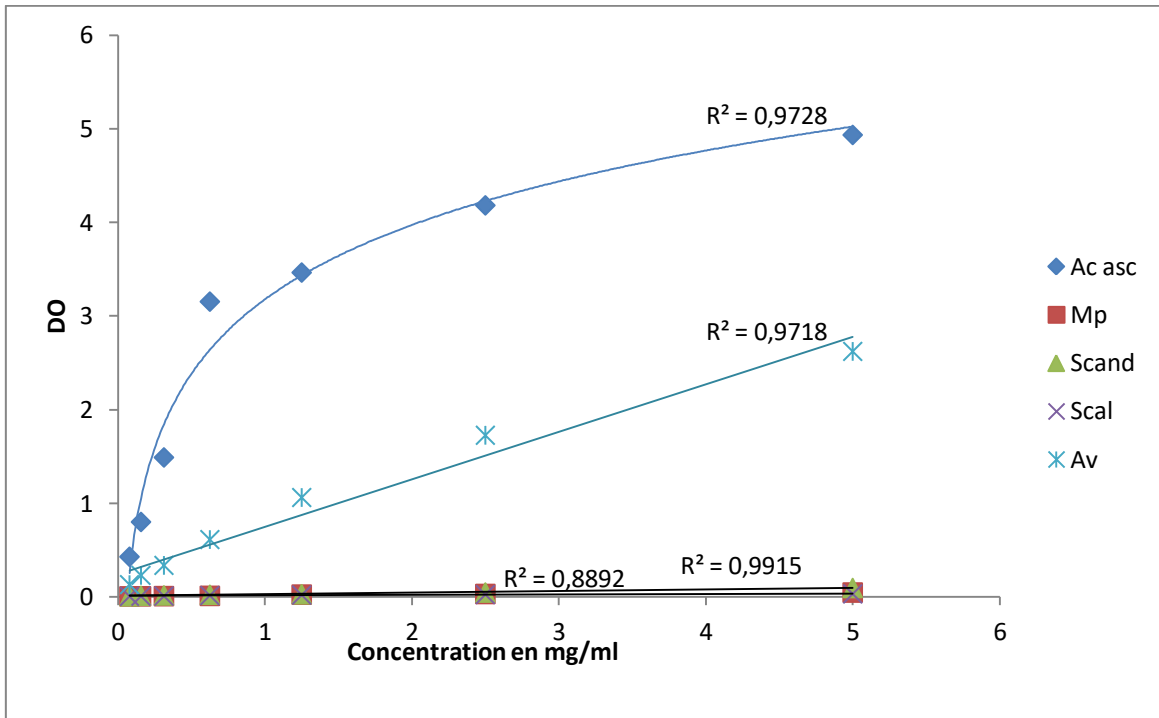


**Figure n°10 :** Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH du control positif (acide ascorbique).



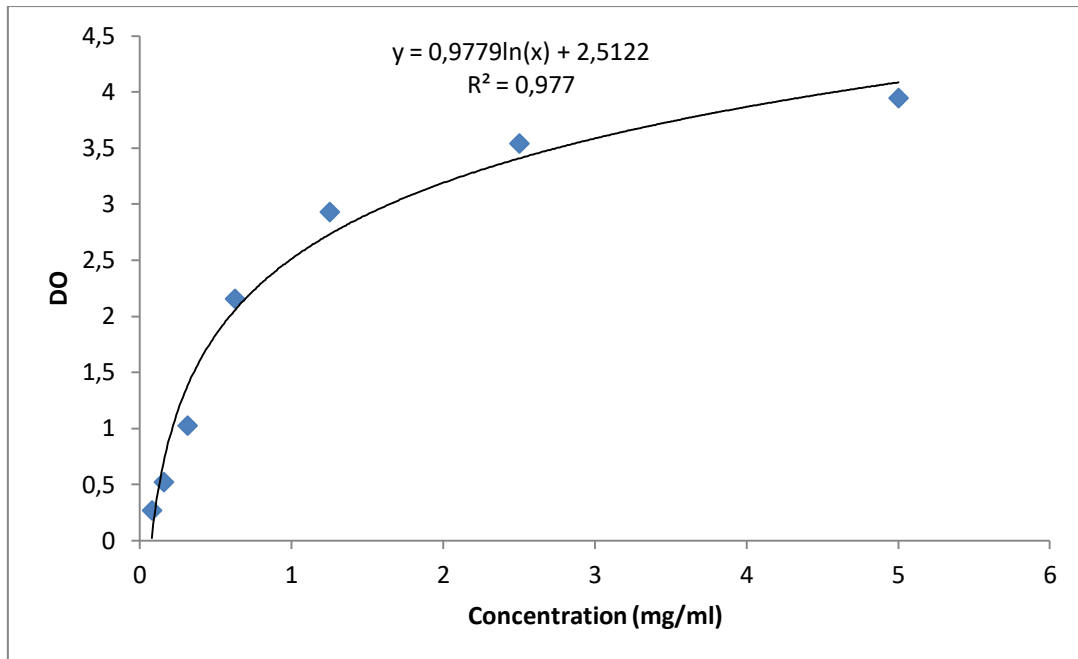
**Figure n°11 :** Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH des huiles essentielles  
 Av : *Ammoides verticillata*, Mp : *Mentha pulegium*, Scal : *Satureja calamintha*, Scand : *Satureja candidissima*.

- Réduction du fer :



**Figure n°12 :** Pouvoir réducteur de fer des huiles essentielles et control positif en  $\mu\text{g/ml}$ .  
 Ac asc : acide ascorbique, Av : *Ammoides verticillata*, Mp : *Mentha pulegium*, Scal : *Satureja calamintha*, Scand : *Satureja candidissima*.

- Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de l'activité antioxydante totale :



**Figure n°13 :** Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour la détermination de l'activité antioxydante totale.

### Annexe 3 : Les indices aromatiques moyens de quelques huiles essentielles

	ESCHERICHIA COLI	PROTEUS	ENTEROCOQUE	STAPHYLOCOQUE BLANC	STAPHYLOCOQUE DORE	STREPTOCOQUE β HÉMOLYT	PNEUMOCOQUE	GERMES LIMITES				CANDIDA	INDICE AROMAT MOYEN
								ALK. DISPAR	NEISSERIA	CORYNE BAC XEROSE	KLEBSIEL.		
ASPIC	0,06	0,23	0,19	0,09	0,09	0	0,04	0,06	0	0,20	0,06	0,03	0,689
BASILIC	0,02	0	0	0,02	0	0	0,04	0	0	0,07	0	0	0,612
BERGAMOTE	0	0	0	0,02	0,03	0	0	0	0,05	0,07	0,14	0	0,625
CAJEPUT	0,39	0,33	0,30	0,33	0,38	0,11	0,50	0,04	0,15	0,57	0,53	0,37	0,333
CAMOMILLE	0,02	0	0	0,01	0	0	0	0	0	0	0	0	0,602
CANNELLE	0,67	0,73	0,65	0,86	0,86	0,77	0,67	0,30	0,90	0,69	0,78	0,67	0,667
CARVI	0,03	0,07	0,07	0,05	0,04	0	0	0	0,03	0,19	0,05	0,07	0,650
CEDRE	0,05	0,07	0,13	0	0,03	0	0	0	0	0,09	0	0	0,630
CHENOPODE	0	0	0	0,02	0	0	0,04	0	0	0,11	0,14	0	0,625
CITRON	0,12	0,06	0,12	0,09	0,13	0	0,12	0,13	0,13	0,07	0	0,05	0,685
CITRONNELLE	0,02	0,06	0,06	0,01	0	0	0	0,13	0	0,11	0,05	0	0,636
CORIANDRE	0	0	0	0,02	0	0	0,08	0	0	0,30	0,19	0	0,649
CUMIN	0	0	0,01	0,01	0,06	0	0	0	0	0,04	0,05	0	0,614
CYPRES	0,14	0	0,03	0	0	0,16	0	0	0	0,04	0	0,03	0,633
ESTRAGON	0,12	0,06	0,12	0,22	0,18	0,16	0,20	0	0,09	0,16	0,25	0,13	0,140
EUCALYPTUS	0,27	0,35	0,16	0,39	0,44	0	0,45	0,33	0,27	0,40	0,39	0,30	0,312
FENOUIL	0	0,04	0,06	0,02	0,02	0	0,08	0,06	0,07	0	0,05	0,08	0,640
GENIEVRE	0	0,03	0,01	0,02	0,03	0	0	0	0	0,04	0	0,05	0,615
GERANIUM	0,02	0,12	0,20	0,33	0,19	0,28	0,38	0,13	0,31	0,09	0,05	0,02	0,167
GINGEMBRE	0,05	0,04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,08	0,614
GIROFLE	0,47	0,33	0,52	0,60	0,29	0,44	0,83	0,73	0,59	0,38	0,33	0,40	0,517
HYSOPE	0,02	0	0,04	0	0	0,11	0	0	0	0	0	0	0,614
LAURIER	0	0,04	0	0,02	0	0,16	0	0	0,09	0	0	0,03	0,628
LAVANDE	0,35	0,20	0,36	0,25	0,35	0,61	0,33	0,13	0,19	0,23	0,30	0,26	0,296
LEMON GRASS	0	0	0	0,04	0,03	0	0,08	0	0	0	0,11	0	0,621
MENTHE	0,11	0,02	0,09	0,01	0,14	0,11	0,12	0,06	0	0,07	0,03	0,12	0,673
MYRTE	0,07	0,27	0,16	0,27	0,17	0	0,33	0,46	0,25	0,50	0,39	0,13	0,250
NEROLI	0,07	0,16	0,21	0,01	0,06	0,11	0	0,16	0,01	0,09	0,14	0,09	0,694
NIAOULI	0,19	0,21	0,21	0,03	0,12	0,16	0	0,16	0	0	0,08	0,05	0,100
NOIX DE MUSCADE	0,02	0	0	0	0,08	0	0,04	0	0	0,11	0,11	0	0,630
ORIGAN D'ESP.	0,84	0,92	0,78	0,92	0,88	0,83	0,96	1,00	0,92	0,88	0,78	0,77	0,873
PETIT GRAIN	0,10	0,09	0,23	0,16	0,29	0,22	0,20	0,16	0,15	0,04	0,25	0,77	0,171
PIN	0,44	0,29	0,33	0,40	0,45	0,28	0,41	0,40	0,21	0,40	0,30	0,26	0,317
ROMARIN	0,17	0,12	0,04	0,12	0,03	0,16	0,12	0	0	0	0,03	0,11	0,675
SANTAL	0,02	0,04	0,03	0,02	0,05	0	0	0	0	0	0	0,05	0,617
SARRIETTE	0,30	0,24	0,28	0,72	0,52	0,50	0,50	0,40	0,60	0,71	0,39	0,33	0,457
SASSAFRAS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,03	0,602
SAUGE	0	0	0	0	0,02	0,16	0,08	0,16	0	0	0	0,02	0,636
SERPOLET	0,12	0,18	0,16	0,08	0,10	0,44	0,08	0	0,09	0	0,16	0,12	0,126
TEREBENTHINE	0	0,03	0,02	0,04	0,02	0	0,08	0	0,03	0,07	0,11	0,03	0,635
THYM	0,76	0,74	0,72	0,65	0,69	0,66	0,92	1,00	0,64	0,64	0,42	0,70	0,711
VACCINIUM MYRT.	0,05	0	0,01	0	0	0,16	0	0	0	0	0	0,03	0,620
VERVEINE	0,02	0	0	0,08	0,03	0	0	0	0,05	0,04	0	0	0,618

## Résumé

Le présent travail contribue, à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes, et la composition chimique de quatre huiles essentielles de plantes aromatiques de l'ouest Algérien, et de mettre en évidence la relation « composition-activités biologiques ». Les quatre plantes médicinales et aromatiques sont : une Apiacée, il s'agit d'*Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. connue sous le de Noukha, et trois Lamiacées, à savoir : *Mentha pulegium* L., *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq., et *Satureja candidissima* (Munby.) Briq. appelées par la population locale par Fliou, Nabta el khadra et Nabta elbida successivement.

Les rendements en huiles essentielles sont plus ou moins importants, *Ammoides verticillata* étant la plus riche en composés volatils qui constituent 2.59% de la partie aérienne sèche. Notre étude sur *Satureja candidissima* qui à nos meilleures connaissances, est la première sur cette espèce, a révélé un rendement de 0.93%.

L'évaluation de l'activité antioxydante par trois méthodes chimiques, a révélée des capacités antiradicalaires et réductrice remarquables ; L'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est la plus apte à inhiber le radical libre DPPH avec une CI50 de 20.84 µg/ml, et à réduire le fer (CE50=0.53 mg/ml), les huiles essentielles des espèces de Lamiacées étant moins actifs avec des CI50 supérieures à 183 µg/ml et des CE50 comprise entre 28.89 mg/ml pour *Satureja candidissima* et 57.64 mg/ml pour *Mentha pulegium*. Tout en sachant que la capacité antioxydante totale (CAT) des quatre huiles essentielles dépasse les 282 mg équivalent d'acide ascorbique par gramme d'huile essentielle.

Une activité antimicrobienne puissante des quatre huiles essentielles a été remarquée, avec des CMI comprises entre 0.19 et 12.5 µl/ml, sauf pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* qui reste toujours la mystérieuse résistante souche. Avec l'étude de l'indice aromatique, on a pu aussi qualifier les extraits volatils des quatre plantes comme étant des « **Germicides majeures** », avec des indices aromatiques total comprises entre 0.616 et 0.924.

La détermination de la composition chimique des huiles essentielles vient vraiment soutenir les résultats des activités biologiques, d'où on constate que l'huile essentielle d'*Ammoides verticillata* est la plus active sur le plan antioxydant et antimicrobien, grâce à la présence de phénols qui en raison de leurs groupes hydroxyle peuvent interagir avec la membrane cellulaire des microorganismes sans oublier également le rôle de substituant alkyle incorporé dans quelques monoterpènes, ou bien pour les autres huiles essentielles grâce à la présence de fonctions oxygène dans les cétones.

L'efficacité antioxydante d'*Ammoides verticillata* est due grâce aux propriétés donatrice de protons et/ou d'électrons des phénols et des monoterpènes. Ce qui n'est pas le cas pour les cétones qui forment la majorité des autres trois huiles essentielles.

**Mots clés :** huile essentielle, Activité antioxydante, activité antimicrobienne, Apiaceae, Lamiaceae, CG/SM, *Ammoides verticillata*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Satureja candidissima*.

### المخلص

هذا العمل يساهم، أولاً، في دراسة الأنشطة المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات لأربعة زيوت أساسية لنباتات عطرية مستخدمة على نطاق واسع في غرب الجزائر لأغراض علاجية و أيضاً كمنكهات لبعض الأطباق التقليدية، وثانياً، تحديد التركيب الكيميائي لهذه الزيوت العطرية لإظهار العلاقة بين الأنشطة البيولوجية و التركيبية الكيميائية.

النباتات الطبية والعطرية الأربعة هي: *Mentha pulegium* L., *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq., *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq., *Satureja candidissima* (Munby.) Briq.

و التي يطلق عليها المحليون أسماء: النوخة، فليو، نابطة الخضراء و نابطة البيضاء على التوالي.

النوخة هي الأغنى بالمركبات الطيارة التي تشكل 2.59% من الجزء الجوي الجاف. دراستنا حول النابطة البيضاء هي الأولى من نوعها حول هذه النبتة، و تحتوي على 0.93% من الزيوت الطيارة.

و كشف تقييم النشاط المضاد للأكسدة بثلاث طرق كيميائية عن قدرات مضادات للأكسدة جد ملحوظة، و النوخة الأكثر نشاطا لتنشيط الجذور الحرة DPPH (IC50) تقدر ب 20.84 ميكروغرام / مل) و الحد من الحديد (EC50) تقدر ب 0.53 ملليغرام / مل)، أما الزيوت الأخرى فهي أقل نشاطا لتنشيط DPPH (IC50 أكبر من 183 ميكروغرام / مل) ، لكن الملحوظ أن الزيت الطيار للنابطة البيضاء يمتلك قدرة على الحد من الحديد CE50 تقدر ب 28.86 ملليغرام / مل.

مع العلم أن إجمالي القدرة المضادة للأكسدة للزيوت الأساسية الأربعة تتجاوز 282 ملغ ما يعادل حمض الأسكوربيك لكل غرام من الزيت العطري.

لوحظ أيضاً أن الأربعة زيوت الأساسية هي مضادات جراثيم فعالة، مع حد أدنى من التركيز المثبط للجراثيم في حدود 0.19 إلى 12.5 ميكروغرام/مل. و مؤشر العطرية ما بين 0.616 و 0.924، و بذلك يمكن اعتبار الزيوت الأربعة ك "مضادات الميكروبات جد فعالة". إلا في حالة الميكروب *Pseudomonas aeruginosa* التي تعتبر من الكائنات المجهرية شديدة المقاومة. تحديد التركيب الكيميائي للزيوت العطرية في الحقيقة يدعم نتائج الأنشطة البيولوجية، حيث وجدنا أن الفينولات و المونوتاربيينات المركبة لزيت النوخة تمنحه الخصائص المضادة للميكروبات بفضل مجموعات الهيدروكسيل التي يمكن أن تتفاعل مع غشاء الخلية من الكائنات الدقيقة، و أيضاً إلى الروابط الأكسجينية عند الكيتونات و الكحولات الوحيدة التاربان التي تشكل الزيوت الطيارة للنباتات الأخرى.

أما الفعالية المضادة للأكسدة التي تملكها النوخة فهي راجعة للخصائص المانحة من البروتونات و / أو الإلكترونات للفينولات و المونوتاربيينات و هذا ليس هو الحال بالنسبة للكيتونات التي تشكل غالبية الزيوت الأساسية الثلاثة الأخرى.

**كلمات البحث:** الزيوت الطيارة، الزيوت العطرية، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد حيوي، GC/MS، النوخة، فليو، النابطة الخضراء، النابطة البيضاء.

### Abstract

The present work contributes, to the study of the antioxidant and antimicrobial activities of four essential oils of aromatic plants widely used in the Algerian west for culinary and therapeutic purposes. And the determination of their chemical composition to demonstrate the relationship "composition-biological activities".

The four medicinal and aromatic plants are: one Apiaceae, *Ammoides verticillata* (Desf.) Briq. Known as Noukha, and three Lamiaceae, namely: *Mentha pulegium* L., *Satureja calamintha* Scheele. sp. *nepeta* (L.) Briq., and *Satureja candidissima* (Munby.) Briq. Called by the locals by Fliou, Nabta el khadra and Nabta elbida successively.

The yields of essential oils are more or less important, *Ammoides verticillata* being the richest in volatile compounds which constitute 2.59% of the dry aerial part. Our study on *Satureja candidissima* which to our best knowledge, is the first on this species, revealed a yield of 0.93%.

The evaluation of the antioxidant activity by three chemical methods, revealed remarkable antioxidant capacities; The essential oil of *Ammoides verticillata* is the most active to inhibit the free radical DPPH with an IC50 of 20.84 µg / ml and to reduce iron (EC50 = 0.53 mg / ml), the essential oils of the Lamiaceae species being less Active with IC50 greater than 183 µg / ml and EC50 between 28.89 mg / ml for *Satureja candidissima* and 57.64 mg / ml for *Mentha pulegium*. Knowing that the total antioxidant capacity (CAT) of the four essential oils exceeds 282 mg equivalent of ascorbic acid per gram of essential oil.

A powerful antimicrobial activity of the four essential oils was observed, with MICs between 0.19 and 12.5 µl / ml, except for the *Pseudomonas aeruginosa* strain, which remains the mysterious resistant strain. With the study of the aromatic index, the volatile extracts of the four plants were referred as "major germicides", with total aromatic indices ranging from 0.616 to 0.924.

Determination of the chemical composition of essential oils really supports the results of biological activities, which shows that the essential oil of *Ammoides verticillata* is the most antioxidant and antimicrobial, thanks to the presence of phenols due to their hydroxyl groups can interact with the cell membrane of the microorganisms, without forgetting also the role of alkyl substituent incorporated in some monoterpenes or else for other essential oils thanks to the presence of oxygen functions in ketones. The antioxidant efficacy of *Ammoides verticillata* is due to the donor properties of protons and / or electrons of phenols and monoterpenes. This is not the case for the ketones which form the majority of the other three essential oils.

**Key words:** Essential oil, antioxidant activity, antimicrobial activity, Apiaceae, Lamiaceae, GC / MS, *Ammoides verticillata*, *Mentha pulegium*, *Satureja calamintha*, *Satureja candidissima*.