

**Thèse en Convention de Cotutelle Internationale présentée pour l'obtention
du grade de**

DOCTEUR EN CHIMIE

Mention : Chimie organique et analytique

Soutenue publiquement par

Ali MEDBOUHI

**Recherche de nouveaux principes actifs issus des espèces du
genre *Eryngium* de l'Ouest Algérien**

Membres du Jury :

M. Zoheir ARRAR, PRU, U. Tlemcen (Algérie)	Président
M. Nassim DJABOU, Dr-HDR, U. Tlemcen (Algérie)	Directeur
M. Alain MUSELLI, PRU, U. Corse (France)	Directeur
M. Nicolas BALDOVINI, Dr-HDR, U. Nice (France)	Examineur
M. Abdelkrim CHERITI, PRU, U. Béchar (Algérie)	Examineur
M. Julien PAOLINI, Dr-HDR, U. Corse (France)	Examineur
M. Boufeldja TABTI, PRU, U. Tlemcen (Algérie)	Invité



*Je dédie ce travail
A la mémoire de mon grand père
A mes parents et A mes Frères
A mon épouse
A mes amis*

Avant-Propos

Avant toute chose je remercie Dieu tout puissant de m'avoir accordée toute la force, la patience et la bonne conduite pour réaliser ce travail.

Ce projet de thèse est le fruit d'une collaboration Nord-Sud entre le laboratoire de Chimie des Produits Naturels (CPN) de l'Université de Corse et le Laboratoire des Substances Naturelles et BIOactive (LASNABIO), de l'Université de Tlemcen, initiée par la volonté commune des Doyens TABTI et COSTA, voilà dix ans. Le développement de cette thèse a été réalisé en cotutelle entre les deux universités sous la direction du Professeur Alain MUSELLI et du Docteur-HDR Nassim DJABOU. Ainsi, les travaux ont été effectués d'une part aux laboratoires LASNABIO et COSNA (Université de Tlemcen) pour tout ce qui est de la préparation des échantillons et d'autre part au laboratoire CPN (Université de Corse) pour la réalisation des analyses chimiques et de leurs interprétations.

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma gratitude et mon profond respect pour le Professeur Jean COSTA. Jean, qui a été pour moi bien plus qu'un Directeur de Laboratoire ; Il a été un père bienveillant qui a tant facilité mes séjours en corse. J'ai été durablement marqué par nos discussions scientifiques et universitaires. Monsieur, à votre personne aimable, honnête et humaine j'adresse mon amitié et ma profonde reconnaissance.

Je remercie très sincèrement le Professeur Alain MUSELLI, et le Docteur Nassim DJABOU, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour leur dévouement exemplaire et leur encadrement sans faille que pour leurs recommandations et leurs avis judicieux durant nos séances de travail.

Mes remerciements vont également au jury pour sa présence afin d'évaluer et participer à la conclusion de ce travail, je pense notamment à mon collègue de l'université de Corse, le Docteur Julien PAOLINI, aux Professeurs Zoheir ARRAR et Boufeldja Tabti de l'université de Tlemcen et une pensée particulière au Professeur CHERITI de l'université de Bechar et au Docteur Nicolas BALDOVINI de l'université de Nice.

Je veux remercier chaleureusement pour leur précieuse collaboration: le Professeur Mourad BENDAHOU (Directeur du laboratoire LAMAABE. Université de Tlemcen), pour son aide dans la réalisation des activités antimicrobiennes des huiles essentielles, et la Docteure Aura TINTARU (Institut de Chimie Radicalaire. Université d'Aix-Marseille), pour la réalisation des analyses RMN.

Je tiens, aussi, à remercier le Pr Saïd GHALEM, Directeur du Laboratoire LASNABIO, et le Pr Boufeldja TABTI, actuellement Responsable de l'Equipe des huiles essentielles au sein du LASNABIO, pour leurs conseils avisés et leur soutien moral. Mes remerciements vont également au Pr J. Kajima MULENGI, directeur du Laboratoire COSNA et à son équipe.

Je ne peux oublier de remercier les Enseignants-Chercheurs qui m'ont entouré : Meriem MERAD, Nouria MERAD, Pr Hocine ALLALI et Pr Amine DIB, les ingénieurs Boumediene, Khira, Soumia et bien sûr mes condisciples doctorants du laboratoire, et plus particulièrement Nadjia MERAD, pour son aide et sa disponibilité. Je leur souhaite une bonne chance, patience et persévérance dans l'accomplissement de leurs travaux.

Je veux, maintenant, dire toute ma reconnaissance et mon amitié aux membres de l'équipe CPN qui m'a bien accueilli et intégré en son sein. Je pense notamment à Julien, Marie-Jo, Franck, Jimmy, Anaïs F, Anaïs P, Marion et Yin. J'adresse un spécial remerciement à Jimmy pour son art, son aide et sa disponibilité. Mes attentions vont aussi à mes camarades de bureau les docteurs Yoro TINE et Wein JIANG, à tous deux je dis grand merci pour les bons moments passés ensemble : je vous souhaite plein succès dans votre vie tant professionnelle que personnelle.

Ce travail a bénéficié d'un financement, d'une part du Ministère de l'Europe et des Affaires Etrangères sous la forme d'une bourse d'excellence EIFFEL gérée par CampusFrance et d'autre part du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique d'Algérie, auxquels j'adresse mes chaleureux remerciements. Ces financements, origine de conditions les plus favorables de travail, de tranquillité et de sérénité ,ont permis une avancée rapide et un aboutissement de ce Doctorat.

Cette thèse a été un énorme challenge personnel qui m'a permis de me mieux me connaître. Pendant ces quatre années des personnes de mon entourage se sont impliquées par un soutien actif, réconfortant et stimulant. A vous, mes parents, mes frères, mon épouse chérie, ma famille et mon grand ami Adel je dis un MERCI tout à fait particulier, parfumé d'Amour et de Reconnaissance. Cette réussite est en quelque sorte grâce à vous....et pour vous.

Listes des figures

Figure 1. <i>Eryngium triquetrum</i> Vahl	8
Figure 2. <i>Eryngium campestre</i>	9
Figure 3. <i>Eryngium tricuspdatum</i> ssp. <i>Mauritanicum</i>	10
Figure 4. Structures de quelques composés présents dans le genre <i>Eryngium</i>	17
Figure 5. Analyses complémentaires mises en œuvre pour l'identification des constituants d'une huile essentielle.	26
Figure 6. Identification des constituants de mélanges complexes de volatils par combinaison des techniques CPG et CPG/SM	27
Figure 7. Structures des composés majoritaires de l'huile essentielle d' <i>E. triquetrum</i> d'Algérie	38
Figure 8. Localisation géographique et période de récolte des échantillons d'huile essentielle (S1-S25) de l'ouest Algérien	43
Figure 9. Chromatogramme de l'huile essentielle d' <i>E. mauritanicum</i> (échantillon ERM1, a), spectres de masses du β -bisabolène (b) et du β -bisabolénal 23 (c).	48
Figure 10. Structures des composés majoritaires de l'huile essentielle d' <i>E. mauritanicum</i> ..	50
Figure 11. Structure des composés de squelette guaïanes dans l'extrait hexanique d' <i>E. mauritanicum</i>	54
Figure 12. Chromatogramme de l'huile collective d' <i>E. campestre</i>	59
Figure 13. Spectres de masse de A (a) et de B (b) et chromatogramme de l'extrait hexanique d' <i>E. campestre</i> (c).	60
Figure 14. Structure de falcarindiol	61
Figure 15. Structure du (Z)-17-vinyloxacycloheptadeca-10-en-13,15-diyne-2-one	63
Figure 16. Proportions des composés majoritaires des huiles essentielles produites au cours du cycle végétatif d' <i>E. campestre</i>	69
Figure 17. Répartitions géographiques et données GPS des 37 échantillons d'huiles essentielles des parties aériennes d' <i>E. campestre</i>	72
Figure 18. ACP des compositions chimiques des huiles essentielles d' <i>E. campestre</i>	73
Figure 19. Dendrogramme des compositions chimiques des huiles essentielles d' <i>E. campestre</i>	73

Liste des tableaux

Tableau 1. Données spectrales de la littérature et expérimentales du falcarinol (δ , ppm dans CDCl ₃) en RMN du Carbone-13 :	37
Tableau 2. Composition chimique de l'huile collective d' <i>E. triquetrum</i> (HEcoll) et des huiles essentielles préparées à partir du matériel végétal récoltés au cours du cycle végétatif et des organes séparés (fleurs, tiges et racines) provenant de la station Bouhanak (S1).	40
Tableau 3. Structure et données spectrales (λ , ppm dans CDCl ₃) en RMN du proton et du Carbone-13 du β -bisabolénal 23:	49
Tableau 4. Compositions chimiques des huit échantillons d'huiles essentielles des parties aériennes d' <i>E. mauritanicum</i>	52

Tableau 5. Composition chimique de l'extrait héxanique d' <i>E. mauritanicum</i> :.....	55
Tableau 6. Structure et données de RMN du carbone-13 de A (CDCl ₃ , 125,77 MHz, 300K) :	63
Tableau 7. Composition chimique de l'huile collective d' <i>E. campestre</i> et des huiles essentielles des organes séparés et du suivi végétatif obtenus dans la station de Lalla Setti S1	65
Tableau 8. Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits par la méthode des disques : 78	
Tableau 9. Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits par la méthode des CMI :	79
Tableau 10. Activités anti-radicalaires des huiles essentielles étudiées sur DPPH (CI50, �g/ml) :	81

Liste des annexes

Annexe 1. Composés majoritaires identifiés dans les huiles essentielles des espèces du genre <i>Eryngium</i> . (Partie A).....	99
Annexe 2. Données de la littérature sur la présence du falcarinol dans les huiles essentielles. (Partie B).....	111
Annexe 3. Composition chimique de l'huile collective (Ert Coll) et les 25 huiles essentielles des parties aériennes des 25 stations. (Partie B).....	113
Annexe 4. Composition chimique de l'extrait héxanique d' <i>E.campestre</i> : (Partie B)	114
Annexe 5. RMN-13C du composé NI32 dissout dans l'acétone-d6, obtenu à 125.77 MHz � 300K (Partie B).....	116
Annexe 6. Compositions chimiques des 37 échantillons d'huiles essentielles d' <i>E. campestre</i> (S1-S37). (Partie B).....	117
Annexe 7. Article : Chemical Composition and Biological Investigations of <i>Eryngium</i> <i>triqueterum</i> essential oil from Algeria	126

Liste des abréviations

¹³ C	Carbone-13
¹ H	Proton
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
ACP	Analyse en Composante Principale
AFNOR	Association française de normalisation
AFSSAPS	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
CAH	Classification Ascendante Hiérarchique
CC	Chromatographie sur colonne
CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CDCl ₃	Chloroforme deutéré
CLHP	Chromatographie en phase liquide à haute performance
CL-HR-SM/SM	Chromatographie en phase liquide couplé à la spectroscopie de masse en tandem à haute résolution
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CL-SM/SM	Chromatographie en phase liquide couplé à la spectroscopie de masse en tandem
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CNRS	Centre National de la Recherche Scientifique
COSY	Corrélation homonucléaire
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
CPG-DIF	Chromatographie en phase gazeuse à détecteur à ionisation de flamme
CPN	Chimie des Produits Naturels
DI	Diamètre d'inhibition
DL50	Dose Létale médiane
DMF	N,N-diméthylformamide
DMSO	Diméthylsulfoxyde
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectroscopie de masse
GI ₅₀	Concentration de l'antitumoral nécessaire pour inhiber 50% de la prolifération
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
IC	Impact chimique
IC ₅₀	Concentration nécessaire à 50 % d'inhibition
IE	Impact électronique
IK	Indice de Kovalts
Ir	Indice de rétention
IR	Infra-rouge
IS	Internal Standard
J	Constante de couplage (NMR)
JCR	Journal Citation Reports
LC-TOF-MS	Liquid Chromatography coupled with Time-Of-Flight Mass Spectrometry LC-TOF-MS
m/z	Rapport masse sur charge
MHA	Mueller-Hinton
MHz	Mégahertz

MS-HR	Spectroscopie de masse à haute résolution
NIST	National Institute of Standards and Technology
PAM	Plantes Aromatiques et Médicinales
ppm	Partie par million
PPO	Polyphénol oxydase
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
RMN	Résonance nucléaire magnétique
Tr	Temps de rétention
UHPLC	Chromatographie en phase liquide en ultra haute performance
UMR	Unité Mixte de Recherche
USA	United States of America
UV	Ultra-violet
δ_c	Déplacement chimique du carbone-13
δ_H	Déplacement chimique du proton

Glossaire

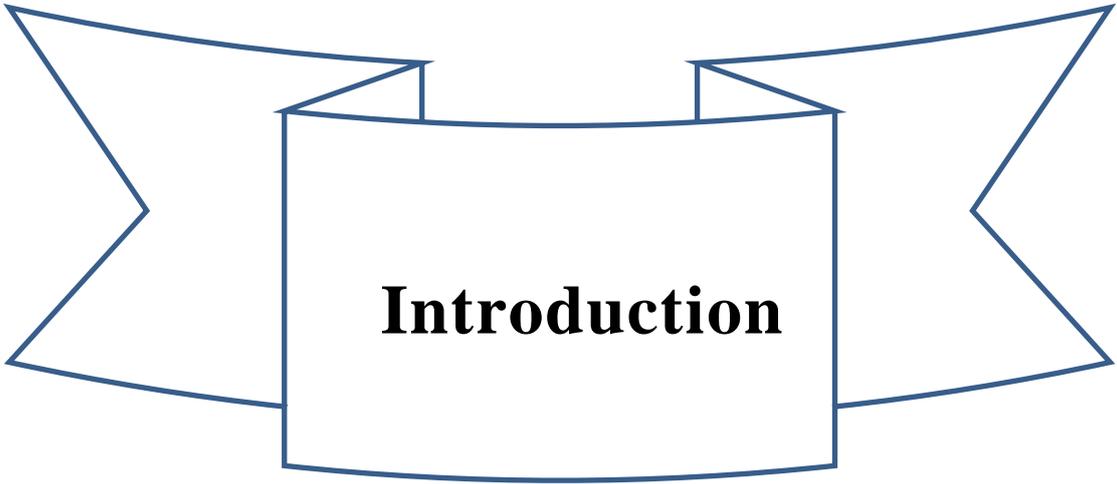
Amplexicaule	Feuille ou bractée à base élargie embrassant plus ou moins la tige ou le rameau
Caulinaire	Qui tient à la tige
Palmipartite	Feuille palmée, découpée en lobes jusqu'au-delà du milieu ou presque jusqu'à sa base
Triquètre	à 3 angles saillants, amincis et comme tranchants
Trinervé	à 3 nervures

Sommaire

Introduction	1
Partie A / Etude bibliographique	6
I. Données phytochimiques sur le genre <i>Eryngium</i>	7
I.1. Descriptions botanique et ethnobotanique du genre <i>Eryngium</i>	7
I.2. Les métabolites secondaires du genre <i>Eryngium</i>	11
I.2.1. Principaux métabolites secondaires identifiés dans les extraits aux solvants	12
a. Les triterpènes saponines	12
b. Les flavonoïdes	12
c. Les coumarines	12
d. Les acides phénoliques	13
e. Les polyacétylènes	13
I.2.2. Principaux métabolites secondaires identifiés dans les huiles essentielles	14
a. Les huiles essentielles caractérisées par des terpènes hydrocarbonés.....	15
b. Les huiles essentielles riches en composés oxygénés	15
II. Préparation et analyse des huiles essentielles	18
II.1. Echantillonnage du matériel végétal.....	18
II.2. Préparation des huiles essentielles.....	19
II.3. Analyse des huiles essentielles	20
II.3.1. Chromatographie en phase gazeuse	20
II.3.2. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM).....	20
a. CPG/SM en mode « Impact Electronique » (CPG/SM-IE).....	21
b. CPG/SM en mode « Ionisation Chimique » (CPG/SM-IC)	21
II.4. Séparation des constituants préalablement à leur identification.....	22
II.5. Outils statistiques.....	22
III. Méthodologie d'analyse pour l'identification des constituants volatils d'un mélange complexe :	24
IV. Activités biologiques	28
IV.1. Données de la littérature sur le genre <i>Eryngium</i>	28
IV.2. Méthodes d'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles	29
IV.2.1. Activité antimicrobienne	29
a. Méthode de diffusion sur gel.....	29
b. Méthode de dilution en milieu liquide	30

IV.2.2. Activité antioxydante	30
V. Séquence analytique.....	31
Partie B / Etude chimique.....	33
I. Chapitre I Eryngium triquetrum d'Algérie, une possible source du Falcarinol. Etude chimique des composés volatils	35
I.1. Analyse préliminaire de l'huile essentielle d' <i>E. triquetrum</i>	37
I.2. Etude de la composition chimique des huiles essentielles des organes séparés et des parties aériennes durant le cycle végétatif de la plante	38
I.3. Analyse des 25 huiles essentielles individuelles d' <i>E. triquetrum</i>	42
I.4. Etude comparative sur la présence du falcarinol dans les huiles essentielles.....	44
II. Chapitre II / Etude de la composition chimique des métabolites volatils d' <i>Eryngium tricuspidatum ssp. mauritanicum</i> d'Algérie	45
II.1. Analyse préliminaire de l'huile essentielle d' <i>E. tricuspidatum ssp. mauritanicum</i> ..	47
II.2. Etude de la composition chimique de l'extrait hexanique d' <i>E. mauritanicum</i> :	54
III. Chapitre III / Les métabolites volatils d' <i>Eryngium campestre</i> . Identification d'une nouvelle molécule. Etude de la variabilité chimique	56
III.1. Analyse préliminaire des huiles essentielles d' <i>E. campestre</i> et de l'huile essentielle collective.	58
III.1.1. Etude de l'extrait hexanique d' <i>E. campestre</i>	59
a. Identification de B	61
b. Analyse structurale du composé A.....	62
III.1.2. Bilan de l'huile essentielle collective d' <i>E. campestre</i>	64
III.2. Etude de la composition chimique des huiles essentielles des organes séparés. Etude de la variabilité saisonnière.....	68
III.3. Variabilité chimique inter stations des huiles essentielles d' <i>E. campestre</i>	70
Partie C / Etude biologique	75
I. Activité antimicrobienne.....	77
II. Activité antioxydante	80
Conclusion.....	83
Partie expérimentale	88
I. Echantillonnage.....	89
II. Préparation d'échantillons.....	90
II.1. Extraction des huiles essentielles :	90
II.2. Extraction à l'hexane :	90
III. Fractionnement des huiles essentielles et des extraits.....	90

IV.	Analyse des huiles essentielles et des extraits.....	92
IV.1.	Conditions GC-FID :.....	92
IV.2.	Conditions CPG-SM.....	92
IV.3.	Conditions CPG-SMHR.....	93
IV.4.	Conditions RMN.....	93
IV.5.	Analyses infra-rouge.....	94
V.	Outils statistique.....	94
VI.	Tests biologiques.....	94
VI.1.	Activité antioxydante.....	94
VI.2.	Activité antimicrobienne.....	96
Annexes	98
Références	127



Introduction

Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que les plantes ont toujours occupées une place importante dans la vie quotidienne. Plus particulièrement dans les domaines de la santé, les plantes ont connu un réel intérêt qui s'est perpétué au fil du temps en donnant naissance à la médecine actuelle.

Les plantes médicinales sont une source incontournable et inépuisable de composés biologiquement actifs. L'atout principal des PAM (Plante Aromatique et Médicinale) consiste dans le fait qu'elles sont utilisées pour le traitement de diverses pathologies que ce soit sous forme directe (infusions ou macérations) ou indirecte (extraction d'actifs). Cette polyvalence est à l'origine de la tendance actuelle visant à leur valorisation économique. L'effort de recherche porte sur la caractérisation chimique et biologique de métabolites secondaires contenus dans des extraits aux solvants ou des huiles essentielles qui seront, demain, les agents actifs susceptibles de faire aboutir un nouveau médicament.

L'intérêt croissant aux plantes aromatiques et médicinales a fait naître un marché fructueux qui génère des revenus énormes à l'échelle mondiale. Ainsi, les industries du secteur médical utilisant des PAM connaissent un succès grandissant, et elles ont vu leur activité augmenter de façon exponentielle au cours de deux dernières décennies. Un rapport récent émanant du CIHEAM et de FranceAgriMer portant sur l'évolution du marché mondial des plantes aromatiques et médicinales, montre que ce dernier est en augmentation régulière avec un taux de croissance annuel de 8% en volume et de 11% en valeur pour la période 1988-2014. En volume, le marché est passé de 200 000 tonnes à plus de 600 000 tonnes et un chiffre d'affaires de moins d'un milliard en 1988 à plus de trois milliards de dollars en 2014. Rappelons que ce montant ne porte que sur les plantes et parties de plantes. Si l'on y ajoute la valeur des huiles essentielles le marché est estimé en valeur à plus de quatre milliards de dollars en 2014 d'après la source Comtrade. On obtient alors un marché mondial d'une valeur de près de 8 milliards de dollars en 2014 pour ces deux catégories de produits seulement [1].

Constituant l'un des points chauds de la biodiversité mondiale, l'Algérie possède un capital floristique tout à fait remarquable à l'échelle de la planète. Sa flore compte 3139 espèces réparties dans près de 150 familles botaniques parmi lesquelles 653 espèces sont endémiques soit un taux d'endémisme d'environ 12,6%.

Cependant, la problématique majeure émergente aujourd'hui vise la valorisation de la richesse biologique qui reste à ce jour quasiment inexistante. Comme en atteste le rapport cité supra : « L'Algérie quant à elle est totalement absente de la scène internationale des échanges de plantes aromatiques et médicinales ». Par contre le taux d'importation dans ce secteur ne cesse d'augmenter. D'après le Centre National de l'Informatique et Statistique (CNIS) affilié aux douanes algériennes, une hausse de 17% en volume et 73% en valeur a été notée pour la seule année 2013. La progression économique est impressionnante, puisque le secteur représentait près de 1 200 000 euros à la fin de l'année 2014 contre 694 000 euros à la même période de comparaison l'année précédente. En volume, cette facture correspond à des importations qui ont atteint 534 tonnes contre 456 tonnes à la même période de l'année précédente.

Il est, me semble-t-il grand temps d'adopter une politique mieux adaptée et responsable qui s'appuie sur un travail collaboratif entre tous les acteurs de ce secteur permettant une gestion coordonnée des ressources naturelles et le lancement de nouvelles productions à haute valeur ajoutée qui peuvent intéresser le marché extérieur et ainsi générer des revenus importants au pays.

Cette politique de valorisation doit être initiée par les scientifiques et les laboratoires de recherche. Ils constituent le premier maillon de la chaîne d'industrialisation des PAM. A leur niveau plusieurs tâches peuvent être effectuées, parmi elles :

- Transformer le savoir-faire traditionnel en une connaissance scientifique confirmée et validée par des expérimentations rigoureuses en laboratoire de recherche.
- Réaliser des bases de données pour répertorier les différentes plantes et leur distribution spatiale.
- Rechercher des débouchés d'exploitation pour certaines espèces dont l'offre est supérieure à la demande en exploitant judicieusement la flore spontanée et en procédant à la culture intensive des espèces locales.
- Maîtriser les techniques culturales de la récolte, du conditionnement et de la commercialisation des espèces connues déjà existantes.
- Vulgariser les techniques culturales déjà maîtrisées par l'intermédiaire des stations expérimentales.
- Transférer le savoir des chercheurs qualifiés par le biais d'une offre de Formation, (Licence professionnelle, Master, Doctorat mais aussi, séminaires, tables rondes et stages).

Le moyen investi par les laboratoires est celui de la recherche universitaire par la conception, la direction et l'encadrement de projets d'application et de valorisation d'envergure nationale voire internationale. Les laboratoires prennent en charge l'étude des matières premières (huiles essentielles et extraits végétaux) ainsi que la mise en place de protocole pour la réalisation de différents types d'activité biologique sur ces dernières, tout en apportant une dimension supplémentaire par la synthèse et la modélisation des actifs.

Ces données concourent à encourager les investisseurs à se tourner vers l'industrie des matières premières issus des PAM, telles que les huiles essentielles, les hydrolats, les eaux florales, les extraits et/ou les molécules pures destinées aux industries de la Chimie fine. Cette action permet de limiter les importations et mettre en perspective une ouverture vers le marché international dont la demande est en augmentation permanente.

C'est dans ce contexte que mon travail de thèse s'inscrit, il s'est réalisé dans le cadre d'une convention de cotutelle établie entre les universités de Corse et de Tlemcen. Mon doctorat se veut une continuité des travaux initiés dans le cadre d'un Partenariat Hubert Curien « Tassili 2011-2014 » entre le laboratoire de Chimie des Produits Naturels partie intégrante de l'UMR-CNRS 6134 SPE de l'Université de Corse (Corte, France) et le Laboratoire des Substances Naturelles et BIOactives (LASNABIO) de l'Université de Tlemcen (Algérie) et visant la caractérisation et la valorisation des PAM d'Algérie. Mon travail s'intéresse à la caractérisation chimique et l'évaluation des activités biologiques des métabolites secondaires contenus dans trois espèces du genre *Eryngium* (*E. triquetrum*, *E. campestre* et *E. subs mauritanicum*) poussant à l'état spontané dans l'Ouest Algérien. Les espèces qui font l'objet de notre étude ont été sélectionnées sur la base des données de la littérature qui montrent la faiblesse d'informations relatives aux espèces locales et qui présentent le genre *Eryngium* comme un réservoir de molécules actives à un grand potentiel.

Le volet chimique de mon travail consiste en l'étude de la composition chimique des huiles essentielles de trois espèces du genre *Eryngium*. Les huiles essentielles ont été obtenues à partir de plantes provenant de plusieurs zones d'échantillonnage ; leurs compositions chimiques ont été étudiées à l'aide de techniques chromatographiques et spectroscopiques modernes. A partir des compositions chimiques des huiles essentielles de chaque espèce, une étude de variabilité réalisée à l'aide d'outils statistique, a été menée afin d'identifier les facteurs environnementaux responsables de la diversité chimique. Le volet biologique développé dans notre travail s'intéresse à la découverte de champs d'applications pour les différentes matrices (huiles essentielles, extraits, substances isolées). Ainsi, l'évaluation des

activités antioxydante et antimicrobienne a été réalisée dans le but de découvrir des médicaments « verts » et des actifs pour le domaine de la cosmétique. Ces travaux ont été réalisés au sein des laboratoires CPN (Université de Corse), LASNABIO et COSNA (Université de Tlemcen) et le Laboratoire de pharmacognosie (Université de Louvain).

Cet ouvrage s'organise autour de 3 parties présentant successivement une étude bibliographique, la caractérisation chimique, et l'évaluation biologique des composés volatils des trois espèces du genre *Eryngium* d'Algérie.

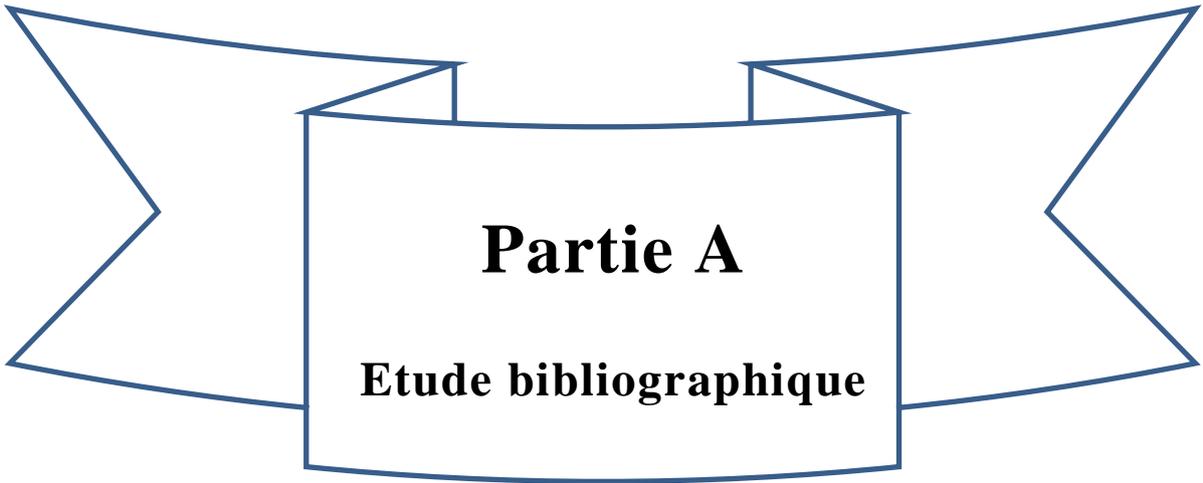
La partie A est consacrée à l'état de l'art, il concerne les descriptions botaniques et ethnobotaniques des espèces du genre *Eryngium* et en particulier des 3 espèces qui font l'objet de notre étude, i.e., *E. triquetrum*, *E. campestre* et *E. tricuspdatum* subsp. *mauritanicum*. Par la suite, nous présentons une synthèse des travaux publiés dans la littérature sur les différents composés et familles chimiques contenus dans les espèces du genre *Eryngium*. Dans un deuxième temps, nous explicitons les méthodes de préparation des huiles essentielles et les moyens d'analyse appropriés pour la caractérisation de leurs constituants. Ainsi, nous exposons la méthodologie développée par le laboratoire CPN pour l'analyse des composés volatils. Il s'ensuit un paragraphe explicite sur l'intérêt du fractionnement et de l'outil statistique dans l'étude des huiles essentielles. Nous nous intéressons aux propriétés biologiques des espèces *Eryngium* rapportées dans la littérature et nous terminons par une description de la séquence analytique développée pour mener à bien nos travaux de thèse.

La partie B expose les compositions chimiques des huiles essentielles (Parties aériennes, organes séparés et suivi végétatif) relatives aux trois espèces sélectionnées. Les résultats sont présentés dans trois parties distinctes. Nous décrivons les stratégies analytiques basées sur l'utilisation de techniques d'analyses complémentaires pour assurer l'identification de composés absents des bibliothèques de références. Enfin nous étudions la variabilité chimique des échantillons des huiles essentielles.

La partie C est consacrée à l'évaluation des activités biologiques des différentes matrices étudiées.

En fin de manuscrit est présentée la partie expérimentale qui reprend les méthodes de préparation des huiles essentielles et des extraits aux solvants ainsi que les conditions expérimentales des diverses analyses.

En annexe, sont donnés de nombreux éléments intéressants mais qui, à notre sens, auraient rendu la lecture moins aisée s'ils avaient été insérés dans le manuscrit.



Partie A
Etude bibliographique

I. Données phytochimiques sur le genre *Eryngium*

I.1. Descriptions botanique et ethnobotanique du genre *Eryngium*

Le genre *Eryngium* appartient à la grande famille des *Apiaceae* (synonyme Umbellifères) qui comprend 420 genres et près de 3 000 espèces de plantes dicotylédones distribuées dans les régions tempérées du globe. C'est une famille relativement homogène, caractérisée notamment par son inflorescence de type ombelle. Plusieurs espèces du genre *Eryngium* fournissent des condiments appréciés comme la carotte, la coriandre, le fenouil et certaines sont toxiques comme la grande ciguë [2].

Avec plus de 250 espèces le genre *Eryngium* L (sous famille *Saniculoideae*), est le plus vaste de la famille des *Apiaceae* sur le plan taxonomique. Les études morphologiques distinguent cinq sous-genres : *Eryngium*, *Monocotyloidea*, *Fruticosa*, *Semiaquatica* et *Foetida*. Le sous-genre *Eryngium* est le plus commun en Europe, Afrique et Asie, tandis que les autres sous-genres sont largement répandus en Australie [3], [4]. Néanmoins une analyse infra-génétique réalisée à partir des données séquentielles d'ADN chloroplastique et ribosomique nucléaire, a réduit cette classification aux seuls sous-genres *Eryngium* et *Monocotyloidea* [5]. Les espèces du genre *Eryngium* sont inégalement réparties entre et dans les hémisphères Est et Ouest : deux centres de diversité sont reconnus dans chaque hémisphère : l'Amérique du sud dans l'hémisphère Ouest et, l'ouest de la Méditerranée et sud-ouest de l'Asie dans l'hémisphère Est. Environ les deux tiers des espèces sont distribuées dans l'hémisphère Ouest. [6].

Les espèces du genre *Eryngium* sont des plantes annuelles, bisannuelles ou vivaces, glabres, épineuses et souvent de teinte verte glauque, bleutée ou violacée à maturité. Elles possèdent des tiges de 5 à 100 cm naissant au cœur de la souche souvent fibreuse et des feuilles basales, à ramification sympodiale, chaque embranchement est terminé par une inflorescence [7].

Eryngium triquetrum Vahl. est une plante vivace, épineuse, vert glauque à la base, bleu-azuré ou améthyste à l'apex, d'une hauteur de 15 à 50 cm, à racines noires et épaisses. Ces tiges sont rigides, épaisses, très ramifiées et très feuillées à rameaux triquètres. Les feuilles basales en rosette sont coriaces et épineuses. Les inflorescences sont de couleur bleu

clair, à nombreux pseudocapitules. Les bractées florales semi globuleuses sont plus courtes ou tout au plus de taille égale aux fleurs [8].



Figure 1. *Eryngium triquetrum* Vahl [8].

Eryngium campestre aussi connue sous le nom chardon champêtre ou panicaut champêtre, est une plante vivace d'un vert blanchâtre, très épineuse, à souche épaisse. Il s'agit d'une plante d'une hauteur de 50 à 60 cm qui affectionne les champs incultes, les bords des chemins et les plaines. La tige est dressée et très ramifiée. Les inflorescences sont des ombelles arrondies, entourées d'un involucre blanchâtre à 5 ou à 6 bractées et ressemblant à des capitules. La racine persistante est très longue (jusqu'à 5 m) et émet de nombreux rejets.



Figure 2. *Eryngium campestre* [8]

Eryngium tricuspdatum ssp. *mauritanicum* appelée aussi *Eryngium mauritanicum* est une plante endémique du nord-ouest de l'Afrique plus exactement d'Algérie et du Maroc. Il s'agit d'une plante vivace, gracieuse, verte, épineuse, d'une hauteur de 15-90 cm, possédant des racines épaisses et noires. C'est une plante très rare qui se présente sous forme de pieds possédant une tige unique, ces pieds se regroupent en nombre de 5 à 10 par zone. Elle diffère de la sous-espèce *tricuspdatum* par des feuilles caulinaires palmatipartites, plus ou moins amplexicaules à la base, à lobes larges de 3-6 mm et trinerviés, ainsi que par des bractées plus larges (2-3,5 mm).



Figure 3. *Eryngium tricuspdatum* ssp. *Mauritanicum* [9]

Certaines espèces du genre *Eryngium* ont un usage culinaire [10], [11]. Les graines d'*Eryngium foetidum* sont utilisées comme substitut de la coriandre en tant que condiment [12], les fruits sont couramment consommés au Nigeria [13]. Les feuilles d'*E. caucasicum* sont largement utilisées comme condiments en substitution des cornichons, dans la partie nord de l'Iran [14]. Plusieurs espèces d'*Eryngium* sont couramment utilisées comme plantes d'ornement y compris pour la confection de bouquets floraux du fait de leur forme et/ou couleur attrayantes : *E. bourgatii* couleur améthyste, *E. alpinum* variété « Blue star » d'un bleu profond, *E. pandanifolium* pouvant atteindre 3 mètres de hauteur ou encore *E. giganteum* et *E. planum* appréciées pour la vivacité de leur couleur bleutée et leur caractère rustique ne nécessitant que peu d'entretien.

En médecine traditionnelle, de nombreuses espèces d'*Eryngium* ont été utilisées pour le traitement de plusieurs maladies humaines telles que l'œdème, la sinusite, les infections urinaires, les inflammations mais aussi pour les morsures de serpents ou les piqûres de scorpions [14–17]. Il est rapporté que *E. creticum* a été utilisée comme plante hypoglycémiant en Jordanie [1:]. *E. caucasicum* est l'une des plantes les plus consommées dans la partie nord de l'Iran en raison de ses multiples effets bénéfiques sur la santé humaine [19–24], tandis que *E. elegans* Cham. & Schltl a été utilisée comme agent diurétique en Argentine [25]. En Turquie, certaines espèces du genre *Eryngium* consommées à l'état frais, sont utilisées contre l'infertilité et comme cicatrisant [24][25]. L'infusion des parties aériennes et des racines de *E. maritimum* est utilisée fréquemment comme antitussif, diurétique, apéritif, stimulant et aphrodisiaque [26]. En Italie, *E. amethystinum* connue sous le nom de « *calcatreppola ametistina* » est employée pour ses propriétés diurétiques, laxatives et digestives, elle est indiquée aussi pour les traitements des maux urinaires, de l'œdème et l'acidose [27]. Enfin, une préparation à base de miel et d'*E. ilicifolium* Lamke est recommandée dans le traitement des angines [28].

E. campestre est connue en Turquie sous le nom « *Boğadikenî* », où elle est largement répandue. L'infusion de ses parties aériennes et de ses racines est utilisée comme antitussif, stimulant, apéritif et diurétique [24]. L'extrait aqueux de ses racines est utilisé par voie orale et appliqué comme un cataplasme contre les piqûres des scorpions [16]. Enfin, *E. campestre* est aussi recommandée comme un remède contre les inflammations des reins et des voies urinaires et contre les œdèmes [29].

I.2. Les métabolites secondaires du genre *Eryngium*

A notre connaissance, le genre *Eryngium* a fait l'objet d'un nombre important de travaux phytochimiques et sa grande richesse en composés biologiquement actifs est régulièrement reportée. Les parties aériennes des espèces du genre *Eryngium* sont connues pour contenir principalement des mono- et des sesquiterpènes, des flavonoïdes et des saponines, tandis que les racines contiennent des composés acétyléniques, des mono- et des sesquiterpènes ainsi que des monoterpènes glycosides et des triterpènes saponines, des polyphénols (flavonoïdes, acides phénoliques), des coumarines et des oligosaccharides [30].

La figure 4 (à voir page 16) présente quelques composés caractéristiques des squelettes les plus fréquemment rencontrés dans les huiles essentielles et/ou les extraits du genre *Eryngium*.

I.2.1. Principaux métabolites secondaires identifiés dans les extraits aux solvants

a. Les triterpènes saponines

Le genre *Eryngium* est connu comme une source de triterpènes saponines. On dénombre plus d'une trentaine de composés de cette classe, principalement des triterpénoïdes de type oléanane hydroxylés tels que Eryngiumgenine A (Figure 4). On retrouve également d'autres formes, telles la camélagénine A, l'érynginol A et B, l'acide bétulinique, l'acide oléanolique et la stéganogénine possédant des chaînes de glucose, d'acide glucuronique, de rhamnose, de xylose, de galactose et d'arabinose. Une étude phytochimique menée par Zhang et coll sur *E. yuccifolium* a permis la caractérisation de douze nouveaux triterpénoïdes saponines polyhydroxylés nommés éryngiosides A-L et deux autres déjà décrits dans la même espèce [31]. On dénombre également cinq nouveaux triterpénoïdes saponines isolés à partir des racines d'*E. campestre* [32], [33]. Deux autres nouveaux oléananes saponines polyhydroxylés nommés éryngioside M et N ont été identifiés dans les racines d'*E. yuccifolium* en compagnie de quinze triterpénoïdes [34]. Deux nouveaux triterpènes saponines ont été retrouvés dans les racines d'*E. kotschi Boiss*, une espèce endémique de Turquie [35]. D'autres études réalisées sur les racines d'*E. planum*, ont conduit à l'isolement de trois nouveaux saponines triterpéniques de type barrigenol [36].

b. Les flavonoïdes

Les investigations chimiques sur les parties aériennes d'*E. campestre* ont conduit à la caractérisation d'un nouveau flavonol nommé le kaempferol-3-O- β -D-(2'-Z-p-coumaroyl)glucoside) (Figure 4) identifié en compagnie de dix autres flavonols [37], [38]. Un nouveau dérivé du kaempferol, le kaempferol-3-O-(6-O- β -D-glucopyranosyl)- β -D-galactopyranoside a été identifié dans l'espèce *E. planum* [39]. A l'aide d'un couplage UHPLC-ESI-QTOF-MS, une étude a permis l'identification et la quantification d'un certain nombre de flavonols et de dérivés de flavanone dans *E. bourgatii Gouan* [40]. Hawas et coll. [41], ont isolés 11 flavonoïdes glycosides dans les parties aériennes d'*E. campestre*. Dans une étude plus récente réalisée par Khalfallah et coll. [42], cinq flavonoïdes ont été caractérisés dans les parties aériennes d'*E. triquetrum Vahl*.

c. Les coumarines

Sticher & Erdelmeier [43] ont été les premiers à rapporter la caractérisation de dérivés de la coumarine à partir d'*E. campestre* (Benzoate d'aegelinol. Figure 4). Par la suite, Pinar et coll [44] ont identifié le tiglato de marmesine dans *E. ilicifolium*.

d. Les acides phénoliques

Les investigations phytochimiques menées sur les racines d'*E. alpinum* ont conduit à la caractérisation de l'acide chlorogénique, de l'acide R-(+)-rosmarinique (Figure 4) et de l'acide R-(+)-3'-O- β -D-glucopyranosyl rosmarinique par la combinaison de deux méthodes chromatographiques CLMP (Chromatographie liquide moyenne Pression) et CLHP [45]. En outre, la présence récurrente des acides rosmarinique et de ses dérivés dans plusieurs espèces du genre *Eryngium* permet de suggérer une classification chimiotaxonomique sur la base de ces composés [30]. On note également l'identification de deux nouveaux acides caféiques présents dans *E. yuccifolium* [31]. Des dérivés de l'acide cinnamique, de l'acide benzoïque, et d'autres acides organiques ont été identifiés dans *E. bourgatti* [40]. D'autres composés comme l'acide catéchique, épicatechique, chlorogénique, gallique et rosmarinique ont été quantifiés dans les racines d'*E. palmatum* et dans *E. bornmuelleri* [46].

e. Les polyacétylènes

Les polyacétylènes constituent une famille caractéristique du genre *Eryngium*, puisque plusieurs dizaines de composés acétyléniques ont été isolés à partir de différentes espèces de ce genre. Ainsi en plus de la falcarinone, de la falcarinolone et du falcarinol (Figure 4), les isomères *Z* et *E* du 6-pentyl-2-[2-oxobutyl-(3)-ylidène]tétrahydropyran ont été isolés dans les racines et les parties aériennes d'*E. bourgatti* [47]. Un nouveau polyacétylène, le yuccifolol (nonadéc-1,11-adiène-4,6,8-triène-3,10-diol) a été isolé à partir de l'extrait hexanique des parties aériennes d'*E. yuccifolium* [48]. L'extrait éthanolique d'*E. agavifolium* contient le (8*E*)-heptadéc-1,8-adiène-4,6-diène-3,10-diol et les isomères (*Z*) et (*E*)-15-hydroxyheptadéc-9,16-adiène-11,13-diène-8-one. L'étude des extraits d'*E. triquetrum* a permis l'identification de deux nouveaux polyacétylènes : le triquetridiol (Figure 4) et le *trans*-époxytriquetrol [49]. Les polyacétylènes se retrouvent également dans les huiles essentielles du genre *Eryngium* ; en particulier le falcarinol, l'un des constituants des huiles essentielles des parties aériennes et racines d'*E. barrelieri* et *E. glomeratum* [50], *E. planum* [51], *E. yuccifolium* [52], et *E. foetidum* [53].

I.2.2. Principaux métabolites secondaires identifiés dans les huiles essentielles

Le genre *Eryngium* a fait l'objet d'une cinquantaine de publications décrivant la composition chimique des huiles essentielles de 36 espèces, ainsi que leurs activités biologiques. A notre connaissance, les compositions chimiques des huiles essentielles d'*E. tricuspidatum* ssp. *mauritanicum* et *E. triquetrum* n'ont fait l'objet d'aucune étude, en revanche quatre publications décrivent la composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes d'*E. campestre*.

L'huile essentielle d'*E. campestre* originaire d'Égypte est riche en sesquiterpènes hydrocarbonés, les composés majoritaires sont : l' α -curcumène (8,6%), l' α -cadinène-15-al (23,3%), le spathuléol (10,7%) et l'acide octanoïque (9,8%) [17]. Deux échantillons d'Italie contiennent respectivement : (i) du germacrène D (13,8%), de l'*allo*-aromadendrène (7,7%), du spathuléol (7,0%), du lédol (5,7%) [54] et (ii) du germacrène D (49,5%), de l'apiol (19,5%) et de l' α -himachalène (15,1%) [55]. Enfin, les échantillons d'huiles essentielles provenant de différentes régions d'Espagne ont montré la présence du germacrène D (30,3-40,3%), du β -curcumène (0,7-22,2%), du myrcène (3,0-21,7%) et de l'(E)- β -farnésène (0,1-19,0%), [56]. Les auteurs suggèrent que la nature du sol semble exercer une influence sur la composition chimique des huiles essentielles et ainsi être à l'origine d'une variabilité chimique intra-spécifique.

Les données issues de la littérature démontrent l'existence d'une variabilité interspécifique des huiles essentielles du genre *Eryngium*. En effet, les composés majoritaires de l'huile essentielle d'*E. amethystinum* L. de la Croatie sont le β -caryophyllène (19,7 %), l' α -bisabolol (7,9 %) et le 2,3,6-triméthylbenzaldéhyde (7,9 %) [57] alors que celle originaire d'Italie contient du Germacrène D à plus de 50% [54].

Ainsi, sur un ensemble de 86 échantillons provenant de différentes espèces et de différentes régions du globe, il est possible d'établir une répartition des huiles essentielles des espèces du genre *Eryngium* en deux groupes selon la nature des constituants moléculaires dominants : celui des composés terpéniques hydrocarbonés et celui des composés oxygénés dominé par les sesquiterpènes et les composés non terpéniques. Tous les composés détectés avec une abondance relative supérieure à 4% sont rapportés dans l'annexe 1.

a. Les huiles essentielles caractérisées par des terpènes hydrocarbonés

Les huiles essentielles de 45 échantillons sur 86, rapportent des terpènes hydrocarbonés comme composés majoritaires. Dans 28 échantillons, cette classe de composés représente plus de 50 % de la composition chimique. Des sesquiterpènes tel le germacrène D, l' α -muurolène et le β -sesquiphellandrène, ont été trouvés dans les huiles essentielles des parties aériennes d'*E. amethystinum* [54] L. et *E. billardieri* F. Delaroche [58], dans les feuilles d'*E. caucasicum* Trautv [59] et dans les racines d'*E. aquifolium* [60]. La présence de monoterpènes hydrocarbonés est relevée dans les huiles essentielles des parties aériennes d'*E. caeruleum* M.B [61], [62], notamment du myrcène dans les huiles essentielles des fleurs, des tiges et des feuilles d'*E. campestre* [56] et de l' α -pinène dans les inflorescences d'*E. thoriifolium* Boiss. [63]. De même, un diterpène, le phyllocladène, est présent dans les huiles essentielles des différentes parties d'*E. bourgatti* Gouan [64] et *E. glaciale* Boiss. [65] ainsi que dans les racines d'*E. aquifolium* [60] et d'*E. corniculatum* [66].

b. Les huiles essentielles riches en composés oxygénés

Quarante et un échantillons d'huiles essentielles sur les 86 listés dans la littérature possèdent une composition chimique dominée par des sesquiterpènes et des composés non terpéniques oxygénés. Plus précisément, les échantillons d'huiles essentielles (17 au total) provenant des parties aériennes d'*E. campestre* L. [67], *E. duriaei* subsp. *juresianum* (M. Laínz) M. Laínz [68], *E. maritimum* L. [16], *E. planum* L. [69], *E. glomeratum* [50], *E. tricuspidatum* L. [70], *E. barrelieri* Boiss [50], *E. floribundum* [71], des racines d'*E. glomeratum*, et des tiges d'*E. rostratum* [72], sont dominés par la classe des sesquiterpènes oxygénés, représentée par l' γ -cadinène-15-al, le spathulénol, le sesquicinéole, et l' α -bisabolol.

Les huiles essentielles des 22 autres échantillons ont des compositions chimiques dont le composé majoritaire est un composé non terpénique oxygéné. Il s'agit souvent d'aldéhydes linéaires comme le (E)-2-dodécéanal, l'hexanal ou d'isomères du triméthylbenzaldéhyde. Ces molécules se trouvent dans *E. foetidum* L. [54], [74]–[78], dans les parties aériennes d'*E. caeruleum* M.B [78], *E. creticum* Lam [63] et *E. corniculatum* Lam [66] mais aussi dans les racines d'*E. corniculatum* Lam [66], *E. planum* L. [51], [79], et *E. barrelieri* Boiss [50]. D'autres composés oxygénés non terpéniques sont présents dans ce groupe d'échantillons :

- Des acides linaires tel l'acide-2-dodécanoïque dans *E. foetidum* du Vietnam [53] et l'acide n-hexadécanoïque dans *E. caeruleum* M.B. d'Iran [78]
- Des cyclohexadiènes comme le 2-formyl-1,1,5-triméthylcyclo-hexa-2,5-diène-4-ol présent dans les racines d'*E. foetidum* L. de Malaisie [75] et d'Inde [76].
- Des polyacétylènes comme le falcarinol dans les parties aériennes d'*E. yuccifolium* d'Allemagne, les racines d'*E. foetidum* L. du Vietnam [53] et d'*E. planum* L de Pologne et du Serbie [51], [79].

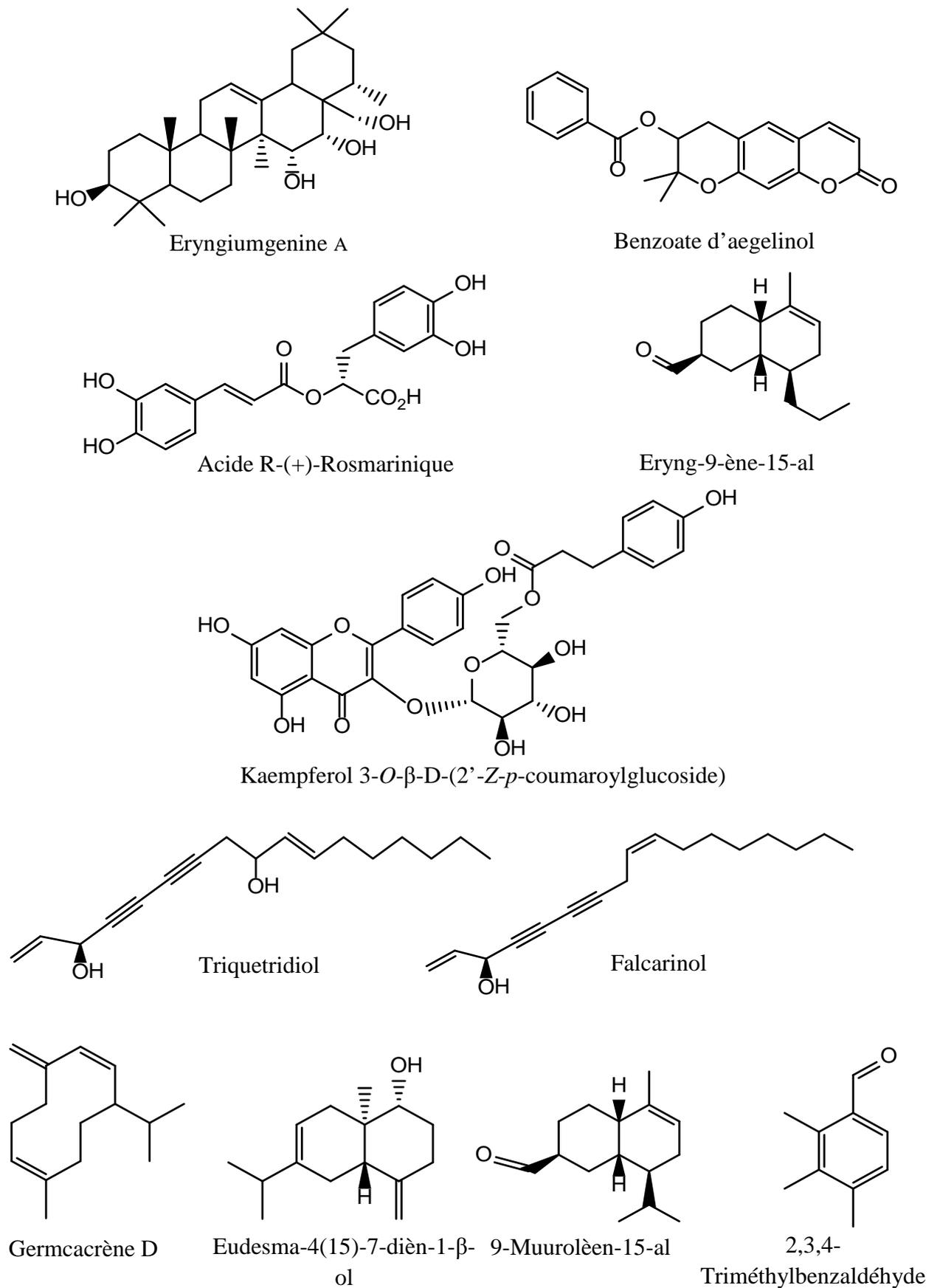


Figure 4. Structures de quelques composés présents dans le genre *Eryngium*

II. Préparation et analyse des huiles essentielles

Les huiles essentielles suscitent un intérêt tout particulier pour les industries des parfums, des cosmétiques et de l'agroalimentaire. Ces matrices volatiles sont définies comme « des produits obtenus à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [80].

Ce sont généralement des mélanges complexes de métabolites chimiques constitués majoritairement de composés terpéniques. Les terpènes sont construits à partir d'une ou de plusieurs entités isopréniques, formant une famille très diversifiée tant au niveau structural que fonctionnel. On rencontre principalement des monoterpènes (10 atomes de carbone) et des sesquiterpènes (15 atomes de carbone) et plus rarement des diterpènes (20 atomes de carbone). Les constituants des huiles essentielles peuvent être des hydrocarbures aliphatiques ou aromatiques terpéniques ou non, des composés oxygénés terpéniques ou non, tels que les esters, les aldéhydes, les cétones et les alcools, ou encore des composés azotés et soufrés [81].

Par ailleurs, les huiles essentielles sont des produits fragiles et très sensibles aux agressions extérieures. Il a été démontré que la production et l'émission des composés volatils d'une plante sont affectés par des facteurs extérieurs comme l'exposition, la température, le stress hydrique ou encore la présence de polluants. L'étude de la composition chimique de ces matrices ne s'avère donc pas chose facile, elle nécessite des appareils analytiques performants et des méthodes adaptées capables d'identifier les composés sans causer d'altérations ou de modifications sur leurs structures. En outre, il est indispensable de maîtriser l'ensemble des étapes de la séquence analytique, de l'échantillonnage jusqu'à la conservation dans l'objectif d'applications futures.

II.1. Echantillonnage du matériel végétal

L'échantillonnage est une étape primordiale dans l'étude phytochimique, elle est plus particulièrement capitale pour l'étude des constituants de la fraction volatile du fait de leur sensibilité aux facteurs environnementaux. Ces derniers peuvent influencer considérablement la quantité mais aussi la qualité des métabolites secondaires des végétaux. Plusieurs études ont montré l'influence du climat, de l'exposition lumineuse, des conditions édaphiques (liés à la nature du sol) ou encore de l'état végétatif de la plante. A titre d'exemple, Figueiredo et al [82] ont démontré que la composition chimique des huiles essentielles d'*Achillea millefolium*

varie selon le stade de développement des fleurs. Cette variation s'observe au travers de la couleur des huiles essentielles produites durant le cycle de maturité des fleurs, couleur qui varie selon le taux de chamazulène. Il est donc indispensable d'être particulièrement vigilant quant à la détermination botanique, à la phénologie, à la période de récolte et au recueil d'informations relatives à l'environnement afin d'être en mesure d'expliquer les éventuelles variations de composition en métabolites volatils.

II.2. Préparation des huiles essentielles

Il existe dans la littérature plusieurs procédés et techniques pour l'obtention des huiles essentielles. A l'échelle du laboratoire les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation (Water Distillation), dans un appareil de type Clevenger [83]. La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition de l'eau et des composés de l'huile essentielle pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100 °C sous pression atmosphérique normale. En conséquence, les produits volatils sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures [84].

Toutefois de nombreuses techniques ont été développées dans le but de limiter le temps d'extraction, les consommations en eau et en énergie, d'augmenter le rendement d'extraction et d'améliorer la qualité de l'huile essentielle en évitant les dégradations thermiques et hydrolytiques. Des méthodes telles que la distillation-extraction simultanée à l'aide d'un appareil de type Lickens-Nickerson [85], l'extraction par fluide supercritique [86] ou encore l'extraction assistée par micro-ondes [87] ont été développées, elles ne produisent pas d'huiles essentielles proprement dite mais elles permettent d'obtenir des « extraits » contenant les composés volatils d'une plante.

L'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau est de loin la technique la plus utilisée de nos jours. La distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Steam Distillation) est la méthode la plus adaptée à l'échelle industrielle. Le matériel végétal n'est pas directement au contact avec l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (particulièrement sur des esters) [84]. Dans le cas particulier des agrumes (*Citrus* sp.), les huiles essentielles sont le plus souvent extraites de l'épicarpe par des procédés mécaniques, on parle alors d'expression à froid. Cette méthode se fait sans

chauffage, elle consiste à soumettre la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique.

II.3. Analyse des huiles essentielles

Les méthodes conventionnelles pour l'identification et le dosage des composés volatils présents dans les huiles essentielles s'appuient sur la chromatographie en phase gazeuse associée à un détecteur à ionisation de flamme (CPG-DIF) ou la CPG couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Ces méthodes présentent l'avantage de combiner la forte capacité de séparation des colonnes capillaires avec la sensibilité de la spectrométrie de masse.

II.3.1. Chromatographie en phase gazeuse

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition [88]. C'est la technique de séparation la plus utilisée car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. La séparation a lieu dans des colonnes capillaires qui possèdent un fort pouvoir de résolution parfaitement adaptée aux mélanges complexes volatils.

Chaque constituant est caractérisé par des indices calculés à partir d'une gamme d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (Indices de Kováts IK) ou en programmation de température (Indices de rétention, Ir). Cependant, la comparaison des indices de rétention avec ceux de la littérature n'est pas suffisante pour identifier formellement un composé. Le développement de phases stationnaires chirales (colonne de cyclodextrines) et de la CPG multidimensionnelle a permis de surmonter certaines difficultés de séparation et d'identification des composés volatils [88]. La CPG est, aujourd'hui, un outil incontournable pour l'analyse des composés volatils en mélange.

II.3.2. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)

Le couplage en ligne de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (CPG/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe. Depuis 1975, les performances du couplage en ligne n'ont cessé d'évoluer permettant de conquérir plusieurs domaines tel que l'agroalimentaire,

l'environnement (pesticides), la chimie lourde (carburants, matières synthétiques) et la chimie fine avec en particulier les produits naturels destinés à la parfumerie, la cosmétique et la médecine.

Pour l'analyse des huiles essentielles, le spectromètre de masse procède selon deux méthodes d'ionisation : l'ionisation par impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (IC). Dans ce dernier cas, deux modes sont distingués : L'ionisation chimique positive (ICP) et l'ionisation chimique négative (ICN).

a. CPG/SM en mode « Impact Electronique » (CPG/SM-IE)

En mode impact électronique (IE), l'ionisation des substances sortant de la colonne capillaire se fait par bombardement à l'aide d'un faisceau d'électrons d'énergie de 70 eV provenant d'un filament chauffé. Les fragments ioniques positifs ainsi obtenus, dont éventuellement l'ion moléculaire, forment le spectre de masse du composé. Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés avec ceux des produits de référence contenus dans des bibliothèques informatisées commerciales riches de plusieurs milliers de composés [89].

b. CPG/SM en mode « Ionisation Chimique » (CPG/SM-IC)

Par définition, l'ionisation chimique comprend l'ensemble des réactions ions-molécules entre les molécules de l'échantillon en phase gazeuse et les ions d'un plasma obtenus à partir d'un gaz réactif. Cette technique a trouvé de nombreuses applications chimiques et biochimiques dans les domaines de la chimie de l'environnement et de la médecine.

Afin de pallier les limites analytiques du couplage CPG/SM-IE, l'ionisation chimique a été utilisée pour l'identification des constituants des huiles essentielles. Il s'agit d'un mode d'ionisation « plus doux » (15 eV). La réaction plasma/molécule produit des ions positifs ou négatifs qui sont repérés sur des spectres de masse plus simples et surtout plus informatifs que ceux obtenus en IE [90]. L'ionisation peut se faire par transfert de proton, réactions d'association ou formation d'adduits, perte ou abstraction d'un hydrure ou échange de charge [91]. La contribution à chacune de ces réactions d'ionisation dépend de la nature de la substance à analyser et du gaz réactant.

Le grand avantage de cette technique est sa flexibilité. En effet, en faisant varier les conditions expérimentales, à savoir la nature du gaz réactant, la pression et la température de la source, il est possible d'observer l'ion quasi-moléculaire des molécules [92]. La faible

quantité d'énergie transférée lors de l'ionisation limite les fragmentations et permet ainsi une meilleure différenciation des isomères [90]. De plus, la sensibilité de l'IC peut être particulièrement affectée par le choix du gaz réactant, phénomène qui peut permettre de résoudre des problèmes de co-élutions observés en CPG/SM-IE lors d'analyse de mélanges complexes [93].

La performance d'un couplage CPG/SM est très associée à la nature de l'analyseur et du détecteur mis en œuvre. L'analyseur de masse le plus fréquent pour l'analyse des composés volatils est l'analyseur quadripolaire qui sous l'action de champs électrique utilise la stabilité des trajectoires pour séparer les ions selon le rapport masse/charge (m/z) [94]. Les détecteurs les plus courants sont les channeltrons (multiplicateurs d'électrons) et les photomultiplicateurs qui convertissent les impacts ioniques en signaux amplifiés.

II.4. Séparation des constituants préalablement à leur identification

La séparation des constituants d'un mélange est une opération essentielle en vue de l'identification des composés absents des bibliothèques de références. L'opération consiste à fractionner le mélange initial afin de concentrer le constituant à identifier dans des fractions moins complexes ou de le purifier. Différentes techniques chromatographiques telles que la Chromatographie sur Colonne, la Chromatographie sur Couche Mince et les Chromatographies liquides et/ou gazeuses préparatives, existent pour atteindre l'objectif de simplification du mélange voire de purification d'un constituant. Cette opération s'est avérée particulièrement efficace pour identifier des composés minoritaires d'un mélange complexe et ainsi améliorer le taux d'identification de la composition chimique des huiles essentielles. A titre d'exemple, Darriet et al. [95] ont mis en œuvre cette procédure pour identifier 88 constituants représentant près de 94% de la composition chimique de l'huile essentielle de *chamaemelum mixtum*. Le fractionnement conduit sur une colonne ouverte de silice, a permis la purification d'une cétone aliphatique à 17 atomes de carbone dont la structure a été élucidée pour la première fois à l'aide d'une combinaison de techniques spectroscopiques.

II.5. Outils statistiques

De façon constante, les travaux de recherche actuels visant l'étude de la biodiversité intègrent l'analyse des paramètres responsables de la variabilité chimique. Cette analyse apporte une importante information en vue de valorisations futures de la biodiversité. Comme

indiqué précédemment, la composition chimique d'une huile essentielle peut être affectée par de nombreux paramètres biotiques et abiotiques. Ainsi des corrélations entre la nature des métabolites présents dans les plantes et les différents paramètres de variation (nature de l'habitat, polymorphisme morphologique, polymorphisme génétique) permettent d'établir des groupes d'échantillons localisés liés entre eux par des traceurs chimiques ou génétiques communs. Pour cela on procède par traitement statistique de la matrice constituée par les pourcentages normalisés et standardisés des constituants des mélanges volatils. Ce traitement nécessite l'utilisation de deux outils : l'Analyse en Composante Principale (ACP) et la Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) [96]. Les deux analyses sont les plus fréquemment utilisées, ils permettent d'avoir une vision synthétique, des similitudes ou des différences au sein d'un ensemble d'échantillons.

L'ACP est un outil permettant de convertir un nuage de points d'un espace multivarié en un nuage de points dans un espace à 2 dimensions. Les points et les différentes variables de cet espace sont projetés selon les 2 axes perpendiculaires, les plus représentatifs de l'ensemble du nuage [97]. Concrètement, dans notre domaine d'étude, les variables sont généralement les constituants du mélange tandis que les points sont les diverses stations de prélèvement.

La CAH est une méthode d'agglomération de différents points dans un espace varié. Tout d'abord la dissimilarité entre chaque point *via* des calculs de distance est établie, ensuite, le système choisi agglomère les points entre eux de façon itérative et aboutit à la formation de plusieurs groupes. Les agglomérations successives sont représentées sous forme d'arborescence sur le dendrogramme issu de la CAH. Ceci permet ainsi de classer les échantillons selon plusieurs groupes, en fonction de l'importance de la dissimilarité entre chaque rameau de l'arbre [96].

Dans notre cas, nous avons systématiquement établi les groupes les plus représentatifs en CAH et confirmé ces résultats par ACP. Puis, les affinités de chaque groupe avec les composés discriminants ont été déterminées par ACP. *In fine*, et selon la classification ainsi faite, chaque échantillon a été confronté aux données de la matrice afin de contrôler les propositions du traitement statistique.

III. Méthodologie d'analyse pour l'identification des constituants volatils d'un mélange complexe :

Au laboratoire Chimie des Produits Naturels (CPN), une méthodologie d'analyse a été développée en vue d'identifier les constituants d'une huile essentielle ou d'une fraction volatile émise par une matrice d'origine végétale. La stratégie adoptée est basée sur l'utilisation conjointe de la CPG/Ir et de la CPG/SM-IE assortie ou non d'analyses complémentaires (figures 5 et 6).

Le mélange complexe des volatils (fractionné ou non dans le cas des huiles essentielles) est analysé simultanément par CPG/Ir et CPG/SM-IE. Le calcul des Ir, polaires et apolaires, et la quantification des composés s'effectuent par CPG/Ir. L'analyse par CPG/SM permet d'obtenir les spectres de masse (SM-IE) des divers constituants qui, à l'aide d'un logiciel, sont ensuite comparés à ceux répertoriés dans diverses bases de données, dont une élaborée au laboratoire, « Arômes » et les autres, commerciales, en éditions informatisées [Jennings et Shibamoto [98], Joulain [99], [100], Wiley [101], Adams [89], Nist [102]].

Il est primordial de disposer d'une bibliothèque adaptée au domaine de recherche et la plus riche possible. La bibliothèque « Arômes » a été élaborée à partir (i) des indices de rétention calculés sur colonnes polaire et apolaire et (ii) des spectres de masse enregistrés dans des conditions standardisées. Cette bibliothèque construite dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées pour l'analyse des mélanges complexes assure une fiabilité accrue dans l'identification. Il y a été référencé près de 1100 composés volatils dont environ 800 molécules terpéniques. Elle a été constituée à partir de molécules disponibles dans le commerce et enrichie continuellement par le rajout de molécules isolées à partir d'huiles essentielles ou encore obtenues par héli-synthèse et dont les structures ont été rigoureusement contrôlées. Chaque proposition du logiciel de comparaison est assortie d'une note de concordance qui reflète la validité de la structure proposée.

A ce stade, trois approches différentes (**a**, **b**, et **c**) sont envisagées :

- a) Les caractéristiques du constituant (spectre de masse du constituant et indices de rétention) correspondent à ceux d'un composé présent dans la bibliothèque « Arômes » (figure 5). L'identification du constituant est réalisée sans ambiguïté. A toute fin utile, la similitude avec les données des bibliothèques commerciales peut être vérifiée. Cette démarche est systématiquement mise en œuvre quelle que soit la nature du mélange complexe (huile essentielle, fraction volatile ou encore extrait au solvant). Dans le cas

contraire, si les caractéristiques du constituant ne correspondent à aucune des références d'« Arômes », d'autres possibilités sont envisagées.

- b)** Pour un constituant absent des références de la bibliothèque « Arômes » et dont les caractéristiques correspondent à celles d'un composé présent dans les bibliothèques commerciales ou dans la littérature (figure 6). Dans ce cas, nous procédons à une étude des fragmentations principales complétée, lorsque cela s'avère possible, par l'analyse des spectres de masse en Ionisation chimique positive et/ou négative, par une analyse en RMN du Carbone-13 du constituant purifié par fractionnement ou encore par une hémisynthèse suivie de l'exploitation de l'analyse du composé ainsi synthétisé. Ces vérifications faites, le composé est introduit dans la bibliothèque « Arômes ».
- c)** Pour un constituant absent des références de la bibliothèque « Arômes » et dont les caractéristiques ne correspondent pas valablement à celles d'un composé d'aucune bibliothèque à notre disposition (figure 6). Dans ce cas deux stratégies sont envisageables :
- soit les données spectrales de RMN du carbone-13 du composé sont décrites dans la littérature, auquel cas le composé est identifié sans ambiguïté,
 - soit les données spectrales de RMN du carbone-13 du composé ne sont pas décrites dans la littérature, auquel cas nous n'avons d'autre ressource que le schéma classique de purification du constituant dans l'optique d'une étude structurale.

La RMN est la technique de choix pour la caractérisation des molécules organiques ; elle permet l'accès à des informations concernant le squelette et la fonctionnalisation des molécules [103]. Dans cette optique les données de la littérature constituent une base intéressante permettant la comparaison avec les valeurs des déplacements chimiques du carbone-13 des composés étudiés mais aussi elles proposent les valeurs de déplacements chimiques de molécules « modèles » à partir desquelles des reconstitutions de spectres sont possibles.

La RMN bidimensionnelle [104], conduit à des spectres de corrélation proton-proton (COSY et NOESY) et proton-carbone (HSQC et HMBC) et permet de mettre en évidence des interactions (directes et indirectes) entre les noyaux. Elle fournit des renseignements très précis sur la structure moléculaire. La séquence HSQC permet de savoir à quel carbone est lié chaque proton (couplage 1JCH). En complément, les séquences COSY (3JHH) et HMBC (2JCH-4JCH) autorisent la construction du squelette de la molécule. La séquence NOESY

peut fournir de nombreuses informations sur l'orientation spatiale des protons et donc sur la stéréochimie relative de la structure.

Figure 5. Analyses complémentaires mises en œuvre pour l'identification des constituants d'une huile essentielle.

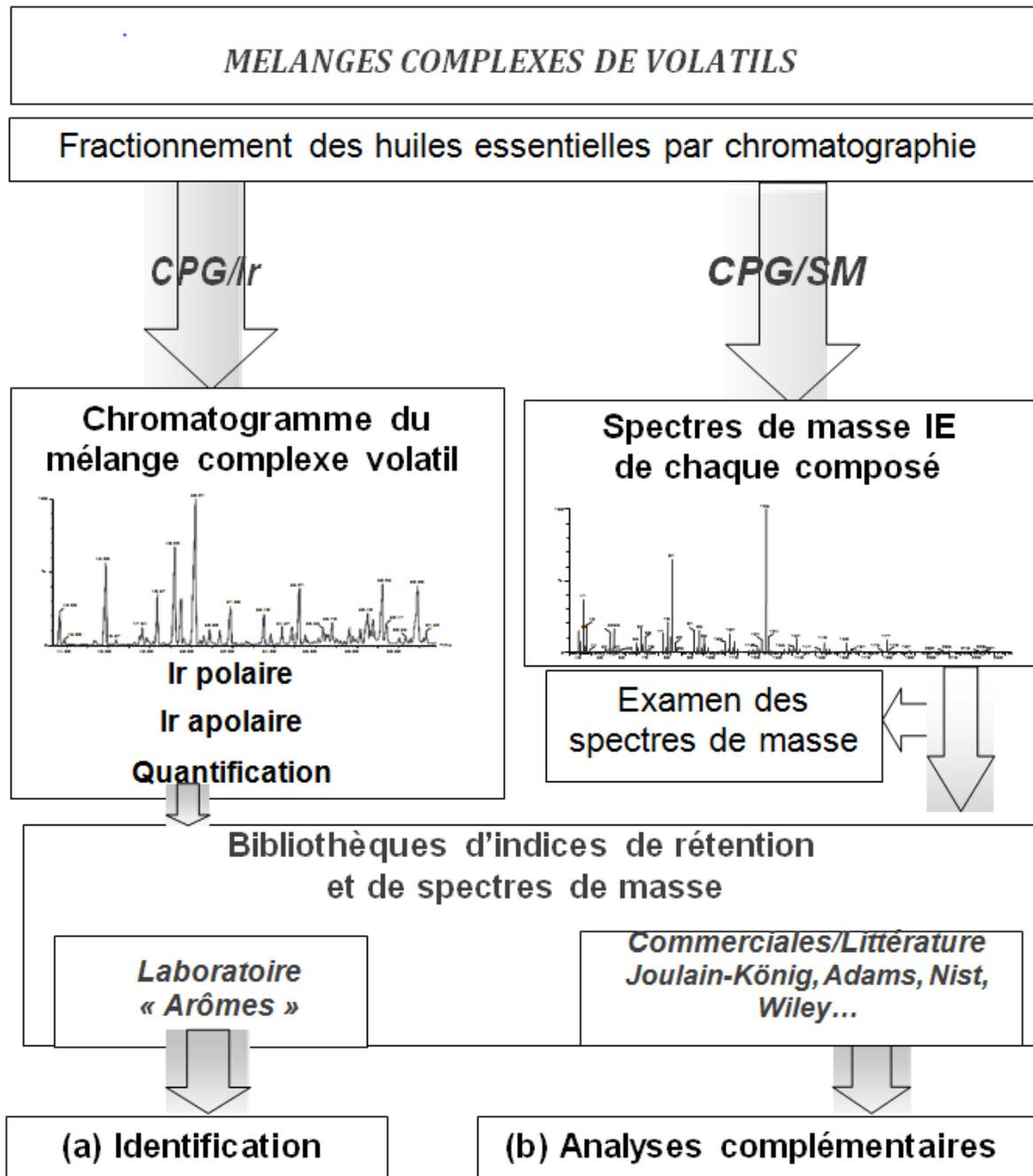
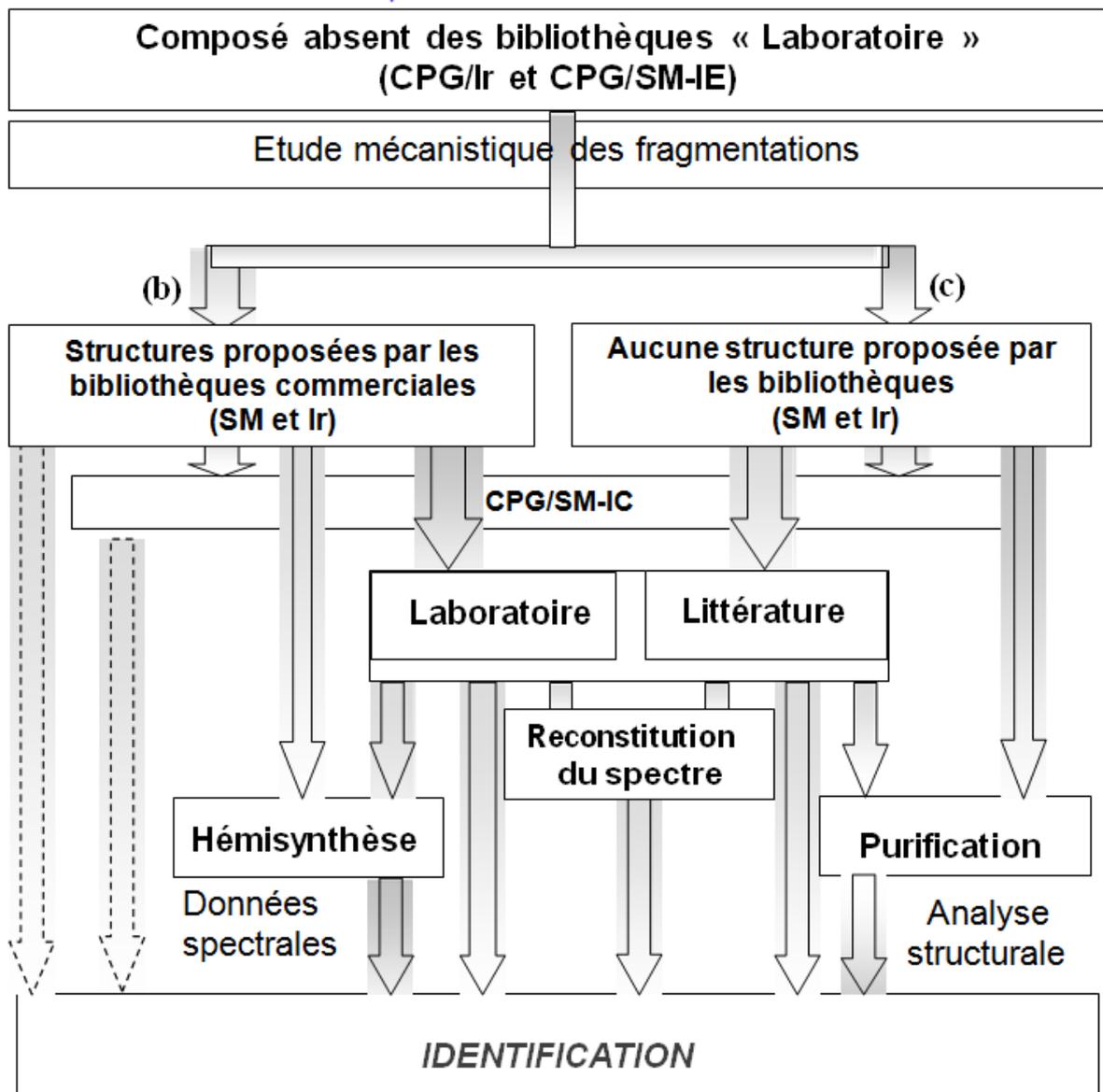


Figure 6. Identification des constituants de mélanges complexes de volatils par combinaison des techniques CPG et CPG/SM



IV. Activités biologiques

L'utilisation des plantes dans le traitement des troubles de santé est connue depuis la plus haute antiquité. Jusque dans les années 90, 80% des remèdes étaient préparés à partir de plantes. Celles-ci restent encore aujourd'hui une source incontournable de molécules d'intérêt pouvant agir d'une manière efficace comme agents anticancéreux ou anti-infectieux [105]. L'étude des activités biologiques des huiles essentielles est l'un des principaux moyens de valoriser commercialement les principes actifs issus des plantes.

IV.1. Données de la littérature sur le genre *Eryngium*

Certaines espèces appartenant au genre *Eryngium*, possèdent une activité antimicrobienne contre des bactéries gram positif et gram négatif, des levures et des champignons. Ainsi, une fraction enrichie en alcools et aldéhydes sesquiterpéniques de type cadinane et muurolane, isolée de l'huile essentielle des parties aériennes d'*E. maritimum* a été évaluée pour son activité antimicrobienne contre *L. monocytogenes* et *E. coli* par détermination de la CMI et par la méthode des disques. Les résultats montrent un pouvoir antimicrobien sur les deux souches avec un diamètre d'inhibition supérieur à 15 mm et une valeur de CMI inférieur à 90 µg/ml [106]. Les fractions polaire et apolaire de l'extrait méthanolique d'*E. maritimum*, ont montré une forte activité antimicrobienne contre plusieurs souches isolées d'aliments, telles *P. aeruginosa* et *P. fluorescens* (1-2 µg/ml) [107]. Une autre étude récente menée par Ndip et coll., a montré que l'extrait méthanolique de feuilles d'*E. foetidum* possède une activité modérée vis à vis de six souches d'*Helicobacter* [108]. L'huile essentielle des parties aériennes et des racines d'*E. thoriifolium* a été testée contre neuf souches cliniques de *S. aureus* résistantes à la méthicilline, les diamètres d'inhibition obtenus sont comparables aux deux contrôles d'antibiotique : l'huile d'oregano et la vancomycine [63].

L'huile essentielle d'*E. duriaei* a été évaluée pour son activité antifongique contre 7 champignons dermatophytes et 5 *Candida*. L'huile ne possède aucune activité contre les souches *Candida* par contre elle est efficace contre les champignons dermatophytes (CMI : 0.16–0.32 µL/mL). L'isocaryophyllèn-14-al (16,2 %), 14-hydroxy-β-caryophyllène (13,4 %), l'oxyde de caryophyllène (7,6 %) et l'(E)-β-caryophyllène (6,3 %), reportés en tant que composés majoritaires, sont désignés par les auteurs comme responsables de l'activité [68].

L'eryngiosides J et L et le saniculasaponin III, trois triterpénoïdes saponines trouvés dans *E. yuccifolium*, ont manifesté une bonne activité cytotoxique et une GI_{50} qui varie entre 3,54 et 16,02 μM contre des cellules cancéreuses A-549 du poumon et des cellules normales MRC-5. Ces composés ont également montré une véritable inhibition de la prolifération des cellules cancéreuses PANC-1 du pancréas [34]. Les extraits méthanoliques des parties aériennes et des racines d'*E. campestre*, *E. maritimum* et *E. kotschy* ont révélé une activité anti-inflammatoire et antinociceptive très prometteuses et cela sans causer des dommages gastriques sur les rats [16]. Certaines espèces comme *E. alpinum* [45], *E. caucasicum* [22], *E. maritimum* [107], *E. billardieri* [109] montrent une forte activité antioxydante.

D'autres activités biologiques plus spécifiques ont été réalisées sur les espèces d'*Eryngium*, par exemple les extraits aqueux des racines et des feuilles d'*E. creticum*, ont révélé une forte inhibition de l'activité hémolytique des venins de serpent et de scorpion, ce qui valide leur utilisation traditionnelle en Jordanie [110]. Une décoction aqueuse d'*E. creticum* administrée par voie orale chez des rats hyperglycémiques, réduit de manière significative le taux de glucose dans le sang [111].

IV.2. Méthodes d'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles

IV.2.1. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles sont recherchées pour leurs propriétés bactériostatiques, c'est-à-dire, leur capacité à inhiber la croissance bactérienne, ou pour leurs propriétés à provoquer la mort des bactéries c'est à dire l'effet bactéricide. Le principal problème à surmonter lors de l'utilisation des huiles essentielles est lié à leur insolubilité dans les milieux biologiques qui sont aqueux. Pour résoudre ce problème plusieurs auteurs suggèrent l'utilisation des solvants organiques comme l'acétone, le DMSO, le DMF, ou l'utilisation des produits émulsifiants comme le tween 20 ou tween 80. Les deux méthodes les plus usitées pour les évaluer sont la diffusion sur gel et la dilution en milieu liquide.

a. Méthode de diffusion sur gel

Des disques de papier buvard imprégnés des matrices à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablementensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, la matrice diffuse de manière uniforme si bien que sa concentration est inversement proportionnelle à la distance du disque. Après incubation, les

disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture. Pour les tests standards, nous considérons qu'une huile essentielle, fraction ou molécule est active contre une souche donnée si le diamètre d'inhibition (D.I.) est supérieur ou égal à 15 mm [112].

Cette technique est la plus couramment mise en œuvre en tant que méthode de screening, elle présente les avantages d'être rapide, d'une grande simplicité de mise en œuvre et de nécessiter une faible quantité de matrice. S'agissant des inconvénients de la méthode, les huiles essentielles très visqueuses souffrent d'un problème de diffusion sur le gel, en conséquence le diamètre d'inhibition sera faible voir nul même si elles possèdent un fort pouvoir bactéricide.

b. Méthode de dilution en milieu liquide

Cette méthode consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes de matrice à tester, selon une progression géométrique de raison 2. L'inoculum bactérien est distribué de façon égale dans une série de tubes (méthode de macrodilution) contenant la matrice testée. Après incubation, la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est indiquée par le tube qui contient la plus faible concentration de matrice où aucune croissance n'est visible.

Pour les tests standards, nous considérons qu'une huile essentielle, fraction ou molécule est active pour une souche donnée pour une CMI inférieure à 1000 µg/ml [112]. Cette technique, complémentaire de la méthode de diffusion, donne directement la CMI mais, par rapport à la méthode précédente, elle présente l'inconvénient d'être chronophage et grande consommatrice de matrice.

IV.2.2. Activité antioxydante

La mesure du potentiel antioxydant est abordée généralement en déterminant les produits résultant de l'oxydation ou en évaluant l'aptitude à piéger des radicaux de modèles réactionnels. Le premier mode, nécessite une connaissance préalable des composés issus de l'oxydation. En effet ces méthodes recherchent certains groupements fonctionnels (aldéhydes, cétones, dicarboxylés...) dans les dérivés des constituants d'origine. Le second relie la quantité de radicaux piégés à celle d'antioxydant utilisé. Les antioxydants peuvent réduire les radicaux primaire par deux mécanismes : par transfert d'électron singulet ou par transfert

d'atome d'hydrogène. Les méthodes ABTS⁺ et DPPH jouent sur le transfert l'électron singulet, alors que la méthode ORAC joue sur le transfert d'un atome d'hydrogène [113].

V. Séquence analytique

Dans le cadre de nos travaux de thèse, nous avons mis en place une séquence analytique constituée de plusieurs étapes permettant d'aborder les potentialités et les limites des techniques analytiques utilisées pour l'étude des constituants volatils d'une plante. Nous nous sommes intéressés à la caractérisation de la composition chimique des huiles essentielles de trois espèces appartenant aux genres *Eryngium* : *E. triquetrum*, *E. mauritanicum* et *E. campestre*. L'approche analytique que nous avons développée est basée sur :

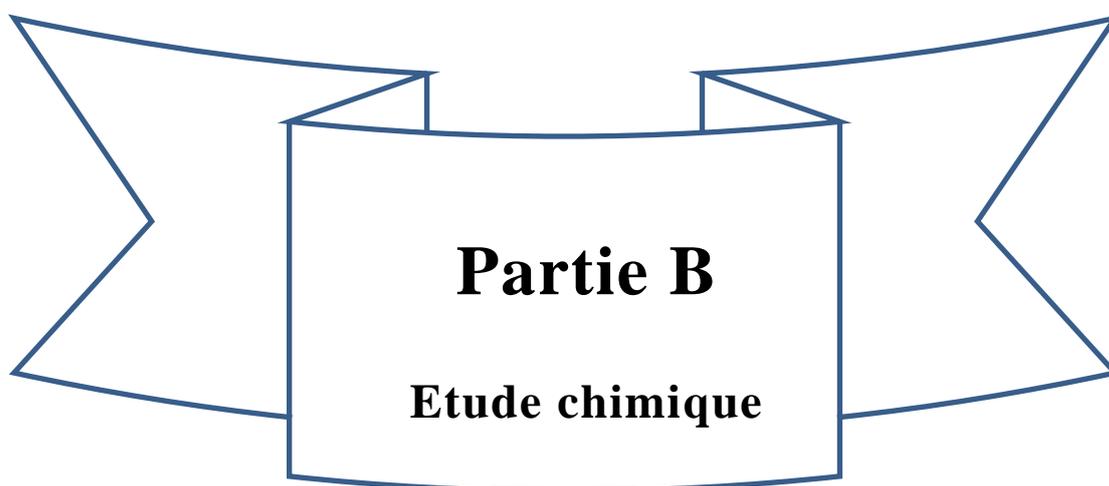
Un échantillonnage permettant d'avoir une vision globale du végétal. Pour cela nous avons procédé à un échantillonnage rigoureux dans 25 à 37 localités représentatives de la répartition des espèces sélectionnées sur la zone nord-ouest de l'Algérie. Par ailleurs, une station « témoin » a été choisie pour réaliser l'étude des composés volatils contenus dans les organes séparés et l'évolution de ces derniers tout au long du cycle végétatif.

L'étape d'échantillonnage est suivie par la phase de préparation de l'échantillon chimique. Cette étape consiste en la production des huiles essentielles de parties aériennes destinées à l'étude de la variabilité chimique et du suivi végétatif mais aussi la préparation des huiles essentielles des organes séparés. Le matériel végétal a été hydrodistillé à l'aide d'un appareil de type Clevenger dans le respect des recommandations de la pharmacopée européenne. Par ailleurs, des extraits hexanique ont été préparés à des fins de recherche et d'identification de composés non-identifiés dans les huiles essentielles.

Afin d'identifier les constituants volatils de nos huiles essentielles, une démarche analytique basée sur la méthodologie décrite supra a été mis en place. Les huiles essentielles de chaque station sont soumises à une analyse de routine. Par un regroupement d'échantillons individuels, une huile essentielle dite « collective » est obtenue pour chaque espèce. Cette huile essentielle collective est soumise à une étude détaillée des fractions obtenues par un fractionnement chromatographique. Au sein de notre laboratoire, ce procédé est réalisé à l'aide d'un système chromatographique automatisé qui réunit à la fois rapidité, précision et efficacité permettant d'aboutir à des fractions contenant des composés concentrés. Cette procédure s'avère particulièrement efficace pour accéder à l'identification des composés dont les données spectrales sont absentes des bibliothèques de références, ainsi les substances purifiées seront analysées par RMN afin d'élucider leurs structures.

L'étude de la variabilité chimique des huiles essentielles a été réalisée par un traitement statistique à l'aide d'Analyses en Composantes Principales (ACP) et de Classifications Hiérarchique Ascendante (CAH).

L'évaluation des activités biologiques des extraits ou des fractions obtenues par chromatographies est un moyen de valorisation de la ressource végétale. Les tests biologiques ont été développés afin d'identifier des champs d'application pour les extraits étudiés. Ainsi, les huiles essentielles, les extraits et quelques molécules purifiées ont été soumises à des tests biologiques afin d'évaluer les activités antimicrobienne, antioxydante. Ce travail a été réalisé en collaboration avec l'équipe de Microbiologie du Laboratoire LAMAABE de l'Université de Tlemcen.



Partie B
Etude chimique

Dans cette partie, nous nous intéresserons à la description des compositions chimiques des huiles essentielles des trois espèces *d'Eryngium*. Pour cela, nous avons développé une approche analytique basée sur la séquence analytique présentée dans le *chapitre I*.

Suite à une analyse préliminaire, les huiles essentielles ont été soumises à des chromatographies successives sur gel de silice pour aboutir à des mélanges moins complexes voire à des molécules purifiées. Toutes les fractions ont été analysées par CPG-Ir et CPG/SM. L'identification des constituants est réalisée par comparaison de leurs données spectrales avec celles contenues dans la bibliothèque « Arômes » du laboratoire CPN. Cependant, pour les constituants absents des bibliothèques, nous avons eu recours à des analyses complémentaires intégrant la RMN à une ou à deux dimensions. Afin d'avoir une vision aussi étendue que possible du végétal, nous nous sommes intéressés à l'étude des huiles essentielles des organes séparés et à l'évolution de leur composition chimique tout au long du cycle de vie du végétal. Enfin, nous avons cherché à identifier les paramètres impliqués dans une éventuelle variabilité chimique des huiles essentielles.

I. Chapitre I

***Eryngium triquetrum* d'Algérie, une possible source du Falcarinol. Etude chimique des composés volatils**

A notre connaissance, nous décrivons pour la première fois la composition chimique de l'huile essentielle d'*Eryngium triquetrum* originaire d'Afrique du nord. Les deux études antérieures trouvées dans la littérature concernent la caractérisation des métabolites secondaires issus d'extraits aux solvants. La première décrit la présence de flavonol glycosides [42] et la seconde a permis l'identification de deux nouveaux composés polyacétyléniques nommés triquetridiol et trans-époxy triquetrol [49].

L'étude réalisée sur les compositions chimiques de plusieurs huiles essentielles d'*E. triquetrum* récoltée dans l'Ouest Algérien (Tlemcen) a mis en évidence une proportion élevée de falcarinol dans les différents organes de la plante, nous laissant penser que la plante peut constituer une source naturelle de ce polyacétylène aux propriétés biologiques intéressantes

I.1. Analyse préliminaire de l'huile essentielle d'*E. triquetrum*

Les parties aériennes d'*E. triquetrum* ont été récoltées dans 25 localités de la région de Tlemcen, où elle pousse de façon spontanée et en abondance. Le matériel végétal frais a été soumis à une hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger et les huiles essentielles ont été préparées avec des rendements variables de 0,01 à 0,11%.

L'analyse préliminaire des 25 huiles essentielles individuelles a permis d'obtenir des profils chromatographiques qualitativement similaires se différenciant toutefois par les proportions des composés majoritaires. Par conséquent, et afin d'effectuer une analyse détaillée, les 25 échantillons d'huile essentielle ont été rassemblés pour produire un échantillon collectif noté HEcoll (pour huile essentielle collective). Cet échantillon a été soumis à un fractionnement par Chromatographie sur Colonne (CC), ce dernier a conduit à l'obtention de 76 fractions qui ont toutes été analysées par CPG-Ir et CPG/SM.

L'analyse de l'huile essentielle collective a permis l'identification de 24 composés représentant 95,6 % de la composition chimique du mélange. L'huile collective est dominée par des composés linéaires oxygénés qui représentent 92,6 %. Les composés majoritaires dont les structures sont présentées à la figure 7, sont le falcarinol (**23**, 71,2 %), l'octanal (**4**, 9,1 %) et le nonanal (**8**, 2,5 %). Ainsi, 20 composés ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention et leurs spectres de masse avec ceux enregistrés dans la bibliothèque « Aromes ». Quatre composés ont été identifiés à partir de la comparaison de leurs indices de rétention et de leurs spectres de masse avec ceux contenus dans les bibliothèques commerciales. Parmi eux, l'identification du falcarinol a été assurée par comparaison de ses valeurs de déplacements chimiques de RMN du carbone-13 avec ceux issus des données de la littérature [114]. Les 17 raies de résonance de cet alcool polyacétylénique ont été observées et les différences des valeurs des déplacements chimiques mesurées dans l'échantillon et issues de la littérature n'excèdent jamais plus de 0,09 ppm (Tableau 1).

Tableau 1. Données spectrales de la littérature et expérimentales du falcarinol (δ , ppm dans CDCl₃) en RMN du Carbone-13 :

δ [114]	δ HE	Int.	$\Delta\delta$ (ppm)
136,2	136,21	3,6	0,01
133,1	133,14	4,2	0,04
121,9	121,94	4,2	0,04
117,3	117,06	4,4	-0,24
80,3	80,33	2,6	0,03

74,2	74,26	2,2	0,06
71,3	71,35	2,2	0,05
64,0	64,05	2,2	0,05
63,5	63,59	4,5	0,09
29,2	29,21	10,8	0,01
29,1	29,09*	4,4	-0,01
27,2	27,21	7,3	0,01
22,6	22,68*	4,8	0,08
17,7	17,72*	4,8	0,02
14,1	14,1	3,9	0,00

δ [114] : Valeurs des déplacements chimiques de RMN du carbone-13 du falcarinol issus de la littérature [114] (en ppm).

δ HE : Valeurs des déplacements chimiques de RMN du carbone-13 du falcarinol mesurés dans l'échantillon S1.

Int. : Intensités des raies de résonance mesurées dans l'échantillon S1.

$\delta\Delta$: différences des valeurs des déplacements chimiques mesurées dans l'échantillon et issues de la littérature

* : deux carbones superposés

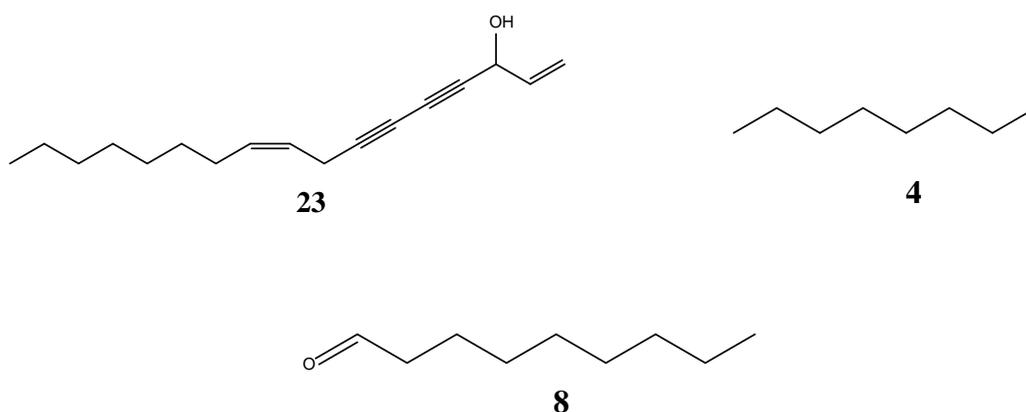


Figure 7. Structures des composés majoritaires de l'huile essentielle d'*E. triquetrum* d'Algérie

I.2. Etude de la composition chimique des huiles essentielles des organes séparés et des parties aériennes durant le cycle végétatif de la plante

La composition chimique des huiles essentielles des organes séparés a été établie en période de pleine floraison (Tableau 2). Les échantillons ont été récoltés sur la station de Bouhanak (S1) (Annexe 2). Les fleurs constituent l'organe « le plus aromatique » avec un rendement en huile essentielle de 0,1 % contre 0,05 % pour les tiges et les racines. Toutefois, *E. triquetrum* semble produire deux types d'huiles essentielles selon l'organe étudié : les huiles essentielles des tiges et des fleurs contiennent principalement du falcarinol (39,6 % et

36,5 % respectivement) et de l'octanal (28,5 % et 32,7 % respectivement), tandis que l'huile essentielle des racines est dominée par le falcarinol à 91,5 %.

Afin d'étudier les processus de production des métabolites secondaires au cours du cycle végétatif du végétal, i.e. du début de croissance jusqu'à la floraison, nous avons suivi l'évolution de la composition chimique des huiles essentielles produites du mois de mai au mois de juillet. Les échantillons des parties aériennes ont été récoltés sur la station Bouhanak (S1) à quatre dates distinctes d'approximativement 15 jours d'intervalle (1^{er} : 05/05/2016. 2^{eme} : 20/05/2016. 3^{eme} : 15/06/2016. 4^{eme} : 01/07/2016) (Tableau 2).

Durant la phase de début de croissance (05 mai), le falcarinol (90,6 %) est ultra dominant dans l'huile essentielle puis sa proportion relative décroît au cours du cycle végétatif pour atteindre 39,2 % en pleine floraison. La diminution progressive de la proportion de falcarinol est corrélée à l'augmentation progressive de l'octanal durant cette même période (14,1 % à 34,0 %). La production des métabolites secondaire d'*E. triquetrum* semble être liée à l'écologie de la plante : sachant que le falcarinol est connu pour être un pesticide naturel [115], sa production durant la phase de croissance pourrait être considérée comme un moyen de défense contre les attaques des prédateurs. En revanche, en période de floraison, la plante inverse sa stratégie et produit préférentiellement des composés aliphatiques très volatils tel l'octanal qui agit comme attracteur d'insectes indispensable dans le processus de pollinisation [116].

Tableau 2. Composition chimique de l'huile collective d'*E. triquetrum* (HEcoll) et des huiles essentielles préparées à partir du matériel végétal récoltés au cours du cycle végétatif et des organes séparés (fleurs, tiges et racines) provenant de la station Bouhanak (S1).

N. ^a	Composés	litIr _a ^b	Ir _a ^c	Ir _p ^d	HEcoll ^e	Cycle végétatif ^f				Organes ^g			Identification ^h
						D1	D2	D3	D4	Fleurs	Tiges	Racines	
1	Heptane	700	703	700	0,5	0,1	1,4	2,1	2	tr	tr	0,1	Ir, SM
2	Hexanal	770	774	1055	0,3	0,2	0,3	tr	0,1	0,6	0,4	-	Ir, SM
3	Heptanal	876	877	1187	0,9	tr	0,9	0,9	tr	1,7	2,3	0,1	Ir, SM
4	Octanal	980	979	1531	9,1	1,0	14,1	22,8	34,0	28,5	32,7	0,6	Ir, SM
5	(E)-2-Octénal	1036	1039	1416	1,2	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	Ir, SM
6	1-Octanol	1058	1063	1394	tr	0,1	1,1	tr	tr	tr	tr	tr	Ir, SM
7	Nonan-2-one	1070	1077	1388	0,4	0,1	tr	0,2	0,1	tr	tr	tr	Ir, SM
8	Nonanal	1083	1081	1394	2,5	0,2	1,4	1,3	1,7	5,9	2,3	0,1	Ir, SM
9	(E)-2-Nonénal	1136	1133	1530	0,9	0,3	1,1	1,3	4	1,5	2	0,2	Ir, SM
10	(Z)-2-Nonén-1-ol	1158	1155	1688	0,1	0,4	1,4	2,2	1,8	1,5	tr	tr	Ir, SM, Ref
11	Acide octanoïque *	1173	1174	1866	1,1	tr	0,5	0,5	0,3	tr	tr	0,4	Ir, SM
12	1-Décèn-3-ol	1172	1181	1643	1,7	tr	0,2	0,3	0,1	tr	tr	tr	Ir, SM
13	Décanal	1185	1183	1498	0,1	0,2	tr	0,1	0,5	1,0	0,5	tr	Ir, SM
14	3-Dodécèn-1-yne*	1120	1214	-	0,7	tr	0,6	1,0	2,5	3,7	0,9	0,5	Ir, SM
15	Carvone	1222	1225	1739	0,2	tr	1,0	1,6	1,7	tr	tr	tr	Ir, SM
16	(E)-2-Décanal	1248	1251	1652	1,1	0,2	0,3	0,4	0,8	2,0	2,2	0,3	Ir, SM
17	(E,E)-2,4-Décadiénal	1290	1289	1820	tr	0,3	0,4	tr	tr	tr	tr	tr	Ir, SM
18	β-Ionone	1466	1454	1936	0,2	0,2	0,2	0,6	0,9	2,3	0,2	0,1	Ir, SM
19	3,4-Diméthyl-5-pentyl-5H-furan-2-one*	1481	1486	1495	1,1	1,0	1,6	1,7	2,2	2,3	8,5	0,3	Ir, SM, Ref
20	γ-Undécalactone*	1533	1524	2266	0,7	0,2	0,2	0,3	tr	0,2	tr	0,2	Ir, SM
21	Acide dodécanoïque *	1556	1547	2474	0,5	tr	0,4	0,1	0,3	tr	0,1	tr	Ir, SM, Ref
22	Acide hexadécanoïque*	1962	1968	2330	0,4	0,8	3,9	3,6	4,1	0,6	0,2	1,4	Ir, SM
23	Falcarinol	2028	2026	3086	71,2	90,6	59,6	49,5	39,2	39,6	36,5	91,5	Ir, SM, Ref

24 α -Kaurène	2046	2049	2389	0,7	0,3	0,4	0,4	0,4	0,2	0,4	0,1	Ir, SM
Identification %				95,6	96,2	91,0	90,9	96,7	91,6	89,2	95,9	
Composés oxygénés				92,6	94,8	87	85,7	89,6	85,4	79,4	94,9	
Composés hydrocarbonés				3,0	1,4	4,0	5,2	7,1	6,2	9,8	1,0	
Composés non-terpénique				94,5	95,7	89,4	88,3	93,7	89,1	88,6	95,7	
Rendement (%)				0,02	0,05	0,04	0,09	0,1	0,05	0,05		

^a L'ordre d'éluion donné sur colonne apolaire (Rtx-1)

^b Indices de rétention sur colonne apolaire issus de la littérature

^c Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-1

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-wax

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire de l'huile collective des parties aériennes d'*E. triquetrum* HEcoll. tr = trace (<0,05%).

^f Huiles essentielles obtenues au cours du cycle végétatif (station S1): Dates de récoltes: D1 : 05/05/2016, D2 : 20/05/2016, D3 : 15/06/2016, D4 : 01/07/2016.

^g Huiles essentielles préparées à partir des organes séparés : Fleurs, Tiges, Racines. (Station S1).

^h Ir: Indices de rétention; SM: Spectre de Masse en impact électronique. Ref: Composés identifiés à l'aide de bibliothèques commerciales [99].

Les constituants avec un astérisque (*) ont été identifiés dans les fractions obtenues suite au fractionnement puis leur présence a été vérifiée dans l'huile essentielle collective.

I.3. Analyse des 25 huiles essentielles individuelles d'*E. triquetrum*

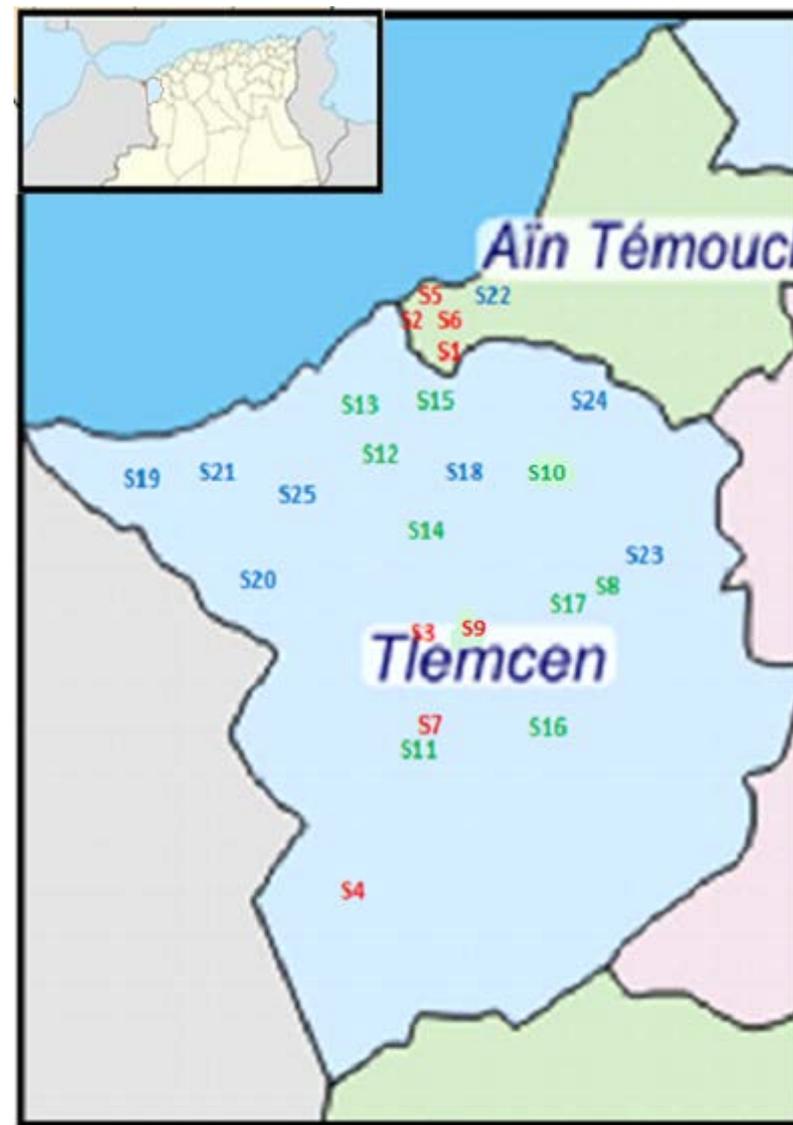
La composition chimique des 25 échantillons d'huiles essentielles obtenues à partir des parties aériennes récoltées dans différentes localités de l'ouest Algérien a été analysée afin d'étudier une éventuelle chimiovariabilité. L'opération d'échantillonnage a été réalisée durant une période d'un mois (5 mai-4 juin) au cours de laquelle nous avons pu observer des changements phénologiques de la plante. Ainsi trois groupes d'échantillons ont été distingués : 7 échantillons (S1-S7) ont été récoltés durant la phase de croissance et avant la floraison, 9 échantillons (S8-S15) collectés en début de floraison et 9 échantillons (S16-25) ont été prélevés en pleine floraison (Annexe 3). Les échantillons sont répartis sur une aire géographique étendue selon la disponibilité du végétal (Figure 8).

Les analyses des compositions chimiques des 25 échantillons révèlent une variation dans les pourcentages normalisés des composés majoritaires. Toutefois, la corrélation des lieux de récolte et des compositions chimiques des échantillons individuels montre qu'il est difficile d'attribuer ces variations à des facteurs environnementaux. En effet, les similitudes de compositions chimiques des échantillons préparés à partir de matériel végétal récolté dans des localités différentes montrent que des paramètres comme l'altitude, la composition du sol ou encore les conditions climatiques ne peuvent être à l'origine de la variabilité chimique. En revanche, trois groupes d'échantillons se distinguent selon l'état végétatif de la plante. Les échantillons du groupe I (S1-S7) obtenus à partir du végétal pris en début de croissance possèdent des teneurs élevées en falcarinol (83,6-90,6 %) et des faibles proportions d'octanal (1,0-2,5%). Les proportions de cet aldéhyde augmentent dans les échantillons du groupe II (3,7 – 7,7 %) et atteignent un maximum dans les échantillons du groupe III (10,4 – 12,8 %). Cette augmentation corrèle clairement avec une diminution des proportions en falcarinol qui n'atteint plus que des teneurs de l'ordre de 63,5 à 69,7 % dans les échantillons du groupe III, huiles essentielles préparées à partir de végétaux en pleine floraison. Ainsi quel que soit l'origine géographique de l'échantillon, la variation de la composition chimique des huiles essentielles d'*E. triquetrum* d'Algérie semble être uniquement liée aux stades de maturité de la plante.

Figure 8. Localisation géographique et période de récolte des échantillons d'huile essentielle (S1-S25) de l'ouest Algérien

N. ^a	Stade végétatif et période de récolte ^b	Localités de récolte ^c	GPS ^d		Alt ^e (m)
			Latitude	Longitude	
S1	Avant floraison 5-9 mai	Bouhanak	35°08'16.22"N	1°25'20.67"O	313
S2		Ouled bouayad	35°13'24.16"N	1°28'33.50"O	189
S3		Bni boublene	34°51'58.21"N	1°23'28.45"O	806
S4		El abed	34°28'17.03"N	1°40'51.06"O	1304
S5		Souk lethnin	35°10'52.87"N	1°32'50.97"O	291
S6		Ouled bouayad	35°11'49.55"N	1°27'13.03"O	60
S7		Ain leftouh	34°40'40.15"N	1°31'14.91"O	654
S8		Ain fezza	34°52'37.96"N	1°14'07.62"O	853
S9		Souk lekhemiss 1	35°10'52.87"N	1°32'50.97"O	289
S10	Début de floraison 14-23 mai	Ouchba	34°52'23.11"N	1°10'12.52"O	788
S11		El khmiss	34°38'02.70"N	1°33'53.48"O	848
S12		Borj arima	35°04'59.59"N	1°33'19.41"O	251
S13		Sidi 3mar	35°07'27.99"N	1°36'47.82"O	533
S14		Boukio	34°59'45.07"N	1°33'45.00"O	225
S15		mafrouch	34°50'59.19"N	1°17'46.06"O	1125
S16		Mefrouch	34°50'59.19"N	1°17'46.06"O	1108
S17		Bensekrane	35°04'34.44"N	1°13'33.81"O	319
S18		Remchi	35°04'05.16"N	1°25'41.41"O	175
S19	Pleine floraison 28 mai-4 juin	Bab elaassa	34°58'04.95"N	2°02'04.08"O	395
S20		Bab el aassa	34°58'48.03"N	2°01'58.04"O	1380
S21		Nedroma	35°00'38.53"N	1°45'11.01"O	356
S22		Amir abdekader	35°12'25.18"N	1°23'39.01"O	94
S23		Bni aad	34°52'01.31"N	1°11'03.84"O	858
S24		Sekkak	35°06'18.69"N	1°05'49.63"O	288
S25		Ain el kbira	35°02'32.70"N	1°40'09.43"O	437

^a Code d'échantillon. ^b Périodes d'échantillonnage. ^c Localités de récolte. ^d GPS. ^e Altitudes (m).



I.4. Etude comparative sur la présence du falcarinol dans les huiles essentielles

Le falcarinol est considéré comme un principe actif possédant un potentiel cytotoxique remarquable [117], des propriétés anti inflammatoire [118] et antibactérienne [119], [120], et une très forte capacité antifongique [121]. Il a également un effet protecteur sur la protéine β -amyloïde, le constituant central des plaques séniles dans la maladie d'Alzheimer [122]. Du fait de la difficulté de synthèse énantiosélective de cet alcool polyacétyléniques à 17 atomes de carbone qui nécessite plusieurs étapes [123], l'identification d'éventuelles sources naturelles disponibles et abondantes présente un réel challenge.

La forte proportion du falcarinol dans plusieurs huiles essentielles d'*E. triquetrum* d'Algérie, nous a conduit à réaliser une synthèse bibliographique relative de sa présence dans les huiles essentielles des différentes espèces (Annexe 2). Ce polyacétylène produit naturellement par plusieurs plantes comme la carotte est extrait généralement à l'aide de solvants organiques, toutefois on le retrouve également dans certaines huiles essentielles. Le falcarinol a été identifié dans 9 familles botaniques, dont 53 genres et 71 espèces, et parmi celles-ci, les espèces appartenant au genre *Seseli*, *Lomatium*, *Panax*, *Chaerophyllum* et *Eryngium* sont les plus représentées. L'abondance du falcarinol s'élève à plus de 20 % dans les huiles essentielles de 20 espèces et atteint de forte proportions (jusqu'à 70 %) dans les huiles essentielles des racines de *Seseli rigidum* de la Serbie, et de *Panax vietnamensis* de Chine. Dans le genre *Eryngium*, le falcarinol a été identifié comme composé majoritaire dans l'huile essentielle d'*E. planum* en provenance de Pologne (64%) et ne représente jamais plus de 10 % dans les huiles essentielles d'*E. Barril* et d'*E. glomeratum* de Tunisie, et d'*E. foetidum* de Vietnam et d'*E. yuccifolium* d'Algérie. En plus des espèces mentionnées ci-dessus (*S. rigidum* et *E. planum*), le falcarinol a été trouvé avec des quantités atteignant 40% dans les huiles essentielles de *Lomaticum dasycarpum* (44,6 %), *Lomaticum nevadense* (48,5 %), *Chaerophyllum temulum* (61,7-62,3 %) et *Panax stipuleanatus* (64,6 %). Le Falcarinol n'est pas exclusivement présent dans les racines, il a également été trouvé dans les huiles essentielles obtenues des parties aériennes de *Chuanminshen violaceum* (57 %), *S. rigidum* (tr-35.6 %), *Dicyclophora persica* (32 %) et *Berula erecta* (21,5 %). Quelques données sont relatives à la distribution du falcarinol dans les organes végétaux séparés, sa présence a été notée dans les huiles essentielles de fleurs de *Tridax procumbens* (25,9 %) et *Lingusticopsis wallichiana* (21 %) ainsi que dans l'huile essentielle des feuilles d'*E. yuccifolium* (9,6 %).

II. Chapitre II

Etude de la composition chimique des métabolites

volatils d'*Eryngium tricuspidatum* ssp.

***mauritanicum* d'Algérie**

A notre connaissance, les métabolites volatils d'*E. tricuspdatum* ssp. *mauritanicum*, espèce endémique Algéro-marocaine, n'ont jamais fait l'objet d'étude. Dans cette partie, nous présenterons les résultats de l'étude des métabolites volatils issus des huiles essentielles et de l'extrait hexanique de cette plante préparées à partir du végétal provenant de l'ouest Algérien.

Signalons tout d'abord une difficulté particulière liée au « sourcing » du matériel végétal. En effet, le végétal est très peu disponible et sa répartition géographique est particulièrement restreinte. Sa répartition en groupes d'individus de nombre restreint, nous a conduits à adapter notre stratégie d'échantillonnage. Ainsi, l'étude a porté sur les parties aériennes de spécimens en pleine floraison, localisés dans 8 stations distribuées sur une zone qui s'étend des montagnes littorales jusqu'aux plaines centrales limitées par les monts de Tlemcen. L'étude de la composition chimique des métabolites volatils a nécessité la mise en œuvre d'analyses complémentaires intégrant la chromatographie sur colonne et la RMN du carbone-13 afin d'identifier le composé majoritaire de l'huile essentielle dont les données spectrales étaient absentes de nos bibliothèques de données. En complément, nous nous sommes intéressés à l'étude de la composition chimique de l'extrait hexanique.

II.1. Analyse préliminaire de l'huile essentielle d'*E. tricuspidatum ssp. mauritanicum*

Les parties aériennes ont été récoltées dans l'ouest algérien, sur la zone administrative Tlemcen, entre le 15 mai et le 12 juin 2016. Ces échantillons ont été soumis à une hydrodistillation et les huiles essentielles ont été préparées avec des rendements variant entre 0,08 et 0,13 % par rapport à la masse de végétal sec.

Les huit échantillons d'huile essentielle ont été analysés par CPG-Ir et CPG/SM-IE. Les profils chromatographiques obtenus sont qualitativement similaires, néanmoins des différences quantitatives dans les proportions des composés majoritaires sont à noter. La figure 9 illustre le profil chromatographique de l'huile essentielle notée **ERM1** (Tableau 4) choisie parmi les 8 échantillons étudiés. Les analyses préliminaires ont permis d'identifier 27 composés qui représentent de 81,5 à 85,0 % de la composition chimique totale par comparaison de leurs indices de rétentions et leurs spectres de masse avec ceux enregistrés dans la bibliothèque « Arômes » et les bibliothèque commerciales. Parmi eux, l'identification du composé majoritaire de l'échantillon **ERM1** (**23**, 24,1%) a nécessité une attention particulière ; en effet son spectre de masse étant absent de notre bibliothèque « Arômes » et la recherche dans la bibliothèque commerciale spécialisée Koenig-Joulain nous orientait vers le β -bisabolène.

En vue d'assurer l'identification de **23** et améliorer le taux d'identification, nous avons procédé au fractionnement de l'huile essentielle notée **ERM1**. Le fractionnement a produit 18 fractions parmi lesquelles, nous avons plus particulièrement retenu la fraction F4 qui contenait **23** à plus de 80% (**F4** : 2% éther diéthylique ; 5mg ; **23** : 80,8%).

Le spectre de masse de **23** présente un pic moléculaire à m/z 218 et un pic de base à m/z 69 caractéristique du motif isoprénique. L'empreinte massique de la molécule est constituée de pics apparaissant à m/z 41, 93, 109, que l'on retrouve dans le spectre de masse du β -bisabolène, autre composé majoritaire de l'huile essentielle (Figure 9).

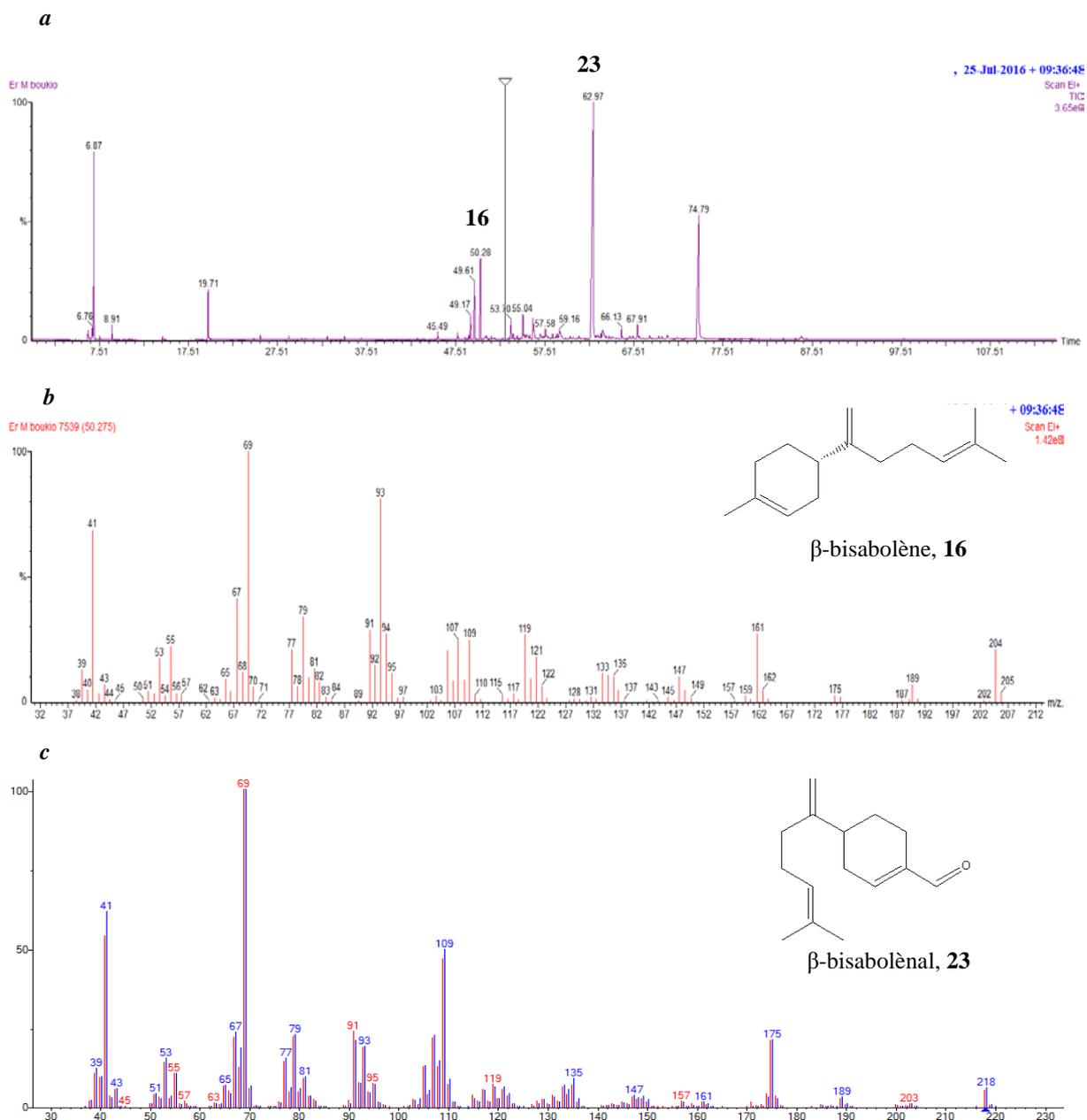


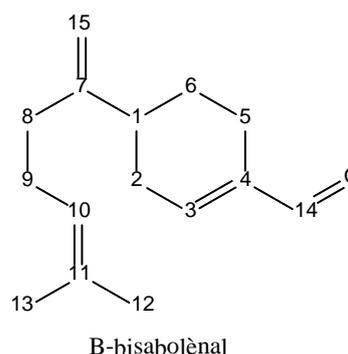
Figure 9. Chromatogramme de l'huile essentielle d'*E. mauritanicum* (échantillon ERM1, a), spectres de masses du β -bisabolène (b) et du β -bisabolèneal 23 (c).

L'enregistrement du spectre de RMN du carbone-13 de la fraction **F4** a permis l'extraction de 15 raies de résonance confirmant la présence d'une structure de type sesquiterpénique. Au sein de la série, l'observation de 3 signaux d'intensité relative clairement plus faibles indique la présence de 3 carbones de type quaternaires. Les valeurs de déplacements chimiques à δ_C 193,94 ppm et à δ_H 9,47 ppm confirment la présence d'une fonction aldéhyde. L'observation de valeurs de déplacements chimiques appartenant à des carbones éthyléniques indique la présence de 3 insaturations ainsi que la présence d'un cycle

substitué par une chaîne carbonée caractéristique du squelette bisabolane. *In fine*, la comparaison des valeurs de déplacements chimiques de RMN du carbone-13 décrits dans la littérature [124] a permis l'identification non ambiguë du β -bisabolénal comme composé majoritaire de l'huile essentielle d'*E. tricuspidatum ssp. mauritanicum* d'Algérie (Tableau 3). Signalons tout de même, que des variations non négligeables sont observées entre les valeurs de δ mesurées dans la fraction F4 et celles décrites dans la référence bibliographique (égale à 1,9 ppm pour certain carbone). Ceci s'explique par le fait que le spectre de RMN du carbone-13 décrit dans la littérature a été enregistré dans le benzène deutéré.

Tableau 3. Structure et données spectrales (λ , ppm dans $CDCl_3$) en RMN du proton et du Carbone-13 du β -bisabolénal **23**:

No.	δ (^{13}C) ppm	Attributi on	δ (1H) ppm	Multiplicit é	δ (^{13}C) Ref : [124]
1	39,51	CH	2,28	m	39,7
2	32,37	CH ₂	2,55/2,28	m	32,2
3	150,76	CH=	6,87	m	148,9
4	141,31	C=	NA	NA	141,4
5	21,76	CH ₂	2,16/2,48	m	22,1
6	26,8	CH ₂	1,48/1,96	m	27,1
7	152,56	C=	NA	NA	152,7
8	34,77	CH ₂	2,11	m	35,0
9	26,75	CH ₂	2,17	m	27,0
10	123,99	CH=	5,16	t (6,8 Hz)	124,6
11	131,84	C=	NA	NA	131,5
12	25,71	CH ₃	1,73	s	25,8
13	17,76	CH ₃	1,65	s	17,7
14	193,94	CH=O	9,47	s	192,5
15	108,25	CH ₂ =	4,86/4,82	s/s	108,3



δ : Valeurs des déplacements chimiques de RMN du carbone-13 et du proton du falcarinol mesurés dans la fraction F4

δ (^{13}C) Ref : [124]: Valeurs des déplacements chimiques de RMN du carbone-13 du falcarinol issus de la littérature [124].

* : deux carbones superposés

Le β -bisabolénal est un sesquiterpène rarement trouvé dans la nature. Il a été décrit pour la première fois en 1993, en tant que constituant volatil du bois de *Neogallitropsis pancheri*, une plante endémique de la nouvelle Calédonie [125]. Il a été identifié en tant que composé prédominant (plus de 50%) dans l'huile essentielle des fruits de *Prangos heyneiae* originaires de Turquie [126]. Enfin, la synthèse de cet alcool sesquiterpénique a récemment été optimisée par un traitement mono-étape du crotonaldehyde et du myrcène [124] alors que la séquence de synthèse antérieure nécessitait près de 22 étapes [127]. L'intérêt derrière ce

composé se situe en sa capacité olfactive dû aux substituants insaturés sur le carbone en position 4 [124]. Cette capacité est très recherchée en parfumerie.

Les composés majoritaires de l'huile essentielle d'*E. tricuspidatum ssp. mauritanicum* sont le β -bisabolène **15** (21,1-37,4%), le valencène **16** (1,3-15,5%), le β -bisabolène **16** (5,7-18%), le falcarinol **27** (3,1-18,8%) et l'octanal **2** (2,8-12,9%) (Figure 10). La composition chimique de l'ensemble des échantillons est dominée par les composés oxygénés (45,1-70,9%), et la classe des sesquiterpènes (56,9-72,6%).

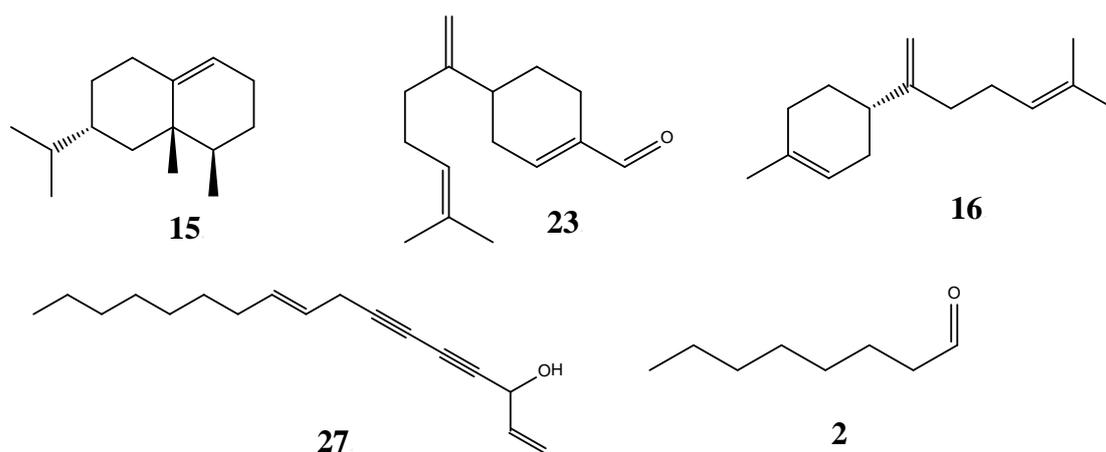


Figure 10. Structures des composés majoritaires de l'huile essentielle d'*E. mauritanicum*

Le présent travail décrit pour la première fois la composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes d'*E. tricuspidatum ssp. mauritanicum*. L'étude des huit échantillons provenant de la zone nord-ouest d'Algérie montre des variations sensibles quant aux proportions des composés majoritaires des huiles essentielles (Tableau 4). Ce résultat permet d'envisager l'étude d'une éventuelle variabilité chimique de l'huile essentielle, cependant la très faible distribution de l'espèce en limite la possibilité.

Les profils chromatographiques des huiles essentielles rapprochent les échantillons étudiés des échantillons d'huiles essentielles des « *Eryngium* » riches en sesquiterpènes (voir annexe 1). Par ailleurs, la présence du falcarinol est somme toute significative et l'originalité de l'huile essentielle d'*E. tricuspidatum ssp. mauritanicum* d'Algérie provient de la présence en β -bisabolène, qui est décrit, pour la première fois en tant que composé majoritaire d'une huile essentielle appartenant au genre *Eryngium*.

En vue d'élargir notre connaissance sur les métabolites volatils de cette espèce, nous avons choisi d'étudier la composition chimique de l'extrait hénanique, qui peut constituer une alternative à l'huile essentielle pour une éventuelle valorisation.

Tableau 4. Compositions chimiques des huit échantillons d'huiles essentielles des parties aériennes d'*E. mauritanicum*

N. ^a	Composés	litIr _a ^b	Ir _a ^c	Ir _p ^d	S _{min}	S _{max}	ERM1	ERM2	ERM3	ERM4	ERM5	ERM6	ERM7	ERM8	Identification
1	Heptanal	876	873	1187	0,3	1	0,4	0,6	1	0,5	0,4	0,4	0,3	0,4	Ir, SM
2	Octanal	980	981	1290	2,8	12,9	4,3	6,4	12,9	4,9	4,2	4,2	2,8	3,6	Ir, SM
3	Octanol	1058	1061	1531	0,1	1,3	-	-	-	-	0,1	0,4	0,5	1,3	Ir, SM
4	Nonan-2-one	1070	1069	1388	0,1	0,4	0,1	0,2	0,4	-	0,2	0,2	0,2	0,2	Ir, SM
5	Nonanal	1083	1081	1394	0,4	1	0,4	0,7	1	0,6	0,4	0,6	-	0,6	Ir, SM
6	(E)-Non-2-ènal	1136	1134	1530	0,1	0,4	0,3	0,3		0,3	0,1	0,4	0,3	0,3	Ir, SM
7	(E)-2-Déc-2-ènal	1248	1236	1652	0,5	1,5	0,5	0,8	1,5	0,6	0,5	0,6	0,5	0,6	Ir, SM
8	β-Bourbonène	1385	1384	1515	0,1	0,9	-	0,2	-	-	0,9	-	0,1	-	Ir, SM
9	Tétradécane	1400	1401	1400	0,2	0,4	-	-	-	-	0,2	0,2	0,4	0,2	Ir, SM
10	α-gurjunène	1413	1410	1524	0,1	0,6	-	0,3	0,6	0,3	0,1	0,3	0,1	0,4	Ir, SM
11	β-ionone	1466	1458	1936	0,3	1,2	0,6	0,4	0,4	0,3	1	0,7	1,2	1,1	Ir, SM
12	γ-gurjújène	1470	1467	1654	0,1	0,6	-	-	0,6	-	0,1	-	-	0,3	Ir, SM
13	α-curcumène	1471	1472	1769	0,2	1,2	0,2	0,3	1	1,2	0,3	0,7	0,8	0,4	Ir, SM
14	Aristolochène	1486	1478	J	0,7	6	2,4	6	5,1	4,9	3	0,7	0,9	0,7	Ir, SM
15	Valencène	1497	1485	1719	1,3	15,5	4,3	15,5	12,5	13,3	6,8	1,3	1,5	1,4	Ir, SM
16	β-bisabolène	1500	1498	1720	5,7	18	5,7	12,5	9,6	18	13	14,8	18	17,7	Ir, SM
17	Nootkatène	1511	1509	1812	0,3	1,1	0,7	0,8	1,1	0,3	0,3	-	-	0,3	Ir, SM
18	Spathuléol	1557	1562	2119	1,6	4,7	1,7	1,6	1,9	4,7	1,9	2,2	1,6	2,9	Ir, SM
19	Salvial-4(14)èn-one	1583	1584	2005	0,8	1,6	-	1,2	0,8	1,2	0,9	1,1	0,9	1,6	Ir, SM
20	Viridiflorol	1591	1609	2089	0,7	5,9	-	1,4	1,8	0,7	2,2	4,9	4,5	5,9	Ir, SM
21	Acora-3,7(11)dièn-6-ol	1625	1626	J	0,5	2,9	1,5	0,7	1,3	1,3	2,9	1,5	0,5	1,5	Ir, SM, Ref
22	Amorph-4-en-10α-ol	1632	1634	J	0,3	3,2	0,7	2,2	0,5	1,1	0,3	1,7	3,2	1,9	Ir, SM,Ref
23	β-bisabolénal	1743	1743	2315	21,1	37,4	37,4	21,8	21,1	24,1	28,1	37,1	24,4	27,8	Ir, SM, RMN
24	Acide tétradécanoïque	1769	1769		0,1	1,3	1,3	0,7	1	1	0,6	0,6	0,2	0,1	Ir, SM
25	Nootkatone	1788	1782	2530	1,2	2,8	1,7	1,5	1,3	1,2	1,4	1,5	2,8	1,6	Ir, SM
26	Acide hexadécanoïque	1942	1941	2916	0,6	5,5	1,2	1	1,3	0,8	0,8	1,1	5,5	0,6	Ir, SM
27	Falcarinol	2028	2026	2939	3,1	18,8	18,8	3,6	6,3	3,1	10,8	4,8	9,0	7,3	Ir, SM,Ref

	Total identification %	80,2	85,0	85	80,7	84,4	84,2	81,5	82,0	80,2	80,7
Composés hydrocarbonés	13,3	38,0	13,3	35,6	30,5	38,0	24,7	18	21,8	21,4	
Composés oxygénés	45,1	70,9	70,9	45,1	54,5	46,4	56,8	64	58,4	59,3	
Composés non identifiés											
Sesquiterpènes	56,9	72,6	56,9	66,4	59,6	72,6	63,2	68,5	60,5	65,5	
Sesqui. Oxygénés	29,1	50,7	43,6	30,8	29,1	34,6	38,7	50,7	39,1	44,3	
Sesqui. Hydrocarbonés	13,3	38	13,3	35,6	30,5	38	24,5	17,8	21,4	21,2	
Monoterpènes											
Composés non terpéniques	11,8	27,3	27,3	14,3	25,4	11,8	18,3	13,5	19,7	15,2	

^a L'ordre d'éluion donné sur colonne apolaire (Rtx-1)

^b Indices de rétention sur colonne apolaire issus de la littérature

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-wax

^e Pourcentages Min et Max d'identification donnés sur colonne apolaire des huit échantillons d'huiles essentielles des parties aériennes d'*E. mauritanicum* (ERM1-ERM8).

^f Ir: Indice de rétention; SM: Spectre de Masse en impact électronique. Ref: Composés identifiés à l'aide des bibliothèques commerciales [99].

II.2. Etude de la composition chimique de l'extrait hexanique d'*E. mauritanicum* :

L'analyse CPG/Ir et CPG/SM-IE de l'extrait hexanique a permis l'identification de 24 composés représentant 84,7% de la composition totale. Le mélange est constitué de 45,6% de composés oxygénés et 39,1% de composés hydrocarbonés. La famille chimique dominante est celle des sesquiterpènes (56,9%), suivie par celle des composés non-terpéniques (27,5%) alors que les monoterpènes sont en faible proportion (0,3%). Les composés majoritaires sont le falcarinol **24** (24,5%), le cis- β -guaïène **14** (19,8%), le β -bisabolénal **21** (9,9%), le cis-guai-6-en-10 β -ol **20** (7,4%), le β -bisabolène **15** (6,8%) et le guaia-6,9-diène **8** (5,1%). Les 21 composés ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétentions et leurs spectres de masse avec ceux repertoriés dans la bibliothèque du laboratoire « Aromes ». Les trois composés de squelette guaïane ont été identifiés en comparant leurs indices de rétentions et spectres de masses avec ceux présents dans la banque commerciale « Joulain ».

L'extrait hexanique se démarque de l'huile essentielle par la présence du le cis- β -guaïène, du cis-guai-6-en-10 β -ol et du guaia-6,9-diène, trois sesquiterpènes appartenant à la famille des guaïanes. A notre connaissance, les molécules de squelette guaïanes ont été que rarement reportées dans le genre *Eryngium*. En effet, deux publications reportent l'identification du cis- β -Guaïène dans l'huile essentielle des parties aériennes d'*E. expansum* F.Muell (10,8%) et celle du trans- β -Guaïène dans les huiles essentielles des parties aériennes d'*E. nudicaule* (5%).

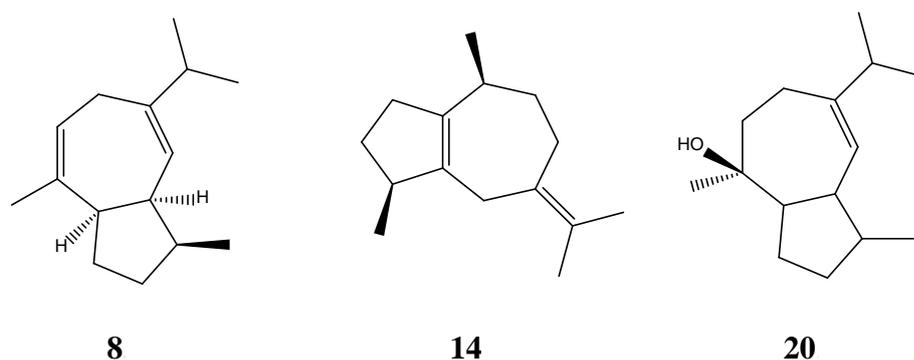


Figure 11. Structure des composés de squelette guaïanes dans l'extrait hexanique d'*E. mauritanicum*

Tableau 5. Composition chimique de l'extrait hénanique d'*E. mauritanicum* :

N. ^a	Composés	litIr _a ^b	Ir _a ^c	Ir _p ^d	Erm ext/ hex	Identification
1	α-pinène	931	931	1022	0,3	Ir, SM
2	Octanal	980	980	1290	1,5	Ir, SM
3	Nonanal	1083	1081	1394	0,1	Ir, SM
4	Acide octanoïque	1173	1165	2011	0,1	Ir, SM
5	α-copaène	1379	1375	1488	0,3	Ir, SM
6	β-élémente	1388	1385	1589	0,4	Ir, SM
7	γ-élémente	1429	1425	1638	0,2	Ir, SM
8	Guaia-6,9-diène	1443	1443	1630	5,1	Ir, SM, Ref
9	Aromadendra-1(10),4-diène	1462	1459	1654	0,2	Ir, SM
10	α-curcumène	1471	1468	1769	0,3	Ir, SM
11	γ-muuroène	1470	1470	1681	0,5	Ir, SM
12	Aristolochène	1486	1478	1685	2,2	Ir, SM
13	Valencène	1497	1485	1719	1,8	Ir, SM
14	Cis-β-guaiène	1488	1495	1718	19,8	Ir, SM
15	β-bisabolène	1500	1498	1720	6,8	Ir, SM, Ref
16	γ-vetivénène	1527	1527	1818	0,2	Ir, SM
17	Germacrène B	1553	1548	1827	0,5	Ir, SM
18	β-vitivénène	1552	1559	1857	0,5	Ir, SM
19	spathuléol	1557	1562	2119	0,8	Ir, SM
20	Cis-Guai-6-èn-10β-ol	1584	1595	1985	7,4	Ir, SM, Ref
21	β-bisabolénal	1743	1742	2315	9,9	Ir, SM
22	acide tétradécanoïque	1748	1749	2681	1,1	Ir, SM
23	acide hexadécanoïque	1942	1941	2916	0,2	Ir, SM
24	Falcarinol	2028	2026	3086	24,5	Ir, SM
Taux d'identification %					84,7	
Composés hydrocarbonés					39,1	
Composés oxygénés					45,6	
Sesquiterpènes					56,9	
Monoterpènes					0,3	
Non-terpéniques					27,5	

^a L'ordre d'éluion donné sur colonne apolaire (Rtx-1)

^b Indices de rétention sur colonne apolaire issus de la littérature

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-wax

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire de l'extrait hénanique des parties aériennes d'*E. mauritanicum* (Erm ext hex).

^f Ir: Indices de rétention; SM: Spectre de Masse en impact électronique. Ref: Composés identifiés à l'aide de bibliothèques commerciales [99].

III. Chapitre III

Les métabolites volatils d'*Eryngium campestre*.

**Identification d'une nouvelle molécule. Etude de la
variabilité chimique.**

A notre connaissance, quatre publications traitent de la composition chimique des huiles essentielles préparées à partir des parties aériennes d'*E. campestre* récoltées dans différentes régions du globe. Les résultats de ces travaux rapportent des compositions chimiques différentes indiquant une variabilité chimique intra-spécifique au sein de l'espèce. Cette hypothèse est renforcée par la variabilité génétique très significative entre des populations d'*E. campestre* originaires de zones d'études géographiquement distinctes [128]. Par ailleurs, les compositions chimiques des huiles essentielles d'*E. campestre* semblent être influencées par la nature des sols sur lesquels le végétal se développe [129].

Dans ce chapitre nous nous intéresserons aux extractibles volatils d'*E. campestre* originaire de l'ouest algérien présents dans l'huile essentielle et dans un extrait obtenu à l'héxane. Plus particulièrement, nous décrirons l'étude structurale d'un nouveau produit naturel puis nous nous intéresserons à la composition chimique des huiles essentielles produites au cours du cycle végétatif et à partir des organes séparés de la plante. Enfin, nous discuterons les résultats de l'étude de la variabilité chimique réalisée à partir de 37 échantillons d'huiles essentielles.

III.1. Analyse préliminaire des huiles essentielles d'*E. campestre* et de l'huile essentielle collective.

Le matériel végétal a été récolté sur toute la zone administrative de Tlemcen (Nord-ouest d'Algérie) entre le début juin et la mi-juillet 2016. Ainsi les 37 échantillons de parties aériennes fraîches ont produit par hydrodistillation des huiles essentielles avec un rendement compris entre 0,11 et 0,20%.

Les analyses CPG-Ir et CPG/MS-IE des 37 échantillons d'huiles essentielles montrent des profils chromatographiques qualitativement similaires qui cependant diffèrent par la proportion de plusieurs constituants. L'analyse de routine a montré ses limites pour identifier les constituants du mélange -en forte proportion pour certains- dont les données spectrales étaient absentes de nos bibliothèques de références.

La stratégie analytique développée intègre la constitution d'une huile essentielle collective, la mise en œuvre de chromatographies successives et l'utilisation de la RMN pour l'identification des constituants non identifiés et concentrés dans les fractions obtenues. Nous avons ainsi regroupés les 37 échantillons afin de produire une huile collective notée «EC/HE» dont le profil chromatographique est présenté dans la figure 12. L'analyse CPG-Ir et CPG/MS-IE a permis d'identifier 51 composés représentant 65,5% de la composition totale. Au total, 7 monoterpènes, 38 sesquiterpènes et 6 composés non terpéniques ont été identifiés. L'huile essentielle est dominée par les sesquiterpènes (60,5%) dont 27,4% sont des composés oxygénés et 33,1% des composés hydrocarbonés. Les composés majoritaires sont le Germacrène D **26** (15,2%), le Spathuléol **39** (4,8%) et l' α -cadinol **46** (5,5 %). Ces trois sesquiterpènes sont accompagnés par un composé non identifié noté **A** (Ir_a 2143, Ir_p 2970) apparaissant en fin du chromatogramme et qui représente 10,3% de la composition chimique totale de l'huile essentielle.

Le fractionnement de l'échantillon EC/HE sur colonne de silice a produit 87 fractions dans lesquelles **A** est certes concentré mais toutefois, jamais de manière suffisante pour permettre son identification de manière non ambiguë par les techniques spectroscopiques. Face à cette difficulté nous avons recherché d'autres échantillons susceptibles de contenir le composé recherché. Ainsi, un extrait au soxhlet obtenu par extraction de la plante à l'hexane s'est révélé être une bonne alternative à notre problématique. En effet, l'hexane, solvant apolaire généralement employé pour l'extraction des huiles végétales, a été sélectionné pour

ses capacités à extraire favorablement les constituants volatils et plus particulièrement le composé non identifié.

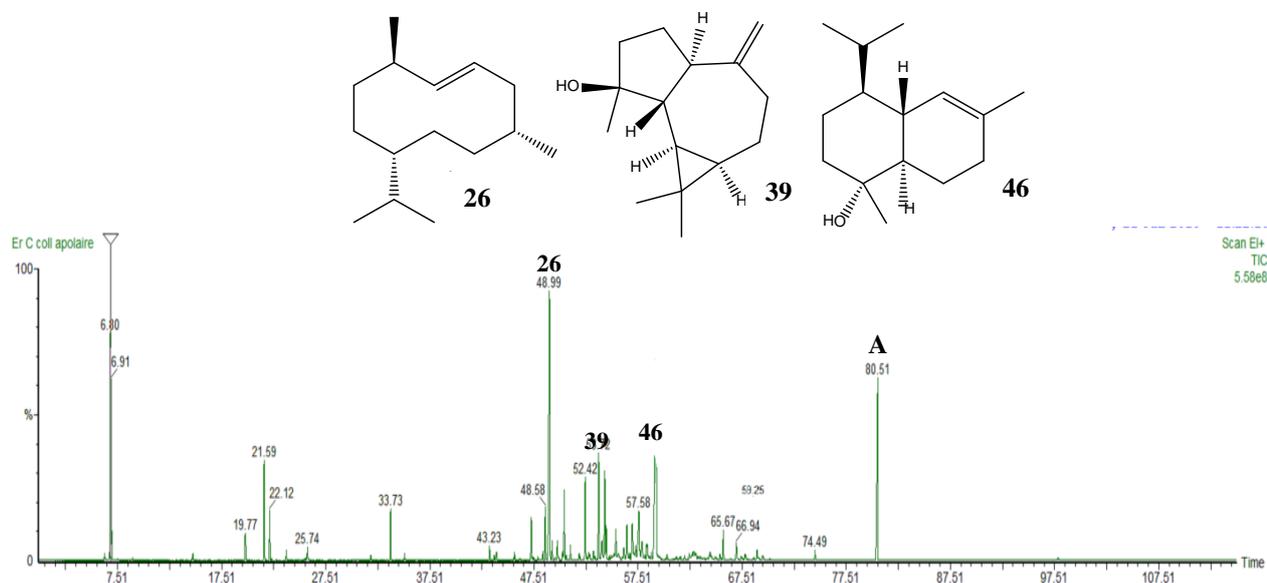
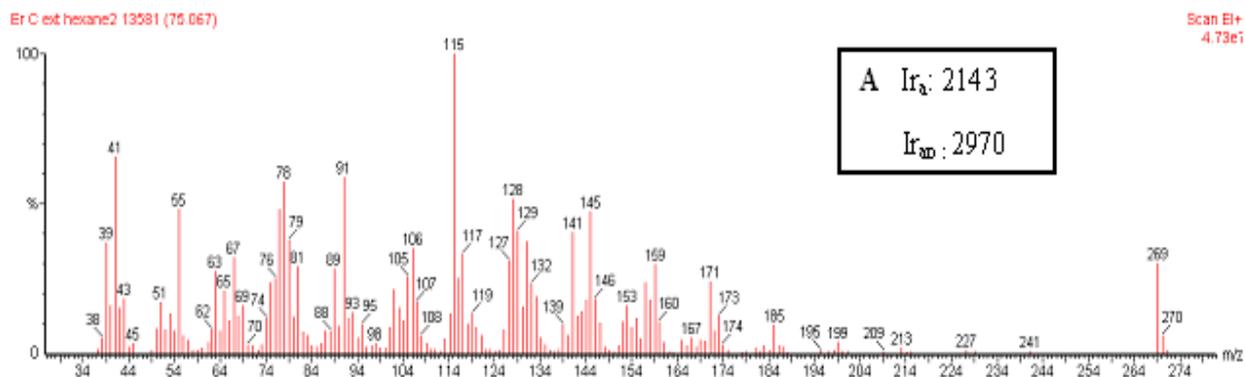


Figure 72. Chromatogramme de l'huile collective d'*E. campestre*

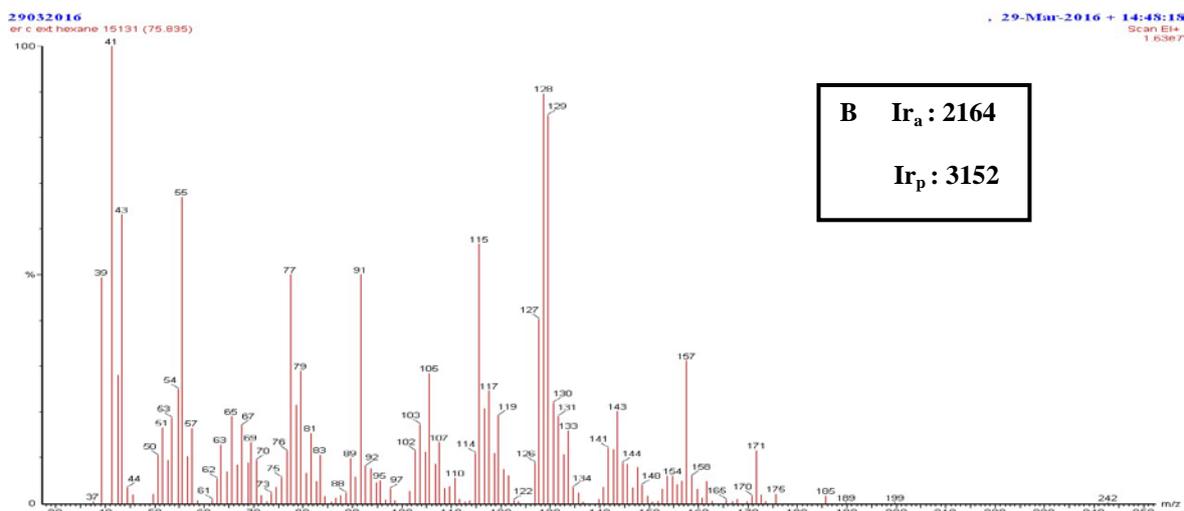
III.1.1. Etude de l'extrait hexanique d'*E. campestre*

Les parties aériennes d'*E. campestre* ont été soumises à une extraction par l'hexane jusqu'à épuisement en utilisant un appareillage de type soxhlet. Après évaporation et filtration, un extrait de couleur verte a été récupéré avec un rendement de 1,05% par rapport à la masse de végétal fraîche.

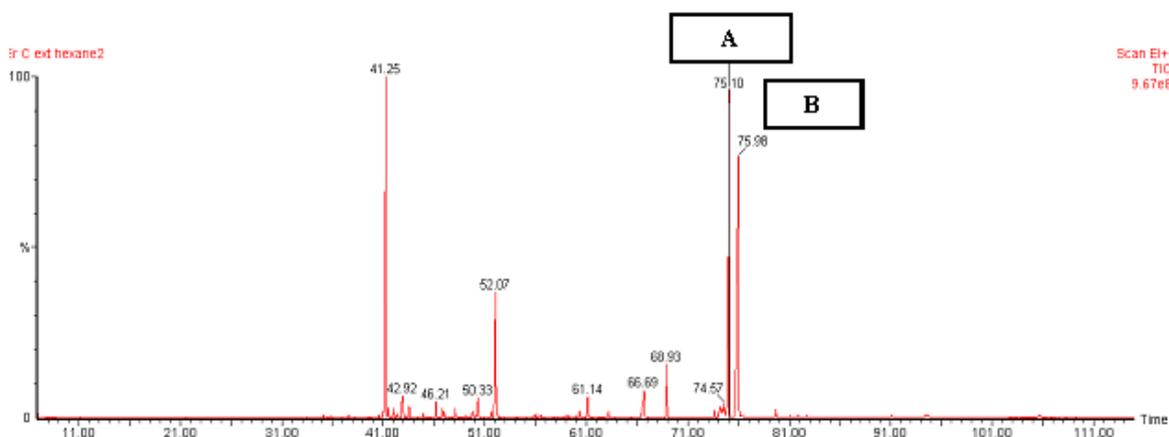
L'analyse CPG-Ir et CPG/MS-IE de l'extrait révèle la présence de 33 composés qui représentent 84% de la composition totale (annexe 4). L'extrait est caractérisé par une forte proportion de composés oxygénés (52,8%). Les composés sesquiterpéniques sont dominants (48,6%) à côté de composés non-terpéniques comme le falcarinol (2,8%). Les composés majoritaires sont le Germacrène D (23,6%), l'Eudesma-4(15)-7-dien-1- β -ol (8,2%) et deux composés non identifiés à 23,0% (I_{r_a} 2143, I_{r_p} 2970) et 9,4% (I_{r_a} 2164, I_{r_p} 3152) dont les données spectrales sont absentes de nos bibliothèques de référence. Par comparaison des spectres de masse (Figure 13) et des indices de rétention, le composé **A** présent dans l'huile essentielle collective d'*E. campestre* est rapidement détecté dans l'extrait hexanique (**A** : 23%). Le spectre de masse et les indices de rétention du représentant 9,4% de l'extrait que nous noterons **B** sont présentés dans la figure 13.



a



b



c

Figure 8. Spectres de masse de **A** (a) et de **B** (b) et chromatogramme de l'extrait hexanique d'*E. campestre* (c).

Afin d'identifier les composés **A** et **B**, nous avons soumis l'extrait hexanique à une chromatographie sur colonne avec un gradient de polarité croissante (hexane / oxyde de diisopropyle). Le fractionnement a conduit à l'obtention de 75 fractions.

a. Identification de B

Le composé **B** (9,4% dans l'extrait) a été isolé quasiment pure (>95%) dans une fraction obtenue avec un gradient de solvants hexane/oxyde de diisopropyle (90/10). Le spectre de masse enregistré à 70 eV de **B** montre un ion à m/z 242 qui semble être l'ion moléculaire et un pic de base de m/z 129. Les autres signaux du spectre sont observés à m/z 55, 91, 128, 145, 157. L'analyse du spectre de RMN du ^{13}C et l'enregistrement d'une séquence APT nous oriente vers une molécule de formule brute $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{O}_2$, soit 260 uma, indiquant ainsi, que l'ion à m/z 242 ne correspond pas à l'ion moléculaire mais à un ion fragment obtenu par la perte favorable d'une molécule d'eau. Cette perte d' H_2O indique la présence d'une fonction alcool dans la molécule. Le spectre de RMN du C-13, montre quatre raies à δ_{C} 79,9, 78,2, 70,3 et 68,7 ppm que nous avons attribué à des carbones quaternaires impliqués dans des triples liaisons caractéristiques de molécules polyacétylènes. Les autres raies de résonance observées sur le spectre du RMN indiquent la présence de carbones éthyléniques et de deux fonctions alcools primaires. Une comparaison de la série de valeurs de déplacements chimiques de **B** avec la littérature a permis de conclure à l'identification du falcarindiol (Figure 14).

Le falcarindiol appartient à la famille des polyacétylènes, il a été précédemment identifié chez *Angelica japonica* [130], *Daucus carota* [131], et dans les racines d'*Heracleum moellendorffi* [132]. La présence du falcarindiol dans les espèces *Eryngium* a été reporté une fois en 1971 par Bohlmann [133] dans des extraits étherés d' *E. alpinum*, *E. coeruleum* et *E. giganteum*. Le falcarindiol a montré une activité anti-inflammatoire, antibactérienne et anticancéreuse, ainsi que des effets protecteurs contre l'hépatotoxicité [134].

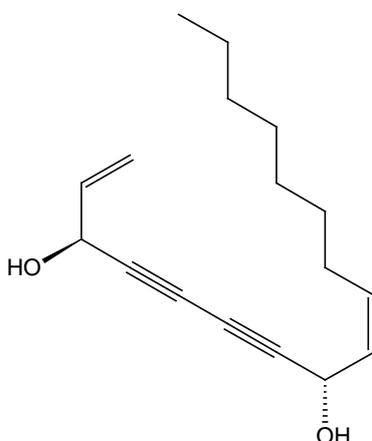


Figure 9. Structure de falcarindiol

b. Analyse structurale du composé A

A l'aide d'un gradient de solvants hexane/diisopropyléther 95/5, le composé noté **A** (23% dans l'extrait) a été concentré dans une fraction avec un degré de pureté de 96%.

Le composé **A** se présente sous forme d'un solide ou d'une huile jaunâtre en présence du solvant (éther). Le spectre Infra-Rouge (annexe 7) de **A** possède des bandes d'absorption à 1739 cm^{-1} , 1098 cm^{-1} et 1225 cm^{-1} correspondant aux vibrations $\nu_{\text{C=O}}$ et $\delta_{\text{C-O}}$, indiquant la présence d'un groupement carbonyle impliqué dans une fonction lactone. Les autres bandes d'absorptions apparaissant à 2255 cm^{-1} et $2856\text{-}2928\text{ cm}^{-1}$ sont caractéristiques de vibrations $\nu_{\text{C=C}}$ et $\nu_{\text{C-H}}$.

Le spectre de masse enregistré en impact électronique à 70 eV de **A** montre un signal à m/z 270 pouvant correspondre à l'ion moléculaire et un signal à m/z 269 d'intensité 3 fois plus importante. Le pic de base apparaît à m/z 115 et les autres signaux d'intensité remarquable sont observés à m/z 55, 91, 128, 145. L'enregistrement du spectre de masse à haute résolution révèle une formule brute $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_2$ (ion détecté : $[\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_2\text{Na}]^+$; $(m/z)_{\text{expérimentale}}$ 293,1513 et $(m/z)_{\text{théorique}}$ 293,1512, erreur +0,3 ppm).

Le spectre de RMN (annexe 8) du carbone-13 laisse apparaître 18 raies de résonance dont 13 présentent une forte intensité. Comme observé pour le faltarindiol, quatre raies de résonance possédant des valeurs de déplacements chimiques comprises entre δ_{C} 64,51 ppm et δ_{C} 81,15 ppm nous oriente vers la présence d'un système polyacétylénique. Une dernière raie de faible intensité observable à δ_{C} 172,97 ppm signale la présence d'un groupement carbonyle engagé dans une fonction ester. L'enregistrement d'une séquence DEPT permettant d'accéder à la multiplicité des signaux et l'examen du spectre de RMN du proton, permettent de statuer sur l'absence de groupements de type méthyle et nous oriente ainsi vers la présence d'une fonction lactone.

L'élucidation complète de la structure de **A** a été réalisée à partir des matrices de corrélation en deux dimensions HSQC et HMBC qui ont permis la détermination d'un macrocyclique à 17 centres de type lactone substitué par un groupement vinyle. De plus, la matrice de corrélations de la séquence NOE a montré la proximité spatiale entre la chaîne aliphatique et la partie insaturée du macrocycle, en particulier entre $3\text{-CH}_2 \rightarrow 17\text{-CH}$ et $13\text{-CH}_2 \rightarrow 10\text{-CH}$. Les déplacements chimiques des carbones signalés par ** dans Tableau 6 ont été résolus par analyse RMN de **A** dans l'acétone- d_6 ; la liste complète des valeurs δ_{H} et δ_{C} correspondantes est donnée en annexe 5.

Tableau 6. Structure et données de RMN du carbone-13 de A (CDCl₃, 125,77 MHz, 300K) :

N°, C	Type de carbone	δ _C (ppm)*	δ _H (ppm)*	Const. Couplage J(Hz)-Multiplicité	Corrélations HMBC C→H
19	CH ₂ =	119,65	5,37	16,90; 1,2/dd	H2
			5,60	10,17; 1,2/dd	
18	-CH=	131,88	5,91	5,85; 10,17; 16,90/ddd	H1
17	-CH-O	64,45	5,92	5,85/d	H17
16	-C≡	72,15	-	-	H1, H2
15	-C≡	71,87	-	-	H8
14	-C≡	64,51	-	-	H8, H9, H10
13	-C≡	81,15	-	-	H8, H9, H10
12	=C-CH ₂ -C≡	16,91	2,96	18,30; 7,05/dd	H9, H10
			3,07	18,30; 7,05/dd	
11	-CH=	121,13	5,52	m	H8, H11
10	-CH=	135,23	5,62	m	H8, H11
9	-CH ₂ -	28,26	2,10	m	H9, H10
			2,15		
8	-CH ₂ -	29,67	1,28	m	H11
7**	-CH ₂ -	28,70	1,37	m	H16, H17, H11
6**	-CH ₂ -	28,68	1,44	m	H16, H17, H11
5	-CH ₂ -	30,17	1,36	m	-
4	-CH ₂ -	26,45	1,76	m	H15, H17
			1,67		
3	-CH ₂ -C=O	34,55	2,41	m	H15, H16
			2,38		
2	-C=O	172,97	-	-	H3, H16

* Les valeurs de déplacement chimique sont rapportées en CDCl₃: 7,26 ppm (¹H) et 77,04 ppm (¹³C), respectivement, utilisés comme étalon interne.

** Valeurs obtenues dans l'acétone-d₆

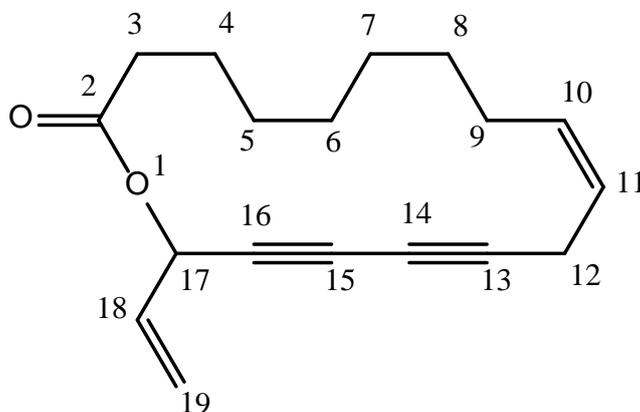


Figure 10. Structure du (Z)-17-vinyloxacycloheptadeca-10-en-13,15-diyne-2-one

III.1.2. Bilan de l'huile essentielle collective d'*E. campestre*

Au terme de l'étude, 52 constituants représentant 75,8% de la composition chimique de l'huile essentielle collective d'*E. campestre* ont été identifiés (Tableau 7). Les composés majoritaires sont le Germacrène D (15,2%), un nouveau macrolide naturel que nous avons choisi de nommer « **Campestrolide** » (10,3%), le spathuléol (4,8%) et l' α -Cadinol (5,5 %).

Au-delà de la présence du campestrolide, l'huile essentielle d'*E. campestre* d'Algérie possède une composition chimique originale au regard des échantillons décrits dans la littérature. Ainsi, l'huile essentielle originaire d'Égypte contient l' α -curcumène (8,6%), l' α -cadinène-15-al (23,3%), le spathuléol (10,7%) et l'acide octanoïque (9,8%) [67]. Le myrcène, (E)- β -farnésène, le β -bisabolène sont les constituants majoritaires de l'huile essentielle originaire du Portugal [135]. Deux échantillons d'Italie contiennent respectivement : (i) du germacrène D (13,8%), de l'*allo*-aromadendrène (7,7%), du spathuléol (7,0%), du lédol (5,7%) [54] et (ii) du germacrène D (49,5%), de l'apiol (19,5%) et de l' α -himachalène (15,1%) [55]. Enfin, l'huile essentielle d'Espagne est caractérisée par la présence du germacrène D, du β -curcumène, du myrcène, et du (E)- β -farnésène [129].

Tableau 7. Composition chimique de l'huile collective d'*E. campestre* et des huiles essentielles des organes séparés et du suivi végétatif obtenus dans la station de Lalla Setti S1 :

N. ^a	Composés	litIr _a ^b	Ir _a ^c	Ir _p ^d	EC/HC ^e	Cycle végétatif ^f				Organes séparés ^g				Identification ^h
						04-mai	24-mai	15-juin	05-juil	Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs	
1	β-Pinène	970	972	1110	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	-	-	-	-	Ir, SM
2	Myrcène	979	981	1153	2,7	0,3	2,4	4,6	8,4	3,2	1,9	1,4	4,7	Ir, SM
3	p-Cymène	1011	1013	1258	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Ir, SM
4	Limonène	1020	1022	1199	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	0,2	Ir, SM
5	(Z)-β-Ocimène	1024	1026	1230	0,1	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	Ir, SM
6	δ-Terpinène	1047	1049	1243	-	-	0,3	0,2	0,1	0,2	-	-	-	Ir, SM
7	Nonan-2-one	1070	1076	1388	-	0,2	-	0,3	0,2	-	-	-	-	Ir, SM
8	Terpinolène	1078	1079	1280	-	-	0,2	0,1	0,2	-	-	-	-	Ir, SM
9	Nonanal	1083	1082	1394	0,1	0,1	0,1	-	0,1	0,1	-	-	0,1	Ir, SM
10	Décanal	1185	1184	1498	0,3	0,3	0,2	-	0,2	0,2	-	0,2	-	Ir, SM
11	(E)-2-Décéanal	1248	1247	1652	0,4	0,4	0,3	0,1	0,3	0,1	-	-	0,2	Ir, SM
12	(E)-2-Undécanal	1343	1348	1726	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	Ir, SM
13	α-Copaène	1379	1375	1438	0,9	0,9	0,6	0,2	1,1	0,3	0,6	0,4	-	Ir, SM
14	β-Bourbonène	1385	1383	1515	0,1	-	0,2	-	0,1	-	0,2	0,1	0,6	Ir, SM
15	β-Elémène	1388	1387	1589	3,0	0,4	3,7	4	1,5	0,4	0,9	2,5	0,1	Ir, SM
16	β-Ylangène	1420	1417	1562	0,6	0,1	0,7	2,1	0,8	0,5	0,7	0,7	-	Ir, SM
17	(E)-β-Caryophyllène	1424	1426	1591	-	0,1	-	-	0,3	-	-	0,3	0,1	Ir, SM
18	δ-Elémène	1431	1432	1581	1,2	0,2	1,4	0,8	0,7	-	0,7	-	0,1	Ir, SM
19	trans-α-Bergamotène	1432	1433	1575	1,2	-	0,2	0,4	0,2	-	-	-	-	Ir, SM
20	(E)-β-Farnésène	1448	1449	1661	0,4	0,9	2,1	5,1	8,2	26,0	9,8	1,4	6,2	Ir, SM
21	Alloaromadendrène	1451	1454	1631	0,2	0,1	0,2	-	0,2	-	-	-	-	Ir, SM
22	α-Humulène	1456	1457	1665	0,3	0,1	-	-	0,1	-	0,2	0,4	-	Ir, SM
23	4,5-di-épi-Aristolochène	1467	1465	1665	0,3	1,0	0,3	-	-	0,1	-	-	-	Ir, SM
24	δ-Muuroène	1467	1469	1683	0,9	0,1	-	1	-	-	-	-	-	Ir, SM

25	α -Curcumène	1470	1471	1742	1,3	0,3	0,9		0,5		0,8	0,4	0,1	Ir, SM
26	Germacrène D	1476	1480	1704	15,2	11,9	19,5	28,9	30,4	29,1	38,8	33,7	37,0	Ir, SM
27	β -Sélinène	1483	1484	1712	0,9	0,8	0,4	0,3	0,4	-	0,2	0,1	0,1	Ir, SM
28	α -Muuroène	1496	1503	1720	0,8	0,3	0,5	0,8	1,9	2	1,8	1,8	0,2	Ir, SM
29	β -Bisabolène	1500	1500	1720	0,2	0,2	0,2	0,4	1,4	0,8	0,3	-	0,2	Ir, SM
30	Sesquicinéole	1505	1506	1737	0,5	0,4	0,1	0,2	0,2	1,1	0,2	0,5	0,1	Ir, SM
31	δ -Cadinène	1516	1513	1752	0,3	0,1	-	-	0,2	-	-	-	-	Ir, SM
32	β -Curcumène	1509	1510	1733	0,2	0,5	0,1	0,9	0,3	0,2		0,3	-	Ir, SM
33	δ -Cadinène	1516	1514	1752	1,5	0,2	-	0,3	1,5	-	0,2	0,3	-	Ir, SM
34	(E)- α -Bisabolène	1532	1531	1753	0,5	0,7	1,5	-	-	0,6	0,8	0,9	0,5	Ir, SM
35	β -Elémol	1535	1534	2072	0,8	-	-	0,3	0,1		0,2	-	-	Ir, SM
36	Hydrate de 7 ϵ pi-trans-sesquisabinène	1543	1547	1991	1,0	0,2	2,5	3,3	-	0,3	0,1	0,2	-	Ir, SM
37	Salvial ϵ poxy-1,5-4(14)-ène	1545	1548	1941	2,1	0,9	-	0,2	0,2	0,6	-	0,8	0,6	Ir, SM
38	Germacrène B	1553	1551	1827	3,1	0,8	0,3	0,2	0,4	0,3	0,5	0,2	0,1	Ir, SM
39	Spathulénol	1563	1562	2103	4,8	0,9	0,7	9,6	6,3	0,6	2,3	0,5	1,4	Ir, SM
40	Oxyde de caryophyllène	1576	1570	1980	0,2	3,1	1,1	0,8	2,6	0,2	0,3	0,7	1,2	Ir, SM
41	Salvial-4(14)-èn-1-one	1583	1577	2005	1,8	1,7	0,4	0,5	1	0,8	1,9	4,2	4,5	Ir, SM
42	Lédol	1600	1602	2030	1,6	0,8	0,4	0,4	0,5	0,2	0,4	0,5	0,6	Ir, SM
43	1,10-di- ϵ pi-Cubénol	1610	1611	2054	1,4	-	1,8	2,2	0,1	0,5	0,2	1,4	0,3	Ir, SM
44	Caryophylla-4(14),8(15)-dièn-5- α ol	1626	1624	2285	0,3	0,2	2,3	2,0	0,5	0,3		0,5	1,9	Ir, SM
45	τ -Cadinol	1632	1638	2169	2,3	0,3	1,1	1,6	1	0,2	1,6	0,2	0,4	Ir, SM
46	α-Cadinol	1645	1645	2231	5,5	-	-	-	1,2	1,7	1,4	1,2	1,3	Ir, SM
47	Eudesma-4(15)-7-dièn-1- β -ol	1663	1672	2199	3,0	-	0,5	0,2	0,3	0,3	0,5	0,6	1,1	Ir, SM
48	α-Bisabolol	1681	1667	2333	0,6	1,7	1,1	1,8	1,0	2,7	1,8	3,9	8,0	Ir, SM
49	14-Hydroxy- α -muuroène	1755	1759	2599	0,5	1,6	0,4	0,5	0,3	0,5	0,5	0,5	0,9	Ir, SM
50	14-Hydroxy- δ -cadinène	1788	1784	2607	1,0	0,2	0,1	0,6	0,4	0,6	0,4	0,6	0,3	Ir, SM
51	Acide hexadécanoïque	1942	1941	2930	1,2	0,2	0,5	0,4	0,1	0,8	0,1+	0,9	0,4	Ir, SM
52	Campestrolide		2143	2970	10,3	50,9	32,1	16,3	8,1	9,5	14,6	16,3	4,5	Ir, SM, RMN

Taux d'identification	75,8	84,4	81,6	91,8	84,0	85,1	84,9	78,6	78,0
Rendements		0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,33	0,17
Composés hydrocarbonés	36,1	20,3	35,9	50,5	59,2	63,8	58,4	44,9	50,2
Composés oxygénés	39,7	64,1	45,7	41,3	24,8	21,3	26,5	33,7	27,8
Sesquiterpènes	60,5	31,7	45,3	69,6	65,9	70,9	68,3	59,8	67,9
Sesquiterpènes oxygénés	27,4	12,0	12,5	24,2	15,7	10,6	11,8	16,3	22,6
Sesquiterpènes hydrocarbonés	33,1	19,7	32,8	45,4	50,2	60,3	56,5	43,5	45,3
Monoterpènes	3,0	0,6	3,1	5,1	9,0	3,5	1,9	1,4	4,9
Composés non-terpéniques	12,3	52,1	33,2	17,1	9,1	10,7	14,7	17,4	5,2

^a Ordre d'élution donné sur colonne apolaire (Rtx-1)

^b Indices de rétention issus de la littérature donnés sur colonne apolaire

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-wax

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire de l'huile collective des parties aériennes d'*E. campestre* EC/HC.

^f Huiles essentielles obtenues au cours du cycle végétatif (station S1)

^g Huiles essentielles des organes séparés : Racines, Tiges, Feuilles, Fleurs. (station S1).

^h Ir: Indice de rétention; SM: Spectre de Masse en impact électronique. Ref: Composés identifiés à l'aide de bibliothèques commerciales [99].

III.2. Etude de la composition chimique des huiles essentielles des organes séparés. Etude de la variabilité saisonnière.

Les hydrodistillations réalisées à partir des feuilles, des fleurs, des tiges et des racines d'E. campestre récoltés dans la station de Lalla Setti (S1), ont permis d'obtenir les huiles essentielles avec des rendements respectifs de 0,28%, 0,17%, 0,20 % et 0,14% par rapport à la masse de végétal fraîche. Les racines peuvent être considérées comme les organes les moins aromatiques avec un rendement de 0,14% alors que les feuilles semblent être les organes les plus riches en huiles essentielles (0,28%). Ce résultat peut expliquer les variations des rendements obtenus pour les parties aériennes totales des 37 échantillons étudiés avec une valeur moyenne de 0,15%.

L'analyse des huiles essentielles des feuilles, fleurs, tiges et racines a conduit à l'identification de 52 composés représentant de 78,0 à 85,1% des compositions totales (Tableau 7). Quel que soit les organes considérés, la plante produit des huiles essentielles riches en sesquiterpènes (70,9-59,8%) parmi eux, les sesquiterpènes hydrocarbonés sont toujours majoritaires (43,5-60,3%) par rapport aux sesquiterpènes oxygénés (10,6-22,6%). Les proportions des sesquiterpènes hydrocarbonés semblent suivre une décroissance si on examine les huiles essentielles de la partie souterraine à l'apex caulinaire de la plante. Les huiles essentielles de racines en contiennent 60,3% et celles de tiges, feuilles et fleurs en contiennent 56,5%, 43,5% et 45,3 %, respectivement. Le composé majoritaire des huiles essentielles de ces trois organes est le germacrène D (29,1 - 38,3%). Les autres composés présents en proportions notables sont (i) le (E)- β -farnésène (26,0%) dans l'huile essentielle de racines, ses proportions sont moindres dans les trois autres organes (1,4-9,8%), (ii) le campestrolide qui atteint des proportions de 16,3% et 14,6% dans les huiles essentielles de feuilles et tiges vs 9,5% et 4,5%, respectivement dans celles de racines et de fleurs, et (iii) l' α -bisabolol dont la teneur dans l'huile essentielle de fleurs atteint 8,0%.

Afin d'examiner l'évolution de la production de métabolites secondaires dans la plante pendant son cycle végétatif, nous avons étudié la variation de la composition chimique des huiles essentielles produites entre le mois de mai et de juillet c'est à dire de la période de croissance végétative jusqu'à la pleine floraison. Quatre prélèvements ont été effectués, les dates de cueillettes et les résultats des compositions chimiques sont illustrés dans le Tableau 7. Durant la période de croissance végétative (début mai), le végétal possède des feuilles et des tiges mais pas de fleurs. L'huile essentielle produite à partir du végétal pris en début de

croissance présente un taux élevé de composés oxygénés (64,1%) : le campestrolide est dominant (50,9%) et les sesquiterpènes oxygénés représentent 12,0%. L'huile présente une faible teneur en sesquiterpènes hydrocarbonés, et en particulier le germacrène D représente 11,2% de la composition totale. En revanche, les huiles essentielles obtenues durant la période de pré-floraison (échantillons du 24/5 et du 15/6) et de floraison (mi-juillet) voient leurs proportions en campestrolide chuter brutalement passant de 50,9% à 32,1% puis 16,3 et enfin 8,1%. Cette diminution se produit au profit du germacrène D dont la teneur est créditée d'une forte augmentation (de 11,9 à 30,4%) sur l'ensemble du cycle. Ainsi, les huiles essentielles produites à partir de la plante possédant des bourgeons ou des fleurs voient leurs taux en composés oxygénés baisser au profit de la production de sesquiterpènes hydrocarbonés dont la teneur ne cesse d'augmenter au cours du cycle (Figure 16). Cette observation est en accord avec les résultats obtenus dans le paragraphe précédent. En effet, nous avons montré que la production de campestrolide est optimale dans les feuilles, partie du végétal qui domine en début de croissance. A l'inverse, la proportion de feuilles, diminuant au cours du cycle de vie du végétal, la production du macrolide diminue progressivement quand la plante est en période de floraison. Par conséquent il est possible d'affirmer que la quantité de feuilles influe non seulement sur le rendement mais aussi sur la composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes.

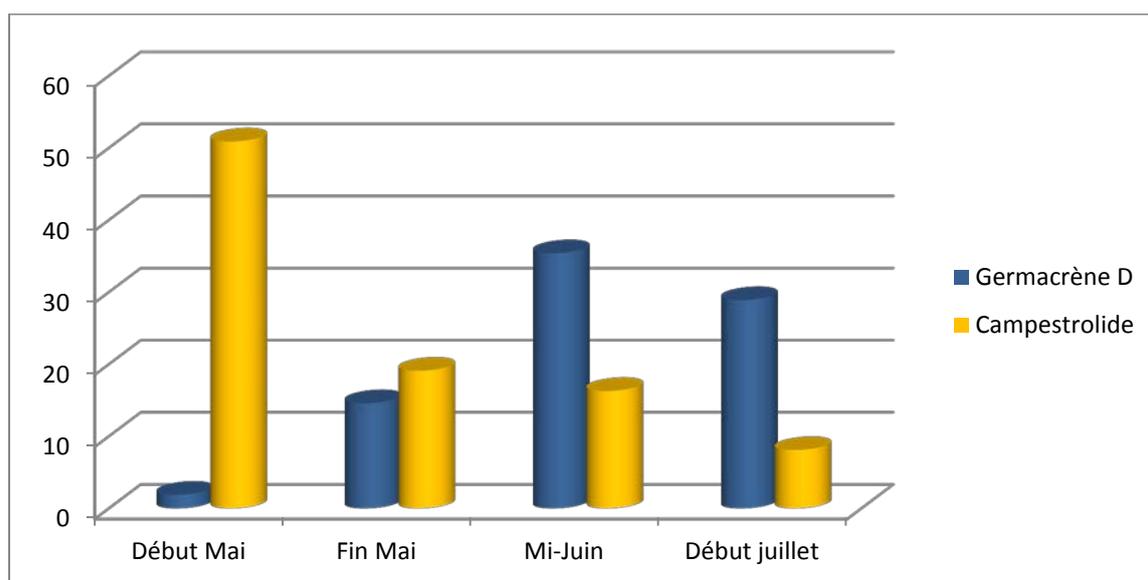


Figure 11. Proportions des composés majoritaires des huiles essentielles produites au cours du cycle végétatif d'*E. campestre*.

III.3. Variabilité chimique inter stations des huiles essentielles d'*E. campestre*

L'étude de la variabilité chimique d'*E. campestre* a été réalisée en recherchant des corrélations entre des données environnementales de chaque échantillon et la composition chimique de 37 huiles essentielles. Cette thématique permet d'approcher une éventuelle spécificité régionale ou micro-régionale de la plante. Le végétal a été récolté en pleine floraison dans 37 localités réparties sur la zone administrative de « Tlemcen » dans l'ouest Algérien (Figure 17). Chaque échantillon a fourni une huile essentielle dont les données qualitatives et quantitatives relatives aux constituants, sont corrélés aux données environnementales des lieux de récolte à l'aide d'une analyse statistique utilisant une Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) et une Analyse en Composante Principale (ACP).

Le tableau complet des compositions chimiques des 37 échantillons est présenté en annexe 6. Les 52 constituants répertoriés sont identiques à ceux identifiés dans l'huile essentielle collective (Tableau 7); ils représentent de 70,1 à 86,3% de la composition chimique des différents échantillons.

La matrice regroupant les compositions chimiques des 37 échantillons d'huiles essentielles a été soumise au traitement statistique dont les variables sont les teneurs (% normalisés) en sesquiterpènes oxygénés (SO), sesquiterpènes hydrocarbonés (SH), monoterpènes hydrocarbonés (MH) et en composés non-terpéniques oxygénés (NTO).

N°	Localités d'échantillonnages	GPS		Alt	Nature du sol
		Latitude	Longitude		
S1 EC	Lalla setti	34°51'52.42"N	1°18'18.09"O	996	Zone 2: Montagnes de Traras et plaines de Tiemcen
S2 EC		34°51'52.68"N	1°18'20.72"O	996	
S3 EC		34°51'52.35"N	1°18'20.72"O	997	
S4 EC		34°51'38.24"N	1°19'4.80"O	1037	
S5 EC	Bouhanak	34°52'38.75"N	1°21'33.88"O	774	
S6 EC	Mafrouch	34°50'55.59"N	1°17'53.21"O	1148	
S7 EC		34°49'45.37"N	1°18'44.75"O	1133	
S8 EC	zenata	34°56'51.27"N	1°26'58.89"O	300	
S9 EC	Remchi	35° 03' 00"N	1° 26' 00"O	82	
S10 EC	Maghniya	34° 51' 42"N	1° 43' 50"O	455	
S11 EC	chlaida	34°57'8.14"N	1°13'28.33"O	609	
S12 EC	Tirmi	34°49'1.90"N	1°19'36.26"O	1159	
S13 EC		34°47'8.00"N	1°20'37.88"O	1213	
S14 EC	bni aad	35° 2'32.70"N	1°40'9.43"O	228	
S15 EC	ain lekbira	35° 2'32.70"N	1°40'9.43"O	228	
S16 EC	mdig	34°58'6.66"N	1°15'48.65"O	497	
S17 EC	Sebdou	34°40'55.15"N	1°18'47.37"O	1013	Zone 1 : Haute plaine steppique
S18 EC		34°39'43.52"N	1°19'21.42"O	920	
S19 EC		34°38'15.18"N	1°20'9.95"O	938	
S20 EC	Abed	34°28'42.76"N	1°40'5.82"O	1446	
S21 EC	Bni behdel	34°41'10.07"N	1°30'16.82"O	780	
S22 EC		34°42'38.22"N	1°27'12.97"O	776	
S23 EC	Sidi bounoir	34°42'26.39"N	1°19'9.80"O	1110	

S24 EC		34°40'55.15"N	1°18'47.37"O	1030
S25 EC	Sebdou/Sid	34°36'0.53"N	1°23'35.57"O	997
S26 EC	djillali	34°34'26.89"N	1°26'6.66"O	1005
S27 EC	Abed/Lekhmis	34°37'5.86"N	1°35'34.98"O	867
S28 EC		34°34'40.59"N	1°36'4.15"O	980
S29 EC		34°33'28.61"N	1°37'21.11"O	1123
S30 EC		34°32'22.19"N	1°38'34.81"O	1294
S31 EC		34°31'18.90"N	1°40'55.59"O	1360
S32 EC		34°29'19.73"N	1°40'55.63"O	1253
S33 EC	Boughadou	34°30'49.71"N	1°30'20.98"O	1336
S34 EC	Sid djilali	34°26'11.75"N	1°34'31.83"O	1245
S35 EC		34°23'27.94"N	1°36'23.71"O	1163
S36 EC	Laouadj	34°29'3.67"N	1°16'18.01"O	1009
S37 EC	Lekhmis	34°38'20.61"N	1°33'45.40"O	840

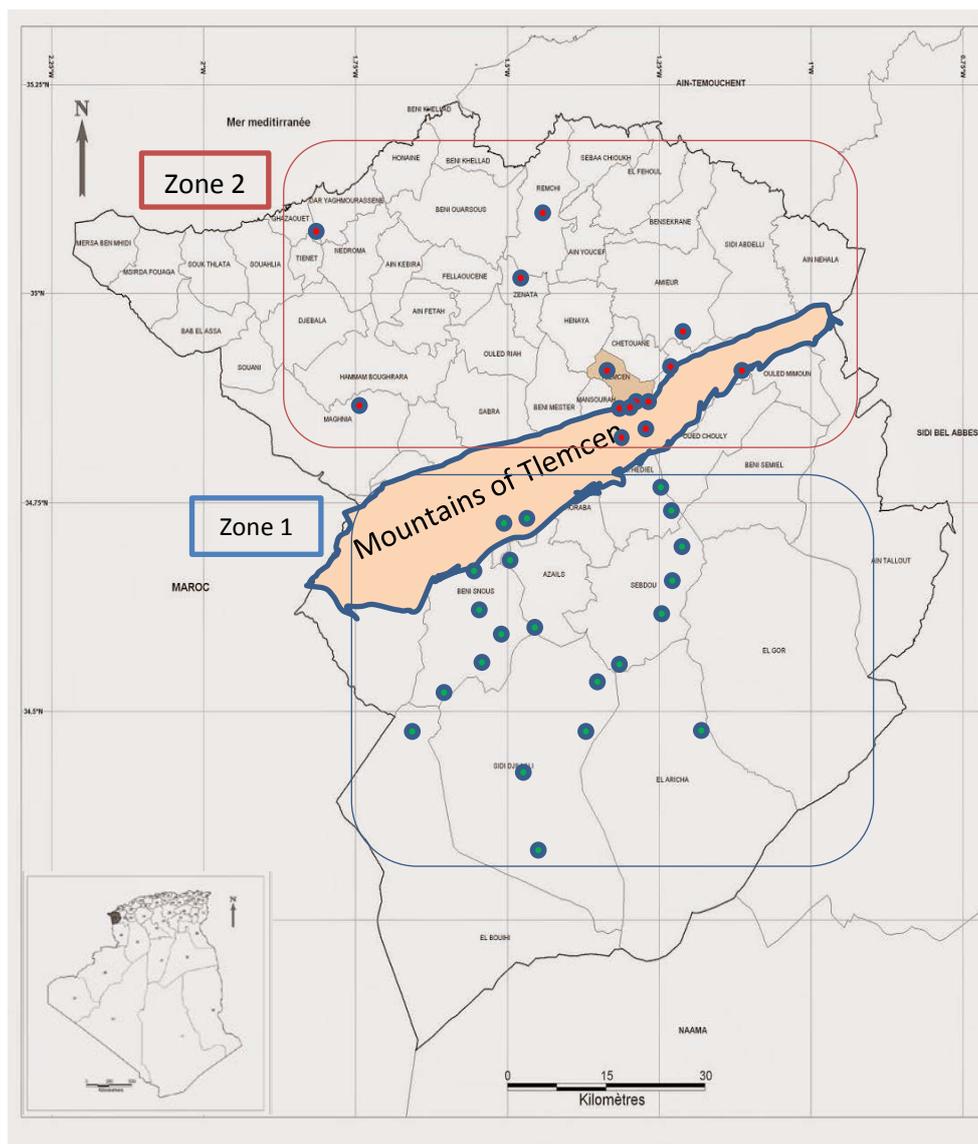


Figure 12. Répartitions géographiques et données GPS des 37 échantillons d'huiles essentielles des parties aériennes d'*E. campestris*.

Les deux axes de l'ACP permettent d'expliquer 81,13 % de la variance totale (56,84% et 24,29% respectivement). L'axe 1 corrèle positivement avec la classe des composés oxygénés (sesquiterpènes et constituants non terpéniques) et négativement avec les sesquiterpènes hydrocarbonés, tandis que l'axe 2 corrèle positivement avec les monoterpènes hydrocarbonés. (Figure 18. ACP). La distribution des échantillons sur l'ACP, donne lieu à deux groupes dont les compositions chimiques se distinguent clairement.

La Classification Ascendante Hiérarchique (CAH), confirme les résultats obtenus à partir de l'ACP : deux groupes se distinguent (figures 19. CAH). Le Groupe I inclus 21 échantillons (S17-S37) et le Groupe II inclus 16 échantillons (S1-S16). Les échantillons du

groupe I sont caractérisés par des teneurs élevées en sesquiterpènes oxygénés (6,3-33%) et en composés non terpéniques oxygénés (18,7-37,4%), contrairement aux échantillons du groupe II (1,7-13,2 %) et (6,5-28 %) respectivement, ces derniers sont dominés par les plus fortes proportions en sesquiterpènes hydrocarbonés.

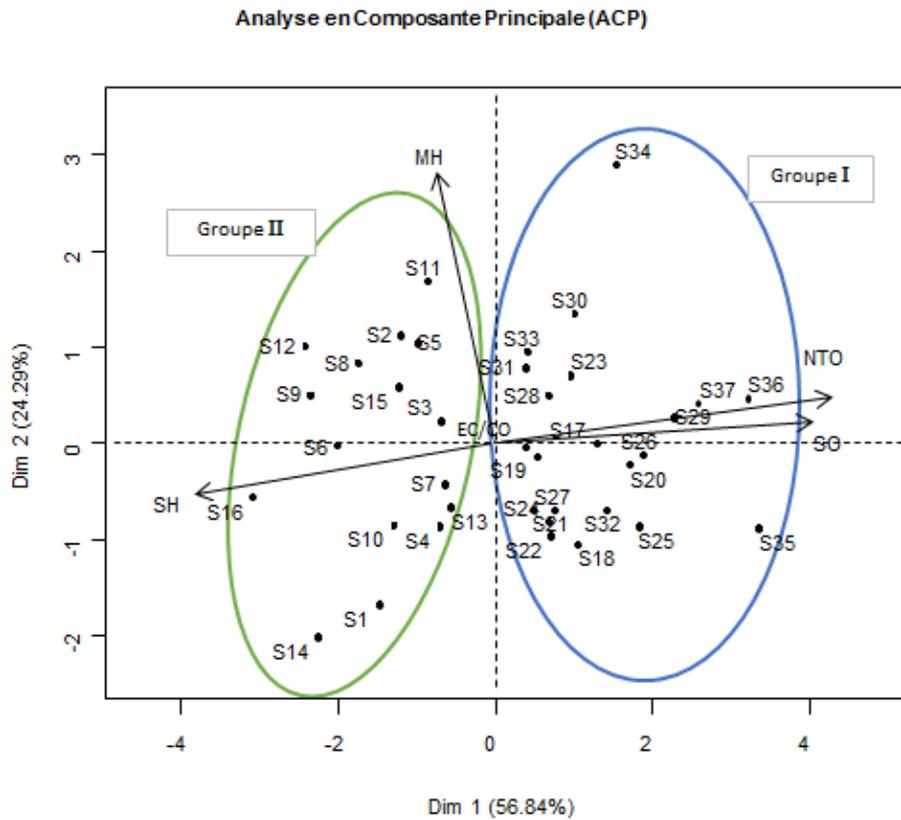


Figure 13. ACP des compositions chimiques des huiles essentielles d'*E. campestre*

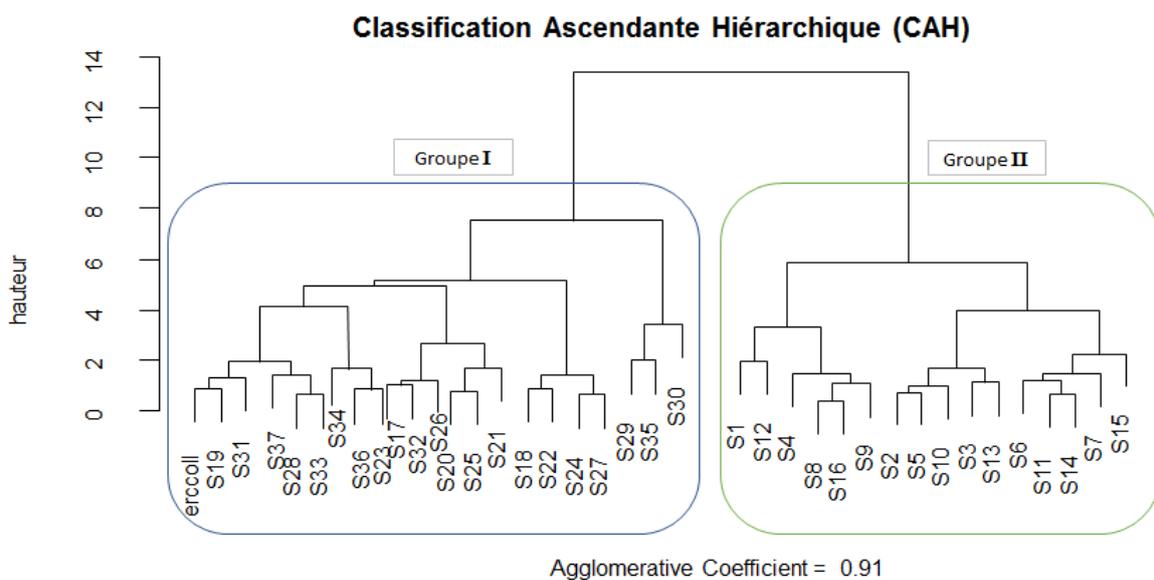
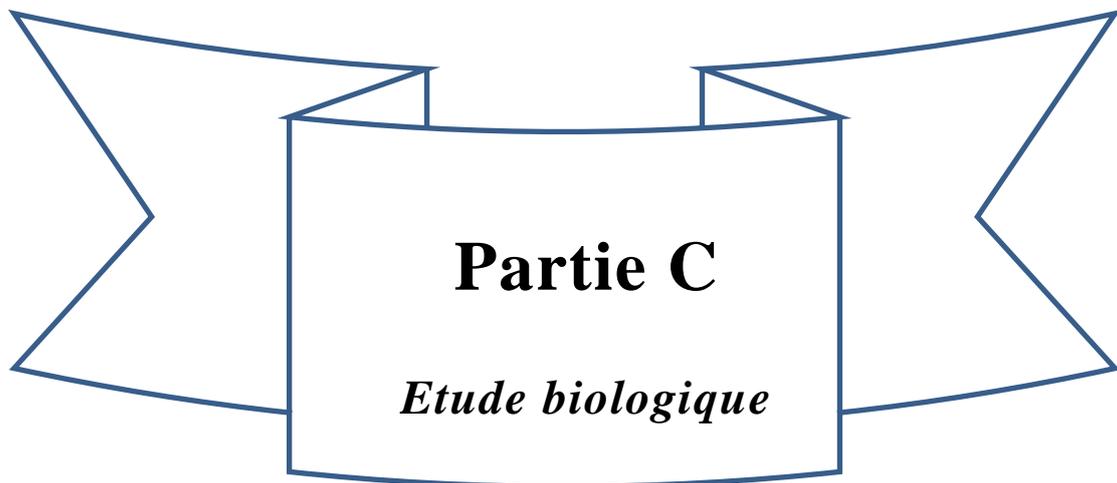


Figure 19. Dendrogramme des compositions chimiques des huiles essentielles d'*E. campestre*.

La variabilité chimique des huiles essentielles d'*E. campestre* d'Algérie semble être corrélée avec une distribution géographique des échantillons et aux conditions d'habitats. Ainsi, le Groupe I rassemble les échantillons récoltés sur la zone 1 dont le périmètre inclus le sud des monts de Tlemcen, les hautes plaines steppiques entre l'Atlas Telliens au Nord et l'Atlas Saharien au Sud. Cette zone est caractérisée par des stades bioclimatiques qui tendent du climat semi-aride frais au climat semi-humide frais. Les terres steppiques renferment des accumulations de calcaire, le taux de la matière organique est très faible et les ressources hydriques sont très limités [136]. Le groupe II rassemble les échantillons provenant de la zone 2 située entre les monts de Tlemcen au Sud et le littoral au Nord. Dans cette zone règne un climat semi-aride, doux à chaud. Les sols se sont formés au dépend d'anciennes sols marécageux, ils sont riches en matière organique. Soumise à des précipitations annuelles satisfaisantes, la zone II est très riche en ressources hydriques, des nappes phréatiques profondes et des bassins versants favorisant la production agroalimentaire [137].

Un autre élément qui peut jouer un rôle très important, est la génétique. Comme nous l'avons explicité dans le *chapitre I*, *E. campestre* a fait objet d'une étude qui a conclu à l'influence directe des paramètres environnementaux sur la génétique de l'espèce [128]. Cette étude a démontré que deux populations provenant de deux zones géographiques distinctes qui ont subi des changements environnementaux au fil du temps, possèdent des caractères génétiques différents qui vont forcément influencer la composition chimique. Cependant, il est difficile de trancher qui entre tous ces éléments, génétique, géographie ou climat a une influence directe sur la composition chimique des huiles essentielles d'*E. campestre*.



Partie C
Etude biologique

Cette partie vise l'évaluation des potentialités antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles et d'extraits végétaux préparés à partir des trois espèces *d'Eryngium*. Le travail visant la mise en évidence des activités antimicrobiennes a été réalisé dans le cadre d'une collaboration avec les collègues microbiologistes du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAAMABE) de l'Université de Tlemcen. L'évaluation des propriétés antioxydantes a été réalisée au sein de mes laboratoires de rattachement.

I. Activité antimicrobienne

Les tests d'inhibition de la croissance bactérienne ont été réalisés à partir des huiles essentielles et extraits hexaniques des trois espèces (Tableaux 8 et 9).

Les méthodes d'évaluation des activités antimicrobiennes choisies pour l'étude sont la méthode de diffusion en milieu gélosé et la méthode des concentrations minimales inhibitrices. L'activité des huiles essentielles et des extraits ont été évaluée contre un panel de micro-organismes choisis pour leur implication dans des infections nosocomiales et alimentaires, à savoir :

- sept bactéries gram positive : *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115,
- cinq bactéries gram négative : *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525, *Salmonella enteritidis* ATCC 2453, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603,
- deux levures : *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans* IP 444.

Les tableaux 8 et 9 rapportent les diamètres d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur gel et les concentrations minimales d'inhibition obtenues par dilution en milieu gélosé, de chaque matrice sur chaque micro-organisme (les valeurs en gras dans le tableau sont celles pour lesquelles l'activité peut être considérée comme significative).

Les résultats obtenus par la méthode des disques montrent que des six échantillons testés seules les huiles essentielles d'*E. triquetrum* et *E. campestre* ont montré une activité contre plusieurs souches microbiennes. Ces deux huiles essentielles ont été les plus actives contre la croissance de *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (Gram +) avec des diamètres d'inhibition comparables à ceux de l'antibiotique Gentamicine (entre 10 et 21mm). Les diamètres d'inhibition mesurés atteignent de 20 à 21 mm pour l'huile essentielle d'*E. triquetrum* et de 21 à 35mm pour celle d'*E. campestre*. L'huile essentielle d'*E. mauritanicum* et les extraits aux solvants des trois espèces n'ont pas révélées le même pouvoir antibiotique, et se sont avérées inefficaces contre la plupart des micro-organismes testés.

Tableau 8. Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits par la méthode des disques :

		Extraits						ATB	
		HE ERT	HE ERC	HE ERM	Ex/hex ERT	Ex/hex ERC	Ex/hex ERM	GENT	AmB
Levures	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	6	6	6	6	6	6	ND	22
	<i>Candida albicans</i> IP 444	6	6	6	6	6	6	ND	20
Bactéries G⁺	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	6	6	6	8	6	6	20	ND
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	21	23	6	6	6	6	19	ND
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20	35	6	6	6	6	21	ND
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862	22	21	6	6	6	6	20	ND
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	21	20	6	6	6	6	20	ND
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	20	35	6	6	6	6	10	ND
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	6	6	6	6	6	6	19	ND
Bactéries G⁻	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6	6	6	6	6	6	11	ND
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 13525	6	6	6	6	6	6	11	ND
	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 2453	6	6	6	6	6	6	20	ND
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6	6	6	6	6	6	15	ND
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	6	6	6	6	6	6	11	ND

ATB: antibiotiques ; **GENT** : Gentamicine (15 µg). **AmB** : Amphotericine B (100 µg) ; ND: non déterminé. HE : huile essentielle ; ERT : *E. triquetrum* ; ERC : *E. campestre* ; ERM : *E. mauritanicum*.

Tableau 9. Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits par la méthode des CMI :

		Extraits						ATB (µg/mL)	
		HE ERT	HE ERC	HE ERM	Ex/hex ERT	Ex/hex ERC	Ex/hex ERM	GENT	AmB
Levures	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	-	-	-	-	-	-	ND	1
	<i>Candida albicans</i> IP 444	-	-	-	-	-	-	ND	1
Bactéries G⁺	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	-	-	-	-	-	-	4	ND
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	250	250	-	-	-	-	4	ND
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	250	125	-	-	-	-	2	ND
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 33862	250	250	-	-	-	-	2	ND
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	250	250	-	-	-	-	2	ND
	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	250	125	-	-	-	-	2	ND
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	-	-	-	-	-	-	2	ND
Bactéries G⁻	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	-	4	ND
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> ATCC 13525	-	-	-	-	-	-	4	ND
	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 2453	-	-	-	-	-	-	4	ND
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	-	-	4	ND
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	-	-	-	-	-	-	4	ND

ATB: antibiotiques ; **GENT :** Gentamicine (15 µg). **AmB :** Amphotericine B (100 µg) ; ND: non déterminé. HE : huile essentielle ; ERT : *E. triquetrum* ; ERC : *E. campestre* ; ERM : *E. mauritanicum*.

Les résultats obtenus par la méthode des CMI montrent que parmi les 15 microorganismes testés, seuls deux souches gram + : *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ont été moyennement sensibles à l'huile essentielle d'*E. campestre*. Aucune activité n'a été signalée pour les autres extraits.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*E. triquetrum*, est essentiellement liée à la présence dominante du faltarinol (90,6%). La littérature indique que ce composé présent dans les huiles essentielles des racines du *Seseli rigidum*, est responsable d'une importante activité antimicrobienne contre *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Micrococcus luteus* et *Enterococcus faecalis* [137]. La présence du faltarinol dans l'extrait méthanolique de *Calycotome villosa*, renforce d'une manière très significative l'inhibition des bactéries comme *S. aureus*, *Bacillus lentus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* et *Morganella morganii* [138].

Cependant, le potentiel d'activité de l'huile essentielle d'*E. campestre* peut provenir de synergies entre composés connus par leur activité antibiotique. Ainsi, le germacrène D et le β -caryophyllène ont une activité antibactérienne et antifongique significative [139], [140]. De plus, on considère que les huiles essentielles riches en composés oxygénés et plus particulièrement les alcools sont celles qui présentent les meilleures activités [141]. Ces derniers représentent plus de 30% dans l'échantillon que nous avons testé (Germacrène D: 15.2% - Fraction des alcools: 20.3%). Par ailleurs, il est difficile d'évaluer la contribution du campestrolide deuxième composé majoritaire (10,3%), à l'activité antimicrobienne.

II. Activité antioxydante

La réalisation de ce test s'est effectuée selon le protocole décrit par Molyneux et coll [86]. L'activité antioxydante de l'HE évaluée par le test DPPH est exprimée en IC₅₀. L'IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé ou d'un échantillon, car il exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante est grande. Nous avons utilisés pour ce test l'acide ascorbique entant que control positif.

Le tableau 3 ci-dessous, rassemble les résultats des tests antioxydants réalisés sur les huiles essentielles des trois espèces. Les résultats obtenus des extraits hexaniques n'ont pas

été reportés dans ce tableau, vu que les concentrations miniums auquel nous avons observé une activité, s'approchaient de 1mg/ml.

Tableau 10. Activités anti-radicalaires des huiles essentielles étudiées sur DPPH (CI₅₀, µg/ml) :

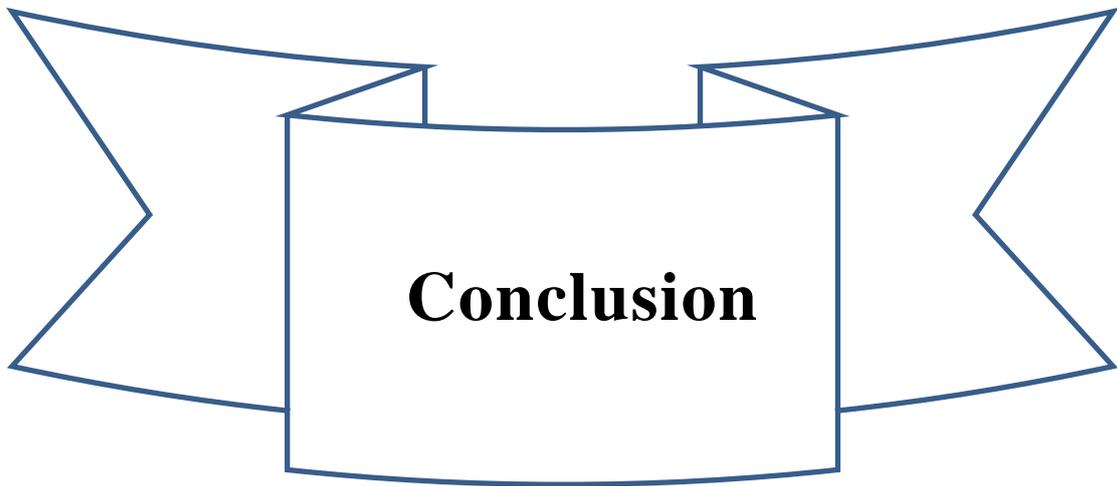
Echantillon	HE <i>E. triquetrum</i>	HE <i>E. campestre</i>	HE <i>E. mauritanicum</i>	Acide ascorbique
CI ₅₀ (µg/ml)	31,5±0.4	92±0.5	117±1.3	29,3±0.15

HE : huile essentielle

La recherche bibliographique que nous avons effectuée ne révèle aucune étude sur l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*E. triquetrum*, par contre khalfallah et al, reporte l'activité de l'extrait butanolique qui s'avère modérée [42]. Dans ce travail, nous nous somme intéressé à l'étude de la capacité antioxydante de l'huile essentielle de cette espèce par la méthode de DPPH. L'échantillon montre une très bonne activité contre le radical DPPH avec un CI₅₀ égale à 31,5 µg/mL très proche à celui du control BHT (29.3 µg/mL). Et une fois de plus, ce potentiel d'activité est directement lié à la présence du falcarinol (90.6%).

D'après ces données, on peut observer que les huiles essentielles d'*E. campestre* et d'*E. mauritanium* ont montré une faible réactivité vis-à-vis le radical libre DPPH. Ce test est utilisé pour mesurer la capacité des différents composés phytochimiques, extraits ou huiles essentielles de donner un hydrogène. La faible activité antioxydante observée pourrait être due à une capacité réduite des composés terpéniques à donner un atome d'hydrogène comme décrit précédemment par Mata et coll [143]. En effet, les deux huiles contenaient des concentrations élevées d'hydrocarbures sesquiterpéniques et de sesquiterpènes oxygénés et ceci pourrait être responsable de la faible réactivité au DPPH observée. Le pouvoir antioxydant d'*E. mauritanicum* a été évalué pour la première fois dans ce travail et semble être très faible par rapport au control positif. D'autre part, nous trouvons dans la littérature que l'huile essentielle d'*E. campestre* à une très faible activité antioxydante contre le radical DPPH même à des concentrations de 1mg/ml. Ceci a été reporté dans le travail de Cianfaglione et coll [54], qui décrit aussi une composition chimique notamment différente à celle que nous décrivons. En effet, les pourcentages des composés terpéniques (sesquiterpènes et monoterpènes) sont très proches, par contre dans leur échantillon la classe des composés non terpéniques oxygénés est totalement absente, alors que dans notre échantillon 12,3% sont des non terpéniques oxygénés dont le campestrolide fait 10,3%. Par comparaison à leur résultat, notre échantillon était seulement 3 fois moins puissant que le control, et d'après

notre raisonnement ceci peut être dû à la présence du campesterolide. D'autres études se sont intéressées aux extraits d'*E. campestre*, notamment l'extrait méthanolique [144], l'extrait aqueux [145], mais sans aucun résultat à mentionner.



L'Algérie dispose d'une concentration de biodiversité d'une valeur inestimable. Cette richesse s'exprime notamment par une variabilité taxonomique remarquable, un taux d'endémisme élevé mais aussi par une variabilité inter-spécifique des espèces. La connaissance des métabolites secondaires issus des espèces végétales ainsi que leur implication dans l'écologie de la plante constitue un challenge passionnant dont l'aboutissement envisage, *in fine*, la valorisation de la ressource végétale.

Dans le cadre de ces travaux de thèse, nous nous sommes intéressés aux possibles voies de valorisation de trois Apiacées du genre *Eryngium* : *E. triquetrum*, *E. mauritanicum*, et *E. campestre*. L'objectif principal était de réaliser la caractérisation chimique et biologique des métabolites secondaires de ces espèces (dont deux sont endémiques d'Afrique du nord) afin d'identifier des constituants moléculaires dotés de propriétés biologiques laissant envisager des applications dans les domaines de la santé, des cosmétiques ou de l'agroalimentaire. Par ailleurs, nous avons étudié la variabilité chimique des huiles essentielles d'*E. campestre*, espèce poussant à l'état spontané au nord-ouest d'Algérie, afin d'apporter aux professionnels de la filière PPAM, en cours de structuration, des éléments scientifiques préliminaires d'aide à la décision.

Le présent travail s'est articulé autour de trois parties :

Dans la première partie (A) nous avons tout d'abord présenté l'état de l'art concernant les descriptions botaniques et ethnobotaniques, chimiques et biologiques des espèces sélectionnées. En outre, nous avons collecté toutes les données chimiques sur les huiles essentielles des espèces du genre *Eryngium*. Nous avons également présenté les techniques d'analyses courantes dans le domaine d'analyse des mélanges volatils des plantes en s'attardant sur l'approche méthodologique développée par le laboratoire CPN pour l'analyse des mélanges complexes des volatils. Enfin, nous avons explicité les outils statistiques à notre disposition pour le traitement des données chimiques complexes d'interprétation, de même que les procédés mis en œuvre pour l'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles.

La partie suivante (B) inclut les résultats de l'étude chimique à savoir, l'étude des compositions chimiques, la mise en œuvre de stratégies d'identification optimisées et l'étude de variabilité chimique. Cette partie a été structurée sous forme de trois chapitres relatifs à chacune des espèces étudiées. Une analyse comparée des résultats nous permet de tirer les conclusions suivantes.

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles d'*E. triquetrum*, *E. mauritanicum* et *E. campestre* a permis d'identifier 24, 27 et 52 composés (95,6 ; 85,0 et 75,8% de la composition totale) respectivement. Les trois espèces ont des profils chromatographiques très différents, en revanche la présence du falcarinol constitue un dénominateur commun. Ce polyacétylène représente 71,2% et 18,8% dans les huiles essentielles d'*E. triquetrum*, *E. mauritanicum*, respectivement, et il a été détecté à l'état de trace dans l'huile essentielle de *E. campestre*. Les compositions chimiques des extraits préparés à l'héxane sont différentes des huiles essentielles, en revanche, elles ne font pas exception puisqu'elles montrent la présence du falcarinol.

L'huile essentielle des parties aériennes d'*E. triquetrum* est largement dominée par le falcarinol, ce composé linéaire oxygéné de type polyacétylène représente plus de 90% du mélange complexe et 95% dans l'huile essentielle des racines. L'huile essentielle d'*E. mauritanicum* se caractérise par sa composition riche en composés oxygénés, représenté principalement par le β -bisabolénal (37,4%), aldéhyde sesquiterpénique décrit pour la première fois en tant que composé majoritaire d'huile essentielle du genre *Eryngium*. L'huile essentielle d'*E. campestre* est largement dominée par les sesquiterpènes (60,5%), en particulier le germacrène D (15,2%) qui est accompagné par un macrolide polyacétylénique dénommé campestrolide (10,3%), que nous décrivons, à notre connaissance, pour la première fois à l'état naturel. Les organes de cette plante produisent des huiles essentielles qualitativement similaires qui diffèrent par les proportions des constituants majoritaires. Bien qu'elles sont toutes dominées par la classe des sesquiterpènes hydrocarbonées (>67%), la proportion de campestrolide varie de 4.5 à 16.3% selon l'organe considéré.

L'étude réalisée sur l'évolution de la composition chimique des huiles essentielles d'*E. triquetrum* et *E. campestre* au cours du cycle végétatif a révélé un comportement métabolique similaire entre les deux espèces. La production de polyacétylènes se réalise favorablement pendant le premier stade de maturité, puis, les proportions de ces derniers diminuent au profit d'autres composés, vraisemblablement afin de répondre aux besoins physiologique de la plante. En outre l'étude de la variabilité interspécifique a permis d'apporter des éléments d'explication de la variation des compositions chimiques des huiles essentielles des deux espèces. Ainsi, la composition chimique des huiles essentielles d'*E. triquetrum* sont principalement influencées par le stade de maturité de la plante. En revanche, nos résultats montrent que la variabilité chimique des huiles essentielles d'*E. campestre* peut être reliée aux conditions d'habitat de l'espèce.

Ainsi, trois conclusions principales sont à retenir :

- le potentiel d'*E. triquetrum* à produire des huiles essentielles riches en falcarinol, nous laissant penser que la plante peut être considérée comme une possible source de ce polyacétylène,
- la première description de la composition chimique de l'huile essentielle d'*E. mauritanicum*, une espèce endémique algéro-marocaine,
- l'originalité de l'huile essentielle d'*E. campestre* du nord-ouest d'Algérie caractérisée par la présence de campestrolide, un macrocycle polyacétylénique.

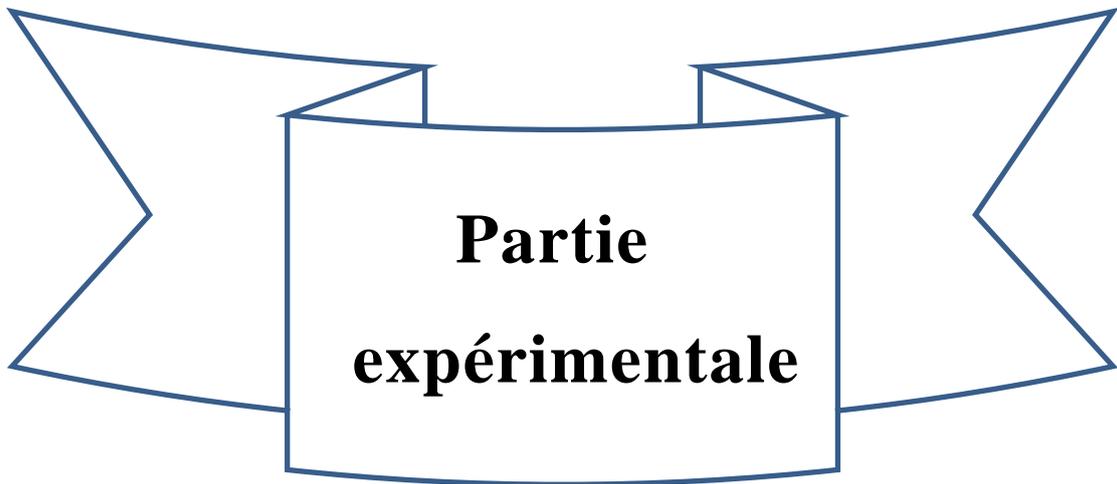
La partie C s'intéresse aux résultats relatifs au screening biologique des huiles essentielles et des extraits végétaux. Nous avons ainsi évalué le pouvoir antibactérien des extraits contre un panel de micro-organismes impliqués dans des infections nosocomiales et alimentaires, à savoir sept souches gram+, cinq souches gram- et deux levures. Nos résultats ont montré que seules les huiles essentielles d'*E. triquetrum* et *E. campestre* présentent des résultats intéressants contre les souches gram +. En particulier, les activités mesurées égalent et sont même parfois supérieures aux contrôles positifs, contre *B. cereus*, *S. aureus* et *E. faecalis*. Le test antioxydant a été réalisé par la méthode de DPPH sur les trois huiles essentielles. Seule l'huile essentielle d'*E. triquetrum* a montré une très bonne activité antiradicalaire comme en témoigne le test DPPH. Ces propriétés biologiques ont été reliées à la richesse en falcarinol des mélanges testés.

Nos travaux sur *E. triquetrum* ont fait l'objet d'une publication parue en 2017 dans *Chemistry & Biodiversity Journal*. Deux articles sont actuellement en phase de finalisation (i) le premier traite de l'élucidation structurale et la description du nouveau macrocycle d'*E. campestre*, et (ii) le second s'intéresse à la caractérisation chimique et l'étude de la variabilité des huiles essentielles d'*E. campestre*.

La complémentarité des travaux phytochimique réalisés dans cette thèse ouvre la voie à plusieurs perspectives :

- Etudier les potentialités d'une production industrielle des huiles essentielles d'*E. triquetrum*, destinée principalement à l'obtention du falcarinol. Il serait intéressant d'envisager la mise en culture de l'espèce afin de limiter les difficultés liées au sourcing

- Rechercher de nouvelles cibles biologiques au nouveau produit naturel dénomé campestrolide que nous avons identifié dans *E campestre*. Sa structure voisine des macrolides de type antibiotique nécessite une étude approfondie de son potentiel biologique. L'optimisation par synthèse chimique de ce dernier et la production d'analogues pourrait s'avérer intéressantes.
- Caractériser les métabolites non volatils des trois espèces par le développement de stratégies LC/MS-MS non ciblées ou par un profilage métabolomique. La purification de ces constituants permettrait de mettre en évidence de nouveaux principes actifs.



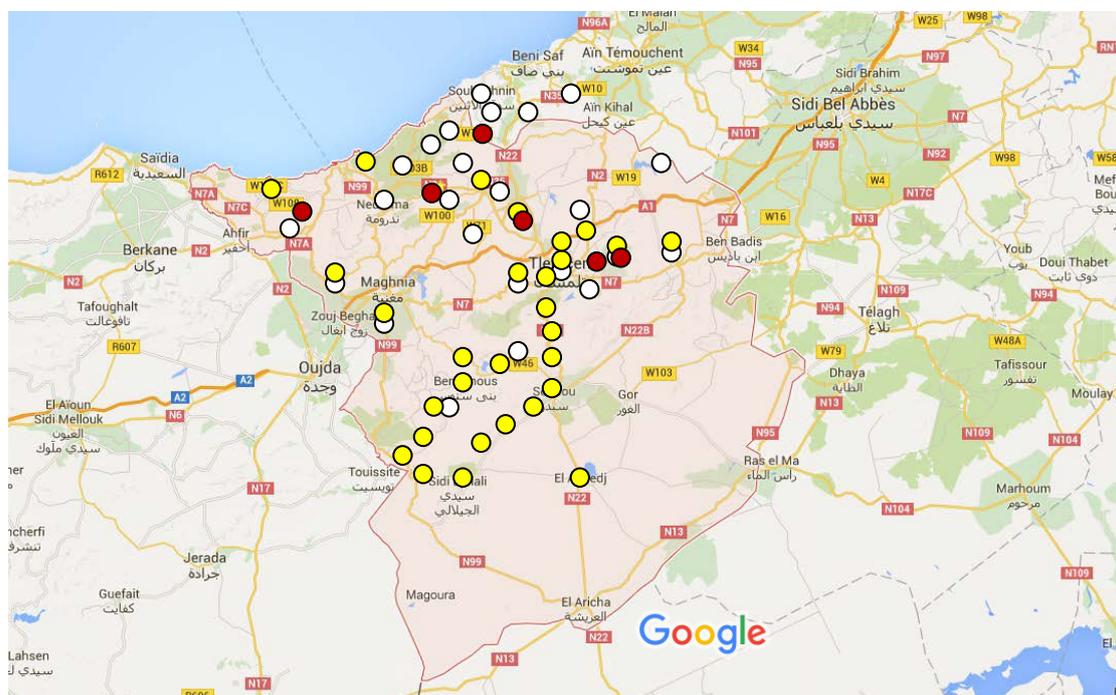
**Partie
expérimentale**

I. Echantillonnage

Les parties aériennes des trois espèces sélectionnées ont été récoltées sur deux campagnes d'échantillonnages, la première s'est effectuée en été 2015 et a permis de confirmer le choix de ces espèces et d'apporter suffisamment d'informations concernant les constituants chimiques et la variation chimique selon les zones de cueillettes. La deuxième campagne d'échantillonnage (été 2016), était plus objectif. Le but était de rassembler le maximum d'échantillons des parties aériennes, des organes séparés et surtout en quantités suffisantes pour réaliser toutes les analyses et les tâches selon la feuille de route du projet qu'on a établi. Le tableau suivant explicite le bilan de l'échantillonnage :

	<i>E. triquetrum</i>	<i>E. campestre</i>	<i>E. mauritanicum</i>
N^{bre} d'échantillons en 2016	25	37	8
Suivie végétatif	4	4	0
Organes séparés	T/F/I/R	T/F/Fl/R	0

T : tiges ; *Fl* : fleurs ; *F* : feuilles ; *R* : racines



○ *E. triquetrum*. ● *E. campestre* ● *E. mauritanicum*

Schéma représentatif de la distribution des échantillons sur la zone d'étude.

II. Préparation d'échantillons

II.1. Extraction des huiles essentielles :

Le matériel végétal destiné à la production des huiles essentielles a été soumis à une hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger, pendant une durée de 5 h dans le respect du procédé validé par la pharmacopée européenne. Les huiles essentielles sont conservées dans des flacons de verre ambré à une température de 4°C. Les rendements d'extraction sont calculés par rapport à la masse du végétal frais.

II.2. Extraction à l'hexane :

Les échantillons des parties aériennes ont été séchés et broyés, par la suite, soumis à un épuisement continu à l'hexane dans un appareil Soxhlet. Les macéras ont été filtrés par un papier filtre et évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les rendements des extraits pour 100g de poudre d'*E. triquetrum*, *E. campestre*, *E. mauritanicum* sont 1,38%, 1,05% et 1,11% respectivement.

III. Fractionnement des huiles essentielles et des extraits

Le fractionnement des trois huiles essentielles à l'exception de l'huile essentielle d'*E. mauritanicum*, et d'un extrait hexanique a été effectué sur colonne de silice de phase précomptée (Clarisep® Bonna Agela technologies, Willington, USA) à l'aide d'un Combi Flash automatisé (Teledyne Isco, Inc. Lincoln, Nevada, Etats Unis), équipé d'un collecteur de fraction guidé par un détecteur ultraviolet (230 nm, 250 nm). Les différentes fractions et sous-fractions ont été obtenues en appliquant un gradient d'élution diisopropyl d'éther iPr_2O /hexane de polarité croissante. Vu la faible quantité de l'huile essentielle d'*E. mauritanicum*, elle a été fractionnée sur colonne ouverte. Le détail des fractionnements ci-dessous :

- a. L'huile essentielle d'*E. campestre* (5900 mg) a été fractionnée sur une colonne 40g à l'aide d'un gradient de solvant croissant : 100 % hexane puis 100 % diisopropyl éther afin d'obtenir une fraction apolaire FH (900 mg) et une fraction polaire FO (3590 mg), respectivement. La FO a été de nouveau fractionnée sur une colonne 12g et a conduit à 87 sous fractions FO1-87 à l'aide d'un gradient de solvant de polarité croissante de proportions : 1 ml/99 ml (5 mn) ; 2 ml/98 ml (6 mn) ; 3,5 ml/96.5 ml (6 mn) ; 5 ml/95 ml (6 mn) ; 7,5ml/92.5ml (5mn) ; 10 ml/90 ml (6 mn) ; 100 ml/0 ml (6 mn). Le campestrolide a été détecté dans les fractions de FO6 à FO12.

- b. L'extrait héxanique d'*E. campestre* (350 mg) a été fractionnée sur une colonne de 4g à l'aide du gradient de polarité dont le rapport Et₂O/hexane (temps) était de : 0 ml/100 ml (5 mn) ; 2 ml/98 ml (6 mn) ; 3,5 ml/96.5 ml (6 mn) ; 5 ml/95 ml (6 mn) ; 10 ml/90 ml (6 mn) ; 100 ml/0 ml (6 mn). Ainsi 75 fractions ont été récupérées. Ce fractionnement a permis d'isoler le faltarindiol dans la fraction F34 (8mg, pureté : 96%) avec un gradient de 10ml/90ml. Le campestrolide a été isolé dans deux fractions F21 (13mg, pureté 96%) et F23 (22mg, pureté : 94%).
- c. L'huile essentielle d'*E. triquterum* (920mg) a été fractionnée sur une colonne de 4g en appliquant le même gradient de polarité pour l'extrait héxanique d'*E. campestre*. Le fractionnement a abouti à 76 fractions. Une fraction qui contenait du faltarinol pure notée (ert.fra.faltarinol) a été reconstituée à partir de plusieurs fractions.
- d. Une masse de 580 mg de l'huile essentielle d'*E. mauritanicum* a été fractionnée sur colonne ouverte avec une phase stationnaire de gel de silice (Silice 63-200 µm, masse = 20g). L'éluant été constitué de diisopropyl d'éther iPr₂O/hexane et le gradient été adapté selon l'avancement du fractionnement. Le β-bisabolène a pu être concentré à 81% dans la fraction 4 (5 mg).

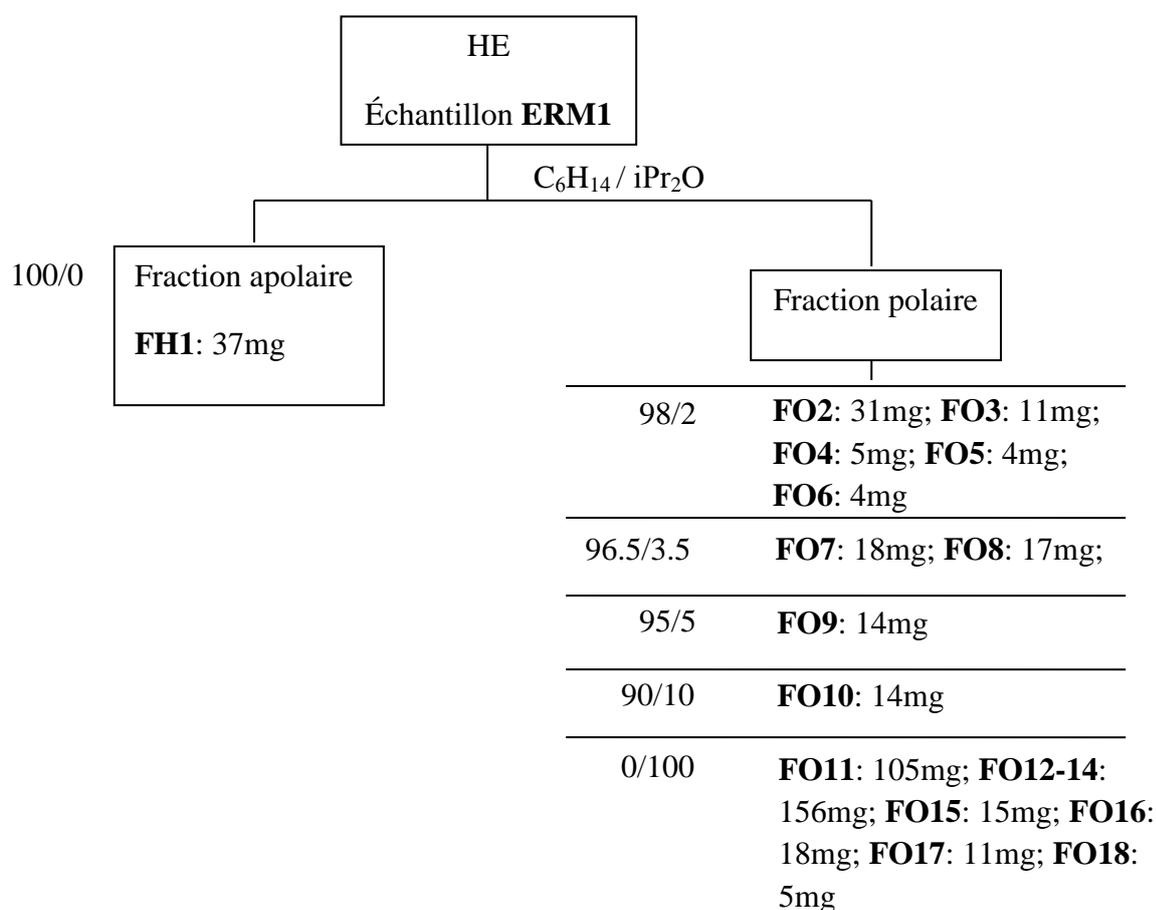


Schéma de fractionnement de l'huile essentielle d'*E. mauritanicum* sur colonne ouverte

IV. Analyse des huiles essentielles et des extraits

IV.1. Conditions GC-FID :

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Clarus 600 (Walton, MA, Etats Unis), équipé d'un injecteur split/splitless, de deux colonnes capillaires Rtx-1 (polydiméthyl-siloxane, 60 m x 0,22 mm d.i., épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25 μm) et Rtx-WAX (polyéthylène glycol, 60 m x 0,22 mm d.i., épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25 μm) et de deux détecteurs à ionisation de flamme. Le gaz vecteur utilisé est le dihydrogène, la pression en tête de colonne est de 25 psi avec un débit de 1 ml/mn, la température de l'injecteur et des détecteurs est de 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C à 2°C/mn puis en un palier de 35 mn à 230°C. L'injection se fait en mode split 1/50. Le volume injecté des échantillons (huiles essentielles et fractions) est de 0,2 μl . Pour chacun des composés, les indices de rétention polaire et apolaire sont calculés par extrapolation linéaire à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane. L'identification de chaque composé des mélanges a été réalisée par comparaison des indices de rétention calculés respectivement sur colonnes polaire et apolaire avec ceux de composés standards (bibliothèque laboratoire) ou ceux rapportés dans la littérature. Les teneurs des composés dans le mélange ont été exprimés en pourcentages relatifs (aire du constituant / aire totale du mélange) sur la base du signal FID.

IV.2. Conditions CPG-SM

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL (Walton, MA, Etats Unis), doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. ; épaisseur du film de phase stationnaire : 0,25 μm) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplées à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass. Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70eV. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80. La quantité injectée est de 0,2 μL . Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 35-350 Da. La température de la source est de 150°C. Les conditions chromatographiques (programmation de température, gaz vecteur, etc.) sont identiques à celles décrites précédemment (point II.3). L'identification de chaque composé des mélanges a été réalisée par comparaison des spectres

de masse (impact électronique) avec ceux de composés standards (bibliothèque laboratoire) ou ceux présents dans les banques informatisées.

IV.3. Conditions CPG-SMHR

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectroscopie de masse à haute résolution ont été réalisées à l'aide d'un Synapt G2 HDMS quadrupole/time-of-flight (Manchester, UK) équipé d'une source électronebulisation fonctionnant en mode positif. Les échantillons ont été introduits à un débit de 10 $\mu\text{L}/\text{mn}$ (tension capillaire +2,8 kV, tension de cône d'échantillonnage: variée entre +20 V et +60 V) sous un gaz vecteur (N_2) à un débit de 100 L/h, chauffé à 35°C. La détection de la masse précise a été réalisée à l'aide des ions provenant de l'étalon interne CH_3COONa . Les échantillons ont été dilués dans du méthanol (Sigma-Aldrich, St-Louis, MO, USA) et dopés avec l'acide formique (1%/v/v) avant l'analyse. L'interprétation des données ont été effectuées à l'aide du programme MassLynx 4.1 fournis par Waters.

IV.4. Conditions RMN

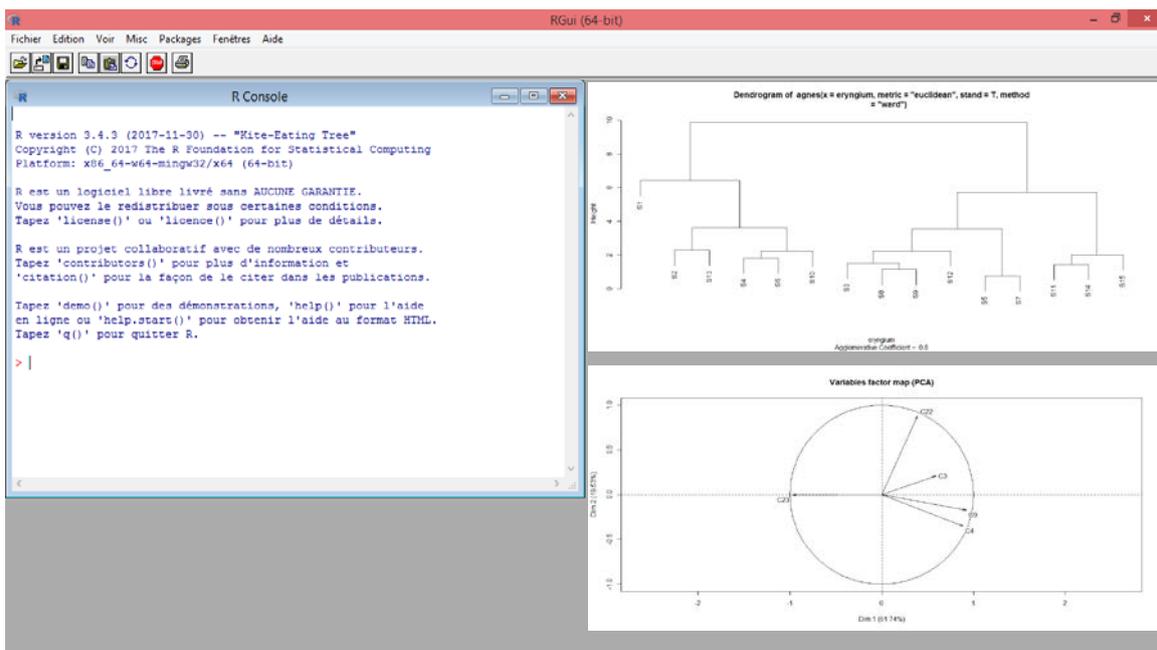
Les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire ont été enregistrés sur la fraction (fra.ert.falcarinol), (fra4), (fra21 et fra34) obtenues des huiles essentielles d'*E. traiquetrum*, *E. mauritanicum* et de l'extrait hexanique d'*E. campestre* respectivement. Les spectres des différents échantillons ont été enregistrés dans le CDCl_3 (EuroIsotop, Saint Aubin, France) à température 300K à l'aide d'un appareil Bruker Avance DRX 500 (Karlsruhe, Germany) opérant à 500.13MHz pour le proton et 125.77 MHz pour le carbone 13. Les spectres du carbone-13 ont été enregistrés avec les paramètres suivant: sonde 5 mm; séquence d'impulsion: une impulsion, angle d'impulsion 90° avec découplage du ^1H pendant l'acquisition du signal (réalisée avec WALTZ-16); le délai de relaxation: 2s correspondant à une acquisition de 64K (Décroissance de l'Induction Libre (DIL) de 3k jusqu'à 5k selon la concentration des constituants dans l'échantillon) avec une largeur spectrale (SW) de 30000 Hz (240 ppm); Les déplacements chimiques (δ en ppm) ont été rapportés par rapport au signal résiduel de CDCl_3 (δ_{C} 77.04 ppm). L'attribution complète des spectres ^1H et ^{13}C du nouveau composé ont été obtenues en utilisant les spectres RMN à deux dimensions, ^1H - ^{13}C HMBC (cohérence de liaison multiple hétéronucléaire) pour laquelle des paramètres d'acquisition classiques ont été utilisés, comme décrit dans la littérature. Certains déplacements chimiques ont été résolus dans l'acétone- d_6 .

IV.5. Analyses infra-rouge

Les spectres infra-rouge ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre infra-rouge à transformé de Fourier (IR-TF) Perkin elmer Spectrum two (Walton, MA, Etats Unis). L'obtention des différents spectres infra-rouges s'est faite à partir de 5 μ l d'échantillons et traité informatiquement à l'aide du logiciel SpectrumTM10 fourni avec l'appareil.

V. Outils statistique

Les études statistiques ont été menées avec le logiciel R (R Foundation – Institute for Statistics and Mathematics, Autriche). Les Analyses en Composante Principale (ACP) ont été réalisées avec des matrices de type Pearson en utilisant la fonction « PCA ». Les Classifications Ascendante Hiérarchique (CAH) et les dendrogrammes résultants ont été effectuées avec des matrices de dissimilarités calculées en distance euclidienne et la méthode d'agrégation choisie systématiquement est le lien moyen (package « classif »).

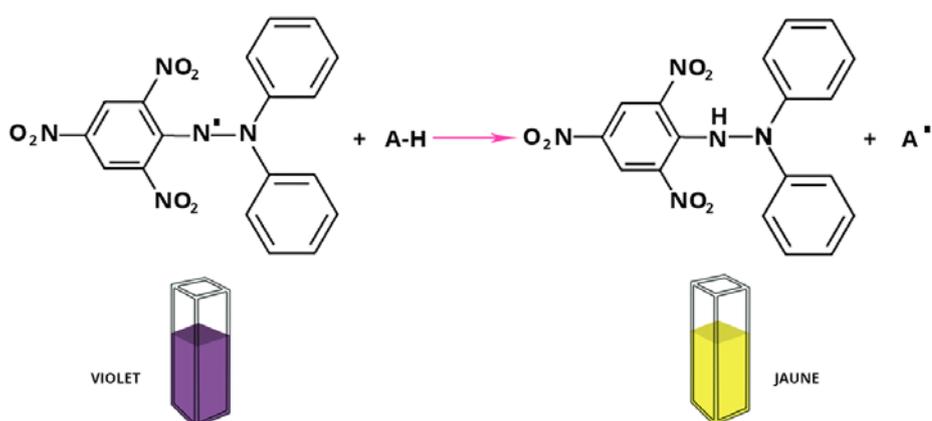


VI. Tests biologiques

VI.1. Activité antioxydante

Test d'activité anti-radicalaire du radical libre DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Ce test a été réalisé selon le protocole décrit par Molyneux et coll. La capacité anti-radicalaire d'un mélange complexe est évaluée par spectrophotométrie en mesurant la diminution de l'absorbance à 515 nm du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH•) dont la décoloration provient de la réduction du radical DPPH• par l'échantillon à $\lambda = 517$ nm. Les huiles essentielles testées ont été diluées dans du méthanol à des concentrations respectives de 0,5 à 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Une solution de DPPH• fraîchement préparée à une concentration de 9.8 μM (3,9 mg dans 100 mL d'éthanol 96%) a été ajoutée aux différents échantillons d'huiles essentielles testés dans des microcuvettes en quartz (OS) (rapport 1/1). Après une incubation de 30 min à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance du DPPH• pour le blanc et les solutions préparées a été mesurée minutes à l'aide d'un spectrophotomètre (U.V/VIS Spectrophotometer, Optizen POP) à 515 nm. Chaque concentration a été préparée et testé trois fois.



1.1.1. Calcul des valeurs de CI_{50} (concentration inhibitrice médiane)

Au terme de chaque test anti-radicalaire (DPPH•, ABTS•+) les différents pourcentages d'inhibition ont été calculés suivant la formule suivante :

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

%I : pourcentage d'inhibition

Abs Blanc : Absorbance du blanc

Abs HE : Absorbance de l'huile essentielle ou des fractions testées

La méthode a été standardisée en ramenant les résultats à un antioxydant de référence ; l'acide ascorbique.

Les valeurs de pourcentage d'inhibition obtenues ont été reportées graphiquement en fonction de la concentration et soumis à une régression linéaire. La valeur CI50 qui représente la concentration d'huile essentielle nécessaire pour inhiber 50% des radicaux a aussi été calculée en prenant la valeur en Y égale à 50.

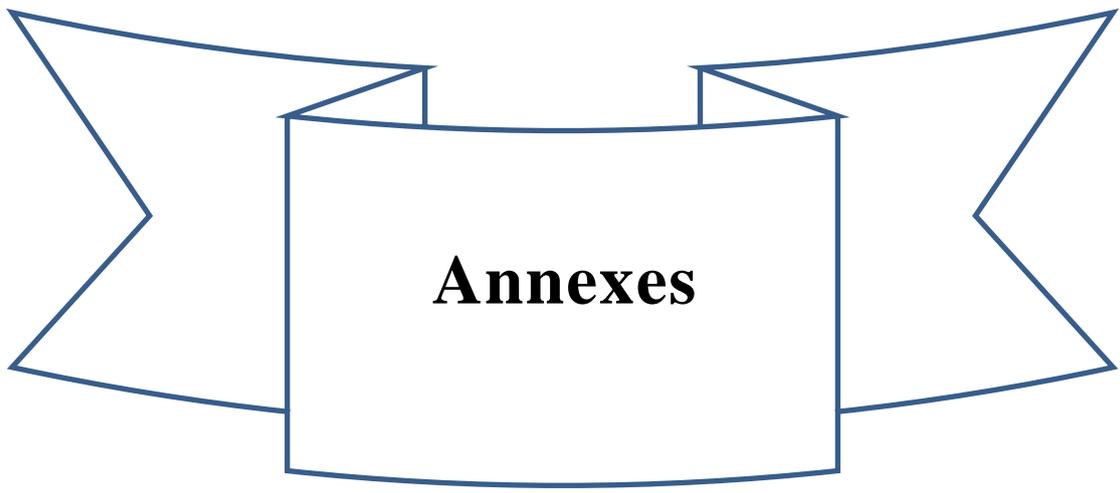
VI.2. Activité antimicrobienne

Les huiles essentielles et les extraits héxaniques ont été testées sur sept bactéries gram positive, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 33862, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, et cinq bactéries gram négative: *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525, *Salmonella enteritidis* ATCC 2453, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603, et deux levures ; *Candida albicans* ATCC 10231 et *Candida albicans* IP 444. Toutes les bactéries proviennent de cathéters et sondes vésiculaires du service chirurgie du CHU de Tlemcen. L'identification des bactéries a été effectuée avec des bandes test APU 20 (Biomerieux). Le champignon provient de l'institut Pasteur d'Algérie (IPA). Toutes les souches ont été cultivées sur gélose Mueller-Hinton (MHA) pour les bactéries et Saboureaud Dextrose Agar (SDA) au moyen du chloramphénicol pour la levure.

Les souches de référence ont été repiquées dans du bouillon nutritif puis sur gélose nutritive. L'inoculum a été préparé et calibrer à partir d'une culture jeune de 24 h dans du bouillon Muller-Hinton à 108 UFC/ml et 5. 105 UFC/ml respectivement.

- a. Méthode par disque (ou diffusion sur gélose) : La méthode de diffusion sur gélose a été mis en œuvre selon le protocole décrit par (Khadir, Bendahou et al. et selon les recommandations de CLSI (CLSI. 2011) à partir des solutions mères. Pour les huiles essentielles, Sur un disque de papier filtre Whatman stérile de 6 mm on a déposé un volume de 5µL pour les huiles essentielles, et un volume de 10 µL des solutions des extrais à une concentration de (80 mg/mL). Les disques ainsi imprégnés sont déposés sur des boîtes de pétri contenant de la gélose Muller-Hinton ensemencer par les différents souches à tester Des disques témoins et des disques d'antibiotiques (Gentamicin 15µg Amphotericin B 100µg) ont également été disposés sur l'agar à titre de comparaison. Après incubation à 37°C ± 1°C pendant 18 à 24 h pour les bactéries et à 30°±1°C pendant 24 à 48 heures pour la levure, les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés avec un compas.

- b. Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI : La CMI a été déterminée par la méthode de microdillution sur microplaque à 96 puits à fond rond selon le protocole de Benbelaïd, Khadir et al.; dix concentrations ont été préparé à partir des solutions mères de 80 mg/ml à 0,312 mg/ml. Dans la microplaque 180 μ l de l'inoculum et de bouillon et 20 μ l de chaque concentrations ont été déposé à l'intérieur de chaque puits engendrant des concentrations finales allant de 8 mg/ml jusqu'à 0,0312 mg/ml.



Annexe I. Composés majoritaires identifiés dans les huiles essentielles des espèces du genre *Eryngium*. (Partie A)

N°	Nom de la plante	Origine	Organe de la plante	Composés majoritaires	%	Ref.
<i>Les constituants terpéniques hydrocarbonés</i>						
1	<i>E. amethystinum</i> L.	Italie	Parties aériennes	Germacrène D	56,7	[54]
				β-Elémène	4,7	
2	<i>E. billardieri</i> F. Delaroche	Iran	Parties aériennes	α-Muuroolène	42	[58]
				β-Gurjunène	17	
				δ-Cadinène	6,2	
				Valencène	5,7	
3	<i>E. bourgatii</i> Gouan	Espagne	Inflorescence	Phyllocladène	37,6	[64]
				Bicyclogermacrène	15,1	
4	<i>E. bourgatii</i> Gouan	Espagne	Tiges et feuilles	Phyllocladène	20,4	[64]
				γ-Muuroolène	11,8	
				(E)-Caryophyllène	10,1	
5	<i>E. bourgatii</i> Gouan	Espagne	Racines	γ-Muuroolène	15,4	[64]
				Phyllocladène	15	
				Terpinolène	14,6	
				Carvacrol	8,9	
				Limonène	7,5	
6	<i>E. caeruleum</i> M.B.	Iran	Parties aériennes	Limonène	60,5	[62]
				δ-3-Carène	13	
7	<i>E. caeruleum</i> M.B.	Iran	Parties aériennes	Limonène	56,7	[61]
				β-sesquiphellandrène	8,9	

				α -Pinène	6,5	
				δ -3-Carène	5,9	
8	<i>E. campestre</i> L.	Espagne	Inflorescence	Germacrène D	30,3-40,3	[129]
				β -Curcumène	0,7-22,2	
				Myrcène	3-21,7	
9	<i>E. campestre</i> L.	Espagne	Tiges et feuilles	(E)- β -Farnésène	0,1-19	[129]
				Germacrène D	31,1-42,4	
				Myrcène	0,5-23,2	
10	<i>E. campestre</i> L.	Italie	Parties aériennes	Germacrène D	13,8	[54]
				Allo-aromadendrène	7,7	
				Spathulénol	7	
				Lédol	5,7	
11	<i>E. campestre</i> L.	Italie	Inflorescences	Germacrène D	49,5	[55]
				Apiol	19,5	
				α -Himachalène	15,1	
12	<i>E. caucasicum</i> Trautv	Iran	Feuilles	β -Sesquiphellandrène	44,3	[59]
				Limonène	20,1	
				Trans- β -Farnésène	14,1	
13	<i>E. expansum</i> F. Muell.	Australie	Parties aériennes	7-épi-Sélinène	38,3	[72]
				Cis- β -Guaiène	10,8	
				2,3,6-Triméthylbenzaldéhyde	8	
14	<i>E. glaciale</i> Boiss.	Espagne	Inflorescence	isomère du Phyllocladène	43,5	[65]
				(E)-Caryophyllène	15,2	
				Valencène	11,5	
15	<i>E. glaciale</i> Boiss.	Espagne	Tiges et feuilles	isomère du Phyllocladène	41,3	[65]
16	<i>E. pandanifolium</i> Cham. et	Espagne	Parties aériennes	α -Pinène	20,8	[135]

	<i>Schlecht</i>	(M.Master)			β -Elémène	10,6	
					Limonène	5,8	
					Myrcène	4,6	
					Germacrène A	4,7	
17	<i>E. pandanifolium Cham. et Schlecht</i>	Brésil	Parties aériennes		β -Elémène	4	[71]
					(E)-Caryophyllène	5,2	
					Germacrène D	28,9	
					Bicyclogermacrène	12,8	
					Germacrène B	4,4	
					Spathulénol	6,4	
					Oxyde de Caryophyllène	4,3	
					α -Cadinol	11,1	
18	<i>E. planum L.</i>	Pologne	Feuilles		Limonène	14,7	[51]
					β -Pinène	9,8	
19	<i>E. planum L.</i>	Australie	Fruits		γ -Terpinène	4,5	[72]
					α -Muuroolène	3,9	
20	<i>E. rosulatum P. W. Michael ined.</i>	Australie	Parties aériennes		β -Elémène	16	[146]
					Bicyclogermacrène	12,5	
					δ -Elémène	7	
21	<i>E. thorifolium Boiss.</i>	Turquie	Fleurs		α -Pinène	58,6	[63]
22	<i>E. vesiculaosum Labill.</i>	Australie	Feuilles (hiver)		β -Caryophyllène	20,3	[147]
					Germacrène D	19,2	
					α -Humulène	8,8	
23	<i>E. vesiculaosum Labill</i>	Australie	Feuilles (été)		Bicyclogermacrène	22,2	[147]
					β -Caryophyllène	15,6	
					Germacrène D	15,8	

				α -Humulène	8,1	
24	<i>E. yuccifolium Michaux.</i>	Égypte	Feuilles	Germacrène D	18,3	[48]
				Terpinolène	17,8	
				Bicyclogermacrène	8,8	
				α -Pinène	7,6	
				β -Caryophyllène	6,2	
				Falcarinol	9,6	
25	<i>E. yuccifolium Michaux.</i>	Égypte	Tiges	Germacrène D	38,4	[48]
				γ -Amorphène	12,2	
				Bicyclogermacrène	10,1	
				Bicyclosquiphellandrène	3,4	
26	<i>E. yuccifolium Michaux.</i>	USA	Parties aériennes	Germacerène B	40	[148]
27	<i>E. serbicum</i>	Serbie	Parties aériennes	Germacrène D	19,7	[69]
				β -Elémène	10	
				Spathulénol	6,9	
28	<i>E. paludosum</i>	Australie	Parties aériennes	γ -Terpinène	12,9	[149]
				β -Bisabolène	12,2	
				Germacrène D	7,6	
				Myrcène	7,3	
				β -Caryophyllène	7	
				Limonène	6	
				α -Humulène	5,1	
29	<i>E. aquifolium</i>	Espagne	Inflorescences	Germacrène D	30,3	[60]
				Sesquicinéole	26,7	
30	<i>E. aquifolium</i>	Espagne	Tiges et feuilles	Germacrène D	46	[60]
				Myrcène	13,8	

31	<i>E. aquifolium</i>	Espagne	Racines	Isomère du Phyllocladène	63,6	[60]
32	<i>E. vesiculosum</i>	Australie	Feuilles (hiver)	β -Caryophyllène	20,3	[147]
				Germacrène D	19,2	
				α -Humulène	8,8	
33	<i>E. vesiculosum</i>	Australie	Feuilles (été)	Bicyclogermacrène	22,2	[147]
				β -Caryophyllène	15,6	
				Germacrène D	15,8	
				α -Humulène	8,1	
34	<i>E. dilatatum</i>	Espagne (M.Master)	Parties aériennes	Germacrène D	10,3	[135]
				Bicyclogermacrène	8,1	
				Spathulénol	5,9	
				α -cadinol	5,7	
				Acétate de Z- α -chrysanthényle	11,1	
				α -Pinène	9,2	
35	<i>E. eriophorum</i>	Brésil	Parties aériennes	β -Elémène	5,4	[71]
				(E)-Caryophyllène	7,1	
				Germacrène D	35,1	
				Bicyclogermacrène	10,4	
				Spathulénol	6,2	
				α -Cadinol	4,9	
36	<i>E. nudicaule</i>	Brésil	Parties aériennes	(E)-Caryophyllène	10,8	[71]
				α -Humulène	4,7	
				10-épi- β -Acoradiène	5,6	
				Germacrène D	5,4	
				Bicyclogermacrène	17,2	
				Trans- β -Guaiène	5	

				β -Bisabolène	7,5	
				Longipinanol	4,6	
37	<i>E. duriaei</i> subsp. <i>juresianum</i> (M. Laínz) M. Laínz	Espagne (mémoire master)	Parties aériennes	α -néocallitropsène	31,9	[135]
				E- β -Caryophyllène	20,2	
				Isocaryophyllèn-14-al	8	
				14-hydroxy- β -caryophyllène	6,9	
				Oxyde de Caryophyllène	5	
				Bicyclogermacrène	4,7	
38	<i>E. amethystinum</i> L.	Croatie	Parties aériennes	β -Caryophyllène	19,7	[57]
				α -Bisabolol	7,9	
				2,3,6-Triméthylbenzaldéhyde	7,9	
39	<i>E. amethystinum</i> L.	Italie	feuilles	α -Pinène	11,8	[150]
				2,3,6-Triméthylbenzaldéhyde	24,7	
				Germacrène D	31,3	
40	<i>E. amethystinum</i> L.	Italie	Inflorescence	α -Pinène	25,6	[150]
				2,3,6- Triméthylbenzaldéhyde	11,8	
				Germacrène D	14,5	
41	<i>E. amethystinum</i> L.	Italie	Fruits	α -Pinène	17	[150]
				2,3,6-Triméthylbenzaldéhyde	16,9	
				Germacrène D	7,6	
42	<i>E. maritimum</i> L.	Italie	Parties aériennes	Germacrène D	10,4	[151]
				2,4,5-Triméthylbenzaldéhyde	8,3	
43	<i>E. maritimum</i> L.	Italie	Racines	Germacrène D	15,9	[151]
				2,4,5-Triméthylbenzaldéhyde	6,7	
44	<i>E. maritimum</i> L.	France	Parties aériennes	Germacrène D	13,7-45,9	[152]

				4βH-Cadin-9-èn-15-al	18,4-27,6	
				4βH-Cadin-9-èn-15-ol	2,2-14,3	
				4βH-Muurool-9-èn-15-al	4,3-9,3	
45	<i>E. yuccifolium</i> Michaux.	Égypte	Racines	Terpinolène	25,8	[48]
				Trans-β-Bergamotène	18,6	
				Benzaldéhyde 2,3,6-triméthylbenzaldéhyde	13,9	
Les constituants oxygénés						
46	<i>E. alpinum</i> L.	Croatie	Parties aériennes	Oxyde de Caryophyllène	21,6	[57]
47	<i>E. campestre</i> L.	Croatie	Parties aériennes	γ-Cadinèn-15-al	23,3	[67]
				Spathulénol	10,7	
				Acide Octanoïque	9,8	
				Arom. curcumène	8,6	
48	<i>E. duriaei</i> subsp. <i>juresianum</i> (M. Laínz) M. Laínz	Égypte	Parties aériennes	α-néocallitropsène	26	[68]
				Isocaryophyllèn-14-al	16,2	
				14-hydroxy-β-caryophyllène	13,4	
				Oxyde de Caryophyllène	7,6	
				E-β-Caryophyllène	6,3	
49	<i>E. maritimum</i> L.	Portugal	Parties aériennes	Spathulénol	19	[35]
				Oxyde de Caryophyllène	8,2	
50	<i>E. planum</i> L.	Turquie	Feuilles	Acétate de Bornyle	18,1	[51]
				Limonène	11,3	
				Terpinèn-4-ol	10,9	
51	<i>E. planum</i> L.	Pologne	Parties aériennes	Sesquicinéole	21,3	[69]
				Oxyde de Caryophyllène	16	
				Spathulénol	16	

			Sabinène	5,5	
52	<i>E. rostratum Cav.</i>	Serbie	Tiges	Spathulénol	20 [72]
				β -Bisabolol	8,6
				Oxyde de Caryophyllène	8
53	<i>E. tricuspidatum L.</i>	Australie	Parties aériennes	α -Bisabolol	32,6 [70]
				α -Curcumène	6,5
54	<i>E. glomeratum</i>	Algérie	Parties aériennes	Acétate de Cis-chrysanthényl	27,3 [50]
				14-hydroxy- α -muurolène	19,6
				α -bisabolol	12
55	<i>E. glomeratum</i>	Tunisie	Racines	β -oplopénone	20 [50]
				di-épi-cédrénoside	15,9
				δ -Sélinène	15,6
				Germacrène D	5,1
				9-hydroxy isolongifolène	4,1
				Epoxyside de Isolongifolène	3,4
56	<i>E. barrelieri Boiss</i>	Tunisie	Parties aériennes	β -sélinène	20,1 [50]
				di-épi-cédrénoside	18,7
				β -oplopénone	10,6
57	<i>E. floribundum</i>	Tunisie	Parties aériennes	Acétate de Cis-Chrysanthényl	6 [71]
				2,3,6-Triméthyl benzaldéhyde	15,7
				(E)-caryophyllène	4,9
				Oxyde de Caryophyllène	36
				Globulol	7
				Viridiflorol	5
				α -Cadinol	4
58	<i>E. creticum Lam.</i>	Brésil	Tiges	Acétate de Bornyl	28,4 [153]

				Camphor	17,8	
				α -pinène	12,1	
				Germacrène D	9,4	
				Bornéol	8,6	
				α -thujène	4,2	
59	<i>E. bungei</i> Boiss.	Iran	Parties aériennes	Cuminol	55,3	[154]
60	<i>E. bungei</i> Boiss.	Iran	Parties aériennes	Bornéol	44,4	[155]
		Iran		Formyl d'Isobornyl	14,7	
				Isobornéol	9,2	
				1,8-Cinéol	9,1	
				Camphor	7,9	
61	<i>E. pandanifolium</i> Cham. et Schlecht		Feuilles	Acétate de Bornyl	20,8	[72]
				β -Sélinène	13,8	
				α -Sélinène	11,3	
62	<i>E. paniculatum</i> Cav.	Australie	Inflorescence	(E)-Anéthole	52,6	[156]
				α -Pinène	19,1	
63	<i>E. planum</i> L.	Argentine	Inflorescence	Acétate de Cis-Chrysanthényl	43,2	[51]
64	<i>E. pandanifolium</i> Cham. et Schlecht	Pologne	Fruits	Octanal	11,5	[72]
				β -Sélinène	9,2	
65	<i>E. caeruleum</i> M.B.	Australie	Parties aériennes	cyclobutadicyclooctene,	47	[78]
				hexadecahydro	11,2	
				Acide hexadecanoïque	5,4	
				Acide Linoléique	4,2	
				Limonène		
66	<i>E. corniculatum</i> Lam.	Iran	Inflorescence	2,4,6-Triméthylbenzaldéhyde	50,8	[66]
				α -Pinène	4	

				Acétate de chrysanthényl	4	
67	<i>E. corniculatum Lam.</i>	Espagne	Tiges et feuilles	2,4,6-Triméthylbenzaldéhyde	50	[66]
68	<i>E. corniculatum Lam.</i>	Espagne	Racines	2,4,6-Triméthylbenzaldéhyde	29,8	[66]
				Isomère de Phyllocladène	13	
				(E)-Nérolidol	9,4	
69	<i>E. creticum Lam.</i>	Espagne	Fleurs	Hexanal	52,9	[63]
				Heptanal	13,9	
				Octane	9	
70	<i>E. foetidum L.</i>	Turquie	Parties aériennes	(E)-2-Dodécenal	57,8-67,1	[53]
				Lauraldéhyde	7-11,5	
		Vietnam		13-Tétradécenal	9	
71	<i>E. foetidum L.</i>		Parties aériennes	(E)-2-dodécenal	45,5	[157]
				Acide 2-dodécenoïque	15,5	
72	<i>E. foetidum L.</i>	Vietnam	Feuilles	2,4,5-Triméthylbenzaldéhyde	20,5	[73]
73	<i>E. foetidum L.</i>	Cuba	Feuilles	(E)-2-dodécenal	37,4	[74]
				Acide Dodécanoïque	10,7	
				Acide Trans-2-dodécanoïque	9,7	
				(E)-2-tridécenal	6,7	
				Duraldéhyde	5,1	
				Tétradécenal	4,4	
		Bengladesh		Acide Hexadécanoïque	12,1	
				Carotol	9,9	
74	<i>E. foetidum L.</i>		Racines	Duraldéhyde	37,6-53,1	[53]
				13-Tétradécenal	7,2-13,1	
				(E)-2-Dodécenal	7,1-11,6	
				Falcarinol	3,4-8,1	

75	<i>E. foetidum L.</i>	Vietnam	Feuilles	(E)-2-dodécenal	59,7	[75]
76	<i>E. foetidum L.</i>	Malaysia	Racines	2,3,6-triméthylbenzaldéhyde	37,55	[75]
				2-formyl-1,1,5-triméthylcyclohexa-2,4-dien-6-ol (19.82%)	19,8	
77	<i>E. foetidum L.</i>	Malaysia	Feuilles	Tri-Me benzaldéhyde	16,5	[76]
				Dodécanal	4,7	
				Muurolo- 4,10(14)-dièn-1 α -ol	10,2	
				Isomère de Neophytadiène	4,5	
				Acétone de Hexahydrofarnésyl	5,5	
				Acide Palmitique	4,9	
				Phytol	4,9	
78	<i>E. foetidum L.</i>	Inde	Racines	Tri-Me benzaldéhydes	4-57	[76]
				2-formyl 1,1,5-tri-Me 2,5-cyclohexadien-4-yl-2-méthylbuténoate	4,9	
79	<i>E. foetidum L.</i>	Inde	Parties aériennes	(E)-2-Dodécenal	58,1	[77]
				Dodécanal	10,7	
				2,3,6- triméthylbenzaldéhyde	7,4	
				(E)-2-tridécenal	6,7	
80	<i>E. palmatum</i>	Népal	Racines	Octanal	31,7	[79]
				Curcumène	5,9	
				2,3,6-Triméthylbenzaldéhyde	5,4	
81	<i>E. planum L.</i>	Serbia	Racines	Falcarinol	64,4	[51]
82	<i>E. planum L.</i>	Pologne	Racines	(Z)-falcarinol	34,9	[79]
				Octanal	31,7	
				α -curcumène	5,9	

				2,3,6-triméthyl benzaldéhyde	5,4	
				Heptanal	4,5	
83	<i>E. barrelieri</i> Boiss	Serbie	Racines	di-épi-cédrenoxide	26,5	[50]
				β -oplopénone	20,3	
				Acoradiène	10,5	
				δ -cadinène	4	
				γ -eudesmol	4	
				δ -cadinol	3	
84	<i>E. horridum</i>	Tunisie	Parties aériennes	Aromadendrène	9,1	[71]
				γ -Decalactone	7,4	
				Pentadécane	53,5	
				Globulol	18,6	
				Viridiflorol	4,6	
85	<i>E. caucasicum</i> Trautv.	Brésil	Feuilles	4(5)-Acetyl-1H-imidazole	63,6	[59]
				Thymol	13,9	
				β -Sesquiphellandrène	10	
86	<i>E. foetidum</i> L.	Venezuela		(E)-2-Dodécenal	27,5	[158]
				Carotol	8,8	
				3-Dodécenal	5,2	

Annexe 2. Données de la littérature sur la présence du falcarinol dans les huiles essentielles. (Partie B)

Famille botanique	Genre	Espèces	Origines	% du falcarinol dans les organes						Ref	
				R	PA	Fl	T	F	Fr		G
a	<i>Seseli</i>	<i>rigidum</i>	Serbie	0-95,3	0-35,6						[159]
			Serbie						3,0		[160]
			Bulgarie	48,7							[161]
			Serbie	34-94							[162]
			Serbie	88,8							[138]
	<i>Trinia</i>	<i>glauca</i>	Serbie		10,6						[163]
	<i>Ferula</i>	<i>communis</i>	Italie	#		#		#	#		[164]
	<i>Eryngium</i>	<i>barrelieri</i>	Tunisie	1,4	tr						[50]
		<i>glomeratum</i>		tr	0,3						
		<i>planum</i>	Pologne	64,4		0,2		0,4			[51]
		<i>yuccifolium</i>	Algérie	3,2			3,2	9,6			[52]
		<i>foetidum</i>	Vietnam								[53]
	<i>Chuanminshen</i>	<i>violaceum</i>	China		57						[165]
	<i>Malabaila</i>	<i>aurea</i>	Grèce		4,5						[166]
	<i>Saposhnikovia</i>	<i>divaritica</i>			#						
	<i>Notopterygium</i>	<i>incisium</i>	Chine		#						[167]
	<i>Lingusticopsis</i>	<i>wallichiana</i>	Inde			21	5,7	6,1			[168]
	<i>Carum</i>	<i>carvi</i>	République tchèque					3,7	3,7		[169]
		<i>graecum</i>	Serbie					#			[170]
	<i>Dicyclophora</i>	<i>persica</i>	Iran		32						[171]
	<i>Angelica</i>	<i>dahurica</i>	Chine	#							[172]
		<i>nevadense</i>		48,5							[173]
		<i>foeniculaceum</i>		38,5							[174]
<i>rigidum</i>			10,8-14,9							[175]	
<i>Lomatium</i>	<i>dasycarpum</i> ssp	USA									
	<i>macrocarpum</i> , var										
	<i>utriculatum</i>		0,1-44,6							[176]	
	<i>lucidum</i>										
<i>Chaerophyllum</i>	<i>temulum</i>	Serbie	61,7-62,3							[177]	
	<i>azoricum</i>	Portugal	tr							[178]	
	<i>satyvum</i>	Iran	#							[179]	
<i>Levisticum</i>	<i>officinale</i>	Allemagne					tr			[180]	
<i>Pastinaca</i>	<i>hirsuta</i>	Serbie	#							[181]	
<i>Acanthopanax</i>	<i>sessiliflorus</i>	Chine	#							[182]	
<i>Oplopanax</i>	<i>horridus</i>	Chine	3,6	11						[183]	
<i>Scandix</i>	<i>pecten-veneris</i> l	Serbie	tr	tr				tr		[184]	

	<i>Glehnia</i>	<i>littoralis</i>	Japon	0,4-24,6				[185]
	<i>Apium</i>	<i>nodiflorum</i>	Italie		#			[186]
	<i>Bupleurum</i>	<i>chinense</i>	Chine		0,8			[187]
	<i>Aegopodium</i>	<i>podagraria</i>	Estonie			0,2	0,6	[188]
	<i>Heracleum</i>	<i>transcaucasicum pastinacifolium,</i> <i>persicum</i> <i>rechingeri</i>	Iran		#			[189]
	<i>Ostericum</i>	<i>citriodorum</i>	China	7,2				[190]
	<i>Ridolfia</i>	<i>segetum</i>	Italie		#			[191]
	<i>Oenanthe</i>	<i>crocata</i>			#			[191]
	<i>ordylium</i>	<i>apulum</i>	Italie		0,3			[192]
b	<i>Panax</i>	<i>notoginseng</i>		28,8				
		<i>vietnamensis</i>	Chine	70,6				[193]
		<i>stipuleanatus</i>		64,6				
		<i>ginseng</i>	Chine			#		[194]
	<i>japonicas</i>	Chine	10,4				[195]	
	<i>quiquefolium</i>	Pologne	16,5				[196]	
	<i>Hydrocotyle</i>	<i>sibthorpioides</i>	Chine		19,2			[197]
<i>Sciadophyllum</i>	<i>pulchrum</i>	Egypte		tr			[198]	
	<i>Ocimum</i>	<i>basilicum</i>	Turquie			0,9		[199]
	<i>Eleuterococcus</i>	<i>senticosus</i>	Chine/Russie	1,4				[200]
c	<i>Aster</i>	<i>tatricus</i> <i>koraiensis</i>	Corée		#			[201]
	<i>Tithonia</i>	<i>diversifolia</i>	Côte d'ivoire			0,1	0,1	[202]
	<i>Artemisia</i>	<i>campestris</i>	Maroc			1,6		[203]
		<i>monosperma</i>	Arabie saoudite			tr	tr	[204]
	<i>Tridax</i>	<i>procumbens</i>	Inde			25,9		[205]
	<i>Berula</i>	<i>erecta</i>	Serbie		21,5			[206]
	<i>Pandanus</i>	<i>amaryllifolius</i>	Chine				tr	[207]
	<i>Tussilago</i>	<i>farfarae</i>	Chine		#			[208]
	<i>Galinsoga</i>	<i>parviflora</i>	Colombie				#	[209]
		<i>Carpesium</i>	<i>macrocephalum</i>	Chine		#		[210]
d	<i>Pittosporum</i>	<i>glabratum</i>	Chine	21,5				[211]
e	<i>Calycotome</i>	<i>villosa</i>	Italie				1,4	[139]
	<i>Astragalus</i>	<i>gombiformis</i>	Tunisie		#	#	#	[212]
f	<i>Adenophora</i>	<i>tetraphylla</i>	Chine	#				[213]
g	<i>Magnolia</i>	<i>figo</i>	Chine			tr		[214]
h	<i>Mussaenda</i>	<i>hainanensis</i>	Chine	#				[215]
i	<i>Cleistocalyx</i>	<i>operculatus</i>	Vietnam	0,5				[216]

Famille botanique: a: *Apiaceae*; b: *Araliaceae*; c: *Asteraceae*; d: *Pandanaceae*; e: *Fabaceae*; f: *Campanulaceae*; g: *Magnoliaceae*; h: *Rubiaceae*; i: *Myrtaceae*; R: Racines;

PA : Parties aériennes; Fl: Fleurs; T: Tiges; F: Feuilles; Fr: Fruits; G: Grains; tr: composé en trace; #: aucune donnée.

Annexe 3. Composition chimique de l'huile collective (Ert Coll) et les 25 huiles essentielles des parties aériennes des 25 stations. (Partie B)

No, ^a	Composés	litI _{Ra} ^b	I _{Ra} ^c	I _{Rp} ^d	HECo II ^e	Identificati on ^e	Echantillons d'huile essentielle (S1-S25) ^h																									Smi n	Sma x	
							Groupe 1							Groupe 2								Groupe 3												
							S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25			
1	heptane	700	703	700	0,5	RI, MS	0,1	0,2	0,3	tr	0,2	0,3	0,3	0,9	1,2	0,4	0,8	1,4	1,2	1,1	0,5	0,6	1,4	1	1,4	1,3	1,1	0,1	0,9	0,7	0,9	0,1	1,4	
2	hexanal	770	774	1055	0,3	RI, MS	0,2	0,1	0,1	tr	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	tr	tr	tr	0,1	0,4	0,2	0,5	0,2	0,3	tr	1	0,6	0,2	0,6	1,6	0,2	0,1	1,6	
3	heptanal	876	877	1187	0,9	RI, MS	tr	0,4	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,6	0,3	0,6	0,4	0,6	tr	tr	tr	0,8	1,1	1	tr	1,1	0,9	1,3	tr	0,6	0,2	1,3	
4	octanal	980	979	1531	9,1	RI, MS	1	2,5	1,2	2	1,8	2	1,8	3,7	7,3	3,9	5,4	7,7	7,7	5,6	4,1	5,6	10,4	12,1	11,9	11,6	12,1	10,3	10,5	12,6	12,8	1	12,8	
5	(E)-2-octenal	1036	1039	1416	1,2	RI, MS	tr	0,1	0,2	0,1	tr	0,1	0,1	0,3	tr	0,1	tr	tr	tr	0,1	0,5	0,2	0,2	0,3	tr	tr	0,2	0,5	tr	tr	tr	0,1	0,5	
6	1-octanol	1058	1063	1394	tr	RI, MS	0,1	0,1	0,1	0,7	0,3	tr	tr	0,1	0,1	0,5	0,1	0,2	0,1	tr	0,2	tr	0,3	2	0,3	tr	0,2	0,2	0,3	0,3	0,1	0,1	2	
7	nonan-2-one	1070	1077	1388	0,4	RI, MS	0,1	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	0,1	tr	0,3	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,3	0,3	0,3	tr	tr	0,1	0,3
8	nonanal	1083	1081	1394	2,5	RI, MS	0,2	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,6	0,7	0,5	0,6	0,9	0,7	0,4	0,8	1,1	1,7	1,2	1,4	1,2	0,9	1,4	1,6	tr	0,2	1,7	
9	(E)-2-nonénal	1136	1133	1530	0,9	RI, MS	0,3	0,3	0,6	0,4	0,4	0,2	0,2	0,4	0,5	0,7	0,4	0,7	0,6	0,8	0,4	0,5	0,8	1,4	1	0,9	1,2	0,7	1	1,1	1	0,2	1,4	
10	(Z)-2-nonén-1-ol	1158	1155	1688	0,1	RI, MS, Ref	0,4	0,1	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	0,5	0,5	0,5	0,7	0,7	0,2	tr	0,2	tr	0,6	0,9	tr	1	0,9	0,4	0,1	0,3	0,1	1	
11	acide octanoïque *	1173	1174	1866	1,1	RI, MS	tr	0,1	tr	0,2	0,1	tr	tr	tr	0,2	0,2	0,2	0,3	tr	0,2	tr	tr	0,4	tr	0,5	tr	0,5	0,4	0,4	tr	tr	0,1	0,5	
12	1-decen-3-ol	1172	1181	1643	1,7	RI, MS	tr	0,2	0,1	0,3	0,6	0,5	0,2	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	0,3	0,5	0,6	0,7	0,5	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	0,4	0,1	0,1	0,7	
13	decanal	1185	1183	1498	0,1	RI, MS	0,2	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1	tr	tr	1	0,1	1
14	3-dodecen-1-yne*	1120	1214	-	0,7	RI, MS	tr	0,1	0,1	tr	0,1	0,3	tr	0,4	0,4	0,1	0,7	0,7	0,4	0,4	0,2	0,5	0,7	0,6	0,6	0,7	0,4	0,8	0,4	tr	0,9	0,1	0,9	
15	carvone	1222	1225	1739	0,2	RI, MS	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	0,4	0,1	0,1	0,1	0,2	tr	tr	tr	0,5	0,7	0,4	0,8	tr	0,2	0,7	tr	tr	tr	0,1	0,8	
16	(E)-2-decanal	1248	1251	1652	1,1	RI, MS	0,2	tr	0,2	tr	tr	0,2	tr	tr	0,1	0,4	0,1	0	0,2	0,5	tr	tr	0,2	0,3	tr	tr	0,3	0,2	0,7	tr	1	0	1	
17	(E,E)-2,4-decadienal	1290	1289	1820	tr	RI, MS	0,3	0,1	0,1	tr	0,3	tr	tr	0,1	0,1	0,4	0,1	0,7	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,2	tr	tr	tr	tr	0,1	0,7
18	β-ionone	1466	1454	1936	0,2	RI, MS	0,2	0,3	0,4	tr	0,2	0,1	tr	0,2	0,1	0,3	0,1	0,3	tr	0,5	tr	0,3	0,4	0,4	0,5	0,6	0,2	0,5	0,4	tr	tr	0,1	0,6	
19	3,4-diméthyl-5-pentyl-5H-furan-2-one*	1481	1486	1495	1,1	RI, MS, Ref	1	0,9	2,5	5,7	1,9	2,2	3	2	1,1	1	1,2	1,4	1,5	2,2	1,4	2,7	1,9	2,6	2	3,8	1,1	1,1	1,9	1	1,2	0,9	5,7	
20	γ-undecalactone*	1533	1524	2266	0,7	RI, MS	0,2	tr	0,1	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	0,1	0,1						
21	acide dodecanoïque *	1556	1547	2474	0,5	RI, MS, Ref	tr	0,1	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	0,1	0,2	tr	tr	tr	0,5	tr	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0,1	tr	tr	tr	tr	0,1	0,5
22	acide hexadecanoïque*	1962	1968	2330	0,4	RI, MS	0,8	1,3	1,6	0,6	1,4	1,7	1,8	2,6	0,1	2	2,5	3,7	2,8	2,9	0,5	1,9	2,8	2,4	2,8	1,7	3,2	2,8	2,6	2,3	2	0,1	3,7	

23	falcarinol	2028	2026	3086	71,2	RI, MS, Ref	90,6	87,1	83,6	84,6	86,9	86,9	85,1	78,4	78,2	79,9	78,3	71,4	73,2	73,4	78,2	74,8	67,7	63,5	65,5	68,1	65,7	69,7	66,7	69	68,9	63,5	90,6
24	α -kaurène	2046	2049	2389	0,7	RI, MS	0,3	0,1	0,1	tr	0,1	0,1	tr	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,1	tr	tr	0,3	0,3	0,3	0,4	tr	0,2	0,3	0,3	tr	tr	0,1	0,4
	identification %						96,2	94,8	91,6	95	95,1	92,9		90,4	92,1	92,2	92,1	91,3	90,5	90	87,2	90,1	90,8	91,2	90,9	91,2	91,4	91,7	90,6	90,7	91	87,2	96,2
	Composés oxygénés						90,3	94,8	88,6	89,3	92,8	92,2	89,6	86,9	89,3	90,5	89,2	87,5	87,3	86,3	85,1	86	86,5	86,7	86,5	85,4	88,6	89,4	87,1	89	88	85,1	93,5
	Composés hydrocarbonés						2,2	1,4	3	5,7	2,3	2,9	3,3	3,5	2,8	1,7	2,9	3,8	3,2	3,7	2,1	4,1	4,3	4,5	4,4	5,8	2,8	2,3	3,5	1,7	3	1,3	5,8
	Composés non-terpénique						91,9	95,7	91,1	95	94,8	94,9	92,9	89,6	91,8	91,6	91,7	90,5	90,4	89,5	87,2	89	89,4	90,1	89,2	90,6	90,8	90,2	89,9	90,7	91	87,2	95
	Rendement (%)						0,03	0,04	0,06	0,04	0,05	0,07	0,08	0,04	0,1	0,02	0,08	0,08	0,05	0,03	0,03	0,02	0,06	0,01	0,11	0,03	0,03	0,06	0,04	0,02	0,04	0,01	0,11

^a L'ordre d'éluion donné sur colonne apolaire (Rtx-1)

^b Indices de rétention issue de la littérature donnés sur colonne apolaire

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-wax

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire de l'huile collective des parties aériennes d'*E. triquetrum* HEColl.

^f Huiles essentielles obtenues au cours du cycle végétatif (station S1)

^g Ir: Indice de rétention; SM: Spectre de Masse en impact électronique. Ref: Composés identifiés à l'aide de bibliothèques commerciales [99]

^h Pourcentages d'identification des huiles essentielles des 25 échantillons d'huiles essentielles d'*E. triquetrum* exprimer en Min et Max dans la dernière colonne.

Annexe 4. Composition chimique de l'extrait hénanique d'*E.campestre* : (Partie B)

No. ^a	Components	IRI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	Erc ext hex	Identification
1	α -copaéne	1379	1375	1438	0,4	Ir, SM
2	β -bourbonéne	1385	1383	1515	0,1	Ir, SM
3	β -élémente	1388	1387	1589	0,5	Ir, SM
4	β -ylangéne	1420	1416,7	1562	0,6	Ir, SM
5	β -copaéne	1431	1432	1581	0,2	Ir, SM
6	alloaromadendrene	1451	1454	1631	tr	Ir, SM
7	4,5-di epi aristolochene	1467	1465	1665	0,4	Ir, SM
8	α -curcumene	1470	1471	1742	1	Ir, SM
9	Germacrene D	1476	1480	1704	23,6	Ir, SM
10	β -selinene	1483	1484	1712	0,8	Ir, SM
11	α -muurolene	1496	1503	1720	0,2	Ir, SM

12	β -bisabolene	1500	1500	1720	1,2	Ir, SM
13	sesquicineole	1505	1506	1737	1,1	Ir, SM
14	gamma-cadinene	1507	1509	1752	0,2	Ir, SM
15	β -curcuméne	1509	1510	1733	0,5	Ir, SM
16	δ -cadinene	1516	1514	1752	1	Ir, SM
17	α -cadinene	1535	1533	1743	0,1	Ir, SM
18	salvial epoxy-1,5-4(14)-ene	1545	1548	1941	0,8	Ir, SM
19	germacrene B	1553	1551	1827	0,4	Ir, SM
20	spathulenol	1563	1562	2103	1,3	Ir, SM
21	β -copaéne-4- α -ol	1575	1573	2141	1	Ir, SM
22	salvial-4(14)-en-1-one	1583	1585	2005	0,5	Ir, SM
23	ledol	1600	1602	2030	0,8	Ir, SM
24	t-cadinol	1632	1638	2169	0,9	Ir, SM
25	α -cadinol	1645	1645	2231	1,6	Ir, SM
26	α -bisabolol	1663	1672	2199	0,7	Ir, SM
27	Eudesma-4(15)-7-dien-1-β-ol	1681	1667	2333	8,2	Ir, SM
28	14-hydroxy α -muurolene	1755	1755	2599	0,3	Ir, SM
29	14-hydroxy delta cadinene	1788	1784	2607	0,2	Ir, SM
30	acid hexadecanoic	1942	1941	2930	0,2	Ir, SM
31	falcarinol	2028	2026		2,8	Ir, SM, Ref
32	Campestrolide		2143		23	Ir, SM, NMR
33	falcarindiol *	2142	2164	2970	9,4	Ir, SM, NMR
					84	
Taux d'identification %					84	
Composés hydrocarbonés					31,2	
Composés oxygénés					52,8	
Sesquiterpènes hydrocarbonés					31,2	
Sesquiterpènes oxygénés					17,4	
Composés non terpéniques					3	

^a L'ordre d'élution donné sur colonne apolaire (Rtx-1)

^b Indices de rétention issue de la littérature donnés sur colonne apolaire

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-wax

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire de l'extrait hexanique des parties aériennes d'*E. campestre* (Erc ext hex).

^f Ir: Indice de rétention; SM: Spectre de Masse en impact électronique. Ref: Composés identifiés à l'aide de bibliothèques commerciales [99].

Annexe 5. RMN-13C du composé NI32 dissout dans l'acétone-d6, obtenu à 125.77 MHz à 300K (Partie B)

N.° C	Type de carbone	δ_C (ppm)*	δ_H (ppm)*	Const. Couplage J(Hz)-Multiplicité
1	CH ₂ =	119,78	5,58	16,90; 1,2/dd
			5,37	10,17; 1,2/dd
2	-CH=	133,34	5,96	5,85; 10,17; 16,90/ ddd
3	-CH-O	65,05	5,87	5,85/ d
4	-C≡	73,59	-	-
5	-C≡	72,22	-	-
6	-C≡	64,94	-	-
7	-C≡	82,56	-	-
8	=C-CH ₂ -C≡	17,10	3,07	18,30; 7,05/ dd
			2,99	18,30; 7,05/ dd
9	-CH=	122,44	5,54	m
10	-CH=	135,77	5,61	m
11	-CH ₂ -	28,90	2,16/2,10	m
12	-CH ₂ -	30,48	1,26	m
13	-CH ₂ -	29,60	1,36	m
14	-CH ₂ -	29,57	1,44	m
15	-CH ₂ -	31,04	1,35	m

16	-CH₂-	27,17	1,68	m
17	-CH₂-C=O	34,96	2,39/2,34	m
18	-C=O	172,98	-	-

*Chemical shift values are referred to the acetone - *d*₆: 2.05 ppm (¹H) and 29.92 ppm (¹³C), respectively, used as internal standard.

Annexe 6. Compositions chimiques des 37 échantillons d'huiles essentielles d'*E. campestre* (S1-S37). (Partie B)

No. ^a	Composés	litIr _a ^b	Ir _a ^c	Ir _p ^d	Erc HE COL	Smi n	Sma x	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13
1	β-pinène	970	972	1110	0,1	0,1	0,4	0,3	0,2	0,1	0,4	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,1
2	myrcène	979	981	1153	2,7	0,1	8,4	8,4	3	1,3	4,7	3,5	3,4	2,4	4,9	4,6	1,9	5	5,2	1,8
3	p-cymène	1011	1013	1258		0,1	4,35	-	0,2	0,2	-	0,3	-	-	-	0,1	-	-	-	-
4	limonène	1020	1022	1199	0,1	0,1	1,99	-	-	-	-	-	0,1					1,2	0,1	0,1
5	z-β-ocimène	1024	1026	1230	0,1	0,09	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-
6	δ-terpinène	1047	1049	1243		0,1	0,3	0,1	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-
7	nonan-2-one	1070	1076	1388		0,1	0,2	0,2	-	0,1	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
8	terpinolène	1078	1079	1280		0,1	0,4	0,2	0,3	-	0,1	-	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-
9	nonanal	1083	1082	1394	0,1	0,09	0,5	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	-	-	0,1	-	-	0,3	-	-
10	décanal	1185	1184	1498	0,3	0,09	0,77	0,2	0,6	0,3	0,2	0,1	0,2	0,4	0,1	-	0,2	0,1	0,1	-
11	E-2-décéanal	1248	1247	1652	0,4	0,1	0,7	0,3	0,2	0,1	-	-	0,4	0,3	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	-
12	trans-2-undecanal	1343	1348	1726		0,1	0,4	0,1	0,1	-	0,2	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-
13	α-copaène	1379	1375	1438	0,9	0,1	1,4	1,1	0,3	0,3	1,4	1	1,4	0,6	0,3	-	0,8	0,5	1	0,7
14	β-bourbonène	1385	1383	1515	0,1	0,1	2,9	0,1	0,6	0,1	0,2	-	0,2	0,1	0,1	1,2	-	0,2	0,2	0,2
15	β-élémente	1388	1387	1589	3	0,1	8,8	1,5	0,1	4,2	1,9	-	1,5	1,2	2,2	0,1	1	0,7	1,1	1
16	β-ylangène	1420	1417	1562	0,6	0,1	0,9	0,8	0,4	0,7	0,9	-	1,1	0,9	0,6	1,6	1,1	0,6	1,5	1
17	trans caryophyllène	1424	1426	1591		0,1	1,6	0,3	0,1	1,5	0,4	-	1,2	0,7	0,2	1,2	0,6	-	0,4	0,6
18	γ-λ ¹ mène	1431	1432	1581	1,2	0,1	7,4	0,7	0,1	0,1	-	-	0,1	-	7,4	3,8	-	0,2	-	-
19	trans-α-bergamotène	1432	1433	1575	1,2	0,1	0,7	0,2	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	0,1	0,1	-

20	trans β -farnésane	1448	1449	1661	0,4	0,1	8,2	8,2	2,3	0,2	2	8,1	0,5	0,5	2,4	0,4	0,6	0,6	0,7	0,8
21	alloaromadendrène	1451	1454	1631	0,2	0,1	1,7	0,2	0,2	0,1	0,1	-	-	1,3	-	-	1,7	-	-	-
22	α -humullène	1456	1457	1665	0,3	0,1	2,1	0,1	0,3	0,1	-	-	1,2		0,1	2,1	0,1	0,3	-	-
23	4,5-di epi aristolochène	1467	1465	1665	0,3	0,1	1,9	-	1,9	-	-	-	-	0,1	0,2	0,2	-	0,7	-	-
24	γ -muurolene	1467	1469	1683	0,9	0,1	1,4	-	-	-	0,1	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-
25	α -curcumène	1470	1471	1742	-	0,1	3,8	0,5	-	1,6	-	0,2	0,3	-	-	3,8	-	-	-	-
26	geracrène D	1476	1480	1704	15,2	0,4	53,4	30,4	26,4	29,7	24,2	39,2	39	36,2	14,6	17,1	42,1	27	52,4	37
27	β -selinène	1483	1484	1712	0,9	0,1	3,1	0,4	0,5	0,4	0,6	0,1	0,4	0,4	0,3	3,1	0,4	1,0	0,5	0,5
28	α -muuroène	1496	1503	1720	0,8	0,2	4,1	1,9	0,5	0,2	1,2	0,7	4,1	3	0,9	0,4	3,2	1,4	3	1,6
29	β -bisabolène	1500	1500	1720	0,2	0,1	5,3	1,4	0,2	0,5	0,5	0,1	0,4	0,1	0,5	1,7	0,1	0,3	0,5	0,2
30	sesquicinéol	1505	1506	1737	0,5	0,1	4,1	0,2	0,9	0,1	0,2	-	0,3	0,4	0,4	4,1	0,4	2,6	0,3	0,4
31	Delta-cadinène	1516	1513	1752	0,3	0,1	2,5	0,2	0,3	-	0,1	-	-	0,2	-	-	0,2	0,4	-	-
32	β -curcumène	1509	1510	1733	0,2	0,1	7,4	0,3	0,8	0,6	0,2	-	0,3	-	1,3	7,4	-	-	-	-
33	δ -cadinène	1516	1514	1752	1,5	0,1	6,2	1,5	0,7	-	1,6	0,1	6,2	1,5	0,4	-	1,5	1	1,7	1,5
34	trans- α -bisabolène	1532	1531	1753	0,5	0,1	3,3	-	0,1	0,4	0,1	0,9	0,2	0,2	2,3	3,3	0,1	0,4	0,2	0,3
35	β -élémol*	1535	1534	2072	0,8	0,1	3,4	0,1	1,8	2,6	0,4	1,8	0,2	0,2	3,4	1,5	-	-	-	0,1
36	hydrate de 7 epi-trans-sesquisabinène	1543	1547	1991	1	0,1	2,6	-	0,5	-	0,7	1,8	-	0,4	-	-	0,5	-	0,3	0,4
37	salvial epoxy-1,5-4(14)-ene	1545	1548	1941	2,1	0,1	3,3	0,2	1	0,9	1,2	0,6	0,2	0,2	1	0,3	0,6	0,4	0,1	1,1
38	germacrène B	1553	1551	1827	3,1	0,2	21,5	0,4	6,4	4,3	5,3	0,9	2,6	1,3	21,5	14,1	0,2	7,3	0,2	0,3
39	spathulénol	1563	1562	2103	4,8	0,1	7,6	1,3	1,5	1,3	0,7	0,1	2,9	3,5	1,5	0,9	3,5	2,1	1,5	2,4
40	Oxyde de caryophyllène	1576	1570	1980	0,2	0,1	3,9	2,6	1,9	2,2	1,3	0,1	0,8	0,9	0,4	0,5	0,8	0,8	0,5	0,8
41	salvial-4(14)-en-1-one	1583	1577	2005	1,8	0,1	3,6	1	1,7	0,4	0,5	0,7	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,7	0,2	0,3
42	lédol	1600	1602	2030	1,6	0,1	5,1	0,5	0,6	0,6	0,1	0,4	0,4	0,6	0,2	0,2	0,3	-	0,7	0,3
43	1,10-di-epi-Cubénol	1610	1611	2054	1,4	0,1	2,3	0,1	1	2,2	1,4		0,4	0,5	0,3	0,8	0,8	-	0,7	0,3
44	caryophylla-4(14),8(15)-dien-5-alpha ol	1626	1624	2285	0,3	0,3	4,7	0,5	1,4	0,3	2,2	0,6	0,4	0,6	-	0,7	-	1,6	1,4	0,5
45	t-cadinol	1632	1638	2169	2,3	0,3	5,5	1	2,1	2,1	0,9	0,3	0,4	3,1	1,1	2,5	3,1	2,7	1,3	2,8

46	α-cadinol	1645	1645	2231	5,5	0,2	7,6	1,2	1,1	2,1	1,7		2,8	3,7	0,3	0,2	0,8	1,1	2	3,8
47	Eudesma-4(15)-7-dien-1-β-ol	1663	1672	2199	3	0,1	7,6	0,3	1,2	2,5	1,7	0,3	2,1	1,9	0,7	0,2	1,5	4,2	1,2	2,3
48	α -bisabolol	1681	1667	2333	0,6	0,1	5,2	1	0,6	0,5	0,4	0,1	0,6	0,5	0,1	0,2	0,5	2,8	0,4	0,4
49	14-hydroxy α -muurolène	1755	1759	2599	0,5	0,1	4,4	0,3	0,6	2,1	0,2	-	0,2	0,4	1,3	0,3	0,5	0,1	0,3	0,5
50	14-hydroxy delta cadinène	1788	1784	2607	1	0,2	1,4	0,4		0,4	0,5	-	0,3	0,6	0,2	0,2	0,7	0,2	0,6	0,9
51	Acide hexadécanoïque	1942	1941	2930	1,2	0,1	0,8	0,1	0,4	0,2	0,1	-	-	0,2	0,1	0,8	0,3	0,2	0,3	0,3
52	Campestrolide*	2142	2143	2970	10,3	1,6	35,3	8,1	8,9	5,3	10,3	11,7	5,9	12,1	11,5	2,7	8,6	10,2	5,2	12,9
Taux d'identification					75,8	70,1	86,3	79	74,2	73,2	71	74,1	83,1	81,6	83,3	83,4	79,1	79,4	86,3	78,2
Rendement						0,1	0,2	0,16	0,19	0,19	0,2	0,19	0,11	0,2	0,19	0,18	0,12	0,11	0,2	0,18
Composés hydrocarbonés					36,1	11,3	76,1	59,7	48,6	49,6	46,6	57,2	64,8	51,4	64,1	72,6	56,0	51,7	69,4	49,7
Composés oxygénés					39,7	9,1	64,9	19,5	25,6	23,7	24,4	16,9	18,3	30,2	19,2	10,9	23,1	27,7	16,9	28,5
Sesquiterpènes					60,5	34,5	79,3	60,9	60,1	65,3	54,9	58,4	72,9	66,1	66,4	74,9	67,8	61,9	75	63
Sesquiterpènes oxygénés					27,4	6,2	36,6	10,7	17,9	20,3	14,1	6,8	12,2	17,8	11,1	12,7	14,1	19,3	11,5	17,3
Sesquiterpènes hydrocarbonés					33,1	8,2	73,1	50,2	42,2	45	40,8	51,6	60,7	48,3	55,3	62,2	53,7	42,6	63,5	45,7
Monoterpènes					3	0,1	9	9	3,7	1,8	5,2	3,8	3,6	2,5	5	4,7	1,9	6,43	5,6	2
Composés non-terpéniques					12,3	1,7	36,2	9,1	10,4	6,1	10,9	11,9	6,6	13	11,9	3,8	9,4	11	5,7	13,2

Annexe (Suite)

N. ^a	Composés	<i>lit</i> Ira ^b	Ira ^c	Irp ^d	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27	S28
1	β-pinène	970	972	1110	-	-	0,1	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-
2	myrcène	979	981	1153	0,1	4,6	2,7	2,2	4,2	5,3	1,6	2,4	2,7	1,6	1,2	1	1,7	0,8	2,6
3	p-cymène	1011	1013	1258	-	-	-	0,1	0,1	0,4	-	0,1	0,1	-	-	2	-	-	0,1
4	limonène	1020	1022	1199	-	-	-	0,1	0,1	0,1	-	0,1	0,1	-	-	1,1	-	-	0,1
5	z-β-ocimène	1024	1026	1230	-	-	0,1	0,1	-	0,2	-	-	0,1	-	-	-	-	-	0,1
6	δ-terpinène	1047	1049	1243	-	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-	-	0,2	-	-	-
7	nonan-2-one	1070	1076	1388	-	-	-	-	0,1	0,1	-	0,1	-	-	-	-	-	0,1	-
8	terpinolène	1078	1079	1280	-	-	-	0,2	0,1	-	0,1	0,1	0,2	-	0,1	-	-	-	0,4
9	nonanal	1083	1082	1394	-	-	-	0,2	0,2	0,5	-	0,2	0,2	-	-	0,3	-	0,2	0,1
10	décanal	1185	1184	1498	-	0,2	0,1	0,6	0,5	0,7	0,2	0,7	0,6	-	0,2	0,1	-	0,5	0,2
11	E-2-décéanal	1248	1247	1652	0,1	-	0,3	-	0,1	0,2	0,5	0,2	0,4	0,3	0,4	0,2	-	0,3	0,7
12	trans-2-undécanal	1343	1348	1726	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	-	0,1	-	-	0,2	0,1
13	α-copaène	1379	1375	1438	-	-	-	0,5	0,5	0,3	1,3	0,5	0,3	0,1	0,8	0,7	-	0,3	0,6
14	β-bourbonène	1385	1383	1515	0,8	1	2,9	0,1	0,3	0,2	0,7	0,3	0,2	-	0,2	0,3	1,1	0,2	0,3
15	β-élémiène	1388	1387	1589	0,2	0,5	-	1,2	2,4	1,7	0,7	1	0,6	1,1	0,9	0,8	-	0,7	0,9
16	β-ylangène	1420	1417	1562	1,22	0,8	0,9	0,4	0,4	0,1	0,8	0,5	0,3	1	0,9	0,6	0,6	0,1	0,2
17	trans caryophyllène	1424	1426	1591	1,6	0,7	0,4	0,1	1,5	0,1	0,8	1,4	0,8	0,6	0,4	0,2	1,2	0,1	0,3
18	g-élémiène	1431	1432	1581	0,3	0,6	0,2	2,7	0,1	0,2	0,1	-	-	-	-	-	0,5	0,1	-
19	trans-α-bergamotène	1432	1433	1575	-	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-
20	trans β-farnésane	1448	1449	1661	-	3	0,6	0,4	0,3	0,1	0,3	3	2,6	1,8	1,3	0,1	2,7	0,4	2,2
21	alloaromadendrène	1451	1454	1631	-	-	-	-	0,3	-	1,2	0,4	0,1	1	1,4	-	1,6	-	0,3

22	α -humullène	1456	1457	1665	0,5	-	0,1	-	-	-	-	-	0,1	-	0,2	-	-	0,3	
23	4,5-di epi aristolochène	1467	1465	1665	-	-	0,2	0,3	0,5	0,4	-	-	0,1	-	0,1	0,8	0,6	0,7	-
24	g-muurolene	1467	1469	1683	0,5	0,5	-	1,2	-	-	0,2	-	-	-	0,9	0,2	-	1,4	
25	α -curcumène	1470	1471	1742	-	-	0,5	0,5	1,7	1,4	0,8	1,7	0,1	0,8	0,9	0,5	0,3		
26	geracrène D	1476	1480	1704	53,4	39,2	11,5	6,6	7,5	5,2	11,1	4,7	5,2	22,8	13,9	18	22,6	13	0,4
27	β -selinène	1483	1484	1712	0,5	0,3	1,2	0,6	1,7	0,4	0,3	0,2	0,9	0,5	0,4	1,5	0,3	0,2	0,2
28	α -muuroène	1496	1503	1720	0,3	0,4	2,5	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	3,1	0,6	1,0	0,4	0,3	0,3
29	β -bisabolène	1500	1500	1720	0,7	1,4	1,1	0,4	0,2	0,2	0,1	5,3	3,7	0,2	0,4	0,3	0,3	0,2	1,2
30	sesquicinéol	1505	1506	1737	0,5	0,5	0,1	0,4	0,5	0,5	0,6	0,4	-	0,6	0,5	2,9	0,4	0,6	
31	Delta-cadinène	1516	1513	1752	-	-	-	0,1	-	0,1	0,1	0,7	-	0,2	0,1	0,3	0,7	0,1	0,3
32	β -curcumène	1509	1510	1733	-	-	-	0,6	0,1	0,4	0,2	0,5	-	-	0,2	-	-	-	0,3
33	δ -cadinène	1516	1514	1752	1,9	1,3	0,5	0,6	0,7	0,3	1,9	0,7	0,5	1,9	1,2	0,8	0,4	0,5	0,3
34	trans- α -bisabolène	1532	1531	1753	0,3	-	0,1	0,3	0,4	1,4	0,5	-	-	0,3	0,3	-	-	1	0,2
35	β -élémol*	1535	1534	2072	-	-	-	2,2	1,4	-	0,2	1	1	0,2	0,1	-	0,3	0,9	-
36	hydrate de 7 epi-trans-sesquisabinène	1543	1547	1991	0,6	0,6	-	-	0,8	0,2	0,8	-	-	0,7	0,1	1,1	-	0,7	-
37	salvial epoxy-1,5-4(14)-ene	1545	1548	1941	2,3	3,3	0,1	0,7	0,4	0,8	1,8	1,1	1	0,6	1	1,1	1	0,1	1
38	germacrène B	1553	1551	1827	1,5	0,7	0,3	3,7	3	0,5	5,6	3,5	1,9	0,3	0,6	0,4	1,1	0,7	0,7
39	spathulénol	1563	1562	2103	0,7	1,1	1	5,9	2,9	4,9	6,6	7,6	6,6	3,8	6,8	2,8	3,2	4	6,3
40	Oxyde de caryophyllène	1576	1570	1980	0,3	1,1	0,1	1,5	1,3	2,3	1,9	2,3	1,3	1,4	2,1	0,5	1,4	1,1	3,9
41	salvial-4(14)-en-1-one	1583	1577	2005	0,3	3,6	0,3	0,6	1,3	1,2	0,6	0,5	0,5	0,6	0,9	1,1	2	2,5	0,9
42	lédol	1600	1602	2030	0,4	2,2	0,1	0,8	0,5	2,5	2,6	1,7	0,3	1,2	1,6	5,1	2,1	2,1	
43	1,10-di-epi-Cubénol	1610	1611	2054	1	1,3	0,1	1	1,1	1,3	0,8	0,5	0,4	0,4	1	1,0	0,6	2,3	0,6
44	caryophylla-4(14),8(15)-dien-5-alpha ol	1626	1624	2285	0,3	2	0,7	-	0,6	0,8	4,1	0,3	-	3,4	3,4	0,6	-	-	4,7
45	t-cadinol	1632	1638	2169	0,5	-	2,5	4,6	4,2	5,5	1	3,5	3	1,9	1,2	2,2	3,4	2,1	4,3
46	α-cadinol	1645	1645	2231	1,6	1	0,9	7,2	5,1	5,5	6,4	1,4	3,1	6,1	5,1	4,2	5,1	3,9	5,7
47	Eudesma-4(15)-7-dien-1-β-ol	1663	1672	2199	2,4	4,2	0,1	5,4	3,9	3,8	3,1	5,1	5,8	2,4	2,9	7,6	6	3,1	3,9

48	α -bisabolol	1681	1667	2333	0,1	-	0,2	0,6	0,5	0,2	0,7	0,7	0,6	0,5	0,7	4,6	0,5	0,8	0,8
49	14-hydroxy α -muurolène	1755	1759	2599	0,3	0,3	-	4,4	2,1	1,5	1	1,4	1,2	0,5	0,1	1,2	0,6	0,3	0,6
50	14-hydroxy delta cadinène	1788	1784	2607	-	0,3	-	0,3	-	0,2	1,1	-	-	0,6	1	0,9	1,4	-	1,2
51	Acide hexadécanoïque	1942	1941	2930	-	-	-	0,1	0,1	-	0,6	0,2	-	-	0,2	0,5	0,3	-	-
52	Campestrolide*		2143	2970	1,6	5,5	2,6	15,7	17	18	6,8	19,9	23,2	18,7	15,7	13,9	6,2	24,5	18,4
Taux d'identification					76,8	82,4	85,2	75,5	71,1	70,1	70,2	76,3	70,2	80,5	70,9	77,6	74,7	70,1	70,1
Rendement					0,17	0,2	0,11	0,17	0,12	0,13	0,15	0,13	0,14	0,16	0,12	0,13	0,12	0,12	0,14
composés hydrocarbonés					64,3	55,7	76,1	26,6	29,6	20,9	32,1	30,0	22,8	38,7	27,5	36,0	38,9	22,2	15,6
Composés oxygénés					12,5	26,7	9,1	48,9	41,5	49,2	38,1	46,3	47,4	41,8	43,4	41,6	35,8	47,9	54,5
Sesquiterpenes					75	72,1	79,3	56,2	48,4	44,4	60,3	52,1	42,3	59,9	53	58,5	66,5	43,4	47,3
Sesquiterpènes oxygénés					11,3	21,5	6,2	35,6	26,6	31,2	33,3	27,5	24,8	24,9	28,5	31,8	30,6	24,3	36,6
Sesquiterpènes hydrocarbonés					63,7	50,6	73,1	20,6	21,8	13,2	27	24,6	17,5	35	24,5	26,7	35,9	19,1	10,7
Monoterpènes					0,1	4,6	2,9	2,7	4,6	6,1	1,7	2,8	3,3	1,6	1,3	4,2	1,7	0,9	3,3
Composés non-terpéniques					1,7	5,7	3	16,6	18,1	19,6	8,2	21,4	24,6	19	16,6	14,9	6,5	25,8	19,5

Annexe (suite) :

N ^o . ^a	Composés	<i>lit</i> Ira ^b	Ira ^c	Irp ^d	S29	S30	S31	S32	S33	S34	S35	S36	S37	Identification
1	β-pinène	970	972	1110	-	0,4	-	-	-	-	0,3	-	-	Ir, SM
2	myrcène	979	981,76	1153	1,8	2,9	2,7	5	4,1	1,8	4,3	1	0,4	Ir, SM
3	p-cymène	1011	1013	1258	-	0,1	-	-	-	-	-	4	-	Ir, SM
4	limonène	1020	1022	1199	-	0,2	-	-	-	0,2	0,1	2	-	Ir, SM
5	z-β-ocimène	1024	1026	1230	-	0,1	-	-	0,1	-	-	-	-	Ir, SM
6	δ-terpinène	1047	1049	1243	-	-	-	-	-	-	-	0,3	-	Ir, SM
7	nonan-2-one	1070	1076	1388	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	Ir, SM
8	terpinolène	1078	1079	1280	0,1	0,1	-	-	0,2	0,1	-	-	-	Ir, SM
9	nonanal	1083	1082	1394	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2		0,1	0,1	-	Ir, SM
10	décanal	1185	1184	1498		0,1	0,7	0,5	0,6	0,5	0,4	0,8	-	Ir, SM
11	E-2-décenal	1248	1247	1652	0,7	0,6	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	-	0,5	Ir, SM
12	trans-2-undecanal	1343	1348	1726	-	-	-	-	0,1	-	-	-	0,4	Ir, SM
13	α-copaène	1379	1375	1438	1	0,8	0,4	0,2	0,2	0,6	0,6	0,3		Ir, SM
14	β-bourbonène	1385	1383	1515	0,6	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,5	0,3	0,6	Ir, SM
15	β-élémente	1388	1387	1589	0,7	0,9	0,4	0,6	1,2	6,7	8,8	0,7	-	Ir, SM
16	β-ylangène	1420	1417	1562	0,7	0,7	0,3	0,5	0,5	0,3	0,7	-	0,2	Ir, SM
17	trans caryophyllène	1424	1426	1591	0,8	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,3	-	-	Ir, SM
18	g-élémente	1431	1432	1581	0,3	-	-	-	4	0,1	0,2	-	-	Ir, SM
19	trans-α-bergamotène	1432	1433	1575	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	-	Ir, SM
20	trans β-farnésane	1448	1449	1661	2,4	0,2	3	3,8	0,5	0,3	0,7	-	0,4	Ir, SM
21	alloaromadendrène	1451	1454	1631	1,5		0,2	0,1	-	0,3	-	-	-	Ir, SM

22	α -humullène	1456	1457	1665	0,1	0,1		0,1	-	-	0,4	-	-	Ir, SM
23	4,5-di epi aristolochène	1467	1465	1665	0,5	0,1	0,1	-	0,3	-	0,2	0,4	-	Ir, SM
24	g-muurolene	1467	1469	1683	-	-	-	-	-	-	0,3	1,3	0,7	Ir, SM
25	α -curcumène	1470	1471	1742	0,7	1,3	0,6	-	1,1	1,1	-	-	0,6	Ir, SM
26	geracrène D	1476	1480	1704	17,3	20,9	1,5	18	4,2	11,3	12,5	3,7	1,8	Ir, SM
27	β -selinène	1483	1484	1712	0,4	0,2	0,3	0,2	0,6	0,9	0,7	-	-	Ir, SM
28	α -muuroène	1496	1503	1720	0,6	0,5	0,5	1,3	0,4	0,6	3,2	0,3	0,5	Ir, SM
29	β -bisabolène	1500	1500	1720	0,5	0,3	0,1	0,2	0,4	0,4	0,7	1,1	0,2	Ir, SM
30	sesquicinéol	1505	1506	1737	0,1	0,5	0,1	0,2	0,3	0,4	0,3	0,4	-	Ir, SM
31	Delta-cadinène	1516	1513	1752	0,2	0,2	0,4	0,2	0,4	0,2	0,2	2,5	0,5	Ir, SM
32	β -curcumène	1509	1510	1733	-	0,2	0,3	0,2	0,9	0,2	-	-	-	Ir, SM
33	δ -cadinène	1516	1514	1752	1,2	0,8	0,5	0,8	0,2	0,4	1	0,4	-	Ir, SM
34	trans- α -bisabolène	1532	1531	1753	0,5	0,2	0,2	0,1	1,4	0,1	0,1	-	1,1	Ir, SM
35	β -élémol*	1535	1534	2072	0,3	-	0,1	-	0,6	-	0,1	-	-	Ir, SM
36	hydrate de 7 epi-trans-sesquisabinène	1543	1547	1991	0,8	0,8	0,2	0,5	2,6	0,7	0,4	1,4	1,2	Ir, SM
37	salvial epoxy-1,5-4(14)-ene	1545	1548	1941	1,2	0,4	1,1	1,4	0,8	0,5	0,3	1,9	1,5	Ir, SM
38	germacrène B	1553	1551	1827	2,4	0,4	1,5	0,3	11,2	0,4	0,2	0,2	1,6	Ir, SM
39	spathulénol	1563	1562	2103	5	4,7	4,3	2,7	2,6	4,4	5,3	3,2	0,5	Ir, SM
40	Oxyde de caryophyllène	1576	1570	1980	1,7	1,6	2,3	0,8	1,5	1,2	0,2	1,6	3,7	Ir, SM
41	salvial-4(14)-en-1-one	1583	1577	2005	0,4	0,3	0,8	0,4	0,5	0,5	0,3	1,9	2	Ir, SM
42	lédol	1600	1602	2030	3,9	1,1	2,7	1	0,7	0,7	0,3	-	3,6	Ir, SM
43	1,10-di-epi-Cubénol	1610	1611	2054	0,6	0,3	0,4	0,3	0,6	0,3	1,2	2,0	0,3	Ir, SM
44	caryophylla-4(14),8(15)-dien-5-alpha ol	1626	1624	2285	0,9	2,1	0,6	0,6	2,4	3,4	0,7	3	2,2	Ir, SM
45	t-cadinol	1632	1638	2169	1,2	3,6	2,7	3,5	0,9	1,2	3,6	3,5	3,5	Ir, SM
46	α-cadinol	1645	1645	2231	3,6	5,2	3,8	2,3	3	6,7	7,1	7,4	7,6	Ir, SM
47	Eudesma-4(15)-7-dien-1-β-ol	1663	1672	2199	1,6	3,1	3	2,6	1,8	3,5	3,2	4,6	-	Ir, SM
48	α -bisabolol	1681	1667	2333	5,2	0,6	0,5	0,6	0,8	0,9	0,3	1,4	4,5	Ir, SM
49	14-hydroxy α -muuroène	1755	1759	2599	0,5	0,4	0,7	0,4	4,2	0,6	0,3	2,8	0,8	Ir, SM
50	14-hydroxy delta cadinène	1788	1784	2607	0,9	1,1	0,5	0,5	0,2	0,4	0,3	1,1	-	Ir, SM
51	Acide hexadécanoïque	1942	1941	2930	0,4	0,4	0,1	-	-	0,3	-	-	-	Ir, SM

52 Campesterolide*	2143	2970	10.2	15.4	31.5	30.6	13.3	17.3	15.5	14.1	35.3	Ir, SM, RMN
Taux d'identification	73,8	74,6	70,2	81,3	70,4	70,2	76,3	70,3	76,2			
Rendement	0,13	0,18	0,17	0,12	0,13	0,13	0,12	0,15	0,19			
composés hydrocarbonés	36,9	33,9	14,9	34,0	36,6	27,9	37,1	22,8	11,3			
Composés oxygénés	36,9	40,7	55,3	47,3	33,8	42,3	39,2	47,5	64,9			
Sesquiterpenes	60,4	54,2	34,5	44,7	51,4	49,6	55,2	47,28	39,6			
Sesquiterpènes oxygénés	27,9	25,8	23,8	17,8	23,5	25,4	23,9	36,17	31,4			
Sesquiterpènes hydrocarbonés	32,5	28,4	10,7	26,9	27,9	24,2	31,3	11,11	8,2			
Monoterpènes	1,9	3,8	2,7	5	4,4	2,1	4,7	8,01	0,4			
Composés non-terpéniques	11,5	16,6	33	31,6	14,6	18,5	16,4	14,96	36,2			

^a L'ordre d'élution donné sur colonne apolaire (Rtx-1)

^b Indices de rétention issue de la littérature donnés sur colonne apolaire

^c Indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1

^d Indices de rétention sur colonne polaire Rtx-wax

^e Pourcentages d'identification donnés sur colonne apolaire de l'huile collective des parties aériennes d'*E. triquetrum* HEColl.

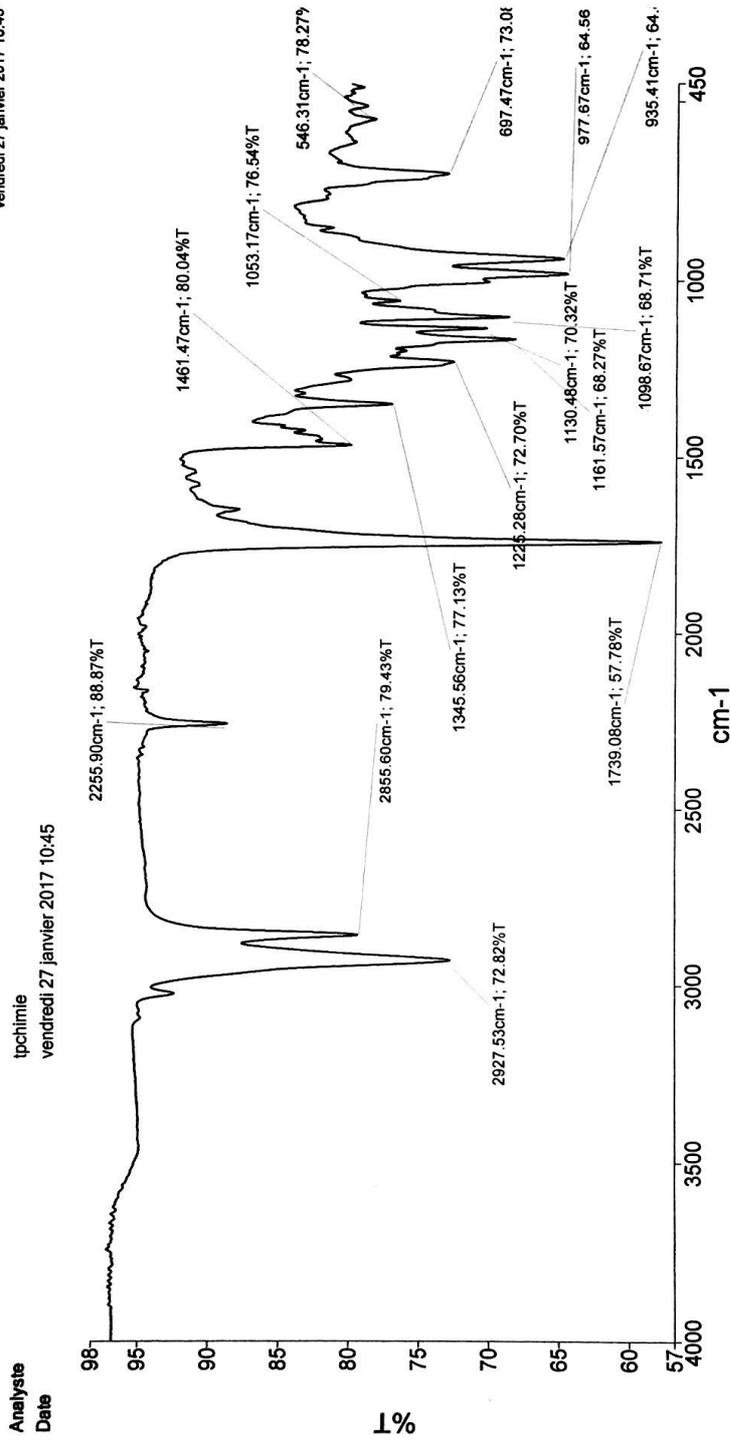
^f Huiles essentielles obtenues au cours du cycle végétatif (station S1)

^g Ir: Indice de rétention; SM: Spectre de Masse en impact électronique. Ref: Composés identifiés à l'aide de bibliothèques commerciales [99]

^h Pourcentages d'identification des huiles essentielles des 25 échantillons d'huiles essentielles d'*E. triquetrum* exprimer en Min et Max dans la dernière colonne

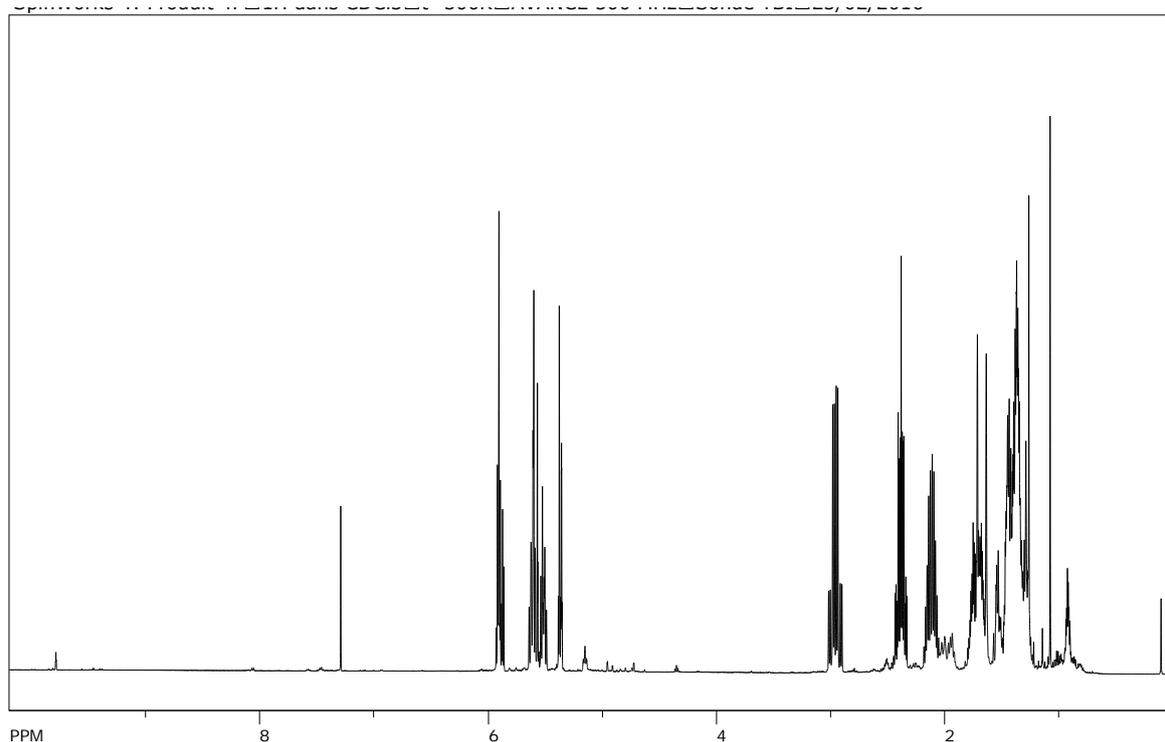
Annexe 7. Spectre Infra Rouge du campestrolide

PerkinElmer Spectrum Version 10.03.07
vendredi 27 janvier 2017 10:45



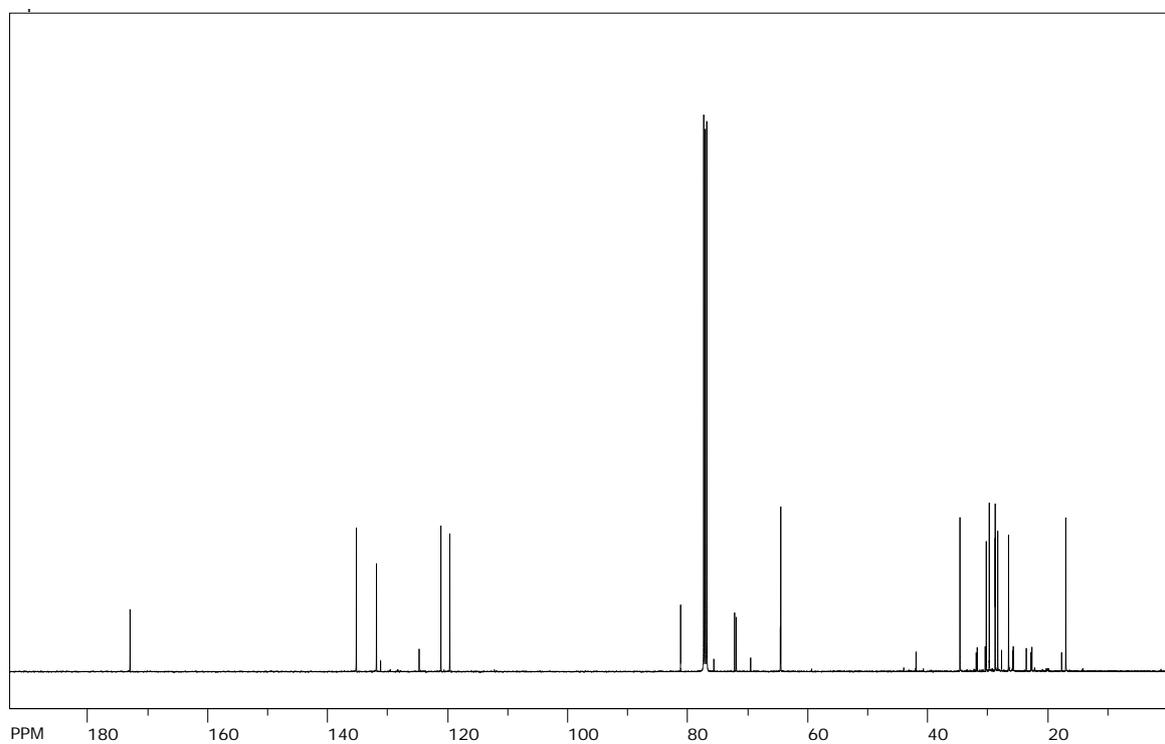
ERC HE T10-16 vendredi 27 janvier 2017 ALI

Annexe 8: Analyse RMN (1H, 13C, DEPT, HSQC, HMBC) du Campesterolide.



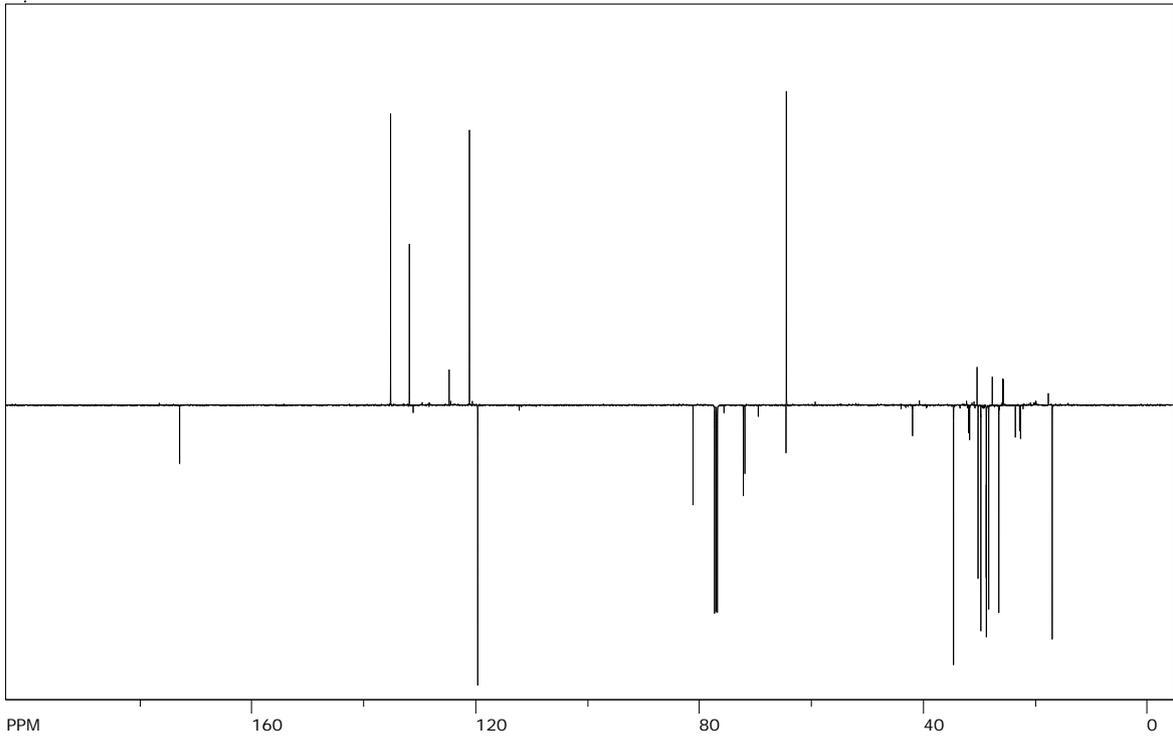
file: ...rolide\Produit_RMN\produit 4\1\fid exp: <zg>
transmitter freq.: 500.132505 MHz
time domain size: 39998 points
width: 6009.62 Hz = 12.0160 ppm = 0.150248 Hz/pt
number of scans: 4

freq. of 0 ppm: 500.130005 MHz
processed size: 32768 complex points
LB: 0.100 GF: 0.0000



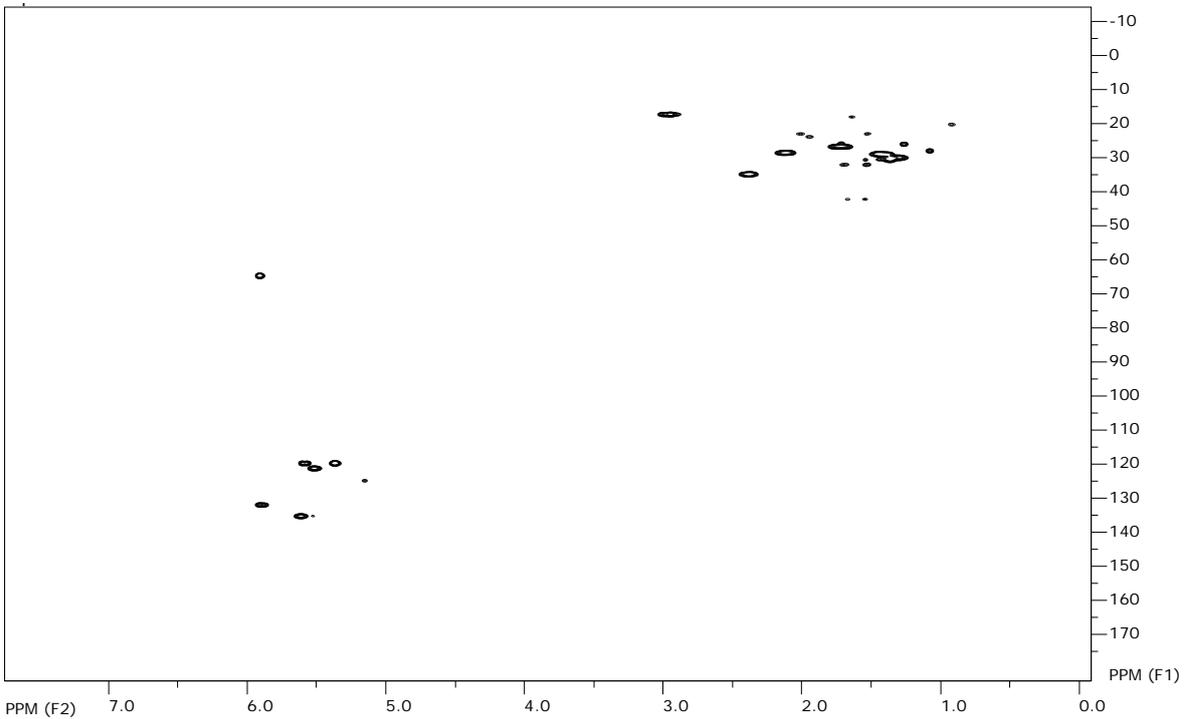
file: ...rolide\Produit_RMN\produit 4\2\fid exp: <zpgg30>
transmitter freq.: 125.770364 MHz
time domain size: 65536 points
width: 30030.03 Hz = 238.7687 ppm = 0.458222 Hz/pt
number of scans: 3072

freq. of 0 ppm: 125.757789 MHz
processed size: 32768 complex points
LB: 1.000 GF: 0.0000



file: ...rolide\Produit_RMN\produit 4\3\fid exp: <jmod>
 transmitter freq.: 125.770364 MHz
 time domain size: 65536 points
 width: 30030.03 Hz = 238.7687 ppm = 0.458222 Hz/pt
 number of scans: 3072

freq. of 0 ppm: 125.757789 MHz
 processed size: 32768 complex points
 LB: 1.000 GF: 0.0000

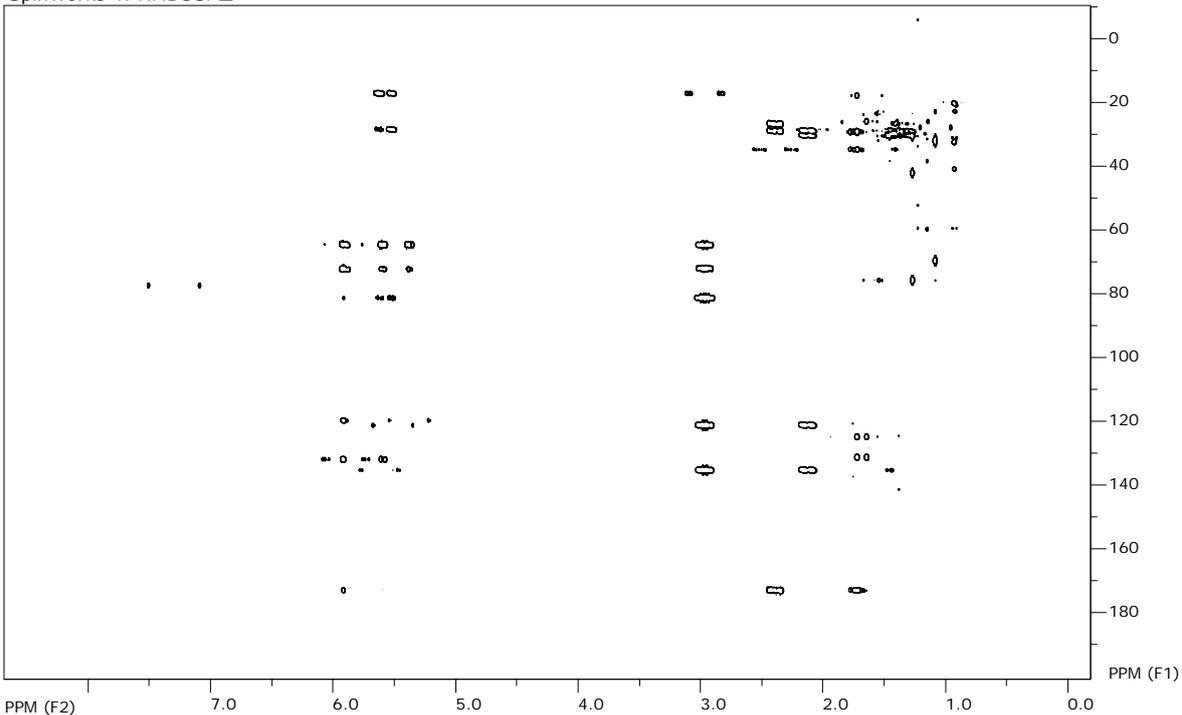


file: ...rolide\Produit_RMN\produit 4\4\ser
 exp: <hsqetgp>
 transmitter freq.: 500.132500 MHz
 time domain size: 1024 by 512 points
 width (F2): 6009.62 Hz = 12.0160 ppm = 5.8688 Hz/pt
 number of scans: 16

F2: freq. of 0 ppm: 500.1300050 MHz
 processed size: 1024 complex points
 window function: Sine Squared
 shift: 90.0 degrees

F1: freq. of 0 ppm: 125.7577890 MHz
 processed size: 1024 complex points
 window function: Sine Squared
 shift: 90.0 degrees

SpinWorks 4: HMBCGP



file: ...rolide\Produit_RMN\produit 4\5\ser
expt: <hmbcgp1pndqf>
transmitter freq: 500.133151 MHz
time domain size: 4096 by 307 points
width (F2): 6510.42 Hz = 13.0174 ppm = 1.5895 Hz/pt
number of scans: 16

F2: freq. of 0 ppm: 500.130000 MHz
processed size: 2048 complex points
window function: Sine
shift: 0.0 degrees

F1: freq. of 0 ppm: 125.7577890 MHz
processed size: 1024 complex points
window function: Sine
shift: 0.0 degrees

Annexe 9. Article: Chemical Composition and Biological Investigations of *Eryngium triquetrum* Essential Oil from Algeria.

A. Medbouhi, N. Merad, A. Khadir, M. Bendahou, N. Djabou, A. Muselli, J. Costa, « Chemical Composition and Biological Investigations of *Eryngium triquetrum* Essential Oil from Algeria », *Chem. Biodivers.*, vol. 15, n° 1, 2018.

Chemical Composition and Biological Investigations of *Eryngium triquetrum* Essential Oil from Algeria

Ali Medbouhi,^{a,b} Nadjiya Merad,^a Abdelmounaim Khadir,^c Mourad Bendahou,^c Nassim Djabou,^a Jean Costa,^b and Alain Muselli^{*b}

^aLaboratoire de Chimie Organique Substances Naturelles et Analyses (COSNA), Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université de Tlemcen, BP 119, Tlemcen 13000, Algeria

^bUMR CNRS 6134, Laboratoire Chimie des Produits Naturels (CPN), Université de Corse, Campus Grimaldi, BP 52, Corte 20250, France, e-mail: muselli@univ-corse.fr

^cLaboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE), Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen, BP 119, Tlemcen 13000, Algeria

The chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil obtained from *Eryngium triquetrum* from Algeria were studied. The chemical composition of sample oils from 25 locations was investigated using GC-FID and GC/MS. Twenty-four components representing always more than 87% were identified in essential oils from total aerial parts of plants, stems, flowers and roots. Falcarinol is highly dominant in the essential oil from the roots (95.5%). The relative abundance of falcarinol in the aerial parts correlates with the phenological stages of the plant. Aerial parts of *E. triquetrum* produce an essential oil dominated by falcarinol during the early flowering stage, and then there is a decrease in falcarinol and rebalancing of octanal during the flowering stage. To our knowledge, the present study is the first report of the chemical composition of *E. triquetrum* essential oil. Evaluation of the antibacterial activity by means of the paper disc diffusion method and minimum inhibitory concentration assays, showed a moderate efficiency of *E. triquetrum* essential oil. Using the DPPH method, the interesting antioxidant activity of *E. triquetrum* essential oil was established. These activities could be attributed to the dominance of falcarinol. The outcome of our literature search on the occurrence of falcarinol in essential oils suggests that *E. triquetrum* from Algeria could be considered as a possible source of natural falcarinol.

Keywords: Falcarinol, *Eryngium triquetrum*, Essential oils, Antibacterial activity, Antioxidant activity.

Introduction

The genus *Eryngium* L. (*Apiaceae* family) comprises more than 250 species distributed in temperate regions of all continents, mainly in Eurasia, North Africa and South America.^[1] Among them, *E. triquetrum* VAHL is an endemic species of northern Africa, distributed in all parts of Algeria, along with other species such as *E. dichotomum* DESF, *E. maritimum* L., *E. campestre* L., and *E. tricuspdatum*. The green perennial plant becomes a bluish-purplish color when ripe. The stems are branched from 20 to 40 cm with angular branches. The radical leaves are in a rosette form, first oblong, toothed or lobed. The stem leaves are semiamplexicaul, palmatipartite, and thorny. The involucre display three triangular bracts and few flowers.^[2] The species grows particularly well in rocky pastures. It was considered as a ruderal species, which the local people call 'choukzerk'.^[3] No traditional use

for this thorny plant has been reported by the Algerian population. However, *Eryngium* species are used as a folk remedy for the treatment of various inflammatory disorders, and as an emetic infusion,^[4] antidote for poisons, hypoglycemic agent^[5] and stimulant, aphrodisiac, antitussive and diuretic.^[6]

Species of *Eryngium* genus have been subjects of many phytochemical studies. The following have been reported as the main constituents of the solvents extracts: triterpene saponin,^{[7][8]} acetylenic compounds,^{[9][10]} and polyphenols.^[11] The essential oils of 36 *Eryngium* species have already been studied and the sample oils can be divided into two main chemical compositions according to their main components. The first group is characterized by oxygenated compounds including sesquiterpenes such as γ -cadinen-15-ol, spathulenol, sesquicineole, α -bisabolol, and *cis*-chrysanthenyl acetate,^[12–19] as well as nonterpenic compounds such as trimethylbenzaldehyde,

Table 1. Chemical compositions of the *Eryngium triquetrum* collective essential oil (EOcoll) and of individual samples oils (S1 – S25) prepared from plant material harvested in 25 locations of western Algeria

No. ^a	Component	<i>IRI_a</i> ^b	<i>RI_a</i> ^c	<i>RI_p</i> ^d	EOcoll ^e	Id. ^f	Sample oils ^g						
							Group I						
							S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
1	Heptane	700	703	700	0.5	<i>RI</i> , MS	0.1	0.2	0.3	tr	0.2	0.3	0.3
2	Hexanal	770	774	1055	0.3	<i>RI</i> , MS	0.2	0.1	0.1	tr	0.2	0.2	0.2
3	Heptanal	876	877	1187	0.9	<i>RI</i> , MS	tr	0.4	tr	tr	tr	tr	tr
4	Octanal	980	979	1531	9.1	<i>RI</i> , MS	1	2.5	1.2	2	1.8	2	1.8
5	(<i>E</i>)-2-Octenal	1036	1039	1416	1.2	<i>RI</i> , MS	tr	0.1	0.2	0.1	tr	0.1	0.1
6	1-Octanol	1058	1063	1394	tr	<i>RI</i> , MS	0.1	0.1	0.1	0.7	0.3	tr	tr
7	Nonan-2-one	1070	1077	1388	0.4	<i>RI</i> , MS	0.1	0.1	tr	tr	tr	tr	tr
8	Nonanal	1083	1081	1394	2.5	<i>RI</i> , MS	0.2	0.4	0.4	0.4	0.4	0.3	0.2
9	(<i>E</i>)-2-Nonenal	1136	1133	1530	0.9	<i>RI</i> , MS	0.3	0.3	0.6	0.4	0.4	0.2	0.2
10	(<i>Z</i>)-2-Nonen-1-ol	1158	1155	1688	0.1	<i>RI</i> , MS, Ref.	0.4	0.1	tr	tr	0.1	tr	tr
11	Octanoic acid	1173	1174	1866	1.1	<i>RI</i> , MS	tr	0.1	tr	0.2	0.1	tr	tr
12	1-Decen-3-ol	1172	1181	1643	1.7	<i>RI</i> , MS	tr	0.2	0.1	0.3	0.6	0.5	0.2
13	Decanal	1185	1183	1498	0.1	<i>RI</i> , MS	0.2	0.1	tr	tr	tr	tr	tr
14	3-Dodecen-1-yne	1120	1214	–	0.7	<i>RI</i> , MS	tr	0.1	0.1	tr	0.1	0.3	tr
15	Carvone	1222	1225	1739	0.2	<i>RI</i> , MS	tr	0.1	tr	tr	tr	tr	tr
16	(<i>E</i>)-2-Decanal	1248	1251	1652	1.1	<i>RI</i> , MS	0.2	tr	0.2	tr	tr	0.2	tr
17	(<i>E,E</i>)-2,4-Decadienal	1290	1289	1820	tr	<i>RI</i> , MS	0.3	0.1	0.1	tr	0.3	tr	tr
18	β -Ionone	1466	1454	1936	0.2	<i>RI</i> , MS	0.2	0.3	0.4	tr	0.2	0.1	tr
19	3,4-Dimethyl-5-pentyl-5H-furan-2-one	1481	1486	1495	1.1	<i>RI</i> , MS, Ref.	1.0	0.9	2.5	5.7	1.9	2.2	3
20	γ -Undecalactone	1533	1524	2266	0.7	<i>RI</i> , MS	0.2	tr	tr	tr	tr	tr	tr
21	Dodecanoic acid	1556	1547	2474	0.5	<i>RI</i> , MS, Ref.	tr	0.1	tr	tr	0.1	tr	tr
22	Hexadecanoic acid	1962	1968	2330	0.4	<i>RI</i> , MS	0.8	1.3	1.6	0.6	1.4	1.7	1.8
23	Falcarinol	2028	2026	3086	71.2	<i>RI</i> , MS, Ref.	90.6	87.1	83.6	84.6	86.9	86.9	85.1
24	α -Kaurene	2046	2049	2389	0.7	<i>RI</i> , MS	0.3	0.1	0.1	tr	0.1	0.1	tr
Total identification [%]					95.6		96.2	94.8	91.6	95.0	95.1	95.1	92.9
Oxygenated compounds					92.6		90.3	94.8	88.6	89.3	92.8	92.2	89.6
Hydrogenated compounds					3.0		2.2	1.4	3.0	5.7	2.3	2.9	3.3
Nonterpenic compounds					94.5		91.9	95.7	91.0	95.0	94.8	94.9	92.9
EO, yields [%] (w/w)							0.03	0.04	0.06	0.04	0.05	0.07	0.08

^a Order of elution is given on apolar column (*Rtx-1*). Bold types refer to main compounds. ^b Retention indices of literature on the apolar column (*IRI_a*). ^c Retention indices on the apolar *Rtx-1* column (*RI_a*). ^d Retention indices on the polar *Rtx-Wax* column (*RI_p*). ^e EOcoll: Collective oil sample of *E. triquetrum*. Quantification was carried out using *RFs* relative to tridecane as internal standard. %: Normalized Percentages are given on the apolar column except for components with identical *RI_a* (percentages are given on the polar column), tr = trace (< 0.05%). ^f *RI*: Retention Indices; MS: Mass Spectrometry in electronic impact mode. ^g Sample oils: List maximal normalized percentages abundances from the 25 sample oils are given on the apolar column except for components with identical *RI_a* (percentages are given on the polar column), tr = trace (< 0.05%). The oils of samples S1 – S25 as minimum content (*S_{min}*), maximum content (*S_{max}*). Ref.: comparison with literature data. All compounds were identified by comparing their E the in-house library, except falcarinol (**23**), dodecanoic acid (**21**), 3,4-dimethyl-5-pentyl-5H-furan-2-one (**19**), and 3-undecen-1-yne (**12**), identified from MS literature data.^[52]

(*E*)-2-dodecenal, linear acids,^{[12][19–33]} and polyacetylenes.^{[20][21][29]} The second group includes sample oils with terpenic hydrocarbon compounds such as germacrene D, bicyclogermacrene, γ -muurolene, and *trans*-caryophyllene.^{[22][23][32][34–41]}

To our knowledge, *E. triquetrum* essential oil has not yet been investigated. However, two studies deal with the occurrence, in solvent extracts of

E. triquetrum from Algeria, of flavonol glycosides,^[42] lignans, and polyacetylenes.^[3] Polyacetylenes and especially falcarinol is known as highly bioactive compound exhibiting remarkable cytotoxic activity,^{[43][44]} anti-inflammatory,^[45] antibacterial,^[46–48] and a very strong antifungal potential.^{[49][50]} It has also a protective effect on the Amyloid β protein, the central constituent of senile plaques in *Alzheimer's* disease.^[51] As

																	S _{min}	S _{max}	
Group II									Group III										
S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25		
0.9	1.2	0.4	0.8	1.4	1.2	1.1	0.5	0.6	1.4	1.0	1.4	1.3	1.1	0.1	0.9	0.7	0.9	0.1	1.4
0.2	0.2	tr	tr	tr	0.1	0.4	0.2	0.5	0.2	0.3	tr	1.0	0.6	0.2	0.6	1.6	0.2	0.1	1.6
tr	0.6	0.3	0.6	0.4	0.6	tr	tr	tr	0.8	1.1	1.0	tr	1.1	0.9	1.3	tr	0.6	0.2	1.3
3.7	7.3	3.9	5.4	7.7	7.7	5.6	4.1	5.6	10.4	12.1	11.9	11.6	12.1	10.3	10.5	12.6	12.8	1	12.8
0.3	tr	0.1	tr	tr	tr	0.1	0.5	0.2	0.2	0.3	tr	tr	0.2	0.5	tr	tr	tr	0.1	0.5
0.1	0.1	0.5	0.1	0.2	0.1	tr	0.2	tr	0.3	2.0	0.3	tr	0.2	0.2	0.3	0.3	0.1	0.1	2
tr	0.2	0.1	tr	0.3	tr	0.3	0.3	0.3	tr	tr	0.1	0.3							
0.3	0.6	0.7	0.5	0.6	0.9	0.7	0.4	0.8	1.1	1.7	1.2	1.4	1.2	0.9	1.4	1.6	tr	0.2	1.7
0.4	0.5	0.7	0.4	0.7	0.6	0.8	0.4	0.5	0.8	1.4	1	0.9	1.2	0.7	1	1.1	1	0.2	1.4
tr	0.5	0.5	0.5	0.7	0.7	0.2	tr	0.2	tr	0.6	0.9	tr	1.0	0.9	0.4	0.1	0.3	0.1	1.0
tr	0.2	0.2	0.2	0.3	tr	0.2	tr	tr	0.4	tr	0.5	tr	0.5	0.4	0.4	tr	tr	0.1	0.5
0.2	0.1	0.1	0.3	0.1	0.3	0.5	0.6	0.7	0.5	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.5	0.4	0.1	0.1	0.7
tr	0.1	0.1	tr	0.1	0.1	tr	0.1	0.1	tr	tr	1.0	0.1	1.0						
0.4	0.4	0.1	0.7	0.7	0.4	0.4	0.2	0.5	0.7	0.6	0.6	0.7	0.4	0.8	0.4	tr	0.9	0.1	0.9
0.4	0.1	0.1	0.1	0.2	tr	tr	tr	0.5	0.7	0.4	0.8	tr	0.2	0.7	tr	tr	tr	0.1	0.8
tr	0.1	0.4	0.1	0	0.2	0.5	tr	tr	0.2	0.3	tr	tr	0.3	0.2	0.7	tr	1	0	1
0.1	0.1	0.4	0.1	0.7	tr	0.2	tr	tr	tr	tr	0.1	0.7							
0.2	0.1	0.3	0.1	0.3	tr	0.5	tr	0.3	0.4	0.4	0.5	0.6	0.2	0.5	0.4	tr	tr	0.1	0.6
2	1.1	1.0	1.2	1.4	1.5	2.2	1.4	2.7	1.9	2.6	2.0	3.8	1.1	1.1	1.9	1.0	1.2	0.9	5.7
tr	0.1	tr	tr	0.1	tr	0.1	tr	tr	tr	tr	0.1	0.1							
tr	0.1	0.2	tr	tr	tr	0.5	tr	tr	tr	tr	tr	tr	0.1	tr	tr	tr	tr	0.1	0.5
2.6	0.1	2.0	2.5	3.7	2.8	2.9	0.5	1.9	2.8	2.4	2.8	1.7	3.2	2.8	2.6	2.3	2.0	0.1	3.7
78.4	78.2	79.9	78.3	71.4	73.2	73.4	78.2	74.8	67.7	63.5	65.5	68.1	65.7	69.7	66.7	69	68.9	63.5	90.6
0.2	0.1	0.2	0.2	0.3	0.1	tr	tr	0.3	0.3	0.3	0.4	tr	0.2	0.3	0.3	tr	tr	0.1	0.4
90.4	92.1	92.2	92.1	91.3	90.5	90.0	87.2	90.1	90.8	91.2	90.9	91.2	91.4	91.7	90.6	90.7	91.0	87.2	96.2
86.9	89.3	90.5	89.2	87.5	87.3	86.3	85.1	86.0	86.5	86.7	86.5	85.4	88.6	89.4	87.1	89	88.0	85.1	93.5
3.5	2.8	1.7	2.9	3.8	3.2	3.7	2.1	4.1	4.3	4.5	4.4	5.8	2.8	2.3	3.5	1.7	3.0	1.3	5.8
89.6	91.8	91.6	91.7	90.5	90.4	89.5	87.2	89.0	89.4	90.1	89.2	90.6	90.8	90.2	89.9	90.7	91.0	87.2	95.0
0.04	0.10	0.02	0.08	0.08	0.05	0.03	0.03	0.02	0.06	0.06	0.11	0.03	0.03	0.06	0.04	0.04	0.04	0.02	0.11

falcarinol have been produced by multi-steps enantioselective synthesis,^[52] identifying possible valuable natural sources of this phytochemical from plant essential oils presents an interesting challenge. In the *Eryngium* genus, only once has falcarinol been identified as the main component, in *E. planum* essential oil from Poland (64%).^[21] The occurrence of falcarinol (never more than 10%) has been mentioned in the essential oils of *E. barrelieri* and *E. glomeratum* from Tunisia,^[12] *E. foetidum* from Vietnam^[20] and *E. yuccifolium* from Algeria.^[10]

In the present study, the chemical composition of the essential oil of *E. triquetrum* harvested in north-west Algeria was investigated using GC-FID and GC/MS analyses. The normalized percentage abundance of falcarinol was particularly pointed in the essential oils prepared from the total aerial parts and from the separated organs (stems, flowers and roots) of the

plant. The occurrence of falcarinol was also studied in the essential oils prepared from plants harvested consecutively during the plant vegetative cycle. The study was complemented by a study of the variability of 25 sample oils obtained from different locations in north-west Algeria. Finally, the antibacterial and antioxidant activities of the falcarinol-rich essential oil of *E. triquetrum* were evaluated.

Results and Discussion

Composition of *E. triquetrum* Essential Oils

The sampling of plant material in the 25 locations of north-west Algeria has allowed the determination of the species with large availability. Hydrodistillation from the fresh aerial parts of the 25 Algerian samples yielding (*w/w*) 0.02 – 0.11% (means 0.05%) of the red essential oils. The yields of essential oils

were given for all analysed samples in *Tables 1* and *2*. All essential oils were first analysed by both GC-FID and GC/MS, then a collective oil sample (EOColl) obtained from a pool of all *E. triquetrum* sample oils were produced. GC-FID and GC/MS analyses of the EOColl sample and subsequent fractions obtained by column chromatography allowed the identification of 24 components, accounting for 93.2% of the total composition. The essential oil contains mostly linear oxygenated compounds (92.6%), dominated by falcariinol (71.2%), followed by octanal (9.1%), and nonanal (2.5%). Twenty components were identified by comparison of their retention indices and mass spectra with those in a 'home-made' mass spectral library. Four other compounds were identified by comparison of their retention indices and mass spectra with those of literature mass spectral libraries.^{[53][54]}

The chemical compositions of 25 individual essential oils obtained from plant specimens harvested from different locations in western Algeria, were investigated to identify the environmental parameters (weather, soil composition...) involved in the chemical variability of the essential oils. The normalized percentage abundances of the components of the 25 sample oils are tabulated in *Table 1*. An analysis of the results revealed that quantitative variations in the oil components were not linked to the geographical locations of harvest. Indeed, the very close chemical compositions of the sample oils obtained from plant material harvested from different locations at the same vegetative stages (S1 – S9, S10 – S17 and S18 – S25, respectively) demonstrated that parameters such as altitude, soil composition and climatic conditions were weakly involved in the chemistry of the plant. Conversely, analysis of the chemical data acquired during the total vegetative cycle showed that the chemical composition of the plant essential oil seems to be linked to the phenological state of the plant. As seen in *Tables 1* and *3*, the oil samples were distributed in three groups according to the maturity of the plant. Group I includes seven sample oils (S1 – S7) with the highest amounts of falcariinol (83.6 – 90.6%) and lowest amounts of octanal (1.0 – 2.5%). Groups II and III include 18 sample oils (S8 – S16 and S17 – S25, respectively). They differed from Group I in that they had lower amounts of falcariinol (means 76.2% and 67.2%) and higher amounts of octanal (means 5.7% and 11.6%), respectively. The seven sample oils of the Group I were obtained from plant material harvested before the flowering stage, while all the other essential oils were prepared from plant material harvested during the flowering stage.

Composition of E. triquetrum Essential Oils during the Complete Vegetative Cycle and from Separate Plant Organs

In efforts to gain more knowledge about the plant ecology, the seasonal variation of *E. triquetrum* essential oil and the essential oil compositions from separate plant organs were investigated. The chemical compositions of four sample oils obtained during the vegetative cycle of the specimen harvested in the S1 location were investigated (*Table 2*).

The yield of essential oil was lower at the beginning of the vegetative cycle (0.02%, w/w) and it is higher during the flowering stage (0.09%, w/w). Falcariinol (90.6%) dominated in the sample oil produced before the flowering stage (May 05); this was coupled with decreased levels in the three other essential oils, produced when the plant was in full bloom.

During the full bloom period, a decrease in falcariinol was coupled with an increase in octanal (maximum 34.0%) in the essential oil obtained at the end of the study period (July 01), *i.e.*, just before the total disappearance of the plant. The secondary metabolite production of *E. triquetrum* seems to be linked to the plant ecology. As falcariinol is known to be a natural pesticide,^[55] its production during the early flowering stage could be considered as a means of defence. Then, during the flowering period, the plant produces volatile compounds such as octanal, hexyl acetate, (*Z*)-3-hexenyl acetate, and (*Z*)-3-hexen-1-ol, which act as insect attractants during the pollination process.^[56]

The chemical compositions of the essential oils produced by separate plant organs harvested during full bloom and before plant death were also investigated (see *Table 2*). The flowers were the most aromatic organs, with an essential oil yield of 0.1%, against 0.05% for the stems and roots, respectively. Concerning the plant chemistry, two types of essential oils are produced by *E. triquetrum*. Falcariinol (39.6% and 36.5%) and octanal (28.5% and 32.7%) were the two main components of the stems' and flowers' essential oils, respectively. Falcariinol (91.5%) was the main component of the root oil.

Falcariinol-rich Essential Oil: Comparison with Literature Data

Except for the essential oil of *E. planum* from Poland (64% falcariinol), the essential oils from the *Eryngium* species are not a good source of falcariinol. As *E. triquetrum* from Algeria is a falcariinol-rich essential oil, a literature study that focused on the abundance of falcariinol in the essential oils was carried out (see

Table 2. Chemical compositions of *Eryngium triquetrum* collective essential oil (EOcoll), minimal and maximal contents (S_{\min} , S_{\max}) of components from 25 individual sample oils, seasonal variation of the oil-component contents during the studied period (May and June) and essentials oils from the separated plant organs (flowers, stems, and roots) of *E. triquetrum* sample S1

No. ^a	Component	$ RI_a^b $	RI_a^c	RI_p^d	EOcoll ^e	AP ^f (S1 – S25)		Seasonal variations ^g				Plant organs ^h			Identification ⁱ	
						S_{\min}	S_{\max}	1st	2nd	3rd	4th	Flowers	Stems	Roots		
1	Heptane	700	703	700	0.5	0.1	1.4	0.1	1.4	2.1	2	tr	tr	tr	0.1	RI, MS
2	Hexanal	770	774	1055	0.3	0.1	1.6	0.2	0.3	tr	0.1	0.6	0.4	–	–	RI, MS
3	Heptanal	876	877	1187	0.9	0.2	1.3	tr	0.9	0.9	tr	1.7	2.3	0.1	0.1	RI, MS
4	Octanal	980	979	1531	9.1	1.2	12.8	1.0	14.1	22.8	34.0	28.5	32.7	0.6	0.6	RI, MS
5	(E)-2-Octenal	1036	1039	1416	1.2	0.1	0.5	tr	0.1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	RI, MS
6	1-Octanol	1058	1063	1394	tr	0.1	2	0.1	1.1	tr	tr	tr	tr	tr	tr	RI, MS
7	Nonan-2-one	1070	1077	1388	0.4	0.1	0.3	0.1	tr	0.2	0.1	tr	tr	tr	tr	RI, MS
8	Nonanal	1083	1081	1394	2.5	0.2	1.7	0.2	1.4	1.3	1.7	5.9	2.3	0.1	0.1	RI, MS
9	(E)-2-Nonenal	1136	1133	1530	0.9	0.2	1.4	0.3	1.1	1.3	4	1.5	2	0.2	0.2	RI, MS
10	(Z)-2-Nonen-1-ol	1158	1155	1688	0.1	0.1	1.0	0.4	1.4	2.2	1.8	1.5	tr	tr	tr	RI, MS, Ref.
11	Octanoic acid	1173	1174	1866	1.1	0.1	0.5	tr	0.5	0.5	0.3	tr	tr	tr	0.4	RI, MS
12	1-Decen-3-ol	1172	1181	1643	1.7	0.1	0.7	tr	0.2	0.3	tr	tr	tr	tr	tr	RI, MS
13	Decanal	1185	1183	1498	0.1	0.1	1.0	0.2	tr	0.1	0.5	1.0	0.5	tr	tr	RI, MS
14	3-Dodecen-1-yne	1120	1214	–	0.7	0.1	0.9	tr	0.6	1.0	2.5	3.7	0.9	0.5	0.5	RI, MS
15	Carvone	1222	1225	1739	0.2	0.1	0.8	tr	1.0	1.6	1.7	tr	tr	tr	tr	RI, MS
16	(E)-2-Decanal	1248	1251	1652	1.1	Tr	1.0	0.2	0.3	0.4	0.8	2.0	2.2	0.3	0.3	RI, MS
17	(E,E)-2,4-Decadienal	1290	1289	1820	tr	0.1	0.7	0.3	0.4	tr	tr	tr	tr	tr	tr	RI, MS
18	β -Ionone	1466	1454	1936	0.2	0.1	0.6	0.2	0.2	0.6	0.9	2.3	0.2	0.1	0.1	RI, MS
19	3,4-Dimethyl-5-pentyl-5H-furan-2-one	1481	1486	1495	1.1	0.9	5.7	1.0	1.6	1.7	2.2	2.3	8.5	0.3	0.3	RI, MS, Ref.
20	γ -Undecalactone	1533	1524	2266	0.7	0.1	0.1	0.2	0.2	0.3	tr	0.2	tr	0.2	0.2	RI, MS
21	Dodecanoic acid	1556	1547	2474	0.5	0.1	0.5	tr	0.4	0.1	0.3	tr	0.1	tr	tr	RI, MS, Ref.
22	Hexadecanoic acid	1962	1968	2330	0.4	0.1	3.7	0.8	3.9	3.6	4.1	0.6	0.2	1.4	1.4	RI, MS
23	Falcarinol	2028	2026	3086	71.2	63.5	90.6	90.6	59.6	49.5	39.2	39.6	36.5	91.5	91.5	RI, MS, Ref.
24	α -Kaurene	2046	2049	2389	0.7	0.1	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	0.2	0.4	0.1	0.1	RI, MS
	Total identification %															
	Oxygenated compounds				95.6	87.2	96.2	96.2	91.0	90.9	96.7	91.6	89.2	95.9	95.9	
	Hydrocarbon compounds				92.6	85.1	93.5	94.8	87	85.7	89.6	85.4	79.4	94.9	94.9	
	Non-terpene compounds				3.0	1.3	5.8	1.4	4.0	5.2	7.1	6.2	9.8	1.0	1.0	
	EO yields [%] (w/w)				94.5	87.2	95	95.7	89.4	88.3	93.7	89.1	88.6	95.7	95.7	
					0.02	0.11	0.02	0.02	0.05	0.04	0.09	0.1	0.05	0.05	0.05	

^a Order of elution is given on apolar column (Rtx-1). Bold types refer to main compounds. ^b Retention indices of literature on the apolar column (RI_a). ^c Retention indices on the apolar Rtx-1 column (RI_a). ^d Retention indices on the polar Rtx-Wax column (RI_p). ^e EOcoll: Standard sample of *E. triquetrum* essential oil. Quantification was carried out using RI s relative to tridecane as internal standard. %: Normalized Percentages are given on the apolar column except for components with identical RI_a (percentages are given on the polar column). tr = trace (< 0.05%). ^f AP: Essential oils obtained from aerial parts from specimens harvested in 25 locations (S1 – S25). S_{\min} : minimum content and S_{\max} : maximum content. ^g Essential oils obtained during vegetative cycle (sample S1): Dates of harvest: 1st: 05/05/2016. 2nd: 20/05/2016. 3rd: 15/06/2016. 4th: 01/07/2016. ^h Essential oils obtained from separate plant organs (sample S1). ⁱ RI: Retention Indices; MS: Mass Spectrometry in electronic impact mode; Ref. comparison with literature data. All compounds were identified by comparing their EI-MS and retention indices with references compiled in the in-house library, except falcarinol (**23**), dodecanoic acid (**21**), 3,4-dimethyl-5-pentyl-5H-furan-2-one (**19**) and 3-undecen-1-yne (**12**).^[52]

Table 3. Geographical distribution and periods of harvest of *Eryngium triquetrum* samples (S1 – S25) from western Algeria

No. ^a	Plant-vegetative stages & Period of harvest ^b	Locations of harvest ^c	GPS ^d		Alt. ^e
			Latitude	Longitude	
S1	Before flowering beginning, 2016/5/5 – 9	Bouhanak	35°08'16.22"N	1°25'20.67"O	313
S2		Ouled bouayad	35°13'24.16"N	1°28'33.50"O	189
S3		Bni boublène	34°51'58.21"N	1°23'28.45"O	806
S4		El abed	34°28'17.03"N	1°40'51.06"O	1304
S5		Souk lethinin	35°10'52.87"N	1°32'50.97"O	291
S6		Ouled bouayad	35°11'49.55"N	1°27'13.03"O	60
S7		Ain leftouch	34°40'40.15"N	1°31'14.91"O	654
S8		Ain fezza	34°52'37.96"N	1°14'07.62"O	853
S9		Souk lekhmiss 1	35°10'52.87"N	1°32'50.97"O	289
S10		Ouchba	34°52'23.11"N	1°10'12.52"O	788
S11	Early-flowering, 2016/5/14 – 23	El khmiss	34°38'02.70"N	1°33'53.48"O	848
S12		Borj arima	35°04'59.59"N	1°33'19.41"O	251
S13		Sidi 3mar	35°07'27.99"N	1°36'47.82"O	533
S14		Boukio	34°59'45.07"N	1°33'45.00"O	225
S15		Maifrouch	34°50'59.19"N	1°17'46.06"O	1125
S16		Mefrouch	34°50'59.19"N	1°17'46.06"O	1108
S17		Bensekrane	35°04'34.44"N	1°13'33.81"O	319
S18		Remchi	35°04'05.16"N	1°25'41.41"O	175
S19	Flowering, 2016/5/28 – 2016/6/4	Bab elaassa	34°58'04.95"N	2°02'04.08"O	395
S20		Bab el aassa	34°58'48.03"N	2°01'58.04"O	1380
S21		Nedroma	35°00'38.53"N	1°45'11.01"O	356
S22		Amir abdekader	35°12'25.18"N	1°23'39.01"O	94
S23		Bni aad	34°52'01.31"N	1°11'03.84"O	858
S24		Sekkak	35°06'18.69"N	1°05'49.63"O	288
S25		Ain el kbira	35°02'32.70"N	1°40'09.43"O	437

^a Sample codes. ^b Sampling by phenological state. ^c Harvest localities. ^d GPS coordinates. ^e Altitudes (m).

Supporting Information and attached references). Falcarinol has been found in nine botanical families, including 53 genera and 71 species. It is predominant (up to 70%) in the root essential oils of Serbian *Seseli rigidum* and Chinese *Panax vietnamensis*. Falcarinol has also been found in the essential oils prepared from the total aerial parts of plants, but always in lower amounts.

Our literature study revealed the occurrence of falcarinol as the main oil component in several species, however, only the root essential oils of *S. rigidum* and, to a lesser extent, *P. vietnamensis* could be considered as natural sources of falcarinol. As the essential oils of both the aerial parts and the roots of *E. triquetrum* from Algeria were dominated by falcarinol, this plant seems to be a good candidate to produce natural falcarinol.

Biological Activities

Growth Inhibition of Bacteria by the Essential Oil. Results of the determination of the susceptibility of Algerian *E. triquetrum* essential oil, using the agar diffusion method, and minimum inhibitory concentrations (MIC) against five Gram-positive and three Gram-negative strains are presented in Table 4. The sample oil (S1) used for this test contained 90.6% of falcarinol. As seen in the table 4, the diameters of the inhibition zones of the studied sample oil ranged from 6 to 22 mm (10 – 21 mm for the antibiotic used as reference). *E. triquetrum* essential oil has a moderate activity against *S. aureus* ATCC 25923 (Gram-positive) and *P. aeruginosa* ATCC 27853 (Gram-negative) with inhibition diameters of 18 and 22 mm respectively, vs. 10 and 21 mm for the antibiotic gentamicin, respectively. The other strains showed a resistance against *E. triquetrum* essential oil. With inhibition diameter of 6 vs. 18 mm for the antibiotic of reference, *B. cereus* ATCC 11778 was the most resistance Gram-positive strain.

The MIC values of the essential oil were measured at 125 µg/ml for two Gram-positive and two Gram-negative bacteria, such as *L. monocytogenes* ATCC 19115, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 and *K. pneumoniae* ATCC 70603, respectively. Results of disk diffusion experiments indicated that *B. cereus* ATCC 11778 exhibited the strongest resistance.

The present results may be explained by the high incidence of falcarinol (90.6%) in the essential oil tested. As reported in the literature, the falcarinol-rich essential oil produced by the roots of *S. rigidum* exhibits significant antimicrobial activity against *S. aureus*,

S. epidermidis, *Micrococcus luteus*, and *Enterococcus faecalis*. Activity against *S. aureus* can be attributed to falcarinol.^[47] In the same way, falcarinol is responsible for the good antibacterial activity against *S. aureus*, *Bacillus lentus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia* and *Morganella morganii* of the *Calycotome villosa* methanol extract.^[57]

Antioxidant Activity

The BuOH extract of *E. triquetrum* has been shown to have good radical scavenging activity.^[42] In the present study, the antioxidant activity of *E. triquetrum* essential oil was evaluated using the DPPH method, for the first time. The DPPH scavenging ability of the essential oil was expressed as IC₅₀ values, defined as the concentrations providing 50% scavenging of the free radicals, with lower IC₅₀ values reflecting better antioxidant activity. *E. triquetrum* essential oil exhibited interesting DPPH scavenging ability with an IC₅₀ value of 28.68 µg/ml, which is close to the reference BHT, IC₅₀ 17.90 µg/ml. As reported in literature,^{[58][59]} the radical scavenging ability of the essential oil could be attributed to the occurrence of falcarinol which was the predominant oil component.

Conclusions

The present study describes the chemical composition of Algerian *E. triquetrum* essential oil dominated by falcarinol, a C₁₇ polyacetylene with interesting biological activities. GC-FID and GC/MS analyses identified variations in the oil compositions among plant organs and according to the vegetative state of the plant. Our study of 25 individual sample oils showed that the chemical composition of *E. triquetrum* is essentially related to the phenological state of the plant. *E. triquetrum* during the early flowering stage produces an essential oil dominated by falcarinol, then during the flowering stage there is a decrease in falcarinol and rebalancing of octanal. The root essential oil is clearly dominated by falcarinol. The highest occurrence of falcarinol confers to *E. triquetrum* essential oil biological activities such as moderate antimicrobial activity and interesting antioxidant activity.

The present study describes the chemical composition of the *E. triquetrum* essential oil for the first time. Our studies have produced further knowledge about the secondary metabolite production that occurs during the plant life; thus, our data could be relevant for possible further use. Algerian *E. triquetrum* essential oil could be considered as a possible source of natural falcarinol.

Table 4. Antimicrobial activities of *E. triquetrum* essential oil expressed by the diameter inhibition zones and MIC values ($\mu\text{g/ml}$)

Strain	Diameters [mm]		MIC [$\mu\text{g/ml}$]	
	Essential oil	ATB GENT	Essential oil	ATB GENT
<i>Gram-positive</i>				
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	14	19	250	4
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	6	18	ND	4
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	17	20	125	2
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	15	20	250	4
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	22	21	125	2
<i>Gram-negative</i>				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	18	10	125	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	17	20	125	4
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	13	21	250	4

^a MIC, minimum inhibitory concentration (given as $\mu\text{g/ml}$); ATB, antibiotics; GENT, gentamycin (15 μg); ND, not determined.

Experimental Section

Plant Material

The fresh aerial parts of *E. triquetrum* were harvested from May to June 2016, during the vegetative cycle of the plant, from 25 localities of northwest Algeria (Samples S1 – S25). Stems and flowers were separated from the total aerial parts, to study their specific essential oils. For the study of seasonal variations, the fresh aerial parts were harvested each 2 weeks (from early May until early July 2016) from plants growing in Bouhanak (S1). The botanical identification was performed by the botanic department of the University of Tlemcen (Algeria), and voucher specimens have been deposited in the same institution. The sample numbers, their geographical origins, the dates of harvest, and the voucher codes of each specimen analyzed are listed in Table 3.

Essential Oil Isolation

The essential oil extractions were performed using a Clevenger-type apparatus according to the method recommended in the European Pharmacopoeia.^[60] 200 – 500 g of fresh plant was subjected to hydro-distillation. The yields of essential oils were given for all analysed samples in Tables 1 and 2.

Oil Fractionation

E. triquetrum collective oil was obtained by the mixture of individual essential oils prepared from plant material harvested in 25 Algerian locations. A portion of 920 mg of essential oil was submitted to chromatography on a silica gel column (200 – 500 μm , 12 g, Clarisep® Bonna Agela Technologies, Willington,

USA) using an Automatized Combi Flash apparatus (Teledyne ISCO, Lincoln, USA) equipped with a fraction collector monitored by an UV detector. Solvents of elution were hexane (A) and diisopropyl ether (B) allowed to obtain five fractions (a – e) with a gradient of elution: a (A: 100%; B: 0%), b (A: 98%; B: 2%), c (A: 95%; B: 5%), d (A: 90%; B: 10%), e (A: 0%; B: 100%).

GC Analysis

The GC analyses were carried out using a Perkin Elmer Clarus 600 apparatus (Walton, MA, USA) equipped with a single injector and two flame-ionization detectors (FIDs) for simultaneous sampling to two fused-silica cap. columns (60 m \times 0.22 mm i.d., film thickness 0.25 μm ; Restek, Bellefonte, PA, USA) with stationary phases of different polarity, i.e., a nonpolar Rtx-1 (polydimethylsiloxane) and a polar Rtx-Wax (polyethylene glycol) column. The oven temperature was programmed rising from 60 $^{\circ}\text{C}$ to 230 $^{\circ}\text{C}$ at 28 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ and then held isothermal at 230 $^{\circ}\text{C}$ for 30 min; injector temperature, 280 $^{\circ}\text{C}$; detector temperature, 280 $^{\circ}\text{C}$; carrier gas, H_2 (0.7 ml/min); split ratio, 1:80; injection volume, 0.1 ml. The retention indices (RIs) of the compounds were determined rel. to the retention times (t_{R}) of a series of *n*-alkanes (C_5 – C_{30}); commercial soln. obtained from Restek, Bellefonte, PA, USA) using the equation of Van den Dool and Kratz.^[59]

GC/MS Analysis

The essential oils and the fractions obtained by columns chromatography (CC) were investigated using a Perkin Elmer TurboMass quadrupole detector

directly coupled to a *Perkin Elmer AutoSystem XL* (Walton, MA, USA) equipped with the two same fused-silica capillary columns as described above. Both columns were used with the same MS detector. The analyses were consecutively carried out on the nonpolar and the polar column. Hence, for each sample, two reconstructed ionic chromatograms (RIC) were provided, which were investigated consecutively. The GC conditions were the same as described above, and the MS parameters were as follows: ion-source temperature, 150 °C; ionization energy, 70 eV; EI-MS spectra acquired over a mass range of 35 – 350 amu during a scan time of 1 s. The injection volumes for the oil and the fractions were 0.1 and 0.2 ml, respectively.

Compound Identification

The identification of individual components was based i) on the comparison of the retention indices (RIs) determined on the polar and nonpolar columns with those of authentic compounds or literature data,^[54] ii) on computer matching of the mass spectra with commercial mass-spectral libraries and on the comparison of the mass spectra with those listed in our home-made library built of mass spectra of authentic compounds or literature data.^[60]

Compound Quantification

Quantification of the oil components was performed using the methodology reported by *Bicchi et al.*,^[61] and adapted in our laboratory.^[62] Briefly, the compound quantification was carried out using peak normalization, including FID response factors (RFs) rel. to tridecane (0.7 g/100 g) used as internal standard, and expressed as normalized contents (% abundances).

Microbial Strains

Eight reference strains were used, including five *Gram*-positive bacteria: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus cereus* ATCC 11778 and *Listeria monocytogenes* ATCC 19115. Three *Gram*-negative bacteria: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Preparation of Inoculum

The pure strains were inoculated into tubes containing 5 ml of Brain Heart Infusion (*CondaPronadisa*TM, Spain)

and then incubated at 37 °C for 18 h. A concentration of 0.5 *McFarland* has been adjusted and which corresponds to 10⁷ CFU/ml according to the Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI.^[63]

Sensitivity Tests – Disc Diffusion Method

The susceptibility of strains to the essential oil was tested according to the method described by *Bauer and Kirby*.^[64] A culture of 18 – 24 h of the tested strains on *Müller–Hinton* broth was prepared at a concentration of 10⁷ CFU/ml and then seeded on *Müller–Hinton* agar (*FlukaBioChemika*, Spain) as recommended by CLSI.^[65] A sterile disc of 6 mm diameter impregnated with 5 µl of essential oil was aseptically deposited in the center of the inoculated plate. For positive control a standard disk of antibiotic (ATB) gentamicin (15 µg) (*Sigma–Aldrich*) was used.

Minimum Inhibitory Concentration

The minimum inhibitory concentration was performed by the method of microplate (96 wells) round bottom using as reported in literature.^[65] Briefly, 10 concentrations of essential oils ranged from 80 to 0.156 mg/ml were made by 1/2 dilutions in sterile glass tubes. Dilution was performed using a blank solution constituted by *Mueller–Hinton* broth (*FlukaBioChemika*, Spain) with 1% *Tween 80* to keep the concentration of that emulsifier constant. Then, microplates were prepared by filling 180 µl of 5.10⁵ CFU/ml inocula (prepared by 1/200 dilution of 10⁸ CFU/ml inocula) with 20 µl of each concentration. The final concentration in wells was ranging from 8 to 0.0156 mg/ml, and the final concentration of *Tween 80* was 1% in each well. After incubation at 37 °C for 24 h, MICs were determined as the lowest concentration of extract for which no microbial growth was observed by visual inspection of the media. A range of concentrations of ATB (*Sigma–Aldrich*) gentamicin from 1 to 5 µg/ml were prepared for positive control.

Inocula of 10⁷ CFU/ml were diluted by 1/100 for a concentration of 10⁵ CFU/ml. On microplate, 180 µl of bacterial suspension 10⁵ CFU/ml were deposited inside the wells. Then 20 µl of the solution of the essential oil was added. The final concentration of *Tween 80* is 0.1% (v/v) to each well and the final concentrations of the essential oil ranged from 0.0078% to 4%.

Supplementary Material

Supporting information for this article is available on the WWW under <https://doi.org/10.1002/cbdv.201700343>.

Acknowledgements

The authors are grateful to *Fayçal Hassani* and *Tawfik Ferouani* from Université de Tlemcen, Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Département d'Ecologie & Environnement, to botanical identification.

Author Contribution Statement

A. M.^{1,2} and N. M. performed in collection plant and HD extractions. A. M.^{1,2} participated in the data analysis. A. K. and M. B. performed the microbial experiments. A. M.^{1,2}, M. B., N. D., J. C. and A. M.² conceived the study and helped draft the manuscript. N. D., J. C. and A. M.² performed the coordination of the study, worked on the data analysis and interpretation. All authors read and approved the final manuscript.

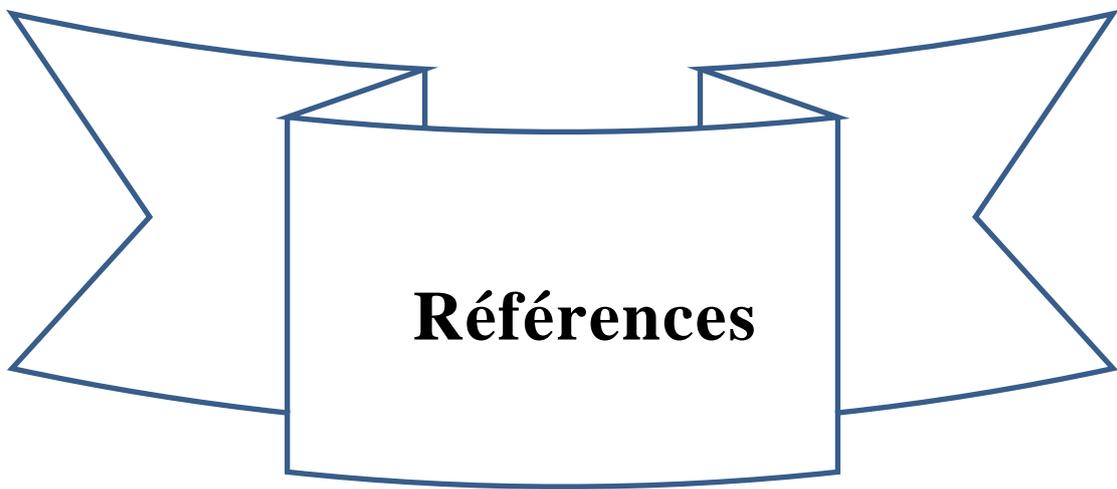
References

- [1] J. M. Turmel, 'Répartition Géographique des *Eryngium*. I. Ancien Monde', *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat. (Paris)* **1948**, *20*, 395 – 401.
- [2] P. Quézel, S. Santa, 'Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales', *CNRS* **1962**, 650 – 651.
- [3] F. Bouzergoune, M. L. Ciavatta, F. Bitam, M. Carbone, M. C. Aberkane, M. Gavagnin, 'Phytochemical Study of *Eryngium triquetrum*: Isolation of Polyacetylenes and Lignans', *Planta Med.* **2016**, *82*, 1438 – 1445.
- [4] A. El Abbouyi, N. Filali-Ansari, S. El Khyari, H. Loukili, 'Inventory of Medicinal Plants Prescribed by Traditional Healers in El Jadida City and Suburbs (Morocco)', *Int. J. Green Pharm.* **2014**, *8*, 242 – 251.
- [5] M. Jaghabir, 'Hypoglycemic Effects of *Eryngium creticum*', *Arch. Pharm. Res.* **1991**, *14*, 295 – 297.
- [6] M. Kartal, A.-C. Mitaine-Offer, T. Paululat, M. Abu-Asaker, H. Wagner, J.-F. Mirjolet, N. Guillaud, M.-A. Lacaille-Dubois, 'Triterpene Saponins from *Eryngium campestre*', *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 1105 – 1108.
- [7] E. M. Anam, 'A Novel Triterpenoid Saponin from *Eryngium foetidum*', *Indian J Chem Sect. B* **2002**, *41*, 1500 – 1503.
- [8] M. Kartal, A.-C. Mitaine-Offer, M. Abu-Asaker, T. Miyamoto, I. Calis, H. Wagner, M.-A. Lacaille-Dubois, 'Two New Triterpene Saponins from *Eryngium campestre*', *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2005**, *53*, 1318 – 1320.
- [9] J. Lam, L. P. Christensen, T. Thomasen, 'Acetylenes from Roots of *Eryngium bourgatii*', *Phytochemistry* **1992**, *31*, 2881 – 2882.
- [10] N. Ayoub, M. Al-Azizi, W. König, K.-H. Kubeczka, 'Essential Oils and a Novel Polyacetylene from *Eryngium yuccifolium* Michx. (Apiaceae)', *Recent Prog. Med. Plants* **2006**, *11*, 237 – 245.
- [11] E. Le Claire, S. Schwaiger, B. Banaigs, H. Stuppner, F. Gafner, 'Distribution of a New Rosmarinic Acid Derivative in *Eryngium alpinum* L. and Other Apiaceae', *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 4367 – 4372.
- [12] A. Landoulsi, V. Roumy, N. Duhal, F. H. Skhiri, C. Rivière, S. Sahpaz, C. Neut, J. Benhamida, T. Hennebelle, 'Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Aerial Parts and Roots of *Eryngium barrelieri* Boiss. and *Eryngium glomeratum* Lam. from Tunisia', *Chem. Biodiversity* **2016**, *13*, 1720 – 1729.
- [13] A. R. Abd-Elmonem, N. G. Shehab, 'Study of the Volatile oil of *Eryngium campestre* L. Growing in Egypt', *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.* **2008**, *44*, 3379 – 3388.
- [14] C. Cavaleiro, M. J. Gonçalves, D. Serra, G. Santoro, F. Tomi, A. Bighelli, L. Salgueiro, J. Casanova, 'Composition of a Volatile Extract of *Eryngium duriaei* subsp. *juriesianum* (M. Lainz) M. Lainz, Signalised by the Antifungal Activity', *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2011**, *54*, 619 – 622.
- [15] C. Capetanos, V. Saroglou, P. D. Marin, A. Simić, H. D. Skaltsa, 'Essential Oil Analysis of Two Endemic *Eryngium* Species from Serbia', *J. Serb. Chem. Soc.* **2007**, *72*, 961 – 965.
- [16] D. Merghache, Z. Boucherit-Otmani, S. Merghache, I. Chikhi, C. Selles, K. Boucherit, 'Chemical Composition, Antibacterial, Antifungal and Antioxidant Activities of Algerian *Eryngium tricuspidatum* L. Essential Oil', *Nat. Prod. Res.* **2014**, *28*, 795 – 807.
- [17] L. C. Klein-Junior, C. dos S. Passos, T. J. Tasso de Souza, F. Gobbi de Bitencourt, J. Salton, S. A. de L. Bordignon, A. T. Henriques, 'The Monoamine Oxidase Inhibitory Activity of Essential Oils Obtained from *Eryngium* Species and Their Chemical Composition', *Pharm. Biol.* **2016**, *54*, 1071 – 1076.
- [18] J. J. Brophy, R. J. Goldsack, L. M. Copeland, J. Palá-Paúl, 'Essential Oil of *Eryngium* L. Species from New South Wales (Australia)', *J. Essent. Oil Res.* **2003**, *15*, 392 – 397.
- [19] J. A. Pino, A. Rosado, V. Fuentes, 'Composition of the Leaf Oil of *Eryngium foetidum* L. from Cuba', *J. Essent. Oil Res.* **1997**, *9*, 467 – 468.
- [20] D. T. T. Nguyen, T. H. Anh, L. N. Thach, 'The Essential Oil Composition of *Eryngium foetidum* L. in South Vietnam Extracted by Hydrodistillation Under Conventional Heating and Microwave Irradiation', *J. Essent. Oil-Bear. Plants* **2008**, *11*, 154 – 161.
- [21] B. Thiem, M. Kikowska, A. Kurowska, D. Kalemba, 'Essential Oil Composition of the Different Parts and *In vitro* Shoot Culture of *Eryngium planum* L.', *Molecules* **2011**, *16*, 7115 – 7124.
- [22] A. Celik, N. Aydinlik, I. Arslan, 'Phytochemical Constituents and Inhibitory Activity Towards Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains of *Eryngium* Species (Apiaceae)', *Chem. Biodiversity* **2011**, *8*, 454 – 459.
- [23] J. Palá-Paúl, J. J. Brophy, M. J. Pérez-Alonso, J. Usano, S. C. Soria, 'Essential Oil Composition of the Different Parts of *Eryngium corniculatum* Lam. (Apiaceae) from Spain', *J. Chromatogr. A* **2007**, *1175*, 289 – 293.
- [24] J. U. Chowdhury, N. C. Nandi, M. Yusuf, 'Chemical Constituents of Essential Oil of the Leaves of *Eryngium foetidum* from Bangladesh', *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.* **2007**, *42*, 347 – 352.
- [25] K. C. Wong, M. C. Feng, T. W. Sam, G. L. Tan, 'Composition of the Leaf and Root Oils of *Eryngium foetidum* L.', *J. Essent. Oil Res.* **1994**, *6*, 369 – 374.
- [26] R. Chandrika, K. J. T. Saraswathi, G. R. Mallavarapu, 'Constituents of the Essential Oils of the Leaf and Root of *Eryngium foetidum* L. from Two Locations in India', *J. Essent. Oil-Bear. Plants* **2015**, *18*, 349 – 358.

- [27] B. C. Thakuri, C. S. Chanotiya, R. C. Padalia, C. S. Mathela, 'Leaf Essential Oil of *Eryngium foetidum* L. from Far Western Nepal', *J. Essent. Oil-Bear. Plants* **2006**, *9*, 251 – 256.
- [28] N. Dehghanzadeh, S. Ketabchi, A. Alizadeh, 'Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of *Eryngium caeruleum* Grown Wild in Iran', *J. Essent. Oil-Bear. Plants* **2014**, *17*, 486 – 492.
- [29] M. Marcetic, S. Petrovic, M. Milenkovic, L. Vujisic, V. Tesovic, M. Niketic, 'Composition and Antimicrobial Activity of Root Essential Oil of Balkan Endemic Species *Eryngium palmatum*', *Chem. Nat. Compd.* **2014**, *49*, 1140 – 1142.
- [30] M. Mohammadhosseini, 'Hydrodistilled Volatile Oil from Stems of *Eryngium creticum* Lam. in the Marginal Brackish Regions of Semnan Province by Using Gas Chromatography Combined with Mass Spectrometry', *Asian J. Chem.* **2013**, *25*, 390 – 392.
- [31] M. I. Cobos, J. L. Rodriguez, A. Petre, E. Spahn, J. Casermeiro, A. G. Lopez, J. A. Zygodlo, 'Composition of the Essential Oil of *Eryngium paniculatum* Cav', *J. Essent. Oil Res.* **2002**, *14*, 82 – 83.
- [32] J. Pala-Paul, J. Usano-Aleman, A. C. Soria, M. J. Perez-Alonso, J. J. Brophy, 'Essential Oil Composition of *Eryngium campestre* L. Growing in Different Soil Types. A Preliminary Study', *Nat. Prod. Commun.* **2008**, *3*, 1121 – 1126.
- [33] K. Morteza-Semnani, 'Essential Oil Composition of *Eryngium bungei* Boiss', *J. Essent. Oil Res.* **2005**, *17*, 485 – 486.
- [34] K. Cianfaglione, E. E. Blomme, L. Quassinti, M. Bramucci, G. Lupidi, S. Dall'Acqua, F. Maggi, 'Cytotoxic Essential Oils from *Eryngium campestre* and *Eryngium amethystinum* (Apiaceae) Growing in Central Italy', *Chem. Biodiversity* **2017**, *14*, e1700096.
- [35] F. Sefidkon, M. Dabiri, A. Alamshahi, 'Chemical Composition of the Essential Oil of *Eryngium billardieri* F. Delarochae from Iran', *J. Essent. Oil Res.* **2004**, *16*, 42 – 43.
- [36] D. Hashemabadi, B. Kaviani, 'Chemical Constituents of Essential Oils Extracted from the Leaves and Stems of *Eryngium caucasicum* Trautv. from Iran', *J. Essent. Oil-Bear. Plants* **2011**, *14*, 693 – 698.
- [37] J. Pala-Paul, J. Usano-Aleman, J. J. Brophy, M. J. Perez-Alonso, A.-C. Soria, 'Essential Oil Composition of the Different Parts of *Eryngium aquifolium* from Spain', *Nat. Prod. Commun.* **2010**, *5*, 817 – 821.
- [38] M. Saedi, K. Morteza-Semnani, 'Effect of the Essential Oil of *Eryngium caeruleum* on Percutaneous Absorption of Piroxicam Through Rat Skin', *J. Essent. Oil-Bear. Plants* **2008**, *11*, 485 – 495.
- [39] F. Assadian, S. Masoudi, F. Nematollahi, A. Rustaiyan, K. Larijani, H. Mazloomifar, 'Volatile Constituents of *Xanthogalum purpurascens* Ave-Lall., *Eryngium caeruleum* MB and *Pimpinella aurea* DC. Three Umbelliferae Herbs Growing in Iran', *J. Essent. Oil Res.* **2005**, *17*, 243 – 245.
- [40] J. Palá-Paúl, M. J. Pérez-Alonso, A. Velasco-Negueruela, J. Vadaré, A. M. Villa, J. Sanz, J. J. Brophy, 'Essential Oil Composition of the Different Parts of *Eryngium bourgatii* Gouan from Spain', *J. Chromatogr. A* **2005**, *1074*, 235 – 239.
- [41] J. Palá-Paúl, M. J. Pérez-Alonso, A. Velasco-Negueruela, J. Varadé, A. M. Villa, J. Sanz, J. J. Brophy, 'Analysis of the Essential Oil Composition from the Different Parts of *Eryngium glaciale* Boiss. from Spain', *J. Chromatogr. A* **2005**, *1094*, 179 – 182.
- [42] A. Khalfallah, D. Berrehal, A. Kabouche, A. Karioti, A.-R. Bilia, Z. Kabouche, 'Flavonoids, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Eryngium triquetrum*', *Chem. Nat. Compd.* **2014**, *50*, 130 – 131.
- [43] T. Fujioka, K. Furumi, H. Fujii, H. Okabe, K. Mihashi, Y. Nakano, H. Matsunaga, M. Katano, M. Mori, 'Antiproliferative Constituents from Umbelliferae Plants. V. A New Furanocoumarin and *Falcarindiol* Furanocoumarin Ethers from the Root of *Angelica japonica*', *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 96 – 100.
- [44] C. Zidorn, K. Jöhrer, M. Ganzera, B. Schubert, E. M. Sigmond, J. Mader, R. Greil, E. P. Ellmerer, H. Stuppner, 'Polyacetylenes from the Apiaceae Vegetables Carrot, Celery, Fennel, Parsley, and Parsnip and Their Cytotoxic Activities', *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 2518 – 2523.
- [45] R. M. Prior, N. H. Lundgaard, M. E. Light, G. I. Stafford, J. van Staden, A. K. Jäger, 'The Polyacetylene *falcarindiol* with COX-1 Activity Isolated from *Aegopodium podagraria* L.', *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *113*, 176 – 178.
- [46] A. Schinkovitz, M. Stavri, S. Gibbons, F. Bucar, 'Antimycobacterial Polyacetylenes from *Levisticum officinale*', *Phytother. Res. PTR* **2008**, *22*, 681 – 684.
- [47] M. Marcetić, D. Bozić, M. Milenković, B. Lakusić, N. Kovacević, 'Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Different Parts of *Seseli rigidum*', *Nat. Prod. Commun.* **2012**, *7*, 1091 – 1094.
- [48] D. Lechner, M. Stavri, M. Oluwatuyi, R. Pereda-Miranda, S. Gibbons, 'The Anti-Staphylococcal Activity of *Angelica dahurica* (Bai Zhi)', *Phytochemistry* **2004**, *65*, 331 – 335.
- [49] J. Lutomski, T. C. Luan, T. T. Hoa, 'Polyacetylenes in the Araliaceae Family. Part IV. The Antibacterial and Antifungal Activities of Two Main Polyacetylenes from *Panax vietnamensis* Ha et Grushv. and *Polyscias fruticosa* (L.) Harms.', *Herba Pol.* **1992**, *38*, 137 – 140.
- [50] A. Maxia, D. Falconieri, A. Piras, S. Porcedda, B. Marongiu, M. A. Frau, M. J. Goncalves, C. Cabral, C. Cavaleiro, L. Salgueiro, 'Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils and Supercritical CO₂ Extracts of *Apium nodiflorum* (L.) Lag', *Mycopathologia* **2012**, *174*, 61 – 67.
- [51] B.-M. Nie, X.-Y. Jiang, J.-X. Cai, S.-L. Fu, L.-M. Yang, L. Lin, Q. Hang, P.-L. Lu, Y. Lu, 'Panaxydol and Panaxynol Protect Cultured Cortical Neurons Against A β 25–35-Induced Toxicity', *Neuropharmacology* **2008**, *54*, 845 – 853.
- [52] Y.-Q. Yang, S.-N. Li, J.-C. Zhong, Y. Zhou, H.-Z. Zeng, H.-J. Duan, Q.-H. Bian, M. Wang, 'Total Synthesis of Each Enantiomer of *Falcarinol* and *Panaxjapyne* A via Asymmetric Catalytic Alkynylation of an Aldehyde', *Tetrahedron: Asymmetry* **2015**, *26*, 361 – 366.
- [53] W. A. Kçnig, D. Joulain, D. H. Hochmuth, 'Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils, Library of Mass Finder 2.1', Institute of Organic Chemistry, University of Hamburg, Hamburg, 2001.
- [54] R. P. Adams, 'Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry', Allured Publishing Corporation, Carol Stream, 2007.
- [55] L.-L. Xu, T. Han, J.-Z. Wu, Q.-Y. Zhang, H. Zhang, B.-K. Huang, K. Rahman, L.-P. Qin, 'Comparative Research of Chemical Constituents, Antifungal and Antitumor Properties of Ether Extracts of *Panax ginseng* and Its Endophytic Fungus', *Phytomedicine* **2009**, *16*, 609 – 616.

- [56] J. Brodmann, R. Twele, W. Francke, G. Hölzler, Q.-H. Zhang, M. Ayasse, 'Orchids Mimic Green-Leaf Volatiles to Attract Prey-Hunting Wasps for Pollination', *Curr. Biol.* **2008**, *18*, 740 – 744.
- [57] G. Loy, F. Cottiglia, D. Garau, D. Deidda, R. Pompei, L. Bon-signore, 'Chemical Composition and Cytotoxic and Anti-microbial Activity of *Calycotome villosa* (Poiret) Link Leaves', *Il Farm.* **2001**, *56*, 433 – 436.
- [58] Council of Europe, 'European Pharmacopoeia', Ed. Strasbourg, 1997.
- [59] H. van Den Dool, P. Dec Kratz, 'A Generalization of the Retention Index System Including Linear Temperature Programmed Gas-Liquid Partition Chromatography', *J. Chromatogr. A* **1963**, *11*, 463 – 471.
- [60] 'National Institute of Standards and Technology (NIST), PC version 1.7 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library', Perkin Elmer Corp, Norwalk, CT, 1999.
- [61] C. Bicchi, E. Liberto, M. Matteodo, B. Sgorbini, L. Mondello, B. d'Acampora Zellner, R. Costa, P. Rubiolo, 'Quantitative Analysis of Essential Oils: A Complex Task', *Flavour Fragrance J.* **2008**, *23*, 382 – 391.
- [62] S. Andreani, T. Barboni, J. M. Desjobert, J. Paolini, J. Costa, A. Muselli, 'Essential Oil Composition and Chemical Variability of *Xanthium italicum* Moretti from Corsica', *Flavour Fragrance J.* **2012**, *27*, 227 – 236.
- [63] CLSI, 'Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement', 2011.
- [64] A. W. Bauer, W. M. Kirby, J. C. Sherris, M. Turck, 'Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method', *Am. J. Clin. Pathol.* **1966**, *45*, 493 – 496.
- [65] I. Wiegand, K. Hilpert, R. E. W. Hancock, 'Agar and Broth Dilution Methods to Determine the Minimal Inhibitory Concentration (MIC) of Antimicrobial Substances', *Nat. Protoc.* **2008**, *3*, 163 – 175.

Received July 24, 2017
Accepted October 26, 2017



Références

- [1] H. Ilbert, V. Hoxha, L. Sahi, A. Courivaud, et C. Chailan, « Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. : CIHEAM / FranceAgriMer », *Options Méditerranéennes*, vol. Série B: Etudes et Recherches, n° 73, p. 222, 2016.
- [2] P. R. C. Prasad, C. S. Reddy, S. H. Raza, et C. B. S. Dutt, « Folklore medicinal plants of North Andaman Islands, India », *Fitoterapia*, vol. 79, n° 6, p. 458-464, sept. 2008.
- [3] A. Wörz et H. Diekmann, « Classification and evolution of the genus *Eryngium* L. (Apiaceae-Saniculoideae): results of fruit anatomical and petal morphological studies », *Plant Divers Evol*, vol. 128, 387-408, 2010.
- [4] A. Wörz, « A new subgeneric classification of the genus *Eryngium* L. (Apiaceae, Saniculoideae) », *Bot Jahrb.*, vol. 126, 253-259, 2005.
- [5] C. I. Calviño et S. R. Downie, « Circumscription and phylogeny of Apiaceae subfamily Saniculoideae based on chloroplast DNA sequences », *Mol Phylogenet Evol*, vol. 44, 175-191, 2007.
- [6] J. M. Turmel, « Repartition Géographique des *Eryngium*. I. Ancien Monde », *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.* (Paris), 20, 395-401, 1948.
- [7] P. Quézel et S. Santa, « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ». CNRS, 1962.
- [8] A. Breton, « Révision des *Eryngium* d'Afrique du Nord ». *Mém. Soc. Sci. Nat. Phys. Maroc, Nouv. Sér. Bot.* 2: 5-86, 1962.
- [9] M. Fennane & M. Ibn Tattou. « Flore vasculaire du Maroc. Inventaire et chorologie ». *Trav. Inst. Sci. Univ. Mohammed V, Sér. Bot.* 37: 41, 2005.
- [10] B. Singh, Y. Ramakrishna, S. Ngachan, « Spiny coriander (*Eryngium foetidum* L.): a commonly used, neglected spicing-culinary herb of Mizoram, India », *Genet Resour Crop Evol*, vol. 61, 1085-1090, 2014.
- [11] S. Singh, D. Singh, S. Banu, et K. Salim, « Determination of bioactives and antioxidant activity in *Eryngium foetidum* L.: a traditional culinary and medicinal herb », *Proc Natl Acad Sci India Sect. B Biol. Sci.*, vol. 83, 453-460, 2013.
- [12] P. Pr, R. Cs, R. Sh, et D. Cb, « Folklore medicinal plants of North Andaman Islands, India. », *Fitoterapia*, vol. 79, n° 6, p. 458-464, 2008.
- [13] E. M. Anam, « A novel triterpenoid saponin from *Eryngium foetidum* », *Indian J Chem Sect. B*, vol. 41, 1500-1503, 2002.
- [14] S. Nabavi, S. Nabavi, H. Alinezhad, M. Zare, et R. Azimi, « Biological activities of flavonoid-rich fraction of *Eryngium caucasicum* Trautv », *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, vol. 16, 81-87, 2012.
- [15] J. Paul, C. Seaforth, et T. Tikasingh, « *Eryngium foetidum* L.: a review », *Fitoterapia*, vol. 82, 302-308, 2011.
- [16] E. Küpeli, M. Kartal, S. Aslan, et E. Yesilada, « Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 107, n° 1, p. 32-37, 2006.
- [17] A. Natale et A. Pollio, « Plants species in the folk medicine of Montecorvino Rovella (inland Campania, Italy) », *J Ethnopharmacol*, vol. 109, 295-303, 2007.
- [18] M. S. Ali-Shtayeh, R. M. Yaghmour, Y. R. Faidi, K. Salem, et M. A. Al-Nuri, « Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 60, n° 3, p. 265-271, 1998.
- [19] T. Aburjai, M. Hudaib, R. Tayyem, M. Yousef, et M. Qishawi, « Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Jordan, the Ajloun Heights region », *J Ethnopharmacol*, vol. 110, 294-304, 2007.

- [20] K. Khoshbakht, K. Hammer, et K. Pistrick, « *Eryngium caucasicum* Trautv. cultivated as a vegetable in the Elburz Mountains (Northern Iran) », *Genet Resour Crop Evol*, vol. 54, 445-448, 2007.
- [21] B. Ozcelik, S. Kusmenoglu, S. Turkoz, et U. Abbasoglu, « Antimicrobial activities of plants from the Apicaceae », *Pharm Biol.*, vol. 42, 526-528, 2004.
- [22] M. Ebrahimzadeh, S. Nabavi, et S. Nabavi, « Antioxidant activity of leaves and inflorescence of *Eryngium caucasicum* Trautv at flowering stage », *Pharmacogn Res*, vol. 1, 435-439, 2009.
- [23] M. E. Goleniowski, G. Bongiovanni, L. Palacio, C. Nuñez, et J. Cantero, « Medicinal plants from the “Sierra de Comechingones”, Argentina », *J Ethnopharmacol*, vol. 107, 324-341, 2006.
- [24] T. Baytop, « Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present) ». Istanbul, Nobel Tip Basimevi, 162-169, 1999.
- [25] S. Foster et J. A. Duke, « A Field Guide to Medicinal Plants and Herbs of Eastern and Central North America ». *Houghton Mifflin Harcourt*, 2000.
- [26] R. Lisciani, E. Fattorusso, V. Surano, S. Cozzolino, M. Giannattasio, et L. Sorrentino, « Anti-inflammatory activity of *Eryngium maritimum* L. rhizome extracts in intact rats », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 12, n° 3, p. 263-270, 1984.
- [27] C. Duraffourd, J. C. Lapraz, et J. Valnet, « Cura delle malattie con piante e aromi. », *Giunti Editore*, 2004.
- [28] F. E. Azzouzi et L. Zidane, « La flore médicinale traditionnelle de la région de Béni-Mellal (Maroc) », *J. Appl. Biosci.*, vol. 91, n° 1, p. 8493 – 8502, 2015.
- [29] Gruenwald J, Brendler T, et Jaenicke C, « PDR for herbal Medicines. 2nd edition », 2^e éd. *Montvale (NJ): Medical Economics CO*, 1998.
- [30] S. A. Erdem, S. F. Nabavi, I. E. Orhan, M. Daglia, M. Izadi, et S. M. Nabavi, « Blessings in disguise: a review of phytochemical composition and antimicrobial activity of plants belonging to the genus *Eryngium*. », *Daru J. Pharm. Sci.*, vol. 23, 53/1-53/22, 2015.
- [31] Z. Zhang, S. Li, S. Ownby, P. Wang, W. Yuan, et W. Zhang, « Phenolic compounds and rare polyhydroxylated triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium* », *Phytochemistry*, vol. 69, 2070-2080, 2008.
- [32] M. Kartal *et al.*, « Two New Triterpene Saponins from *Eryngium campestre* », *Chem. Amp Pharm. Bull.*, vol. 53, p. 1318-1320, 2005.
- [33] M. Kartal *et al.*, « Triterpene Saponins from *Eryngium campestre* », *J. Nat. Prod.*, vol. 69, n° 7, p. 1105-1108, 2006.
- [34] P. Wang, W. Yuan, G. Deng, Z. Su, et S. Li, « Triterpenoid saponins from *Eryngium yuccifolium* ‘Kershaw Blue’ », *Phytochem Lett*, vol. 6, 306-309, 2013.
- [35] S. Aslan et M. Kartal, « GC-MS Analysis of *Eryngium maritimum* L. Volatile Oil », *Planta Med.*, vol. 72, n° 11, p.340, 2006.
- [36] M. Kowalczyk, M. Masullo, B. Thiem, S. Piacente, A. Stochmal, et W. Oleszek, « Three new triterpene saponins from roots of *Eryngium planum* », *Nat Prod Res*, vol. 28, 653-660, 2014.
- [37] J. Hohmann, Z. Pall, G. Günther, et I. Mathe, « Flavonolacetyl glycosides of the aerial parts of *Eryngium campestre* », *Planta Med.*, vol. 63, n° 01, p. 96-96, 1997.
- [38] K. T et W. J, « Flavonoids from the Aboveground Parts of *Eryngium campestre*. », *Planta Med.*, vol. 59, n° 3, p. 285-285, 1993.
- [39] K. Hiller, A. Otto, et E. Grundemann, « Isolation of kaempferol-3-o-(6-O-beta-D-glucopyranosyl)-beta-D-galactopyranoside, a new flavonol glycoside from *Eryngium planum* l. 34. on the knowledge of the constituents of some saniculoideae », *Pharmazie*, vol. 35, 1980.

- [40] C.-. G. M. Luz, S. Fernández-Arroyo, J. Joven, et A. Segura-Carretero, « Comprehensive characterization by UHPLC-ESI-Q-TOF-MS from an *Eryngium bourgatii* extract and their antioxidant and anti-inflammatory activities », *Food Res Int*, vol. 50, 197-204, 2013.
- [41] U. W. Hawas, T. El-Kassem, A. Lamia, M. Awad, A. A. Hanem, et H. Taie, « Anti-Alzheimer, antioxidant activities and flavonol glycosides of *Eryngium campestre* L », *Curr Chem Biol*, vol. 7, 188-195, 2013.
- [42] D. B. Assia Khalfallah, « Flavonoids, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Eryngium triquetrum* », *Chem. Nat. Compd.*, vol. 50, n° 1, p. 130-131, 2014.
- [43] C. Erdelmeier et O. Sticher, « Coumarin derivatives from *Eryngium campestre* », *Planta Med*, vol. 51, 741-743, 1985.
- [44] M. Pinar et M. P. Galan, « Coumarins from *Eryngium ilicifolium* », *J. Nat. Prod.*, vol. 48, n° 5, p. 853-854, 1985.
- [45] E. Claire, S. Schwaiger, B. Banaigs, H. Stuppner, et F. Gafner, « Distribution of a new rosmarinic acid derivative in *Eryngium alpinum* L. and other Apiaceae. J », *Agric Food Chem*, vol. 53, 4367-4372, 2005.
- [46] M. D. Marčetić, S. D. Petrović, M. T. Milenković, et M. S. Niketić, « Composition, antimicrobial and antioxidant activity of the extracts of *Eryngium palmatum* Pančić and Vis. (Apiaceae) », *Cent Eur J Biol*, vol. 9, 1140-1142, 2014.
- [47] J. Lam, L. P. Christensen, et T. Thomasen, « Acetylenes from roots of *Eryngium bourgatii* », *Phytochemistry*, vol. 31, 2881-2882, 1992.
- [48] N. Ayoub, M. Al-Azizi, W. König, et K.-H. Kubeczka, « Essential oils and a novel polyacetylene from *Eryngium yuccifolium* Michaux. (Apiaceae) », *Flavour Fragr. J.*, vol. 21, n° 6, p. 864-868, 2006.
- [49] F. Bouzergoune, M. L. Ciavatta, F. Bitam, M. Carbone, M. C. Aberkane, et M. Gavagnin, « Phytochemical Study of *Eryngium triquetrum*: Isolation of Polyacetylenes and Lignans », *Planta Med*, n° EFirst, 82(16), 1438-1445, 2016.
- [50] A. Landoulsi *et al.*, « Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from Aerial Parts and Roots of *Eryngium barrelieri* Boiss. and *Eryngium glomeratum* Lam. from Tunisia », *Chem. Biodivers.*, vol. 13, n° 12, p. 1720-1729, 2016.
- [51] B. Thiem, M. Kikowska, A. Kurowska, et D. Kalembe, « Essential oil composition of the different parts and in vitro shoot culture of *Eryngium planum* L. », *Molecules*, vol. 16, p. 7115-7124, 2011.
- [52] N. Ayoub, M. Al-Azizi, W. Konig, et K.-H. Kubeczka, « Essential oils and a novel polyacetylene from *Eryngium yuccifolium* Michx. (Apiaceae). », in *Recent Prog. Med. Plants*, vol. 11, p. 237-245, 2006.
- [53] D. T. T. Nguyen, T. H. Anh, et L. N. Thach, « The essential oil composition of *Eryngium foetidum* L. in south Vietnam extracted by hydrodistillation under conventional heating and microwave irradiation. », *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, vol. 11, p. 154-161, 2008.
- [54] K. Cianfaglione *et al.*, « Cytotoxic essential oils from *Eryngium campestre* and *Eryngium amethystinum* (Apiaceae) growing in central Italy », *Chem. Biodivers.*, vol 14, 2017.
- [55] L. Camarda, V. Di Stefano, et M. Merikech, « Essential oil of inflorescences of *Eryngium campestre* L. (Apiaceae). », *Riv. Ital. EPPOS*, vol. 38, p. 25-28, 2004.
- [56] J. Pala-Paul, J. Usano-Aleman, A. C. Soria, M. J. Perez-Alonso, et J. J. Brophy, « Essential oil composition of *Eryngium campestre* L growing in different soil types A preliminary study », *Natural Product Communications*, vol 3, 1121-1126, 2008.

- [57] V. Dunkić, E. Vuko, N. Bezić, D. Kremer, et M. Ruščić, « Composition and antiviral activity of the essential oils of *Eryngium alpinum* and *E. amethystinum* », *Chem Biodivers*, vol. 10, 1894-1902, 2013.
- [58] F. Sefidkon, M. Dabiri, et A. Alamshahi, « Chemical composition of the essential oil of *Eryngium billardieri* F. Delaroché from Iran », *J Essent. Oil Res*, vol. 16, 42-43, 2004.
- [59] D. Hashemabadi et B. Kaviani, « Chemical constituents of essential oils extracted from the leaves and stems of *Eryngium caucasicum* Trautv. from Iran », *J Essent. Oil Bear. Plants*, vol. 14, 693-698, 2011.
- [60] J. Pala-Paul, J. Usano-Aleman, J. J. Brophy, M. J. Perez-Alonso, A.-C. Soria, « Essential oil composition of the different parts of *Eryngium aquifolium* from Spain. », *Nat. Prod. Commun.*, vol. 5, 817-821, 2010.
- [61] M. Saeedi et K. Morteza-Semnani, « Effect of the essential oil of *Eryngium caeruleum* on percutaneous absorption of piroxicam through rat skin. », *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, vol. 11, 485-495, 2008.
- [62] F. Assadian, S. Masoudi, F. Nematollahi, A. Rustaiyan, K. Larijani, et H. Mazloomifar, « Volatile constituents of *Xanthogalum purpurascens* Ave-Lall., *Eryngium caeruleum* MB and *Pimpinella aurea* DC. Three Umbelliferae herbs growing in Iran », *J Essent. Oil Res*, vol. 17, 243-245, 2005.
- [63] A. Celik, N. Aydınlik, et I. Arslan, « Phytochemical constituents and inhibitory activity towards methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains of *Eryngium* species (Apiaceae) », *Chem. Biodivers.*, vol. 8, n° 3, p. 454-459, 2011.
- [64] J. Palá-Paúl *et al.*, « Essential oil composition of the different parts of *Eryngium bourgatii* Gouan from Spain », *J. Chromatogr. A*, vol. 1074, n° 1-2, p. 235-239, 2005.
- [65] J. Palá-Paúl *et al.*, « Analysis of the essential oil composition from the different parts of *Eryngium glaciale* Boiss. from Spain », *J. Chromatogr. A*, vol. 1094, n° 1-2, p. 179-182, 2005.
- [66] J. Palá-Paúl, J. J. Brophy, M. J. Pérez-Alonso, J. Usano, et S. C. Soria, « Essential oil composition of the different parts of *Eryngium corniculatum* Lam. (Apiaceae) from Spain », *J Chromatogr A*, vol. 1175, 289-293, 2007.
- [67] A. R. Abd-Elmonem, N. G. Shehab, « Study of the volatile oil of *Eryngium campestre* L. growing in Egypt », *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.*, vol. 44, n° 1, p. 3379-88, 2008.
- [68] C. Cavaleiro, M. J. Gonçalves, D. Serra, G. Santoro, F. Tomi, et A. Bighelli, « Composition of a volatile extract of *Eryngium duriaei* subsp. *juresianum* (M. Lánz) M. Lánz, signalised by the antifungal activity », *J Pharm Biomed Anal*, vol. 54, 619-622, 2011.
- [69] C. Capetanios, V. Saroglou, P. D. Marin, A. Simić, et H. D. Skaltsa, « Essential oil analysis of two endemic *Eryngium* species from Serbia », *J Serb Chem Soc*, vol. 72, 961-965, 2007.
- [70] D. Merghache, Z. Boucherit-Otmani, S. Merghache, I. Chikhi, C. Selles, et K. Boucherit, « Chemical composition, antibacterial, antifungal and antioxidant activities of Algerian *Eryngium tricuspdatum* L. essential oil », *Nat. Prod. Res.*, vol. 28, n° 11, p. 795-807, 2014.
- [71] L. C. Klein-Junior *et al.*, « The monoamine oxidase inhibitory activity of essential oils obtained from *Eryngium* species and their chemical composition. », *Pharm. Biol. Abingdon U. K.*, vol. 54, p. 1071-1076, 2016.
- [72] J. J. Brophy, R. J. Goldsack, L. M. Copeland, et J. Palá-Paúl, « Essential Oil of *Eryngium* L. Species from New South Wales (Australia) », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 15, n° 6, p. 392-397, 2003.
- [73] J. A. Pino, A. Rosado, et V. Fuentes, « Composition of the leaf oil of *Eryngium foetidum* L. from Cuba », *J Essent. Oil Res*, vol. 9, 467-468, 1997.

- [74] J. U. Chowdhury, N. C. Nandi, et M. Yusuf, « Chemical constituents of essential oil of the leaves of *Eryngium foetidum* from Bangladesh. », *Bangladesh J. Sci. Ind. Res.*, vol. 42, p. 347-352, 2007.
- [75] K. C. Wong, M. C. Feng, T. W. Sam, et G. L. Tan, « Composition of the leaf and root oils of *Eryngium foetidum* L. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 6, p. 369-74, 1994.
- [76] R. Chandrika, K. J. T. Saraswathi, et G. R. Mallavarapu, « Constituents of the Essential Oils of the Leaf and Root of *Eryngium foetidum* L. from Two Locations in India. », *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, vol. 18, p. 349-358, 2015.
- [77] B. C. Thakuri, C. S. Chanotiya, R. C. Padalia, et C. S. Mathela, « Leaf essential oil of *Eryngium foetidum* L. from far western Nepal. », *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, vol. 9, p. 251-256, 2006.
- [78] N. Dehghanzadeh, S. Ketabchi, et A. Alizadeh, « Essential oil composition and antibacterial activity of *Eryngium caeruleum* grown wild in Iran », *J. Essent. Oil Bear. Plants*, vol. 17, 486-492, 2014.
- [79] M. Marcetic, S. Petrovic, M. Milenkovic, L. Vujisic, V. Tesevic, et M. Niketic, « Composition and antimicrobial activity of root essential oil of Balkan endemic species *Eryngium palmatum* », *Chem Nat Comp*, vol. 49, 1140-1142, 2014.
- [80] J. Bruneton, « Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales. » Paris; Cachan: Tec & Doc Lavoisier, p1292, 2009.
- [81] J. Q. Cu et A. Gaset « Extraction de compositions odorantes végétales par divers solvants organiques », *Institut national polytechnique (Toulouse)*, 1990.
- [82] A. C. Figueiredo, J. G. Barroso, M. S. S. Pais, et J. J. C. Scheffer, « Composition of the Essential Oils from Leaves and Flowers of *Achillea millefolium* L. ssp. *millefolium* », *Flavour Fragr. J.*, vol. 7, n° 4, p. 219-222, 1992.
- [83] Council of Europe, « Council of Europe, European Pharmacopoeia. », *Ed. Strasbourg* 1997.
- [84] R. Jollois, « L'Aromathérapie exactement: encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. » 2001.
- [85] F. Augusto, A. Leite e Lopes, et C. A. Zini, « Sampling and sample preparation for analysis of aromas and fragrances », *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 22, n° 3, p. 160-169, 2003.
- [86] S. M. Pourmortazavi et S. S. Hajimirsadeghi, « Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis », *J. Chromatogr. A*, vol. 1163, n° 1-2, p. 2-24, 2007.
- [87] J. R. Jocelyn Paré, J. M. R. Bélanger, et S. S. Stafford, « Microwave-assisted process (MAPTM): a new tool for the analytical laboratory », *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 13, n° 4, p. 176-184, 1994.
- [88] Jean Tranchant, « Manuel Pratique De Chromatographie En Phase Gazeuse. 4ème édition -Collectif ». 1995.
- [89] R. P. Adams, « Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry », 2007.
- [90] M. Zupanc, M. Prošek, et M. Dušan, « Combined CI and EI mass spectra in the analysis of essential oils », *J. High Resolut. Chromatogr.*, vol. 15, n° 8, p. 510-513, 1992.
- [91] R. C. Dougherty, « Negative Chemical Ionization Mass Spectrometry », *Anal. Chem.*, vol. 53, n° 4, p. 625A-636A, 1981.
- [92] H. Hendriks et A. P. Bruins, « A tentative identification of components in the essential oil of *Cannabis sativa* L. by a combination of gas chromatography negative ion chemical ionization mass spectrometry and retention indices », *Biol. Mass Spectrom.*, vol. 10, n° 6, p. 377-381, 1983.
- [93] G. Vernin *et al.*, « GC-MS-SPECMA bank analysis of essential oils and aromas : GC-MS (EI-PCI) data bank analysis of sesquiterpenic compounds in juniper needle oil :

- application of the mass fragmentometry SIM technique », *Lebensm. - Wiss. Technol.*, vol. 23, n° 1, p. 25-33, 1990.
- [94] Edmond De Hoffmann, Jean Charette, Vincentn Stroobant, « Spectrométrie de masse », 1994.
- [95] F. Darriet, « Caractérisation de nouvelles molécules et variabilité chimique de trois plantes du continuum Corse-Sardaigne: Chamaemelum mixtum, Anthemis maritima et Eryngium maritimum. », phdthesis, Université Pascal Paoli, 2011.
- [96] R. G. Brereton, « Chemometrics : data analysis for the laboratory and chemical plant », Chichester, West Sussex, England ; J. Wiley, 2003.
- [97] E. Cicchetti, P. Merle, et A. Chaintreau, « Quantitation in gas chromatography: usual practices and performances of a response factor database », *Flavour Fragr. J.*, vol. 23, n° 6, p. 450-459, 2008.
- [98] W. Jennings, « Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Glass Capillary Gas Chromatography ». Elsevier, 1980.
- [99] D. Joulain et W. A. König, « The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons. Hamburg: ». E.B.-Verlag, 1998.
- [100] W. A. Kçnig, D. Joulain, et D. H. Hochmuth, « Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils, Library of Mass Finder 2.1 », Institute of Organic Chemistry, University of Hamburg, Hamburg,. 2011.
- [101] C. Johnston, « The Wiley / NBS Registry of Mass Spectral Data, Volumes 1-7 (McLafferty, Fred W.; Stauffer, Douglas B.) », *J. Chem. Educ.*, vol. 66, n° 10, p.256, 1989.
- [102] « National Institute of Standards and Technology (NIST), PC version 1.7 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library », Perkin Elmer Corp, Norwalk, CT, 1999.
- [103] A.E. Derome, « Modern NMR Techniques for Chemistry Research », Pergamon Press, Oxford, p299, 2013.
- [104] R. R. Ernst, « Advanced NMR methods for liquids and solids: Two-dimensional spectroscopy », *Berichte Bunsenges. Für Phys. Chem.*, vol. 91, n° 11, p. 1087-1099, 1987.
- [105] J. D. McChesney, S. K. Venkataraman, et J. T. Henri, « Plant natural products: back to the future or into extinction? », *Phytochemistry*, vol. 68, n° 14, p. 2015-2022, 2007.
- [106] F. Darriet, M. Bendahou, J.-M. Desjobert, J. Costa, et A. Muselli, « Bicyclo[4.4.0]decane oxygenated sesquiterpenes from Eryngium maritimum essential oil », *Planta Med.*, vol. 78, n° 4, p. 386-389, 2012.
- [107] L. Meot-Duros, G. Le Floch, et C. Magné, « Radical scavenging, antioxidant and antimicrobial activities of halophytic species », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 116, n° 2, p. 258–262, 2008.
- [108] R. N. Ndip, A. E. M. Tarkang, S. M. Mbullah, H. N. Luma, A. Malongue, et L. M. Ndip, « In vitro anti-Helicobacter pylori activity of extracts of selected medicinal plants from North West Cameroon », *J Ethnopharmacol*, vol. 114, 452-457, 2007.
- [109] A. Mavi, G. D. Lawrence, Ş. Kordali, et A. Yildirim, « Inhibition of Iron-Fructose-Phosphate-Induced Lipid Peroxidation in Lecithin Liposome and Linoleic Acid Emulsion Systems by Some Edible Plants », *J. Food Biochem.*, vol. 35, n° 3, p. 833-844, 2011.
- [110] A. Alkofahi, A. J. Sallal, et A. M. Disi, « Effect of Eryngium creticum on the hemolytic activities of snake and scorpion venoms. », *Phytother. Res.*, vol. 11, p. 540-542, 1997.
- [111] M. Jaghabir, « Hypoglycemic effects of Eryngium creticum », *Arch. Pharm. Res.*, vol. 14, n° 4, p. 295-297, 1991.

- [112] B. Benjlali, E. . Tantaoui-Elaraki, N. Ismail Alaoui, et A. Ayadi, « Méthode d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé », *Plan. Med. Phytoth.*, vol. 20, p. 155-167, 1986.
- [113] K. Bouhadjra, « Contribution A L'étude Chimique Et Biologique De Deux Plantes Médicinales Sahariennes Oudneya africana R.Br. et Aristida pungens L. », Algérie, 2011.
- [114] C. Seger, M. Godejohann, M. Spraul, H. Stuppner, et F. Hadacek, « Reaction product analysis by high-performance liquid chromatography-solid-phase extraction-nuclear magnetic resonance: Application to the absolute configuration determination of naturally occurring polyene alcohols », *J. Chromatogr. A*, vol. 1136, n° 1, p. 82-88, 2006.
- [115] L.-L. Xu *et al.*, « Comparative research of chemical constituents, antifungal and antitumor properties of ether extracts of Panax ginseng and its endophytic fungus », *Phytomedicine*, vol. 16, n° 6-7, p. 609-616, 2009.
- [116] J. Brodmann, R. Twele, W. Francke, G. Hölzler, Q.-H. Zhang, et M. Ayasse, « Orchids Mimic Green-Leaf Volatiles to Attract Prey-Hunting Wasps for Pollination », *Curr. Biol.*, vol. 18, n° 10, p. 740-744, 2008.
- [117] C. Zidorn *et al.*, « Polyacetynes from the Apiaceae Vegetables Carrot, Celery, Fennel, Parsley, and Parsnip and Their Cytotoxic Activities », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, n° 7, p. 2518-2523, 2005.
- [118] R. M. Prior, N. H. Lundgaard, M. E. Light, G. I. Stafford, J. van Staden, et A. K. Jäger, « The polyacetylene faltarindiol with COX-1 activity isolated from Aegopodium podagraria L », *J. Ethnopharmacol.*, vol. 113, n° 1, p. 176-178, 2007.
- [119] A. Schinkovitz, M. Stavri, S. Gibbons, et F. Bucar, « Antimycobacterial polyacetynes from Levisticum officinale », *Phytother. Res. PTR*, vol. 22, n° 5, p. 681-684, 2008.
- [120] D. Lechner, M. Stavri, M. Oluwatuyi, R. Pereda-Miranda, et S. Gibbons, « The anti-staphylococcal activity of Angelica dahurica (Bai Zhi) », *Phytochemistry*, vol. 65, n° 3, p. 331-335, 2004.
- [121] J. Lutowski, T. C. Luan, et T. T. Hoa, « Polyacetynes in the Araliaceae family. Part IV. The antibacterial and antifungal activities of two main polyacetynes from Panax vietnamensis Ha et Grushv. and Polyscias fruticosa (L.) Harms. », *Herba Pol.*, vol. 38, p. 137-40, 1992.
- [122] B.-M. Nie *et al.*, « Panaxydol and panaxynol protect cultured cortical neurons against A β 25-35-induced toxicity », *Neuropharmacology*, vol. 54, n° 5, p. 845-853, 2008.
- [123] Y.-Q. Yang *et al.*, « Total synthesis of each enantiomer of falcarinol and panaxjapyne A via asymmetric catalytic alkynylation of an aldehyde », *Tetrahedron Asymmetry*, vol. 26, n° 7, p. 361-366, 2015.
- [124] Y. Zou, Q. Wang, et A. Goeke, « Organocatalytic Multicomponent α -Methylenation/Diels-Alder Reactions: A Versatile Route to Substituted Cyclohexenecarbaldehyde Derivatives », *Chem. – Eur. J.*, vol. 14, n° 17, p. 5335-5345, 2008.
- [125] P. Raharivelomanana, A. Cambon, M. Azzaro, J. P. Bianchini, R. Faure, « The beta-bisabolol and beta-bisabolol, two new bisabolene sesquiterpenes from Neogallitropsis pancheri », *J. Nat. Prod. USA*, vol 52, 272-274, 1993.
- [126] K. H. C. Başer, T. Özek, B. Demirci, et H. Duman, « Composition of the essential oil of Prangos heyneae H. Duman et M. F. Watson, a new endemic from Turkey », *Flavour Fragr. J.*, vol. 15, n° 1, p. 47-49, 2000.
- [127] K. Mori et M. Matsui, « Synthesis of Compounds with Juvenile Hormone Activity », *Agric. Biol. Chem.*, vol. 34, n° 1, p. 115-121, 1970.

- [128] K. Bylebyl, P. Poschlod, et C. Reisch, « Genetic variation of *Eryngium campestre* L. (Apiaceae) in Central Europe », *Mol. Ecol.*, vol. 17, n° 14, p. 3379-3388, 2008.
- [129] J. Pala-Paul, J. Usano-Aleman, A. C. Soria, M. J. Perez-Alonso, et J. J. Brophy, « Essential oil composition of *Eryngium campestre* L. growing in different soil types. A preliminary study. », *Nat. Prod. Commun.*, vol. 3, 1121-1126, 2008.
- [130] T. Fujioka *et al.*, « Antiproliferative Constituents from Umbelliferae Plants. V. A New Furanocoumarin and Falcarindiol Furanocoumarin Ethers from the Root of *Angelica japonica* », *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, vol. 47, n° 1, p. 96-100, 1999.
- [131] C. Dawid, F. Dunemann, W. Schwab, T. Nothnagel, et T. Hofmann, « Bioactive C17-Polyacetylenes in Carrots (*Daucus carota* L.): Current Knowledge and Future Perspectives », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 63, n° 42, p. 9211-9222, 2015.
- [132] Y. Nakano, H. Matsunaga, T. Saita, M. Mori, M. Katano, et H. Okabe, « Antiproliferative Constituents in Umbelliferae Plants II.: Screening for Polyacetylenes in Some Umbelliferae Plants, and Isolation of Panaxynol and Falcarindiol from the Root of *Heracleum moellendorffii* », *Biol. Pharm. Bull.*, vol. 21, n° 3, p. 257-261, 1998.
- [133] F. Bohlmann et C. Zdero, « Terpendervative aus höheren Pflanzen, XII. Über weitere Terpenaldehydester aus *Eryngium*-Arten », *Chem. Ber.*, vol. 104, n° 6, p. 1957-1961, 1971.
- [134] H. R. Jin *et al.*, « The antitumor natural compound falcarindiol promotes cancer cell death by inducing endoplasmic reticulum stress », *Cell Death Dis.*, vol. 3, n° 8, p. 376, 2012.
- [135] E. S. da S. Fernandes, « Identification of active compounds in extracts of *Eryngium* species from the Iberia » 2013.
- [136] S. Ghennou, « contribution à une étude de *stipa tenacissima* L dans le SudOuest de la région de Tlemcen », phytodynamique des écosystèmes montorrals menacés, Université de Tlemcen, 2014.
- [137] A. Billem, « Contribution à l'étude histologique du *Chamaerops humilis* L.: Approche comparative des peuplements des Monts de Traras et des Monts de Tlemcen », Université Es-senia Oran, 2012.
- [138] M. Marcetić, D. Bozić, M. Milenković, B. Lakusić, et N. Kovacević, « Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of different parts of *Seseli rigidum* », *Nat. Prod. Commun.*, vol. 7, n° 8, p. 1091-1094, 2012.
- [139] G. Loy, F. Cottiglia, D. Garau, D. Deidda, R. Pompei, et L. Bonsignore, « Chemical composition and cytotoxic and antimicrobial activity of *Calycotome villosa* (Poiret) Link leaves », *Il Farm.*, vol. 56, n° 5-7, p. 433-436, 2001.
- [140] F. Şahin *et al.*, « Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey », *Food Control*, vol. 15, n° 7, p. 549-557, 2004.
- [141] S. Picaud, M. E. Olsson, M. Brodelius, et P. E. Brodelius, « Cloning, expression, purification and characterization of recombinant (+)-germacrene D synthase from *Zingiber officinale* », *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 452, n° 1, p. 17-28, 2006.
- [142] S. Burt, « Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review », *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 94, n° 3, p. 223-253, 2004.
- [143] A. T. Mata, C. Proença, A. R. Ferreira, M. L. M. Serralheiro, J. M. F. Nogueira, et M. E. M. Araújo, « Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices », *Food Chem.*, vol. 103, 778-786, 2007.
- [144] L. A. El-Kassem, U. W. Hawas, H. Awad, et H. Taie, « Flavonoids from the aerial parts of *Eryngium campestre* L. with antioxidant and anti-alzheimer activities », *Planta Med.*, vol. 79, n° 13, p. PJ2, 2013.

- [145] F. Nebija, G. Stefkov, M. Karapandzova, T. Stafilov, T. K. Panovska, et S. Kulevanova, «Chemical characterization and antioxidant activity of *Eryngium campestre* L., Apiaceae from Kosovo », *Makedon. Farm. Bilt.*, vol. 55, n° (1, 2), p. 22-32, 2009.
- [146] J. Palá-Paúl, L. M. Copeland, J. J. Brophy, et R. J. Goldsack, « Essential oil composition of *Eryngium rosulatum* PW Michael ined.: A new undescribed species from eastern Australia », *Biochem Syst. Ecol.*, vol. 34, 796-801, 2006.
- [147] J. Palá-Paúl, J. J. Brophy, R. J. Goldsack, L. M. Copeland, M. J. Pérez-Alonso, et A. Velasco-Negueruela, « Essential oil composition of the seasonal heterophyllous leaves of *Eryngium vesiculosum* from Australia », *Aust. J. Bot.*, vol. 51, n° 5, 497-501, 2003.
- [148] P. Sconzert-Hall *et al.*, « Composition and mosquitocidal activity of the essential oil of *Eryngium yuccifolium* (Rattlesnake master). », in *Abstracts of Papers, 247th ACS National Meeting & Exposition, Dallas, TX, United States*, 2014, p. AGFD-89.
- [149] J. Pala-Paul, L. M. Copeland, J. J. Brophy, et R. J. Goldsack, « Essential oil composition of *Eryngium paludosum* (Moore et Betche) P.W. Michael: an endemic species from eastern Australia. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 20, 416-419, 2008.
- [150] G. Flamini, M. Tebano, et P. L. Cioni, « Composition of the essential oils from leafy parts of the shoots, flowers and fruits of *Eryngium amethystinum* from Amiata Mount (Tuscany, Italy) », *Food Chem.*, vol. 107, n° 2, p. 671-674, 2008.
- [151] A. Maggio, M. Bruno, C. Formisano, D. Rigano, et F. Senatore, « Chemical composition of the essential oils of three species of Apiaceae growing wild in Sicily: *Bonannia graeca*, *Eryngium maritimum* and *Opopanax chironium* », *Nat Prod Commun*, vol. 8, 841-844, 2013.
- [152] F. Darriet, S. Andreani, M.-C. De Cian, J. Costa, et A. Muselli, « Chemical variability and antioxidant activity of *Eryngium maritimum* L. essential oils from Corsica and Sardinia », *Flavour Fragr. J.*, vol. 29, n° 1, p. 3-13, 2014.
- [153] M. Mohammadhosseini, « Hydrodistilled volatile oil from stems of *Eryngium creticum* Lam. in the marginal brackish regions of Semnan province by using gas chromatography combined with mass spectrometry. », *Asian J. Chem.*, vol. 25, 390-392, 2013.
- [154] K. Morteza-Semnani, « Essential oil composition of *Eryngium bungei* Boiss », *J Essent. Oil Res.*, vol. 17, 485-486, 2005.
- [155] M. Mohammadhosseini, B. Mahdavi, et H. Akhlaghi, « Characterization and chemical composition of the volatile oils from aerial parts of *Eryngium bungei* Bioss. (Apiaceae) by using traditional hydrodistillation, microwave assisted hydrodistillation and head space solid phase microextraction methods prior to GC and GC/MS analyses: A comparative approach », *J Essent. Oil Bear. Plants*, vol. 16, 613-623, 2013.
- [156] M. I. Cobos, J. L. Rodriguez, A. Petre, E. Spahn, J. Casermeiro, et A. G. Lopez, « Composition of the essential oil of *Eryngium paniculatum* Cav », *J Essent. Oil Res.*, vol. 14, 82-83, 2002.
- [157] P. A. Leclercq, X. D. Nguyen, N. L. Vu, et V. T. Nguyen, « Composition of the essential oil of *Eryngium foetidum* L. from Vietnam. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 4, 423-424, 1992.
- [158] E. Cardozo, M. Rubio, L. Rojas, et A. Usubillaga, « Composition of the essential oil from the leaves of *Eryngium foetidum* L. from the Venezuelan Andes », *J Essent. Oil Res.*, vol. 16, 33-34, 2004.
- [159] M. Marčetić, N. Kovačević, D. Lakušić, et B. Lakušić, « Habitat-related variation in composition of the essential oil of *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) », *Phytochemistry*, vol. 135, p. 80-92, 2017.

- [160] M. D. Ilic *et al.*, « Comparison of chemical composition and biological activities of *Seseli rigidum* fruit essential oils from Serbia. », *Open Chem.*, vol. 13, 42-51, 2015.
- [161] M. Todorova, A. Trendafilova, et D. Dimitrov, « Essential oil composition of *Seseli rigidum* Waldst. from Bulgaria. », *Comptes Rendus Acad. Bulg. Sci.*, vol. 66, 991-996, 2013.
- [162] M. D. Marcetic, B. S. Lakusic, D. V. Lakusic, et N. N. Kovacevic, « Variability of the Root Essential Oils of *Seseli rigidum* Waldst. & Kit. (Apiaceae) from Different Populations in Serbia. », *Chem. Biodivers.*, vol. 10, 1653-1666, 2013.
- [163] N. S. Radulovic, M. R. Dordevic, M. S. Dekic, et P. D. Blagojevic, « Chemical composition of the essential oil and diethyl ether extract of *Trinia glauca* (L.) Dumort. (Apiaceae) and the chemotaxonomic significance of 5-O-methylvisamminol. », *Chem. Biodivers.*, vol. 13, 403-415, 2016.
- [164] F. Maggi, F. Papa, S. Dall'Acqua, et M. Nicoletti, « Chemical analysis of essential oils from different parts of *Ferula communis* L. growing in central Italy. », *Nat. Prod. Res.*, vol. 30, 806-813, 2016.
- [165] H. Dong *et al.*, « Antioxidant activity and chemical compositions of essential oil and ethanol extract of *Chuanminshen violaceum*. », *Ind. Crops Prod.*, vol. 76, 290-297, 2015.
- [166] O. Tzakou, P. Mylonas, M. Hancianu, et A. Poiata, « Composition and antimicrobial activity of *Malabaila aurea* Boiss. essential oil. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 20, 270-271, 2008.
- [167] Q. Liu, Y. Yu, Y. Bi, et Z. Liang, « Analysis of essential oil components of *Saposhnikovia divaricata* and *Notopterygium incisum* in Xuanqi drop pills by GC/MS method. », *Yaoxue Fuwu Yu Yanjiu*, vol. 14, 31-34, 2014.
- [168] R. C. Padalia, R. S. Verma, A. Chauhan, C. S. Chanotiya, et A. Yadav, « Variation in the volatile constituents of different plant parts of *Ligusticopsis wallichiana* from western Himalaya, India. », *Nat. Prod. Commun.*, vol. 7, 1077-1078, 2012.
- [169] M. N. I. Bhuiyan, J. U. Chowdhury, J. Begum, et M. A. Azim, « Constituents of the essential oils from Caraway (*Carum carvi* L.) leaves and fruits. », *Dhaka Univ. J. Sci.*, vol. 56, 247-249, 2008.
- [170] N. Radulovic, N. Dordevic, R. Palic, et B. Zlatkovic, « Volatiles from the leaves of *Carum graecum* Boiss. et Heldr. subsp. *graecum* (Apiaceae) from Serbia. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 22, 518-520, 2010.
- [171] K. Javidnia, R. Miri, M. Soltani, et A. R. Khosravi, « Constituents of the essential oil of *Dicyclophora persica* Boiss. from Iran. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 19, 43-544, 2007.
- [172] A. Zhao, X. Yang, X. Yang, W. Wang, et H. Tao, « [GC-MS analysis of essential oil from root of *Angelica dahurica* cv. Qibaizhi] », *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi Zhongguo Zhongyao Zazhi China J. Chin. Mater. Medica*, vol. 36, n° 5, p. 603-607, 2011.
- [173] P. S. Beauchamp, B. C. Dev, V. Dev, S. L. Midland, et J. J. Sims, « California Lomatiums, Part VII. Analysis of the essential oils of *Lomatium nevadense* (Watson) J. Coulter et Rose var. *Parishii* (J. Coulter et Rose) Jepson. Isolation of trans-Dauc-8-en-11-ol, a new sesquiterpene alcohol and naturally occurring 2',3',3'-trimethyl-2',3'-dihydroangelicin. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 19, 117-124, 2007.
- [174] P. S. Beauchamp, B. C. Dev, et V. Dev, « California Lomatiums, part VI. Composition of the essential oils of *Lomatium foeniculaceum* ssp. *fimbriatu*. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 18, 666-669, 2006.
- [175] P. S. Beauchamp *et al.*, « California lomatiums, part IV: composition of the essential oils of *Lomatium rigidum* (M. E. Jones) jepson. Structures of two new funebrene epimers and a tridecatriene. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 16, 571-578, 2004.

- [176] W. A. Asuming *et al.*, « Essential oil composition of four *Lomatium* Raf. species and their chemotaxonomy. », *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 33, 17-26, 2004.
- [177] J. G. Stamenkovic, G. S. Stojanovic, I. R. Radojkovic, G. M. Petrovic, et B. K. Zlatkovic, « Chemical Composition of the Essential Oil from *Chaerophyllum temulum* (Apiaceae) », *Nat. Prod. Commun.*, vol. 10, 1439-1441, 2015.
- [178] M. D. Mendes, H. Trindade, A. C. Figueiredo, L. G. Pedro, et J. G. Barroso, « *Chaerophyllum azoricum* trel. grown in the azores archipelago, Portugal: evaluation of the genetic diversity using molecular markers and comparison with volatile oils profiles. », *Flavour Fragr. J.*, vol. 24, 259-265, 2009.
- [179] K. Pourshamsian, N. Montazeri, et Z. Barami, « Free radical scavenging activity and chemical composition of essential oils from *Chaerophyllum sativum* against food-related microorganisms. », *Asian J. Chem.*, vol. 24, 3019-3021, 2012.
- [180] S. Sertel, T. Eichhorn, P. K. Plinkert, et T. Efferth, « Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from the leaves of a medicinal herb, *Levisticum officinale*, against UMSCC1 head and neck squamous carcinoma cells. », *Anticancer Res.*, vol. 31, 185-191, 2011.
- [181] S. C. Jovanovic, O. P. Jovanovic, G. M. Petrovic, et G. S. Stojanovic, « Endemic Balkan parsnip *Pastinaca hirsuta*: the chemical profile of essential oils, headspace volatiles and extracts », *Nat. Prod. Commun.*, vol. 10, 661-4, 2015.
- [182] Y. Song, X. Deng, J. Zhu, et X. Feng, « Fingerprint of volatile oil from root of *Acanthopanax sessiliflorus*. », *Huaxi Yaoxue Zazhi*, vol. 30, 67-69, 2015.
- [183] L. Shao *et al.*, « Unstable simple volatiles and gas chromatography-tandem mass spectrometry analysis of essential oil from the roots bark of *Oplopanax horridus* extracted by supercritical fluid extraction. », *Molecules*, vol. 19, 19708-19717, 10 pp., 2014.
- [184] N. S. Radulovic, M. Z. Mladenovic, et Z. Z. Stojanovic-Radic, « Synthesis of small libraries of natural products: New esters of long-chain alcohols from the essential oil of *Scandix pecten-veneris* L. (Apiaceae). », *Flavour Fragr. J.*, vol. 29, 255-266, 2014.
- [185] M. Miyazawa, K. Kurose, A. Itoh, et N. Hiraoka, « Comparison of the Essential Oils of *Glehnia littoralis* from Northern and Southern Japan. », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 49, 5433-5436, 2001.
- [186] A. Maxia *et al.*, « Chemical Composition and Antifungal Activity of Essential Oils and Supercritical CO₂ Extracts of *Apium nodiflorum* (L.) Lag. », *Mycopathologia*, vol. 174, 61-67, 2012.
- [187] Z. Liu, H. Chen, B. Li, J. Sun, et L. Zhang, « GC-MS analysis and antimicrobial activities of essential oil from *Bupleurum chinense*. », *Zhongguo Shiyang Fangjixue Zazhi*, vol. 17, 123-126, 2011.
- [188] A. Orav, A. Viitak, et M. Vaher, « Identification of bioactive compounds in the leaves and stems of *Aegopodium podagraria* by various analytical techniques. », *Procedia Chem.*, vol. 2, 152-160, 2010.
- [189] O. Firuzi, M. Asadollahi, M. Gholami, et K. Javidnia, « Composition and biological activities of essential oils from four *Heracleum* species. », *Food Chem.*, vol. 122, 117-122, 2010.
- [190] J. Zhang, R. Li, G. Wei, et X. Lai, « Chemical constituents in essential oils of *Ostericum citriodorum*. », *Zhongcaoyao*, vol. 40, 1221-1222, 2009.
- [191] C. Bicchì *et al.*, « HIV-1-inhibiting activity of the essential oil of *Ridolfia segetum* and *Oenanthe crocata*. », *Planta Med.*, vol. 75, 1331-1335, 2009.
- [192] B. Tirillini, G. Pintore, M. Chessa, et L. Menghini, « Essential oil composition of *Tordylium apulum* L. from Italy. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 18, 51-52, 2006.

- [193] P. Xia *et al.*, « Comparative study on volatile oils of four Panax genus species in Southeast Asia by gas chromatography–mass spectrometry », *Ind. Crops Prod.*, vol. 74, p. 478-484, 2015.
- [194] C. Niu, F. Zhang, D. Diao, et Y. Fu, « Extraction conditions optimization of essential oil from steamed ginseng water by response surface methodology and GC-MS analysis. », *Shipin Gongye Keji*, vol. 35, 310-314, 319, 2014.
- [195] L. Zhang, X.-Q. Zhang, et M. Sun, « Comparative analysis of the essential oils from normal and hairy roots of Panax japonicas C.A. Meyer. », *Afr. J. Biotechnol.*, vol. 10, 2440-2445, 2011.
- [196] K. Smigielski, M. Dolot, et A. Raj, « Composition of the essential oils of ginseng roots of Panax quinquefolium L. and Panax ginseng C.A. Meyer. », *J. Essent. Oil-Bear. Plants*, vol. 9, 261-266, 2006.
- [197] L. Zhang et D. Zhang, « Analysis of chemical constituents of the essential oil from Hydrocotyle sibthorpioides Lam. by GC-MS. », *Guangdong Yaoxueyuan Xuebao*, vol. 24, 35-36, 2008.
- [198] N. Ayoub, O. Rashwan, et K.-H. Kubeczka, « The essential oils and polyacetylenes from Sciadophyllum pulchrum Hort. », *Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ.*, vol. 40, 73-78, 2002.
- [199] J.-C. Chalchat et M. M. Ozcan, « Comparative essential oil composition of flowers, leaves and stems of basil (*Ocimum basilicum* L.) used as herb. », *Food Chem.*, vol. 110, 501-503, 2008.
- [200] R. Richter, H.-P. Hanssen, W. A. Koenig, et A. Koch, « Essential oil composition of Eleutherococcus senticosus (Rupr. et Maxim.) Maxim roots. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 19, 209-210, 2007.
- [201] H.-S. Choi, « Comparison of the essential oil composition between *Aster tataricus* and *A. koraiensis*. », *Anal. Chem. Lett.*, vol. 2, 139-151, 2012.
- [202] A. B. Florence, W. E. Leon, et T. Z. Felix, « Chemical variability of *Tithonia diversifolia* (hemsl.) a. gray leaf and stem oil from côte d'Ivoire. », *Int. J. Pharm. Sci. Res.*, vol. 6, 2214-2222, 2015.
- [203] A. A. Jahid, S. Essabaq, A. Elamrani, M. Blaghen, et J. J. Eddine, « Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil and the Hydro-alcoholic Extract of *Artemisia campestris* L. Leaves from Southeastern Morocco », *J. Biol. Act. Prod. Nat.*, vol. 6, n° 5-6, p. 393-405, 2016.
- [204] M. Khan, A. A. Mousa, K. V. Syamasundar, et H. Z. Alkhathlan, « Determination of chemical constituents of leaf and stem essential oils of *Artemisia monosperma* from central Saudi Arabia. », *Nat. Prod. Commun.*, vol. 7, 1079-1082, 2012.
- [205] R. K. Joshi et V. Badakar, « Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of the flowers of *Tridax procumbens*. », *Nat. Prod. Commun.*, vol. 7, 941-942, 2012.
- [206] J. Lazarevic, N. Radulovic, R. Palic, et B. Zlatkovic, « Chemical analysis of volatile constituents of *Berula erecta* (Hudson) coville subsp. *erecta* (Apiaceae) from Serbia. », *J. Essent. Oil Res.*, vol. 22, 153-156, 2010.
- [207] X. Chen et F. Ge, « Chemical components from essential oil of *Pandanus amaryllifolius* leaves. », *Zhongyaocai*, vol. 37, 616-620, 2014.
- [208] J. Shu, L. Huang, Y. Niu, K. Dai, P. Zou, et J. Mao, « Preparation of the Components of essential Oil from *Tussilago farfarae* L. by the method of simultaneous distillation extraction and supercritical fluid extraction. », *Xiandai Shipin Keji*, vol. 29, 591-595, 2013.

- [209] J. A. Pino, M. Gaviria, J. Quevedo-Vega, L. Garcia-Lesmes, et C. E. Quijano-Celis, « Essential oil of *Galinsoga parviflora* leaves from Colombia. », *Nat. Prod. Commun.*, vol. 5, 1831-1832, 2010.
- [210] J. Wang, Z. Hu, J. Feng, Z. Su, et X. Zhang, « Chemical constituents of essential oil from different parts of *Carpesium macrocephalum*. », *Xibei Zhiwu Xuebao*, vol. 28. 1239-1245, 2008.
- [211] S. Mu, Y. Wang, B. Luo, L. Huang, X. Yang, et X. Hao, « Analysis of chemical components of volatile oil of *Pittosporum glabratum* Lindl. var. *neriifolium* Rehd. et Wils. », *Zhongcaoyao*, vol. 35, 980-981, 2004.
- [212] H. Teyeb, S. Zouari, W. Douki, M. F. Najjar, et M. Neffati, « Essential oils of leaves, flowers and fruits of *Astragalus gombiformis* Pomel (Fabaceae). », *Acta Hortic.*, vol. 853, 263-268, 2010.
- [213] S. Wang, F. Xu, et X. Zhang, « Analysis of the volatile oil from the *Radix adenophorae* by steam distillation after alcohol extraction. », *Fenzi Kexue Xuebao*, vol. 26, 428-431, 2010.
- [214] M. Liu, W. Deng, Y. Wu, G. Wang, Y. Yang, et Z. Li, « Analysis of volatile components in essential oil of *Michelia figo* Spreng. », *Jingxi Huagong*, vol. 26., 38-41, 93, 2009.
- [215] W.-T. Qiao, Y.-H. Liu, et K. Yuan, « Extraction and analysis of volatile oil of *Mussaenda hainanensis* Merr. by GC/MS. », *Asian J. Chem.*, vol. 21, 2887-2892, 2009.
- [216] N. T. Dung, J. M. Kim, et S. C. Kang, « Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. », *Food Chem. Toxicol.*, vol. 46. 3632-3639, 2008.

Résumé

L'objectif principal de cette thèse est une meilleure connaissance et une valorisation de la richesse floristique de l'Ouest Algérien qui reste, à ce jour, grandement méconnue. Ces travaux constituent une initiation à des projets d'investissement dans le domaine des PPAM sur la base de résultats scientifiques élaborés dans des Laboratoires spécialisés dont la notoriété est une garantie de fiabilité.

Ainsi, l'étude porte sur une caractérisation chimique et sur une évaluation des activités biologiques des métabolites secondaires de la fraction volatile de trois espèces d'*Eryngium* (famille des Umbellifères) (*E. triquetrum*, *E. campestre*, *E. tricuspdatum subsp mauritanim*) poussant à l'état spontané dans l'Ouest Algérien. Comme décrit dans l'intitulé, la finalité est donc la recherche de nouveaux extractibles, c'est à dire de nouvelles molécules susceptibles d'être actives vis à vis de pathologies.

L'utilisation de techniques chromatographiques (CPG-DIF, CPG-SM, Chromatographie Flash) a permis une meilleure connaissance des huiles essentielles des espèces *Eryngium*, dont certaines décrites pour la première fois à l'échelle internationale. Elles ont apporté d'importantes informations sur la variation de la composition chimique en constituants volatils de la plante au cours du cycle végétatif et en fonction de sa localisation géographique.

Ces travaux ont, aussi, été l'occasion pour mener des investigations structurales (SM, IR, RMN 1D et 2D) qui ont abouti à l'identification d'une nouvelle molécule dénommée « campestrolide » dans l'huile essentielle d'*E. campestre*. Ces matrices volatiles ont été l'objet d'une évaluation biologique qui a montré une certaine réactivité vis-à-vis les différents agents testés. En particulier, les huiles essentielles d'*E. triquetrum* et *E. campestre* ont magnifisté un pouvoir remarquable aussi bien en test antimicrobien, pour lequel l'huile essentielle *E. campestre* a montré une très bonne activité contre les souches *Staphylococcus*, *Bacillus* et *Enterococcus*, responsables des infections nosocomiales. Alors que la meilleure activité antioxydante a été obtenue avec l'huile essentielle d'*E. triquetrum*.

مُلخَص

الهدف الأساسي لهذه الدكتوراه هو معرفة أفضل و تثمين للثروة النباتية التي لاتزال إلى يومنا هذا غير معروفة كليًا. هذه الأعمال تمثل بداية لمشاريع إستثمارية في مجال النبّاتات العطريّة و الطبيّة، مبنية على نتائج علميّة محصّلة في مختبرات متخصصة مضمونة الجودة.

تهتم هذه الدراسة بتحديد الخصائص الكيميائية و البيولوجية للمكوّنات الثانوية للجزء المتطاير لثلاث أنواع من جنس *Eryngium* (من عائلة Umbellifères) (*E. triquetrum*, *E. campestre*, *E. tricuspdatum subsp. mauritanim*). تنمو تلقائيًا في الغرب الجزائري. كما ذكر في العنوان، فإن الهدف الأسمى هو البحث عن مستخلصات جديدة، أو بمعنى آخر جزيئات جديدة من المرجح أن تكون ذات فعالية ضدّ الأمراض.

إستعمال التقنيات الكروماتوغرافية (CPG-DIF, CPG-SM, Chromatographie Flash) سمح بمعرفة أفضل للزّيوت الأساسيّة لأنواع *Eryngium*، البعض منها مذكور للمرّة الأولى على المستوى العالمي. أنتت هذه الدراسات بمعلومات مهمّة حول تغيّرات التركيبة الكيميائيّة للأجزاء المتطايرة للنبّات أثناء الدورة النّبّاتية و وفقًا للموقع الجغرافي.

هذه الأعمال كانت أيضًا فرصة للقيام بتحقيقات هيكلية (SM, IR, RMN 1D et 2D) إنتهت إلى التّعريف بجزيء جديد سمّي بـ « Campestrolide » في الزّيوت الأساسي لـ *E. campestre*. هاته الأجزاء المتطايرة كانت مادة تقييم بيولوجي أظهر شيء من الفعاليّة ضدّ السُلالات المُجرّبة بالأخصّ الزّيوت الأساسي لـ *E. triquetrum* و *E. campestre* التي أظهرت أثرًا واضحًا في الإختبار المضاد للمكروبات أين أبدت *E. campestre* فعاليّة ممتازة ضدّ *Staphylococcus*, *Enterococcus* و *Bacillus* المسؤولة عن عدوى المستشفيات. في حين أن أفضل فعاليّة في الإختبار المضاد للأكسدة حصّلت من طرف الزّيوت الأساسي لـ *E. triquetrum*.

Abstract

The main objective of this thesis is a better knowledge and appreciation of the floristic wealth of western Algeria, which remains, nowadays, largely unknown. These works are an initiation to investment projects in the field of PPAM based on scientific results developed in specialized laboratories whose reputation is a guarantee of reliability.

The study concerns a chemical characterization and an evaluation of the biological activities of the secondary metabolites of the volatile fraction of three species of *Eryngium* (Umbelliferae family) (*E. triquetrum*, *E. campestre*, *E. tricuspdatum subsp. mauritanum*) growing spontaneously in western Algeria. As described in the title, the purpose is researching for new extractable, which means new molecules that can be active against pathologies.

The use of chromatographic techniques (GC-DIF, GC-MS, flash chromatography) has led to a better understanding of the essential oils of the *Eryngium* species, some of which are described for the first time. It provided important information on the variation of the chemical composition in volatile constituents of the plant during the vegetative cycle and according to its geographical location.

These works were also the opportunity to conduct structural investigations (MS, IR, 1D and 2D NMR) which led to the identification of a new molecule called "Campestrolide" in the essential oil of *E. campestre*. These volatile fractions were the subject of a biological evaluation which showed certain reactivity against various tested agents. In particular, the essential oils of *E. triquetrum* and *E. campestre* demonstrated remarkable potency in antimicrobial test, for which essential oil of *E. campestre* showed a very good activity against *Staphylococcus*, *Bacillus* and *Enterococcus* strains responsible for nosocomial infections. While, the best antioxidant activity was obtained by the essential oil of *E. triquetrum*.