



HAL
open science

Etude des activités biologiques et de la composition chimique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques d'Algérie: Pituranthos scoparius (Guezzah), Santolina africana (EL Djouada) et Cymbopogon schoenanthus (El Lemad) ”.

Charaf Eddine Watheq Malti

► **To cite this version:**

Charaf Eddine Watheq Malti. Etude des activités biologiques et de la composition chimique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques d'Algérie: Pituranthos scoparius (Guezzah), Santolina africana (EL Djouada) et Cymbopogon schoenanthus (El Lemad) ”. Chimie thérapeutique. UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID-TLEMCEN; Tlemcen, 2019. Français. NNT: . tel-02522150

HAL Id: tel-02522150

<https://hal.science/tel-02522150>

Submitted on 27 Mar 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID-TLEMCCEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département de Biologie
Laboratoire « Produits Naturels » de l'Université de Tlemcen
Laboratoire de l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse-CNRS

THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT

En Biologie

Option : Nutrition et Santé

Présentée par : M. MALTI Charaf Eddine Watheq

Thème

Etude des activités biologiques et de la composition chimique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques d'Algérie : *Pituranthos scoparius* (Guezzah), *Santolina africana* (EL Djouada) et *Cymbopogon schoenanthus* (El Lemad) »

Soutenue le : 04 / 09 / 2019

Devant le jury composé de :

Président :

M^{me} ATIK-BEKKARA Fewzia | Professeur | Université de Tlemcen

Examineurs :

M. BIGHELLI Ange | Professeur | Université de Corse

M. LAZOUNI Hamadi Abderrahmane | Professeur | Université de Tlemcen

Co-directeur de thèse :

M. TOMI Félix | Professeur | Université de Corse

Directeur de thèse :

M^{me} BEKHECHI Chahrazed | Professeur | Université de Tlemcen

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au département de Biologie, laboratoire des « Produits Naturels », au sein de l'équipe « Activité Antimicrobienne des Substances Naturelles et Ecologie Microbienne », sous la direction de Madame **BEKHECHI Chahrazed**, en collaboration avec le laboratoire de l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse-CNRS, UMR 6134 SPE, sous la direction de Monsieur **TOMI Félix**.

Tout d'abord, j'adresse mes plus vifs remerciements à mon directeur de thèse Madame **BEKHECHI Chahrazed**, Professeur à l'université de Tlemcen, dont l'expérience et le dévouement sans faille ont permis la réalisation de cette thèse. Je la remercie pour la confiance qu'elle m'a accordé, sa gentillesse, sa disponibilité permanente et pour les nombreux conseils et encouragements qu'elle m'a prodigué et qui m'ont guidé tout au long de l'accomplissement de ce travail. Qu'elle trouve ici le témoignage de ma haute considération et de mon profond respect.

Je suis également reconnaissant à Monsieur **TOMI Félix**, Professeur à l'université de Corse, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'être le co-directeur de ce travail. Cette thèse est le fruit d'une collaboration de plus de trois ans avec lui. Il m'a permis de réaliser cette thèse dans les meilleures conditions possibles. En effet, il a mis à notre disposition l'ensemble des moyens analytiques disponible dans son laboratoire et en particulier la technique d'analyse des mélanges naturels par RMN du carbone-13 mise au point et développée par l'équipe « Chimie et Biomasse », université de Corse. Je le remercie également pour son aide concernant la rédaction et la soumission des articles. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma respectueuse gratitude.

Mes remerciements s'adressent aussi à Madame **ATIK BEKKARA Fewzia**, Professeur à l'université de Tlemcen, directeur du laboratoire des « Produits Naturels », pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, pour la confiance qu'elle m'a toujours témoignée, pour ses encouragements, son soutien et ses précieux conseils tout au long de ce travail. C'est un immense honneur que vous me faite en acceptant de présider ce jury de thèse. Je vous prie de bien croire à mon profond respect, et à ma sincère reconnaissance.

Je remercie également Monsieur **BIGHELLI Ange**, Professeur à l'université de Corse, et Monsieur **LAZOUNI Hamadi Abderrahmane**, Professeur à l'université de Tlemcen, pour tout l'intérêt qu'ils portent à ce travail en acceptant de le juger. Vos remarques et suggestions

seront de grandes valeurs pour enrichir cette thèse. Recevez Messieurs mon profond respect et ma profonde considération.

Un grand merci à Monsieur **GIBERNAU Marc**, Chargé de recherche CNRS à l'université de Corse, pour sa contribution précieuse dans l'étude statistique des compositions chimiques des huiles essentielles des différentes plantes étudiées. Je tiens à adresser mes sincères remerciements à Monsieur **PAOLI Mathieu**, Ingénieur de recherche à l'université de Corse, pour son aide et sa collaboration dans la caractérisation des huiles essentielles des différentes plantes étudiées par les techniques chromatographiques et spectroscopiques. Mes vifs remerciements s'adressent aussi à Monsieur **MAURY Jacques**, Maître de conférences à l'université de Corse et Madame **MARIANI Magali**, Ingénieur de Recherche à l'université de Corse pour leur aide dans la réalisation de l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles de *Santolina africana* et Madame **BACCATI Clémentine**, étudiante en 5^{ème} année de Pharmacie, pour sa contribution dans la caractérisation chimique des huiles essentielles de *Santolina africana*.

J'exprime aussi ma reconnaissance à Monsieur **HASSANI Faïçal** et Monsieur **BABALI Brahim**, docteurs à l'université de Tlemcen et membre du laboratoire « Ecologie et gestion des écosystèmes naturels », pour leur aide concernant l'identification des plantes étudiées.

Je remercie aussi Mademoiselle **BOUSSAID Maghnia**, docteur en Biologie, pour toute l'aide qu'elle m'a apportée, elle a grandement participé à ma formation en partageant ses connaissances avec moi, je la remercie aussi pour son soutien, ses conseils, sa sympathie et sa grande générosité.

Je veux faire part aussi de toute ma gratitude à Monsieur **EL-HACI Imad Abdelhamid**, Maître de Recherche B au sein du Centre de Recherche scientifique et technique en Analyses Physico-Chimique CRAPC et membre du laboratoire des « Produits Naturels », qui par sa grande générosité n'a pas hésité à partager avec moi son savoir et à me prodiguer de précieux conseils.

Enfin, je remercie toutes celles, et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Résumé

Dans le but de valoriser les plantes aromatiques algériennes, nous nous sommes intéressés dans cette thèse d'une part, à la caractérisation chimique par CPG (Ir), CPG-SM et RMN du ^{13}C des huiles essentielles obtenues à partir de trois plantes, à savoir, *Pituranthos scoparius*, *Santolina africana* et *Cymbopogon schoenanthus*, poussant spontanément en Algérie, et d'autre part, à la détermination des activités biologiques de ces huiles essentielles.

La première partie concerne la caractérisation chimique des huiles essentielles des trois plantes étudiées en exploitant la complémentarité des techniques analytiques (CPG(Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C). Les échantillons (93) de *P. scoparius* prélevés dans cinq stations différentes de l'Algérie : Ghardaïa, Biskra, Batna (Fesdis-Bouilef et Djerma) et Béchar, ont montré des teneurs en huile essentielle d'une grande variabilité, allant de 0,16 à 0,99%. L'analyse détaillée des huiles essentielles des parties aériennes de *P. scoparius*, a permis d'identifier 62 composés. La composition de ces huiles essentielles présente une grande variabilité chimique, caractérisée par une forte proportion de monoterpènes hydrocarbonés (sabinène, limonène, α -pinène) et/ou de phénylpropanoïdes (6-méthoxy élémicine, myristicine et apiole dill). Les analyses statistiques des compositions, ont permis de mettre en évidence une variabilité chimique. Ainsi, les échantillons se répartissent en trois groupes principaux, qui ont été distingués sur la base des teneurs en 6-méthoxy élémicine (0,0-59,6%), sabinène (0,8-55,6%), limonène (0,3-44,0%), α -pinène (0,7-31,0%), myristicine (0,0-32,4%), élémicine (0,0-29,1%) et apiole dill (0,0-31,4%). En parallèle, le groupe III est subdivisé en deux sous-groupes (IIIA et IIIB). Le premier groupe apparaît original et caractérisé par une teneur élevée en 6-méthoxy élémicine (jusqu'à 59,6%) et n'a jamais été rapporté dans la littérature. Les échantillons (18) de *S. africana*, ont été récoltés dans trois stations de la région de Batna (Algérie) : Fesdis (Fesdis et Bouilef), Oued Chaaba (Hamla). Les rendements en huiles essentielles sont très faibles, variant considérablement d'un échantillon à l'autre, allant de 0,03 à 0,17%. L'analyse détaillée des huiles essentielles des parties aériennes de *S. africana*, a permis d'identifier 91 composés. La majorité des échantillons sont caractérisés par de fortes proportions en monoterpènes (51,5-69,7%). La composition de l'huile essentielle de *S. africana* est généralement homogène. Cependant, nous remarquons une variabilité chimique quantitative particulièrement pour les composés suivants : germacrène D, myrcène, spathuléol, α -bisabolol, β -pinène, 1,8-cinéole, *cis*-chrysanthénol, capillène, santolina alcool, camphre, terpinéol-4 et lyratol. Quatre composés minoritaires qui présentent une structure avec un motif di-alcyne sont également identifiés pour la première fois dans l'huile essentielle de cette espèce. L'étude statistique montre une variabilité chimique faible. Les échantillons (30) de *C. schoenanthus*, récoltés dans deux régions du Sahara de l'Algérie, Ghardaïa et Béchar, ont montré des rendements en huile essentielle homogènes avec des moyennes comprises entre 0,6 et 0,9%. L'analyse des huiles essentielles a conduit à l'identification de 55 composés. Il s'agit en large majorité de composés monoterpéniques oxygénés avec un squelette menthane, avec le *trans-p*-menth-2-ène-1-ol (10,5-31,7%) et le *cis-p*-menth-2-ène-1-ol (7,2-19,8%) comme composés majoritaires, suivis de 2-carène (2,1-17,0%) et un alcool sesquiterpénique, à savoir le β -élémol (1,9-20,7%). Deux autres dérivés *p*-menthaniques, *trans*-pipéritol (4,6-11,7%) et *cis*-pipéritol (3,2-9,0%) sont également identifiés en quantités assez importantes. L'analyse statistique met en évidence une variabilité chimique quantitative particulièrement pour les composés majoritaires : *trans-p*-menth-2-ène-1-ol (10,5-31,7%), *cis-p*-menth-2-ène-1-ol (7,2-20,2%), β -élémol (0,5-20,7%), 2-carène (1,0-17,0%) et suggère l'existence de deux groupes principaux : I et II (qui est subdivisé en deux sous-groupes IIA et IIB) et deux compositions atypiques.

La deuxième partie a été consacrée à l'étude des activités biologiques. Les huiles essentielles des parties aériennes de *P. scoparius*, agissent de façon active contre *Staphylococcus aureus*, les deux souches de *Candida albicans*, et contre *Aspergillus fumigatus*, avec des diamètres de zone d'inhibition allant de 12 à 27 mm, et des CMI comprises entre 2 et 4 $\mu\text{l/ml}$. Les huiles essentielles de *S. africana*, ont montré une bonne activité vis-à-vis des souches microbiennes *S. aureus* et *A. fumigatus*, avec des zones d'inhibition de 19,7 mm et 17,5 mm, respectivement. Les huiles essentielles de *C. schoenanthus*, ont montré la meilleure activité contre *S. aureus*, *C. albicans*, *A. flavus* et *Fusarium oxysporum*, avec des zones d'inhibition comprises entre 15,5 et 31,0 mm et avec des CMI allant de 0,5 à 2 $\mu\text{l/ml}$. Parallèlement, la capacité de l'huile essentielle de *S. africana* à inhiber la lipoxigénase de soja a été évaluée qu'indication d'une potentielle activité anti-inflammatoire. Les résultats obtenus ont montré une bonne activité, avec une CI_{50} de l'ordre de $0,065 \pm 0,004$ mg/ml, 5 fois supérieure à celle du NDGA ($0,013 \pm 0,003$ mg/ml). Enfin, l'activité antioxydante des huiles essentielles des trois plantes étudiées a été évaluée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH en utilisant deux solvants différents (méthanol et éthanol). Les résultats obtenus ont révélé une faible activité antioxydante pour l'ensemble des huiles essentielles testées par comparaison aux composés de référence. Cependant, l'huile essentielle de *S. africana* s'est montrée la plus active et les CI_{50} sont nettement plus faibles en présence de l'éthanol.

Mots clés : *Pituranthos scoparius*, *Santolina africana*, *Cymbopogon schoenanthus*, CPG (Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C , activité antimicrobienne, CMI, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire.

Abstract

In order to promote the Algerian aromatic plants, we are interested in this thesis on the one hand, to the chemical characterization by GC (RI), GC-MS, and ^{13}C NMR, of the essential oils obtained from three plants, namely: *Pituranthos scoparius*, *Santolina africana* and *Cymbopogon schoenanthus*, growing spontaneously in Algeria, and on the other hand, to determine the biological activities of these essential oils.

The first part concerns the chemical characterization of the essential oils of the three plants studied by exploiting the complementarity of analytical techniques (GC (RI), GC-MS, and ^{13}C NMR). The *P. scoparius* samples (93) collected from five different regions in Algeria: Ghardaïa, Biskra, Batna (Fesdis-Bouilef and Djerma) and Béchar, showed essential oil yields of great variability, ranging from 0.16 to 0.99%. The composition of these essential oils has a great chemical variability, characterized by a high proportion of monoterpene hydrocarbons (sabinene, limonene, α -pinene) and/or phenylpropanoids (6-methoxyelemicine, myristicine and dill apiole). Statistical analyses of the compositions revealed chemical variability. Thus the samples are divided into three main groups, which have been distinguished on the basis of the contents of 6-methoxyelemicine (0.0-59.6%), sabinene (0.8-55.6%), limonene (0.3-44.0%), α -pinene (0.7-31.0%), myristicine (0.0-32.4%), elemicine (0.0-29.1%) and dill apiole (0.0-31.4%). In parallel, group III is subdivided into two subgroups (IIIA and IIIB). The first group appears to be original and characterized by a high content of 6-methoxyelemicine (up to 59.6%) and has never been reported in the literature. The samples (18) from *S. africana* were collected from three sites in the Batna region (Algeria): Fesdis (Fesdis and Bouilef), Oued Chaaba (Hamla). Essential oil yields are very low, varying considerably from one sample to another, ranging from 0.03 to 0.17%. Detailed analysis of the essential oils of the aerial parts of *S. africana* identified 91 compounds. The majority of the samples are characterized by high proportions of monoterpenes (51.5-69.7%). The composition of the essential oil of *S. africana* is generally homogeneous. However, we note quantitative chemical variability particularly for the following compounds: germacrene D, myrcene, spathulenol, α -bisabolol, β -pinene, 1,8-cineole, *cis*-chrysanthenol, capillene, santolina alcohol, camphor, terpineol-4 and lyratol. Four minority spiroacetalenol derivatives were also identified in the first time in essential oil from this species. The statistical study shows a low chemical variability. The samples (30) of *C. schoenanthus*, harvested in two regions of the Sahara of Algeria, Ghardaïa and Béchar, showed homogeneous essential oil yields with averages between 0.6 and 0.9%. The analysis of essential oils led to the identification of 55 compounds. They are mainly monoterpene oxygenated compounds with a menthane skeleton, with *trans*-*p*-menth-2-en-1-ol (10.5-31.7%) and *cis*-*p*-menth-2-en-1-ol (7.2-19.8%) as the major compounds, followed by 2-carene (2.1-17.0%) and an oxygenated sesquiterpene component, namely β -elemol (1.9-20.7%). Two other *p*-menthane derivatives, *trans*-piperitol (4.6-11.7%) and *cis*-piperitol (3.2-9.0%) are also identified in appreciable amounts. The statistical analysis shows quantitative chemical variability particularly for the main compounds: *trans*-*p*-menth-2-en-1-ol (10.5-31.7%), *cis*-*p*-menth-2-en-1-ol (7.2-20.2%), β -elemol (0.5-20.7%), 2-carene (1.0-17.0%) and suggests the existence of two main groups: I and II which is subdivided into two subgroups IIA and IIB and two atypical compositions.

The second part was dedicated to the study of biological activities. The essential oils of the aerial parts of *P. scoparius*, were effective against *Staphylococcus aureus*, the two strains of *Candida albicans*, and against *Aspergillus fumigatus*, with inhibition zone diameters ranging from 12 to 27 mm, and MIC between 2 and 4 $\mu\text{l/ml}$. The essential oils of *S. africana*, showed good activity against the microbial strains *S. aureus* and *Aspergillus fumigatus*, with inhibition zones of 19.7 mm and 17.5 mm, respectively. The essential oils of *C. schoenanthus*, showed the best activity against *S. aureus*, *C. albicans*, *Aspergillus flavus* and *Fusarium oxysporum*, with inhibition zones between 15.5 to 31.0 mm and with MICs ranging from 0.5 to 2 $\mu\text{l/ml}$. At the same time, the ability of *S. africana* essential oil to inhibit soybean lipoxygenase was evaluated as an indication of potential anti-inflammatory activity. The results obtained showed a good activity, with an IC_{50} of about 0.065 ± 0.004 mg/ml, 5-fold higher than that of NDGA (0.013 ± 0.003 mg/ml). Finally, the antioxidant activity of the essential oils of the three plants studied was evaluated by the DPPH free radical scavenging method using two different solvents (methanol and ethanol), the results obtained revealed a low antioxidant activity for all the essential oils tested compared to the reference compounds. However, the essential oil of *S. africana* was the most active and the IC_{50} are lower in the presence of ethanol.

Keywords: *Pituranthos scoparius*, *Santolina africana*, *Cymbopogon schoenanthus*, GC (RI), GC-MS, and ^{13}C NMR, antimicrobial activity, MIC, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.

المخلص

من أجل تمييز النباتات العطرية الجزائرية، ركزنا اهتمامنا في هذه المذكرة من ناحية أولى، إلى التوصيف الكيميائي بواسطة التحليل الكروماتوغرافي الغازي (CPG (Ir) و التحليل الكروماتوغرافي الغازي/قياس الطيف الكتلي (CPG-SM)، بالإضافة إلى التحليل النووي المغناطيسي للكربون 13 (RMN ¹³C)، للزيوت الأساسية التي تم استخلاصها من ثلاثة نباتات، وهي: *Pituranthos scoparius* – *Santolina africana* – *Cymbopogon schoenanthus* التي تنمو تلقائياً في الجزائر. ومن ناحية أخرى، إلى تحديد الأنشطة البيولوجية لهذه الزيوت الأساسية.

يتعلق الجزء الأول بالتوصيف الكيميائي للزيوت الأساسية للنباتات الثلاثة المدروسة باستغلال تكامل التقنيات التحليلية (CPG(Ir) و CPG-SM و RMN ¹³C. عينات (93) من *P. scoparius* المحصل عليها من خمس مناطق مختلفة في الجزائر: غرداية، بسكرة، باتنة (فسديس-بويلف و جرمي) و بشار، أظهرت أنّ مردودات الزيوت الأساسية تختلف بشكل كبير من عينة إلى أخرى، تتراوح بين 0.16 إلى 0.99%. التحليل التفصيلي للزيوت الأساسية للأجزاء الهوائية من *P. scoparius*، جعل من الممكن تحديد 62 مركب، يحتوي تكوين هذه الزيوت الأساسية على تباين كيميائي كبير، يتميز بنسبة عالية من أحاديات الهيدروكربونات (سابيين، ليمونين، ألفا بينين) و/أو فينيل بروبانويدس (6-ميثوكسي إلميسين، ميريسيتيسين و أبيول ديل). التحاليل الإحصائية للتركيبات، جعلت من الممكن تسليط الضوء على تنوع كيميائي. وبالتالي تنقسم العينات إلى ثلاث مجموعات رئيسية، والتي تم تمييزها على أساس 6-ميثوكسي إلميسين (0.0-59.6%)، سابيين (0.8-55.6%)، ليمونين (0.3-44.0%)، ألفا بينين (0.7-31.0%)، ميريسيتيسين (0.0-32.4%)، إلميسين (0.0-29.1%) و أبيول ديل (0.0-31.4%). و موازاة ذلك، تم تقسيم المجموعة الثالثة إلى مجموعتين فرعيتين (IIIA و IIIB). المجموعة الأولى تبدو فريدة وتتميز بنسبة عالية من 6-ميثوكسي إلميسين (ما يصل إلى 59.6%) ولم يتم الإبلاغ عنها في دراسات سابقة. عينات (18) من *S. africana* تم الحصول عليها من ثلاث محطات في منطقة باتنة (الجزائر): فسديس (فسديس و بويلف) و واد الشعبة (حملة). مردودات الزيوت الأساسية لهذه النبتة منخفضة للغاية، وتفاوت بشكل كبير من عينة إلى أخرى، تتراوح من 0.03 إلى 0.17%. التحليل التفصيلي جعل من الممكن تحديد 91 مركب. تتميز معظم العينات بنسب عالية من أحادية تربين (51.5-69.7%). تركيبة الزيوت الأساسية في *S. africana* متجانسة بشكل عام. ومع ذلك، نلاحظ اختلاف كيميائي كمي خاصة بالنسبة للمركبات التالية: جرمارين D، الميرسين، سباتولينول، ألفا بيسابولول، ألفا بينين، 1، 8، سينبول، سيس كريس انتينول، كابلان، كحول سانتولينا، كامفور، تيربينول 4 و لبيراتول. كما تم تحديد أربع مركبات لها هيكل ذو نمط ثنائية الألكين لأول مرة في الزيوت الأساسية لهذا الصنف. أظهرت الدراسة الإحصائية تغيير كيميائي منخفض. أظهرت عينات (30) من *C. schoenanthus*، التي تم حصادها في منطقتين من الصحراء الجزائرية، غرداية و بشار، مردودات متجانسة للزيوت الأساسية إلى حد ما مع متوسط يتراوح بين 0.6 و 0.9%. أدى تحليل هذه الزيوت الأساسية إلى تحديد 55 مركباً. معظمهم من مركبات المونوترين المؤكسدة مع هيكل من المثنان مع *trans-p-menth-2-en-1-ol* (10.5-31.7%) و *cis-p-menth-2-en-1-ol* (7.2-19.8%) كمركبات رئيسية، تليها 2-كارين (2.1-17.0%) و عنصر سيسكيتربينك المؤكسج، هو الإيلمول (1.9-20.7%). تم تحديد أيضاً بكميات كبيرة جداً اثنين من مشتقات *p-menthane*، ألا وهي *trans-piperitol* (4.6-11.7%) و *cis-piperitol* (3.2-9.0%). يظهر التحليل الإحصائي تباين كيميائي كمي خاصة بالنسبة للمركبات: *trans-p-menth-2-en-1-ol* (10.5-31.7%) و *cis-p-menth-2-en-1-ol* (7.2-20.2%)، بيتا إيلمول (0.5-20.7%)، 2-كارين (1.0-17.0%)، و يقترح وجود مجموعتين رئيسيتين: I و II الذي ينقسم إلى مجموعتين فرعيتين IIA و IIB و تركيبتين فريدتين.

أما بما يخص الجزء الثاني تم تخصيصه لدراسة الأنشطة البيولوجية. تعمل الزيوت الأساسية للأجزاء الهوائية من *P. scoparius* بنشاط ضد *Staphylococcus aureus*، سلالات *Candida albicans*، و ضد *Aspergillus fumigatus*، بأقطار تثبيط تتراوح قطرها ما بين 12 إلى 27 ملم و CMI بين 2 إلى 4 ميكرو لتر/ملم. أظهرت الزيوت الأساسية لـ *S. africana* نشاطاً جيداً ضد سلالات الميكروبية *S. aureus* و *Aspergillus fumigatus*، مع أقطار تثبيط تبلغ 19.7 ملم و 17.5 ملم، على التوالي. أظهرت الزيوت الأساسية لـ *C. schoenanthus* نشاطاً جيداً ضد *S. aureus*، *C. albicans*، *Aspergillus flavus* و *Fusarium oxysporum*، مع أقطار تثبيط تتراوح قطرها ما بين 15.5 و 31.0 ملم و مع CMIs تتراوح بين 0.5 إلى 2 ميكرو لتر/ملم. في موازاة ذلك، تم تقييم قدرة *S. africana* على نشاطها المحتمل المضاد للالتهابات. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها نشاطاً جيداً، حيث وصل معدل CI₅₀ إلى 0.004 ± 0.065 ملغ/ملم، أي 5 مرات أكبر من NDGA (0.013 ± 0.003 ملغ/ملم). أخيراً، تم تقييم نشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية للنباتات الثلاثة التي تم دراستها بواسطة طريقة DPPH باستخدام مذبذبين (الميثانول و الإيثانول)، والنتائج التي تم الحصول عليها تكشف عن نشاط منخفض لجميع الزيوت التي تم اختبارها بالمقارنة مع المركبات المرجعية. ومع ذلك، كان الزيت الأساسي لـ *S. africana* هو الأكثر نشاطاً، بينما كانت نسب CI₅₀ منخفضة في وجود الإيثانول.

الكلمات المفتاحية: *Pituranthos scoparius*، *Santolina africana*، *Cymbopogon schoenanthus*، CPG (Ir)، CPG-SM، RMN ¹³C، القدرة المضادة للميكروبات، التركيز الأدنى المثبط، القدرة المضادة للأكسدة، القدرة المضادة للالتهابات.

TABLE DES MATIERES

Remerciements	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Table des matières	
Liste de figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Première partie : Synthèse bibliographique	5
Chapitre I : Synthèse bibliographique des différentes plantes étudiées	6
I. <i>Pituranthos scoparius</i>	6
I.1. Présentation de la plante	6
I.2. Description botanique	6
I.3. Systématique de <i>Pituranthos scoparius</i>	8
I.4. Usages thérapeutiques	8
I.5. Métabolites secondaires de <i>Pituranthos scoparius</i>	9
I.5.1. Huiles essentielles	9
I.5.1.1. Composition chimique des huiles essentielles	9
I.5.1.2. Activités biologiques des huiles essentielles	11
I.5.2. Les extraits	11
II. <i>Santolina africana</i>	14
II.1. Présentation de la plante	14
II.2. Description botanique	14
II.3. Systématique de <i>Santolina africana</i>	15
II.4. Usages thérapeutiques	15
II.5. Métabolites secondaires de <i>Santolina africana</i>	17
II.5.1. Huiles essentielles	17
II.5.1.1. Composition chimique des huiles essentielles	17
II.5.1.2. Activités biologiques des huiles essentielles et des extraits	18
III. <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	20
III.1. Présentation de la plante	20
III.2. Description botanique	20
III.3. Systématique de <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	21
III.4. Usages thérapeutiques	21
III.5. Métabolites secondaires de <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	23

III.5.1. Composition chimique des huiles essentielles-----	23
III.5.2. Activités biologiques des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> -----	26
III.5.3. Activités biologiques des extraits de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> -----	31
Chapitre II : Les différentes techniques d'extraction et d'analyse des constituants d'un mélange naturel-----	33
I. Techniques d'extraction des constituants d'un mélange naturel-----	33
I.1. Les méthodes conventionnelles -----	33
I.1.1. Hydrodistillation-----	33
I.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau-----	34
I.1.3. Le pressage à froid -----	34
I.2. Les méthodes innovantes -----	35
I.2.1. Extraction assistée par les ultrasons -----	35
I.2.2. Extraction assistée par les micro-ondes -----	35
I.2.3. Extraction par CO ₂ supercritique-----	35
II. Identification des constituants dans un mélange complexe-----	36
II.1. Analyse par des couplages « en ligne » : Voie A -----	37
II.1.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG)-----	38
II.1.2. Couplage d'une technique chromatographique avec une technique spectroscopique-----	39
II.1.2.1. Les couplages CPG-SM, CPG-SM(ICP) et CPG-SM(ICN) -----	39
II.1.2.2. Les couplages CPG-IRTF et CPG-IRTF-SM -----	40
II.1.2.3. Le couplage CLHP-SM et CLHP-SM-SM -----	40
II.1.2.4. Le couplage CLHP-CPG-SM -----	41
II.1.2.5. Le couplage CLHP-RMN ¹ H-----	41
II.1.2.6. Le couplage CLHP-RMN ¹ H-SM-----	41
II.2. Identification des constituants après purification : Voie B -----	42
II.3. Analyse par RMN du ¹³ C sans séparation préalable : Voie C-----	43
II.3.1. Intérêt de la RMN du ¹³ C-----	43
II.3.2. Identification des constituants en mélange par RMN du ¹³ C-----	44
II.3.2.1. Observation des signaux -----	44
II.3.2.2. Individualisation des signaux-----	45
II.3.2.3. Attribution des signaux-----	45
II.3.3. Méthode d'analyse développée au laboratoire de « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse -----	46
II.3.3.1. Principe de la méthode -----	46
II.3.3.2. Les domaines d'application de la RMN ¹³ C-----	48
-a- Les huiles essentielles -----	48

-b- L'identification de stéréo-isomères -----	49
-c- Mise en évidence de la variabilité chimique-----	49
-d- Analyse structurale de nouvelles molécules -----	50
Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles -----	52
I. Les antibiotiques-----	52
I.1. Les cibles bactériennes des antibiotiques -----	52
I.2. La résistance bactérienne aux antibiotiques -----	53
I.3. Les mécanismes de résistance -----	55
II. Les huiles essentielles-----	55
II.1. Les constituants des huiles essentielles-----	56
II.1.1. Les terpènes et les terpénoïdes -----	56
II.1.2. Les composés possédant un noyau aromatique -----	57
II.1.3. Les composés d'origine diverses -----	58
II.1.4. Chémotype -----	58
II.2. Mécanisme d'action antimicrobien des huiles essentielles -----	59
II.2.1. Mode d'action antibactérien -----	59
II.2.2. Mode d'action antifongique-----	61
II.3. Synergie et antagonisme entre les constituants des huiles essentielles -----	62
II.4. Activités antimicrobiennes des huiles essentielles-----	63
II.5. Activités antivirales des huiles essentielles-----	66
II.6. Propriétés antioxydantes des huiles essentielles -----	67
II.6.1. Les antioxydants et le stress oxydatif-----	67
II.6.2. Activités antioxydantes des huiles essentielles-----	68
II.7. Propriétés anti-inflammatoires des huiles essentielles -----	68
II.7.1. L'inflammation -----	68
II.7.2. Les lipoxygénases -----	69
II.7.3. Activités anti-inflammatoires des huiles essentielles-----	70
Deuxième partie : Partie expérimentale-----	72
I. Matériel végétal et extraction des huiles essentielles-----	73
I.1. Matériel végétal-----	73
I.2. Extraction des huiles essentielles -----	75
II. Analyse des huiles essentielles -----	75
II.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) -----	75
II.2. Spectrométrie de Masse (SM) -----	75
II.3. Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13 (RMN ¹³ C) -----	76
II.4. Fractionnement de l'huile essentielle de <i>Santolina africana</i> -----	77

II.5. Analyse statistique -----	77
III. Etude des activités biologiques des huiles essentielles -----	77
III.1. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles -----	78
III.1.1. Provenance des germes -----	78
III.1.2. Mise en culture des souches -----	79
III.1.3. Méthodes d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles -----	79
III.1.3.1. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) -----	79
III.1.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé -----	80
III.2. Pouvoir antioxydant des huiles essentielles-----	81
III.2.1.1. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) -----	81
III.3. Activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de <i>Santolina africana</i> -----	82
Troisième partie : Résultats et Discussion -----	84
I. <i>Pituranthos scoparius</i> -----	85
I.1. Caractérisation chimique des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> -----	85
I.1.1. Etude de la composition et de la variabilité chimique des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Pituranthos scoparius</i> -----	86
I.1.1.1. Rendements d'extraction-----	88
I.1.1.2. Analyse détaillée et la variabilité chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Pituranthos scoparius</i> -----	90
I.2. Etude des activités biologiques des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> -----	101
I.2.1. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Pituranthos scoparius</i> -----	102
I.2.1.1. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) -----	102
I.2.1.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé -----	106
I.2.2. Pouvoir antioxydant des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Pituranthos scoparius</i> -----	109
I.2.2.1. Piégeage du radical libre DPPH•(2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)-----	109
II. <i>Santolina africana</i> -----	114
II.1. Caractérisation chimique des huiles essentielles de <i>Santolina africana</i> -----	114
II.1.1. Etude de la composition et de la variabilité chimique des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Santolina africana</i> -----	114
II.1.1.1. Rendements d'extraction-----	116
II.1.1.2. Analyse détaillée de la composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Santolina africana</i> -----	116

II.1.1.3. Etude de la variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Santolina africana</i> -----	126
II.1.1.4. Comparaison de la composition chimique entre les trois stations d'étude -----	128
II.2. Etude des activités biologiques des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Santolina africana</i> -----	130
II.2.1. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Santolina africana</i> -----	130
II.2.2. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Santolina africana</i> -----	134
II.2.3. Etude de l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Santolina africana</i> -----	136
III. <i>Cymbopogon schoenanthus</i> -----	138
III.1. Caractérisation chimique des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> -----	138
III.1.1. Etude de la composition et de la variabilité chimique des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> -----	139
III.1.1.1. Rendement extraction -----	141
III.1.1.2. Analyse détaillée et la variabilité chimique de l'huile essentielle de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> -----	142
III.2. Etude des activités biologiques des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> -----	154
III.2.1. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> -----	155
III.2.1.1. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) -----	155
III.2.1.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé -----	158
III.2.2. Etude de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>C. schoenanthus</i> -----	159
Conclusion -----	161
Références Bibliographiques -----	168
Annexes	
Publications	

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Description schématique du système d'extraction par hydrodistillation	34
Figure 2 : Description schématique d'un système d'extraction par CO ₂ supercritique (Hunter, 2009)	36
Figure 3 : Méthodes d'analyse d'un mélange complexe (adaptée de Nam, 2014).....	37
Figure 4 : Identification des constituants d'un mélange complexe par RMN du ¹³ C (adaptée de Nam, 2014).....	46
Figure 5 : Mode d'action des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006)	53
Figure 6 : Les différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries (Levy et Marshall, 2004).....	54
Figure 7 : L'efflux, la destruction et la modification des antibiotiques comme modes de résistance (Levy et Marshall, 2004).....	55
Figure 8 : Structure de la molécule d'isoprène (Clarke, 2009)	57
Figure 9 : Structure de quelques composés des huiles essentielles (monoterpènes et sesquiterpènes) (Clarke, 2009).....	57
Figure 10 : Exemple de quelques composés aromatiques phénylpropanoïdes caractéristiques des huiles essentielles (Clarke, 2009)	58
Figure 11 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004)	60
Figure 12 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	81
Figure 13 : Carte d'échantillonnage de <i>Pituranthos scoparius</i>	87
Figure 14 : Analyse en composantes principales de 93 échantillons des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Pituranthos scoparius</i>	97
Figure 15 : Dendrogramme obtenu à partir de l'analyse de Cluster de 93 échantillons des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Pituranthos scoparius</i>	99
Figure 16 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> (Protocole 1).....	110
Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> (Protocole 2).....	110
Figure 18 : Carte d'échantillonnage de <i>Santolina africana</i>	115
Figure 19 : Structure des composés à motif di-alcyne identifiés par RMN ¹³ C dans l'huile essentielle de <i>Santolina africana</i>	121
Figure 20 : Analyse en composantes principales de 18 échantillons des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Santolina africana</i>	126
Figure 21 : Chromatogrammes des huiles essentielles de <i>Santolina africana</i> (Échantillons F5 et B5)	127

Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de <i>Santolina africana</i> (Protocole 1)	134
Figure 23 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de <i>Santolina africana</i> (Protocole 2)	135
Figure 24 : Carte d'échantillonnage de <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	140
Figure 25 : Structure du <i>trans</i> - et du <i>cis-p</i> -menth-2-ène-1-ol identifiés par RMN ¹³ C dans l'huile essentielle de <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	144
Figure 26 : Dendrogramme obtenu à partir de l'analyse de Cluster de 30 échantillons des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	151
Figure 27 : Analyse en composantes principales de la composition chimique de 30 échantillons des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	151
Figure 28 : Composés discriminants sur l'axe 1 de l'ACP	153
Figure 29 : Composés discriminants sur l'axe 2 de l'ACP	153
Figure 30 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> (Protocole 2)	160

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Origines des souches utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles	78
Tableau 2 : Rendements (%) en huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> d'Algérie.....	89
Tableau 3 : Rendements (%) en huiles essentielles de <i>Pituranthos scoparius</i> récoltés au printemps à Béchar (2016 et 2017)	89
Tableau 4 : Composition chimique de dix échantillons d'huile essentielle des parties aériennes de <i>Pituranthos Scoparius</i>	92
Tableau 5 : Composés majoritaires identifiés dans les 93 échantillons des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Pituranthos scoparius</i>	100
Tableau 6 : Composés majoritaires identifiés dans les huiles essentielles de 8 échantillons de <i>P. scoparius</i> utilisés pour les activités biologiques	101
Tableau 7 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) de l'antibiorésistance de chaque souche vis-à-vis des contrôles positifs	104
Tableau 8 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des huit échantillons d'huiles essentielles des parties aériennes de <i>Pituranthos scoparius</i> relatives aux souches microbiennes selon la méthode de disque	105
Tableau 9 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) en huile essentielle des parties aériennes de <i>Pituranthos scoparius</i> relatives aux souches sensibles	106
Tableau 10 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Pituranthos scoparius</i> exprimée en CI ₅₀ (Protocoles 1 et 2).....	112
Tableau 11 : Rendements (%) en huiles essentielles de <i>Santolina africana</i> d'Algérie	116
Tableau 12 : Déplacements chimiques du (<i>E</i>) et du (<i>Z</i>)-2-(2',4'-hexadiynylidène)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diène identifiés par RMN ¹³ C.....	119
Tableau 13 : Déplacements chimiques du (<i>E</i>) et du (<i>Z</i>)-tonghaosu identifiés par RMN ¹³ C	120
Tableau 14 : Composition chimique de 18 échantillons d'huile essentielle des parties aériennes de <i>Santolina africana</i> d'Algérie (Batna)	122
Tableau 15 : Moyennes des composés majoritaires de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>S. africana</i> par station.....	129
Tableau 16 : Composés majoritaires des échantillons utilisés pour les activités biologiques	130
Tableau 17 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Santolina africana</i>	133
Tableau 18 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH des huiles essentielles des parties aériennes de <i>Santolina africana</i> exprimée en CI ₅₀ (Protocoles 1 et 2).....	135
Tableau 19 : Activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de <i>Santolina africana</i>	137

Tableau 20 : Rendements (%) en huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> d'Algérie	142
Tableau 21 : Déplacements chimiques du <i>trans</i> - et du <i>cis-p</i> -menth-2-ène-1-ol identifiés par RMN ¹³ C	143
Tableau 22 : Composition chimique de sept échantillons d'huile essentielle de <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	145
Tableau 23 : Comparaison des teneurs des composés majoritaires avec la littérature	149
Tableau 24 : Composés majoritaires identifiés dans les 30 échantillons des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i>	152
Tableau 25 : Composés majoritaires des échantillons utilisés pour les activités biologiques	154
Tableau 26 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> relatives aux souches microbiennes selon la méthode de disque	157
Tableau 27 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) en huile essentielle de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> relatives aux souches sensibles	158
Tableau 28 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH des huiles essentielles de <i>Cymbopogon schoenanthus</i> exprimée en CI ₅₀ (Protocole 2)	160

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	: Acide D ésoxyribonucléique
ARN	: Acide R ibonucléique
BHT	: B utyl- H ydroxy- T oluène
CC	: C hromatographie sur C olonne
CCM	: C hromatographie sur C ouche M ince
CI₅₀	: C oncentration I nhibitrice de 50%
CLHP	: C hromatographie L iquide H aute P erformance
CLHP-CPG-SM	: C hromatographie L iquide H aute P erformance couplée à la C hromatographie en P hase G azeuse et à la S pectrométrie de M asse
CMI	: C oncentration M inimale I nhibitrice
COSY	: C orrelation S pectroscopy (corrélation ¹ H- ¹ H simple liaison)
CPG	: C hromatographie en P hase G azeuse
CPG(Ir)	: C hromatographie en P hase G azeuse (associée aux I ndices de r étention)
CPG-IRTF	: C hromatographie en P hase G azeuse couplée à la S pectroscopie I nfra- R ouge à T ransformée de F ourier
CPG-IRTF-SM	: C hromatographie en P hase G azeuse couplée à la S pectroscopie I nfra- R ouge à T ransformée de F ourier et S pectrométrie de M asse
CPGMD	: C hromatographie en P hase G azeuse M ulti- D imensionnelle
CPG-SM	: C hromatographie en P hase G azeuse couplée à la S pectrométrie de M asse
DEPT	: D istortionless E nhancement by P olarization T ransfer
DMSO	: D iméthylsulfoxyde
DPPH	: 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl
FID	: D étecteur à I onisation de F lamme
HD	: H ydrodistillation C onventionnelle
HE	: H uile E ssentielle
HMBC	: H eteronuclear M ultiple B onds C orrelation (corrélation ¹ H- ¹³ C longue distance, deux ou trois liaisons)
HSQC	: H eteronuclear S imple Q uantum C orrelation (corrélation ¹ H- ¹³ C simple liaisons)
NDGA	: Acide N ordihydroguaiarétique
ppm	: P artie p ar m illion
RMN ¹H/ ¹³C	: R ésonance M agnétique N ucléaire du P roton / du C arbone
RMN (1D et 2D)	: R ésonance M agnétique N ucléaire (mono- et bidimensionnelle)
SFE	: E xtraction par F luide S upercritique
SM(ICN)	: S pectrométrie de M asse (mode I onisation C himique N égative)
SM(ICP)	: S pectrométrie de M asse (mode I onisation C himique P ositive)
SM(IE)	: S pectrométrie de M asse (mode I mpact E lectronique)
UFC	: U nité F ormant C olonie
IK	: I ndice de K ováts
Ir	: I ndice de r étention
IE	: I mpact E lectronique

Introduction

Les plantes, qui produisent des huiles essentielles, appartiennent à de nombreuses espèces botaniques différentes et sont présentes dans le monde entier. Tout au long de l'histoire, ces huiles ont été considérées avec un très grand intérêt, bien que beaucoup de leurs utilisations aient été perdues avec le temps. Il est généralement admis que l'extraction des huiles essentielles a été faite depuis l'aube de l'humanité, et depuis, leur utilisation s'inscrit dans l'histoire de nombreuses régions du monde.

Les applications des huiles essentielles à différentes fins sont variées et souvent liées à leur potentiel thérapeutique (antibactérien, antifongique, antivirale, antioxydant et anti-inflammatoire). Parallèlement à l'aromathérapie populaire, l'application des huiles essentielles se développe aussi dans le cosmétique, la conservation des aliments, la santé des animaux d'élevage et l'agriculture (**Tisserand et Young, 2014**). Dans chaque cas, les huiles essentielles remplacent des produits chimiques plus toxiques pour lesquels des bactéries ou des parasites ont développé une résistance.

Les maladies infectieuses résistantes aux antibiotiques constituent un domaine qui suscite actuellement un intérêt considérable pour la recherche. Des preuves expérimentales ont démontré un potentiel remarquable pour les huiles essentielles, non seulement parce qu'elles peuvent neutraliser les bactéries résistantes, mais aussi parce qu'elles peuvent inverser la résistance aux antibiotiques classiques (**Tisserand et Young, 2014**).

En effet, les huiles essentielles et autres extraits de plantes aromatiques et médicinales sont empiriquement connues pour leurs propriétés antimicrobiennes, et qui n'ont été scientifiquement prouvées qu'au début du 20^{ème} siècle. Leur utilisation s'est développée au cours des quatre dernières décennies. Elles sont aujourd'hui considérées comme une alternative potentielle aux antibiotiques.

De plus, les huiles essentielles sont considérées comme des ressources potentielles de molécules bioactives naturelles et ont fait l'objet de nombreuses études pour leurs propriétés antioxydantes (**Bakkali et al., 2008**).

Les antioxydants éliminent les radicaux libres (et autres espèces réactives de l'oxygène) qui endommagent les protéines, les acides aminés, les lipides et l'ADN. Ce type de dommage pourrait être considéré comme la cause profonde de l'inflammation, du vieillissement et de nombreuses maladies comme le cancer, les maladies du foie, l'arthrite, le diabète de type 1, les maladies neuro-dégénératives et l'athérosclérose (**Preedy, 2016**).

Bien que nous ayons des systèmes de défense intrinsèques qui peuvent piéger les radicaux libres, dans le cas d'un déséquilibre entre la production et l'élimination de ces derniers (stress oxydatif), il est nécessaire d'avoir une source externe d'antioxydants.

De nos jours, la demande en antioxydants naturels est très forte, en raison des préférences des consommateurs et des problèmes de santé associés à l'utilisation d'antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxyanisol (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT), soupçonnés d'avoir des effets mutagènes, cancérigènes et tératogènes lors d'une utilisation à long terme (**Chavéron, 1999**).

En plus des avantages directs sur la santé de l'activité antioxydante des huiles essentielles, il y a aussi l'aspect conservateur et protecteur des aliments contre l'oxydation des lipides qui est l'une des préoccupations majeures de l'industrie alimentaire. Compte tenu de la demande croissante des consommateurs pour des produits naturels verts sans additifs, de nouvelles études récentes ont amené les industries à envisager l'incorporation de substances non chimiques dans leurs préparations alimentaires ou cosmétiques.

L'Algérie de part sa position géographique, située au nord du continent africain, bordant la méditerranée d'ouest en est, se compose de quatre principaux ensembles de reliefs, le tell, les hauts plateaux, l'atlas saharien et le Sahara qui se succèdent du nord au sud, une topographie variée et des conditions climatiques variées qui permettent la croissance de près de 3 000 espèces de plantes différentes dont 168 espèces endémiques (**Cheriti et al., 2006**), lui conférant l'une des flores les plus riches et diversifiées au monde. En effet, l'Algérie est le plus grand pays riverain de la Méditerranée. Il est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays. Ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations, le plus souvent, rurales. C'est un héritage familial oral, dominant en particulier chez les femmes âgées et illettrées.

De plus, l'une des caractéristiques les plus importantes des plantes spontanées en Algérie est qu'elles offrent une très grande variabilité dans la composition chimique de leurs huiles essentielles.

C'est la raison pour laquelle, en plus de tout le potentiel que peuvent apporter les huiles essentielles notamment leur utilisation comme agent antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire ou insecticide, nous avons mené durant cette thèse, en collaboration avec l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse, des études pour valoriser trois espèces végétales aromatiques (*Pituranthos scoparius* ; *Santolina africana* ; *Cymbopogon schoenanthus*) poussant spontanément en Algérie, en procédant à la caractérisation et la variabilité chimique et à l'étude du pouvoir antimicrobien, antioxydant et anti-inflammatoire des huiles essentielles obtenues à partir de ces plantes.

Dans ce contexte, nous avons structuré ce présent travail en trois grandes parties.

Une première partie qui regroupe une synthèse bibliographique, elle-même subdivisée en trois chapitres. Un premier chapitre comportant une présentation botanique des trois espèces végétales étudiées, leurs propriétés thérapeutiques, ainsi que les travaux déjà réalisés sur ces plantes. Dans le deuxième chapitre, nous présentons les différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles et les principales techniques d'analyse de ces dernières, avec leurs avantages et leurs limites. Nous présenterons également la méthode d'analyse par RMN du carbone 13 développée par l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse. Enfin, dans le troisième chapitre, nous présentons le pouvoir antimicrobien, antioxydant et anti-inflammatoire des huiles essentielles. En parallèle, nous détaillerons les notions d'agents antibactériens classiques, leur mécanisme d'action et le phénomène de résistance.

La deuxième partie regroupe les données expérimentales. Nous détaillons dans un premier temps, l'échantillonnage des trois plantes étudiées récoltées dans différentes régions en Algérie, l'obtention des huiles essentielles par extraction, ainsi que leur caractérisation en combinant plusieurs techniques d'analyse chromatographiques et spectroscopiques (Chromatographie en Phase Gazeuse, Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse et la Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13 pour l'analyse des mélanges). Ensuite, nous abordons dans un second temps, l'étude des activités biologiques des huiles essentielles à savoir : l'activité antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire. L'activité antimicrobienne a été testée selon deux méthodes : la méthode de diffusion sur disque et la détermination des concentrations minimales d'inhibition (CMI) par la méthode de contact direct en milieu gélosé. L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) tandis que l'activité anti-inflammatoire, a été évaluée par le test d'inhibition de la lipoxygénase *in vitro*.

Dans la troisième et dernière partie, nous proposons une synthèse et une discussion des résultats obtenus, pour la caractérisation et la variabilité chimique des huiles essentielles et leurs activités biologiques, et enfin, une conclusion viendra clôturer la présentation écrite.

Première partie

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Synthèse bibliographique des différentes plantes étudiées

I. *Pituranthos scoparius*

I.1. Présentation de la plante

Le genre *Pituranthos* Viv. (Syn. *Deverra* DC.) (Famille des Apiacées) est représenté par 12 espèces largement réparties en Afrique du Nord (**Dobignard et Chatelain, 2011**).

Dans la flore algérienne de Quézel et Santa, ce genre est représenté par quatre espèces : *Pituranthos chloranthus* (Coss. & Durieu) Benth. & Hook. ; *Pituranthos battandieri* Maire ; *Pituranthos scoparius* (Coss. et Durieu) Benth. & Hook. et *Pituranthos reboudii* (Coss. et Durieu) Benth. & Hook. (**Quézel et Santa, 1963**).

P. scoparius (Coss. & Durieu) Benth. & Hook. (Syn. *Deverra scoparia* Coss. & Durieu (**Ozenda, 1991, Dobignard et Chatelain, 2011**), est une plante endémique qui se développe spontanément dans le Nord de l'Afrique (Algérie, Maroc, Tunisie et Mauritanie). Cette espèce végétale est présente dans les pâturages rocaillieux dans les hauts plateaux et dans tout le Sahara (**Quézel et Santa, 1963 ; Dobignard et Chatelain, 2011, El Oualidi et al., 2012**).

Noms vernaculaires

Nom en français :

- Pituranthos à balai (**IUCN, 2005**)

Noms en arabe :

- Guezzah, Tattaï (**Quézel et Santa, 1963**)

I.2. Description botanique

Le genre *Pituranthos* est une plante vivace aphyllé, éphédroïdes, avec des tiges souvent très ramifiées. Les ombelles sont à involucre et involucelles polyphylles. Les méricarpes sont ovoïdes à 6 bandelettes (**Quézel et Santa, 1963**).

P. scoparius est une plante formant des touffes dressées à tiges non divariquées, en général totalement aphyllé. Tiges florifères sont à ombelles latérales à pédoncule court (1-3 cm). Les fleurs sont blanches. Le fruit est plus long que large, hérissé de poils dressés (**Quézel et Santa, 1963**).

Photographies



Photo 1 : Inflorescence de *Pituranthos scoparius* (Station de Béchar le 24/04/2016)



Photo 2 : Plusieurs pieds de *Pituranthos scoparius* (Station de Djerma le 24/05/2016)



Photo 3 : Pied complet de *Pituranthos scoparius* (Station de Béchar le 03 / 04 / 2018)



Photo 4 : Tiges et inflorescences de *Pituranthos scoparius* (Station de Béchar le 03/04/2018)



Photo 5 : Vue d'ensemble d'un pied complet de l'espèce *Pituranthos scoparius* (Station de Béchar le 28/05/2018)

I.3. Systématique de *Pituranthos scoparius*

Embranchement	: Spermaphytes
Sous-Embranchement	: Angiospermes
Classe	: Eudicots
Ordre	: Apiales
Famille	: Apiaceae
Genre	: <i>Pituranthos</i>
Espèce	: <i>Pituranthos scoparius</i> (Coss. & Dur.) Benth. & Hook.

I.4. Usages thérapeutiques

Pituranthos scoparius communément appelée "Guezzah" (Quézel et Santa, 1963), est utilisée en médecine traditionnelle. En effet, une infusion des parties aériennes est conseillée pour les soins en post-partum (spasmes et douleurs) ainsi que pour le traitement du diabète, de l'hépatite, des troubles digestifs et des infections urinaires (Hammiche et Maiza, 2006).

La plante est aussi utilisée en décoction dans le traitement de l'asthme et elle est conseillée également pour soulager les douleurs liées aux rhumatismes par une application locale des feuilles (Boukef, 1986 ; Benchelah *et al.*, 2000).

Une infusion ou une décoction des feuilles et des fleurs de *P. scoparius* sont utilisées pour soulager les indigestions, les maux de l'estomac et du bas ventre (Didi *et al.*, 2003).

L'application d'un cataplasme des parties aériennes de *P. scoparius* sur la tête, est conseillée pour soulager les maux de tête (El Rhaffari et Zaid, 2002).

Une décoction des parties aériennes sont également utilisées dans le traitement de la diarrhée et de l'eczéma (IUCN, 2005).

Dans la région de Msila, les parties aériennes sont utilisées en décoction contre les troubles digestives (Boudjelal *et al.*, 2013).

P. scoparius est communément appelée aussi « Tattaï » par les Touaregs (Le Floc'h, 1983) qui utilisent cette plante pour aromatiser les préparations culinaires ainsi que le pain (Benchelah *et al.*, 2000).

➤ Usage traditionnel de cette plante par la population locale dans les régions d'étude :

- Dans la région de Béchar, la plante est utilisée en infusion contre les douleurs intestinales.
- Dans la région de Batna, la plante est utilisée en infusion contre les douleurs intestinales, et les troubles liés au dysfonctionnement rénal. Les fermiers brûlent la plante et la fumée qui en résulte est utilisée pour dégager les voies respiratoires des bétails malades (moutons et vaches).

I.5. Métabolites secondaires de *Pituranthos scoparius*

I.5.1. Huiles essentielles

I.5.1.1. Composition chimique des huiles essentielles

Plusieurs études ont été réalisées sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* obtenue par hydrodistillation des parties aériennes (tiges, fleurs et graines) récoltées en Algérie. Selon la littérature, ces huiles essentielles contiennent des monoterpènes ou des phénylpropanoïdes comme composés majoritaires.

En effet, la première analyse a été entreprise en 1999. Elle a été menée sur des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des tiges et des graines de *P. scoparius* récoltées durant l'automne 1989 à Aïn Diss (Oum El Boughi, Est de l'Algérie). L'huile essentielle des tiges contient de l' α -pinène (34%) et de l'apiole (15%) comme composés majoritaires. En revanche, celle des graines est riche principalement en apiole (52%), suivi de l'acétate de bornyle (21%) et de l' α -pinène (11%) (Vernin *et al.*, 1999).

Plus tard, Vérité *et al.* (2004) ont comparé la composition chimique de deux échantillons d'huile, le premier obtenu à partir des tiges et le deuxième à partir des gaines de *P. scoparius* récoltés en avril 2001 dans la région de Ghardaïa (Sud de l'Algérie). Les composés majoritaires de l'huile essentielle des graines sont : apiole dill (12,2%), limonène (11,2%), myristicine (11,1%), α -pinène (8,2%), *p*-cymène (7,5%), thymol (5,9%), β -pinène (4,6%) et α -phellandrène (4,0%). À l'inverse, l'huile essentielle des tiges contient du germacrène D (12,7%), du limonène (9,8%), de la myristicine (7,2%), de l' α -phellandrène (7,1%), de l' α -pinène (6,8%), du méthyleugénol (5,9%), du spathuléol (4,5%), du *p*-cymène (4,2%), du β -eudesmol (4,1%) et de l' β -pinène (3,8%) comme composés majoritaires.

Les huiles essentielles de 12 échantillons de parties aériennes (tiges et graines) de *P. scoparius* récoltées dans différentes régions de l'Algérie (Ghardaïa : 7 échantillons, Laghaouat : 2 échantillons et Djelfa : 3 échantillons) ont été analysées par CPG et CPG-SM. La composition est largement dominée par des monoterpènes (45,3-83,7%), avec principalement des monoterpènes hydrocarbonés (44,4-81,9%). Certains échantillons sont également riches en phénylpropanoïdes tels que la myristicine (tr-31,1%) et l'apiole dill (0,4-47,3%). L'analyse statistique a montré l'existence de deux groupes principaux (I et II). La composition chimique du groupe I est dominée par l'apiole dill (1,4-47,3%) et l' α -pinène (23,7-35,8%). Toutefois, d'autres composés sont présents en quantités appréciables, à savoir : le β -pinène (1,7-5,3%) et l'acétate de bornyle (tr-9,6%). Les échantillons appartenant à ce groupe ont été récoltés dans la région de Laghouat et de Djelfa. L'huile essentielle du groupe II est caractérisée par une très forte teneur en limonène (32,7-66,5%), suivi par la myristicine (tr-31,1%). L'huile essentielle

de ce groupe contient également une teneur appréciable en germacrène D (2,1-6,3%). A noter que tous les échantillons de ce groupe ont été récoltés à Ghardaïa (**Gourine et al., 2011**).

Au cours de la même période, **Smaili et al. (2011)** ont rapporté la composition d'un échantillon d'huile essentielle des fleurs récoltées durant l'automne à M'sila (Centre de l'Algérie). La composition est principalement riche en monoterpènes et contient aussi des phénylpropanoïdes. Les composés majoritaires sont la myristicine (24,1%), l' α -pinène (17,4%) et l' α -phellandrène (15,6%). D'autres composés sont présents à des teneurs appréciables, allant de 3 à 7,5%, à savoir : sabinène (7,5%), β -phellandrène (6,1%), (Z)- β -ocimène (4,7%), germacrène D (4,0%), β -pinène (3,7%) et apiole dill (3,4%).

En 2013, **Lograda et al.**, ont étudié la composition chimique des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des parties aériennes récoltées en pleine floraison en octobre 2011, provenant de quatre régions de l'Algérie (Boussâada (M'sila), T'Kout (Batna), El Kantra et Mechouneche (Biskra)). Les constituants majoritaires sont : sabinène (14,8- 24,8%), α -pinène (8,3-23,3%), α -terpinène (3,7-7,7%), β -pinène (2,8-5,1%), terpinéol-4 (0,0-4,6%), *p*-cymène (1,0- 3,2%), α -thujène (1,6-3,1%) et limonène (0,7-2,5%). Un autre constituant est présent à des quantités appréciables, il s'agit de l'apiole dill (0,4-16,8%). Les deux échantillons de Biskra (El Kantra et Mechouneche) contiennent les mêmes composés majoritaires. Par ailleurs, il est à signaler que l'échantillon d'El Kantra, contient des teneurs appréciables en myristicine (7,6%) et en apiole dill (6,6%), alors que celui de Mechouneche est dominée par de l'apiole dill (16,8%).

Chikhouné et al. (2016) ont étudié la composition chimique de deux échantillons d'huile essentielle de parties aériennes (tiges et feuilles) fraîches et séchées de *Pituranthos scoparius* récoltées à Souk Ahras (Est de l'Algérie) en avril 2014. Les deux huiles présentent une composition dominée respectivement par l' α -pinène (34,4% et 23,6%), le sabinène (16,3% et 26,5%), le *p*-cymène (10,1% et 8,6%) et le terpinéol-4 (4,1% et 9,7%). Cette étude a montré aussi l'absence totale de phénylpropanoïdes dans ces huiles.

Récemment, **Ksouri et al. (2017)**, ont également étudié la composition d'un échantillon d'huile essentielle des parties aériennes de cette même plante récoltée au mois de Mars 2012 dans la région de Tamanrasset (Hoggar, Sud de l'Algérie). Cet échantillon est caractérisé par une teneur élevée en limonène (46,9%). D'autres composés sont présents à des teneurs appréciables, il s'agit de : le 1,8-cinéole (7,6%), le spathulénol (2,5%) et le β -eudesmol (2,4%). L'ar-Curcumène (3,2%) est le sesquiterpène hydrocarboné présent également en quantité appréciable. Parmi les composants inhabituels des huiles essentielles, ces auteurs avancent la

présence de deux phtalides isomères, à savoir : (3Z)-butylidène phtalide (2,6%) et le (3E)-butylidène phtalide (1,2%).

I.5.1.2. Activités biologiques des huiles essentielles

Certaines activités biologiques ont été rapportées pour des extraits ou des huiles essentielles de l'espèce *Pituranthos scoparius*, comme l'activité antioxydante (**Ksouri et al., 2017**) et l'activité antimicrobienne (**Boutaghane et al., 2004 ; Ksouri et al., 2017**).

Boutaghane et al. en 2004, ont évalué l'activité antibactérienne des huiles essentielles obtenues à partir des tiges et des graines de *P. scoparius*, récoltés dans la région de Ghardaïa. Ils ont constaté que les huiles essentielles des graines qui sont riches en apiole (52,8%) sont plus actives que les huiles essentielles des tiges qui sont dominées par l' α -pinène (34,0%). Les CMI's varient principalement entre 0,156 et 40 mg/ml et entre 1 et 256 mg/ml, respectivement.

Ksouri et al. (2017), ont réalisé une étude sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des parties aériennes de *P. scoparius* vis-à-vis de six souches bactériennes et quatre souches fongiques. Les champignons, à savoir : *Candida albicans*, *Mucor sp.*, *Aspergillus flavus* et *Penicillium expansum* se sont révélés les plus sensibles, avec des diamètres de zones d'inhibition de l'ordre de 15,8 à 20 mm et des CMI's très faibles variant entre 0,02 à 1,25 mg/ml. En revanche, *Staphylococcus aureus* est la seule souche bactérienne qui s'est avérée sensible avec une CMI's de l'ordre de 1 mg/ml.

Ces même auteurs **Ksouri et al. (2017)** ont étudié également l'activité antioxydante de l'huile essentielle des parties aériennes de *P. scoparius* par le test du piégeage du radical libre DPPH. Ils avancent une activité modérée avec une CI_{50} de $11,21 \pm 0,26$ mg/ml comparée aux standards testés, à savoir : l'acide ascorbique ($CI_{50} = 4$ μ g/ml), l' α -tocophérol ($CI_{50} = 9,55$ μ g/ml) et le BHT ($CI_{50} = 72,16$ μ g/ml) qui sont très actives. Ils ont évalué le pouvoir antioxydant de ces huiles essentielles par un deuxième test, celui du blanchiment du β -carotène, qui a montré que l'huile essentielle n'est pas capable d'inhiber efficacement l'oxydation de l'acide linoléique avec une valeur de l'ordre de 38% obtenue à une concentration de 2 mg/ml, très faible au BHT témoin positif ($93,56 \pm 0,37\%$) à la même concentration.

I.5.2. Les extraits

Des études phytochimiques ont révélé que *Pituranthos scoparius* contient une grande variété de composés. Cinq flavonoïdes glycosylés ont été identifiés dans l'extrait butanolique à savoir : apigénine 7-O-glucoside ou apigétrine ; apigénine 7-O-rhamnoside ; apigénine 6,8-di-C-glucoside ; isorhamnétine 3-O-glucoside et apigénine 6,8-di-C-glucoside (vicénine-2) (**Benmekhbi et al., 2008**). Deux isocoumarines ont été isolées dans la fraction d'acétate d'éthyle

des racines de *P. scoparius*, il s'agit de : 6-hydroxy-5-méthoxy-3-propylisocoumarine et 6-hydroxy-5,7-diméthoxy-3-propylisocoumarine (**Hamada et al., 2004**).

Deux acides cinnamiques (acide 5-*O*-cafféoyl quinique et acide 5-féruloyl quinique) et treize flavonoïdes connues (vicénine-2, six quercétine et six dérivés d'isorhamnétine *O*-glycosylés) ont été identifiés dans des extraits méthanoliques et aqueux des parties aériennes de *P. scoparius* (**Dahia et al., 2009**).

Benmekhbi et al. (2008), ont testé l'activité antimicrobienne de l'extrait butanolique des parties aériennes de *P. scoparius*, sur plusieurs souches bactériennes, à savoir *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus α -hémolytique*. Toutes les bactéries se sont révélées sensibles à cet extrait, avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 18 et 30 mm et des CMI très faibles allant de 0,03 à 128 μ g/ml.

Adida et al. (2014), ont étudié l'activité antibactérienne des extraits aqueux, méthanoliques, chloroformiques et d'acétone des parties aériennes et des racines de *P. scoparius* vis-à-vis de plusieurs souches. Aucune activité n'a été enregistrée pour les extraits aqueux contre toutes les espèces microbiennes testées. A l'inverse, celui de l'acétone a montré une plus grande activité antibactérienne. Les extraits des parties aériennes ont montré une meilleure activité antibactérienne par rapport aux extraits de racines. Pour les parties aériennes, *Salmonella typhimurium* s'est montrée la plus sensible à l'extrait acétonique, avec une CMI et une CMB de l'ordre 1,04 mg/ml et 1,56 mg/ml, respectivement. *Enterococcus faecalis* s'est révélé le plus sensible à l'extrait méthanolique, avec une CMI et une CMB de 1,56 mg/ml et 3,12 mg/ml, respectivement. En revanche, l'extrait chloroformique s'est montré le plus actif contre *Staphylococcus aureus*, avec une CMI et une CMB de l'ordre de 3,12 mg/ml. Par contre, concernant les racines, l'extrait méthanolique s'est révélé le plus efficace contre *Acinetobacter baumannii*, avec une CMI et une CMB de l'ordre de 6,25 mg/ml.

Adida et al. (2015), ont évalué le pouvoir antioxydant de différents extraits de *P. scoparius* par la méthode du piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus à différentes concentrations, montrent que le pourcentage de réduction du radical DPPH augmente en fonction de la concentration des extraits. A la forte concentration de 250 μ g/ml, les extraits des parties aériennes présentent le pourcentage de réduction le plus élevé : 98,43% ; 88,13% ; 83,52% ; 92,94% pour les extraits : aqueux, hydro-méthanolique, hydro-acétonique et la fraction d'acétate d'éthyle, respectivement, ainsi que la fraction d'acétate d'éthyle des racines (96,40%). L'extrait aqueux des parties aériennes ainsi que la fraction d'acétate d'éthyle qui est la plus riche en polyphénols ont présenté le meilleur pouvoir antioxydant, avec des CI_{50} de

l'ordre de 45 et 51,25 µg/ml, respectivement. Ces résultats montrent néanmoins une activité très faible en comparaison avec le standard testé, à savoir : l'acide ascorbique qui a montré une activité antioxydante très puissante avec une CI_{50} de 3 µg/ml.

L'évaluation de la capacité antioxydante de plusieurs extraits (hydro-méthanolique, fraction hexane, fraction éther diéthylique, fraction butanolique et fraction d'acétate d'éthyle) des parties aériennes (tiges et graines) de *P. scoparius* a été réalisée par plusieurs méthodes : capacité antioxydante totale, piégeage du radical libre DPPH et pouvoir réducteur de l'ion ferrique (**Belyagoubi-Benhammou *et al.*, 2016**). Les résultats obtenus révèlent que la fraction d'acétate d'éthyle s'est révélée la plus active à réduire les ions ferriques et les radicaux libres DPPH, avec des CI_{50} de l'ordre de $1,19 \pm 0,00$ mg/ml et $0,91 \pm 0,02$ mg/ml, respectivement ; mais faible par rapport au composé de référence $0,06 \pm 0,00$ mg/ml et $0,09 \pm 0,00$ mg/ml, respectivement.

Haddouchi *et al.* (2016) ont étudié le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique des parties aériennes de *P. scoparius* par deux méthodes : piégeage du radical libre DPPH et pouvoir réducteur de l'ion ferrique. Ils avancent une très bonne activité plus importante que celle du butylhydroxytoluène (BHT), avec une CI_{50} de l'ordre de $73,73 \pm 1,41$ µg/ml, $90,57 \pm 2,12$ µg/ml, respectivement. Dans cette même étude, ils ont rapporté également que cet extrait possédait un faible pouvoir hémolytique.

II. *Santolina africana*

II.1. Présentation de la plante

Le genre *Santolina* appartient à la famille des Astéracées et est représenté par plus de 10 espèces largement réparties dans la région méditerranéenne (**Derbesy et al., 1989**). Parmi les espèces de ce genre, *S. viridis* W. (Sud de la France et Nord de l'Espagne), *S. pectinata* Lag. (= *S. rosmarinifolia* L.) (Péninsule ibérique) et *S. chamaecyparissus* L. (bassin méditerranéen) sont les espèces les plus répandues dans le monde.

S. africana Jord. & Fourr. (Syn. *Ormenis africana* (Jord. & Fourr.) Litard. et Maire ; *S. chamaecyparissus* L. var. *africana* B. et T.) est une espèce endémique de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie et Tunisie) (**Quézel et Santa, 1963 ; Dobignard et Chatelain, 2011**) qui pousse naturellement dans les forêts et les pâturages steppiques (**Quézel et Santa, 1963**).

Noms vernaculaires

Nom en français :

- Santoline (**Coste, 1937**).

Nom en arabe :

- EL Djouada (nomination selon la population locale « région d'étude »).

II.2. Description botanique

L'espèce *Santolina africana* qui appartenait au genre *Ormenis* selon la flore de l'Algérie de **Quézel et Santa** en **1963**, fait partie actuellement du genre *Santolina* (**Oberprieler, 2002**).

Les espèces du genre *Santolina* L. sont des plantes suffrutescentes. Les capitules sont homogames, discoïdes. Le réceptacle est faiblement convexe, à paillettes non carénées. Les fleurs sont toutes tubuleuses, hermaphrodites (les périphériques sont à étamines avortées). Les bractées moyennes et internes de l'involucre sont à marges et appendice scarieux bien développés. La corolle externe est à tube coiffant l'ovaire. Les akènes oblongs, à 3-5 angles plus ou moins marquées, montrent sur la face interne trois pseudo-côtes (faisceaux libéro-ligneux saillants) et la face externe est lisse. Le péricarpe est en général sclérenchimamenteux, le disque apical est horizontal et le stylopode est central (**Quézel et Santa, 1963 ; Fennane et al., 2014**).

L'espèce *Santolina africana* Jord. & Fourr. est un sous-arbrisseau touffu, vert ou cendré. Les tiges sont ligneuses, à rameaux florifères dressés en touffe, nus et épaissis au sommet. Les feuilles inférieures sont linéaires-cylindriques avec des segments courts et obtus sur 4-6 rangs et les caulinaires sont pennatipartites à segments linéaires sur 2 rangs. L'involucre est creusé en écuelle. Les bractées sont ovales-oblongues, à tiers supérieur villoses. Les corolles

extérieures sont à tube coiffant l'ovaire. Les capitules sont discoïdes, jaunes, homogames (Quézel et Santa, 1963).

II.3. Systématique de *Santolina africana*

Embranchement	: Spermaphytes
Sous-Embranchement	: Angiospermes
Classe	: Eudicots
Ordre	: Astérales
Famille	: Astéracées
Genre	: <i>Santolina</i>
Espèce	: <i>Santolina africana</i> Jord. & Fourr.

II.4. Usages thérapeutiques

Certaines espèces du genre *Santolina* sont connues depuis longtemps comme plantes médicinales. En effet, les espèces végétales telles que : *S. chamaecyparissus*, *S. corsica*, *S. insularis* et *S. rosmarinifolia*, sont utilisées pour leurs propriétés antispasmodique, digestive, analgésique, anti-inflammatoire, antiseptique, stimulante, antimicrobienne, dépurative intestinale, vermifuge, stomachique, antiparasitaire, fébrifuge, antitussive, antipyrétique et anti-hypotensive. Elles sont également conseillées pour le traitement des problèmes ophtalmologique, des dermatites ainsi que pour repousser les parasites et les insectes (Tundis et Loizzo, 2018).

S. africana est utilisé dans la médecine traditionnelle marocaine pour ses propriétés stomachique, abortif, anthelminthique, antidiabétique et emménagogue (Fdil et al., 2011 ; Lmachraa et al., 2014). En Tunisie, elle est traditionnellement utilisée pour son effet hypoglycémiant et pour le traitement des douleurs de l'estomac. Ils rapportent également que le mélange des inflorescences en poudre et du miel est conseillé contre les ulcères et les douleurs de l'estomac (Ben Mansour et al., 2011).

Photographies



Photo 1 : Inflorescence de *Santolina africana* (Station de Batna-Fesdis le 11/05/2018)



Photo 2 : Feuilles de *Santolina africana* (Station de Batna-Fesdis le 11/05/2018)



Photo 3 : Pied de *Santolina africana* (Station de Batna-Bouilef le 23/05/2016)



Photo 4 : Plusieurs pieds de *Santolina africana* (Station de Batna-Fesdis le 11/05/2018)

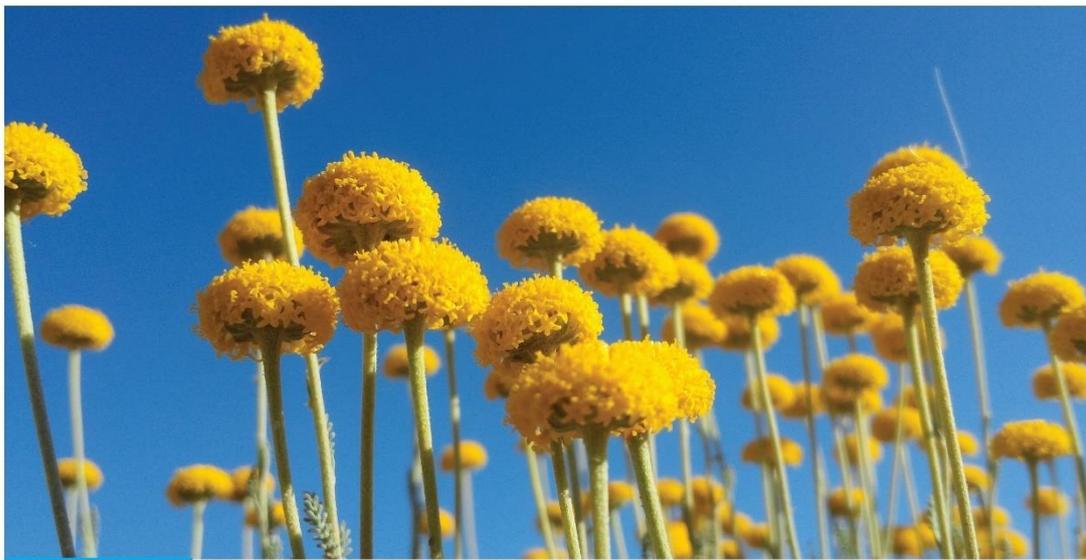


Photo 5 : Vue rapprochée des inflorescences d'un pied de *Santolina africana* (Station de Batna -Fesdis le 23/05/2016)

II.5. Métabolites secondaires de *Santolina africana*

II.5.1. Huiles essentielles

II.5.1.1. Composition chimique des huiles essentielles

La caractérisation chimique des huiles essentielles des plusieurs espèces appartenant au genre *Santolina* a été largement étudiée (**Tundis et Loizzo, 2018**). *S. chamaecyparissus* est probablement l'espèce la plus étudiée de ce genre (**Demirci et al., 2000 ; Garg et al., 2001 ; Tognolini et al., 2006 ; Grosso et al., 2009 ; Djeddi et al., 2012 ; Ruiz-Navajas et al., 2012 ; Nouasri et al., 2015 ; Zaiter et al., 2015 ; Khubeiz et Mansour, 2016 ; Salah-Fatnassi et al., 2017 ; Labeled et al., 2017 ; Boudoukha et al., 2018**). La composition chimique d'autres espèces telles que *S. corsica* (**Liu et al., 2007 ; Rossi et al., 2007**), *S. insularis* (**Cherchi et al., 2001 ; Gnavi et al., 2010**) et *S. rosmarinifolia* (**Palá-Paúl et al., 2001 ; Ioannou et al., 2007 ; Chibani et al., 2013**) a également été rapportée.

Les monoterpènes tels que le 1,8-cinéole, le camphre, l'artémisia cétone et le myrcène sont les principaux composants des huiles essentielles isolées de certaines espèces de *Santolina* poussant dans différentes régions du monde.

Inversement, seules cinq études ont rapporté la composition chimique de l'huile essentielle de *S. africana*. **Fdil et al. (2011)** ont comparé la composition chimique de trois échantillons d'huile essentielle isolée à partir de différents organes de la plante (tiges, feuilles et fleurs) de *S. africana* récoltés dans la région de Marrakech (Maroc). Les trois échantillons présentent respectivement une composition dominée par des monoterpènes oxygénés : camphre (69,14% / 71,36% / 80,44%), bornéol (20,33% / 18,13% / 12,34%) et acétate de bornyle (7,08% / 8,12% / 3,50%). L'huile des tiges contient également des quantités appréciables en α -humulène (3,14%), tandis que l'huile essentielle des fleurs présente une teneur appréciable en 1,8-cinéole (3,32%).

Un autre échantillon d'huile des parties aériennes de la plante d'origine marocaine présente une composition similaire. Elle comprend principalement du camphre (54,3%), du bornéol (17,24%), de l'acétate de bornyle (8,61%) et du 1,8-cinéole (5,27%) (**Lmachraa et al., 2014**).

Un échantillon d'huile essentielle d'origine tunisienne (tiges et feuilles) est caractérisé par une teneur élevée en terpinéol-4 (54,96%), suivi par l' α -terpinéol (14,06%) et le bornéol (8,37%) (**Attia et al., 2012**).

Concernant *S. africana* d'origine algérienne, seules deux études sont rapportées dans la littérature. Un échantillon (fleurs) récolté dans la région de Constantine (Algérie) est dominé par l'acénaphène (25,23%), le calarène (21,54%) et l'ocimène (17,44%) (**Derouiche et al.,**

2013). Une composition radicalement différente a été rapportée pour un échantillon d'huile essentielle des parties aériennes récolté dans la même région. Les composés majoritaires sont : le β -eudesmol (14,58%) et le β -pinène (12,78%), suivis par le 1,8-cinéole (10,02%), le curcumène (7,96%), le myrcène (6,94%) et le spathulénol (5,96%) (Zaiter *et al.*, 2015).

Enfin, une étude postérieure à notre article, est reportée dans la littérature. Les auteurs décrivent la composition chimique d'une huile essentielle de parties aériennes fraîches récoltées à Ichemoul dans la région de Batna. L'analyse de sa composition chimique par CPG-SM a mis en évidence la présence majoritaire du β -pinène (11,65%), du germacrène D (10,33%), du 1,8-cinéole (9,46%), du sabinène (7,18%), de l'hedycaryol (5,79%), du α -bisabolol (5,63%) et du α -curcumène (4,5%) (Boudjedjou *et al.*, 2019).

II.5.1.2. Activités biologiques des huiles essentielles et des extraits

Certaines activités biologiques ont été rapportées pour les extraits ou les huiles essentielles de *S. africana*, telles que l'activité antioxydante (Ben Mansour *et al.*, 2011 ; Derouiche *et al.*, 2013 ; Béjaoui *et al.*, 2017 ; Boudjedjou *et al.*, 2019), l'activité antimicrobienne (Derouiche *et al.*, 2013 ; Boudjedjou *et al.*, 2019), l'activité acaricide (Attia *et al.*, 2012) et l'activité antidiabétique (Béjaoui *et al.*, 2017).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des fleurs de *S. africana* a été évaluée contre quatre souches bactériennes à Gram positif (*Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*), quatre souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsella pneumoniae*), deux champignons (*Aspergillus flavus* et *A. niger*) et une levure (*Candida albicans*), en utilisant la méthode de diffusion sur disque à des concentrations de 250, 500, 1000, 2000, 4000 et 8000 $\mu\text{g/ml}$. Les souches les plus sensibles sont *E. faecalis*, *A. flavus*, *S. aureus* et *B. subtilis* avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 15,0 et 20,2 mm, mais à une concentration de l'ordre de 8000 $\mu\text{g/ml}$ (Derouiche *et al.*, 2013).

Dans cette même étude, les auteurs ont évalué également l'activité antioxydante de ces huiles essentielles en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH, à différentes concentrations : 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} M. Ils avancent que le pourcentage du piégeage du radical DPPH le plus élevé est de 13,80% à la concentration de 10^{-1} M, un résultat nettement inférieur comparé à la vitamine C (plus de 70%) utilisée comme standard (Derouiche *et al.*, 2013).

L'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle des parties aériennes de *Santolina africana* a également été démontrée Boudjedjou *et al.*, 2019. Elle est notamment active vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli*, avec des diamètres de zones d'inhibition de l'ordre de 29,0 et 29,27 mm, respectivement. Ils rapportent également une bonne

activité antioxydante, avec un pourcentage d'inhibition variant entre 23,3 et 92,9% à des concentrations de l'ordre de 0,28 à 18 mg/ml et une CI_{50} 1,13 mg/ml.

L'activité antioxydante de l'extrait hydro-éthanolique des inflorescences d'*Ormenis africana* a été évaluée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH et le radical ABTS⁺. Les résultats obtenus ont révélé une activité antioxydante élevée avec une CI_{50} de l'ordre de $24,0 \pm 1,57$ µg/ml et $2,137 \pm 0,12$ mM, respectivement ; comparable à celles du composé de référence, BHT de l'ordre $8,31 \pm 0,2$ et $2,81 \pm 0,13$ mM, respectivement (**Ben Mansour et al., 2011**).

L'activité antioxydante de l'extrait hydro-méthanolique des parties aériennes d'*Ormenis africana* a été évaluée également par **Béjaoui et al., en 2017**, en utilisant quatre méthodes : capacité antioxydante totale, piégeage du radical libre DPPH, FRAP et le radical ABTS⁺. Ces auteurs avancent une bonne activité antioxydante par l'ensemble des tests utilisés.

Béjaoui et al., (2017), ont étudié également l'activité antidiabétique de l'extrait hydro-méthanolique des parties aériennes d'*O. africana* par sa capacité d'inhibition de l' α -amylase et la α -glucosidase. Les résultats montrent que cet extrait a une activité inhibitrice significativement plus élevée que celle de l'acarbose (standard) et cela à une concentration allant de 60 à 80 mg/ml et une CI_{50} estimée à $28,35 \pm 1,18$ µg/ml, comparable à celle de l'acarbose ($CI_{50} = 15,25 \pm 1,42$ µg/ml). De même, l'inhibition de l' α -glucosidase a atteint 98% à la concentration de 100 mg/ml. À la concentration de 40 µg/ml, l'extrait a la même capacité inhibitrice que l'acarbose avec des valeurs respectives de $61 \pm 0,14\%$ et $69 \pm 0,33\%$. Les valeurs CI_{50} de l'extrait et de l'acarbose sont comparable de l'ordre de $34,21 \pm 1,2$ et $17,22 \pm 1,3$ µg/ml, respectivement.

L'activité acaricide de l'huile essentielle des parties aériennes (feuilles et tiges) de *S. africana* récoltées dans la région de Tétrouine en Tunisie a été évaluée par **Attia et al. (2012)**. Ils ont démontré que la mortalité des acariens augmente avec la concentration en huile essentielle, avec un pourcentage de 100% à une concentration de l'ordre de 5,99 mg/ml et une valeur de CL_{50} de 2,35 mg/l. Ils ont aussi rapporté une diminution de la fécondité observée aux concentrations de 0,07 à 0,29 mg/l.

III. *Cymbopogon schoenanthus*

III.1. Présentation de la plante

Le genre *Cymbopogon*, appartenant à la tribu des Andropogoneae, la famille des Poaceae, est représenté par 56 espèces (Mabberley, 1997), qui s'étendent sur les zones tropicales et subtropicales d'Asie et d'Afrique du nord (Shahi et Tava, 1993).

Cymbopogon schoenanthus (L.) Spreng. (= *Andropogon schoenanthus* L. Sp., = *Andropogon laniger* Desf.) est une espèce endémique commune dans tout le Sahara, largement répandue dans les régions tropicales en Afrique du Nord et en Asie. On la trouve également en Ethiopie, en Egypte, en Arabie Saoudite et dans l'Asie désertique. Elle pousse par pieds isolés dans les régions désertiques, semi-désertiques, ou semi-arides où les précipitations sont faibles (environ 100-150 mm par an). Cette plante se trouve sur les sols sablo-graveleux des lits d'oueds non salins ainsi que dans les ravins des montagnes entre 800 et 2100 m (Ozenda, 1991 ; Quézel et Santa, 1962 ; Le Floc'h, 1983 ; Sahki et Sahki, 2004). En dehors des périodes humides, la plante se présente sous forme de paille jaunâtre (Sahki et Sahki, 2004).

Noms vernaculaires

- Nom en français : Schoenante officinale, herbe à chameau, paille de la Mecque (IUCN, 2005)
- Nom en arabe : El Lemad ou Idjhir (IUCN, 2005), Lemmadj, Mahareb, Adkhar (Quézel et Santa, 1962).

III.2. Description botanique

Les espèces du genre *Cymbopogon*, sont des plantes vivaces en touffes denses. L'épillet est sessile sans nervures intracarinales ou à 2 nervures, mais sans fossette. L'inflorescence est en panicule enveloppée d'une spathe et comportant des paires de grappes pourvues d'une spathéole à la base. Les épillets géminés sont par paire et différents : un sessile et aristé avec un lemme et une fleur fertile (la fleur fertile est parfois remplacée par une neutre ou mâle dans les épillets inférieurs de la grappe) et un pédonculé et sans arête avec deux fleurs neutres ou une fleur neutre et une (supérieure) mâle. En Algérie, ce genre est monotypique (Ozenda, 1991 ; Quézel et Santa, 1962).

L'espèce *Cymbopogon schoenanthus*, est une plante vivace et aromatique, formant des touffes denses comprenant de nombreux rejets à souche aromatique. Les tiges (chaumes) sont nombreuses et courtes de 20 à 50 cm, à 2-4 nœuds. Les feuilles sont étroites, coriaces, arquées et à gaines dilatées. L'inflorescence est d'abord très contractée, puis s'étalant en une panicule

mêlée de spathes. Les rameaux sont terminés chacun par une spathe d'où sortent deux épis velus-laineux qui sont formés à leur tour des épillets groupés par paires. Les grappes sont à rachis et à pédoncules villoses sur un seul côté. Le lemme de la fleur fertile est nettement marqué, bifide et portant une arête grenouillée et glabre atteignant 10 mm de long (**Ozenda, 1991 ; Quézel et Santa, 1962**). Sa floraison a lieu au printemps, généralement en mars et avril (**IUCN, 2005**).

III.3. Systématique de *Cymbopogon schoenanthus*

Embranchement	: Spermaphytes
Sous-Embranchement	: Angiospermes
Classe	: Monocots
Ordre	: Poales
Famille	: Poaceae
Genre	: <i>Cymbopogon</i>
Espèce	: <i>Cymbopogon schoenanthus</i> (L.) Spreng.

III.4. Usages thérapeutiques

Cymbopogon schoenanthus exhalant une odeur très agréable, est utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des rhumatismes et de la fièvre. Cette plante est également conseillée dans les infections urinaires, dans le traitement de la goutte, l'inflammation de la prostate, les maladies du rein et les douleurs d'estomac. Elle est utilisée comme diurétique pour réduire les spasmes intestinaux et agit contre les intoxications alimentaires, l'anorexie et les troubles digestifs. La décoction de la plante soulage les maux de reins et inhibe la formation de calculs rénaux. Elle sert également à parfumer le thé facilitant en même temps la digestion (**Le Floc'h, 1983 ; El Ghazali et al., 1997 ; Sahki et Sahki, 2004 ; IUCN, 2005**). La plante (rhizome, feuilles et tiges) est considérée comme tonique, antispasmodique, anti-paludisme et elle est conseillée contre la névralgie, la fièvre et la toux chez les nourrissons et les enfants (**Marwat et al., 2009**). Elle est conseillée également contre les douleurs osseuses et articulaires, le rhumatisme, la fièvre, l'aérophagie, la flatulence, la mauvaise haleine et l'incontinence urinaire (**Hammiche et Maiza, 2006**).

Dans la région de Djanet (Algérie), la plante est particulièrement appréciée pour ses vertus médicinales et est bien connue pour redonner l'appétit. En infusion, elle est employée pour son action diurétique, et en décoction pour guérir les troubles intestinaux et les intoxications alimentaires, elle aide aussi à la digestion (**IUCN, 2005**).

Photographies



Photo 1 : Inflorescence de *Cymbopogon schoenanthus* (Station de Béchar le 12/04/2019)



Photo 2 : Pied de *Cymbopogon schoenanthus* (Station de Béchar le 12/04/2019)



Photo 3 : Pied de *Cymbopogon schoenanthus* (Station de Ghardaïa le 22/04/2016)



Photo 4 : Vue rapprochée d'un pied de *Cymbopogon schoenanthus* (Station de Béchar le 12/04/2019)



Photo 5 : Plusieurs pieds de *Cymbopogon schoenanthus* (Station de Béchar le 12/04/2019)

III.5. Métabolites secondaires de *Cymbopogon schoenanthus*

III.5.1. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Cymbopogon schoenanthus* a été largement étudié révélant une grande variabilité de ces composés ainsi que de leurs teneurs, généralement caractérisée par des pourcentages élevés de composés monoterpéniques possédant un squelette de type *p*-menthane, tels que : la pipéritone, le 2-carène et le limonène.

L'une des premières études menées sur la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *C. schoenanthus*, a été réalisée par **Shahi et Tava** en **1993**, sur un échantillon de feuilles récoltées en Inde. Le limonène (19,54%) est le composé majoritaire, suivi du camphène (7,98%). D'autres monoterpènes sont présents en quantités appréciables, à savoir : α -pinène (2,86%), myrcène (2,52%), bornéol (2,13%) et α -terpinéol (2,68%). L'élémol (4,52%), l' α -cadinol (3,38%), le τ -cadinol (2,74%) et le τ -muurolol (2,20%) sont les principaux sesquiterpènes oxygénés présents en teneurs appréciables. Ces auteurs ont pu isolés et identifiés également une série de cétones méthyles telles que le 2-nonanone (2,58%), le 2-undécaneone (14,68%) et le 2-tridécaneone (3,77%).

Les composés majoritaires de l'huile essentielle des feuilles et des fleurs de *C. schoenanthus* prélevées au Burkina Faso sont respectivement : la pipéritone (59,1 et 55,6%) et le δ -2-carène (22,3 et 16,8%), suivi de limonène (3,9 et 3,1%), *trans-p*-menth-2-en-1-ol (1,1 et 0,2%), α -terpinéol (1,1 et 1,0%), élémol (5,8 et 8,1%) et γ -eudesmol (1,1 et 2,5%) (**Menut et al., 2000**).

Une autre étude menée sur un échantillon des parties aériennes de *C. schoenanthus* cultivé au Togo révèle une huile essentielle principalement dominée par la pipéritone (68%), suivie de 2-carène (16,48%), de limonène (2,29%) et de β -caryophyllène (1,10%) (**Koba et al., 2004**). Une année plus tard, et dans la même région (Togo), **Ketoh et al. (2005 et 2006)**, viennent confirmer ces résultats en rapportant une composition riche en pipéritone (69,0%, 61,0%) et en 2-carène (17,0%, 23,4%) suivie de l'élémol (5,8%, 1,1%), du limonène (2,15%, 0,2%) et du β -caryophyllène (1,10%, 1,04%), respectivement. Durant la même année, une composition similaire de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* originaire du Togo a été rapporté par **Gbogbo et al. en 2006**. En effet, le constituant majoritaire est la pipéritone (69,01%) suivi du 2-carène (16,90%), de l'élémol (5,76%) et du limonène (2,15%).

Onadja et al. (2007), ont analysé un échantillon d'huile essentielle des feuilles de *C. schoenanthus* récoltées au Burkina Faso en juillet. Les composés identifiés sont la pipéritone (42%), le δ -2-carène (8,2%), l'élémol (6,2%), le β -eudesmol (1,8%), le limonène (1,5%), le τ -muurolol (1,1%), et l' α -eudesmol (1,0%).

Khadri et al. (2008), ont rapporté la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles et des racines de *C. schoenanthus* récoltées dans trois localités en Tunisie. Les constituants majoritaires sont le limonène (10,5 à 27,3%), le β -phellandrène (8,2 à 16,3%), le δ -terpinène (4,3 à 21,2%), l' α -terpinéol (6,8 à 11,7%), le β -eudesmol (0,2-14,2%), le juniper camphor (2,7-8,2%), la valencène (0,2-7,2%), l' α -cadinène (tr-6,0%), l' α -eudesmol (0,3-5,5%), le δ -cadinène (0,2-5,4%), l'élémol (0,3-4,6%), le germacrène B (0,4-4,5%), le γ -cadinène (0,7-4,2%) et l' α -sélinène (0,2-4,1%).

Un autre échantillon d'huile essentielle des feuilles de *C. schoenanthus* originaire du Bénin a fait l'objet d'une étude de la composition chimique par **Alitonou et al. (2012)**. La pipéritone (68,4%) et le δ -2-carène (11,5%) sont les composés majoritaires, suivis de l'élémol (3,9%), de l' α -eudesmol (4,6%) et du limonène (2,2%). De même, l'huile essentielle des feuilles fraîches de *C. schoenanthus* récoltées au Bénin, est caractérisée par des teneurs élevées en pipéritone (60,3%), suivie de : 2-carène (13,0%), limonène (6,4%), β -eudesmol (3,1%), *trans-p*-mentha-2,8-diéol (1,8%), *cis-p*-mentha-2,8-diéol (1,3%) et τ -eudesmol (1,1%) (**Kpoviessi et al., 2014**). Une autre étude menée par **Bossou et al. (2015)** dans la même région (Bénin) a montré une composition très similaire, à savoir : la pipéritone (58,9%), le δ -2-carène (15,5%), l'élémol (5,3%), le limonène (3,6%), l' α -eudesmol (2,1%). Ils rapportent également des teneurs appréciables en composés suivants : *cis-p*-menth-2-en-1-ol (1,4%), α -terpinéol (1,5%), *E*-caryophyllène (1,1%), γ -eudesmol (1,1%), éremoligéol (1,9%), β -eudesmol (1,2%) et une faible teneur en *trans-p*-menth-2-en-1-ol (0,7%).

En 2016, **Hashim et al.** ont rapporté 8 composés majoritaires dans l'huile essentielle de *C. schoenanthus* originaire d'Arabie Saoudite, à savoir : pipéritone (14,6%), cyclohexane méthanol (11,6%), β -élémente (11,6%), α -eudesmol (11,5%), élémol (10,8%), β -eudesmol (8,5%), 2-naphtalène méthanol (7,1%) et γ -eudesmol (4,2%).

Pavlović et al., 2016, ont analysé des huiles essentielles des tiges séchées et des inflorescences de *C. schoenanthus* récoltées au Soudan. Les résultats révèlent une composition riche en pipéritone (47,7-71,5%), suivie de l'intermédiol (6,1 à 17,3%), du δ -2-carène (4,5 à 10,0%) et de l'élémol (2,7 à 9,0%). Au cours de la même année, une autre étude menée sur un échantillon d'huile essentielle de *C. schoenanthus* originaire également du Soudan a montré une composition dominée par la pipéritone (18,48%) suivie de l'élémol (18,33%), l'eudesm-7(11)-en-4-ol (17,09%), l' α -eudesmol (10,69%) le bulnésol (7,08%) et l' γ -eudesmol (5,80%) (**Yagi et al., 2016**).

Paradoxalement, certains auteurs rapportent des compositions radicalement différentes. Un échantillon d'huile essentielle de *C. schoenanthus* originaire du Brésil a été analysé par

Katiki et al. en 2011 et en 2012. Le géraniol (59,42% ; 62,5%), le géraniol (13,49% ; 12,5%) et le néral (8,98% ; 8,2%) sont les principaux composés, suivis du citronellol (3,18% ; 3,8%), de l'acétate de géranyle (4,80% ; 2,0%) et du E-caryophyllène (2,19% ; 3,4%), respectivement. Un autre échantillon de l'huile essentielle des feuilles et des inflorescences de *C. schoenanthus* récoltées à Burkina Faso, est caractérisé par une forte teneur en 1,8-cinéole (50,2%), suivi du camphre (13,5%). D'autres constituants sont présents en quantités appréciables : α -terpinéol (6,5%), β -pinène (5,7%), *trans*- α -bergamotène (2,8%), α -pinène (2,7%), δ -cadinène (2,5%), myrcène (2,1%), limonène (1,9%), β -caryophyllène (1,9%), sabinène (1,5%), *cis*-*p*-menth-2-en-1-ol (1,4%), terpinéol-4 (1,3%) (**Gbenyedji et al.**, 2014). Enfin, **Andola et Maithani** en 2018 rapportent la composition des huiles essentielles des parties aériennes (plante spontanée et cultivée) de *C. schoenanthus* récoltées en Inde. Les composés majoritaires identifiés sont respectivement : *cis*-hydrate de sabinène (30,1 et 31,6%), *trans*-hydrate de sabinène (17,0 et 14,5%), *cis*-pipéritol (9,6 et 18,5%), α -terpinolène (11,0 et 7,9%), *trans*-pipéritol (8,5 et 7,2%), pipéritone (2,7 et 3,7%), limonène (3,2 et 3,8%) et *p*-cymène (4,5 et 4,3%).

Concernant le *Cymbopogon schoenanthus* originaire d'Algérie, la composition chimique de l'huile essentielle est décrite dans cinq publications. Les composés identifiés sont principalement des dérivés *p*-menthaniques, suivi du β -élémol et de sesquiterpènes présentant le squelette de type eudesmane. Certaines compositions ponctuellement atypiques sont également citées.

Sousa et al. en 2005 ont analysé la composition chimique d'une huile essentielle extraite par CO₂ supercritique, d'un échantillon de *C. schoenanthus* récolté en Algérie. Ils ont rapporté une composition dominée par le *cis*-*p*-menth-2-en-1-ol (17,78%), l'élémol (13,71%), le *trans*-*p*-menth-2-en-1-ol (10,83%), le *cis*-pipéritol (9,14%) suivi du *trans*-pipéritol (6,26%), de l' α -terpinéol (5,59%), du *cis*-triménal (3,79%), du limonène (2,40%) et du γ -eudesmol (2,23%).

En 2009, **Bouchikhi Tani et al.** rapportent que l'huile essentielle des feuilles de *C. schoenanthus* provenant de Aïn Sefra (Ouest d'Algérie) renferment les composés suivants : *cis*-*p*-menth-2-en-1-ol (18,6%), *trans*-*p*-menth-2-en-1-ol (9,5%), élémol (7,4%), pipéritone (7,2%), limonène (7,0%), *p*-cymène (5,9%), γ -terpinène (5,1%), *trans*-pipéritol (4,9%), α -eudesmol (3,7%) et γ -eudesmol (3,1%).

En 2015, **Hadef et al.** ont étudié la composition chimique d'une huile essentielle des feuilles de *C. schoenanthus* récoltées à Tébessa (Nord-est d'Algérie). Ils rapportent une composition similaire : *cis*-*p*-menth-2-en-1-ol (15%), *trans*-*p*-menth-2-en-1-ol (13%), β -élémol (10%), *cis*-*p*-menth-1-en-3-ol (8%), *trans*-*p*-menth-1-en-3-ol (9%), 2-carène (7%),

limonène (5%), β -phellandrène (5%), α -phellandrène (3%), *p*-cymène (2%), *p*-menth-4(8)-en-3-one (2%), isolongifolan-8-ol (2%) et γ -cadinène (2%).

Par ailleurs, l'huile essentielle d'un échantillon des parties aériennes de *C. schoenanthus* originaire de l'Illizi (Sud-est d'Algérie), présente une composition caractérisée par des teneurs élevées en pipéritone (63,35%) suivie de 2-carène (4,9%), du β -eudesmol (9,3%) et de l'élémol (6,9%). Ils avancent également des teneurs appréciables en limonène (1,41%), en α -terpinéol (1,45%), en 10-épi- γ -eudesmol (1,27%), et en α -eudesmol (1,88%) (Hellali *et al.*, 2016).

Toujours dans le sud de l'Algérie, à Ghardaïa, Kadri *et al.* (2017), rapportent un profil chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *C. schoenanthus* également très différent, constitué principalement de guaïol (20,44%), du *cis*- β -terpinéol (16,23%), de l'hinéol (10,55%), du *cis*-hydrate de sabinène (9,98%) et du 4-carène (7,70%), suivis du δ -sélénène (2,42%), de l'eucalyptol (1,86%), de l'agarospirol (1,79%). Inversement, l'huile essentielle des racines présente une composition dominée par une teneur élevée en agarospirol (14,21%), en *cis*- β -terpinéol (12,61%), en 4-carène (6,92%), en *cis*-hydrate de sabinène (6,62%) et en guaïol (5,88%), suivis du limonène (2,04%), du 2-cyclohexen-1-ol (3,31%) et de sélina-6-en-4-ol (2,22%).

Enfin, très récemment, Aous *et al.* en 2019 ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *C. schoenanthus* récoltées dans six régions du Sahara algérien (Béchar, Ghardaïa, El Menia, Ouargla, Djanet et Tamanrasset). L'analyse statistique a montré l'existence de trois groupes. Les composés majoritaires du groupe I sont : 2-carène (13,4-20,4%), limonène (8,7-13,0%), *cis*-*p*-menth-2-en-ol (12,1-15,1%), *trans*-*p*-menth-2-en-ol (8,4-9,2%), *cis*-pipéritol (3,3-6,9%), *trans*-pipéritol (5,4-6,6%), élémol (4,9-9,6%) et β -eudesmol (2,8-9,6%). Le groupe II (échantillon de Ouargla) contient les mêmes composés majoritaires que le groupe I à l'exception du limonène qui est totalement absent dans cet échantillon. Ce groupe diffère par sa teneur appréciable en β -phellandrène (jusqu'à 8,0%) qui est totalement absent dans le groupe I. En revanche, les échantillons du groupe III (Djanet et Tamrasset) sont très riches en pipéritone (55,1-63,2%), suivie de 2-carène (9,3-16,7%) et de l'élémol (4,8-9,5%).

III.5.2. Activités biologiques des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*

Certaines activités biologiques ont été rapportées pour les huiles essentielles de l'espèce *Cymbopogon schoenanthus*, telles que les activités : antioxydante (Khadri *et al.*, 2008 ; Hellali *et al.*, 2016 ; Aous *et al.*, 2019), antimicrobienne (Koba *et al.*, 2004 ; Gbogbo *et al.*, 2006 ; Alitonou *et al.*, 2012 ; Hellali *et al.*, 2016 ; Hashim *et al.*, 2016 ; Yagi *et al.*, 2016 ; Kadri *et al.*, 2017 ; Aous *et al.*, 2019), antiproliférative (Yagi *et al.*, 2016), anti-cholinestérase (Khadri

et al., 2008), insecticide (Ketoh *et al.*, 2002 ; 2005 et 2006, Koba *et al.*, 2007 ; Bouchikhi Tani *et al.*, 2009 ; Gbenyedji *et al.*, 2014 ; Bossou *et al.*, 2015 ; Aous *et al.*, 2019), anthelminthique (Katiki *et al.*, 2011 ; 2012 ; Kpoviessi *et al.*, 2014), acaricide (Alitonou *et al.*, 2012) et spasmolytique (Pavlović *et al.*, 2016).

Koba *et al.* en 2004, ont évalué l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'un échantillon récolté dans la région du Togo riche en pipéritone (68%), vis-à-vis de sept souches fongiques (*Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Malassezia pachydermatis* et *Aspergillus fumigatus*) et sept souches bactériennes (3 souches de *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepaci*, et 3 souches de *Staphylococcus intermedius*). Ils ont constaté que toutes les souches microbiennes testées se sont révélées résistantes à cette huile essentielle, avec des CMI supérieures à 500 µl/ml.

Gbogbo *et al.* (2006), ont évalué l'activité antifongique de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* vis-à-vis de cinq souches microbiennes, à savoir : *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Bipolaris maydis*, *Fusarium oxysporum*, et *Nigrospora oryzae*. Les résultats obtenus montrent qu'à la concentration de 1,14 µl/ml, l'inhibition de la croissance des souches a atteint les 100%, à l'exception de la souche *Nigrospora oryzae*, avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 96%.

Alitonou *et al.* (2012), ont réalisé une étude sur le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* également riche en pipéritone (68,4%), vis-à-vis de deux souches bactériennes, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Ils avancent une activité modérée avec une CMI de l'ordre de 2,63 ± 0,16 mg/ml.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des parties aériennes de *C. schoenanthus* récoltées dans la région d'Illizi (Algérie) riche aussi en pipéritone (63,35%), a été évaluée par la méthode de diffusion sur disque. Les résultats obtenus révèlent une bonne sensibilité d'*Enterococcus faecium* (21 ± 1,4 mm), de *Staphylococcus aureus* (19,5 ± 0,7 mm) et d'*Escherichia coli* (15 ± 1,4 mm). En revanche, cette huile essentielle s'est avérée moins active vis-à-vis de *Salmonella typhimurium* (10,5 ± 0,7 mm), de *Streptococcus agalactiae* (12,75 ± 0,3 mm) et de *Candida albicans* (12 ± 1,4 mm) (Hellali *et al.*, 2016).

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* a été testée également par Hashim *et al.* en 2016, contre dix souches bactériennes en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Les résultats obtenus montrent un effet inhibiteur sur cinq souches testées, dont trois bactéries à Gram positif (*Staphylococcus saprophyticus* (10 ± 0,19 mm), *Staphylococcus aureus* (12,5 ± 0,6 mm) et *Staphylococcus aureus* (SARM) (11 ± 0,4 mm)) et

deux bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* ($15 \pm 0,2$ mm) et *Klebsiella pneumoniae* ($14 \pm 0,16$ mm)). Aucune activité antimicrobienne n'a été observée contre *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecium* et *E. faecalis*. La concentration minimale inhibitrice a été évaluée pour les cinq souches bactériennes ayant montrées une sensibilité à l'huile essentielle. Les plus faibles CMI sont obtenues pour *S. aureus* (MSSA) et *K pneumoniae*, avec une valeur égale à $2,3 \mu\text{g/ml}$, suivi de *S. aureus* (SARM) ($4,69 \mu\text{g/ml}$), *E. coli* ($9,37 \mu\text{g/ml}$) et *S. saprophyticus* ($>150 \mu\text{g/ml}$) qui s'est avérée la plus résistante.

Au cours de la même année **Yagi et al. (2016)**, ont évalué aussi l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *C. schoenanthus*, vis-à-vis de quatre souches bactériennes. Ils avancent des CMI très faibles de l'ordre de $16 \mu\text{g/ml}$ pour *E. coli*, *B. subtilis* et *S. aureus*. En revanche la souche bactérienne *P. aeruginosa*, n'as pas montré une sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle avec une CMI supérieure à $1000 \mu\text{g/ml}$.

Kadri et al. en 2017 ont testé l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* vis-à-vis de cinq souches bactériennes à Gram négatif (*P. aeruginosa*, *V. cholerae*, *S. enterica*, *S. marcescens* et *E. coli*) et cinq souches bactériennes à Gram positif (*M. luteus*, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. faecalis* et *B. cereus*). Ils rapportent que *S. aureus* s'est montrée la plus sensible, avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de $16,23 \pm 0,25$ mm.

L'activité antimicrobienne a été évaluée aussi par **Aous et al. en 2019**. Ils ont rapporté que les six échantillons testés sont très actifs vis-à-vis des micro-organismes testés, à savoir : *S. aureus* ($22 \pm 0,3$ à $32 \pm 1,8$ mm), *B. subtilis* ($11 \pm 0,1$ à $25 \pm 0,9$ mm), *E. coli* ($15 \pm 0,3$ à $27 \pm 0,7$ mm) et *C. albicans* ($28 \pm 1,3$ à $38 \pm 0,7$ mm).

Par ailleurs, **Khadri et al. en 2008**, ont évalué l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* de trois échantillons (feuilles fraîches, feuilles sèches, et racines sèches) récoltés dans trois localités différentes en Tunisie selon deux méthodes : le test du piégeage du radical libre DPPH et le test du blanchissement du β -carotène. À $2 \mu\text{l/ml}$, les huiles essentielles des feuilles fraîches et sèches et des racines sèches ont montré le plus fort pouvoir antioxydant avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de $73,8 \pm 2,1\%$; $67,3 \pm 17,5\%$ et $61,0 \pm 5,6\%$, respectivement. Ces valeurs étaient comparables à celles obtenues avec les standards utilisés, à savoir : le carvacrol $87,4 \pm 1,5\%$; la verbénone $77,1 \pm 0,5\%$ et le BHT $100 \pm 0,0\%$. Concernant le test du blanchiment du β -carotène, les résultats obtenus montrent des CI_{50} variant entre $0,47$ à $1,19$ mg/ml. L'échantillon de l'huile essentielle des feuilles fraîches s'est révélé le plus actif avec une CI_{50} de l'ordre de $0,47 \pm 0,04$ mg/ml.

Récemment **Hellali et al.** en **2016**, ont également évalué l'activité antioxydante de l'huile essentielle des parties aériennes de *C. schoenanthus* riche en pipéritone (63,35%), en utilisant trois méthodes : DPPH, ABTS et FRAP. Les résultats obtenus révèlent des CI_{50} de l'ordre de $44,21 \pm 3,78$ mg/ml et de $18,91 \pm 0,17$ mg/ml, respectivement.

Très récemment, **Aous et al.** (2019) ont testé l'activité antioxydante de six échantillons d'huile essentielle de *C. schoenanthus* récoltés dans la région du Sahara algérien (Béchar, Ghardaïa, El Menia, Ouargla, Djanet et Tamanrasset) par la méthode du piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus révèlent un faible pouvoir antioxydant, avec des pourcentages d'inhibition allant de 4,4 à 21,1% à des concentrations variant entre 100 et 2000 mg/l.

Par ailleurs, **Ketoh et al.** en **2002**, ont évalué l'activité insecticide de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* à différents stades du développement de *Callosobruchus maculatus*. Ils ont constaté que les taux de mortalité augmentaient rapidement avec les concentrations de l'huile, atteignant une CL_{50} de 100% à une concentration de 0,67 μ l/l. Ces mêmes auteurs rapportent en **2005**, qu'après exposition à l'huile essentielle de *C. schoenanthus*, tous les adultes de *C. maculatus* sont morts dans les 24 heures à une concentration de 33,3 μ l/l. Une année plus tard en **2006**, ces auteurs ont comparé l'activité insecticide de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* (dont le composé majoritaire est la pipéritone à 61%) avec la pipéritone. Ils rapportent que la pipéritone était plus efficace contre les adultes de *C. maculatus* avec une valeur de CL_{50} de l'ordre de 1,6 μ l/l par rapport à l'huile essentielle ($CL_{50} = 2,7$ μ l/l).

Koba et al. en **2007**, ont testé l'activité insecticide de l'huile essentielle de *C. schoenanthus in vitro*, vis-à-vis de l'espèce de termite *Trinervitermes geminatus*. Ils avancent qu'à la dose de $11,75 \times 10^{-2}$ μ l/ml, une mortalité de 100% a été obtenue après une durée de 2h30, des résultats très intéressants par comparaison avec ceux obtenus avec le pesticide commercial (Dursban) utilisé comme témoin positif qui atteint ce taux de mortalité qu'après 5 heures.

Bouchikhi Tani et al. (2009), ont évalué l'activité insecticide de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* vis-à-vis de la mite *Tineola bisselliella*. Ils avancent un effet létal de l'huile essentielle sur les adultes et une inhibition de la reproduction (diminution de la fécondité) avec une DL_{50} de l'ordre de 1,09 μ l.

Gbenyedji et al. (2014), ont évalué l'activité insecticide de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* vis-à-vis de l'espèce de termite *Amitermes evuncifer* Silvestri. Ils ont rapporté que l'effet de l'huile augmentait avec la concentration, atteignant un taux de mortalité de 75 et 78% aux concentrations respectives de 0,5 et 1 mg/cm², tandis qu'un taux de mortalité de 100% a été observé à la concentration de 2 mg/cm².

Bossou et al. (2015), ont évalué également l'activité insecticide de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* vis-à-vis de *Tribolium castaneum*. La valeur de CL_{50} obtenue après 24 heures était de 2,1 ml/l. En outre, une mortalité de 75%, a été observée à une concentration de 4 ml/l.

Enfin, **Aous et al. en 2019**, ont montré que les échantillons de Tamanrasset et de Djanet riches en pipéritone, ont un fort pouvoir insecticide, avec un taux de mortalité vis-à-vis de l'espèce *Callosobruchus maculatus*, de l'ordre de 100% et 99,2% à la concentration de 142,86 μ l/l, respectivement, après 24 heures d'exposition. Par contre, les quatre autres échantillons qui contiennent des quantités assez importantes en *cis* et *trans-p*-menth-2-ène-1-ol, ont montré, à la même concentration, des taux de mortalité allant de 55,0 à 74,2% après 48 heures d'exposition.

Concernant les propriétés anti-cholinestérase, une étude menée par **Khadri et al., (2008)** a montré un effet inhibiteur intéressant de l'acétylcholinestérase avec une CI_{50} de l'ordre de 0,26 mg/ml pour l'huile essentielle des feuilles fraîches de *C. schoenanthus*, suivi de celle des racines avec une CI_{50} de 0,27 et 0,32 mg/ml, récoltées dans deux stations différentes.

L'activité anthelminthique de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* a été évaluée *in vitro* contre les deux nématodes appartenant à la famille des Trichostrongylidés (nématodes gastro-intestinaux) de mouton par le biais de quatre tests : le dosage de l'éclosion des œufs (DEO), le test d'inhibition du développement larvaire (IDL), le test d'inhibition de la croissance des larves (ICL) et le test d'inhibition de l'alimentation larvaire (IAL). Les résultats obtenus ont montré une activité élevée de l'huile essentielle avec des CL_{50} de l'ordre 0,045 mg/ml (DEO), 0,063 mg/ml (IDL), 24,66 mg/ml (ICL) et 0,009 mg/ml (IAL) (**Katiki et al. 2011**). Une année plus tard, ces mêmes auteurs ont évalué l'activité anthelminthique *in vivo* sur des moutons. Aucun résultat intéressant n'a été observé pour l'huile essentielle de *C. schoenanthus* vis-à-vis du parasite *Haemonchus contortus* (**Katiki et al., 2012**).

Kpoviessi et al., 2014 ont évalué également l'activité antiparasitaire de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* vis-à-vis de *Trypanosoma brucei* et *Plasmodium falciparum*. Les résultats révèlent un effet plus fort contre *Trypanosoma brucei* avec des valeurs de CI_{50} de l'ordre de $2,10 \pm 0,89 \mu$ g/ml contre $43,15 \pm 13,19 \mu$ g/ml pour *Plasmodium falciparum*. Dans cette même étude, la cytotoxicité de l'huile essentielle a été également évaluée sur des cellules de l'ovaire du hamster chinois et sur une lignée cellulaire de fibroblastes humains non cancéreuse (WI38). Les résultats ont montré que l'huile essentielle présente une faible cytotoxicité avec une $CI_{50} > 50 \mu$ g/ml.

Alitonou et al. en 2012, ont étudié l'activité acaricide de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* vis-à-vis de la tique tropicale *Amblyomma variegatum*. Les résultats obtenus ne

révèlent aucun effet sur la tique, et cela pour les concentrations de 2, 4 et 6 μl , tandis qu'un faible pourcentage du taux de mortalité (environ 30%) a été remarqué à la concentration de 8 μl d'huile essentielle.

Yagi *et al.* en 2016, ont évalué l'activité antiproliférative des huiles essentielles de *C. schoenanthus* sur des lignées cellulaires humaines (MCF7, MDA-MB231, HT29 et HCT116). Les résultats ont révélé une activité antiproliférative intéressante contre les lignées cellulaires HCT116 et HT29 avec des valeurs de CI_{50} comprises de l'ordre de 19,16 et 23,41 $\mu\text{g/ml}$, respectivement en comparaison avec les huiles essentielles d'autres plantes.

Enfin, l'activité spasmolytique de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* a été testée à l'aide de trois modèles expérimentaux différents : contre les contractions spontanées, les contractions induites avec l'acétylcholine et les contractions induites avec le chlorure de potassium (KCl) sur l'iléon isolé du rat. Les résultats révèlent une activité spasmolytique forte et dépendante de la dose. En effet, l'HE à une concentration de 130 $\mu\text{g/ml}$ est capable d'inhiber les contractions spontanées ($105,23 \pm 29,56\%$) au même degré que l'effet relaxant maximal de l'atropine obtenu à une concentration de 6,4 μM . L'effet spasmolytique de l'HE sur les contractions induites par l'acétylcholine est très puissant à 120 $\mu\text{g/ml}$, et supprime complètement l'effet contractile de l'acétylcholine. Enfin, concernant les contractions induites avec KCl (80 mM), l'huile essentielle a montré un effet inhibiteur de $19,67 \pm 20,26\%$ à une concentration de 30 $\mu\text{g/ml}$ (**Pavlović *et al.*, 2016**).

III.5.3. Activités biologiques des extraits de *Cymbopogon schoenanthus*

Khadri *et al.* (2010) ont testé les activités antioxydante, anti-acétylcholinestérase et antimicrobienne de l'extrait aqueux, de l'extrait riche en pro-anthocyanidines et des extraits organiques (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle, méthanol) de *Cymbopogon schoenanthus* provenant de trois stations différentes dans le sud de la Tunisie. L'activité antioxydante a été mesurée par le test du DPPH et le blanchiment du β -carotène. Le test du DPPH a montré que l'extrait de pro-anthocyanidine présentait la meilleure activité antioxydante avec une CI_{50} allant de 16,4 à 26,4 $\mu\text{g/ml}$. De même, pour le test du blanchiment du β -carotène, le pouvoir antioxydant le plus important est obtenu avec l'extrait de pro-anthocyanidine, avec une CI_{50} de l'ordre de 0,11 mg/ml. La plus grande activité inhibitrice de l'acétylcholinestérase a été observée avec les extraits d'acétate d'éthyle et du méthanol avec une CI_{50} de 0,23 mg/ml. Quant à l'activité antimicrobienne, l'extrait riche en pro-anthocyanidine s'est montré le plus efficace contre *Streptococcus sobrinus* avec une CMI de l'ordre de 4 mg/ml.

Dans une étude menée par **Ben Othman et al.** en **2013**, sur le potentiel préventif de l'extrait éthanolique de *C. schoenanthus* contre les troubles du stress *in vitro* et *in vivo*, rapporte que cet extrait avait un effet anti-stress comparable à celui des antidépresseurs traditionnels.

Sabry et al. en **2014**, ont testé l'activité antimicrobienne de différents extraits (aqueux, méthanolique, d'acétate d'éthyle et du n-butanol) des feuilles de *C. schoenanthus* vis-à-vis de 17 souches fongiques et trois bactéries. Les extraits organiques se sont avérés les plus actives. Cependant, les champignons se sont montrés les plus sensibles.

En **2017**, **Kadri et al.** ont déterminé l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de *C. schoenanthus* par le test du piégeage du radical libre DPPH. Les résultats obtenus révèlent une faible activité, avec une CI_{50} de l'ordre de 168,28 $\mu\text{g/ml}$, par comparaison avec de l'acide ascorbique utilisé comme standard ($CI_{50} = 62 \mu\text{g/ml}$).

Chapitre II : Les différentes techniques d'extraction et d'analyse des constituants d'un mélange naturel

I. Techniques d'extraction des constituants d'un mélange naturel

Les huiles essentielles représentent une petite fraction de la composition d'une plante mais lui confèrent les propriétés caractéristiques pour lesquelles les plantes aromatiques sont utilisées dans les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires. Bien qu'il semble relativement simple d'isoler de telles huiles, la composition de ces dernières peut varier dans une large mesure en fonction de la méthode d'extraction utilisée (**Anitescu *et al.*, 1997 ; Cassel *et al.*, 2009**). Ainsi, il est important que la proportion naturelle des composants soit maintenue pendant l'extraction des huiles essentielles des plantes par toutes méthodes employées. A cet égard, de nombreuses méthodes d'extraction ont été développées pour récupérer ces huiles, plusieurs auteurs classifient ces dernières en deux groupes : Les méthodes conventionnelles aussi nommées classiques et les méthodes innovantes.

I.1. Les méthodes conventionnelles

I.1.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est l'une des méthodes d'extraction les plus anciennes et la plus couramment utilisée pour l'extraction des huiles essentielles (**Meyer-Warnod, 1984**). Cette méthode consiste à immerger le matériel végétal dans de l'eau, le mélange est ensuite chauffé à ébullition, à pression atmosphérique et sous l'action du chauffage, les molécules odorantes contenues dans les cellules végétales sont libérées sous la forme d'un mélange azéotrope. Bien que la plupart des composants aient des points d'ébullition supérieurs à 100 °C, ils sont mécaniquement entraînés par la vapeur d'eau. Le refroidissement par condensation conduit à la séparation du mélange eau et huile essentielle par décantation. Le système « Clevenger » préconisé par la troisième édition de la Pharmacopée Européenne pour la détermination des rendements en huiles essentielles permet le recyclage de la phase aqueuse du distillat à travers un système de cohobation. Ainsi, l'eau et les molécules volatiles (huile essentielle) sont séparées par leurs différences de densité (**Clevenger, 1928 ; Asbahani *et al.*, 2015**).

Figure 1

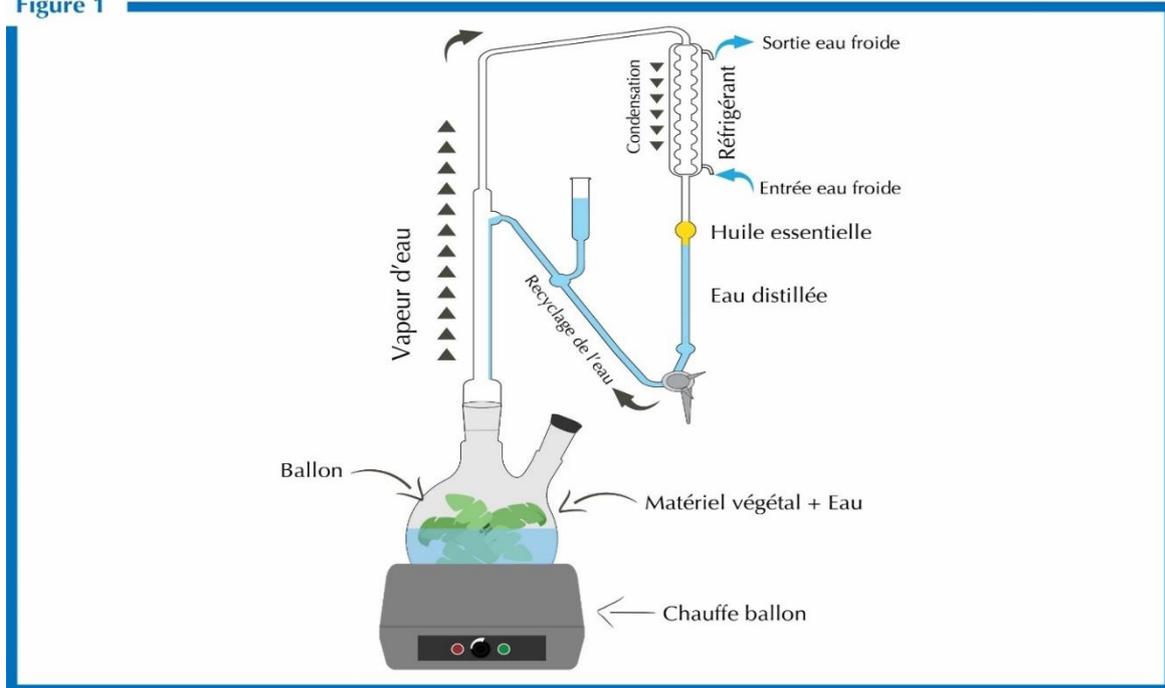


Figure 1 : Description schématique du système d'extraction par hydrodistillation

I.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Cette méthode a les mêmes principes que l'hydrodistillation, sauf que le matériel végétal n'est pas en contact direct avec de l'eau, la génération de vapeur se produit en dehors de l'alambic de distillation (Masango, 2005). Le processus d'extraction fonctionne de telle sorte que l'application de vapeur combinée à la pression atmosphérique permet aux huiles essentielles contenues dans le matériel végétal d'être entraînée à une température inférieure à 100 °C (Masango, 2005 ; Rojas et Buitrago, 2015).

I.1.3. Le pressage à froid

L'expression ou pressage à froid est une méthode d'extraction très ancienne et est utilisée presque exclusivement pour la production d'huiles essentielles de fruits d'agrumes car les glandes contenant les huiles essentielles sont localisées dans la partie externe du fruit (flavédo). Cette méthode fait référence à tout processus mécanique (compression, perforation) au cours duquel ont fait éclater les poches qui sont situées à la superficie de l'écorce de ces fruits. Ce processus aboutit à la production d'une émulsion aqueuse, qui est ensuite centrifugée pour séparer l'huile essentielle (Bousbia *et al.*, 2009). La raison de l'extraction des huiles essentielles d'agrumes à l'aide de méthodes mécaniques est l'instabilité thermique des aldéhydes présents (Preedy, 2015). L'huile obtenue à partir de cette méthode est très utilisée dans les industries alimentaires (comme ingrédients aromatisants ou additifs), pharmaceutiques et cosmétiques (Asbahani *et al.*, 2015).

I.2. Les méthodes innovantes

En général, des méthodes d'extraction conventionnelles telles que la distillation à la vapeur et l'extraction par solvant ont été traditionnellement utilisées. Cependant, ces méthodes présentent des inconvénients tels qu'un faible rendement, la perte de composés volatils, de longs temps d'extraction et des résidus de solvants toxiques (**Khajeh et al., 2005**). Cela a conduit au développement de techniques d'extraction alternatives capables de surmonter ces problèmes.

I.2.1. Extraction assistée par les ultrasons

La technique des ultrasons a été couramment utilisée au cours des dernières années à l'échelle du laboratoire pour accélérer les processus d'extraction (**Deng et al., 2014, Koubaa et al., 2015**). Le principe de base de cette technique pour extraire les composés volatils à partir du matériel végétal consiste à générer des ondes sonores (fréquence ultrasonique ≈ 20 kHz) qui créent des bulles de cavitation dans la solution (**Roselló-Soto et al., 2015**) et produisent suffisamment d'énergie pour briser les structures contenant l'huile afin de libérer cette dernière. De plus, l'extraction assistée par ultrasons peut agir comme émulsifiant en dispersant les molécules lipophiles dans l'eau, facilitant ainsi la séparation et la purification subséquente des extraits (**Sereshi et al., 2012**).

I.2.2. Extraction assistée par les micro-ondes

L'utilisation des micro-ondes remonte à la fin des années 1970 (**Koubaa et al., 2016**). C'est une technologie caractérisée par un mécanisme de chauffage unique (basé sur la friction), la fréquence de l'énergie électromagnétique générée par les équipements des micro-ondes est comprise entre 0,3 et 300 GHz (**Barba Orellana et al., 2016**). Son principe est basé sur l'impact direct sur les composés polaires composant le solvant d'extraction ou la matrice à traiter.

Comparé aux méthodes d'extraction conventionnelles, l'extraction assistée par micro-ondes conduit à des rendements d'extraction plus élevés et des temps d'extraction plus courts, allant de quelques heures à 20-30 min pour l'extraction (**Chen et al., 2007**). En outre, elle se caractérise par un faible coût d'achat et d'exploitation. Les chercheurs ont combiné des micro-ondes avec des méthodes conventionnelles pour développer de nouvelles méthodes telles que l'extraction par solvant micro-ondes, l'hydrodistillation hyperfréquence sous vide, l'hydrodistillation hyperfréquence, la distillation micro-ondes à air comprimé et la distillation à la vapeur accélérée par micro-ondes (**Preedy, 2015**).

I.2.3. Extraction par CO₂ supercritique

L'extraction par fluide supercritique est l'une des technologies émergentes et respectueuses de l'environnement. De nos jours, cette technologie est appliquée dans les laboratoires de manière à obtenir une extraction rapide des huiles essentielles. Le dioxyde de

carbone (CO₂) est le choix idéal comme solvant supercritique et cela pour plusieurs raisons, le CO₂ a une pression critique de 73 bars et une température critique de $\approx 31^{\circ}\text{C}$, qui sont relativement faibles. De plus, le CO₂ est inflammable et est un gaz recyclable, disponible à faible coût et de grande pureté, il peut être séparé de l'extrait par une simple dépressurisation en dessous du point critique (**Koubaa et al., 2015**).

Dans l'état supercritique, le CO₂ présente une polarité comparable à celle du pentane qui le rend approprié pour l'extraction des composés apolaires ou lipophiles.

Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Ensuite, il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après, le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux afin d'être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (**Chemat, 2009**). Cette technique est aujourd'hui considérée comme la plus prometteuse car elle fournit des extraits volatils de très haute qualité (**Wenqiang et al., 2007**). L'extraction par CO₂ supercritique est généralement effectuée à basse température, ce qui en fait une méthode très appropriée pour les composés thermosensibles.

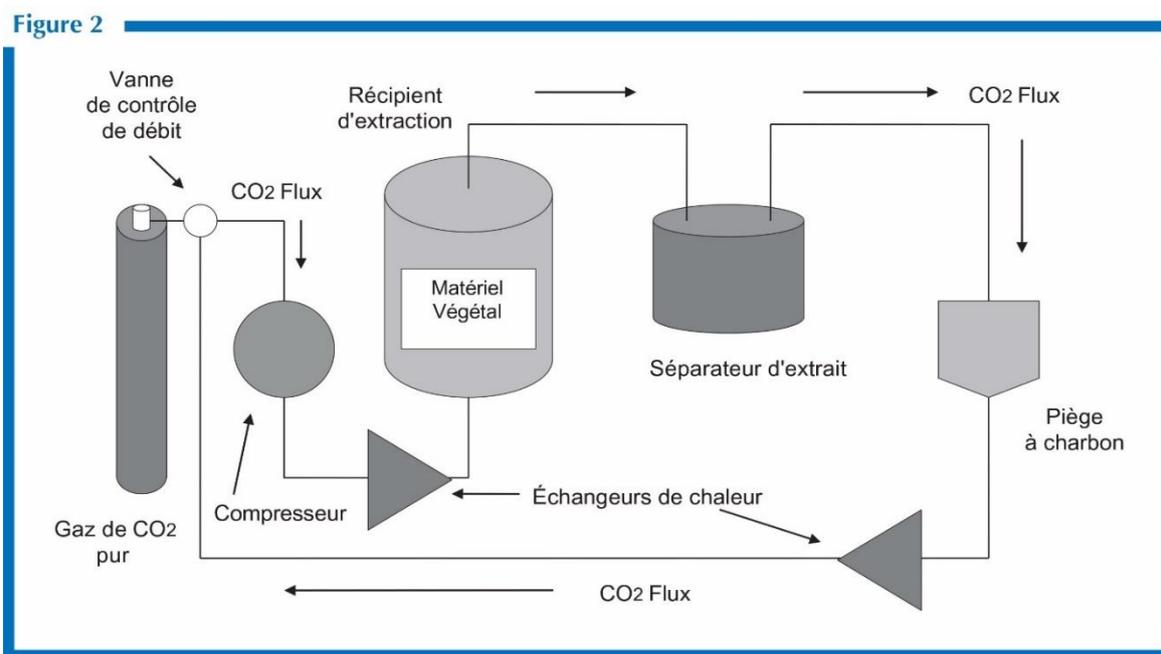


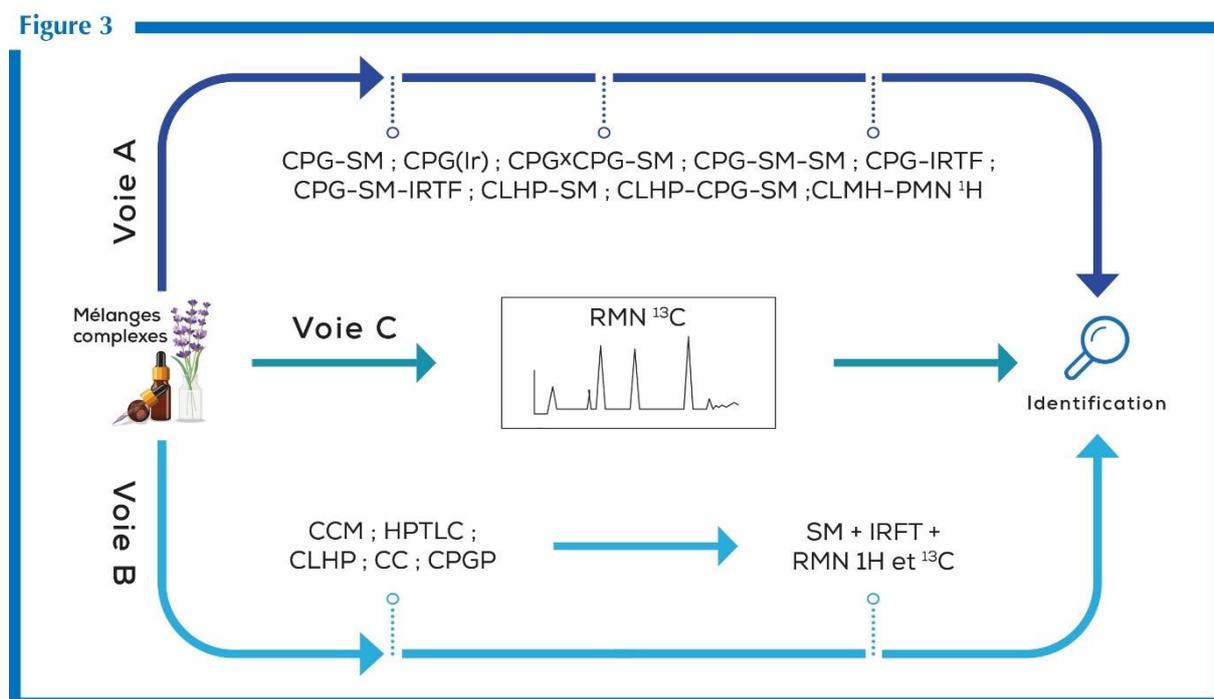
Figure 2 : Description schématique d'un système d'extraction par CO₂ supercritique (Hunter, 2009)

II. Identification des constituants dans un mélange complexe

Les produits naturels d'origine végétale -extraits, huiles essentielles, résines- sont de nos jours très recherchés. Ils se présentent pratiquement toujours sous forme d'un mélange complexe constitué de plusieurs dizaines -voire d'une centaine et plus- de composés en proportions variables. Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que la pharmacie, le cosmétique, la

parfumerie et l'agro-alimentaire. De plus, dans le domaine industriel, les molécules qui peuvent en être isolées, dans la plupart des cas optiquement actives, constituent des substrats intéressants pour l'hémi-synthèse de produits pharmaceutiques, de vitamines, de substances odorantes, etc. (Bruneton, 1993).

Cependant, l'identification et la quantification des constituants d'un mélange naturel demeurent toujours des opérations délicates qui nécessitent souvent l'utilisation conjointe de plusieurs techniques analytiques complémentaires (Joulain, 1994 ; Coleman et Lawrence, 1997). L'analyse de la composition chimique d'un mélange naturel, telle qu'une huile essentielle s'effectue de manière conventionnelle selon les voies A ou B (Figure 3).



CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse ; SM : Spectrométrie de Masse ; IRTF : Infra -Rouge à Transformée de Fourier ; CLHP : Chromatographie Liquide à Haute Performance ; RMN : Résonance Magnétique Nucléaire ; CCM : Chromatographie sur Couche Mince ; CC : Chromatographie sur Colonne ; CPGP : Chromatographie en Phase Gazeuse Préparative ; HPTLC : Chromatographie sur Couche Mince Haute Performance.

Figure 3 : Méthodes d'analyse d'un mélange complexe (adaptée de Nam, 2014)

L'analyse peut également être menée selon la voie C (Figure 3) qui met en œuvre la Résonance Magnétique Nucléaire du carbone-13 (RMN ¹³C) pour l'identification des composés en mélange sans séparation préalable ou précédée d'une étape de fractionnement réduite au minimum. Cette technique peut en outre être employée pour la quantification des constituants si nécessaire.

II.1. Analyse par des couplages « en ligne » : Voie A

La voie A met en œuvre le couplage « en ligne » des techniques chromatographiques et spectroscopiques.

II.1.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique très répandue, dont les premières applications sont maintenant vieilles de plus de 60 ans. Son développement qui n'a cessé depuis, est dû à son extrême sensibilité, à sa polyvalence, à la rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation, qui augmentent encore plus son intérêt. La séparation sur la colonne se faisant sur des composés qui doivent être à l'état gazeux, l'analyse des liquides ou solides impose de pouvoir les transformer à l'état de vapeur par chauffage. C'est sans doute la principale contrainte à laquelle il faut penser avant de choisir cette technique, puisqu'elle limite son emploi à l'étude des composés moléculaires thermostables et suffisamment volatils. La très grande sensibilité des détecteurs permet de déceler des quantités de l'ordre du picogramme pour certains composés (**Rouessac *et al.*, 2004**).

Un appareil de CPG réunit dans un bâti unique, outre les trois modules classiques, injecteur, colonne et détecteur, un four qui permet de porter, si nécessaire, la colonne à une température élevée. La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans la colonne est un gaz, appelé gaz vecteur. Les débits, contrôlés avec précision, permettent une grande répétabilité des temps de rétention. L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon, sous forme liquide ou gazeuse, dans l'injecteur, qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne. Celle-ci se présente comme un tube de faible section enroulé sur lui-même, de 1 à plus de 100 m de longueur suivant les cas et contenant la phase stationnaire. Cette colonne est placée dans une enceinte à température régulée. Elle peut servir pour des milliers d'injections successives. La phase gazeuse qui a traversé la colonne passe dans un détecteur avant de sortir à l'air libre (**Rouessac *et al.*, 2004**).

La CPG permet aussi, grâce à la comparaison des aires des pics, de fournir une quantification relative des constituants. L'identification d'un composé ne peut être basée uniquement sur la connaissance de son temps de rétention (t_r). En effet, cette valeur dépend fortement de plusieurs paramètres concernant la phase stationnaire (nature, vieillissement) et les conditions expérimentales (programmation de température). Aussi, dans le domaine des huiles essentielles, les constituants sont caractérisés par un couple d'indices de rétention (I_r) (plus fiables que les temps de rétention), l'un obtenu sur colonne apolaire, l'autre sur colonne polaire (colonnes capillaires). Ceux-ci sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane linéaires à température constante (Indice de Kováts, I_K) (**Kováts, 1965**) ou en programmation de température (Indices de rétention, I_r) (**Van Den Dool et Kratz,**

1963). Ils sont ensuite comparés avec ceux de composés de référence, mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature.

Cependant, des informations supplémentaires sont nécessaires pour établir la structure chimique de ces composés séparés et quantifiés. Cette information est fournie par des détecteurs dont le signal est lié à la structure chimique, qui sont des détecteurs spectroscopiques ou spectrométriques (**Jennings et Shibamoto, 1980**). Parmi eux, le plus utilisé, est le détecteur spectrométrique de masse (SM).

II.1.2. Couplage d'une technique chromatographique avec une technique spectroscopique

II.1.2.1. Les couplages CPG-SM, CPG-SM(ICP) et CPG-SM(ICN)

Le couplage de la CPG avec la spectrométrie de masse (SM) en mode impact électronique (IE) est probablement le plus répandu dans les laboratoires d'analyses. Ce couplage a l'avantage, dans la majorité des cas, de fournir des informations concernant la masse molaire d'un composé et d'autre part d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux contenus dans des bibliothèques informatisées ou sous format papier construites au laboratoire ou commerciales (**Masada, 1976 ; Jennings et Shibamoto, 1980 ; Sandra et Bicchi, 1987; Mc Lafferty et Stauffer, 1994 ; Adams, 1989 et 2001 ; Joulain et König, 1998**). En règle générale, l'utilisation de la bibliothèque de spectres réalisée au sein du laboratoire permet d'obtenir des résultats plus fiables, ceci est particulièrement vrai pour l'analyse des huiles essentielles comprenant un grand nombre de sesquiterpènes, qui, construits à partir d'un même synthon isoprénique, présentent des spectres de masse souvent identiques ou insuffisamment différenciés.

Des informations complémentaires peuvent être obtenues avec des techniques « d'ionisation douce » telles que l'ionisation chimique positive (ICP) ou l'ionisation chimique négative (ICN) (**Lange et Schultze, 1988 ; Schultze et al., 1992 ; Paolini et al., 2005**). L'ICP et l'ICN produisent des ions quasi-moléculaires dont l'observation donne accès à la masse molaire des composés. Ainsi, la SM-ICP a permis de différencier les quatre stéréo-isomères de l'isopulégol (**Lange et Schultze, 1988**). Toutefois, cette technique a montré ses limites pour l'identification de molécules possédant des structures très proches. C'est le cas par exemple du géraniol et du nérol, qui ne diffèrent que par la stéréochimie d'une des doubles liaisons. En effet, ils possèdent des spectres de masse ICN identiques (**Bruins, 1979**). Il faut également prendre en compte la difficulté d'obtenir des spectres, en SM (ICN) ou en SM (ICP), reproductibles d'un laboratoire à l'autre. C'est pourquoi, cette technique doit surtout être considérée comme une technique complémentaire de la SM(IE) pour l'identification des constituants des huiles essentielles (**Zupanc et al., 1992**).

La CPG bidimensionnelle (CPG x CPG ou CPG-2D) est également une technique particulièrement intéressante. En effet, l'utilisation de deux séparations consécutives sur deux colonnes de natures différentes, entraîne une diminution, voir une suppression, des coélutions contrairement à la CPG-1D. Grâce à cette technique chromatographique, **Filippi et al. (2013)** ont pu identifier 135 composés dans l'huile essentielle de vétiver, réputée pour être l'une des plus complexes d'un point de vue analytique.

II.1.2.2. Les couplages CPG-IRTF et CPG-IRTF-SM

En complément de l'utilisation de la CPG-SM, un spectrophotomètre Infra Rouge par Transformée de Fourier (IRTF) peut également être couplé à la CPG. La spectroscopie infrarouge renseigne sur les fonctions chimiques présentes dans les molécules et permet également de différencier les isomères par l'examen de la partie de spectre dite « des empreintes digitales ». Le spectre obtenu peut être comparé à ceux contenus dans une bibliothèque informatisée de spectres Infrarouge. Le couplage CPG-IRTF peut s'appliquer à l'analyse de diverses familles de composés : les produits pétroliers et leurs additifs, les arômes, les essences naturelles, les produits de synthèse (**Iob et al., 1998 ; Thomaidis et Georgiou, 1999**). Son efficacité a été démontrée notamment pour l'étude de molécules présentant des spectres de masse superposables tels que les stéréo-isomères du farnésol et du menthol (**Coleman et al., 1989**). Par exemple, le couplage CPG-IRTF a permis l'identification du germacrène B qui se transforme partiellement en γ -élémane dans les huiles essentielles d'orange et de pamplemousse (**Chamblee et al., 1997**). Ainsi, la CPG permet dans la grande majorité des cas une individualisation des constituants nécessaire pour une bonne identification. Cependant, de nombreux métabolites secondaires de masse élevée donc peu volatils nécessitent l'utilisation d'une technique chromatographique en phase liquide.

II.1.2.3. Le couplage CLHP-SM et CLHP-SM-SM

La Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) est une technique d'analyse et de quantification d'un grand nombre de molécules, polyvalentes et très répandues. De par la nature des constituants des huiles essentielles, la CLHP est utilisée dans de très rares cas. Il s'agit généralement de l'analyse de composés thermolabiles et/ou très polaires ou de composés peu volatils dans les essences de *Citrus*. Dans le cas d'extraits végétaux complexes, les temps nécessaires à la séparation des composés peuvent être très longs, il est alors intéressant d'utiliser une Chromatographie Ultra Haute Performance (UCLHP) plutôt qu'une CLHP (**Fernandez et Chemat, 2012**). Le couplage CLHP-SM a été utilisé pour l'identification d'esters sesquiterpéniques, d'alkaloïdes, des xanthones, des séco-iridoïdes, dans des extraits méthanoliques mais aussi des psoralènes et des flavones à partir d'huiles essentielles (**Cremin**

et al., 1995 ; *Dugo et al.*, 2000 ; *Mroczek et al.*, 2004). Il est cependant, à noter que l'utilisation de conditions opératoires très variées surtout concernant les colonnes ne permet pas des comparaisons faciles. Par exemple, la séparation par CLHP, de deux alcaloïdes : hyoscyamine et scopolamine a fait l'objet depuis le premier article publié en 1976 de plus d'une centaine de publications. Aucune standardisation n'a été proposée ou ne s'est imposée. Il s'avère donc difficile de choisir les conditions opératoires, que ce soit en laboratoire ou dans l'industrie (*Verpoorte et al.*, 2010).

II.1.2.4. Le couplage CLHP-CPG-SM

De manière simplifiée, on peut considérer que le couplage CLHP-CPG-SM permet une séparation préalable des constituants du mélange en fonction de la famille à laquelle ils appartiennent (CLHP), puis l'individualisation des constituants d'une même famille (CPG), et l'identification étant réalisée par SM. Ce dispositif a permis l'identification de constituants présents à l'état de traces dans les huiles essentielles d'agrumes avec une grande fiabilité (*Munari et al.*, 1990 ; *Mondello et al.*, 1995).

II.1.2.5. Le couplage CLHP-RMN ¹H

La RMN du ¹H apporte des informations extrêmement précieuses sur la structure des molécules, mais présente l'inconvénient d'être beaucoup moins sensible que les techniques spectroscopiques décrites précédemment (IR et surtout SM).

Néanmoins, la mise en œuvre de couplage CLHP-RMN ¹H a été rendu possible grâce au développement d'aimants supraconducteurs de plus en plus puissants (jusqu'à 23,5 Tesla), permettant ainsi d'abaisser le seuil de détection pour les composés à des valeurs de l'ordre du nanogramme. Ce couplage a aussi été rendu possible grâce au développement de colonnes capillaires dont la faible consommation en éluant permet d'employer des solvants deutérés, évitant ainsi d'avoir recours à des techniques d'irradiations sélectives (*Wolfender et al.*, 1998 ; *Albert et al.*, 1999 ; *Victoria et Elipe*, 2003).

II.1.2.6. Le couplage CLHP-RMN ¹H-SM

Ce couplage permet de détecter et d'identifier des composés présents dans des échantillons biologiques complexes, dans des extraits de plantes (*Corcoran et Spraul*, 2003 ; *Yang*, 2006) ou encore de détecter des impuretés dans un médicament (*Lindon et al.*, 2000). Même si ce couplage présente quelques inconvénients (utilisation de solvants deutérés comme D₂O, CD₃CN, CD₃OD par exemple), l'utilisation conjointe des deux techniques spectroscopiques facilite toutefois l'identification de composés.

Face à la complexité de certains mélanges, il est nécessaire de procéder en deux étapes : la purification des constituants de mélanges particulièrement complexes puis leur identification, illustrée par la voie B ci-dessous.

II.2. Identification des constituants après purification : Voie B

La voie B est constituée principalement de deux étapes. Le mélange est d'abord fractionné à l'aide de différentes techniques chromatographiques, telles que la chromatographie sur colonne (CC), la chromatographie sur couche mince (CCM) ou la chromatographie sur couche mince haute performance (HPTLC), la CLHP et la CPG préparative (CPGP), précédées ou non d'une distillation fractionnée ou d'une cristallisation.

Les différents constituants isolés dans des fractions enrichies sont ensuite identifiés par comparaison de leurs données spectrales avec celles des composés de référence (spectre de masse, spectre IR, spectres de RMN ^1H ou ^{13}C , éventuellement RMN bidimensionnelle).

Cette voie se révèle extrêmement fiable mais elle peut s'avérer coûteuse en temps particulièrement lorsque les molécules isolées sont déjà décrites dans la littérature. Cette voie d'analyse en deux étapes (purification-identification) a été la première à être utilisée dans le domaine des huiles essentielles. L'analyse par les couplages en ligne (voie A), plus rapide, s'est ensuite imposée. Cette voie est néanmoins toujours utilisée dans le cas d'huiles essentielles complexes car sa grande fiabilité compense l'investissement en temps qu'elle requiert. Les travaux de **Weyerstahl *et al.*, 1996 ; 1997a ; 1997b ; 1998 ; 1999a ; 1999b ; 2000a ; 2000b ; 2000c** illustrent parfaitement l'intérêt pour cette séquence à travers l'étude de la composition chimique de diverses huiles essentielles très complexes. C'est le cas de l'huile essentielle de vétiver d'Haïti, qui est composée de nombreux sesquiterpènes aux propriétés physico-chimiques et spectroscopiques voisines. Une partition acido-basique a alors été réalisée. La partie neutre a été soumise à une distillation fractionnée qui a permis de séparer les produits lourds des produits légers, puis les différents constituants ont été séparés par CC répétitives, puis éventuellement par CCM. Ces constituants ont ensuite été analysés par CPG-SM, RMN ^1H et parfois par RMN ^{13}C . La partie acide a été soumise à une réaction d'estérification ou de réduction avant la séparation des constituants. Près de 170 composés sesquiterpéniques (mono- ou poly-fonctionnalisés) ont ainsi été identifiés. Certains de ces composés possèdent des squelettes originaux et rares tels que prézizaane, zizaane, khusiane, cyclopacamphane, spirovétivane, épi-, séco- et nor-eudesmanes, oppositane, etc. (**Weyerstahl *et al.*, 2000c**).

Parmi les travaux récents, **Delort et Jacquier (2009)** ont analysé par CPG-SM et par RMN ^{13}C chaque fraction obtenue après séparation par chromatographies répétitives de l'huile

essentielle de fruits de *Citrus australasica*. Les auteurs ont identifié 195 composés (majoritairement le limonène et l'isomenthone) dont 4 nouveaux esters menthaniques.

Si la voie A, grâce à sa rapidité, est particulièrement adaptée aux analyses de routine, la voie B garantit l'identification des composés. Cependant, les diverses étapes de fractionnement et de purification demandent souvent un important investissement en temps. Une troisième voie, la voie C, intermédiaire par rapport aux précédentes, puisqu'elle est basée sur l'identification et/ou la quantification par RMN ^{13}C des principaux composés des mélanges naturels (huiles essentielles, extraits végétaux, résines, huiles végétales, etc.), sans séparation préalable.

II.3. Analyse par RMN du ^{13}C sans séparation préalable : Voie C

Les premiers travaux relatifs à l'utilisation de la RMN ^{13}C en tant qu'outil analytique des mélanges naturels ont été réalisés par **Formàcek et Kubeczka (1982)**, **Kubeczka et Formàcek, (1984)** et **Kubeczka et al., (1988)**. En général, la RMN ^{13}C a été utilisée pour confirmer l'identification des constituants préalablement identifiés par une autre technique analytique, la CPG-SM usuellement. Dans ce contexte, dès le début des années 80, l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse a initié, puis a mis au point et développé, une véritable méthode d'analyse des mélanges complexes naturels par RMN ^{13}C impliquant inévitablement une informatisation de la recherche. Cette méthode est efficace, fiable et complémentaire des techniques conventionnelles (**Tomi et al., 1995 ; Bradesi et al., 1996 ; Tomi et Casanova 2006 ; Bighelli et Casanova, 2009**).

II.3.1. Intérêt de la RMN du ^{13}C

En dépit de sa faible abondance isotopique naturelle (1,1%) et d'un rapport gyromagnétique 5 700 fois moins sensible que celui du proton (**Günther, 1994**), le ^{13}C est malgré tout préféré aux autres noyaux dans le domaine de l'analyse des mélanges complexes car il présente les avantages suivants :

- Le carbone constitue le squelette de toutes les molécules organiques et les différents atomes présents sont, à quelques exceptions près, magnétiquement non équivalents. Donc, on observe en général dans un spectre de RMN du ^{13}C autant de raies de résonance qu'il y a de carbones dans la molécule ;
- Les spectres de RMN du ^{13}C peuvent être simplifiés par irradiation par découplage total des noyaux d'hydrogène, ce qui permet de n'observer dans le spectre qu'une seule raie de résonance par carbone. En plus l'effet NOE (Nuclear Overhauser Enhancement) résultant de ce découplage des protons produit une augmentation d'intensité du signal (**Neuhaus et Williamsion, 1989**) ;

- Le domaine de résonance du carbone s'étend sur une plage beaucoup plus vaste que celle du proton (schématiquement, 240 ppm par rapport à 12 ppm), ce qui améliore notablement la résolution effective c'est-à-dire la dispersion spectrale (**Tomi *et al.*, 1995**) ;
- L'enregistrement des spectres de RMN du ^{13}C est réalisé à température ambiante. Cela évite la dégradation ou la transformation éventuelle des molécules thermosensibles ;
- La RMN étant une technique non destructive, l'échantillon peut être récupéré et soumis à d'autres analyses.

II.3.2. Identification des constituants en mélange par RMN du ^{13}C

L'identification des constituants d'un mélange par RMN ^{13}C est réalisée par comparaison des déplacements chimiques des carbones du mélange avec ceux des composés de référence contenus dans une ou plusieurs bibliothèques de spectres.

Avec cette méthode, les composés ne sont pas préalablement purifiés, contrairement aux précédentes techniques de couplage entre un chromatographe et un spectromètre. Pour identifier un composé au sein d'un mélange, il faut donc être à même de pouvoir observer les signaux qui lui appartiennent et de les individualiser, puis d'attribuer les déplacements chimiques à une molécule donnée. Pour cela, les conditions expérimentales d'enregistrement des spectres doivent être optimisées et standardisées de façon à permettre une bonne reproductibilité des résultats obtenus. Il est également important de savoir apprécier la concentration minimale d'un produit minoritaire dans le mélange, permettant l'observation de ses signaux dans le spectre.

II.3.2.1. Observation des signaux

L'observation des raies de résonance des carbones d'une molécule dans le spectre d'un mélange dépend de la quantité de produit disponible, de sa solubilité et de sa viscosité dans un solvant choisi, de la sensibilité de l'appareil qui s'exprime par le rapport signal sur bruit (S/B).

Le manque de sensibilité (S/B) peut être pallié par :

- L'utilisation d'une cryosonde (sonde à antennes refroidies) reliée à une unité cryogénique à l'hélium. Elle permet de multiplier par 4 la sensibilité et donc de diminuer d'un facteur 16 la durée des expériences ;
- De spectromètres à haut champ puisque sa sensibilité des aimants augmente avec le champ magnétique (23,5 Tesla pour les plus performants) ;
- De convertisseurs numériques performants qui améliorent le traitement des données et de fonctions mathématiques (exponentielle) effectuées directement sur le signal de la FID (Free Induction Decay ou décroissance libre d'induction) avant la transformée de Fourier (**Williamson et Neuhaus, 1989 ; Günther, 1994 ; Claridge, 1999 ; Hesse *et al.*, 2008**).

II.3.2.2. Individualisation des signaux

L'individualisation des signaux dépend de la résolution de l'appareil de RMN, elle-même fonction de la puissance de l'aimant et des caractéristiques du système informatique permettant l'acquisition du signal. De la même manière que pour la sensibilité, la résolution est meilleure quand on utilise un appareil à haut champ.

II.3.2.3. Attribution des signaux

La RMN procure trois types de données spectrales qui sont : le déplacement chimique (δ), la multiplicité (J) et l'intensité des signaux (aire des signaux). Son intérêt réside dans sa faculté à reconnaître un noyau par rapport à son environnement dans la molécule. La fréquence de résonance des carbones et donc le déplacement chimique est très sensible à l'environnement stérique et électronique. La moindre modification structurale se traduit par des variations plus ou moins importantes, mais mesurables, des déplacements chimiques de pratiquement tous les carbones de la molécule. Contrairement à la majorité des autres techniques, il est très peu probable que deux composés même s'ils possèdent des structures identiques ou très proches présentent des spectres de RMN du ^{13}C superposables ou insuffisamment différenciés. Il en résulte que le déplacement chimique constitue la donnée spectroscopique la plus utilisée pour identifier un composé connu dans un mélange.

Ainsi, chaque molécule sera définie par une série de déplacements chimiques qui constituera son spectre, et en quelque sorte son empreinte digitale, à partir duquel elle pourra être identifiée. La valeur d'un déplacement chimique peut varier de manière plus ou moins importante en fonction du type de solvant, de la concentration des composés et de la température. L'utilisation des spectres décrits dans la littérature récente comme données de référence pour l'identification des composés en mélange est possible. Néanmoins, afin d'obtenir une meilleure reproductibilité des déplacements chimiques, il faudrait que les conditions d'analyse des spectres des mélanges soient identiques à celles des composés de référence.

Nous détaillerons ci-dessous, quelques exemples d'utilisation de la RMN du ^{13}C pour l'identification des constituants de mélanges complexes, dans les domaines des huiles essentielles.

Ainsi, la RMN du ^{13}C a permis l'identification des principaux composés de l'huile essentielle de *Echinophora sibthorpiana* (Ahmad et Jassbi, 1999) et de 12 sesquiterpènes présents dans une fraction chromatographique de l'huile essentielle de bois de *Guarea guidonia* (Núñez et Roque, 1999). Plus récemment, une méthode d'identification des constituants d'un mélange complexe par RMN du ^{13}C a été développée par Ferreira *et al.* en 2001. Elle est basée

sur la comparaison du spectre du mélange avec des mono- et des sesquiterpènes décrits dans la littérature.

II.3.3. Méthode d'analyse développée au laboratoire de « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse

II.3.3.1. Principe de la méthode

Depuis 1989, l'équipe « Chimie et Biomasse » utilise la RMN du ^{13}C comme outil d'analyse des mélanges naturels. L'objectif à atteindre a pour but l'identification, et éventuellement la quantification, des constituants de mélanges naturels sans étape préalable de purification ou avec un fractionnement réduit autant que possible (Corticchiato et Casanova, 1992 ; Tomi *et al.*, 1995).

La particularité de cette méthode réside dans l'informatisation du traitement des données spectroscopiques, grâce à un logiciel d'aide à l'identification spécialement élaboré au laboratoire. Effectivement, les déplacements chimiques du mélange sont directement comparés avec ceux de composés de référence présents dans des bibliothèques de spectres (Figure 4). L'enregistrement des spectres de référence et des mélanges est réalisé dans les mêmes conditions expérimentales (nature du solvant, concentration, paramètres d'enregistrement des spectres).

Figure 4

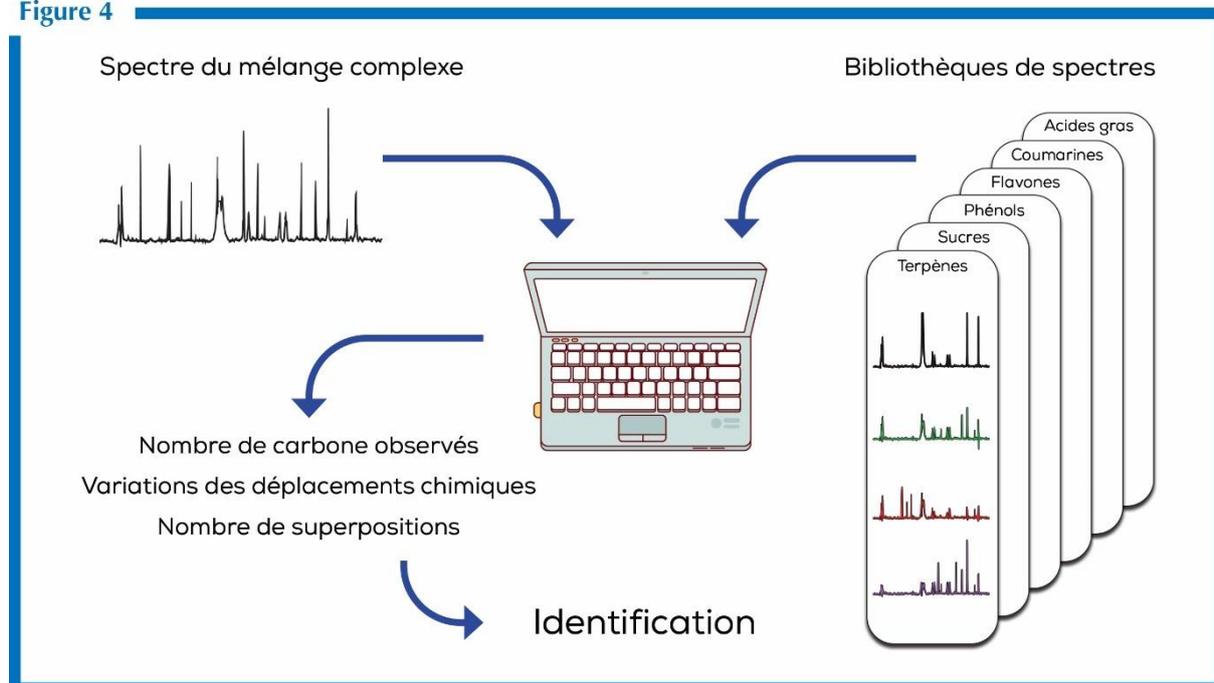


Figure 4 : Identification des constituants d'un mélange complexe par RMN du ^{13}C (adaptée de Nam, 2014)

L'identification des composés présents dans un mélange est réalisée par la prise en compte de trois paramètres directement accessibles par le logiciel :

- Le nombre de pics observés par rapport au nombre de pics attendus pour chaque molécule;
- Le nombre de superpositions de pics qui peuvent se produire quand deux carbones appartenant à des molécules différentes présentent fortuitement le même déplacement chimique ;
- Les variations des déplacements chimiques des carbones dans le spectre du mélange par rapport aux valeurs de référence.

De plus, l'intensité des pics permet éventuellement de contrôler l'appartenance du signal d'un carbone à tel ou tel composé. Cette méthode a été appliquée à différentes familles de molécules (terpènes, lipides, sucres, phénols) selon un protocole expérimental spécifiquement adapté à chaque famille (nature du solvant, dilution, paramètres d'enregistrement des spectres). Ainsi, différentes bibliothèques de spectres ont été créées à partir de produits commerciaux et sont continuellement enrichies avec les spectres des produits isolés à partir de mélanges naturels ou bien encore préparés par hémi-synthèse.

L'utilisation de la RMN du ^{13}C , devient particulièrement intéressante lorsqu'elle permet d'identifier rapidement et sans ambiguïté, des composés délicats à analyser par les techniques conventionnelles. Dans le domaine des huiles essentielles, des résultats très intéressants ont été obtenus par l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse.

- Dans un même mélange, deux douzaines de composés avaient été identifiés dans une huile essentielle avec un spectromètre pourvu d'un aimant de puissance 4,7 Tesla. L'utilisation d'un appareil fonctionnant avec un aimant de 9,4 Tesla a permis un gain pouvant atteindre 50%. Ainsi, dans le meilleur des cas, une huile essentielle de *Piper bavinum* du Viêt-Nam, 38 constituants, présents avec des teneurs comprises entre 0,4 et 10% ont pu être identifiés sans aucune séparation préalable (**Lesueur *et al.*, 2009**) ;

- La teneur minimale des composés identifiables avec le spectromètre (9,4 T) est de l'ordre de 0,5%. Parfois, des composés présents à des teneurs inférieures peuvent être identifiés (0,4% et même 0,3%) ;

- En général, tous les carbones des molécules identifiées sont observés, à l'exception de certains carbones quaternaires (qui relaxent moins bien que les carbones liés à des protons et donnent donc un signal moins intense dans les conditions de l'expérience) appartenant aux composés minoritaires ;

- Le nombre de superpositions est limité et ne constitue pas, dans la grande majorité des cas, un facteur limitant ;

- Les variations des déplacements chimiques ($\Delta\delta$) sont généralement inférieures à 0,05 ppm pour la très grande majorité des cas. Il y a quelques exceptions, en particulier avec les composés

phénoliques (thymol, carvacrol...) dont certains carbones présentent de plus importantes variations des déplacements chimiques selon la polarité et la fonctionnalisation des autres constituants du mélange. Dans ce cas précis, une dilution permet de diminuer ces variations importantes de déplacements chimiques.

II.3.3.2. Les domaines d'application de la RMN ^{13}C

L'analyse par RMN du ^{13}C , qui allie rapidité et fiabilité, est complémentaire des techniques conventionnelles exposées précédemment dans les voies A et B. Nous rappelons ici quelques études réalisées au sein du laboratoire « Chimie et Biomasse », de l'université de Corse.

-a- Les huiles essentielles

L'étude de la composition chimique d'une huile essentielle peut s'avérer parfois complexe. Nous avons vu que ni la complexité ni la fonctionnalisation de la structure ne constitue un handicap pour l'identification des constituants d'un mélange naturel par RMN ^{13}C . Au laboratoire, la méthode d'analyse basée sur la RMN ^{13}C , utilisée en complément de la CPG(Ir) ou en combinaison avec la CPG(Ir) et CPG-SM, a permis de caractériser un grand nombre d'huiles essentielles. Nous pouvons citer, à titre d'exemple, l'identification de :

- Quatre-vingt-neuf composés, dont trois acides, présentant le squelette eudesmane (acide costique, isocostique et 4-èn-ilicique) dans l'huile essentielle des parties aériennes d'*Inula graveolens* (**Blanc et al., 2004**) ;
- Quatre terpènes tricycliques (longibornéol, sesquithuriférol, ferruginol, juniper cédro) dans l'huile essentielle de racines de *Juniperus communis* ssp. *alpina* (**Gonny et al., 2006**) ;
- Sept diterpènes pour la première fois dans l'huile essentielle d'aiguilles de *Pinus pinaster* Ait. de Corse (palustradiène, levopimaradiène, néoabiétadiène, labda-8(17),13(E)-dièn-19-al, etc.) (**Ottavioli et al., 2008**) ;
- Divers lactones *p*-menthaniques (mintlactone, isomintlactone, hydroxymintlactone, menthofurolactone et épimenthofurolactone) dans l'huile essentielle de *Mentha aquatica* de Corse (**Sutour et al., 2011**) ;
- L'identification de 3 nouvelles molécules dans l'huile essentielle de feuilles de *Xylopiya rubescens* de Côte d'Ivoire, dont 2 isomères sesquiterpéniques à squelette guaiane : furanoguaia-1,4-diène, furanoguaia-1,3-diène et (8Z, 11Z, 14Z)-heptadéca-8,11,14-trièn-2-ol (**Yapi et al., 2013**) ;
- L'identification d'une nouvelle cétone possédant un squelette modhephane, la 1S,2S,5S,8S-modhephan-3-one, dans l'huile essentielle de racines de *Pulicaria mauritanica* récoltées en Algérie (**Xu et al., 2015**).

Nous avons pu voir que la RMN ^{13}C est une technique analytique de choix adaptée à l'étude des huiles essentielles, mais elle est également intéressante pour l'analyse délicate de mélanges naturels par les techniques conventionnelles, telles que les extraits végétaux, les résines et les huiles végétales.

-b- L'identification de stéréo-isomères

L'identification par RMN ^{13}C a été utilisée au laboratoire pour l'analyse qualitative et quantitative des composés thermosensibles. A titre d'exemple, la RMN ^{13}C a permis d'identifier et de quantifier :

- L'ascaridole et son isomère (isoascaridole) dans l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* de Madagascar (**Cavalli et al., 2004a**). En effet, une partie de l'ascaridole s'isomérisse thermiquement en isoascaridole au cours de l'analyse en CPG.
- Le furanodiène et le furanoélémente dans l'huile essentielle de rhizomes et de fleurs de *Smyrniolum olustrum* de Corse (**Baldovini et al., 2001**). Le furanodiène se transforme thermiquement au cours de l'analyse par CPG en furanoélémente. Les deux composés ont donc les mêmes indices de rétention et ne sont pas différenciables en CPG(Ir) et en CPG-SM.
- Les germacrènes A, B, C dans les huiles essentielles de *Cleistopholis patens* de Côte d'Ivoire. Le germacrène A subit une transformation thermique en β -élémente, rendant difficile leur quantification par CPG(Ir) dans l'huile essentielle des feuilles de *C. patens*. Il a été également observé que les germacrènes B et C se transforment respectivement en γ - et δ -élémente dans l'huile essentielle d'écorces. L'examen de l'intensité des signaux dans le spectre RMN ^{13}C confirme la dégradation ou la transformation thermique partielle ou totale des germacrènes en éléments. La teneur erronée des germacrènes quantifiés par CPG est corrigée par la RMN ^{13}C (**Ouattara et al., 2013**).

-c- Mise en évidence de la variabilité chimique

En permettant l'identification des composés jusqu'à une teneur de 0,3-0,5%, la RMN du ^{13}C combinée à une quantification par CPG (indices de rétention), est bien adaptée à l'étude de la variabilité chimique puisqu'elle permet d'identifier, à partir d'un spectre unique, les composés majoritaires d'une huile essentielle ou d'une résine. Elle a été appliquée avec succès à de nombreuses huiles essentielles dont *Thymus herba barona* de Corse (**Corticchiato et al., 1998**), *Thymus carnosus*, *T. caespitosus*, *T. camphoratus* du Portugal (**Salgueiro et al., 1995 ; 1997a ; 1997b**), *Baekkea frutescens* du Viêt-Nam (**N'Guyen et al., 2004**), *Pistacia lentiscus* d'Algérie (**Mecherara-Idjeri et al., 2008a ; 2008b**), *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* d'Algérie (**Bekhechi et al., 2012**) et *Tetraclinis articulata* d'Algérie (**Boussaïd et al., 2015 ; 2016**).

-d- Analyse structurale de nouvelles molécules

A contrario de ce qui a été exposé jusqu'à présent, l'analyse structurale d'un composé inconnu, c'est-à-dire non décrit dans la littérature, ne peut être réalisée qu'à partir d'un produit purifié par différentes techniques, généralement chromatographiques (CC, CCM, CLHP ou CPG). Elle requiert donc une quantité suffisante de produit pur (quelques milligrammes) afin de réaliser une étude complète par toutes les méthodes spectroscopiques habituelles (SM, IRTF, UV, RMN du ^1H , RMN du ^{13}C et RMN 2D). A partir de la combinaison de toutes ces techniques complémentaires, il est possible d'établir la structure chimique de la molécule inconnue.

De nos jours, la RMN (1D et 2D) constitue manifestement la technique analytique la plus performante et la plus utilisée pour l'élucidation structurale des molécules. La RMN 2D, en particulier, permet la mise en évidence des interactions homo- et hétéronucléaires entre les différents noyaux (**Claridge, 1999**). Parmi les diverses séquences, les expériences de corrélation entre les différents protons d'une molécule, voisins (COSY) et à longue distance (COSY Long Range, NOESY), ou entre protons et carbones (HSQC, HMBC), fournissent des renseignements précieux sur la structure moléculaire et facilitent considérablement l'analyse structurale. La séquence de corrélation homonucléaire carbone-carbone (INADEQUATE) conduit à la structure sans ambiguïté mais nécessite une quantité de produit plus importante que pour la mise en œuvre des autres séquences (**Derome, 1987**).

Au laboratoire de « Chimie et Biomasse » de Corse, de nouvelles molécules ont été isolées et caractérisées lors de l'analyse de certaines huiles essentielles. Après séparation et purification par chromatographies successives (solide/liquide, exclusion stérique), ces molécules ont été caractérisées par les techniques spectroscopiques conventionnelles incluant la RMN du ^1H , la RMN du ^{13}C et la RMN 2D.

Ainsi, le trans-dauc-8-èn-4β-ol a été identifié dans l'huile essentielle de *Daucus carota* (**Mazzoni et al., 1999**), le 4-épi-cis-dihydroagarofurane dans l'huile essentielle de *Cedrelopsis grevei* de Madagascar (**Cavalli et al., 2004b**), l'eudesm-5-èn-11-ol dans l'huile essentielle d'*Helichrysum italicum* de Corse (**Bianchini et al., 2004**) et la modhéphanone dans une huile essentielle des racines de *Pulicaria mauritanica* d'Algérie (**Xu et al., 2015**).

En conclusion, il ressort de cette synthèse bibliographique, que la méthode mise au point et développée au laboratoire de « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse, d'identification (et éventuellement de quantification) des constituants des mélanges naturels, basée sur l'analyse informatisée du spectre de RMN du ^{13}C du mélange, sans séparation préalable, est efficace et complémentaire des techniques conventionnelles. Elle peut être appliquée à toute sorte de mélanges naturels, contenant des composés volatils ou non volatils, huiles essentielles, résines,

extraits aux solvants, biocombustibles, biocarburants, huiles végétales, miels, etc. Elle permet d'identifier et de quantifier des composés volatils ou non, des stéréo-isomères, des molécules thermolabiles, sans séparation ni dérivatisation préalable, après optimisation et validation des conditions expérimentales à chaque famille de composés.

Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé diverses plantes pour le traitement de maladies infectieuses communes ainsi que pour leur parfum et leur saveur (**Bauer *et al.*, 2001 ; Ríos et Recio, 2005 ; Zsuzsanna *et al.*, 2010**). En effet, tout au long des siècles, les plantes médicinales et aromatiques ont toujours fourni une source stable de médicaments pour les populations. Elles ont été utilisées par les premiers Egyptiens et pour des siècles par les pays asiatiques et plusieurs civilisations telle que les cultures indigènes, dans les pays arabes, la civilisation grecque ou chinoise (**Cowan, 1999**).

On a attribué de nombreux effets bénéfiques aux huiles essentielles contenues dans les plantes aromatiques, elles sont devenues durant ces dernières décennies, des sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens (**Bandoniene *et al.*, 2000**). En effet, les huiles essentielles présentent de nombreuses activités biologiques (**Marouf et Tremblin, 2009**). Un certain nombre d'entre elles présentent également des propriétés antiseptiques, insecticides, fongicides et bactéricides (**Carson et Hammer, 2011**).

I. Les antibiotiques

Selon Waksman, inventeur de la Streptomycine en 1943, on désigne sous le vocable d'antibiotique « toutes les substances chimiques produites par des micro-organismes, capables d'inhiber le développement et de détruire les bactéries et d'autres organismes » (**Cohen et Jacquot, 2008**). Cette définition évolua depuis, et on désigne actuellement un antibiotique, comme une substance chimique produite par un micro-organisme et disposant en solution diluée de la capacité d'inhiber sélectivement la croissance voir même de détruire d'autres micro-organismes (**Muylaert et Mainil, 2012**).

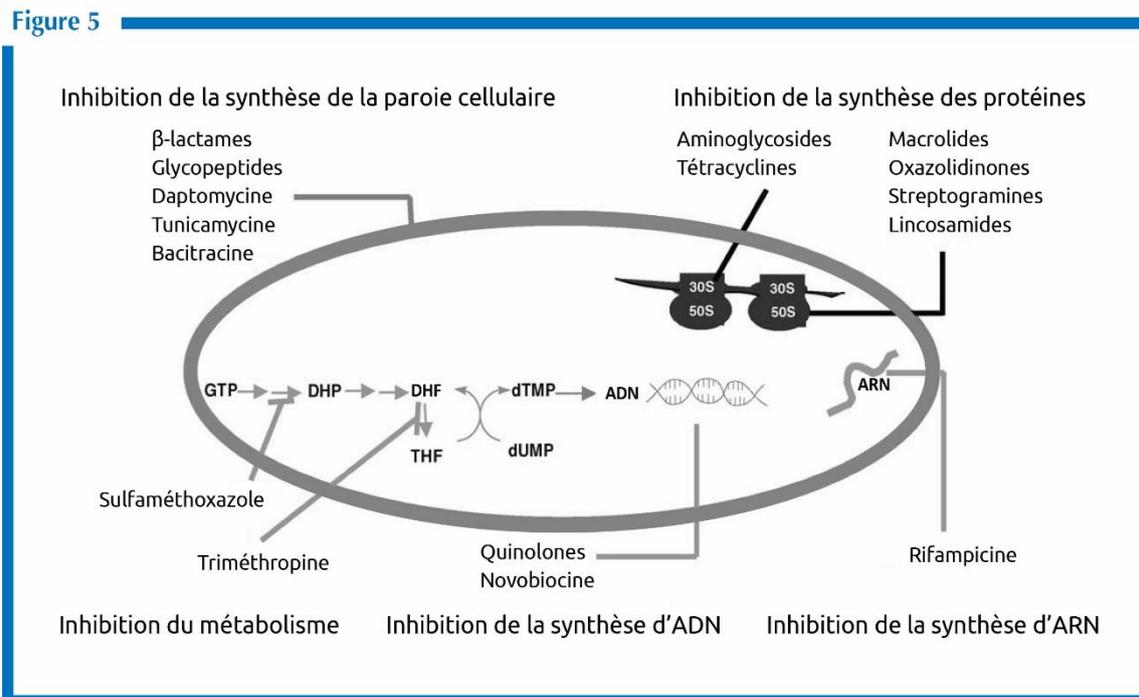
Les antibiotiques sont majoritairement représentés par des molécules d'origine naturelle et leurs dérivés. Ils peuvent aussi être d'origine synthétique ou semi-synthétique (**Newman *et al.*, 2003 ; Singh et Barrett, 2006**). Les antibiotiques synthétiques sont obtenus, soit à partir de dérivés totalement artificiels, soit en recréant des substances initialement extraites de microorganismes. Les antibiotiques semi-synthétiques quant à eux sont issus de la modification, en laboratoire, de substances produites par des microorganismes.

I.1. Les cibles bactériennes des antibiotiques

Depuis que Flemming a découvert la pénicilline G en 1928, plusieurs découvertes de nouvelles molécules se sont succédées, donnant ainsi une nécessité à créer une classification pour ces dernières. Plusieurs bases de classification ont été proposées, reposant principalement sur la structure chimique des molécules.

Toutefois, les antibiotiques ont aussi été classés en fonction de leur mode d'action. On distingue quatre catégories de molécules : (i) antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne, (ii) antibiotiques inhibant la synthèse des protéines, (iii) antibiotiques inhibant la synthèse de l'ADN et de l'ARN, ou bien (iv) antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique (**Figure 5**) (**Singh et Barrett, 2006**).

L'action d'un antibiotique est le résultat des interactions organisme-antibiotique d'une part et antibiotique-bactéries d'autre part. Pour résumer ces dernières, on peut dire que pour être actif, un antibiotique doit pénétrer jusqu'à sa cible bactérienne, ne pas être inactivé et être capable de se lier à sa cible. Ce sont là les conditions nécessaires à l'activité antibactérienne. L'antibiotique exercera son action qui pourra être de deux types : bactériostatique s'il n'y a qu'une simple inhibition de la croissance bactérienne (blocage de la multiplication des cellules microbiennes), ou bien bactéricide s'il y a mort de la bactérie (**Gaudy et Buxeraud, 2005**).



Avec DHP : dihydroptéroate ; DHF : dihydrofolate ; THF : tétrahydrofolate

Figure 5 : Mode d'action des antibiotiques (Singh et Barrett, 2006)

I.2. La résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance bactérienne aux antibiotiques aurait deux origines essentielles, intrinsèque et acquise. La première est programmée au niveau du pool génomique alors que la seconde est développée en fonction des conditions métaboliques (**Julian et Dorothy, 2010**).

▪ La résistance intrinsèque

La résistance intrinsèque, est commune à une population bactérienne, due essentiellement à la présence de gènes spécifiques (Allen *et al.*, 2010). Elle se caractérise par des modifications structurales et métaboliques. Les gènes de résistance sont exprimés soit d'une manière constitutive ou bien induite en répondant à un signal enzymatique établi par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis-à-vis de l'antibiotique (Doyle, 2006). Cette absence ou réduction de la sensibilité à l'antibiotique peut être due à : un manque d'affinité du composé pour la cible bactérienne, (ii) une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne (imperméabilité de la membrane externe), (iii) une expulsion de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques, ou encore (iv) une inactivation enzymatique innée de l'antibiotique (Muylaert et Mainil, 2012).

▪ La résistance acquise

La résistance acquise (ou extrinsèque) résulte de changements génétiques résultant de la mutation du site cible de l'antimicrobien dans la bactérie ou de l'acquisition de matériel génétique codant pour la résistance via des plasmides ou des transposons contenant des séquences d'intégrons (Russell et Chopra 1996). Cette acquisition de gènes se fait par le biais de transferts horizontaux (conjugaison, transformation, transduction) du matériel génétique (Figure 6). Grâce à ce processus, les bactéries partagent entre elles des informations génétiques, ce qui leur confère un très grand pouvoir d'adaptation aux milieux environnementaux qu'elles habitent (Bouyahya *et al.*, 2017).

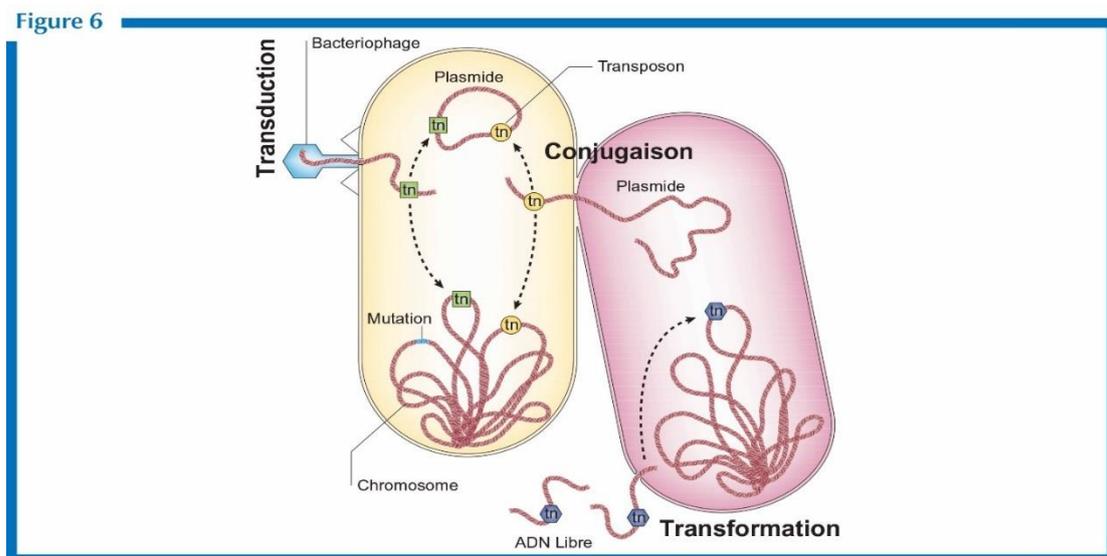


Figure 6 : Les différents modes d'acquisition des gènes de résistance (R) aux antibiotiques chez les bactéries (Levy et Marshall, 2004)

I.3. Les mécanismes de résistance

Les bactéries adaptent diverses méthodes pour survivre à l'inhibition ou à la destruction des antibiotiques. Ceux-ci comprennent : (i) l'inactivation d'antibiotiques par des réactions enzymatiques (par exemple, l'inactivation de β -lactames par la β -lactamase) ; (ii) des mécanismes d'efflux par lesquels des antibiotiques sont transportés hors des cellules par des pompes ; (iii) une mutation cible pour diminuer l'efficacité de liaison des antibiotiques ; (iv) surproduction de cible ; (v) un pontage de la voie métabolique pour éliminer l'essentialité de la cible ; et (vi) diminution de l'absorption d'antibiotiques (par exemple, perte de *Pseudomonas aeruginosa* de sa porine D2) (Singh et Barrett, 2006).

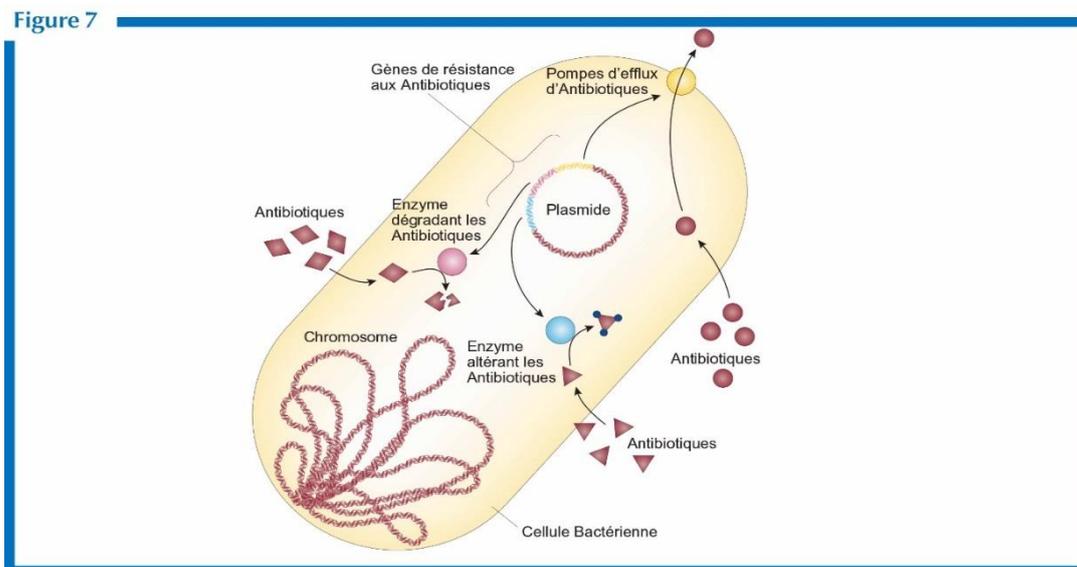


Figure 7 : L'efflux, la destruction et la modification des antibiotiques comme modes de résistance (Levy et Marshall, 2004)

II. Les huiles essentielles

Selon la pharmacopée Européenne 7^{ème} édition, l'huile essentielle est un « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Les huiles essentielles sont des composés naturels complexes de structures organiques variées, liquides, volatiles, limpides et odorantes, synthétisées par des plantes aromatiques et médicinales comme métabolites secondaires (Bakkali *et al.*, 2008). Elles sont insolubles dans l'eau et solubles dans l'alcool et les solvants organiques. Elles ne contiennent pas de corps gras,

leur appellation « huile » vient de leur caractéristique hydrophobe et le terme « essentielle » de leur caractéristique d'odorat (**Bouhdid, 2009**).

Beaucoup de végétaux renferment des HEs, mais seulement en toute petite quantité, ne permettant pas leur extraction. Seules les plantes dites « aromatiques » produisent des quantités suffisantes d'HE. Ces plantes appartiennent pour la plupart aux familles des Lamiaceae (lavande, thym, menthe...), des Lauraceae (cannelle, camphrier...), des Myrtaceae (eucalyptus, niaouli...), des Pinaceae (pin, cèdre, cyprès, genévrier...), des Rutaceae (citron, orange...) ou des Apiaceae (cumin, fenouil, anis vert...) (**Gerault et Mary, 2009**).

Les huiles essentielles peuvent être synthétisées par tous les organes ou structures sécrétrices des plantes à savoir les fleurs, les feuilles, les tiges, les graines, les fruits, les racines, du bois ou de l'écorce et sont stockées dans des cellules sécrétoires, des cavités sécrétrices, des canaux sécréteurs ou des trichomes glandulaires et qui sont souvent localisés sur ou à proximité de la surface de la plante (**Burt, 2004 ; Bakkali et al., 2008 ; Solórzano-Santos et Miranda-Novales, 2012**).

II.1. Les constituants des huiles essentielles

Sur le plan chimique, les huiles essentielles sont des mélanges de structures extrêmement complexes, pouvant contenir plus de 300 composés différents (**Sell, 2006**). Ces substances sont des molécules très volatiles qui appartiennent principalement à deux groupes de composés odorants distincts en fonction de leur voie de biosynthèse. Il s'agit du groupe des terpènes et des terpénoïdes d'une part (beaucoup plus fréquent) et celui des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. Les HEs peuvent aussi renfermer différents composés acycliques (**Bruneton, 2009**).

II.1.1. Les terpènes et les terpénoïdes

Les terpènes forment structurellement et fonctionnellement différentes classes. Ils sont fait de la combinaison de plusieurs unités de 5 carbones-bases appelés isoprène (C_5H_8) (**Figure 8**) et peuvent être à chaîne ouverte ou cyclique (**Bakkali et al., 2008 ; Hyldgaard et al., 2012**). Les principaux terpènes sont les monoterpènes (C_{10}) et les sesquiterpènes (C_{15}) (**Figure 9**), mais on trouve aussi des hemiterpènes (C_5), des diterpènes (C_{20}), des triterpènes (C_{30}) et des tétraterpènes (C_{40}). La synthèse se fait via la voie de l'acide mévalonique à partir de l'acétyl-CoA (**Hyldgaard et al., 2012**).

Un terpène contenant un oxygène est appelé terpénoïdes (**Cowan, 1999**). Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont les molécules les plus représentatives dans le règne végétal.

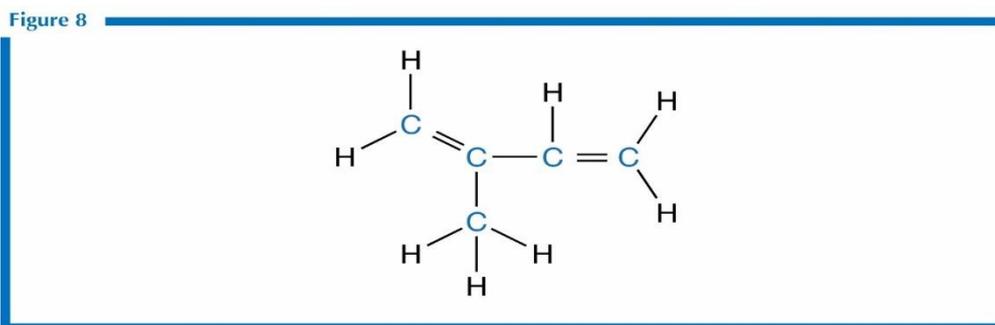


Figure 8 : Structure de la molécule d'isoprène (Clarke, 2009)

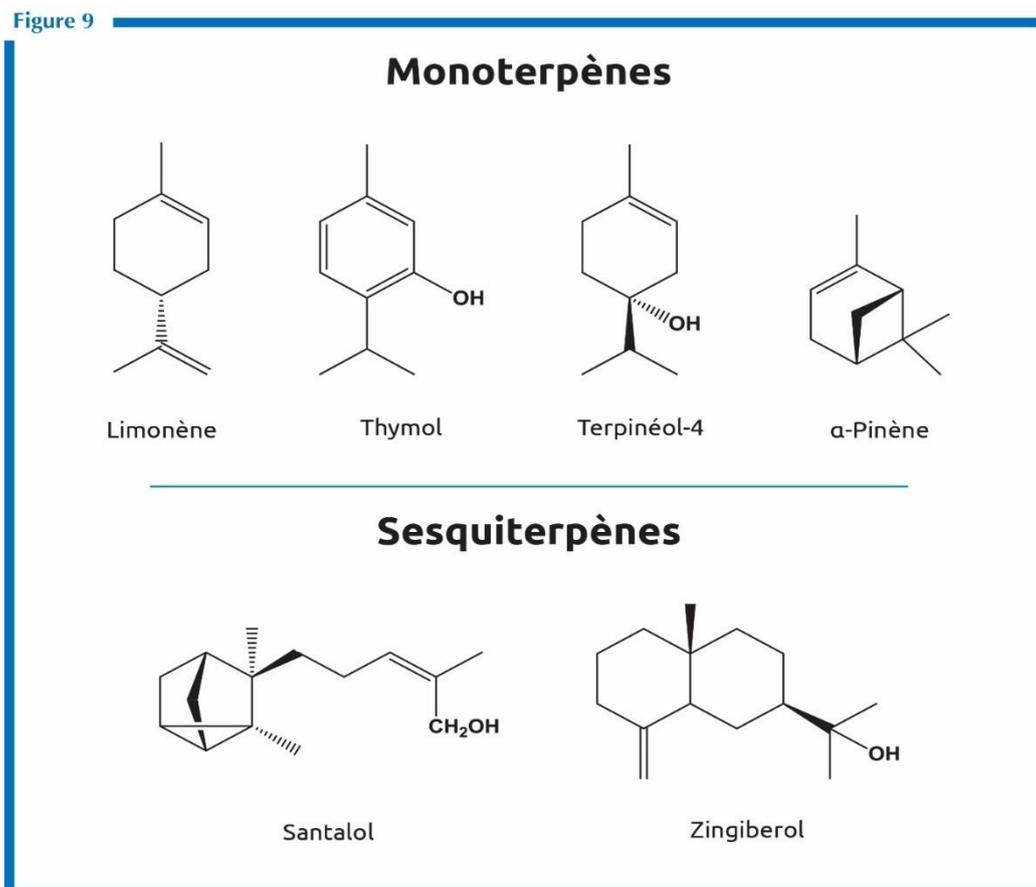


Figure 9 : Structure de quelques composés des huiles essentielles (monoterpènes et sesquiterpènes) (Clarke, 2009)

II.1.2. Les composés possédant un noyau aromatique

Les composés aromatiques dérivent principalement du phénylpropane et sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les terpénoïdes (Bakkali *et al.*, 2008). Ils sont caractérisés par un noyau aromatique lié à une chaîne de trois atomes de carbone propène C6-C3 (Hyldgaard *et al.*, 2012). Les plus fréquemment trouvés sont l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), l'anéthole et l'aldéhyde anisique (HE de badiane, d'anis, de fenouil), ainsi que le saffrole (HE de saffras) (Figure 10) (Couic-Marinier et Lobstein 2013).

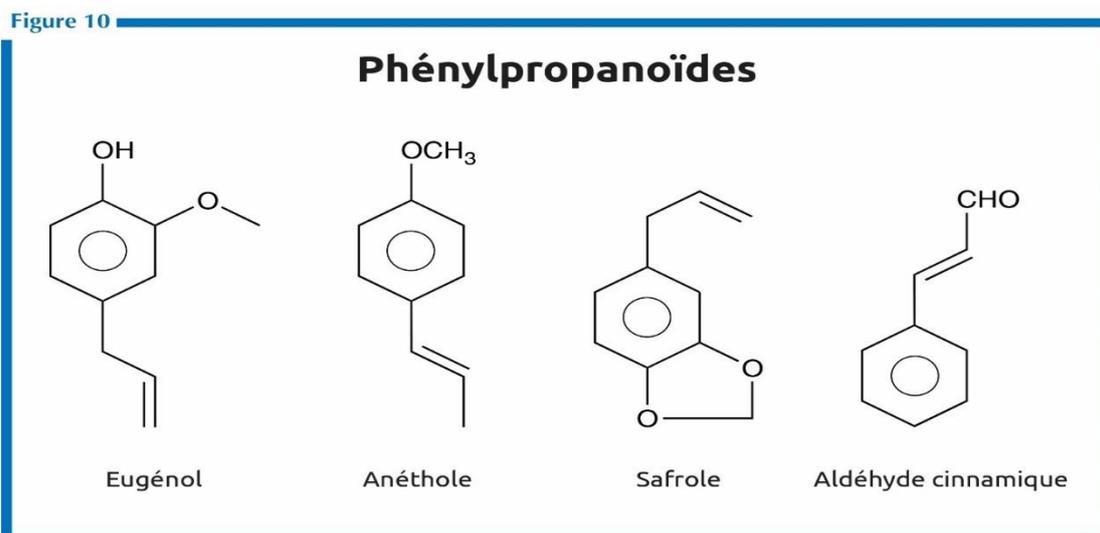


Figure 10 : Exemple de quelques composés aromatiques phénylpropanoïdes caractéristiques des huiles essentielles (Clarke, 2009)

II.1.3. Les composés d'origine diverses

D'autres types de composés comme des molécules acycliques peuvent également être trouvés dans les huiles essentielles. Il s'agit de composés volatils issus de la dégradation, de terpènes non volatils (c'est le cas par exemple des ionones qui proviennent de l'auto-oxydation des carotènes) et d'acides gras (les petites molécules odorantes, comme par exemple le (Z)-hex-3-èn-1-ol ou le décanal, qui sont obtenues à partir des acides linoléique et α -linoléique) par des voies enzymatiques (Bruneton, 1999).

II.1.4. Chémotype

Des plantes issues de la même espèce botanique partageant la même morphologie et le même patrimoine génétique, peuvent produire des huiles essentielles avec des profils chimiques ou chémotypes différents selon leur origine, pays, altitude, climat ou sol (Shama *et al.*, 2011). La définition d'un type chimique ou chémotype ne peut reposer sur l'étude de quelques individus, mais nécessite un échantillonnage conséquent pour qu'il soit statistiquement représentatif (variabilité intra-station, variabilité inter-station, stabilité dans le temps, ...).

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le ou les composant(s) biochimique(s) majoritaire(s) ou distinctif(s), présent(s) dans l'huile essentielle. A titre d'exemple, l'espèce sauvage *Thymus vulgaris* originaire du sud de la France, présente six chémotypes différents d'huile essentielle, par rapport au monoterpène majoritaire contenu dans cette dernière, qui peut être soit le géraniol, l' α -terpinéol, le thuyanol-4, le linalol, le carvacrol ou le thymol (Thompson *et al.*, 2003).

Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (Pibiri, 2005).

II.2. Mécanisme d'action antimicrobien des huiles essentielles

II.2.1. Mode d'action antibactérien

Compte tenu de la richesse et de la complexité des composés présents dans les huiles essentielles, il n'est pas surprenant qu'ils aient la capacité d'affecter de nombreux systèmes biologiques.

Les HEs et d'autres extraits de plantes aromatiques et médicinales sont empiriquement connus pour leurs propriétés antimicrobiennes depuis les temps anciens, mais ce fait n'a été prouvé scientifiquement qu'au début du 20^{ème} siècle (**Li et al., 2014**). En effet, aujourd'hui, un bon nombre de publications importantes ont confirmé leur effet bactériostatique et bactéricide contre des souches bactériennes pathogènes même parfois à de très faibles concentrations (**Talbaoui et al., 2012**).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles peut être attribuée en grande partie aux principaux groupes de composés qui s'y trouvent : les monoterpènes, les sesquiterpènes et les composants non terpéniques tels que les phénylpropanoïdes (**Carson et Hammer, 2011**).

a) Sites d'action des huiles essentielles

Le rôle physiologique des HEs n'est pas encore entièrement compris. La majorité des travaux antérieurs se concentrent davantage sur la détection de l'activité antimicrobienne des HEs, par conséquent, les mécanismes d'action contre les microorganismes sont peu étudiés.

En général, les mécanismes de l'action antimicrobienne des huiles essentielles sont décrits en trois phases (**Ultee et al., 2002 ; Turina et al., 2006**). Premièrement, les HEs peuvent agir sur la paroi cellulaire d'une bactérie et augmentent la perméabilité de la membrane, ce qui entraîne une perte subséquente des composants cellulaires. La seconde phase correspond à une acidification à l'intérieur de la cellule qui bloque la production d'énergie cellulaire (ATP) en raison de la perte d'ions, de l'effondrement des pompes à protons et de la réduction du potentiel membranaire. Dernier point mais non le moindre est la destruction du matériel génétique qui entraîne la mort des bactéries. De plus, certaines études ont montré que les HEs peuvent également coaguler le cytoplasme et endommager les lipides, les protéines, les parois cellulaires et les membranes, ce qui peut entraîner la fuite des macromolécules et la lyse cellulaire (**Gustafson et al., 1998 ; Cox et al., 2000 ; Lambert et al., 2001 ; Di Pasqua et al., 2006 ; Turgis et al., 2009 ; Saad et al., 2013**). Cependant, les mécanismes restent moins clairs, et leur complexité vient de la composition chimique des HEs qui présente une diversité de molécules pouvant agir chacune sur une cible différente.

Les différents modes d'action des huiles essentielles sur les microorganismes sont décrits dans la figure suivante (**Figure 11**).

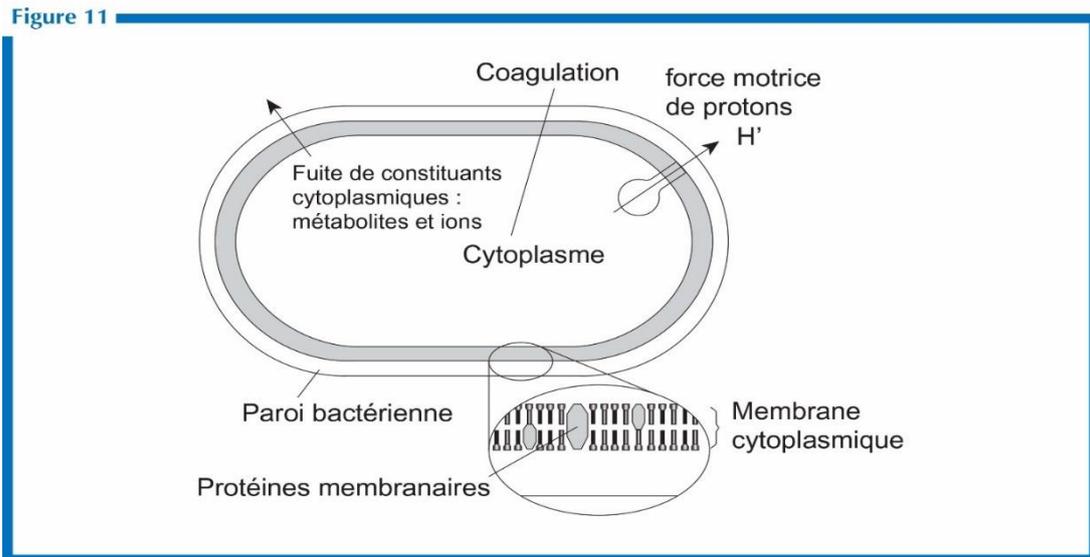


Figure 11 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004)

b) Sites d'action de quelques composés des huiles essentielles

Plusieurs molécules présentes dans les HEs sont douées de propriétés antibactériennes, en particulier les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol), les alcools (tels que le linalol) et les aldéhydes (tels que le cinnamaldéhyde) (**Bouyahya et al., 2017**).

Le carvacrol et le thymol semblent pouvoir agir sur l'augmentation de la perméabilité de la membrane externe des bactéries à Gram négatif en libérant les lipo-polysaccharides qui la constitue (**Lambert et al., 2001**). Ces deux mêmes composants retrouvés comme composés majoritaire dans l'huile essentielle de *Thymus vulgare* ont été aussi testés pour leurs effets anti-biofilms et anti-quorum sensing (QS : appelé encore phéromones bactériennes, est l'ensemble des molécules qu'utilisent les bactéries pour coordonner et assurer la communication entre elles). Les auteurs ont révélé une réduction significative de la production de N-acylhomosérine lactone (AHL), de la formation de biofilms et de la mobilité des flagelles, ce qui suggère que l'inhibition des gènes d'AHL et des flagelles empêche la formation de biofilms (**Myszka et al., 2016**).

Le mécanisme d'action du carvacrol a été bien étudié sur *Bacillus cereus*. Ce dernier peut engendrer une déformation de la structure de la bicouche lipidique qui compose la paroi bactérienne, cette déformation due principalement au positionnement du carvacrol entre les chaînes d'acide gras provoque une augmentation de la perméabilité de la paroi, perturbant ainsi le gradient ionique et le fonctionnement membranaire des cellules microbiennes (**Ultee et al., 2002**).

Trombetta et al. en **2005** ont étudié l'action du thymol sur des membranes artificielles. Ils ont trouvé que ce dernier lorsqu'il pénètre dans la membrane plasmique, il altère sa perméabilité, entraînant une perte du matériel intracellulaire.

Une autre étude menée par **Walsh et al.** en **2003** a montré que la molécule de thymol a un effet inhibiteur et létal sur diverses souches, dont *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, sur lesquelles elle provoque des fuites d'ions potassium K⁺. En revanche, elle n'est pas active sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Le cinnamaldéhyde, principal constituant de l'huile essentielle de cannelle (*Cinnamomum cassia*) est capable d'inhiber la séparation des cellules de *Bacillus cereus*. L'action de cinnamaldéhyde sur la division cellulaire réside dans l'inhibition de l'assemblage du complexe FtsZ (un régulateur de la division cellulaire chez les procaryotes) avec les anneaux-Z localisés sur les sites de division cellulaire (**Domadia et al., 2007**). Dans une autre étude, ce même composé s'est révélé être très actif contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (*Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Enterobacter spp.*) en inhibant les ATP synthétases et perturbant ainsi la production d'ATP intracellulaire (**Gill et Holley, 2004 ; 2006**).

Dans les huiles essentielles du clou de girofle, l'eugénol, l'acétate d'eugényle et le caryophyllène sont les principaux constituants et leurs propriétés antimicrobiennes ont été signalés contre *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium botulinum*, *Enterococcus faecalis*, *Candida spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* et *Listeria monocytogenes* (**Perricone et al., 2015**). Selon l'étude menée par **Gill et Holley** en **2006**, l'eugénol au même titre que le carvacrol, provoquerait une dégradation de la paroi cellulaire entraînant une inhibition de l'activité des ATP synthétases membranaires.

Les alcools quant à eux, entraînent principalement une dénaturation des protéines, alors que les aldéhydes induisent des réactions de transfert d'électrons et peuvent réagir avec des composés nitrés vitaux pour la bactérie : protéines et acides nucléiques (**Goetz et Ghedira, 2012**).

II.2.2. Mode d'action antifongique

L'activité antifongique des HEs a été démontrée dans plusieurs études. Cependant, peu d'auteurs ont abordé la manière dont les HEs agissent sur les champignons. Néanmoins quelques mécanismes d'action ont été rapportés.

Ferreira et al. en **2014** ont étudié l'effet de l'huile essentielle de la menthe poivrée *Mentha piperita* sur certaines souches de *Saccharomyces cerevisiae* et ont découvert que la cytotoxicité de l'huile était associée à l'augmentation des quantités des ERO (espèces réactives de

l'oxygène), à la fragmentation mitochondriale et à la condensation de la chromatine, déclenchant ainsi un processus apoptotique.

Daferera *et al.* en 2000 ont découvert que l'effet antifongique des HEs était le résultat de liaisons hydrogènes entre les groupes hydroxyles des composés phénoliques et les sites actifs des enzymes cellulaires.

Une autre étude a montré que les HEs peuvent induire une perte de l'intégrité cellulaire en causant des lésions sur la paroi cellulaire, avec une perte de constituants cytoplasmiques (**Sharma et Tripathi, 2006**).

Toujours dans la même année, **Lucini *et al.* (2006)** ont suggéré que les monoterpènes peuvent inhiber la croissance des champignons. L'allicine (isolée de l'huile essentielle de l'ail) pourrait inhiber les enzymes avec des groupements SH et affecter la synthèse des acides gras, des lipides, de l'ADN ou de l'ARN (**Beuchat et Golden, 1989**). Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de la paroi cellulaire par l'inhibition du β -1,3-glucane et de la chitine synthase (**Bang *et al.*, 2000 ; Hyldgaard *et al.*, 2012**) et la perturbation de la biosynthèse de l'ergostérol (composant des membranes des cellules fongiques) (**Ahmad *et al.*, 2011**).

Les HEs d'*Origanum* se sont révélées fongistatiques et fongicides pour *Candida albicans*, dont une administration orale quotidienne est fortement recommandée dans la prévention et le traitement efficaces de la candidose (**Manohar *et al.*, 2001**). De plus, le carvacrol et l'eugénol ont été proposés comme agents thérapeutiques pour la candidose buccale en raison de leurs puissantes propriétés antifongiques (**Chami *et al.*, 2004**).

II.3. Synergie et antagonisme entre les constituants des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes qui exercent des activités antibactériennes plus importantes que celles de leurs constituants respectifs. L'activité observée serait due principalement aux effets combinés de plusieurs composants minoritaires. Les HEs renferment donc des composés multifonctionnels exerçant leur activité grâce à différents mécanismes. L'activité intrinsèque d'une huile pourrait se rapporter à la structure chimique de ses composants, aux proportions dans lesquelles ils sont présents et aux interactions entre eux (**Goetz et Ghedira, 2012**).

Certaines études ont conclu que toutes les HEs ont une plus grande activité antibactérienne que leurs principaux constituants pris individuellement (**Gill *et al.*, 2002 ; Mourey et Canillac, 2002**), ce qui suggère que les composants mineurs sont essentiels à l'activité et qu'ils peuvent avoir un effet synergique ou potentialiser l'activité (**Goetz et Ghedira, 2012**).

Lambert et al. (2001) rapportent dans une étude, que les deux principaux constituants de structure voisine et présents dans l'huile essentielle d'origan, à savoir le carvacrol et le thymol, présentent un effet additif contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Le précurseur biologique du carvacrol, le *p*-cymène, présente un caractère hydrophobe et provoque le gonflement de la membrane cytoplasmique dans une plus grande mesure que le carvacrol. Utilisé seul, le *p*-cymène ne présente pas d'activité antibactérienne significative. Lorsqu'il est associé au carvacrol, on observe une synergie d'action des deux composés contre *Bacillus cereus in vitro*. Une plus grande efficacité du *p*-cymène est signalée lorsqu'il est incorporé dans la bicouche lipidique de *B. cereus*, facilitant vraisemblablement le transport du carvacrol à travers la membrane cytoplasmique (**Goetz et Ghedira, 2012**).

Dans une étude menée par **Dorman et Deans en 2000**, ils ont trouvé que l'ajout d'un groupement acétate à une molécule augmenterait son activité antimicrobienne, ils rapportent donc que l'acétate de géranyle par exemple serait plus efficace que le géraniol et cela contre une gamme de bactérie à Gram positif et à Gram négatif.

Les phénols avec leur groupements hydroxyle ont aussi été mis en évidence, en leur attribuant un rôle fondamental dans l'activité antimicrobienne (**Ultee et al., 2002**). Enfin, la nature des groupements alkyles peut aussi avoir un rôle dans cette activité. **Dorman et Deans (2000)** dans leur étude ont montré que les substituants alkényles sont plus actifs que les substituants alkyles. Ainsi, le limonène, qui est substitué par un groupement isopropylène en position 4, présente une plus forte activité que son homologue le *p*-cymène, substitué par un groupement isopropyle.

II.4. Activités antimicrobiennes des huiles essentielles

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales ainsi que de leurs huiles essentielles sont connues depuis longtemps. Toutefois, leur utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles sans fondements scientifiques (**Hala et al., 2000**). Il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (**Boyle, 1955**). Depuis plusieurs auteurs se sont succédés pour démontrer cette activité, et de nombreuses huiles sont maintenant définies comme antibactériennes (**Burt, 2004**).

Le spectre d'action des HEs est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre

(Kalemba et Kunicka, 2003 ; Oussou, 2009 ; Avlessi *et al.*, 2012). Elles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques (Oussou *et al.*, 2009).

L'activité antimicrobienne des HEs est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Sipailiene *et al.*, 2006 ; Oussou, 2009). Il a été rapporté que les HEs contenant des aldéhydes ou des phénols, tels que le cinnamaldéhyde, le citral, le carvacrol, l'eugénol ou le thymol comme composés majoritaires présentaient l'activité antibactérienne la plus élevée (Bassolé et Juliani, 2012). Lang et Buchbauer (2012) ont passé en revue des recherches récentes (2008-2010) sur les huiles essentielles en tant qu'agents antimicrobiens. Ils ont conclu que bien même si de nombreuses huiles essentielles aient une forte activité antimicrobienne sur une large gamme de microorganismes, les constituants prédominants étaient le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde, l'eugénol, le camphre, le limonène, le linalol, l' α -pinène, le terpinéol-4 et le 1,8-cinéole.

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la nature de leur paroi cellulaire (Burt, 2004). Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries à Gram négatif comme *Aeromonas hydrophila* (Wan *et al.*, 1998), *Campylobacter jejuni* (Wannissorn *et al.*, 2005) et *Pseudomonas aeruginosa* (Goetz et Ghedira, 2012) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles. De plus, certaines études ont également mis en évidence l'absence de différence entre ces deux groupes d'organismes (Deans et Ritchie, 1987 ; Ouattara *et al.*, 1997).

Les huiles essentielles peuvent aussi avoir un rôle contre la résistance des bactéries aux antibiotiques. En effet, il y a près de 20 ans, Nelson (1997) a découvert que les huiles essentielles de la menthe poivrée, de thym, de lavande, d'arbre à thé et de genévrier étaient efficaces *in vitro* contre les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) (Warnke *et al.*, 2009). Dans une autre étude, Kon et Rai (2012) suggèrent que les huiles essentielles pourraient être utilisées comme traitements efficaces contre de nombreux pathogènes bactériens, y compris *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), ainsi que d'autres souches résistantes comme *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*. Ils suggèrent également que certaines huiles essentielles peuvent potentialiser l'efficacité des antibiotiques contre les bactéries multi-résistantes aux antibiotiques.

Le mélange de différentes huiles essentielles comme l'origan et le thym, l'origan et la marjolaine, le thym et la sauge a aussi montré un fort pouvoir antibactérien contre *Bacillus*

cereus, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* O157:H7 et *Listeria monocytogenes* (Gutierrez et al., 2008).

En outre, l'interaction synergique et antagoniste entre les composants chimiques des HEs doit également être prise en compte du fait que des composants mineurs peuvent avoir une influence significative sur les activités antimicrobiennes des HEs. (Li et al., 2014). En effet, le pouvoir antimicrobien des HEs est le résultat de groupes fonctionnels présents dans les métabolites et de leurs synergies. Le groupe fonctionnel le plus actif est celui des phénols, suivi des aldéhydes, des cétones, des alcools, des éthers et des hydrocarbures (Gao et al., 2005 ; Fernandez et Chemat, 2012). L'activité antimicrobienne élevée des espèces de Thym et d'Origan a été attribuée à leurs composants phénoliques tels que le thymol et le carvacrol (Lambert et al., 2001 ; Cox et al., 2001 ; Oussalah et al., 2007 ; Hazzit et al., 2007) et ceux d'*Eugenia caryophyllus* (Ait-Ouazzou et al., 2011), de *Syzygium aromaticum* (Fu et al., 2007 ; Juliani et al., 2004), d'*Ocimum basilicum* (Bassolé et al., 2010) à l'eugénol. L'activité antimicrobienne de l'HE de *Cinnamomum zeylanicum* est liée à sa teneur en cinnamaldéhyde et celle du Basilic à sa teneur en eugénol (19%) et en linalol (54%), à noter qu'un effet synergique a été observé entre ces deux composés (Prabuseenivasan et al., 2006). Le terpinéol-4 est considéré comme le principal composant actif de l'huile *Melaleuca alternifolia* (arbre à thé) (Carson et Riley, 1995). Lis-Balchin et Deans (1997) ont montré que les HEs contenant de grandes quantités de 1,8-cinéole étaient de meilleurs agents anti-*listeria* que ceux qui étaient dépourvus.

Les huiles essentielles des plantes aromatiques sont la source de nombreux antimycosiques naturels, souvent issus des familles des Lamiacées et des Astéracées. Par exemple, *Thymus vulgaris* riche en thymol s'est avéré très efficace contre *Candida albicans* (Giordani et al., 2004). De nombreux auteurs ont mis en évidence le pouvoir antifongique des HEs contre plusieurs moisissures allergisantes (De Billerbeck et al., 2002 ; Koba et al., 2004 ; Oussou et al., 2004 ; Ouraini et al., 2005) et aussi contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus* (Teixeira-Duarte et al., 2005). Une étude menée par Omidbeygi et al. en 2007 a révélé l'efficacité antifongique *in vitro* des huiles essentielles de thym, de la sarriette et du clou de girofle contre *Aspergillus flavus*. Khan et Ahmad (2011) ont testé des huiles essentielles pour leur capacité à renforcer l'effet du fluconazole contre *Aspergillus fumigatus*. Ils ont découvert que les huiles essentielles contenant du cinnamaldéhyde réduisaient la CMI du fluconazole de 8 fois. D'autres huiles essentielles telles que *Juniperus communis* (genévrier) et *Lavandula luisieri* se sont aussi avérées efficaces contre les souches d'*Aspergillus* (Cabral et al., 2012 ;

Zuzarte et al., 2012). La souche fongique *Phaeoramularia angolensis* a montré une sensibilité vis-à-vis des HEs d'*Eucalyptus saligna* et d'*Eucalyptus camaldulensis*. L'efficacité des huiles extraites des achillées, *Achillea fragrantissima* (**Barel et al., 1991**), *A. setacea*, *A. teretifolia* (**Unlu et al., 2002**), *A. millefolium* (**Candan et al., 2003**), contre la levure pathogène *Candida albicans*, et *Achillea odorata* L. subsp. *pectinata* (Lamk) var. *microphylla* (Willd.) Willk. (**Bekhechi et al., 2011**) contre plusieurs champignons filamenteux a également été mise en évidence. De nombreuses autres huiles essentielles ayant des activités antifongiques ont été décrites, notamment, les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de l'arbre à thé (**Burt, 2004**).

II.5. Activités antivirales des huiles essentielles

Les effets antiviraux des huiles essentielles (et de leurs composants) ont été évalués au cours des 10 dernières années contre des maladies comme le SRAS (syndrome respiratoire aigu sévère), la grippe, la dengue, la fièvre du Nil occidental et la fièvre jaune. La recherche *in vitro* s'avère être très encourageante (**Reichling et al., 2009**).

Les huiles essentielles sembleraient avoir un effet direct sur le mécanisme d'un virus, soit en interférant avec l'enveloppe virale, soit en affectant la capacité du virus à pénétrer dans la cellule hôte. Cependant, contrairement à l'acyclovir, elles n'empêchent pas la réplication virale (**Reichling, 2010**).

Duke en 1985 a écrit que la cannelle et le clou de girofle avaient des propriétés antivirales. Les recherches actuelles confirment ces propriétés virales (**Ovadia et al., 2009 ; Yeh et al., 2013 ; Elizaquível et al., 2013**).

L'Eucalyptus, *Eucalyptus citriodora* et *Eucalyptus globulus* se sont révélés être un antiviral efficace (**Mendes et al., 1990 ; Schnitzler et al 2001**). L'*Eucalyptus globulus* s'avère également efficace contre la tuberculose multi-résistante courante chez les patients atteints du SIDA (**Sadlon et Lamson, 2010**).

L'HE de *Melissa officinalis* s'est révélée efficace contre les infections virales de l'herpès simplex de type I et II (HSV1 et HSV2) (**Schnitzler et al., 2008 ; Cermelli et al., 2008**). Des études menées par **Adorjan et Buchbauer (2010)** ont révélé plusieurs huiles essentielles actives contre le HSVII, notamment l'anis (*Pimpinella anisum*), l'hysope (*Hyssopus officinalis*), le thym (*Thymus vulgaris*), le gingembre (*Zingiber officinale*), la camomille allemande (*Matricaria recutita*) et le bois de santal (*Santalum album*). Il s'est avéré que souvent les résultats dépendent de la dose d'HE et du stade du cycle d'infection virale auxquels elles sont introduites, certaines sont moins actives pendant la période de pré-incubation et après la période d'adsorption. Ils ont suggéré que les huiles testées interagissent avec l'enveloppe virale.

II.6. Propriétés antioxydantes des huiles essentielles

II.6.1. Les antioxydants et le stress oxydatif

L'oxygène est un élément essentiel pour la vie, cependant il peut être responsable d'un bon nombre de processus d'oxydation via la formation de radicaux libres et de métabolites réactifs, que l'on appelle des oxydants ou des espèces réactives de l'oxygène (EROs) pouvant entraîner des dommages dans l'organisme (**Dalton, 1995 ; Garcia-Plazaola *et al.*, 1999**). Un déséquilibre entre la production de radicaux libres et de EROs, et leur élimination par des mécanismes de protection, dénommés antioxydants est appelé stress oxydatif (**Reuter *et al.*, 2010**).

L'une des manières d'éliminer les radicaux libres et de se protéger des effets nocifs des EROs est l'action des systèmes antioxydants. Un antioxydant peut être défini comme étant toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Berger, 2006**). En d'autres termes, un antioxydant est une substance qui, en faible concentration comparativement à la quantité des substances oxydables telles les espèces oxygénées réactives (EROs), retarde significativement ou prévient l'oxydation des substrats comme les lipides, les protéines, l'ADN et les carbohydrates.

Les molécules antioxydantes peuvent se diviser en des antioxydants exogènes (vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque) et des antioxydants endogènes incluant des enzymes (superoxyde dismutase SOD, glutathion peroxydase, catalase) et des protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) (**Pincemail *et al.*, 2002**).

Dans le domaine industriel, les antioxydants synthétiques tels que le BHA (3- tertio-butyl-4-hydroxyanisole), le BHT (3,5-ditertio-butyl-4-hydroxytoluène), le TBHQ (tertio-butyl-hydroquinone), et le PG (gallate de propyle) sont largement utilisés pour la conservation des produits alimentaire et empêcher leur détérioration (**Fernandez et Chemat, 2012**). Toutefois ces derniers peuvent provoquer des effets secondaires toxiques sur la santé (**Dorman et Hiltunen, 2004 ; Tepe *et al.*, 2006 ; Nickavar *et al.*, 2008**).

Récemment, et pour palier à ce désagrément, la recherche d'antioxydants naturels spécialement à partir de plantes a largement augmenté et apparait comme une alternative attractive pour substituer les antioxydants synthétiques. Une grande variété d'huiles essentielles et d'extraits des plantes aromatiques et médicinales a été étudiée pour leurs propriétés antioxydantes.

II.6.2. Activités antioxydantes des huiles essentielles

Au cours de ces dernières années, les huiles essentielles sont considérées comme des ressources potentielles de molécules bioactives naturelles, qui ont fait l'objet de nombreuses recherches pour leurs propriétés antioxydantes (**Bakkali *et al.*, 2008**).

L'activité antioxydante des HEs dépend de la présence de composants capables de piéger les radicaux libres. Les composants les plus pertinents qui confèrent une activité antioxydante à une HE sont ceux ayant un constituant phénolique (comme le carvacrol, le thymol et l'eugénol) et ceux possédant une structure cyclohexadiényle (tels que le γ -terpinène et le mentha-1,4-diène-7-al) (**Yanishlieva *et al.*, 1999 ; Foti, 2007**).

Yanishlieva *et al.* (1999) ont signalé que l'auto-oxydation des triacylglycérols de saindoux et de l'huile de tournesol est inhibée par le thymol et le carvacrol, qui sont largement présents dans les HEs du thym et de l'origan.

Plusieurs auteurs ont rapporté le pouvoir antioxydant de plusieurs huiles essentielles, notamment celle de la cannelle, muscade, piment, laurier, clou de girofle, basilic, persil, origan, coriandre, eucalyptus, genévrier, cumin et de thym (**Billot et Wells, 1975 ; Mantle *et al.*, 1998 ; Tomaino *et al.*, 2005 ; Karioti *et al.*, 2006 ; Politeo *et al.*, 2006 ; Edris, 2007 ; El-Ghorab *et al.*, 2008 ; Miguel, 2010 ; Saleh *et al.*, 2010 ; Amorati *et al.*, 2013**).

Loizzo *et al.* en 2015 ont évalué les propriétés antioxydantes des HEs de plusieurs plantes aromatiques (gingembre, cumin, cannelle, clou de girofle, lavande, pamplemousse, citron, anis étoilé, romarin, sauge, fenouil, orange, basilic, aneth, aiguille de pin, poivre noir, citronnelle, myrte des marais, thym, bergamote, menthe poivrée, marjolaine espagnole). Ils ont constaté que seuls les HEs de cannelle, de clou de girofle, de thym et de cumin avaient des effets antioxydants. Ces HEs ont des quantités substantielles de composants antioxydants. Les HEs de cannelle et de clou de girofle contenaient par exemple respectivement 44% et 84% d'eugénol ; l'HE de thym 28% de thymol ; l'HE de cumin 24% de *p*-mentha-1,4-dien-7-al et 13% de γ -terpinène.

II.7. Propriétés anti-inflammatoires des huiles essentielles

II.7.1. L'inflammation

L'inflammation peut être aiguë ou chronique. L'inflammation aiguë est la première étape du processus de guérison, déclenché par le système immunitaire inné. C'est une réponse du système immunologique d'un organisme aux dégâts cellulaires et vasculaires provoqués par les virus, les bactéries pathogènes et les agressions chimiques ou physiques. Le processus génère la douleur, conduit à la cicatrisation et à l'hémostase, autrement dit, il a une finalité bénéfique (**Swynghedauw, 2006**). Néanmoins, dans certaines conditions, l'inflammation devient

chronique et est associée à des affections graves comme les maladies auto-immunes (la sclérose en plaques, l'arthrite, les allergies, le cancer ou l'athérosclérose). Enfin, une inflammation aiguë locale peut, à elle seule, déclencher une réponse globale et fatale de l'organisme (**Swynghedauw, 2006 ; Rhind, 2015**).

Le processus de l'inflammation conduit à la production de médiateurs d'inflammation, ces derniers comprennent le facteur de nécrose tumorale-alpha (TNF- α), une gamme d'interleukines, de prostaglandines E₂ (PGE₂) et des amines vaso-actives comme l'histamine ; les autres facteurs sont les enzymes comme la cyclo-oxygénase 2 (COX-2), la 5-lipoxygénase (5-LOX), et certaines kinases et phospholipases (**Rhind, 2015**).

La plupart des études récentes concernant les activités anti-inflammatoires des huiles essentielles et de leurs composants ont suggéré qu'elles augmentent ou diminuent la formation de médiateurs inflammatoires ou suppriment l'activité d'enzymes spécifiques telles que la COX-2, la 5-LOX et la phospholipase A2 (**Baylac et Racine, 2003 ; Kumar *et al.*, 2009 ; Adorjan et Buchbauer, 2010**).

Dans diverses médecines traditionnelles, différents extraits de plantes et/ou leurs constituants actifs ont été utilisés pour traiter une grande variété de troubles inflammatoires (**Gautam et Jachak, 2009 ; García-Lafuente *et al.*, 2009**). Il a été rapporté que les flavonoïdes possèdent une activité anti-inflammatoire par l'inhibition de diverses enzymes telles que la xanthine oxydase, l'aldose réductase, la phosphodiesterase, la lipoxygénase, la Ca²⁺-ATPase et la cyclo-oxygénase (**Ibrahim *et al.*, 2017**).

II.7.2. Les lipoxygénases

L'oxydation des acides gras insaturés est une réaction majeure du métabolisme des lipides. La formation d'hydroperoxydes d'acides gras peut se produire soit par oxydation chimique, soit par l'action d'enzymes comme la lipoxygénase (LOX) (**Andreou et Feussner, 2009**).

Les lipoxygénases sont une classe de dioxygénases à atome de fer non hémique qui catalyse l'hydroperoxydation des acides gras polyinsaturés dans les plantes, les animaux et les microorganismes (**Prigge *et al.*, 1996**).

Les lipoxygénases sont des enzymes qui catalysent une déshydrogénation stéréospécifique et une dioxygénation subséquente d'acides gras polyinsaturés ayant une structure 1,4-*cis*-pentadiène. La réaction conduit à la formation d'un hydroperoxyde, contenant un fragment 1-hydroperoxy-2-*trans*-4-*cis*-pentadiène. Compte tenu du substrat d'acide arachidonique, l'oxygène peut donc être introduit en six positions différentes, donnant l'acide

5-, 8-, 9-, 11-, 12-, et 15-hydroperoxy-eicosatétraénoïque (HPETE), dans lequel le nombre indique la position du groupe hydroperoxy respectif (**Drazen et al., 1996**).

Les lipoxygénases de mammifères catalysent l'hydroperoxydation de l'acide arachidonique, initiant la synthèse de deux familles de puissants effecteurs physiologiques : les leucotriènes et les lipoxines (**Prigge et al., 1996**). Les leucotriènes jouent un rôle important dans de nombreuses maladies inflammatoires telles que la colite ulcéreuse, l'athérosclérose, l'asthme, l'arthrite rhumatoïde et plusieurs types de cancers (**Ibrahim et al., 2017**).

II.7.3. Activités anti-inflammatoires des huiles essentielles

Les effets anti-inflammatoires des huiles essentielles ont souvent été rapportés dans la littérature (**Siani et al., 1999 ; Koh et al., 2002 ; Silva et al., 2003 ; Caldefie-Chézet et al., 2004 ; 2006 ; Dordevic et al., 2007 ; Lin et al., 2008 ; Olufunke et al., 2009 ; Cabral et al., 2015**).

Les mécanismes anti-inflammatoires des huiles essentielles sont multiples et se superposent obtenant un effet anti-inflammatoire général. Les huiles essentielles bloquent la formation et/ou la sécrétion des médiateurs de l'inflammation comme l'histamine, les cytokines pro-inflammatoires, les prostaglandines, les leucotriènes, l'oxyde d'azote et les radicaux libres produits par les neutrophiles. L'activité multiple d'huile essentielle est un bénéfice substantiel car de nombreux médiateurs participent à l'inflammation. Ce qui fait contraste avec la pharmacologie des substances qui n'ont qu'une seule cible biologique (**Inouye et Abe, 2007**).

L'huile essentielle du bois du cèdre himalayen (*Cedrus deodora*), a montré une activité anti-inflammatoire indéniable sur différents modèles expérimentaux d'inflammation, dont le test de la polyarthrite induite chez le rat (**Shinde et al., 1998 ; 1999**).

Hadji-Minaglou et Bolcato en 2005 ont rapporté que l'huile essentielle de rameaux fraîchement taillés de l'eucalyptus (*Eucalyptus radiata*) dont le composé majoritaire est l'eucalyptol était douée d'une grande activité anti-inflammatoire. En plus de l'eucalyptol, cette huile est riche en α -terpinéol et en terpinéol-4 dont l'activité antiseptique et immuno-modulante a été prouvée.

L'activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle des boutons floraux du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) a été expliquée par sa capacité d'inhibition de la synthèse des prostaglandines et du chimiotactisme des leucocytes. Cette activité semble due à l'eugénol. Elle abaisse chez le rat (action attribuée à l'eugénol) les taux sériques d'histamine, lors d'un test d'anaphylaxie provoquée. Cette activité anti-anaphylactique semble due à l'inhibition de la dégranulation des mastocytes (**Hadji-Minaglou et Bolcato, 2005**).

Des expérimentations menées sur des souris ont montré que l'huile essentielle de géranium était en mesure d'inhiber l'accumulation des cellules de l'inflammation induite par l'injection de curdlane (β -1,3-glucane) (**Maruyama et al., 2005**). L'huile essentielle de géranium était aussi capable de supprimer l'œdème de la patte induite par le carraghénane et l'arthrite induite par le collagène, ce qui suggère un intérêt thérapeutique possible dans les affections inflammatoires aiguës et chroniques (**Maruyama et al., 2006**).

La réaction allergique de type I (allergie immédiate) et de type IV (allergie retardée) jouent un rôle important dans le processus de l'inflammation. Les huiles essentielles telles que celle de l'aurone (*Artemisia abrotanum*) du cèdre himalayen (*Cedrus deodora*) et de l'arbre à thé suppriment les réactions d'hypersensibilité immédiates comme la pollinose et l'allergie retardée (**Inouye et Abe, 2007**).

Les autres effets bénéfiques de certaines huiles essentielles dans le traitement des infections sont leurs effets sur la dilatation bronchique, les effets antitussif, antiprurigineux, calmant, anti-nociceptif (**Inouye et Abe, 2007**).

On peut noter aussi que les huiles essentielles peuvent jouer un rôle dans la prévention contre le cancer. En effet certains aliments, comme l'ail ou le curcuma, s'avèrent être de bonnes sources d'agents préventifs contre l'apparition du cancer (**Jafri et al., 2001 ; Béliveau et Gingras, 2005**). Cette activité peut s'expliquer par le fait que certains de ces aliments, renferment des composés volatils dont l'activité chimio-préventive a été mise en évidence. A titre d'exemple, l'huile essentielle de l'ail contient des composés sulfurés dont leur effet préventif contre le cancer a été établi (**Milner, 2001 ; 2006**).

Deuxième partie

Partie expérimentale

L'utilisation des huiles essentielles par les civilisations constitue une pratique courante depuis l'antiquité. Auparavant, la Chine, l'Inde et le Moyen-Orient utilisaient des herbes et des huiles essentielles dans la cuisine, les cosmétiques, la médecine et les rituels religieux.

Les huiles essentielles (HEs) sont utilisées de nos jours pour une panoplie d'applications, leur importance a été soulignée en raison de la demande croissante des industries alimentaires et pharmaceutiques, mais aussi de leur potentiel à fournir des avantages thérapeutiques dans la prévention et la gestion des maladies. En effet, actuellement elles sont reconnues pour leurs usages médicaux : antibactérien, antifongique, antiviral, insecticide et leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. L'intérêt accru pour les substances naturelles de remplacement incite le milieu de la recherche à trouver de nouvelles utilisations et applications de ces substances.

Dans le présent travail, nous nous sommes proposés de valoriser trois espèces végétales, à savoir : *Pituranthos scoparius*, *Santolina africana*, et *Cymbopogon schoenanthus*, poussant spontanément en Algérie.

Dans cette partie expérimentale, nous présenterons les techniques utilisées dans cette étude :

- ✓ Extraction des huiles essentielles des parties aériennes (tiges et fleurs ou fruits/graines) de *Pituranthos scoparius* ; des parties aériennes de *Santolina africana* et des parties aériennes et sous-terraines de *Cymbopogon schoenanthus*.
- ✓ Caractérisation des huiles essentielles de ces plantes. Les analyses ont été réalisées dans le laboratoire de « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse, par une application conjointe de plusieurs méthodes chromatographiques et spectroscopiques ;
- ✓ Etude des activités biologiques (antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire) des huiles essentielles de ces trois espèces végétales.

I. Matériel végétal et extraction des huiles essentielles

I.1. Matériel végétal

- ***Pituranthos scoparius***

Un total de 93 échantillons des parties aériennes (tiges et fleurs ou fruits/graines) de pieds individuels de l'espèce *Pituranthos scoparius* ont été récoltés dans cinq stations en Algérie (**Figure 13, Page 87**).

Parmi les 93 échantillons récoltés, 75 d'entre eux, ont été échantillonnés pendant la période de Septembre 2016 à Janvier 2017 (du début de la floraison à la fin de la fructification).

Chaque mois, trois échantillons provenant des trois pieds individuels par station ont été récoltés : Ghardaïa (Échantillons n° 1-15), Biskra (Échantillons n° 16-30), Batna (Fedis-

Bouilef) (Échantillons n° 31-45), Batna (Djerma) (Échantillons n° 46-60), Béchar (Échantillons n° 79-93).

Les 18 autres échantillons, ont été récoltés à Béchar (Échantillons n° 61-78), l'échantillonnage a eu lieu au cours de deux printemps successifs (2016 et 2017, respectivement) avec également trois échantillons par mois provenant des trois pieds individuels : Mars (n° 61-63 et 70-72), Avril (n° 64-66 et 73-75) et Mai (n° 67-69 et 76-78).

L'identification de cette plante a été réalisée par le Dr F. Hassani (Laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes, université de Tlemcen). Un spécimen de référence a été déposé au Laboratoire des « Produits Naturels » (Département de Biologie, université de Tlemcen) sous le numéro de référence : A. 1941.

- *Santolina africana*

Un total de 18 échantillons de parties aériennes de *Santolina africana* ont été prélevés lors de la période de floraison au mois de mai 2016 dans trois stations de la province de Batna (Algérie) : Fesdis (Fesdis : F1-6 ; Bouilef : B1-6) et Oued Chaaba (Hamla : H1-6) (**Figure 18, Page 115**).

L'identification de cette espèce végétale a été réalisée par le Dr. Babali B. (Laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels, Université de Tlemcen). Un spécimen de référence a été déposé au Laboratoire des « Produits Naturels » (Département de biologie, université de Tlemcen), sous le numéro de référence : A. 2844.

- *Cymbopogon schoenanthus*

L'échantillonnage de l'espèce *Cymbopogon schoenanthus* a été effectué dans deux régions différentes, au sud de l'Algérie, Béchar et Ghardaïa. Un total de 24 échantillons ont été collectés. Nous avons prélevé sept échantillons au mois d'avril 2016 (E1-7) et sept autres échantillons au mois de janvier 2017 (E1-7) dans la station de Sebseb à Ghardaïa. Ensuite, nous avons récoltés dix échantillons au mois de Juillet 2017 dans la station de Lahmar à Béchar (**Figure 24, Page 140**).

L'identification de cette espèce végétale a été réalisée par le Dr F. Hassani (Laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels, Université de Tlemcen). Un spécimen de référence a été déposé au Laboratoire des « Produits Naturels » (Département de biologie, université de Tlemcen), sous le numéro de référence : P. 111.

I.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation, pendant une durée de 2 heures (Masse du matériel végétal : 140 -300 g pour *Pituranthos scoparius* ; 150 - 280 g pour *Santolina africana* ; 60 – 120 g pour *Cymbopogon schoenanthus*). Les rendements en huiles essentielles sont calculés par le rapport entre la masse d'huile essentielle et la masse végétale sèche à traiter (Carré, 1953). Pour éviter leur dégradation, due à l'action de l'air ou de la lumière, nous avons conservé les huiles essentielles à $4 \pm 1^\circ \text{C}$ dans l'obscurité.

II. Analyse des huiles essentielles

L'analyse des échantillons a été réalisée par les méthodes CPG-Ir, CPG-SM et RMN ^{13}C au niveau du laboratoire de « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse-CNRS. Dans certains cas, afin de concentrer des molécules minoritaires, nous avons procédé à une chromatographie sur colonne de silice, particulièrement pour l'huile essentielle de *Santolina africana*.

II.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

Conditions opératoires

Les analyses chromatographiques en phase gazeuse ont été réalisées à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer Clarus 500, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), d'un injecteur diviseur et de deux colonnes capillaires de dimensions (50 m x 0,22 mm ; épaisseur du film : 0,25 μm), apolaire (BP-1, polyméthylsiloxane) et polaire (BP-20, polyéthylène glycol).

Le gaz vecteur est l'hélium (0,8 ml/min), avec une pression en tête de colonne de 25 psi ; la température de l'injecteur et du détecteur est de 250 $^\circ\text{C}$; la température est programmée depuis 60 $^\circ\text{C}$ jusqu'à 220 $^\circ\text{C}$, à raison de 2 $^\circ\text{C}/\text{min}$, suivie d'un palier de 20 min à 220 $^\circ\text{C}$; l'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/60. La quantité d'huile essentielle injectée est de 0,1 μl .

Identification des constituants

Les constituants ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (Ir) calculés par rapport à une série d'alcane ($\text{C}_8\text{-C}_{28}$) avec interpolation linéaire sur les deux colonnes, avec ceux des composés de référence contenus dans la bibliothèque du laboratoire.

II.2. Spectrométrie de Masse (SM)

Conditions opératoires

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer TurboMass doté d'un injecteur automatique et d'une colonne capillaire de silice fondue (50 m x 0,22 mm, épaisseur du film 0,25 μm), BP-1 (diméthylpolysiloxane), couplé à un détecteur de masse

Perkin-Elmer TurboMASS. Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70 eV, la détection se fait par un analyseur quadripolaire constitué d'un assemblage de quatre électrodes parallèles de section cylindrique. La température de la source est de 250 °C. Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 40-400 Da.

Le gaz vecteur est l'hélium (0,8 ml/min), exerçant une pression en tête de colonne de 43 psi ; la température linéaire est programmée depuis 60 °C jusqu'à 220 °C, à raison de 2 °C/min, suivie d'un palier de 20 min à 220 °C ; l'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/75. La quantité d'huile essentielle injectée est de 0,5 µl.

II.3. Résonance Magnétique Nucléaire du carbone 13 (RMN ¹³C)

La RMN du ¹³C est utilisée selon la méthode mise au point et développée par l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse (Tomi *et al.*, 1995), qui est basée sur la comparaison des déplacements chimiques des carbones du mélange avec ceux des produits de référence enregistrés dans des conditions expérimentales (solvant, dilution) rigoureusement identiques à celles des huiles essentielles et stockés dans des bibliothèques de spectres propres au laboratoire.

Conditions opératoires

Les spectres RMN ont été enregistrés avec une sonde de 5 mm dans le chloroforme deutéré (CDCl₃) additionné de tétraméthylsilane (TMS) sur un spectromètre de marque « Bruker AVANCE 400 », opérant à 100,623 MHz pour le carbone 13 sous les conditions opératoires suivantes : angle d'impulsion 45° ; temps d'acquisition de 2,73 s correspondant à une acquisition de 128 K avec une largeur spectrale (SW) de 220 000 Hz (220 ppm) ; résolution digitale de 0,183 Hz/pt. Le nombre d'accumulation est compris entre 2 000 et 3 000 pour chaque enregistrement.

Les spectres RMN des échantillons ont été enregistrés en dissolvant 40 mg d'huile essentielle dans 0,5 ml de CDCl₃. Les données du signal de précession libre (FID) sont multipliées avant la transformée de Fourier par une fonction exponentielle (LB = 1,0 Hz). Les déplacements chimiques (δ) sont donnés en ppm par rapport au TMS pris comme référence interne.

Identification des constituants

L'identification est réalisée par la prise en compte de trois paramètres / i) le nombre de pics observés par rapport à ceux attendus pour chaque molécule, ii) le nombre de superpositions des signaux et iii) les variations des déplacements chimiques des carbones dans les spectres du mélange par rapport aux valeurs de référence (Δδ). En plus de ces paramètres qui sont

directement accessibles par un logiciel élaboré au laboratoire de « Chimie et Biomasse » à l'université de Corse (Tomi *et al.*, 1995 ; Rezzi *et al.*, 2002 ; Tomi et Casanova, 2006 ; Bighelli et Casanova, 2009), l'intensité des raies de résonance permet de contrôler l'appartenance d'un déplacement chimique à un composé donné. Cette technique permet l'identification de différents composants à une teneur supérieure ou égale à 0,3-0,4% sans purification préalable.

II.4. Fractionnement de l'huile essentielle de *Santolina africana*

Un échantillon regroupant plusieurs échantillons individuels de profil chromatographique similaire (Fesdis : F1 à F6 ; 247,9 mg) a été soumis à une chromatographie flash (gel de silice : 35 à 70 μm). Neuf fractions (Fr1-Fr9) ont été éluées avec un mélange de solvants de polarité croissante (pentane:éther diéthylique 100:0 à 0:100 et du méthanol pur) ; pentane:Et₂O, 100:0 ; Fr1 (10,3 mg) et Fr2 (12,6 mg) ; pentane:Et₂O, 98:2 ; Fr3 (9,2 mg) ; pentane:Et₂O, 95:5 Fr4 (14,4 mg) ; pentane:Et₂O, 90:10 Fr5 (18,8 mg) ; pentane:Et₂O, 75:25 Fr6 (86,5 mg) ; pentane:Et₂O, 50:50 Fr7 (18,7 mg) ; pentane:Et₂O, 0:100 ; Fr8 (22,3 mg) et méthanol pur, Fr9 (15,6 mg). Toutes les fractions ont été analysées par CPG(Ir), CPG-SM et RMN ¹³C.

II.5. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel XLSTAT-PRO (Addinsoft, France) (Legendre et Legendre, 1998).

III. Etude des activités biologiques des huiles essentielles

Utilisées depuis toujours par toutes les civilisations, les plantes ont apporté aide et réconfort aux maux les plus divers. D'abord, on se servit des plantes entières pour apporter soulagement et bien-être (sous forme de cataplasmes, infusions, macérations, décoctions), ensuite l'homme s'est intéressé à « détacher de son support » le principe aromatique d'une plante (Lardry et Haberkorn, 2007).

A juste titre, les huiles essentielles ont prouvé leur valeur inestimable pour la santé, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens (Bandoniène *et al.*, 2000). Ainsi, elles sont considérées actuellement comme des alternatives très prometteuses aux différents antibiotiques pour le traitement de diverses maladies infectieuses, mais aussi aux agents chimiques pour la conservation des denrées alimentaires, ou encore pour les produits cosmétiques (Fernandez et Chemat, 2012).

Dans ce contexte, nous avons voulu étudier le pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius*.

Afin de disposer d'une quantité suffisante pour pouvoir effectuer les activités biologiques, nous avons regroupé plusieurs échantillons qui présentent un profil chromatographique identique qualitativement et quantitativement.

III.1. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

La résistance multi-médicamenteuse est un problème de santé publique à l'échelle planétaire. En effet, beaucoup d'infections microbiennes telles que la tuberculose, le paludisme ou encore les maladies nosocomiales, sont devenues très résistantes aux antibiotiques. Il est donc urgent de trouver de nouvelles cibles pour de nouveaux antimicrobiens.

La détermination du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles est réalisée vis-à-vis de quatre bactéries, deux levures et trois champignons filamenteux en appliquant la méthode de diffusion sur disque. Dans l'affirmation, nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI) en utilisant la méthode de contact direct en milieu gélosé.

III.1.1. Provenance des germes

Les souches pathogènes (**Tableau 1**) utilisées ont été choisies pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires, leurs résistances courantes à différents antibiotiques et pour leur pathogénicité.

Tableau 1 : Origines des souches utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

	Microorganismes	Gram	Code	Origine
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 8739	LAPRONA
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif	ATCC 700603	LAPRONA
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538	MNHN
	<i>Bacillus cereus</i>	Positif	ATCC 25921	LAPRONA
Levures	<i>Candida albicans</i>		ATCC 10231	LAPRONA
	<i>Candida albicans</i>		ATCC 26790	LAPRONA
Champignons	<i>Aspergillus flavus</i>		MNHN 994294	MNHN
	<i>Aspergillus fumigatus</i>		MNHN 566	MNHN
	<i>Fusarium oxysporum</i>		MNHN 963917	MNHN

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris) ; **LAPRONA** : Laboratoire des Produits Naturels (Université de Tlemcen) ; **ATCC** : American Type Culture Collection.

III.1.2. Mise en culture des souches

Une préculture des souches microbiennes est préparée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. La turbidité est ensuite ajustée avec un spectrophotomètre, à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml pour les bactéries ($DO = 0,08$ à $0,1$ / $\lambda = 625$ nm) et $1-5 \times 10^6$ UFC/ml pour les levures ($DO = 0,12$ à $0,15$ / $\lambda = 530$ nm) (NCCLS, 2001). Pour les moisissures, les suspensions (préparées à partir d'une culture de 7 jours ayant atteint le stade de sporulation sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) sont ajustées à 10^6 spores/ml, ce qui correspond à une transmittance de 68-82% ($\lambda = 530$ nm) (Pfaller *et al.*, 1998).

III.1.3. Méthodes d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des HEs dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide (Fernandez et Chemat, 2012).

Les techniques choisies pour la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, portaient d'une part sur la caractérisation du pouvoir antimicrobien et d'autre part, à quantifier ce pouvoir en terme de concentration minimale inhibitrice.

Dans un premier temps, nous avons testé les huiles essentielles vis-à-vis des souches microbiennes par la méthode de diffusion sur disque et dans l'affirmation, nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu solide.

III.1.3.1. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Cette méthode qualitative teste la sensibilité ou la résistance des micro-organismes par contact direct avec les huiles essentielles. C'est une méthode qui est généralement utilisée pour la présélection de l'activité antimicrobienne des HEs, car le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure directe de l'activité des HEs mais une indication qualitative de la sensibilité ou de la résistance des germes.

Un disque de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégné de 15 μ l d'huile essentielle et de 5 μ l de DMSO est déposé sur la surface d'un milieu gélosé en boîte de Pétri (3 disques par boîte) préalablement ensemencées en surface en nappe avec 1 ml de suspension microbienne (10^6 UFC/ml pour les levures et les souches bactériennes sauf *Staphylococcus aureus* qui a été ensemencée à 10^7 UFC/ml et 10^4 spores/ml pour les moisissures) pendant 10 à 15 min. L'excédent de l'inoculum est éliminé par aspiration.

Les milieux de culture utilisés sont : i) gélose Mueller-Hinton pour les bactéries, ii) Sabouraud dextrose pour les levures et iii) milieu PDA (Potato Dextrose Agar) pour les moisissures.

Les boîtes sont laissées 1 h à température ambiante puis retournées et incubées à 37 °C pendant 18-24 h pour les bactéries, à 30 °C pendant 24-48 h pour les levures et à 25 °C pendant 3 à 5 jours pour les moisissures.

Les germes se développent sous forme de colonies visibles à l'œil nu pendant l'incubation de sorte qu'un halo clair autour du disque indique l'inhibition de la croissance microbienne, dont le diamètre de ce dernier dépend de la sensibilité aux HEs et est mesuré en mm, disque inclus.

En parallèle, la sensibilité des souches microbiennes, vis-à-vis de : la nystatine (NY. 30 µg/disque), le fluconazole (FLU. 25 µg/disque), la ciprofloxacine (CIP. 10 µg/disque), la vancomycine (VAN. 30 µg/disque), le chloramphénicol (CHL. 30 µg/disque) et la gentamicine (GMN. 10 µg/ml) a été testée comme contrôle positif et du DMSO (20 µl/disque) comme contrôle négatif.

III.1.3.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé

En bactériologie médicale, les souches bactériennes sont caractérisées par rapport à leur résistance ou à leur sensibilité aux antibiotiques par le biais de deux valeurs : le diamètre d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice (CMI). La CMI est la plus petite concentration d'antibiotique ou d'extrait capable d'inhiber la croissance bactérienne. La CMI n'est souvent pas bactéricide car les cellules de l'inoculum sont capables de se développer après repiquage sur milieu exempt du composé inhibiteur. La CMI est la plus faible concentration requise pour l'inhibition complète de l'organisme test en 24 ou 48 heures d'incubation (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Pour déterminer les CMIs des huiles essentielles vis-à-vis des souches sensibles, nous avons utilisé la méthode de contact direct en milieu gélosé.

Les huiles essentielles sont déposées dans des boîtes de pétri afin d'effectuer une gamme de concentration de 0,125 à 4 µl/ml dans la gélose Mueller-Hinton pour les bactéries, la gélose Sabouraud dextrose pour les levures et le milieu PDA pour les champignons filamenteux, avec pour chaque concentration, son équivalent en DMSO. Le mélange est alors homogénéisé et ensuite refroidi. Après une durée d'incubation de 24 h à 37 °C pour les bactéries, de 24-48 h à 30 °C pour les levures et de 3 à 5 jours à 25 °C pour les champignons, la lecture des résultats se fait par la présence ou l'absence de la croissance microbienne.

III.2. Pouvoir antioxydant des huiles essentielles

Même si les antioxydants de synthèse sont efficaces et bon marché et que leurs doses autorisées sont largement limitées pour éviter tout problème de toxicité, nous avons assisté depuis les années 1980 à un engouement pour les produits naturels, et au développement d'extraits végétaux à usage antioxydant, qui auraient des propriétés biologiques pouvant contribuer à réduire le risque de certaines pathologies (**De-Reynal et Multon, 2009**).

D'un point de vue biologique, les antioxydants sont définis comme des substances qui, lorsqu'ils sont présents à des concentrations inférieures au substrat d'oxydation, sont capables de retarder ou d'inhiber les processus d'oxydation (**Halliwell, 1999**).

Les expériences utilisées pour l'étude *in vitro* de l'activité antioxydante des huiles essentielles incluent habituellement, le piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl), le pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP) et le test de blanchissement du β -carotène.

Dans cette partie, le pouvoir antioxydant des huiles essentielles a été déterminé sur plusieurs échantillons par la méthode du piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) en utilisant deux solvants différents qui se distinguent par la nature du solvant (méthanol et éthanol).

III.2.1.1. Piégeage du radical libre DPPH• (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

Ce dosage spectrophotométrique est basé sur la réduction du radical stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée en DPPH réduit (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) de couleur jaune facilement mesurable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 515 à 520 nm (**Figure 12**). Cette réduction est due à l'aptitude des composés antioxydants à céder des protons ou des électrons (**Bandoniene et al., 2002 ; Pavlov et al., 2002 ; Gazi et al., 2004**).

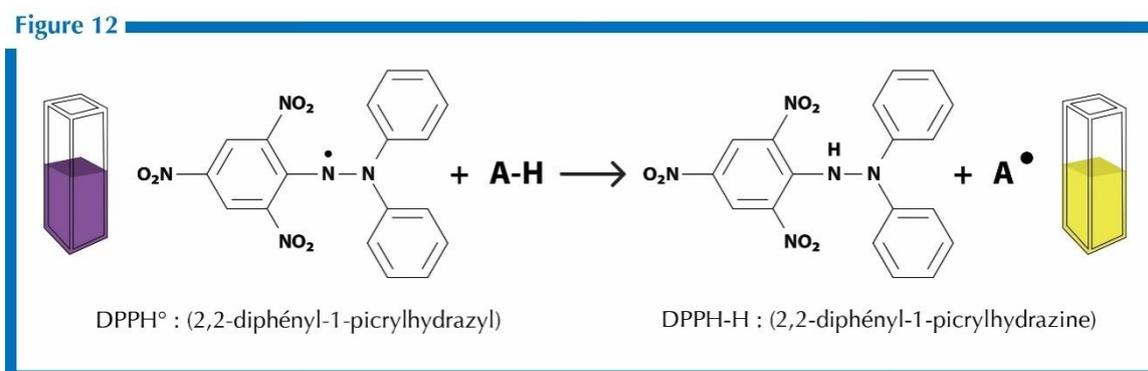


Figure 12 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

L'effet des huiles essentielles sur le (DPPH•) est mesuré selon deux protocoles :

Le premier protocole repose sur la méthode expérimentale de **Benhammou *et al.* (2007)**. 50 µl de chaque concentration (800, 400, 200, 100, 50 et 25 mg/ml) sont ajoutés à 1,95 ml d'une solution méthanolique de DPPH• (0,025 g/L) fraîchement préparée. Pour chaque concentration un blanc est préparé. Un contrôle négatif est préparé, en parallèle, en mélangeant 50 µl de méthanol avec 1,95 ml de la solution méthanolique de DPPH•. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le deuxième protocole repose sur la méthode expérimentale de **Blois (1958)**. 2,5 ml de diverses concentrations (256 ; 128 ; 64 ; 32 ; 16 ; 8 ; 4 ; 2 ; 1 ; 0,5 ; 0,25 ; 0,125 ; 0,0625 ; 0,03125 et 0,015625 mg/ml) d'éthanol absolu sont ajoutés à 1 ml d'une solution éthanolique de DPPH à 0,03 mg/ml. Pour chaque concentration, un blanc a été préparé. En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 2,5 ml d'éthanol absolu avec 1 ml d'une solution éthanolique de DPPH. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Pour les deux protocoles utilisés, l'activité de l'huile essentielle a été comparée à l'acide ascorbique en tant que contrôle positif.

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH en pourcentage (%) a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'Inhibition} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Avec : $A_{\text{contrôle}}$: Absorbance du contrôle ; A_{test} : Absorbance du test effectué

La concentration de l'huile essentielle nécessaire pour la réduction de 50% de la concentration initiale du DPPH• (CI₅₀), a été calculée à partir du graphique tracé en pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations en huile essentielle.

III.3. Activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Santolina africana*

La capacité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *S. africana* (échantillon collectif Fesdis F1–6) a été évaluée par un test d'inhibition de la lipoxigénase *in vitro* (**Eshwarappa *et al.*, 2016 ; Bayala *et al.*, 2014**).

L'analyse *in vitro* de l'activité inhibitrice de la lipoxigénase a été réalisée en utilisant une lipoxidase de type I–B (Lipoxigénase, LOX, EC 1.13.11.12) de Glycine max (soja). Elle est déterminée par spectrophotométrie, en enregistrant le taux de variation de l'absorbance à 234 nm. En effet, l'augmentation de l'absorbance à 234 nm est due à la formation de 13-

hydroperoxydes d'acide linoléique (substrat utilisé pour le test d'activité d'inhibition de la LOX) (**Eshwarappa et al., 2016 ; Bayala et al., 2014**).

Une solution mère de LOX a été préparée en dissolvant environ 5,7 unités/ml de LOX dans un tampon d'acide borique 0,2 M à pH 9,0 (1 unité correspondant à 1 μ mol d'hydroperoxyde formé par minute).

Cinq concentrations d'huile essentielle de *S. africana* dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) ont été testées pour le test d'activité d'inhibition de LOX (1,5 ; 2,5 ; 5,0 ; 7,5 et 10,0 mg/ml).

Les tests d'inhibition de LOX ont été réalisés en mélangeant 10 μ l de solution LOX et 10 μ l d'huile essentielle dans 970 μ l de tampon d'acide borique (0,2 M ; pH 9,0) et en les incubant brièvement à température ambiante. La réaction a ensuite été déclenchée par l'ajout de 10 μ l de solution de substrat (acide linoléique, 25 mM) et la vitesse a été enregistrée pendant 30 s à 234 nm.

Un essai a été mesuré en absence d'huile essentielle et un autre essai a été mesuré avec du DMSO mélangé avec de l'eau distillée (99,85% de DMSO dans de l'eau distillée), ce qui a permis d'éliminer l'effet d'inhibition du DMSO. Aucun effet inhibiteur du DMSO sur l'activité de la LOX n'a été détecté et l'activité de la LOX mesurée sans huile essentielle a été considérée comme témoin (réaction enzymatique à 100%). Tous les tests ont été effectués trois fois. Le pourcentage d'inhibition de la lipoxigénase a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = (V_{0\text{contrôle}} - V_{0\text{échantillon}}) \times 100 / V_{0\text{contrôle}}$$

$V_{0\text{contrôle}}$ est l'activité de l'enzyme (LOX) en absence d'huile essentielle, et $V_{0\text{échantillon}}$ est l'activité de l'enzyme en présence de l'huile essentielle (**Bayala et al., 2014**).

La CI_{50} a été calculée par la concentration d'huile essentielle de *S. africana* inhibant 50% de l'activité de la LOX.

Troisième partie

Résultats et Discussion

I. *Pituranthos scoparius*

Pituranthos scoparius (Coss. & Durieu) Benth. & Hook. (*Deverra scoparia* Coss. & Durieu (**Dobignard et Chatelain, 2011 ; Ozenda, 1991**)) est une plante endémique de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie et Mauritanie) qui pousse spontanément dans les pâturages rocaillieux, répandue dans les hauts plateaux et dans tout le Sahara (**Quézel et Santa, 1963 ; Dobignard et Chatelain, 2011 ; El Oualidi et al., 2012**).

Plusieurs études ont été réalisées sur la composition de l'huile essentielle de *P. scoparius* obtenue par hydrodistillation des parties aériennes, des tiges, des fleurs et des graines. Cependant, la plupart des travaux décrivent l'analyse de seulement un ou deux échantillons d'huile essentielle.

Il ressort de l'examen des données de la littérature que l'huile essentielle provenant des parties aériennes de *P. scoparius* présente une grande variabilité chimique. Tous les échantillons étudiés contiennent des monoterpènes hydrocarbonés (α -pinène, sabinène, limonène) associés à des phénylpropanoïdes (myristicine et apiole dill). Cependant, les teneurs en ces composés varient considérablement d'un échantillon à l'autre. De plus, l'ouest de l'Algérie n'a jamais fait l'objet d'une étude de la composition chimique des huiles essentielles de cette espèce végétale.

Ainsi, le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des huiles essentielles des parties aériennes (tiges et fleurs ou fruits/graines) de cette espèce végétale à travers i) la détermination de la composition chimique en fonction du cycle de développement de la plante et pendant deux périodes de développement (printemps, automne) ii) l'étude de la variabilité chimique et iii) l'étude des activités biologiques.

I.1. Caractérisation chimique des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius*

A la lumière de ces observations, nous nous sommes proposés de valoriser l'espèce végétale *Pituranthos scoparius* poussant spontanément en Algérie, à travers la composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes (tiges et fleurs ou fruits/graines), et cela dans cinq stations différentes, deux d'entre elles représentent des régions sahariennes (Béchar et Ghardaïa), les trois autres stations se trouvent dans les hauts plateaux (Batna-Fesdis, Batna-Djerma et Biskra). En exploitant la complémentarité des techniques analytiques (CPG(Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C), nous détaillerons l'analyse de dix échantillons d'huile essentielle des parties aériennes (tiges et fleurs ou fruits/graines), puis dans un second temps, nous nous intéresserons à l'analyse de 83 autres échantillons afin de mettre en évidence l'existence ou l'absence d'une variabilité chimique.

I.1.1. Etude de la composition et de la variabilité chimique des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*

Dans le but d'évaluer, la variabilité intra-populationnelle ainsi que la variation au cours du cycle de développement de la plante et sur deux périodes de développement, nous avons étudié la composition chimique de 93 échantillons d'huile essentielle de *Pituranthos scoparius*.

Nous avons choisi cinq lieux d'échantillonnage présentant des conditions climatiques différentes (**Figure 13**) : Ghardaïa, Biskra, Batna (Fesdis-Bouilef et Djerma) et Béchar.

Dans un premier temps, nous avons prélevé 75 échantillons durant la période allant de septembre 2016 à janvier 2017 (du début de la floraison à la fin de la fructification). Chaque mois, trois échantillons, prélevés à partir de pieds individuels, ont été récoltés par station : Ghardaïa (Échantillons n° 1-15), Biskra (Échantillons n° 16-30), Batna (Fesdis-Bouilef) (Échantillons n° 31-45), Batna (Djerma) (Échantillons n° 46-60) et Béchar (Échantillons n° 79-93).

Parallèlement, nous avons récolté 18 autres échantillons dans la région de Béchar (Échantillons n° 61-78), l'échantillonnage a eu lieu au cours du printemps sur deux années successives (2016 et 2017, respectivement) avec également trois échantillons par mois prélevés à la même date à partir de trois pieds individuels : mars (n° 61-63 et 70-72), avril (n° 64-66 et 73-75) et mai (n° 67-69 et 76-78).

Figure 13

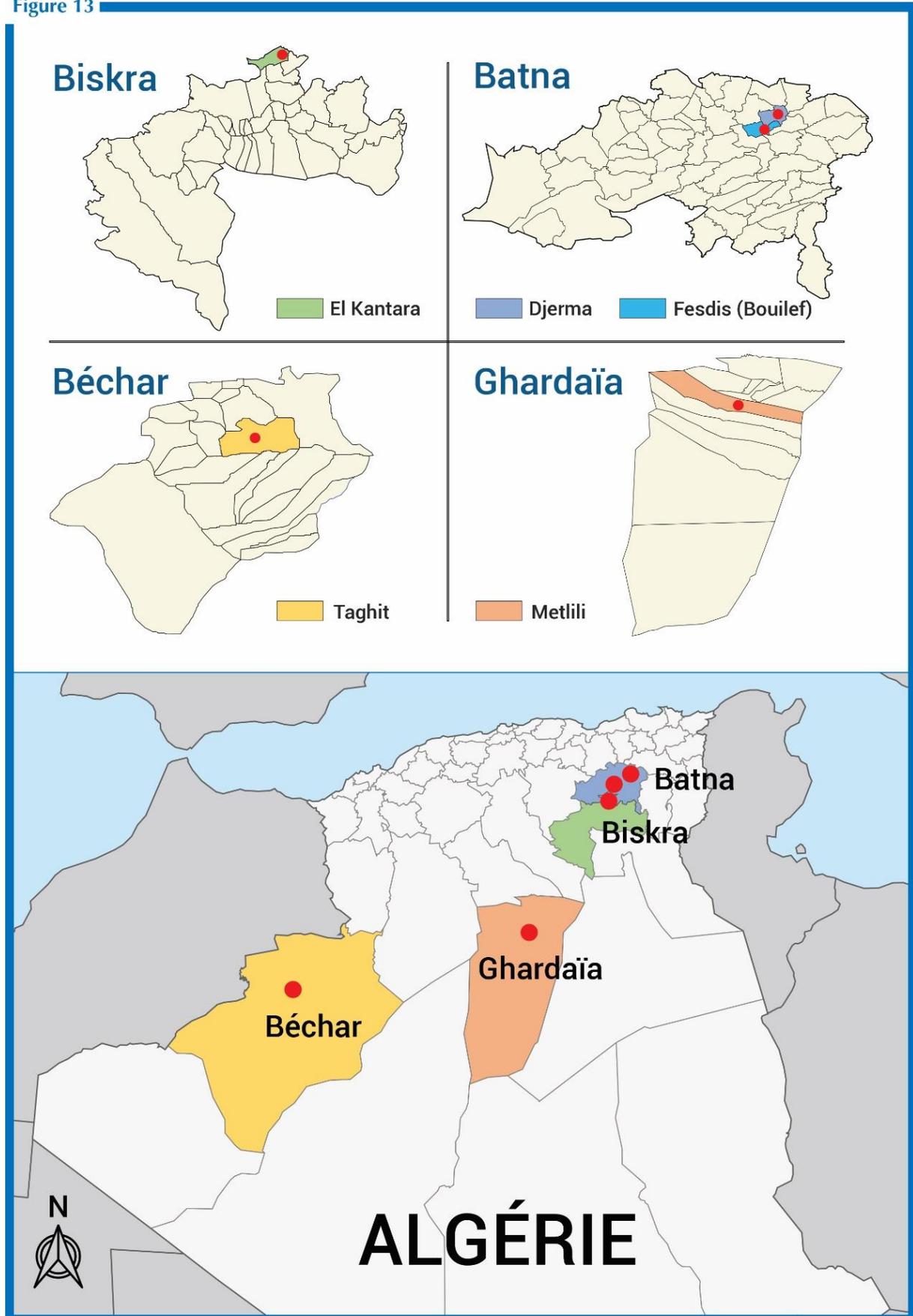


Figure 13 : Carte d'échantillonnage de *Pituranthos scoparius*

I.1.1.1. Rendements d'extraction

Les huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* ont été obtenues par hydrodistillation. Elles ont un aspect liquide et une couleur jaune pâle. Les rendements sont calculés par rapport à la matière végétale sèche et reportés dans les **tableaux 2 et 3**.

Une très grande variabilité concernant les rendements en huile essentielles a été observée, allant de 0,16 à 0,99%. Cette variabilité existe à la fois entre les échantillons d'une même station, entre les différentes stations, mais aussi entre les périodes d'échantillonnage.

Les rendements les plus élevés ont été obtenus pour les régions du Sahara, allant de 0,24 à 0,70% pour la région de Ghardaïa et de 0,25 à 0,99% pour la région de Béchar.

Quant aux rendements les plus faibles, ils ont été observés pour les plantes collectées dans les hauts plateaux allant de 0,17 à 0,43% pour la région de Biskra, de 0,16 à 0,37% pour la région de Batna-Fesdis et de 0,17 à 0,33% pour la région de Batna-Djerma.

De plus, les rendements les plus élevés ont également été obtenus pendant la période du printemps (**Tableau 3**). Cependant, une grande variation a été remarquée en comparant les rendements obtenus en 2016 et 2017 dans la station de Béchar, suggérant la probable grande influence des conditions climatiques.

Compte tenu de ces résultats, nous pouvons conclure que les échantillons prélevés dans la région du Sahara (Sud de l'Algérie) produisent une quantité plus importante d'huile essentielle (avec des rendements qui varient entre 0,24 et 0,99%) que ceux prélevés dans les hauts plateaux (0,16-0,43%).

Cette grande variabilité des rendements en huile essentielle de *P. scoparius* obtenue, concorde avec les données de la littérature. **Gourine et al.** en **2011** rapportent des pourcentages de rendement variant entre 0,6 à 2,7%, largement supérieurs aux nôtres. De même **Lograda et al.** (**2013**) rapportent des teneurs en huile essentielle plus importantes variant entre 0,47 et 2,29%.

Tableau 2 : Rendements (%) en huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* d'Algérie

Mois	Stations														
	Ghardaïa			Biskra			Batna						Béchar		
	Moy ± ET ^a	Min ^b	Max ^c	Moy ± ET	Min	Max	Fesdis-Bouilef			Djerma			Moy ± ET	Min	Max
Septembre	0,43 ± 0,23	0,24	0,68	0,23 ± 0,05	0,19	0,29	0,28 ± 0,09	0,19	0,37	0,26 ± 0,06	0,22	0,33	0,53 ± 0,02	0,51	0,55
Octobre	0,37 ± 0,01	0,36	0,38	0,21 ± 0,02	0,19	0,22	0,29 ± 0,03	0,27	0,33	0,23 ± 0,04	0,18	0,25	0,37 ± 0,10	0,37	0,56
Novembre	0,42 ± 0,04	0,40	0,47	0,32 ± 0,12	0,19	0,43	0,26 ± 0,02	0,25	0,28	0,21 ± 0,03	0,17	0,23	0,55 ± 0,09	0,45	0,61
Décembre	0,66 ± 0,06	0,60	0,70	0,20 ± 0,03	0,17	0,23	0,29 ± 0,11	0,16	0,36	0,22 ± 0,03	0,18	0,25	0,52 ± 0,17	0,42	0,72
Janvier	0,58 ± 0,04	0,55	0,63	0,22 ± 0,01	0,21	0,23	0,27 ± 0,01	0,26	0,27	0,22 ± 0,03	0,19	0,25	0,43 ± 0,04	0,40	0,47

^a Moy ± ET: Moyenne ± Ecart type. ^b Min : Minimum. ^c Max : Maximum

Tableau 3 : Rendements (%) en huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* récoltés au printemps à Béchar (2016 et 2017)

Mois	2016			2017		
	Moy ± ET ^a	Min ^b	Max ^c	Moy ± ET	Min	Max
Mars	0,96 ± 0,05	0,90	0,99	0,33 ± 0,09	0,25	0,43
Avril	0,45 ± 0,17	0,30	0,63	0,62 ± 0,12	0,53	0,75
Mai	0,63 ± 0,06	0,57	0,69	0,43 ± 0,01	0,42	0,44

^a Moy ± ET : Moyenne ± Ecart type. ^b Min : Minimum. ^c Max : Maximum.

I.1.1.2. Analyse détaillée et la variabilité chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*

Afin de déterminer la composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes (tiges et fleurs ou fruits/graines) de *Pituranthos scoparius*, nous avons analysé le profil chromatographique de 93 échantillons provenant de cinq stations différentes de l'Algérie : Ghardaïa, Biskra, Batna (Fesdis-Bouilef et Djerma) et Béchar.

Dans une première partie, nous présentons l'analyse détaillée de 10 échantillons d'huile essentielle qui a été effectuée par une combinaison de techniques chromatographiques et spectroscopiques. Ensuite, dans une seconde partie, nous décrivons la composition chimique des huiles essentielles de 93 échantillons qui a été soumise à une analyse statistique afin de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique.

-a- Analyse détaillée de dix échantillons d'huile essentielle des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*

Dix échantillons d'huile essentielle ont été soumis à des analyses combinant une technique chromatographique sur deux colonnes de polarité différente (CPG-Ir) et deux techniques spectroscopiques (RMN ^{13}C et CPG-SM).

Au total, 62 composés sont identifiés (**Tableau 4**), représentant entre 91,2 et 99,3% de la composition chimique totale de l'huile essentielle. La composition de ces huiles essentielles présente une grande variabilité chimique. Tous les échantillons sont caractérisés par une forte proportion de monoterpènes hydrocarbonés (sabinène, limonène, α -pinène) et/ou de phénylpropanoïdes (6-méthoxy élémicine, myristicine et apiole dill). Les teneurs des composés majoritaires varient considérablement d'un échantillon à l'autre : 6-méthoxy élémicine (0,0-58,2%), sabinène (1,1-32,4%), élémicine (0,0-29,1%), limonène (0,7-26,7%), myristicine (tr-20,1%), apiole dill (0,0-18,0%), α -pinène (0,7-17,1%), α -phellandrène (tr-15,4%), (Z)-ligustilide (0,0-9,7%) et germacrène D (0,2-9,5%). Quatre autres composés sont identifiés à des teneurs appréciables : β -pinène (0,8-7,1%), β -phellandrène (tr-7,9%), terpinéol-4 (0,2-7,1%) et *p*-cymène (0,5-5,5%).

Selon le **tableau 4**, cinq échantillons présentent des compositions chimiques différentes caractérisées par de très faibles quantités de myristicine (0,1-1,4%) :

- L'échantillon 60 est caractérisé par forte teneur en 6-méthoxy élémicine (58,2%), suivie du limonène (22,4%) ;
- Trois échantillons 10, 12 et 81 sont dominés par l'association sabinène/6-méthoxy élémicine/limonène avec des teneurs de : 30,3%/31,3%/32,4% ; 29,4%/25,1%/27,4% et 14,6%/21,6%/19,1%, respectivement ;

▪ Enfin, l'échantillon 24 est caractérisé par des teneurs similaires en élémicine (29,1%) et en sabinène (28,0%), suivis par l' α -pinène (10,6%).

Les composés majoritaires dans l'échantillon 52 sont la myristicine (19,4%) et l'apiole dill (16,8%), suivis par l' α -pinène (11,2%) et le sabinène (10,5%).

L'échantillon 19 quant à lui, contient du sabinène (22,9%) et de l'apiole dill (18,0%) comme composés majoritaires, suivi par la myristicine (12,7%).

L'échantillon 42 présente une composition dominée par la myristicine (20,1%) et le sabinène (19,9%), accompagnée par l' α -pinène (10,2%).

Le limonène a été identifié comme composé majoritaire dans l'échantillon 4 (26,7%). Dans cet échantillon, la myristicine (13,6%), l' α -pinène (11,3%) et l' α -phellandrène (11,3%) sont présents à des quantités appréciables. Tandis que, l' α -pinène (17,1%) et l' α -phellandrène (15,4%) sont majoritaires dans l'échantillon 3, suivi de la (*Z*)-ligustilide (9,7%) et du germacrène D (9,5%) qui sont présents à des teneurs appréciables par rapport aux autres échantillons (0,0-2,2% et 0,2-3,7%, respectivement). L' α -phellandrène est présent également à des teneurs appréciables dans ces deux derniers échantillons (3 et 4) par rapport aux autres échantillons (tr-0,7%).

Tableau 4 : Composition chimique de dix échantillons d'huile essentielle des parties aériennes de *Pituranthos Scoparius*

Composés ^a	I _r ^{a,b}	I _r ^c	Echantillons										Mode d'identification
			3	4	10	12	19	24	42	52	81	60	
α -Thujène	922	1023	0,6	1,0	0,4	0,4	0,6	0,6	0,9	0,6	0,3	0,9	IR, SM, RMN ¹³ C
α-Pinène	930	1022	17,1	11,3	2,9	2,8	7,2	10,6	10,2	11,2	0,7	2,4	IR, SM, RMN ¹³ C
Camphène	942	1069	0,2	0,2	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,2	IR, SM, RMN ¹³ C
Thujadiène	946	-	-	-	-	-	Tr	-	0,1	0,1	-	-	IR, SM
Sabinène	964	1126	2,0	1,1	30,3	31,3	22,9	28,0	19,9	10,5	32,4	1,1	IR, SM, RMN ¹³ C
β-Pinène	969	1115	7,1	3,7	1,5	1,5	3,7	1,9	4,9	2,6	0,9	0,8	IR, SM, RMN ¹³ C
Myrcène	979	1165	1,1	1,0	0,8	0,8	0,4	0,3	0,4	0,3	1,0	0,1	IR, SM, RMN ¹³ C
α-Phellandrène	996	1170	15,4	11,3	0,1	0,1	0,3	0,3	0,1	0,3	0,7	Tr	IR, SM, RMN ¹³ C
3- δ -Carène	1003	1151	0,1	Tr	-	0,5	0,5	0,3	0,8	Tr	Tr	-	IR, SM
α -Terpinène	1008	1184	0,1	Tr	0,7	0,6	0,7	0,7	0,3	0,3	0,8	-	IR, SM
<i>p</i>-Cymène	1011	1275	3,9	3,3	0,5	0,6	3,0	3,5	4,7	5,5	0,7	1,6	IR, SM
Limonène*	1021	1206	9,2	26,7	14,6	21,6	1,7	0,7	1,0	2,1	19,1	22,4	IR, SM, RMN ¹³ C
β-Phellandrène*	1021	1214	7,9	5,7	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	0,3	Tr	IR, SM, RMN ¹³ C
(<i>Z</i>)- β -Ocimène	1024	1235	Tr	-	0,1	Tr	0,5	0,3	0,9	0,4	Tr	1,2	IR, SM, RMN ¹³ C
γ -Terpinène	1047	1247	0,3	0,4	1,6	1,5	1,7	1,4	0,9	1,2	1,6	0,2	IR, SM, RMN ¹³ C
<i>trans</i> -Hydrate de sabinène	1052	1465	-	-	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3	0,2	0,4	-	IR, SM
Terpinolène	1077	1286	0,5	0,3	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4	Tr	IR, SM, RMN ¹³ C
<i>cis</i> -Hydrate de sabinène	1082	1541	-	-	0,1	0,2	0,2	0,3	0,1	0,1	0,3	Tr	IR, SM
Campholéal	1104	1495	Tr	Tr	-	Tr	0,3	0,4	0,9	1,3	0,3	0,5	IR, SM, RMN ¹³ C
<i>trans</i> -Pinocarvéol	1122	1658	Tr	Tr	0,1	0,1	0,8	0,8	1,5	1,2	0,1	0,2	IR, SM
<i>cis</i> -Verbénol	1123	1658	-	-	-	-	0,1	0,2	0,4	0,5	0,2	0,1	IR, SM
<i>trans</i> -Verbénol	1127	1680	0,1	0,1	0,1	0,1	0,9	1,6	1,8	2,3	0,1	0,4	IR, SM, RMN ¹³ C
Pinocarvone	1138	1571	Tr	-	-	-	0,3	0,3	0,8	0,7	-	0,1	IR, SM
<i>p</i> -Menth-1,5-diène-8-ol	1144	1714	Tr	Tr	-	-	0,2	0,2	0,2	0,4	-	Tr	IR, SM
Cryptone	1155	1661	0,1	0,1	Tr	0,1	0,2	0,3	0,2	0,2	-	-	IR, SM
<i>p</i> -Cymène-8-ol	1159	1846	Tr	Tr	-	Tr	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	IR, SM

Terpinéol-4	1160	1604	0,2	0,2	3,8	4,0	4,4	4,1	4,4	2,1	7,1	0,3	IR, SM, RMN ¹³ C
Myrténal	1169	1631	-	-	-	-	0,3	0,3	0,9	0,7	-	0,2	IR, SM
α -Terpinéol	1171	1700	Tr	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	-	IR, SM
Estragole	1174	1678	Tr	-	-	Tr	0,3	0,3	0,2	0,2	-	Tr	IR, SM
Myrténol	1177	1796	-	-	-	-	0,3	0,2	0,7	0,5	-	0,1	IR, SM
<i>trans</i> -Carvéol	1196	1840	Tr	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,1	1	IR, SM, RMN ¹³ C
<i>cis</i> -Carvéol	1208	1871	-	-	-	Tr	0,1	-	-	-	-	0,3	IR, SM, RMN ¹³ C
Cuminaldéhyde	1211	1782	-	-	-	-	0,1	0,2	0,1	0,2	-	-	IR, SM
Carvone	1213	1738	0,1	0,1	0,1	0,1	-	Tr	0,1	0,2	Tr	1,6	IR, SM, RMN ¹³ C
Cumin alcool	1262	2407	-	-	-	-	0,1	0,2	0,1	0,1	-	-	IR, SM
Acétate de bornyle	1268	1583	0,1	0,2	-	0,1	0,2	-	0,1	0,4	-	0,4	IR, SM, RMN ¹³ C
Thymol	1271	2179	0,2	0,1	-	-	0,4	0,2	0,3	0,6	0,1	0,1	IR, SM
Carvacrol	1279	2223	0,1	-	-	Tr	0,1	Tr	0,3	0,1	0,1	-	IR, SM
2,4-Décadiénal	1288	1798	Tr	-	0,1	Tr	0,1	Tr	0,5	0,1	-	-	IR, SM
Eugénol	1326	2176	-	0,1	-	-	0,1	Tr	Tr	0,1	-	-	IR, SM
Méthyleugénol	1369	2019	2,6	1,1	0,2	0,2	0,8	0,6	1,3	1,0	0,3	0,3	IR, SM, RMN ¹³ C
α -Copaène	1373	1492	0,7	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1	IR, SM
β -Cubébène	1384	1537	0,5	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	0,2	0,1	0,1	Tr	IR, SM
(<i>E</i>)- β -Caryophyllène	1416	1599	0,3	0,1	0,1	0,1	Tr	-	-	-	0,1	-	IR, SM
α -Cubébène	1446	1537	Tr	Tr	-	Tr	Tr	-	0,1	0,1	Tr	-	IR, SM
Germacrène D	1473	1710	9,5	2,8	2,0	3,7	0,5	0,3	0,2	0,3	3,1	0,2	IR, SM, RMN ¹³ C
β -Sélinène	1479	1712	0,3	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	IR, SM
Myristicine*	1488	2272	Tr	13,6	0,1	0,1	12,7	1,4	20,1	19,4	0,1	0,1	IR, SM, RMN ¹³ C
Bicyclogermacrène*	1488	1733	0,5	0,3	0,7	0,4	-	-	-	-	0,6	0,2	IR, SM, RMN ¹³ C
δ -Cadinène	1512	1758	1,8	0,5	0,3	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,1	Tr	IR, SM, RMN ¹³ C
Elémicine	1518	2226	0,1	Tr	Tr	Tr	0,1	29,1	0,1	0,2	-	0,1	IR, SM
Spathuléol	1561	2125	0,4	0,8	-	-	0,9	0,5	1,6	1,7	-	2,1	IR, SM, RMN ¹³ C
6-Méthoxy élémicine	1567	2215	0,1	-	29,4	25,1	0,8	0,1	0,2	0,6	27,4	58,2	IR, SM, RMN ¹³ C
Oxyde de caryophyllène	1570	1961	Tr	Tr	-	Tr	0,4	0,1	Tr	0,6	-	-	IR, SM, RMN ¹³ C
Apiole dill	1590	2363	0,1	5,0	-	-	18,0	1,4	5,0	16,8	-	Tr	IR, SM, RMN ¹³ C

<i>t</i> -Muurolol	1624	2187	1,5	0,4	0,3	0,1	1,1	1,3	1,7	1,7	-	0,2	IR, SM, RMN ¹³ C
β-Eudesmol	1632	2230	2,9	0,9	0,1	0,3	0,3	0,3	0,7	1,1	0,1	0,5	IR, SM, RMN ¹³ C
α-Cadinol	1634	2228	0,3	0,1	Tr	Tr	0,5	-	0,4	0,5	Tr	-	IR, SM
α-Eudesmol	1637	2218	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	IR, SM
Eudesma-4(15),7-dièn-1-β-ol	1664	2347	0,2	0,1	Tr	0,1	0,7	0,3	0,5	1,0	Tr	Tr	IR, SM
(Z)-Ligustilide	1691	2579	9,7	2,2	-	-	-	-	Tr	0,1	-	-	IR, SM, RMN ¹³ C
Monoterpènes hydrocarbonés			65,5	66,0	53,9	62,2	44,0	49,1	45,7	35,7	58,9	30,9	
Monoterpènes oxygénés			0,8	0,9	4,6	5,2	9,4	10,0	13,6	12,2	8,5	5,4	
Sesquiterpènes hydrocarbonés			13,6	4,1	3,4	4,7	1,0	0,7	1,2	1,0	4,1	0,6	
Sesquiterpènes oxygénés			5,5	2,4	0,4	0,5	3,9	2,2	4,5	6,1	0,1	2,8	
Phénylpropanoïdes			2,9	19,8	29,7	25,4	32,5	32,9	26,9	38,3	27,7	58,7	
Autres			9,7	2,2	0,1	0,0	0,1	0,0	0,5	0,1	0,0	0,0	
Total (%)			98,0	95,4	92,1	98	91,2	94,9	92,4	93,5	99,3	98,4	

^a: L'ordre d'élution et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^bIr_a: Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. ^cIr_p: Indices de rétention mesurés sur colonne polaire. Tr: Traces. -: Absence totale du composé. Echantillons: Ghardaïa (3, 4, 10, 12); Biskra (19, 24); Batna-Bouïlef (42); Batna-Djerma (52); Béchar (60, 80).

En confrontant nos résultats avec ceux décrits dans la littérature, nous avons constaté que l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* présente une composition chimique très variable. Ainsi, les constatations suivantes mettent en évidence certaines particularités :

- La 6-méthoxy élémicine (jusqu'à 58,2%) est identifiée pour la première fois dans l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* et en particulier dans les échantillons de Béchar situé à l'ouest de l'Algérie. Cette région n'a jamais fait l'objet d'une étude de la composition chimique de l'huile essentielle de cette plante. Il en est de même pour la ligustilide qui est présent en quantité appréciable (jusqu'à 9,6%) dans la région de Ghardaïa.
- La teneur de l'acétate de bornyle est beaucoup moins forte dans nos échantillons (0,0-0,4%) que dans celles reportées dans certains travaux où ce composé peut être présent en quantité appréciable (9,6%) (**Gourine et al., 2011**) et même être majoritaire (21%) (**Vernin et al., 1999**).
- L'étude menée par **Vérité et al.** en **2004** est la seule qui signale la présence du thymol (5,9% au niveau des graines) et du méthyleugénol (5,9% au niveau des tiges) à des teneurs appréciables, alors que leurs teneurs n'excèdent pas 0,0 à 0,6 et 0,2 à 2,6%, respectivement dans nos échantillons ;
- Le spathulénol et le β -eudesmol sont plus abondants dans un échantillon des tiges de *Pituranthos scoparius* récoltés dans la région d'Oum El Boughi (Est de l'Algérie) 4,5% et 4,1% respectivement (**Vérité et al., 2004**) contre (0,0 à 2,1% et 0,1 à 2,9%, respectivement), que dans nos échantillons ;
- A notre connaissance, **Vernin et al. (1999)** sont les seuls à noter la présence de l'apiole comme composé majoritaire (52%) dans un échantillon d'huile obtenu à partir des graines sans toutefois préciser l'isomère (apiole dill ou apiole parsley) ;
- L'élémicine, composé majoritaire dans certains échantillons d'huile essentielle étudiés (jusqu'à 29,1%) alors qu'il ne dépasse pas 0,3%, ou il est absent dans tous les autres échantillons de la littérature ;
- La composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes (tiges et feuilles) fraîches et sèches de *Pituranthos scoparius* récoltées à Souk Ahras (Est de l'Algérie) réalisées **Chikhouné et al.** en **2016** est caractérisée par l'absence totale des phénylpropanoïdes ;
- Enfin **Ksouri et al.** en **2017** sont les seuls qui signalent la présence de deux phtalides isomères : le (3Z)-butylidène phtalide (2,6%) et le (3E)-butylidène phtalide (1,2%), composés inhabituels des huiles essentielles.

Ainsi, il apparaît que les huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* de nos échantillons présentent des compositions chimiques différentes. Celles-ci sont dominées soit par des monoterpènes hydrocarbonés (sabinène, limonène, α -pinène) soit par des phénylpropanoïdes (6-méthoxy élémicine, élémicine, myristicine, apiole dill). De ce fait, il serait désormais intéressant d'étudier l'éventuelle variabilité chimique des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* récoltés dans différentes régions en Algérie.

-b- Variabilité chimique des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*

Dans le but de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius*, nous avons analysé 93 échantillons d'huile essentielle obtenus à partir des parties aériennes (tiges et fleurs ou fruits/graines) récoltés dans quatre régions de l'Algérie, deux d'entre elles représentent la région du Sahara (Béchar et Ghardaïa) et les deux autres se trouvent dans les haut-plateaux (Batna-Fesdis, Batna-Djerma et Biskra).

L'ensemble des 93 échantillons a été soumis à des analyses CPG (FID) et des indices de rétention (IR) de différents composants ont été mesurés sur deux colonnes de polarité différente. Parmi eux, huit échantillons sélectionnés sur la base de leur profil chromatographique ont également été analysés par CPG-SM et deux échantillons par RMN ^{13}C (étude détaillée).

Au total, 62 composants ont été identifiés et sont les mêmes que ceux identifiés lors de l'étude détaillée de dix échantillons, présentée précédemment, représentant entre 86,2 à 99,8% de la composition chimique totale de l'huile essentielle (**Annexe 1**).

Ces huiles essentielles sont riches en monoterpènes hydrocarbonés et/ou en phénylpropanoïdes. Les teneurs des composés majoritaires varient considérablement d'un échantillon à l'autre : 6-méthoxy élémicine (0,0-59,6%), sabinène (0,8-55,6%), limonène (0,3-44,0%), α -pinène (0,7- 31,0%), la myristicine (0,0-32,4%), l'élémicine (0,0-29,1%) et l'apiole dill (0,0-31,4%). D'autres constituants sont présents en quantités appréciables, à savoir : α -phellandrène (jusqu'à 17,8%), β -pinène (jusqu'à 9,6%), 3- δ -carène (jusqu'à 12,4%), *p*-cymène (jusqu'à 9,6%), le terpinéol-4 (jusqu'à 10,9%), la (*Z*)-ligustilide (jusqu'à 9,7%), le germacrène D (jusqu'à 9,5%) et le (*Z*)- β -ocimène (jusqu'à 7,1%) (**Tableau 5**).

Ayant observé des variations concernant la composition et les teneurs des composés majoritaires, les résultats de la composition chimique des 93 échantillons ont été soumis à l'analyse statistique dans le but de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius*. Ainsi, ces compositions ont été soumises à trois tests statistiques : une analyse en composantes principales (ACP) (**Figure 14**), une partition

utilisant la méthode du *K*-means et une classification hiérarchique ascendante (CHA ou dendrogramme : **Figure 15**).

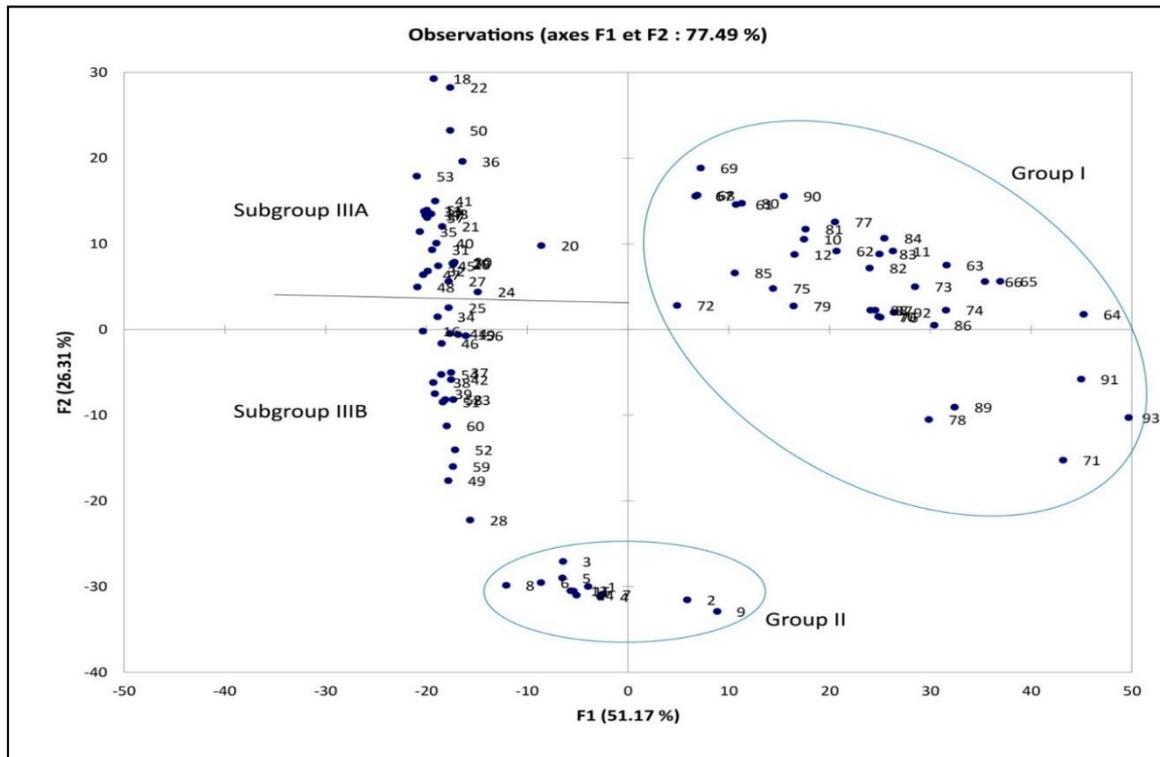


Figure 14 : Analyse en composantes principales de 93 échantillons des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*

La combinaison des résultats de la classification ascendante hiérarchique et de l'analyse en composantes principales pour laquelle le plan défini par les deux premiers axes, décrit 77,49% du total de la variance des populations, suggère l'existence de trois groupes principaux, qui ont été distingués sur la base des teneurs en 6-méthoxy élémicine (0,0-59,6%), sabinène (0,8-55,6%), limonène (0,3-44,0%), α -pinène (0,7-31,0%), myristicine (0,0-32,4%), élémicine (0,0-29,1%) et apiole dill (0,0-31,4%). En parallèle, le groupe III a été subdivisé en deux sous-groupes IIIA et IIIB (**Tableau 5**).

Les échantillons d'huile du **groupe I** (36 échantillons sur 93) se distinguent nettement de ceux des deux autres groupes par des teneurs élevées en 6-méthoxy élémicine ($M = 33,7\%$; $ET = 12,3$), suivie du sabinène ($M = 24,5\%$; $ET = 10,6$) et du limonène ($M = 19,4\%$; $ET = 7,6$). En outre, l' α -pinène ($M = 3,0\%$; $ET = 1,7$), le germacrène D ($M = 3,0\%$; $ET = 1,6$) et le terpinéol-4 ($M = 3,6\%$; $ET = 1,6$) sont les autres composés présents à des teneurs appréciables. Inversement, les phénylpropanoïdes, à savoir : la myristicine (0,0-0,3%), l'élémicine (0,0-0,4%) et l'apiole dill (0,0-0,1%) sont présents en très faibles quantités dans ce groupe. La(Z)-ligustilide est totalement absente dans les échantillons de ce groupe. On peut noter aussi que la composition de tous les échantillons est assez similaire. Par ailleurs, à notre connaissance, la

composition chimique de ce groupe I, caractérisée par une teneur élevée en 6-méthoxy élémicine (jusqu'à 59,6%) n'a jamais été rapportée dans la littérature concernant les huiles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*. On peut signaler que tous les échantillons de ce groupe sont récoltés à Béchar, à l'exception de trois échantillons, qui proviennent de la région de Ghardaïa en période de pleine fructification. Ces trois échantillons sont également dominés par la 6-méthoxy élémicine, suivie du sabinène.

Pour le **groupe II**, les 12 échantillons qui le constituent sont caractérisés par une teneur élevée en limonène (M = 22,0% ; ET = 10,0) suivi de myristicine (M = 9,4% ; ET = 9,4), α -pinène (M = 14,7% ; ET : 4,3), α -phellandrène (M = 11,6% ; ET : 3,4) et une plus faible quantité de sabinène (M = 1,4% ; ET = 0,4). A noter que la myristicine est présente à une teneur appréciable au début et à la fin de la floraison. En outre, les échantillons de ce groupe contiennent d'autres composés présents à des quantités appréciables, à savoir : le germacrène D (M = 3,8% ; ET = 2,4), le β -pinène (M = 5,2% ; ET = 1,5), le *p*-cymène (M = 4,5% ; ET = 1,5) et l'apiole dill (M = 1,6% ; ET = 2,0). Tous les échantillons de ce groupe sont récoltés à Ghardaïa avant la période de fructification (Groupe I). Par ailleurs, la (*Z*)-ligustilide présente à des taux très faibles dans les sous-groupes IIIA (0,0-0,7%) et IIIB (0,0-1,2%) ou bien totalement absent dans tous les échantillons du groupe I, est présent à une teneur appréciable (M = 5,0% ; ET = 2,2) dans ce groupe II. La composition chimique de l'huile essentielle de *P. scoparius* caractérisée par le limonène comme composé majoritaire suivi de la myristicine a déjà été rapportée dans la littérature dans les travaux de **Gourine *et al.* en 2011**.

La composition des échantillons des groupes I et II apparaît beaucoup moins homogène que celle du groupe III.

Concernant le **groupe III**, et par rapport aux teneurs de l' α -pinène, le sabinène, la myristicine, l'élémicine et l'apiole dill, ce groupe est subdivisé en deux sous-groupes (IIIA et IIIB). A noter que les échantillons de ce groupe sont récoltés à Biskra et à Batna.

La composition chimique des échantillons du **sous-groupe IIIA** (20 échantillons sur 93) est caractérisée par une teneur très élevée en sabinène (M = 39,7% ; ET = 7,5) suivi de l'élémicine (M = 4,6% ; ET = 7,8). D'autres composés sont également présents à des quantités appréciables à savoir : l' α -pinène (M = 9,0% ; ET = 3,9), la myristicine (M = 6,9% ; ET = 5,7) et l'apiole dill (M = 6,6% ; ET = 4,8). Le terpinéol-4 varie également considérablement (4.1-10.4%, M = 5,7% ; ET = 1,5). La même observation est faite pour la 6-méthoxy élémicine présente parfois à des teneurs appréciables (0,0-8,5%, M = 0,5% ; ET = 1,9). Parmi les 45 échantillons récoltés à Batna et Biskra et qui constituent le groupe III, ce composé est présent

à une teneur appréciable (jusqu'à 8,5%) dans un échantillon récolté à Biskra, et cela pendant la période de floraison.

La composition chimique des échantillons appartenant au **sous-groupe IIIB** (25 échantillons sur 93) est caractérisée par une plus faible teneur en sabinène ($M = 22,3\%$; $ET = 8,0$) et des teneurs significatives en myristicine ($M = 13,9\%$; $ET = 7,0$), en α -pinène ($M = 13,6\%$; $ET = 7,5$) et en apiole dill ($M = 11,7\%$; $ET = 10,5$). En outre, d'autres composés sont présents à des teneurs appréciables, il s'agit : 3- δ -carène ($M = 1,5\%$; $ET = 3,0$), terpinéol-4 ($M = 3,5\%$; $ET = 1,9$), l'élémicine ($M = 0,6$; $ET = 2,2$), β -pinène ($M = 4,8\%$; $ET = 2,2$), p -cymène ($M = 4,6\%$; $ET = 2,1$) et (Z)- β -ocimène ($M = 1,2\%$; $ET = 1,4$).

Un échantillon parmi les 30 récoltés dans la région de Batna, est caractérisé par une teneur appréciable en élémicine (jusqu'à 9,1%) en période de pleine floraison. Il convient de souligner que le limonène, parmi les principaux composants des groupes I et II, est présent à des teneurs très faibles dans tous les échantillons des sous-groupes IIIA et IIIB ($M = 0,8\%$; $ET = 0,5$ / $M = 1,3\%$; $ET = 0,8$, respectivement).

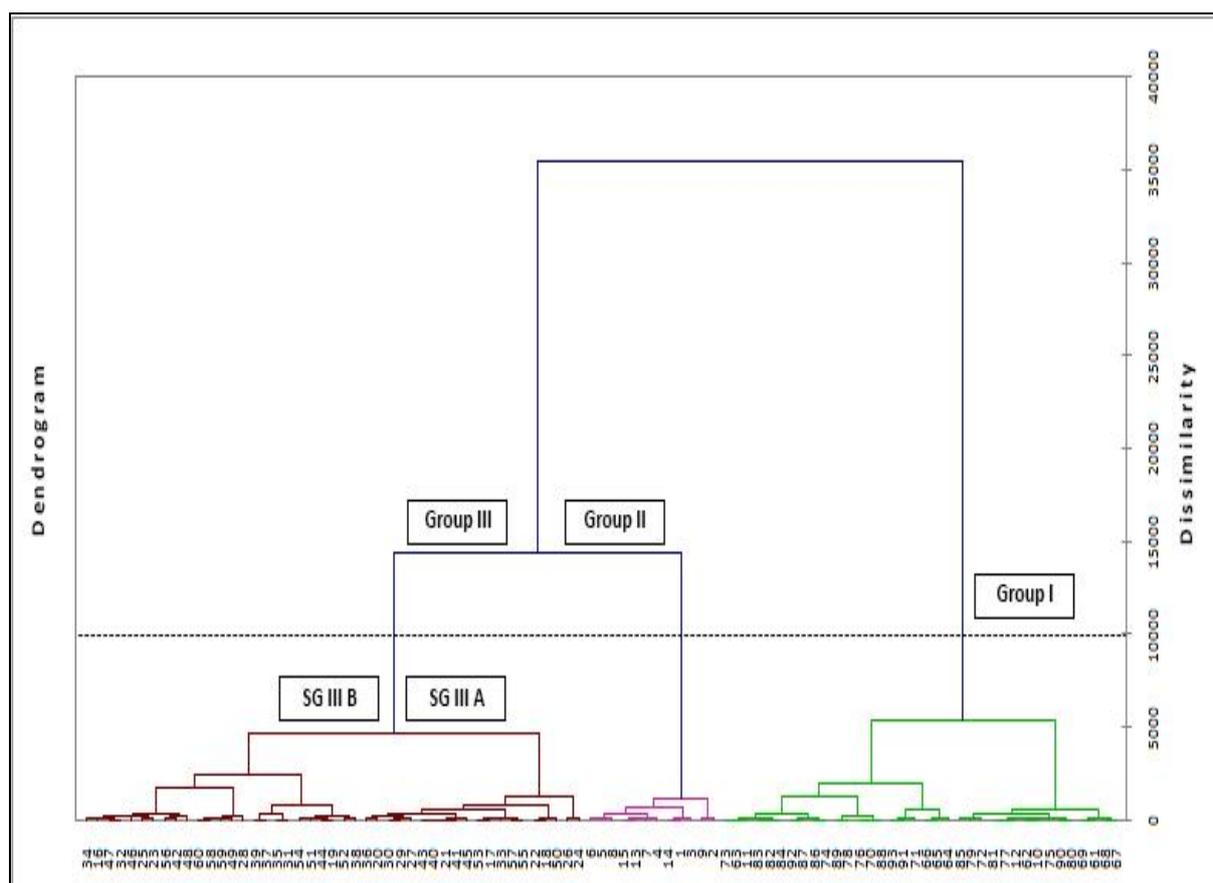


Figure 15 : Dendrogramme obtenu à partir de l'analyse de Cluster de 93 échantillons des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*

Tableau 5 : Composés majoritaires identifiés dans les 93 échantillons des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*

Constituants	Groupe I (36 échantillons)				Groupe II (12 échantillons)				Groupe III (45 échantillons)							
									Sous-groupe IIIA (20 échantillons)				Sous-groupe IIIB (25 échantillons)			
	Moy ^a	ET ^b	Min ^c	Max ^d	Moy	ET	Min	Max	Moy	ET	Min	Max	Moy	ET	Min	Max
α -Pinène	3,0	1,7	0,7	8,4	14,7	4,3	5,9	22,1	9,0	3,9	3,1	19,3	13,6	7,5	4,2	31
Sabinène	24,5	10,6	1,1	43	1,4	0,4	0,8	2,3	39,7	7,5	28	55,6	22,3	8,0	6,2	35,5
β -Pinène	1,4	0,6	0,7	3,1	5,2	1,5	2,1	7,3	3,3	0,9	1,7	4,4	4,8	2,2	2,1	9,6
α -Phellandrène	0,5	0,4	0,0	1,2	11,6	3,4	6,2	17,8	0,5	0,4	0,1	1,3	0,8	0,8	0,1	2,7
3- δ -Carène	0,1	0,2	0,0	1,1	0,2	0,3	0,0	0,9	1,2	1,5	0,0	6,5	1,5	3,0	0,0	12,4
<i>p</i> -Cymène	0,8	0,4	0,2	1,7	4,5	1,5	1,6	6,8	3,9	1,1	1,6	5,7	4,6	2,1	1,4	9,6
Limonène	19,4	7,6	6,6	39,0	22	10	9,2	44,0	0,8	0,5	0,3	2,7	1,3	0,8	0,5	4,5
(Z)- β -Ocimène	0,1	0,4	0,0	1,9	0,0	0,1	0,0	0,1	0,7	0,6	0,1	2,6	1,2	1,4	0,0	7,1
Terpinéol-4	3,6	1,6	0,3	7,0	0,3	0,1	0,2	0,4	5,7	1,5	4,1	10,4	3,5	1,9	0,9	10,9
Germacrène D	3,0	1,6	0,2	8,3	3,8	2,4	1,7	9,5	0,6	0,5	0,1	1,7	0,7	0,6	0,1	2,5
Myristicine	0,1	0,1	0,0	0,3	9,4	9,4	0,0	29,4	6,9	5,7	0,3	17,3	13,9	7,0	1,5	32,4
Elémicine	0,1	0,1	0,0	0,4	0,1	0,0	0,0	0,1	4,6	7,8	0,0	29,1	0,6	2,2	0,0	10,9
6-Méthoxy élémicine	33,7	12,3	13,0	59,6	0,1	0,1	0,0	0,1	0,5	1,9	0,0	8,5	0,1	0,2	0,0	0,7
Apiole dill	0,0	0,0	0,0	0,1	1,6	2,0	0,0	5,7	6,6	4,8	0,3	13,2	11,7	10,5	0,1	31,4
(Z)-Ligustilide	0,0	0,0	0,0	Tr	5,0	2,2	2,2	9,7	0,0	0,2	0,0	0,7	0,1	0,3	0,0	1,2

a : Moyenne (Moy). b : Écart type (ET). c : Valeur minimale (Min). d : Valeur maximale (Max). Les pourcentages sont donnés sur une colonne apolaire (BP-1). Tr : Trace.

I.2. Etude des activités biologiques des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius*

Dans cette partie, nous avons étudié l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* d'une part, et l'activité antioxydante d'autre part.

Pour la réalisation des activités biologiques, nous avons regroupé les huiles de chaque station présentant le même profil chromatographique, afin de disposer de quantités suffisantes pour pouvoir effectuer la totalité des tests. La composition chimique de ces échantillons est représentée dans le **Tableau 6**.

Tableau 6 : Composés majoritaires identifiés dans les huiles essentielles de 8 échantillons de *P. scoparius* utilisés pour les activités biologiques

Composés majoritaires (en %)	BGA	BSGB1	BSGB2	G	Bik	Bf	DjG1	DjG2
α -Thujène	0,5	0,7	0,4	1,1	1,0	0,9	1,3	0,8
α -Pinène	3,4	3,4	3,1	12,7	11,4	7,0	14,7	7,8
Sabinène	33,2	15,0	19,0	1,4	24,8	29,6	18,3	35,5
β -Pinène	2,0	1,6	1,4	4,7	3,4	3,5	5,6	3,6
Myrcène	1,2	0,6	0,7	1,0	1,0	0,7	0,7	0,7
α -Phellandrène	0,3	0,1	0,4	9,7	0,7	0,7	0,7	0,5
3- δ -Carène	0,2	0,2	0,1	0,4	5,1	1,4	0,2	0,1
<i>p</i> -Cymène	2,4	2,5	1,7	4,9	4,3	4,7	5,5	3,4
Limonène	19,5	15,0	24,0	19,4	1,4	0,7	1,8	0,6
β - Phellandrène	0,3	0,2	0,2	5,3	0,4	0,4	0,5	0,3
(<i>Z</i>)- β -Ocimène	Tr	0,3	0,1	0,1	0,5	1,3	2,0	1,1
γ -Terpinène	0,7	0,2	1,1	0,6	1,2	1,1	0,8	1,3
<i>trans</i> -Verbénol	0,2	0,2	0,2	0,2	1,0	0,8	1,2	0,9
Terpinéol-4	4,9	2,9	3,3	0,4	4,1	5,4	2,8	5,2
Méthyleugénol	0,7	0,9	0,7	1,3	0,9	0,9	1,4	0,9
Germacrène D	1,6	1,6	3,1	3,0	0,5	0,6	0,6	0,3
Myristicine	0,2	0,2	0,4	16,1	9,1	11,4	12,1	18,9
δ -Cadinène	0,2	0,2	0,3	0,8	0,4	0,4	0,4	0,3
Elémicine	Tr	0,2	0,1	0,1	4,1	0,7	0,2	0,1
Spathuléol	--	--	--	1,3	1,8	1,7	1,6	0,9
6-Méthoxy élémicine	23,7	47,0	33,8	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1
Apiole dill	--	Tr	Tr	3,0	6,3	10,5	10,6	4,8
<i>t</i> -Muurolol	0,5	0,3	0,2	0,8	1,3	1,1	1,1	0,7
β -Eudesmol	0,5	1,0	0,4	1,4	0,4	0,5	0,7	0,5
(<i>Z</i>)-Ligustilide	--	--	--	3,5	Tr	--	0,3	0,1

BGA : Béchar groupe A ; BSGB1 : Béchar sous-groupe B1 ; BSGB2 : Béchar sous-groupe B2 ; G : Ghardaïa ; Bik : Biskra ; Bf : Bouilef ; DjG1 : Djerma groupe 1 ; DjG2 : Djerma groupe 2 ; Tr : Trace ; -- : Absence totale du composé.

I.2.1. Pouvoir antimicrobien des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*

Le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* a été testé vis-à-vis de quatre bactéries, deux levures et trois champignons filamenteux en appliquant la méthode de diffusion sur disque, et dans l'affirmation, nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI) en utilisant la méthode de contact direct en milieu gélosé.

I.2.1.1. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* et l'antibiorésistance de chaque souche vis-à-vis des contrôles positifs, sont donnés dans les **tableaux 7 et 8**.

En se basant sur les données de la littérature, nous avons considéré qu'une huile essentielle a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 13 mm (**Rossi et al., 2007**).

Ainsi, les huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* des huit échantillons utilisés, agissent de façon très différente sur les souches testées.

Concernant les souches bactériennes, les échantillons de Ghardaïa, de Biskra et de Djerma G1 se sont révélés actifs contre la souche *Staphylococcus aureus* avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 16 et 18 mm. Nous avons également noté une activité modérée pour les autres échantillons vis-à-vis de cette même souche bactérienne avec des diamètres de zone d'inhibition variant entre 12 et 14 mm. Les autres souches bactériennes, à savoir : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus cereus* se sont montrés très résistants à l'ensemble des échantillons testés, avec des diamètres de zone d'inhibition variant entre 6 et 8,7 mm.

Ces résultats confirment ceux de **Ksouri et al. (2017)** qui rapportent une faible activité des huiles essentielle des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* vis-à-vis d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des zones d'inhibition allant de $9,0 \pm 1,0$ à $11,7 \pm 1,5$ mm. Ils avancent également que *Staphylococcus aureus* est la seule souche bactérienne qui s'est avérée sensible avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de $20,0 \pm 3,0$ mm. En revanche, **Boutaghane et al. (2004)**, avancent une bonne activité des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* contre *Escherichia coli* (14 à 26 mm), *Klebsiella pneumoniae* (16 à 28 mm) et *Staphylococcus aureus* (14 à 28 mm).

Concernant les levures testées, les échantillons de Ghardaïa, de Biskra de Bouilef et de Djerma G2 se sont révélés actifs contre les deux souches de *Candida albicans* avec des

diamètres de zone d'inhibition variant entre 15 et 20 mm. Enfin, pour les champignons filamenteux testés, la souche *Aspergillus fumigatus* s'est révélée la plus sensible aux huiles essentielles des échantillons de Biskra, de Bouilef, de Djerma G1 et de Djerma G2 avec des diamètres de zone d'inhibition variant entre 21 et 27 mm. Les autres souches n'ont pas montré une grande sensibilité vis-à-vis de l'ensemble des échantillons testés, avec des diamètres variants entre 7 à 11 mm. **Ksouri et al. (2017)**, rapportent aussi une sensibilité de *Candida albicans* ($15,8 \pm 2,4$ mm) aux huiles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*. Par ailleurs, ils avancent également que les champignons filamenteux, à savoir : *Mucor sp.*, *Aspergillus flavus* et *Penicillium expansum* se sont révélés les plus sensibles, avec des diamètres de zones d'inhibition de l'ordre de 19,5 à 20 mm.

Tableau 7 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) de l'antibiorésistance de chaque souche vis-à-vis des contrôles positifs

Micro-organismes	Antibiotiques				Antifongiques	
	CHL	VAN	GMN	CIP	FLU	NY
<i>Escherichia coli</i>	25,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	23,0 ± 0,0	35,5 ± 0,7	----	----
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	21,3 ± 0,6	6,0 ± 0,0	20,0 ± 0,0	30,5 ± 0,7	----	----
<i>Staphylococcus aureus</i>	25,5 ± 0,7	17,0 ± 0,0	21,0 ± 0,0	32,0 ± 0,0	----	----
<i>Bacillus cereus</i>	29,5 ± 0,7	6,0 ± 0,0	21,0 ± 0,0	37,0 ± 0,0	----	----
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	----	----	----	----	15,0 ± 0,0	19,0 ± 1,0
<i>Aspergillus flavus</i>	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	22,3 ± 0,6
<i>Aspergillus fumigatus</i>	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	33,7 ± 1,2
<i>Fusarium oxysporum</i>	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	16,0 ± 1,0

CHL : Chloramphénicol, VAN : Vancomycine, GMN : Gentamicine, CIP : Ciprofloxacine, FLU : Fluconazole, NY : Nystatine ont été utilisés comme contrôles positifs.

Valeurs moyennes des zones d'inhibition de la croissance en mm y compris le diamètre du disque de 6 mm ± Ecart-type. ---- : Non testé.

Tableau 8 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des huit échantillons d'huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* relatives aux souches microbiennes selon la méthode de disque

Souches microbiennes	Huiles essentielles (15 µl/disque)								
	Béchar GA	Béchar SGB1	Béchar SGB2	Ghardaïa	Biskra	Bouilef	Djerma G1	Djerma G2	DMSO
<i>Escherichia coli</i>	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	8,7 ± 1,2	8,7 ± 1,2	8,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	14,3 ± 0,6	14,0 ± 1,4	12,0 ± 0,0	18,0 ± 3,0	16,0 ± 0,0	14,5 ± 0,7	16,0 ± 3,5	14,3 ± 0,6	6
<i>Bacillus cereus</i>	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	11,0 ± 1,0	10,0 ± 0,0	11,0 ± 2,8	20,0 ± 7,8	15,3 ± 2,1	11,7 ± 2,1	10,0 ± 0,0	15,0 ± 0,0	6
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	10,3 ± 0,6	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	11,7 ± 0,6	17,7 ± 1,5	17,0 ± 3,6	11,0 ± 0,0	16,6 ± 0,6	6
<i>Aspergillus flavus</i>	8,00 ± 0,0 ^a	7,5 ± 0,7	7,0 ± 0,0	8,5 ± 0,7	14,0 ± 1,4	11,5 ± 0,7	12,5 ± 0,7	13,5 ± 0,7	
	9,0 ± 0,0 ^b	9,0 ± 0,0	7,5 ± 0,7	9,0 ± 0,0	10,5 ± 0,7	10,0 ± 0,0	11,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	6
<i>Aspergillus fumigatus</i>	13,0 ± 0,0 ^a	13,0 ± 0,0	13,0 ± 0,0	20,0 ± 2,8	----	----	----	----	
	10,0 ± 0,0 ^b	10,0 ± 0,7	10,0 ± 0,0	14,0 ± 1,4	24,0 ± 2,1	27,0 ± 0,0	23,0 ± 0,7	21,0 ± 0,7	6
<i>Fusarium oxysporum</i>	7,0 ± 0,0 ^a	6,5 ± 0,7	7,0 ± 0,0	8,5 ± 0,7	14,0 ± 1,4	11,5 ± 0,7	12,5 ± 0,7	13,5 ± 0,7	
	7,0 ± 0,0 ^b	7,0 ± 0,0	7,0 ± 0,0	9,5 ± 0,7	10,5 ± 0,7	9,0 ± 1,4	10,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	6

Valeurs moyennes des zones d'inhibition de la croissance en mm y compris le diamètre du disque de 6 mm ± Ecart-type.

a, b : après 3 jours et 5 jours d'incubation, respectivement.

I.2.1.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé

Selon les résultats obtenus précédemment concernant la sensibilité des souches microbiennes aux huiles essentielles, déterminée par la méthode de diffusion sur disque, nous avons sélectionné six souches microbiennes, à savoir : *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* ATCC 26790, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, et *Fusarium oxysporum*, possédant une forte sensibilité vis-à-vis des échantillons d’huile testés pour lesquels nous allons déterminé la concentration minimale inhibitrice par la méthode de contact direct en milieu gélosé. Les résultats sont rapportés dans le **tableau 9**.

Tableau 9 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) en huile essentielle des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* relatives aux souches sensibles

Micro-organismes testés	Huile essentielle de <i>Pituranthos scoparius</i> (µl/ml)							
	BGA	BSGB1	BSGB2	G	Bik	Bf	DjG1	DjG2
<i>Staphylococcus aureus</i>	> 4	> 4	> 4	> 4	4	4	> 4	4
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	4
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	> 4	> 4	> 4	> 4	3	2	3	2
<i>Aspergillus flavus</i>	> 4 ^a	> 4	> 4	> 4	> 4	4	> 4	> 4
	> 4 ^b	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4
<i>Aspergillus fumigatus</i>	> 2 ^a	> 2	> 2	< 2	3	< 2	< 2	< 1
	> 4 ^b	> 4	> 4	4	3	3	3	2
<i>Fusarium oxysporum</i>	> 4 ^a	> 4	> 4	> 4	3	3	3	3
	> 4 ^b	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4

BGA : Béchar groupe A. BSGB1 : Béchar sous-groupe B1. BSGB2 : Béchar sous-groupe B2. G : Ghardaïa. Bik : Biskra. Bf : Bouilef. DjG1 : Djerma groupe 1. DjG2 : Djerma groupe 1. a, b : après 3 jours et 5 jours d’incubation, respectivement.

Selon **Teixeira et al.** en **2005**, toute huile essentielle présentant des CMI inférieures à 2000 µg/ml est considérée avoir un potentiel antimicrobien.

Une interprétation globale des résultats montre une concordance entre les valeurs des CMI et celles des diamètres des zones d’inhibition obtenus. En effet, les CMI les plus faibles correspondent généralement aux diamètres d’inhibition les plus importants pour les souches microbiennes testées.

En effet, pour les huiles essentielles des échantillons de Biskra, de Bouilef, de Djerma G1 et de Djerma G2 qui sont les plus efficaces dans la méthode de disque vis-à-vis des souches testées, nous avons obtenu les CMI les plus faibles. Cependant, l’huile essentielle de l’échantillon de Djerma G2 s’est montrée la plus active vis-à-vis de la plupart des souches testées, avec des CMI variant entre 2 et 4 µl/ml. Les souches microbiennes *Aspergillus*

fumigatus et *Candida albicans* ATCC 26790, se sont révélées les plus sensibles à cette huile essentielle avec une CMI faible de l'ordre de 2 µl/ml. Aussi, *Candida albicans* ATCC 26790 s'est montré également sensible à l'huile essentielle de l'échantillon de Bouilef, avec une CMI de 3 µl/ml.

En outre, nous avons noté une activité modérée de l'huile essentielle de l'échantillon de Djerma G2 vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et de *Candida albicans* ATCC 10231, avec une CMI de l'ordre de 3 µl/ml.

Par ailleurs, les huiles essentielles des échantillons de Biskra, de Bouilef et de Djerma G1 se sont montrées également actives vis-à-vis d'*Aspergillus fumigatus* et de *Candida albicans* ATCC 26790, mais avec une CMI de l'ordre de 3 µl/ml.

L'huile essentielle de l'échantillon de Ghardaïa s'est révélée active vis-à-vis uniquement d'*Aspergillus fumigatus*, mais avec une CMI de l'ordre de 4 µl/ml.

En revanche, toutes les souches microbiennes testées se sont montrées résistantes aux huiles essentielles des trois échantillons de Béchar, même à une CMI de l'ordre de 4 µl/ml. Il est à noter que ces échantillons sont riches en 6-méthoxy élémicine, jusqu'à 47%. Ainsi, ce composé n'est probablement pas doué d'activité antimicrobienne.

Nos résultats concordent avec ceux de **Boutaghane et al. (2004)** qui rapportent une plus faible activité des huiles essentielles des tiges (riche en α -pinène 34,0%) et des graines (riche en apiole 52,8%), avec des CMI de l'ordre de 256 mg/ml et entre 20 et 40 mg/ml, vis-à-vis d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*, respectivement. Par contre, **Ksouri et al. (2017)** rapportent une très bonne activité des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*, avec des CMI variant entre 0,02 et 1,25 mg/ml vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, de *Candida albicans* et d'*Aspergillus flavus*. Il est à noter que cette huile essentielle est caractérisée par une teneur élevée en limonène (46,9%).

En conclusion, bien que l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle soit souvent attribuée à son composé majoritaire, les effets synergiques et/ou antagonistes des composants de l'huile essentielle pourraient aussi être pris en compte (**Daferera et al., 2003 ; Burt, 2004**) pour expliquer la variation du degré de sensibilité des micro-organismes vis-à-vis des échantillons testés.

Ainsi, la meilleure activité de l'échantillon de Djerma G2 est due probablement à sa composition chimique. Les composés majoritaires sont les suivants : sabinène (35,5%), myristicine (18,9%), α -pinène (7,8%), terpinéol-4 (5,2%) et apiole dill (4,8%). Les monoterpènes hydrocarbonés comme le sabinène et l' α -pinène ont une très faible activité. Ceci est déjà rapporté par **Dorman et Deans en 2000** qui ont étudié le pouvoir antimicrobien de

plusieurs constituants des huiles essentielles. En effet, l'huile essentielle de l'échantillon de Béchar A qui contient une teneur similaire en sabinène de l'ordre de 33,2% s'est révélée inactive vis-à-vis de toutes les souches microbiennes testées. Il a été rapporté que l'huile essentielle de *Daucus carota* qui est caractérisée par une forte teneur en sabinène (51,6%) a montré une faible activité antibactérienne contre *E. coli* et *S. aureus*, avec une CMI, de l'ordre de 2,5 et 5 mg/ml (**Jabrane et al., 2009**). Aussi, **Filipowicz et al. (2003)** avancent que le sabinène est inactive vis-à-vis de plusieurs souches microbiennes. De même, il a été rapporté que l' α -pinène présente une très faible activité contre un panel de microorganismes. Les valeurs de CMIs varient entre 6,4 et 20,0 mg/ml contre *S. aureus*, et *E. coli* (**Leite et al., 2007 ; Jung, 2009**). Aussi, l'huile essentielle de *Pinus roxburghii* qui est riche en α -pinène (60,8%) a montré une faible activité antibactérienne contre *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*, avec une CMI, de l'ordre de 12,8 mg/ml (**Qadir et Shah, 2014**). Parallèlement, l'huile essentielle de *Pinus nigra* ssp. *pallasiana* qui contient de l' α -pinène (42,3%) comme composé majoritaire exerce également une faible activité vis-à-vis des bactéries citées précédemment, avec des CMIs variant entre 10 et 20 mg/ml (**Šarac et al., 2014**). Ainsi, la faible activité de l' α -pinène a été rapportée précédemment par **Angioni et al. (2003)** qui ont travaillé sur les huiles essentielles des baies de plusieurs espèces de *Juniperus* qui contiennent une forte teneur en α -pinène (48 à 87%), par **Rossi et al. (2007)** qui ont travaillé sur les huiles essentielles de *Cedrus atlantica* (63,1%) et de *Myrtus communis* (52%) et par **Pintore et al. (2002)** qui ont étudié l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

Ainsi, l'activité importante de l'échantillon de Djerma G2 est due probablement à la présence de la myristicine et du terpinéol-4. En revanche, l'huile essentielle de l'échantillon de Ghardaïa qui contient une quantité comparable en myristicine (16,1%) s'est montrée moins active que l'échantillon de Djerma G2. Ceci est dû à sa faible teneur en terpinéol-4 (0,4%). Effectivement, **Filipowicz et al. (2003)** avancent que le terpinéol-4 possède un pouvoir antimicrobien. Ainsi, on peut avancer qu'il a une synergie entre la myristicine et le terpinéol-4. En effet, **Torbati et al., (2014)** avancent un très faible pouvoir antimicrobien de la myristicine. Ils ont trouvé des CMIs très importantes variant entre 1,1 à 1,5 (V/V) (soit entre 11 à 15 μ l/ml) vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus*, pour l'huile essentielle des racines de *Heracleum anisactis* qui contient de la myristicine nettement majoritaire avec un pourcentage de l'ordre de 95,2%.

Par ailleurs, cet échantillon de Ghardaïa contient une quantité appréciable en ligustilide (3,5%) et en méthyleugénol (1,3%) qui ont probablement participé aussi à cette activité antimicrobienne modéré vis-à-vis d'*Aspergillus fumigatus*. En effet, **Rossi et al. en 2007**

rappellent que le méthyleugénol s'est révélée très active vis-à-vis de *Campylobacter jejuni* avec une CMI de l'ordre de 250 µg/ml.

En outre, l'huile essentielle de l'échantillon de Biskra qui contient moins de myristicine (9,1%) présente la même activité que les huiles essentielles des échantillons de Bouilef et de Djerma G1 (11,4% et 12,1%, respectivement). Ceci est dû probablement à sa teneur appréciable en élémicine (4,1% contre 0,7% et 0,2%, respectivement). En effet, **Rossi et al.** en **2007** rapportent qu'une fraction de l'huile essentielle de *Daucus carota* très riche en élémicine de l'ordre de 98% s'est révélée très active vis-à-vis de *Campylobacter jejuni* avec une CMI de l'ordre de 250 µg/ml.

L'apiole dill ne possède probablement pas d'activité antimicrobienne car les échantillons de Bouilef et de Djerma G2 qui contiennent des quantités plus importantes de l'ordre de 10,5 et 10,6% respectivement, sont moins actifs que l'échantillon de Djerma G2 qui en contient une teneur plus faible de l'ordre de 4,8%. En revanche, **Jabrane et al.** (2009), avancent des CMIs très faibles contre *S. aureus* et *E. coli* de l'ordre 1,25 et 2,5 mg/ml, respectivement, lors de l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielles des racines de *Daucus carota* dont la composition est dominée par l'apiole dill (46,6%), suivi de myristicine (29,7%).

I.2.2. Pouvoir antioxydant des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*

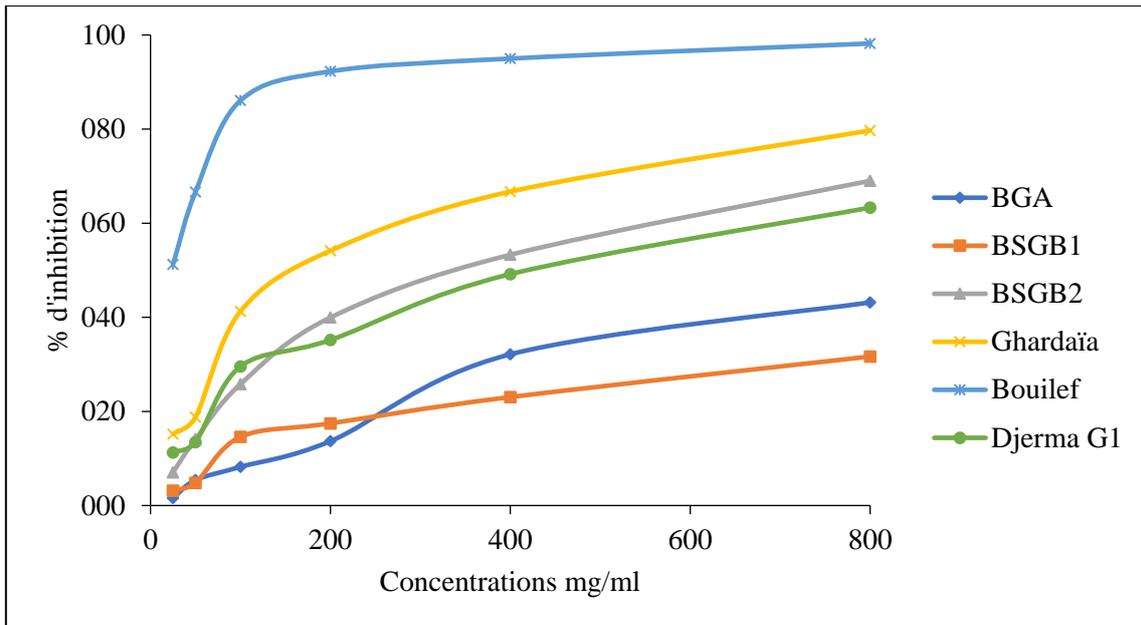
Pour l'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius*, notre choix s'est porté sur la méthode du piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]). Le principe de ce test repose sur un changement de couleur qui a été suivi par la lecture de l'absorbance à une longueur d'onde spécifique, à savoir : 515 et 517 nm. Nous avons opté pour deux protocoles, qui se distinguent par la nature du solvant : le méthanol dans le premier protocole et l'éthanol dans le deuxième.

Nous avons déterminé le pouvoir antioxydant des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* de six échantillons pour le protocole 1 (Béchar GA, Béchar SGB1, Béchar SGB2, Ghardaïa, Bouilef et Djerma G1) et de quatre échantillons pour le protocole 2 (Béchar GA, Béchar SGB1, Béchar SGB2, Ghardaïa). La composition de ces échantillons est citée précédemment (**Tableau 7**).

I.2.2.1. Piégeage du radical libre DPPH[•](2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

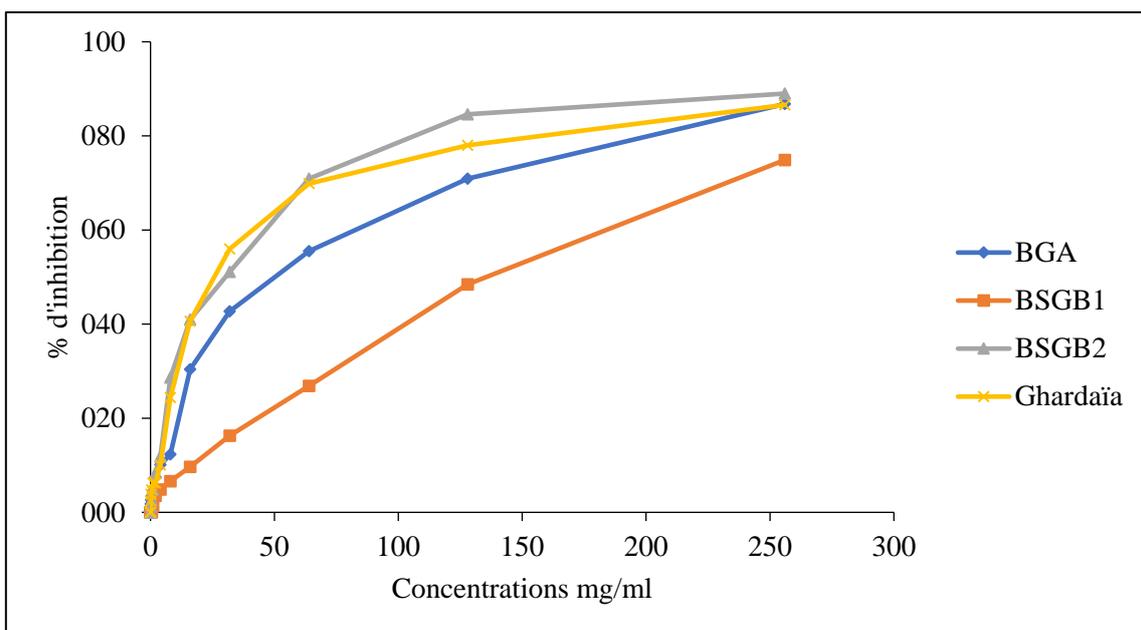
Sur les **figures 16** et **17** (**Tableaux 1** et **2**, **Annexe 2**) ci-dessous, nous reportons les résultats des pourcentages d'inhibition des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius*.

Les profils de l'activité antiradicalaire obtenus révèlent que les huiles essentielles testées possèdent une activité dose-dépendante.



BGA : Béchar groupe A ; BSGB1 : Béchar sous-groupe B1 ; BSGB2 : Béchar sous-groupe B2.

Figure 16 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* (Protocole 1)



BGA : Béchar groupe A ; BSGB1 : Béchar sous-groupe B1 ; BSGB2 : Béchar sous-groupe B2.

Figure 17 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* (Protocole 2)

Au regard de ces résultats, nous constatons que l'huile essentielle des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* possède une très faible activité antioxydante par comparaison avec les antioxydants standards. Nous remarquons également que tous les échantillons révèlent généralement la même activité antioxydante pour les deux protocoles expérimentaux utilisés.

Par ailleurs, en présence de l'éthanol, nous avons obtenu des pourcentages d'inhibition plus importants à des concentrations nettement plus faibles et CI_{50} largement plus faibles (**Tableau 10**).

Les résultats du premier protocole révèlent qu'à une concentration de 800 mg/ml, l'huile essentielle de l'échantillon de Bouilef a montré le pouvoir réducteur le plus important, avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de $98,19 \pm 0,22\%$, suivie par l'HE de l'échantillon de Ghardaïa ($79,69 \pm 0,88\%$), Béchar SGB2 ($69,01 \pm 0,31\%$) et Djerma G1 ($63,31 \pm 0,74\%$). En revanche, l'échantillon de Béchar SGB1 s'est avéré celui qui possède le pouvoir réducteur le plus bas avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de $31,67 \pm 0,01\%$.

Le deuxième protocole a révélé une activité antioxydante plus importante que la première, avec des pourcentages d'inhibition plus élevés et à une concentration plus faible, en effet à 256 mg/ml, l'échantillon de Béchar SGB2 a montré le pourcentage d'inhibition le plus élevé de l'ordre de $88,99 \pm 0,10\%$, suivi de l'échantillon de Ghardaïa ($86,60 \pm 0,14\%$), Béchar GA ($86,78 \pm 0,10\%$) et enfin celui de Béchar SGB1 ($74,89 \pm 0,59\%$).

L'échantillon de Bouilef s'est avéré plus actif que celui de Djerma G1. Il est à noter qu'ils présentent le même profil chromatographique. Ceci est probablement dû à la présence de certains composés en teneurs appréciables comme le terpinéol-4, le 3- δ -carène ou le γ -terpinène avec des pourcentages 5,4% ; 1,4% et 1,3% contre 2,8% ; 0,2% et 0,8%, respectivement. L'échantillon de Bouilef s'est révélé également plus actif que l'échantillon de Ghardaïa qui contient 16,1% de myristicine contre 11,4%. Nous avons constaté qu'il y a une synergie entre la myristicine et le terpinéol-4 qui est présent à 0,4% (échantillon Ghardaïa) contre 5,4% (échantillon de Bouilef). En effet, dans une étude menée par **Zhang et al.** en **2006**, il a été rapporté que la myristicine (32,75%) qui est le constituant majoritaire de l'huile essentielle du persil avait un pouvoir antioxydant faible en piégeant le radical libre DPPH avec une valeur de CI_{50} de l'ordre de $80,21 \pm 3,41$ mg/ml, par comparaison aux standards testés à savoir : le BHT ($0,58 \pm 0,02$ mg/ml) et l' α -tocophérol ($0,10 \pm 0,00$ mg/ml). Il est à noter que cette huile essentielle ne contient pas de terpinéol-4. De même, **Wei et Shibamoto (2007)** rapporte une faible activité de l'huile essentielle du persil qui est riche en myristicine représentant 44% de la composition totale et qui ne contient pas le terpinéol-4. En effet, ils avancent un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 48% par le test du piégeage du radical libre DPPH.

Par ailleurs, l'échantillon de Ghardaïa s'est montré plus actif que l'échantillon de Béchar SGB2. En effet, l' α et le β -phellandrène sont plus abondants dans l'échantillon de Ghardaïa avec des quantités de l'ordre de 9,7% et 5,3% contre 0,4% et 0,2%, respectivement. Il en est de même en comparant l'activité de l'échantillon de Ghardaïa avec celle de Djerma G1, en plus de

sa richesse en limonène 19,4% contre 1,8%, respectivement. En revanche, l'échantillon de Béchar SGB2 qui présente le même profil chromatographique que les échantillons de Béchar GA et SGB1, s'est avéré plus actif. Ceci est également lié à sa richesse en limonène 24,0% contre 19,5% et 15,0%, respectivement. En effet dans des études antérieures, **Roberto et al. (2009)** ont prouvé que le limonène est un monoterpène, qui possède une bonne activité antioxydante. De même, **Wei et Shibamoto (2007)** rapporte un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 55% à une concentration de l'ordre de 200 µg/ml pour l'huile essentielle des graines de céleri qui contient une forte teneur en limonène (74,6%), testé par la méthode du piégeage du radical libre DPPH.

Les valeurs des CI_{50} , présentées dans le tableau 10, nous permettent d'évaluer et de comparer l'efficacité des huiles essentielles. Nous rappelons que plus la valeur de la CI_{50} est faible plus l'huile essentielle possède un potentiel pour le piégeage des radicaux libres.

Tableau 10 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* exprimée en CI_{50} (Protocoles 1 et 2)

Echantillons	CI_{50} (mg/ml)	
	Protocole 1	Protocole 2
BGA	-----	41,59±0,81
BSGB1	-----	156,23±1,26
BGSB2	324,75±2,40	23,65±0,77
Ghardaïa	173,58±2,45	25,95±2,13
Bouilef	126,79±3,41	Non testé
Djerma G1	409,39±4,73	Non testé
Acide ascorbique	0,024±0,00	0,02±0,001

BGA : Béchar groupe A ; BSGB1 : Béchar sous-groupe B1 ; BGSB2 : Béchar sous-groupe B2.

Ces résultats confirment ceux obtenus pour les pourcentages d'inhibition. Ainsi, pour le protocole 1, l'huile essentielle de l'échantillon de Bouilef est la plus active, avec une CI_{50} de l'ordre de 126,79 ± 3,41mg/ml. Les valeurs des CI_{50} obtenues pour les quatre échantillons testés par le protocole 2 confirment celles obtenues par le protocole 1. En effet, les huiles essentielles des échantillons de Béchar SGB2 et de Ghardaïa sont les plus actives avec des CI_{50} de l'ordre de 23,65 ± 0,77 et 25,95 ± 2,13 mg/ml, respectivement. Cependant, en comparaison avec les antioxydants standards ($CI_{50} \approx 0,02 \pm 0,001$ mg/ml), les huiles essentielles des différents échantillons testés s'avèrent moins actives.

À notre connaissance, il existe très peu d'études sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius*. Les résultats obtenus par **Ksouri et al. en 2017** pour le test du DPPH, montrent qu'à une concentration en huile essentielle de 20 mg/ml, le radical

DPPH se fixait à 84,7%, avec une CI_{50} de l'ordre de $11,21 \pm 0,26$ mg/ml, une CI_{50} plus faible en comparaison avec nos résultats, cependant une activité antioxydante moins importante que les standards qu'ils ont testés, à savoir : l'acide ascorbique ($CI_{50} = 4$ µg/ml), l' α -tocophérol ($CI_{50} = 9,55$ µg/ml) et le BHT ($CI_{50} = 72,16$ µg/ml).

II. *Santolina africana*

S. africana Jord. & Fourr. est une espèce endémique de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie et Tunisie) (Quézel et Santa, 1963 ; Dobignard et Chatelain, 2011) qui pousse spontanément dans les forêts et les pâturages steppiques (Quézel et Santa, 1963).

La composition chimique des huiles essentielles de plusieurs espèces appartenant au genre *Santolina* a été largement étudiée (Tundis et Loizzo, 2018). Ces études montrent que les monoterpènes : 1,8-cinéole, camphre, artémisia cétone et myrcène sont les principaux constituants des huiles essentielles de nombreuses espèces de *Santolina* poussant dans différentes régions du monde. Inversement, seules cinq études ont rapporté la composition chimique de l'huile essentielle de *S. africana*. Deux observations peuvent être faites à l'examen de ces études :

- L'huile essentielle des parties aériennes présente une grande variabilité chimique ;
- La composition chimique est limitée à un ou deux échantillons d'huile essentielle dans la même station de récolte.

Ainsi, l'objectif de notre étude est d'abord de déterminer la composition chimique de l'HE à partir de végétal collecté dans la province de Batna (Algérie). Ensuite, nous nous sommes intéressés aux propriétés biologiques de cette huile essentielle, en examinant les activités antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire. Cette dernière n'avait jamais fait l'objet d'investigations auparavant.

II.1. Caractérisation chimique des huiles essentielles de *Santolina africana*

En exploitant la complémentarité des techniques analytiques (CC, CPG(Ir), CPG-SM et RMN ¹³C), nous détaillerons l'analyse de dix-huit échantillons d'huile essentielle des parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) de *Santolina africana* récoltées dans trois stations de la province de Batna, à savoir : Fesdis (Fesdis et Bouilef), Oued Chaaba (Hamla).

II.1.1. Etude de la composition et de la variabilité chimique des huiles essentielles des parties aériennes de *Santolina africana*

Dans le but d'évaluer, la variabilité intra-populationnelle des huiles essentielles de *S. africana*, nous avons étudié la composition chimique de 18 échantillons. Nous avons choisi trois lieux d'échantillonnage dans la région de Batna (Algérie) (Figure 18) : Fesdis (Fesdis et Bouilef), Oued Chaaba (Hamla).

L'échantillonnage a été effectué durant la période de pleine floraison en mai 2016. Six échantillons ont été récoltés dans chacune des trois stations à partir de pieds individuels : Fesdis (F1-6), Bouilef (B1-6) et Hamla (H1-6).

Parallèlement, nous avons effectué un échantillonnage collectif dans la station de Fesdis pendant le mois de mai 2018, pour pouvoir étudier le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de cette plante.

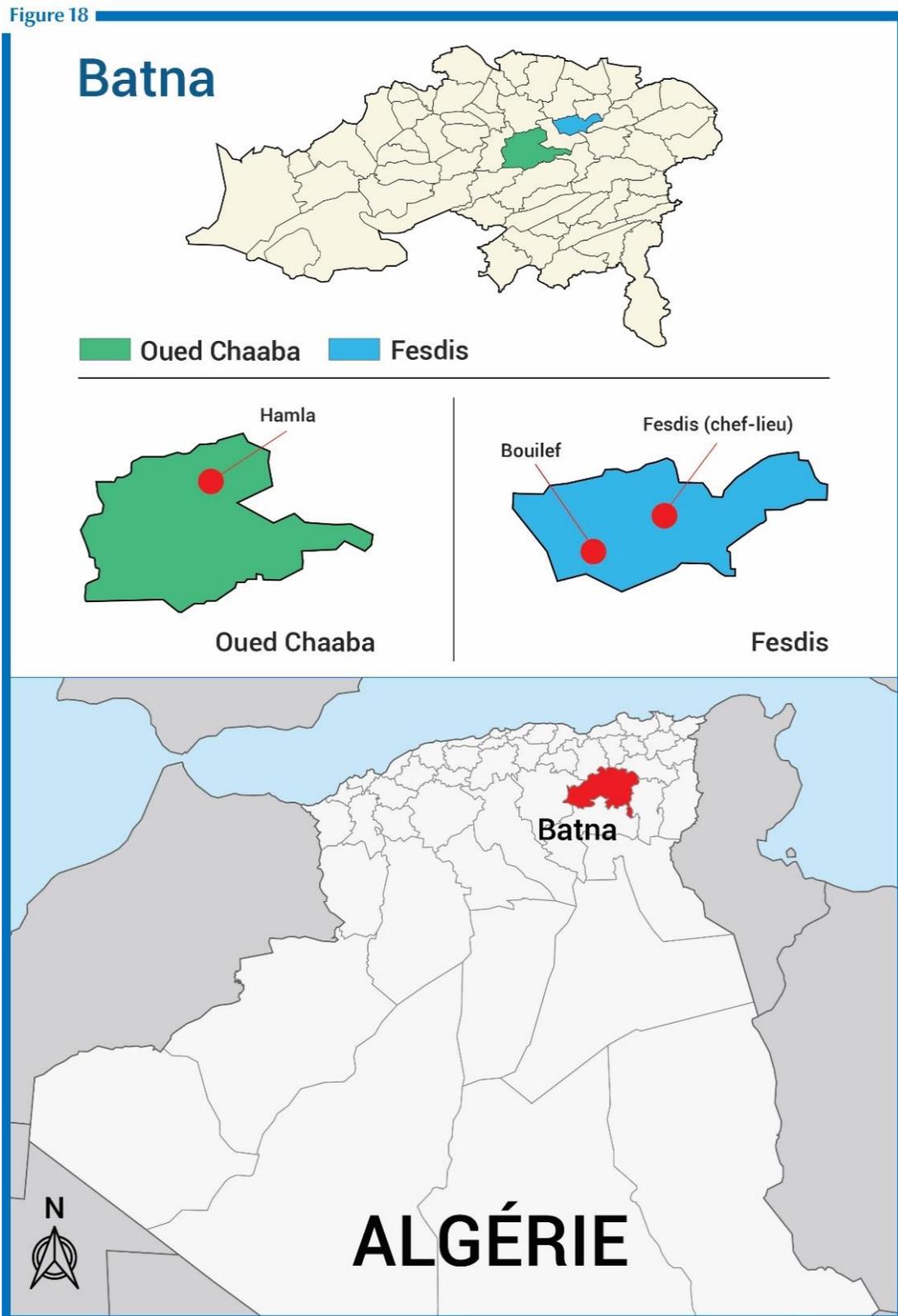


Figure 18 : Carte d'échantillonnage de *Santolina africana*

II.1.1.1. Rendements d'extraction

Les huiles essentielles des parties aériennes (tiges feuilles et fleurs) de *S. africana* ont été obtenues par hydrodistillation. Elles ont un aspect liquide et une couleur jaune foncé. Les rendements sont calculés par rapport à la matière végétale sèche et reportés dans le **tableau 11**.

Les rendements observés sont faibles mais varient considérablement d'un échantillon à l'autre, allant de 0,03 à 0,17% et même entre les échantillons d'une même station.

Les rendements les plus élevés sont obtenus pour la station de Hamla avec des pourcentages allant de 0,08 à 0,14% (H1-6) et pour deux échantillons de Bouilef : B5 (0,15%) et B6 (0,17%). En revanche, les plus faibles rendements sont ceux des échantillons B2, B4 (Bouilef) et F6 (Fesdis) avec un pourcentage de 0,03%. Il est à noter que le rendement en huile essentielle des tiges de *Santolina africana* récoltées au Maroc est du même ordre que le nôtre (0,11%). En revanche, ces mêmes auteurs rapportent des rendements 4 à 5 supérieurs à ceux de notre étude : feuilles (0,75%) et fleurs (0,93%) (**Fdil et al., 2011**). C'est également le cas pour **Attia et al., (2012)**, qui rapportent un rendement de l'ordre de 0,8% pour les parties aériennes de *Santolina africana* récoltées en Tunisie. Une teneur similaire a été rapporté également par **Lmachraa et al., en 2012**, sur des échantillons (parties aériennes) récoltés au Maroc avec un rendement de 0,86%. Enfin, **Zaiter et al., (2015)** ainsi que **Derouiche et al., (2013)** ont travaillé sur des échantillons récoltés dans la province de Constantine en Algérie, décrivent des rendements proches de 1% pour les parties aériennes (0,95%) et supérieurs à 2% pour les fleurs (2,25%). En revanche, **Boudjedjou et al. en 2019** rapportent un rendement plus faible de l'huile essentielle des parties aériennes de *Santolina africana* récoltées dans la région de Batna, de l'ordre de 0,76%.

Tableau 11 : Rendements (%) en huiles essentielles de *Santolina africana* d'Algérie

Stations								
Fesdis			Bouilef			Hamla		
Moy ± ET ^a	Min ^b	Max ^c	Moy ± ET	Min	Max	Moy ± ET	Min	Max
0,06 ± 0,03	0,03	0,11	0,09 ± 0,06	0,03	0,17	0,10 ± 0,03	0,07	0,14

^aMoy ± ET : Moyenne ± Ecart type. ^b Min : Minimum. ^c Max : Maximum.

II.1.1.2. Analyse détaillée de la composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Santolina africana*

Dix-huit échantillons d'huile essentielle ont été soumis à des analyses combinant une technique chromatographique sur deux colonnes de polarité différente (CPG-Ir) et deux

techniques spectroscopiques (RMN ^{13}C et CPG-SM). La caractérisation de ces échantillons a été réalisée par RMN ^{13}C sans séparation préalable des constituants.

Les spectres des huiles essentielles sont enregistrés et les valeurs des déplacements chimiques sont comparées à celles des composés de référence présents dans une bibliothèque de spectre grâce à un logiciel d'aide à l'identification.

Les constituants majoritaires identifiés par RMN ^{13}C , sont ensuite repérés sur le chromatogramme par leurs indices de rétention, sur colonne polaire et apolaire, par comparaison avec ceux des produits de référence et peuvent être ainsi quantifiés.

Pour permettre l'identification de quatre composés minoritaires qui présentent une structure avec un motif di-alcyne, les 6 échantillons d'huile essentielle de la station de Fesdis (F1, F2, F3, F4, F5 et F6) ont été réunis pour former une « communelle » qui a été soumise à une chromatographie sur colonne (CC) sur gel de silice. Neuf fractions ont été obtenues et analysées par CPG(Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C .

Au total, 91 composés représentant 92,4% à 96,1% de la composition chimique totale de l'huile essentielle ont été identifiés (**Tableau 14**), dont 43 monoterpènes, 31 sesquiterpènes, cinq phénylpropanoïdes, six dérivés à motif di-alcyne et six autres. Tous les échantillons sont caractérisés par de fortes proportions en monoterpènes (51,5-69,7%), à l'exception de trois échantillons : B4, B5 et F6 qui sont dominés par des sesquiterpènes (44,3-55,9%). La composition de l'huile essentielle de *S. africana* est généralement homogène. Cependant, nous remarquons une variabilité chimique quantitative particulièrement pour les composés suivants : germacrène D (0,1-25,3%), myrcène (4,2-20,9%), spathuléol (2,5-20,7%), α -bisabolol (2,2-20,0%), β -pinène (2,4-18,7%), 1,8-cinéole (5,0-16,8%), *cis*-chrysanthéol (0,7-16,5%), capillène (0,0-16,9%), santolina alcool (0,2-14,0%), camphre (0,2-7,9%), terpinéol-4 (1,4-7,3%) et lyratol (0,1-6,7%). Deux autres monoterpènes oxygénés : lyratal (tr-2,7%) et chrysanthénone (tr-4,5%), trois sesquiterpènes hydrocarbonés : α -curcumène (0,3-3,2%), γ -curcumène (0,1-2,6%) et bicyclogermacrène (0,1-6,3%), ainsi que deux sesquiterpènes oxygénés : β -élémol (jusqu'à 3,5%) et β -eudesmol (tr-3,0%) sont présents également en quantités appréciables.

Nous avons constaté que les 6 échantillons de la station de Fesdis sont très homogènes, ce qui confirme le choix de les réunir pour former la « communelle », le chromatogramme de l'huile essentielle de l'échantillon F5 est reproduit sur la **figure 21**. Les échantillons de la station de Hamla sont globalement homogènes et comparables aux échantillons B1 et B2 de la station de Bouilef. Cependant, au sein de ce groupe, l'échantillon H6 se distingue néanmoins par la présence d'un dérivé à motif di-alcyne, à savoir : le capillène à une teneur relativement

importante (16,9%), contre (0,2–7,5%) dans les autres échantillons de Hamla, alors que ce composé est très minoritaire (tr-0,4%) dans les échantillons de Fesdis et de Bouilef. Les échantillons de la station de Bouilef sont peu homogènes. Cependant, les échantillons B3 et B4 sont caractérisés par une forte teneur en sesquiterpènes oxygénés : le spathuléol (15,1% et 20,7%, respectivement), associé à l' α -bisabolol (13,2% et 20,0%, respectivement), une composition similaire à celle des échantillons de la station de Fesdis, alors que les deux échantillons B1 et B2 sont assez proches des échantillons de Hamla. Nous avons observé également deux compositions atypiques (B5 et B6) qui sont dominés par un sesquiterpène hydrocarboné, il s'agit du germacrène D présent à des pourcentages de l'ordre de 25,3 et 20,2%, respectivement, contre (0,0 à 7,5%) pour tous les autres échantillons. Ces deux échantillons contiennent également des teneurs assez importantes en trois sesquiterpènes hydrocarbonés : bicyclogermacrène (6,3 et 2,5%, respectivement vs. 0,0-0,7%), (*E*)- α -bisabolène (4,5 et 4,3%, respectivement vs. 0,0-1,4%) et γ -curcumène (2,6 et 1,1%, respectivement vs. 0,0-0,3%).

Ces résultats montrent des compositions relativement originales en comparaison à celles rapportées pour les huiles du Maroc (Fdil *et al.*, 2011 ; Lmachraa *et al.*, 2014), de la Tunisie (Attia *et al.*, 2012) et de l'Algérie (Constantine) (Derouiche *et al.*, 2013 ; Zaiter *et al.*, 2015), qui sont généralement dominées par le camphre ou le terpinéol-4. En revanche, une composition similaire a été rapportée pour l'huile des fleurs de *S. chamaecyparissus* de Tunisie, qui contient également le 1,8-cinéole (12,94%), le β -eudesmol (10,49%), le terpinéol-4 (6,97%), le γ -cadinène (6,55%), le spathuléol (5,80%), le camphre (5,27%) et le germacrène D (5,03%), comme composés majoritaires. Ces auteurs avancent d'autres constituants présents en proportions appréciables, il s'agit de : δ -cadinène (6,55%) et myrténol (4,26%) et qui sont présents en faible quantité dans tous nos échantillons (tr-0,4%) (Salah-Fatnassi *et al.*, 2017).

En revanche, une étude postérieure à notre article, décrit une composition chimique similaire à la nôtre pour l'huile essentielle de parties aériennes fraîches récoltées à Ichemoul dans la région de Batna. Les composés majoritaires sont le β -pinène (11,65%), le germacrène D (10,33%), le 1,8-cinéole (9,46%), le sabinène (7,18%), l' α -bisabolol (5,63%) et l' α -curcumène (4,5%). Par contre, ils rapportent une teneur non négligeable en hédycaryol (5,79%) qui n'a pas été identifié dans nos échantillons. Il est à noter également que certains constituants parmi les composés majoritaires de nos échantillons, tels que : le myrcène, le *cis*-chrysanthénol, le capillène, le santolina alcool (0,2-14,0%) et le lyratol sont totalement absents dans cette huile essentielle (Boudjedjou *et al.*, 2019).

➤ **Identification des composés à motif di-alcyne**

Quatre composés minoritaires qui présentent une structure avec un motif di-alcyne, et pouvant correspondre à deux couples de stéréo-isomères, ont été proposés par la spectrométrie de masse. Ces composés sont probablement deux paires de stéréo-isomères avec des masses moléculaires qui diffèrent de deux unités, rapport de : $m/z = 200$ vs. 198. Les banques de masses nous orientent vers des composés dioxaspiraniques. Compte tenu de leur faible teneur, nous avons réalisé un fractionnement sur une colonne ouverte de silice afin de les concentrer et de s'assurer de leur présence. Ainsi, un échantillon regroupant plusieurs échantillons individuels de profil chromatographique similaire (Fesdis : F1 à F6 ; 247,9 mg) a été soumis à un fractionnement sur colonne ouverte de silice de type « flash » (35 à 70 μm), en utilisant un gradient d'élution pentane/éther diéthylique (100:0 à 0:100). Huit fractions (Fr1-Fr8) ont été obtenues et une neuvième fraction éluee avec une solution de méthanol pur. Toutes les fractions ont été analysées par CPG(Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C .

Les déplacements chimiques de tous les carbones du (*E*)-2-(2',4'-hexadiynylidène)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diène ont pu être aisément repérés sur le spectre de RMN ^{13}C de la fraction Fr4 dans laquelle celui-ci est présent à 46,6%. Ces déplacements chimiques sont parfaitement en accord avec ceux décrits par **Sanz *et al.* (1990)** (**Tableau 12**). Dans ce même spectre et sur la base d'un rapport *E/Z* proche de 8/1 (46,6%/6,3%), une série de 13 pics correspondant à l'isomère *Z* a été également observée (**Tableau 12**).

Tableau 12 : Déplacements chimiques du (*E*) et du (*Z*)-2-(2',4'-hexadiynylidène)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diène identifiés par RMN ^{13}C

Carbones	Stéréo-isomère (<i>Z</i>) δC (ppm)	Stéréo-isomère (<i>E</i>) δC (ppm)	Stéréo-isomère (<i>E</i>) δC (ppm) Sanz <i>et al.</i> (1990)
1	4,74	4,68	4,68
2	81,09	80,03	80,03
3	64,84	64,85	64,84
4	76,80	76,86	77,00
5	70,03	70,86	70,87
6	80,41	81,53	81,52
7	166,74	168,46	168,47
8	134,40	134,77	134,79
9	127,46	126,16	126,16
10	120,83	120,67	120,68
11	38,45	38,30	38,31
12	100,41	100,41	100,40
13	143,91	143,95	143,94

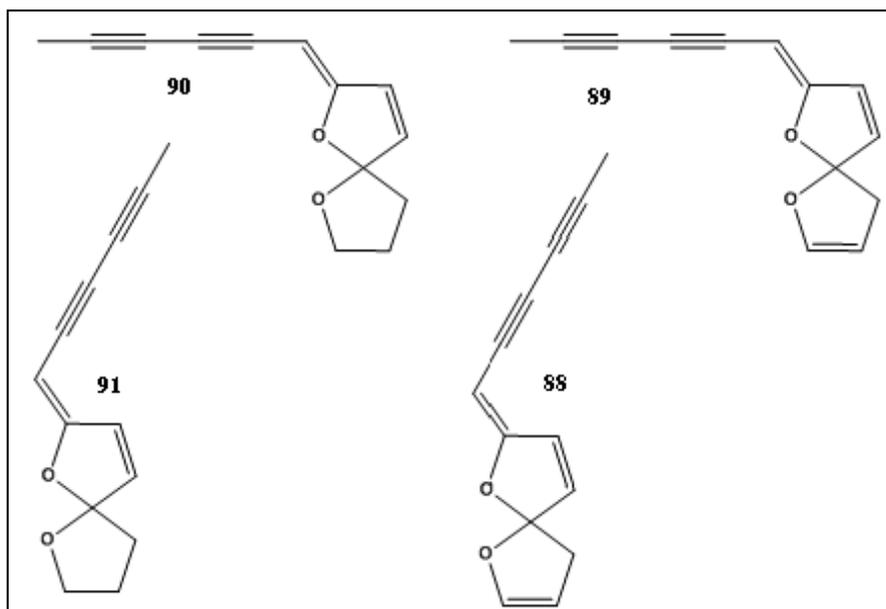
De la même manière, la comparaison avec les données de la littérature nous permet d'identifier le (*E*) et le (*Z*)-tonghaosu ($m/z = 200$) dans le spectre de RMN ^{13}C de la fraction Fr6. Ces composés sont présents à des teneurs appréciables de l'ordre de 3,3 et 2,0%, respectivement dans cette fraction. Nous reportons dans le **tableau 13**, les valeurs des déplacements chimiques de RMN du ^{13}C de ces deux composés qui sont conformes à celles décrites par **Chanotiya et al. (2005)**.

Il est à noter que les composés de di-alcyne sont couramment présents dans la famille des Astéracées (**Konovalov, 2014**). En revanche, ces quatre dérivés de spiroacétalénol ont été identifiés pour la première fois dans une l'huile essentielle de *Santolina africana*. Selon la littérature, ces composés ont été précédemment décrits dans l'huile essentielle des parties aériennes de *Chrysanthemum coronarium* (**Basta et al., 2007**) et dans certains extraits de *C. coronarium* (parties aériennes) (**Bohlmann et al., 1964**), *C. leucanthemum* (racines) (**Wrang et Lam, 1975**) et *S. chamaecyparissus* (feuilles et bourgeons) (**Lam et al., 1989**).

Tableau 13 : Déplacements chimiques du (*E*) et du (*Z*)-tonghaosu identifiés par RMN ^{13}C

Carbones	Stéréo-isomère (<i>E</i>) δC (ppm)	Stéréo-isomère (<i>E</i>) δC (ppm) Chanotiya et al., (2005)	Stéréo-isomère (<i>Z</i>) δC (ppm)	Stéréo-isomère (<i>Z</i>) δC (ppm) Chanotiya et al., (2005)
1	4,65	4,60	4,75	4,74
2	79,61	79,67	80,56	80,58
3	65,00	65,06	65,22	65,40
4	76,33	76,40	79,95	79,94
5	71,51	71,53	70,74	70,71
6	79,95	79,73	78,84	78,83
7	168,83	168,93	167,14	167,16
8	125,79	125,81	127,46	127,45
9	136,00	136,04	135,23	135,25
10	120,83	120,94	121,03	121,06
11	35,52	35,54	35,60	35,61
12	24,52	24,53	24,47	24,48
13	69,67	69,69	69,67	69,66

Sur la **figure (19)**, nous représentons la structure de ces quatre composés identifiés par RMN ^{13}C dans l'huile essentielle de *Santolina africana*.



88 : (*E*)-2-(2',4'-Hexadiynylidène)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diène ; **89** : (*Z*)-2-(2',4'-Hexadiynylidène)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diène ; **90** : (*Z*)-Tonghaosu ; **91** : (*E*)-Tonghaosu

Figure 19 : Structure des composés à motif di-alcyne identifiés par RMN ¹³C dans l'huile essentielle de *Santolina africana*

Tableau 14 : Composition chimique de 18 échantillons d'huile essentielle des parties aériennes de *Santolina africana* d'Algérie (Batna)

N°	Composés ^a	Ir ^{a,b}	B1	B2	B3	B4	B5	B6	F1	F2	F3	F4	F5	F6	H1	H2	H3	H4	H5	H6
1	Hexanal	774	Tr	-	Tr	-	Tr	Tr	-	-	Tr	-	-	-	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
2	Santolinatriène	901	-	Tr	-	-	0,1	0,5	0,5	0,5	0,8	0,3	0,1	-	0,2	0,1	Tr	0,2	0,4	0,5
3	α -Thujène	923	Tr	-	Tr	-	Tr	0,1	-	Tr	Tr	-	-	-	Tr	0,1	Tr	0,1	Tr	Tr
4	α -Pinène	931	1,0	1,0	1,1	1,6	0,5	1,0	0,8	0,9	1,2	0,4	1,2	0,6	0,9	1,4	1,0	1,3	1,1	0,6
5	Camphène	944	-	-	0,2	0,6	0,3	0,2	0,5	0,2	0,7	0,5	0,6	0,2	0,3	0,7	0,2	0,2	0,3	0,2
6	Oct-1-en-3-ol	961	Tr	-	-	-	Tr	Tr	-	-	Tr	-	-	-	Tr	Tr	-	Tr	Tr	Tr
7	Sabinène	965	0,7	0,5	0,7	0,3	0,6	1,1	0,5	0,7	0,7	0,4	0,8	0,2	1,0	1,3	0,8	1,2	0,7	1,0
8	β -Pinène	971	14,0	18,7	14,8	2,4	2,5	6,5	12,7	12,7	17,0	6,3	17,6	5,5	6,1	8,5	11,4	7,2	4,4	5,4
9	Myrcène	981	9,4	8,7	11,3	4,2	11,0	14,0	10,8	13,6	18,9	8,2	9,2	5,6	11,3	12,5	20,9	7,6	5,4	7,3
10	Yomogi alcool	985	-	0,1	-	-	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	Tr	Tr	-	Tr	0,1	0,1
11	α -Terpinène	1009	0,1	-	-	-	0,3	0,3	Tr	-	0,1	-	-	-	0,1	0,1	0,2	0,1	-	0,1
12	<i>p</i> -Cymène	1012	0,7	0,6	1,1	0,8	0,6	0,7	0,7	1,3	1,1	0,7	1,0	0,5	1,3	1,6	1,4	1,0	0,9	0,7
13	1,8-Cinéole *	1021	10,1	6,7	13,7	11,4	8,6	12,9	9,5	10,1	9,1	8,9	9,5	5,0	13,6	12,7	14,4	16,8	14,5	16,6
14	Limonène*	1021	0,1	0,1	0,2	0,0	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	-	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2
15	β -Phellandrène*	1021	0,3	0,3	0,3	Tr	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	0,4	0,3	0,4	0,2	0,2	0,2
16	Santolina alcool *	1021	Tr	14,0	0,8	0,5	0,2	1,2	3,4	4,5	2,6	2,0	0,9	2,4	4,1	0,2	1,6	4,0	4,2	11,5
17	γ -Terpinène	1048	0,2	-	-	-	0,6	0,4	0,1	-	0,1	-	Tr	-	0,2	0,2	0,3	0,4	0,1	0,5
18	<i>trans</i> -Hydrate de sabinène	1054	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,1	0,5	0,5	0,3
19	Artemisia alcool	1069	0,1	0,3	Tr	-	Tr	0,1	0,2	0,1	0,1	Tr	-	-	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	0,2
20	Terpinolène	1078	Tr	-	Tr	0,1	0,1	0,1	-	Tr	Tr	-	-	-	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1
21	Linalol	1084	0,3	0,3	0,3	0,2	Tr	0,4	0,3	Tr	0,3	0,3	0,4	0,8	0,4	0,4	0,4	0,7	0,4	0,4
22	2-Méthylbutyl de 2-méthylbutyrate	1086	Tr	0,2	0,2	0,1	Tr	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
23	Lyratal	1099	-	2,7	0,1	-	0,2	1,0	0,9	0,8	0,7	1,9	0,2	-	1,1	0,3	Tr	0,2	0,9	0,5
24	Chrysanthénone	1101	0,1	0,5	-	-	Tr	1,1	0,1	0,3	0,1	Tr	Tr	4,5	0,5	0,5	0,7	0,1	0,1	Tr
25	α -Campholénal	1105	0,1	-	-	0,2	Tr	Tr	Tr	-	Tr	-	Tr	0,1	Tr	0,1	Tr	0,1	Tr	Tr

26	Limona kétone	1106	0,2	-	0,2	-	-	-	-	Tr	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	0,1
27	<i>cis-p</i> -Menth-2-en-1-ol	1108	-	Tr	0,1	-	0,1	0,1	0,1	-	0,1	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
28	Camphre	1121	Tr	0,2	0,9	7,9	0,9	0,7	4,5	0,7	3,5	3,5	4,2	1,8	1,7	2,3	1,1	0,9	1,8	1,3
29	<i>trans</i> -Pinocarvérol	1124	0,3	0,6	0,6	1,8	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4	0,2	0,3	0,4	0,5	0,3
30	Verbénol	1129	0,3	0,2	0,1	-	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	0,3	0,2	0,3	0,4	0,4	0,1
31	Pinocarvone	1135	Tr	-	Tr	-	Tr	Tr	-	Tr	-	-	Tr	-	0,1	0,1	Tr	Tr	Tr	0,1
32	Lyratol	1140	0,3	1,3	0,2	0,1	1,1	2,1	4,6	2,1	3,3	6,7	1,1	0,9	2,2	1,1	0,1	1,3	4,4	1,9
33	Benzoate d'éthyle	1144	0,4	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	-	0,1	0,1	-	-	0,2	0,2	0,2	-	0,1	Tr
34	<i>cis</i> -Chrysanthénol	1147	16,5	8,4	1,3	0,7	4,7	3,2	3,8	4,6	2,7	6,0	5,2	3,9	8,3	10,6	7,4	9,9	12,7	2,2
35	Bornéol	1149	-	-	-	0,4	0,9	0,2	0,9	0,3	0,7	0,5	0,4	0,2	0,4	0,6	0,1	0,4	1,2	0,3
36	<i>p</i> -Cymen-8-ol	1158	0,1	-	Tr	-	Tr	Tr	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
37	Terpinéol-4	1162	7,3	2,0	1,7	3,1	1,8	2,1	2,8	1,6	2,2	1,4	1,8	2,9	3,8	2,9	4,5	3,9	2,6	2,1
38	Myrténal	1170	0,2	0,4	0,4	0,5	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
39	α -Terpinéol	1172	1,3	0,6	0,5	0,5	0,4	0,6	0,7	0,4	0,5	0,4	0,6	0,5	0,8	0,5	0,7	0,7	0,7	0,6
40	Myrténol	1179	0,2	0,3	0,3	0,4	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	Tr	0,3	0,2	0,2	0,3	0,4	0,2
41	Verbénone	1182	0,2	0,1	-	-	-	Tr	-	-	-	Tr	-	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	Tr	-
42	Cuminaldéhyde	1212	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	-	0,1	-	0,1	Tr	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
43	Acétate de chrysanthényle	1245	0,3	0,2	0,1	-	0,1	Tr	-	0,1	Tr	0,1	-	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	Tr
44	Acétate de lyratyle	1253	-	0,2	-	-	0,1	0,2	0,5	0,2	0,3	1,2	0,1	-	0,2	0,1	-	0,1	0,2	0,1
45	Acétate de bornyle	1263	0,1	-	0,1	0,1	-	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
46	Acétate de lavandulyle	1265	-	-	-	-	-	-	0,1	Tr	Tr	0,1	-	-	0,1	Tr	-	-	0,1	Tr
47	Carvacrol	1276	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr
48	Eugénol	1327	0,2	-	-	-	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
49	(<i>Z</i>)-Jasnone	1367	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	Tr	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1
50	Méthyleugénol	1370	0,1	-	0,1	0,1	Tr	-	-	0,1	Tr	Tr	Tr	0,2	0,1	0,1	Tr	0,1	0,2	0,1
51	α -Copaène	1375	0,1	Tr	0,1	-	0,4	0,4	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
52	β -Elémène	1387	0,2	0,2	0,1	-	0,5	0,8	0,2	0,3	0,2	0,4	0,2	0,5	0,2	0,1	0,2	Tr	Tr	0,1
53	(<i>E</i>)- β -caryophyllène	1416	0,1	0,1	Tr	-	1,0	0,8	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	1,0	0,2	0,2	0,2	0,4	0,1	0,1

54	β-Copaène	1432	-	-	0,1	0,3	0,4	0,4	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
55	α-trans-Bergamotène	1435	-	-	-	-	Tr	Tr	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56	(E)-β-Farnésène	1447	0,1	-	Tr	-	0,4	0,2	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr
57	α-Humulène	1456	0,1	-	0,1	-	0,2	0,1	Tr	0,1	0,1	Tr	-	-	-	-	-	-	-	-
58	Capillène	1458	0,1	-	0,4	0,1	0,4	Tr	0,1	0,1	0,1	0,2	Tr	-	3,7	4,1	0,2	6,6	7,5	16,9
59	α-Curcumène	1469	0,6	0,4	0,5	1,4	1,8	1,0	1,4	1,3	1,1	1,4	1,1	3,2	0,5	0,7	0,4	0,6	0,3	0,4
60	γ-Curcumène	1472	0,3	-	-	-	2,6	1,1	0,1	-	0,1	-	-	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,1
61	Germacrène D	1475	3,5	0,1	0,1	-	25,3	20,2	5,0	1,5	4,2	3,8	2,0	7,5	2,1	2,0	3,5	1,9	1,2	2,7
62	Myristicine	1486	0,6	0,3	0,3	0,5	0,1	0,1	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3	0,6	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
63	Bicyclogermacrène	1490	0,7	0,1	0,1	-	6,3	2,5	0,7	0,1	0,6	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2	0,5	0,3	0,1	0,4
64	δ-Cadinène	1513	0,2	Tr	0,1	-	0,3	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
65	Elémicine	1521	0,1	-	-	-	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	-	0,1	Tr	-	-	Tr
66	β-Elémol	1533	1,9	1,0	Tr	-	0,7	1,3	2,0	0,7	1,4	0,1	2,0	3,5	1,6	1,3	1,4	0,5	1,1	0,9
67	(E) α-Bisabolène	1533	0,6	-	0,3	0,3	4,5	4,3	0,7	1,0	0,6	0,1	1,4	1,0	1,1	0,9	0,7	1,1	0,6	0,8
68	Salviadiénol	1539	0,1	0,2	0,3	0,4	0,1	0,1	0,2	0,3	0,2	0,3	0,2	0,7	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1
69	Benzoate d'hexényle	1543	0,2	0,4	0,2	0,4	Tr	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	-	Tr	Tr
70	β-Calacorène	1548	Tr	0,1	0,1	0,2	Tr	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr
71	Spathuléol	1563	7,4	9,1	15,1	20,7	4,3	2,5	8,7	9,4	6,4	11,6	8,0	9,9	6,2	6,4	5,3	5,2	6,0	3,5
72	1,5-Epoxyalial-4(14)-ène	1568	0,2	-	0,7	-	0,4	0,3	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-
73	Oxyde de caryophyllène	1569	0,2	0,6	0,8	1,2	0,1	0,1	0,5	0,9	0,3	0,5	0,5	1,6	0,3	0,4	0,3	1,1	0,4	0,2
74	Salvial-4(14)-en-1-one	1577	0,1	0,3	0,3	0,5	0,1	0,1	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,6	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1
75	Apiole dill	1589	0,6	0,1	0,4	0,4	Tr	Tr	0,3	-	0,3	0,1	0,1	0,7	0,3	-	0,2	0,2	0,1	Tr
76	Capilline	1596	-	-	-	-	-	-	Tr	0,2	-	-	0,5	-	0,6	0,7	-	0,5	1,2	1,2
77	γ-Eudesmol	1617	0,4	0,8	0,2	0,1	0,2	0,2	0,3	0,7	0,3	0,3	0,6	0,9	0,4	0,3	0,3	0,2	0,4	0,2
78	iso-Spathuléol	1620	0,5	0,3	0,4	0,3	0,3	0,2	0,6	0,5	0,4	0,6	0,4	1,4	0,4	0,4	0,3	0,4	0,4	0,3
79	τ-Muurolol	1624	0,4	0,5	0,6	0,8	Tr	0,2	0,7	0,6	0,5	0,8	0,4	1,4	0,4	0,5	0,4	Tr	0,5	0,3
80	δ-Cadinol	1628	0,1	-	0,3	-	-	-	0,1	Tr	0,1	0,1	-	-	0,4	0,1	0,1	0,5	0,1	0,3
81	β-Eudesmol	1633	2,4	3,0	-	Tr	1,1	0,5	0,7	0,7	0,5	1,4	1,2	1,8	0,9	0,6	2,1	0,8	0,9	0,3

82	<i>α</i>-Cadinol	1637	0,2	0,2	0,3	0,4	0,1	0,1	0,2	0,4	0,1	0,5	0,1	0,4	Tr	0,1	0,3	0,2	0,3	Tr
83	<i>α</i>-Eudesmol	1638	0,2	-	-	-	Tr	0,1	-	-	Tr	-	Tr	0,3	0,1	Tr	0,1	-	0,2	Tr
84	Oxyde d'<i>α</i>-bisabolol	1640	Tr	0,1	0,7	1,7	Tr	-	-	0,1	Tr	0,1	Tr	-	Tr	0,2	0,2	0,5	0,5	0,3
85	<i>β</i>-Bisabolol	1660	0,1	-	-	-	Tr	Tr	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1
86	<i>α</i>-Bisabolol	1666	3,6	2,6	13,2	20,0	4,5	2,2	4,7	9,1	3,5	8,3	6,9	6,6	6,6	7,6	4,4	6,8	7,4	7,8
87	Eudesma-4(15),7-dien-1-<i>β</i>-ol	1670	0,2	-	Tr	-	Tr	-	Tr	0,2	Tr	Tr	Tr	0,4	Tr	Tr	Tr	-	-	-
88	(<i>E</i>)-2-(2',4'-hexadiynylidène)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diène	1757	2,2	3,8	1,1	3,8	1,2	0,7	3,0	4,7	2,2	4,3	7,3	4,5	1,8	2,3	1,6	0,9	2,0	0,7
89	(<i>Z</i>)-2-(2',4'-hexadiynylidène)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diène	1796	0,2	Tr	-	-	0,1	Tr	0,1	0,2	0,1	0,2	0,4	0,2	0,1	0,1	Tr	-	0,1	Tr
90	(<i>Z</i>)-Tonghaosu	1823	0,2	-	0,1	-	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	Tr	Tr	Tr
91	(<i>E</i>)-Tonghaosu	1828	0,5	0,2	3,6	1,5	0,4	0,6	3,1	2,2	2,3	3,8	1,1	3,7	2,1	2,6	1,5	0,6	1,2	0,3
Total (%)			94,6	94,4	92,7	94,1	95,1	93,6	95,4	94,7	95,7	93	93,2	92,4	93,3	94,6	95,2	92,5	94,9	95,2

^a : L'ordre d'éluion et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^b Ir_a : Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. Tr : Traces. - : Absence totale du composé. Échantillons : B (Bouilef, 1-6) ; F (Fesdis, 1-6) ; H (Hamla, 1-6).

II.1.1.3. Etude de la variabilité de la composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Santolina africana*

Ayant observé des variations concernant la composition et les teneurs des composés majoritaires, les résultats de la composition chimique des 18 échantillons ont été soumis à l'analyse statistique dans le but de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique des huiles essentielles de *S. africana*. Ainsi, ces compositions ont été soumises à l'analyse en composantes principales (ACP), dans laquelle le plan défini par les deux axes F1 et F2 décrit 51,05% de la variance totale de la population (les deux axes F1 et F2 représentent respectivement, 31,70% et 19,35%).

Nous avons noté que la composition de tous les échantillons est qualitativement assez similaire. Par ailleurs, bien que les teneurs des composés majoritaires varient considérablement d'un échantillon à un autre, il n'a pas été possible de distinguer des groupes. Par conséquent, un groupe principal, constitué de 16 échantillons et deux compositions atypiques (B5 et B6) ont été observés (**Figure 20, 21**). En effet, comme mentionné précédemment, ces deux échantillons sont dominés par le germacrène D présent à des pourcentages de l'ordre de 25,3 et 20,2%, respectivement, contre (0,0 à 7,5%) pour tous les autres échantillons. Ils contiennent également des quantités appréciables en : bicyclogermacène (6,3 et 2,5%, respectivement vs. 0,0-0,7%), (*E*)- α -bisabolène (4,5 et 4,3%, respectivement vs. 0,0-1,4%) et γ -curcumène (2,6 et 1,1%, respectivement vs. 0,0-0,3%).

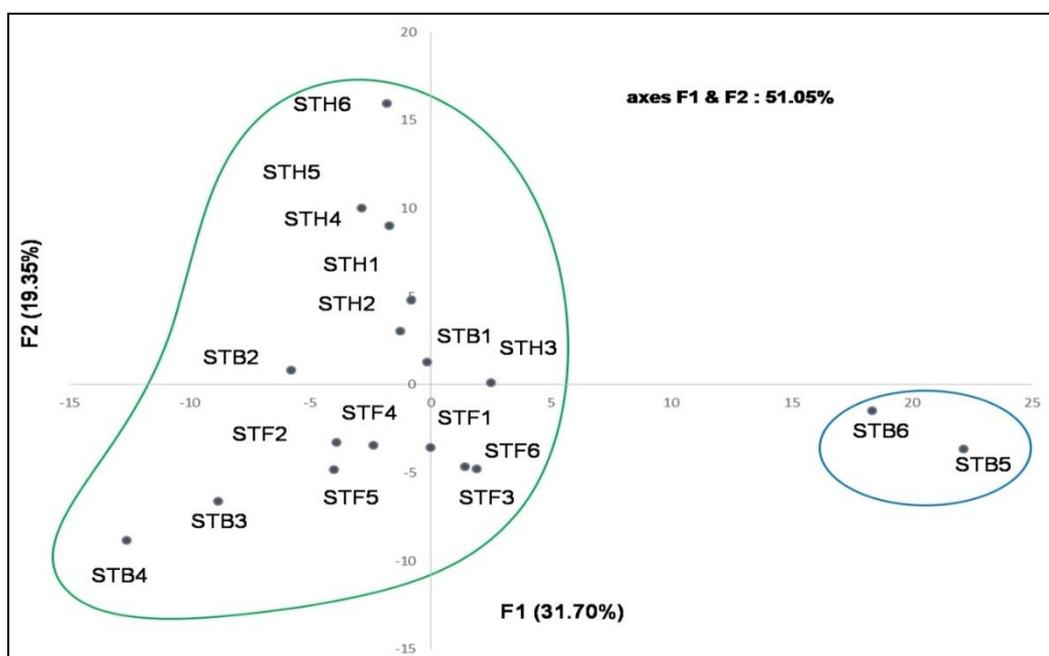
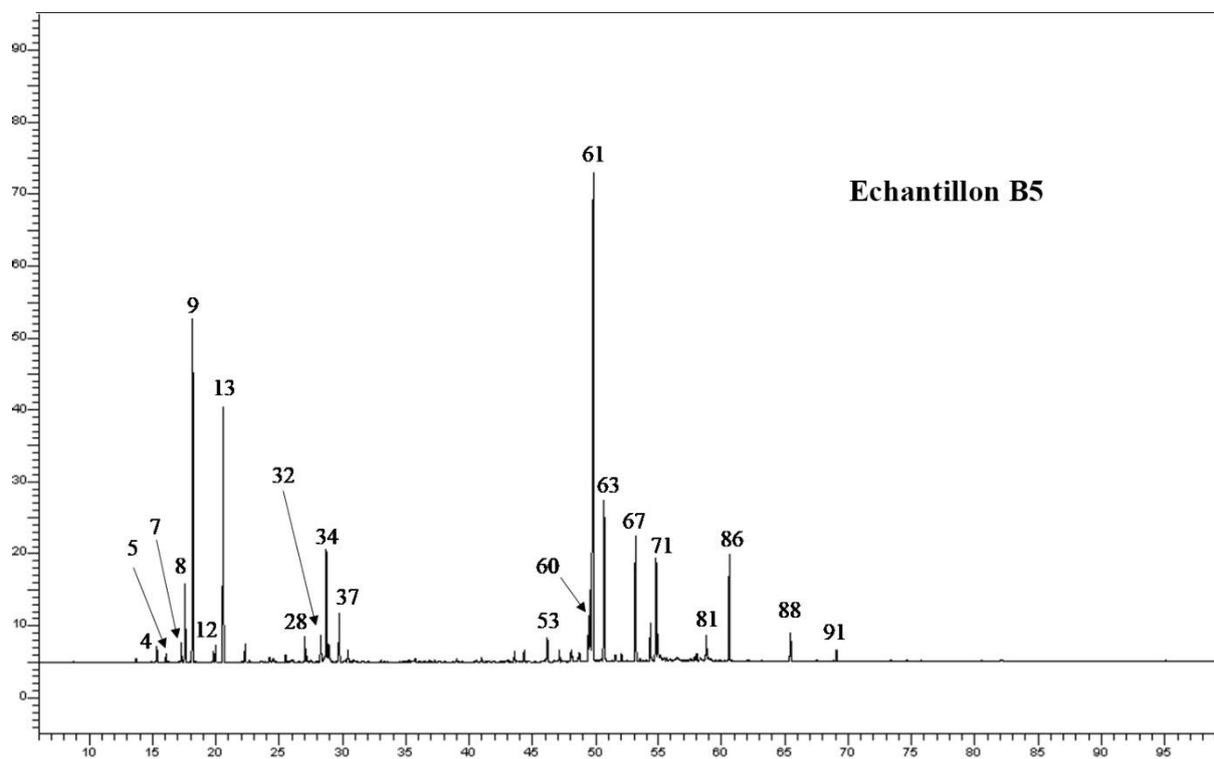
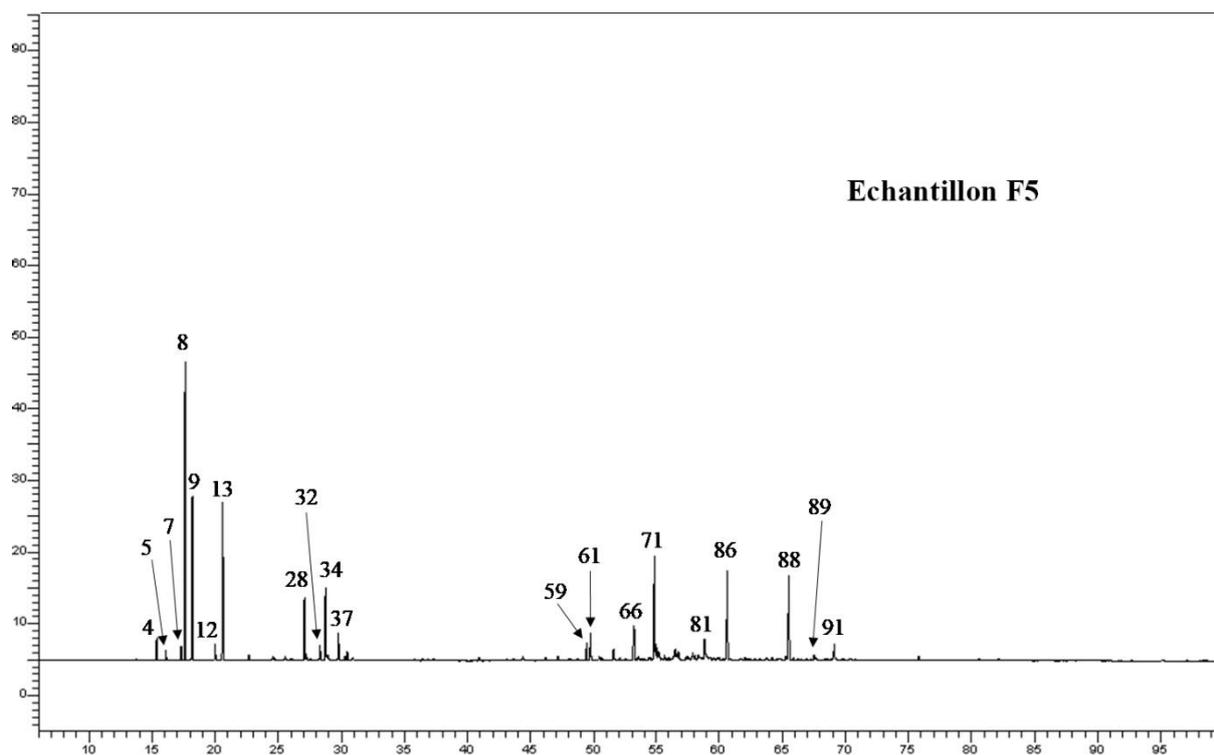


Figure 20 : Analyse en composantes principales de 18 échantillons des huiles essentielles des parties aériennes de *Santolina africana*



Les pics numérotés correspondent aux composés identifiés (**Tableau14**)

Figure 21 : Chromatogrammes des huiles essentielles de *Santolina africana* (Échantillons F5 et B5)

II.1.1.4. Comparaison de la composition chimique entre les trois stations d'étude

Nous reportons dans le **tableau 15**, les moyennes des composés majoritaires, les écarts type ainsi que leurs valeurs maximales et minimales.

Les composés majoritaires au niveau des trois stations sont : le 1,8-cinéole, le myrcène, le β -pinène et le spathuléol. Cependant, les échantillons de Bouilef et de Hamla contiennent des teneurs appréciables en santolina alcool (jusqu'à 14,0 et 11,5%, respectivement contre (jusqu'à 4,5%) pour les échantillons de Fesdis. Les échantillons de Bouilef sont très riches en germacrène D (jusqu'à 25,3%) contre (jusqu'à 7,5 et 3,5%, respectivement) et en α -bisabolol (jusqu'à 20,0% contre (jusqu'à 9,1 et 7,8%, respectivement) pour comparaison aux échantillons de Fesdis et de Hamla.

Par ailleurs, les échantillons de Bouilef contiennent également des quantités appréciables en camphre (jusqu'à 7,9%), en terpinéol-4 (jusqu'à 7,3%), en bicyclogermacrène (jusqu'à 6,3%), (*E*)- α -bisabolène (jusqu'à 4,5%), en β -eudesmol (jusqu'à 3,0%) et en γ -curcumène (jusqu'à 2,6%). D'autres composés sont présents en teneurs assez importantes dans les échantillons de Fesdis, il s'agit : (*E*)-2-(2',4'-hexadiynylidène)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diène (jusqu'à 7,3%), lyratol (jusqu'à 6,7%), chrysanthénone (jusqu'à 4,5%) et α -curcumène (jusqu'à 3,2%). En revanche, le capillène (jusqu'à 16,9%, contre 0,2 et 0,4%) et la capilline (jusqu'à 1,2% contre 0,5 et 0,0%) pour les échantillons de Fesdis et de Bouilef, respectivement, sont présents en proportions élevées dans les échantillons de Hamla.

Enfin, les échantillons de Fesdis sont les moins riches en *cis*-chrysanthénol (jusqu'à 6,0% contre jusqu'à 12,7% et jusqu'à 16,5%) pour les échantillons des stations de Hamla et Bouilef, respectivement.

Tableau 15 : Moyennes des composés majoritaires de l'huile essentielle des parties aériennes de *S. africana* par station

Composés	Stations								
	Fesdis (Bouilef)			Fesdis (Chef-lieu)			Oued Chaaba (Hamla)		
	Moy ± ET	Min	Max	Moy ± ET	Min	Max	Moy ± ET	Min	Max
β -Pinène	9,8 ± 6,9	2,4	18,7	12,0 ± 5,1	5,5	17,6	7,2 ± 2,5	4,4	11,4
Myrcène	9,8 ± 3,3	4,2	14,0	11,1 ± 4,7	5,6	18,9	10,8 ± 5,6	5,4	20,9
1,8-Cinéole*	10,6 ± 2,6	6,7	13,7	8,7 ± 1,9	5,0	10,1	14,8 ± 1,6	12,7	16,8
Santolina alcool*	3,3 ± 6,0	0,2	14,0	2,6 ± 1,2	0,9	4,5	4,3 ± 3,9	0,2	11,5
Chrysanthénone	0,6 ± 0,5	0,1	1,1	1,3 ± 2,2	0,1	4,5	0,4 ± 0,3	0,1	0,7
Camphre	2,1 ± 3,2	0,2	7,9	3,0 ± 1,5	0,7	4,5	1,5 ± 0,5	0,9	2,3
Lyratol	0,9 ± 0,8	0,1	2,1	3,1 ± 2,2	0,9	6,7	1,8 ± 1,5	0,1	4,4
<i>cis</i> -Chrysanthénol	5,8 ± 5,9	0,7	16,5	4,4 ± 1,2	2,7	6,0	8,5 ± 3,6	2,2	12,7
Terpinéol-4	3,0 ± 2,2	1,7	7,3	2,1 ± 0,6	1,4	2,9	3,3 ± 0,9	2,1	4,5
Capillène	0,3 ± 0,2	0,1	0,4	0,1 ± 0,1	0,1	0,2	6,5 ± 5,7	0,2	16,9
α -Curcumène	1,0 ± 0,6	0,4	1,8	1,6 ± 0,8	1,1	3,2	0,5 ± 0,1	0,3	0,7
γ -Curcumène	1,3 ± 1,2	0,3	2,6	0,2 ± 0,1	0,1	0,3	0,1 ± 0,0	0,1	0,1
Germacrène D	9,8 ± 12,0	0,1	25,3	4,0 ± 2,2	1,5	7,5	2,2 ± 0,8	1,2	3,5
Bicyclogermacrène	1,9 ± 2,6	0,1	6,3	0,4 ± 0,2	0,1	0,7	0,3 ± 0,1	0,1	0,5
(<i>E</i>)- α -Bisabolène	2,0 ± 2,2	0,3	4,5	0,8 ± 0,4	0,1	1,4	0,9 ± 0,2	0,6	1,1
Spathulénol	9,9 ± 6,9	2,5	20,7	9,0 ± 1,8	6,4	11,6	5,4 ± 1,1	3,5	6,4
Capilline	-	-	-	0,4 ± 0,2	0,2	0,5	0,8 ± 0,3	0,5	1,2
β -Eudesmol	1,8 ± 1,2	0,5	3,0	1,1 ± 0,5	0,5	1,8	0,9 ± 0,6	0,3	2,1
α -Bisabolol	7,7 ± 7,3	2,2	20,0	6,5 ± 2,1	3,5	9,1	6,8 ± 1,2	4,4	7,8
(<i>E</i>)-2-(2',4'-hexadiynylidène)-1,6-dioxaspiro [4.4]-nona-3,7-diène	2,1 ± 1,4	0,7	3,8	4,3 ± 1,7	2,2	7,3	1,6 ± 0,6	0,7	2,3
(<i>E</i>)-Tonghaosu	1,1 ± 1,3	0,2	3,6	2,7 ± 1,0	1,1	3,8	1,4 ± 0,9	0,3	2,6

^a: L'ordre d'éluion et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). - : Absence totale du composé.

II.2. Etude des activités biologiques des huiles essentielles des parties aériennes de *Santolina africana*

Dans cette partie, nous avons étudié l'activité antimicrobienne, antioxydante et anti-inflammatoire des huiles essentielles des parties aériennes de *Santolina africana*.

Pour la réalisation des activités biologiques, nous avons regroupé les huiles de certains échantillons et nous avons effectué un autre échantillonnage collectif en mai 2018, afin de disposer de quantités suffisantes pour faire les tests. La composition chimique de ces deux échantillons est représentée dans le **tableau 16**.

Tableau 16 : Composés majoritaires des échantillons utilisés pour les activités biologiques

Composés majoritaires (en %)	Echantillon 2016	Echantillon 2018
α -Pinène	1,0	1,6
Sabinène	1,2	1,8
β-Pinène	5,2	16,2
Myrcène	5,8	33,8
<i>p</i> -Cymène	1,3	0,6
1,8-Cinéole*	12,8	14,4
Limonène*	1,9	0,5
Santolina alcool*	3,1	2,6
Camphre	1,6	1,7
Lyratol	2,4	0,2
<i>cis</i> -Chrysanthénol	6,0	2,2
Terpinéol-4	3,2	5,0
α -Terpinéol	0,9	1,4
Capillène	2,2	Tr
α -Curcumène	1,6	0,3
Germacrène D	7,2	2,1
β-Elémol*	1,4	0,6
(E)-α-Bisabolène*	2,0	0,3
Spathuléol	6,2	0,8
α-Bisabolol	5,2	2,0

II.2.1. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des parties aériennes de *Santolina africana*

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle des parties aériennes de *S. africana* a été testée contre quatre bactéries, deux levures et trois champignons filamenteux, en utilisant la méthode de diffusion sur disque (**Tableau 17**).

Les résultats obtenus par cette méthode ont montré que l'huile est active vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, les deux levures et les trois champignons filamenteux avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 13,0 mm à 19,7 mm.

Les souches microbiennes *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus fumigatus* se sont révélées les plus sensibles, avec des zones d'inhibition de 19,7 mm et 17,5 mm, respectivement. En revanche, aucune sensibilité des souches de *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* n'a été observée.

Ces résultats sont conformes aux précédentes études menées sur le genre *Santolina*. En effet, l'huile essentielle de *S. africana* qui contient de l'acénaphthane (25,23%), du calarène (21,54%), de l'ocimène (17,44%) comme composés majoritaires, s'est montrée active contre les mêmes micro-organismes, avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 6,50 mm et 20,15 mm. *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* sont les souches les plus sensibles, avec des zones d'inhibition de 20,15 et 19,5 mm, respectivement (**Derouiche et al., 2013**).

En revanche, **Boudjedjou et al.** en **2019** rapportent des diamètres de zones d'inhibition supérieurs aux nôtres pour l'huile essentielle des parties aériennes de *Santolina africana*, de l'ordre de 29,0 et 29,27 mm, vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli* respectivement.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *S. africana* est liée à sa composition chimique dont les composés majoritaires sont : 1,8-cinéole (12,8%), germacrène D (7,2%), spathuléol (6,2%), cis-chrysanthéol (6,0%), myrcène (5,8%), β -pinène (5,2%), α -bisabolol (5,2%), terpinéol-4 (3,2%), santolina alcool (3,1%), lyratol (2,4%), capillène (2,2%), (*E*)- α -bisabolène (2,0%), limonène (1,9%), camphre (1,6%) et β -élémol (1,4%) (**Tableau 17**).

Le 1,8-cinéole a déjà été décrit comme antimicrobien contre *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans* avec des CMI's variant entre 0,125 et 1,85 μ l/ml (**Özek et al., 2010 ; Santoyo et al., 2005**), tandis que le myrcène, qui représentait 57,2% de la fraction hydrocarbonée de l'huile essentielle de *S. corsica*, est déjà rapporté comme étant inactif contre *S. aureus* (**Wannissorn et al., 2005 ; Liu et al., 2007**).

Il a également été rapporté que le β -pinène, l' α -pinène, myrcène et le germacrène D présentent une faible activité sur un panel de micro-organismes (**Angioni et al., 2003 ; Sonboli et al., 2006 ; Soković et al., 2006**). En effet, l'huile essentielle de *Pinus nigra* ssp. *pallasiana* (α -pinène 42,3% ; germacrène D 30,6%) a montré une faible activité antimicrobienne contre les mêmes souches avec des CMI's comprises entre 10 et 20 mg/ml (**Šarac et al., 2014**).

Il a été démontré dans la littérature que l'activité d'une huile essentielle résulte d'une interaction complexe entre ses différents constituants, susceptible de produire des effets

synergiques ou antagonistes, même pour ceux présents à de faibles quantités (**Xianfei et al., 2007**), par exemple : le 1,8-cinéole associé au camphre a montré des effets antimicrobiens plus importants (**Viljoen et al., 2003**). Ainsi, le camphre qui est présent à une teneur de l'ordre de 1,6% a probablement participé à cette activité. En effet, **Lemos et al. (2015)** ont rapporté que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* qui est riche en camphre (24,4-35,9%) manifeste une activité antimicrobienne élevée contre *S. aureus* avec des CMI's comprises entre 0,5 et 2,0 µl/ml.

De même, le lyratol qui est présent à une quantité de l'ordre de 2,4% a aussi probablement participé à cette activité. En effet, une activité antimicrobienne intéressante d'une fraction de l'huile essentielle de *Santolina corsica* riche en lyratol (84%) a été observée contre *S. aureus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 19 mm, en suggérant que le lyratol pourrait être le principal responsable des propriétés antimicrobiennes de *Santolina corsica* (**Liu et al., 2007**).

Il est à noter aussi, que les terpènes oxygénés, tels que les alcools présents en quantités appréciables dans notre huile, sont actifs mais avec des spécificités et des niveaux d'activité différents (**Panizzi et al., 1993 ; Adam et al., 1998**). En effet, **Filipowicz et al. (2003)** et **Bougatsos et al. (2004)** avancent que le terpinéol-4 et le spathuléol possède un pouvoir antimicrobien, respectivement.

Tableau 17 : Activité antimicrobienne de l'huile essentielle des parties aériennes de *Santolina africana*

Microorganismes	Huile essentielle (15 µl/disc)	Contrôles positifs						Contrôle négatif (DMSO) 6,0
		CHL	VAN	GMN	CIP	FLU	NY	
<i>Escherichia coli</i>	8,00 ± 0,0	25,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	23,0 ± 0,0	35,5 ± 0,7	----	----	6,0
<i>Klebsiell apneumoniae</i>	6,0 ± 0,0	21,3 ± 0,6	6,0 ± 0,0	20,0 ± 0,0	30,5 ± 0,7	----	----	6,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	19,7 ± 0,6	25,5 ± 0,7	17,0 ± 0,0	21,0 ± 0,0	32,0 ± 0,0	----	----	6,0
<i>Bacillus cereus</i>	6,0 ± 0,0	29,5 ± 0,7	6,0 ± 0,0	21,0 ± 0,0	37,0 ± 0,0	----	----	6,0
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	13,0 ± 0,0	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	16,0 ± 0,0	6,0
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	15,3 ± 1,5	----	----	----	----	15,0 ± 0,0	19,0 ± 1,0	6,0
<i>Aspergillus flavus</i>	20,5 ± 0,7 ^a	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	22,3 ± 0,6	6,0
	13,5 ± 0,7 ^b	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	----	6,0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	43,0 ± 2,8 ^a	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	33,7 ± 1,2	6,0
	17,5 ± 3,5 ^b	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	----	6,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	38,5 ± 2,1 ^a	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	16,0 ± 1,0	6,0
	15,0 ± 0,0 ^b	----	----	----	----	6,0 ± 0,0	----	6,0

CHL : Chloramphénicol, VAN : Vancomycine, GMN : Gentamicine, CIP : Ciprofloxacine, FLU : Fluconazole, NY : Nystatine ont été utilisés comme contrôles positifs. Valeurs moyennes des zones d'inhibition de la croissance en mm y compris le diamètre du disque de 6 mm ± Ecart-type. ---- : Non testé. a, b : après 3 jours et 5 jours d'incubation, respectivement.

II.2.2. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles des parties aériennes de *Santolina africana*

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *S. africana* a été mesurée par le test du piégeage des radicaux libres DPPH selon deux protocoles. Les résultats sont présentés dans les figures 22 et 23 (Tableau 1, Annexe 3). Il est à noter que nous avons testé l'échantillon 2016 obtenu en regroupant plusieurs échantillons ainsi que l'échantillon collectif récolté en 2018.

Le protocole 1, montre un faible pouvoir antioxydant de l'huile de *S. africana*, avec un pourcentage d'inhibition le plus élevé compris entre $83,75 \pm 0,33\%$ et $96,02 \pm 0,08\%$ à des concentrations allant de 200 jusqu'à 800 mg/ml et une valeur de CI_{50} égale à $82,83 \pm 0,02$ mg/ml (Tableau 18).

Le protocole 2, révèle une activité antioxydante plus élevée, aux concentrations de 32, 64, 128 et 256 mg/ml, avec des pourcentages d'inhibition compris entre $85,54 \pm 2,17\%$ et $100 \pm 0,00\%$ et une valeur de CI_{50} égale à $1,51 \pm 0,04$ mg/ml. Cependant, ce potentiel antioxydant de l'huile essentielle est faible par rapport à celui de l'acide ascorbique (contrôle positif), avec un pourcentage d'inhibition de 100%, à une concentration de 2 mg/ml et une valeur de CI_{50} nettement inférieure de l'ordre de $0,02 \pm 0,001$ mg/ml (Tableau 18).

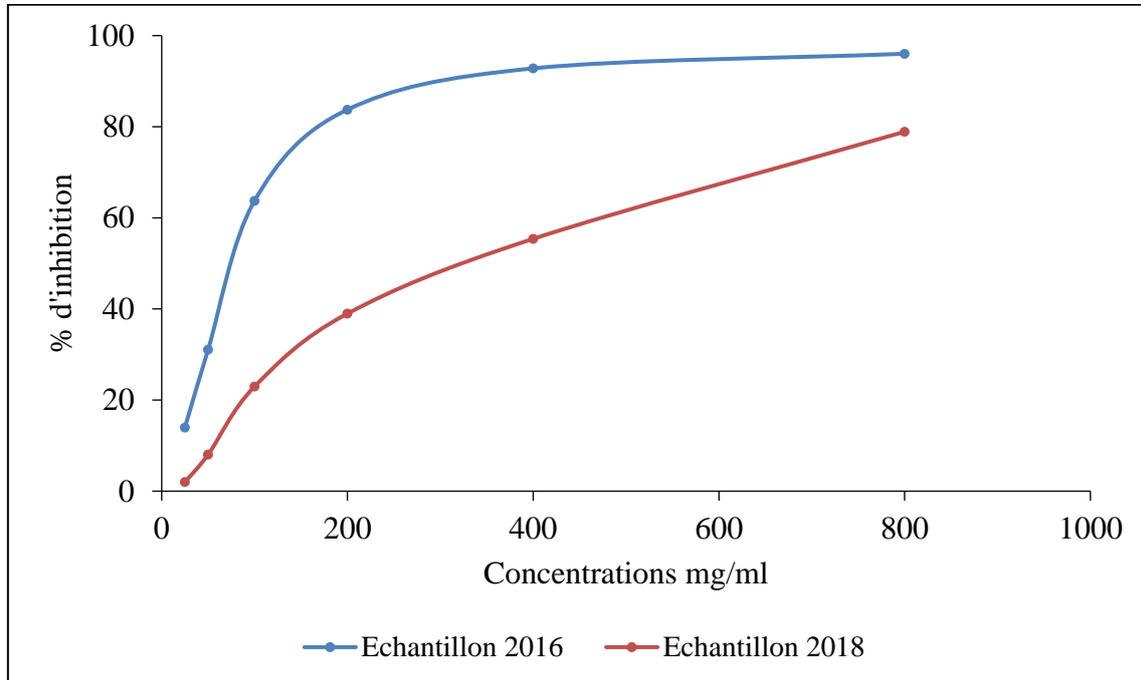


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *Santolina africana* (Protocole 1)

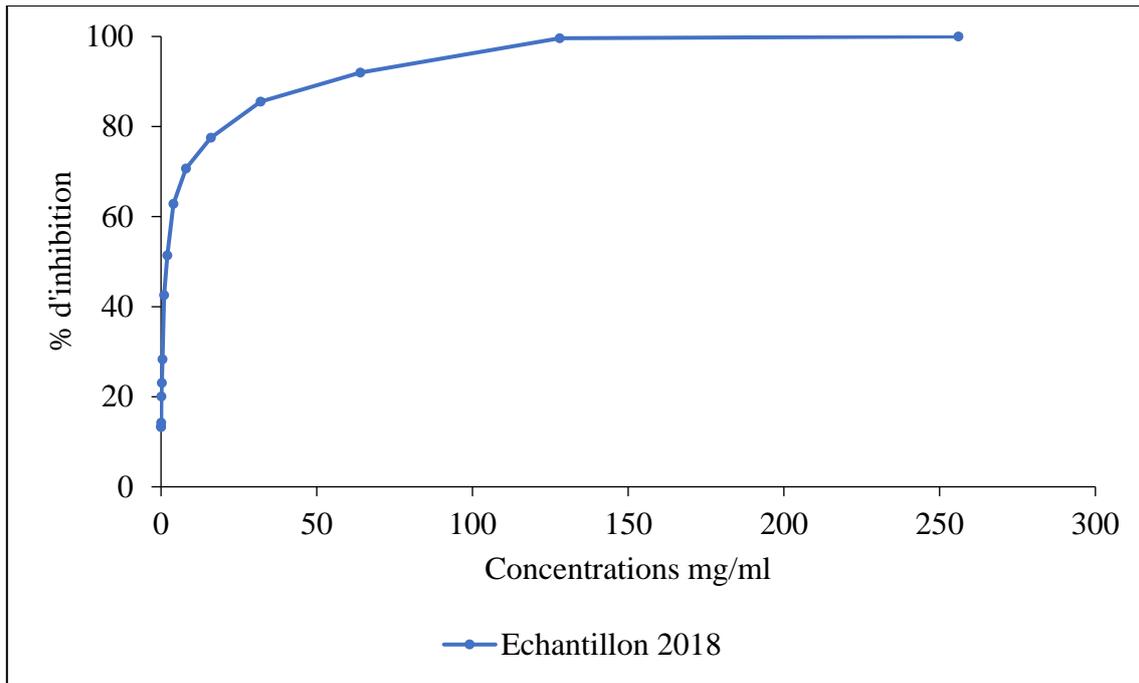


Figure 23 : Pourcentage d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *Santolina africana* (Protocole 2)

Tableau 18 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH des huiles essentielles des parties aériennes de *Santolina africana* exprimée en CI_{50} (Protocoles 1 et 2)

Echantillons	CI_{50} (mg/ml)	
	Protocole 1	Protocole 2
Echantillon 2016	82,83 ± 0,02	----
Echantillon 2018	284,32 ± 2,05	1,51 ± 0,04
Acide ascorbique	0,024 ± 0,00	0,02 ± 0,001

Boudjedjou *et al.* en 2019 rapportent également une bonne activité antioxydante, avec un pourcentage d’inhibition variant entre 23,3 et 92,9% à des concentrations de l’ordre de 0,28 à 18 mg/ml et une CI_{50} 1,13 mg/ml, comparable à la nôtre, mais qui reste faible par rapport au composant de référence, à savoir l’acide ascorbique ($CI_{50} = 12,5 \mu\text{g/ml}$).

Dans des études antérieures, **Derouiche *et al.* (2013)** ont rapporté un pourcentage d’inhibition du radical libre DPPH de l’huile essentielle des fleurs de *S. africana* d’environ 13,80% à une concentration de 0,1 M, une valeur très faible à celle de l’acide ascorbique (plus de 70% d’inhibition) utilisée comme contrôle positif.

Nouasri *et al.* (2015) ont évalué l’activité antioxydante de l’huile essentielle des parties aériennes de *S. chamaecyparissus* en utilisant deux méthodes, le test du piégeage des radicaux libres DPPH et le test de blanchiment du β -carotène. Ils ont rapporté également une faible

capacité de l'huile à réduire le radical DPPH avec une CI_{50} d'environ $43,01 \pm 8,04$ mg/ml, comparé au BHT ($CI_{50} = 0,072 \pm 0,001$ mg/ml) et à l'acide ascorbique ($CI_{50} = 0,004 \pm 0,001$ mg/ml). Le test de blanchiment du β -carotène a révélé que l'huile essentielle avait une activité antioxydante modérée avec un pourcentage d'inhibition de l'oxydation de l'acide linoléique de l'ordre de 47,00%, une activité supérieure à celle de l'acide ascorbique testé (11,05%), mais très faible à celle du BHT (96,92%).

Par ailleurs, comme cité précédemment pour les huiles essentielles de *Pituranthos scoparius*, en présence de l'éthanol, nous avons obtenu des pourcentages d'inhibition plus importants à des concentrations nettement plus faibles et CI_{50} largement plus faibles (**Tableau 18**).

Par ailleurs, nous avons constaté que l'huile essentielle de l'échantillon 2016 est plus active que celle de l'échantillon de 2018. Ceci est dû probablement à leurs compositions chimiques. Les deux huiles essentielles contiennent des quantités comparables en 1,8-cinéole (12,8 et 14,4%, respectivement). Il est à noter également que l'échantillon de 2018 est riche en myrcène (33,8%) et en β -pinène (16,2%). Cependant, ces deux monoterpènes hydrocarbonés ne possèdent pas d'activité antioxydante. Ainsi, la meilleure activité de l'échantillon 2016 est due à la présence d'autres composés présents en quantités appréciables, à savoir : germacrène D (7,2% vs. 2,1%), spathuléol (6,2% vs. 0,8%), *cis*-chrysanthéol (6,0% vs. 2,2%), α -bisabolol (5,2% vs. 2,0%), lyratol (2,4% vs. 0,2%), capillène (2,2% vs. Tr), (*E*)- α -bisabolène (2,0% vs. 0,3%), limonène (1,9 vs. 0,5%), α -curcumène (1,6% vs. 0,3%) et β -élémol (1,4% vs. 0,6%). Selon la littérature, les composés hydrocarbonés possèdent une faible activité antioxydante. Ainsi, les constituants qui contiennent une fonction alcool sont doués d'activité antioxydante.

II.2.3. Etude de l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles des parties aériennes de *Santolina africana*

La capacité de l'huile essentielle de *S. africana* à inhiber la lipoxygénase de soja a été évaluée en tant qu'indication d'une potentielle activité anti-inflammatoire. Les résultats de ce test sont présentés dans le **Tableau 19**.

On observe que le pourcentage d'inhibition augmente avec la concentration de l'huile essentielle, atteignant 23,4% à 0,015 mg/ml et 57,6% à 0,075 mg/ml.

Aucune activité de la LOX n'a pu être détectée en présence de 0,1 mg/ml d'huile essentielle de *S. africana*, suggérant une inhibition presque complète de l'activité de la LOX.

Les valeurs de CI_{50} (concentration à laquelle 50% de la lipoxygénase a été inhibée) ont été déterminées pour *S. africana* et pour l'inhibiteur non compétitif de la lipoxygénase, l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA) (**Tableau 19**), généralement utilisé comme référence dans les

essais anti-inflammatoires (Whitman *et al.*, 2002 ; Jazet-Dongmo *et al.*, 2008 ; Cutillas *et al.*, 2018). Les données ont montré que la valeur CI_{50} de l'huile essentielle de *S. africana* ($0,065 \pm 0,004$ mg/ml) est 5 fois supérieure à celle du NDGA ($0,013 \pm 0,003$ mg/ml).

Ces résultats nous permettent de considérer l'huile essentielle de *S. africana* comme un excellent inhibiteur de l'activité de la LOX, suggérant un potentiel anti-inflammatoire intéressant.

Tableau 19 : Activité anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Santolina africana*

Concentrations (mg/ml)	% d'inhibition
0,015	23,4 ± 4,1
0,025	28,5 ± 5,5
0,050	37,5 ± 2,8
0,075	57,6 ± 3,5
CI_{50} (mg/ml)	
Huile essentielle	0,065 ± 0,004
* ANDG	0,013 ± 0,003

Les valeurs sont des moyennes de trois essais ± écart type ; * ANDG : Acide nordihydroguaiarétique.

III. *Cymbopogon schoenanthus*

Cymbopogon schoenanthus (L.) Spreng. est une espèce endémique commune dans tout le Sahara, largement répandue dans les régions tropicales en Afrique du Nord et en Asie. On la trouve également en Ethiopie, en Egypte, en Arabie Saoudite et dans l'Asie désertique. (Ozenda, 1991 ; Quézel et Santa, 1962 ; Le Floc'h, 1983 ; Sahki et Sahki, 2004). En dehors des périodes humides, la plante se présente sous forme de paille jaunâtre (Sahki et Sahki, 2004).

Plusieurs études ont été réalisées sur la composition de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* obtenue par hydrodistillation des parties aériennes, des tiges, des feuilles, des fleurs et des racines. Dans la majorité des cas, il s'agit d'études ponctuelles avec un ou deux échantillons d'huile essentielle examinés.

La composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Cymbopogon schoenanthus* a été largement étudiée révélant une grande variabilité de ses composés, généralement caractérisée par des pourcentages élevés de composés monoterpéniques possédant un squelette de type menthane, tels que : la pipéritone, le 2-carène et le limonène. En ce qui concerne l'Algérie, la composition chimique de l'huile essentielle est décrite dans cinq publications. Les composés identifiés sont là encore des dérivés *p*-menthaniques, mais on trouve aussi du β -élémol et des sesquiterpènes présentant le squelette eudesmane. Ponctuellement, certaines compositions atypiques sont signalées.

Ainsi, le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des huiles essentielles des parties aériennes (tiges et feuilles) et du rhizome de cette espèce végétale à travers i) la détermination de la composition chimique ii) l'étude de la variabilité chimique et iii) l'étude des activités biologiques.

III.1. Caractérisation chimique des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*

Dans ce contexte, nous nous sommes proposés de valoriser l'espèce végétale *Cymbopogon schoenanthus* poussant spontanément en Algérie, à travers la composition chimique des huiles essentielles du rhizome et des parties aériennes (tiges et feuilles), et cela dans deux stations de la région saharienne (Béchar et Ghardaïa). En exploitant la complémentarité des techniques analytiques (CPG(Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C), nous détaillerons l'analyse de sept échantillons d'huile essentielle du rhizome et des parties aériennes (tiges et feuilles), puis dans un second temps, nous nous intéresserons à l'analyse de 23 autres échantillons afin de mettre en évidence l'existence ou l'absence d'une variabilité chimique.

III.1.1. Etude de la composition et de la variabilité chimique des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*

Ainsi, afin de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique, la composition de 30 échantillons a été étudiée. Ceux-ci ont été isolés à partir de pieds individuels poussant spontanément dans deux stations distinctes du Sahara : Ghardaïa (7 échantillons en avril 2016 et 7 échantillons en janvier 2017) et Béchar (10 échantillons en juillet 2017). Les huiles essentielles des échantillons de Ghardaïa sont obtenues à partir de plante complète (PC) (rhizome, tiges et feuilles : G16 E1-7 PC ; G17 E1-7 PC). En revanche, pour la station de Béchar, les huiles essentielles sont extraites des parties aériennes (PA) (tiges et feuilles : B17 E1-6 PA), du rhizome ((R) : B17 E1-6 R) et de la plante complète (PC) (rhizome, tiges et feuilles : B17 E7-10 PC) (**Figure 24**).

Figure 24

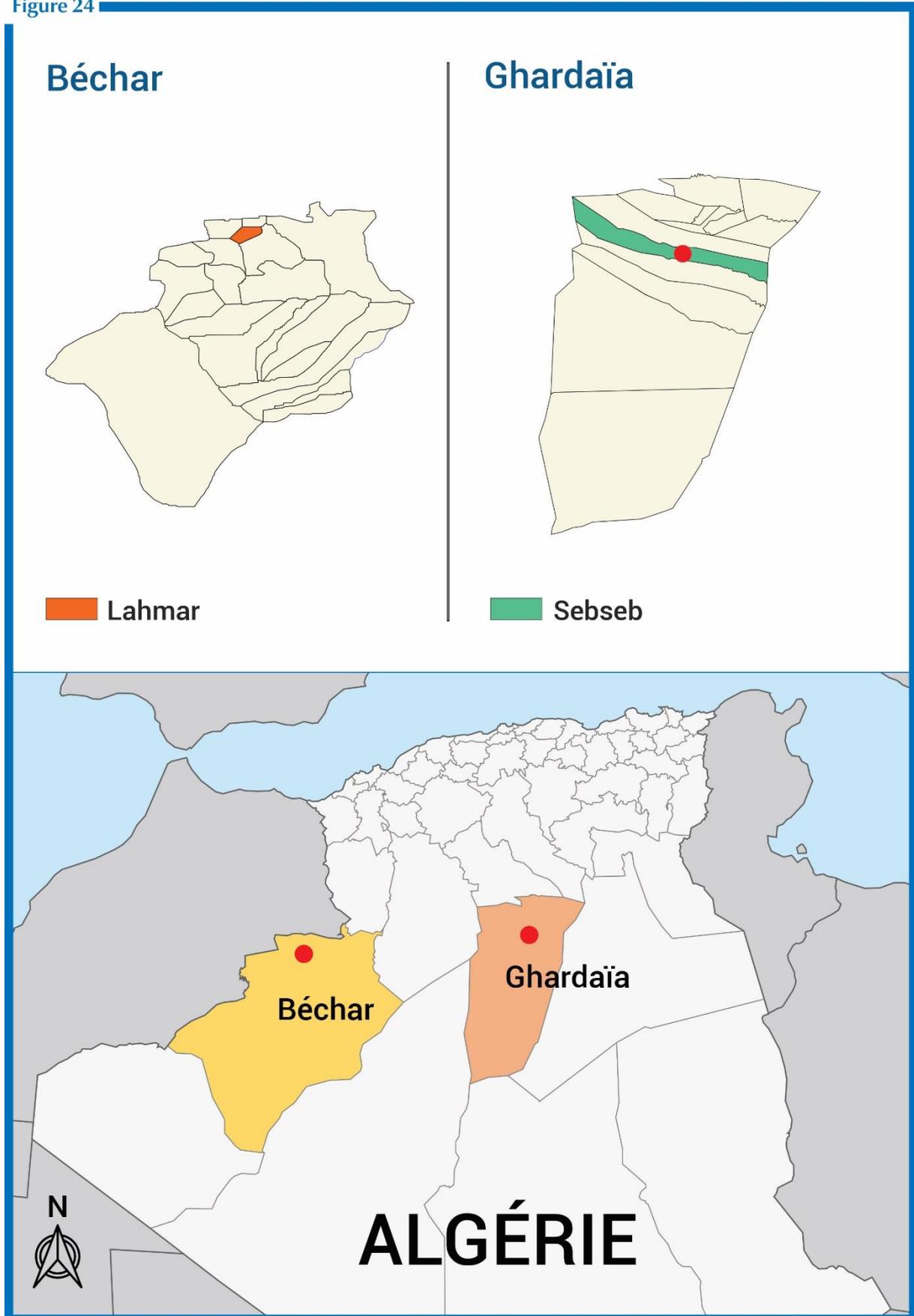


Figure 24 : Carte d'échantillonnage de *Cymbopogon schoenanthus*

III.1.1.1. Rendement extraction

Les huiles essentielles de *C. schoenanthus* ont été obtenues par hydrodistillation. Elles présentent un aspect liquide et une couleur jaune clair. Les rendements sont calculés par rapport à la matière végétale sèche et reportés dans le **tableau 20**.

Les rendements observés sont homogènes avec des moyennes comprises entre $0,6 \pm 0,3\%$ et $0,9 \pm 0,1\%$. Le rendement le plus élevé a été observé dans l'échantillon récolté dans la station de Ghardaïa en 2016 (G16 E1 PC) de l'ordre de 1,1%, alors que le rendement le plus faible, correspond à des échantillons récoltés à Béchar en 2017 (B17 E5 PA, B17 E1 R et B17 E6 R) avec un pourcentage de 0,4%.

Des résultats similaires aux nôtres sont obtenus dans les études de **Shahi et Tava** en (1993) ainsi que celle de **Hadef et al.** (2015) qui décrivent des rendements de 0,8 et 0,4% respectivement. Cependant, d'autres travaux antérieurs rapportent des rendements en huile essentielle de l'espèce *C. schoenanthus* nettement supérieurs à nos résultats, allant de 1,9 jusqu'à 4,6% (**Ketoh et al.**, 2005 ; **Onadja et al.**, 2007 ; **Khadri et al.**, 2008 ; **Alitonou et al.**, 2012 ; **Bossou et al.**, 2013 ; **Kpoviessi et al.**, 2014 ; **Pavlović et al.**, 2016 ; **Yagi et al.**, 2016 ; **Hellali et al.**, 2016 ; **Kadri et al.**, 2017 ; **Aous et al.**, 2019).

Tableau 20 : Rendements (%) en huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* d'Algérie

Stations	Échantillons	Rendements	Moy ± ET ^a	Min ^b	Max ^c
Ghardaïa Avril 2016	G16 E1 PC	1,1	0,8 ± 0,2	0,7	1,1
	G16 E2 PC	0,7			
	G16 E3 PC	0,7			
	G16 E4 PC	0,7			
	G16 E5 PC	0,7			
	G16 E6 PC	1,0			
	G16 E7 PC	0,7			
Ghardaïa Janvier 2017	G17 E1 PC	0,9	0,7 ± 0,2	0,5	1,0
	G17 E2 PC	0,8			
	G17 E3 PC	0,5			
	G17 E4 PC	1,0			
	G17 E5 PC	0,6			
	G17 E6 PC	0,6			
	G17 E7 PC	0,6			
Béchar Juillet 2017	B17 E1 PA	0,6	0,7 ± 0,2	0,4	0,9
	B17 E2 PA	0,9			
	B17 E3 PA	0,8			
	B17 E4 PA	0,8			
	B17 E5 PA	0,4			
	B17 E6 PA	0,7			
	B17 E1 R	0,4			
B17 E2 R	0,5				
B17 E3 R	1,0				
B17 E4 R	0,9				
B17 E5 R	0,6				
B17 E6 R	0,4				
B17 E7 PC	0,9	0,9 ± 0,1	0,9	1,0	
B17 E8 PC	1,0				
B17 E9 PC	0,9				
B17 E10 PC	0,9				

^aMoy ± ET : Moyenne ± Ecart-type. ^b Min : Minimum. ^c Max : Maximum. PC : Plante complète (Rhizome, tiges et feuilles) ; PA : Parties aériennes (Tiges et feuilles) ; R : Rhizome.

III.1.1.2. Analyse détaillée et la variabilité chimique de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*

Afin de déterminer la composition chimique des huiles essentielles de *C. schoenanthus*, nous avons analysé le profil chromatographique de 30 échantillons provenant de deux stations distinctes du Sahara de l'Algérie : Ghardaïa et Béchar.

Dans une première partie, nous présentons l'analyse détaillée de sept échantillons d'huile essentielle qui a été effectuée par une combinaison de techniques chromatographiques et spectroscopiques. Ensuite, dans une seconde partie, nous décrivons la composition chimique

des huiles essentielles de 30 échantillons qui a été soumise à une analyse statistique afin de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique.

-a- Analyse détaillée de sept échantillons d'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*

L'analyse de sept échantillons d'huile essentielle en combinant une technique chromatographique sur deux colonnes de polarité différente (CPG-Ir) et deux techniques spectroscopiques (RMN ^{13}C et CPG-SM), a conduit à l'identification de 57 composés, représentant entre 89,1 et 98,1% de la composition chimique globale (**Tableau 22**). Il s'agit en large majorité de composés monoterpéniques oxygénés avec un squelette de type menthane : le *trans-p*-menth-2-ène-1-ol (10,5-31,7%) et le *cis-p*-menth-2-ène-1-ol (7,2-19,8%) comme composés majoritaires, suivis de 2-carène (2,1-17,0%) et un constituant sesquiterpénique oxygéné, à savoir le β -élémol (1,9-20,7%). Deux autres dérivés *p*-menthaniques : *trans*-pipéritol (4,6-11,7%) et *cis*-pipéritol (3,2-9,0%) sont également identifiés en quantités assez importantes. D'autres composés sont présents en quantités appréciables, tels que : juniper camphor (0,8-9,4%), β -eudesmol (0,7-7,2%), limonène (1,8-5,9%), sélina-6-en-4-ol (0,5-5,1%), α -terpinéol (0,9-4,5%), α -eudesmol (0,5-4,0%) et intermédéol (0,2-3,3%).

Les deux composés principaux le *trans*- et le *cis-p*-menth-2-ène-1-ol ont été identifiés par comparaison avec des déplacements chimiques expérimentaux relevés dans le spectre RMN ^{13}C avec ceux de la littérature (**Tableau 21**) (Kashiwagi *et al.*, 2006).

Tableau 21 : Déplacements chimiques du *trans*- et du *cis-p*-menth-2-ène-1-ol identifiés par RMN ^{13}C

<i>trans-p</i> -Menth-2-ène-1-ol δC (ppm)	<i>trans-p</i> -Menth-2-ène-1-ol δC (ppm) (Kashiwagi <i>et al.</i> , 2006)	<i>cis-p</i> -Menth-2-ène-1-ol δC (ppm)	<i>cis-p</i> -Menth-2-ène-1-ol δC (ppm) (Kashiwagi <i>et al.</i> , 2006)
19,31	19,30	19,39	19,40
19,66	19,70	19,72	19,80
21,64	21,60	23,59	23,60
29,65	29,60	28,49	28,50
31,74	31,70	31,77	31,60
37,28	37,20	38,03	38,00
42,12	42,10	41,71	41,70
67,48	67,40	69,60	69,60
133,23	133,00	131,19	131,20
133,56	133,40	134,68	134,50

Sur la **figure (25)**, nous représentons la structure du *trans*- et du *cis-p*-menth-2-ène-1-ol, composés identifiés par RMN ^{13}C dans l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*.

Figure 25

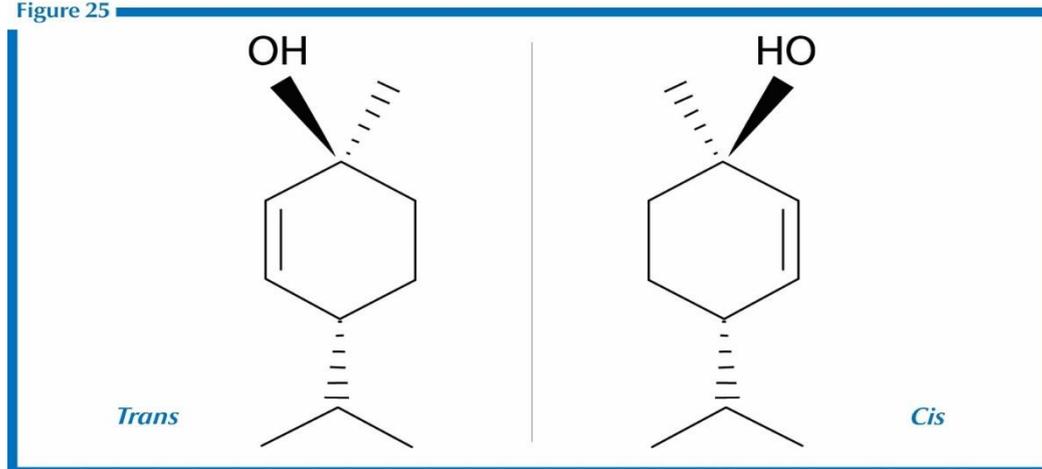


Figure 25 : Structure du *trans*- et du *cis*-p-menth-2-ène-1-ol identifiés par RMN ^{13}C dans l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*

Tableau 22 : Composition chimique de sept échantillons d'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*

Composés ^a	Ir ^a ^b	Ir ^p ^c	B17 E1 PA	B17 E3 PA	B17 E1 R	B17 E10 PC	G16 E1 PC	G17 E1 PC	G17 E3 PC	Mode d'identification
Tricyclène	920		-	0,1	-	-	-	Tr	0,1	IR, SM
α -Pinène	932	1016	Tr	0,1	-	Tr	-	0,1	0,3	IR, SM
Camphène	942	1063	-	0,2	-	Tr	Tr	0,2	0,6	IR, SM, RMN ¹³ C
2-Carène	995	1130	2,1	12,6	4,8	8,6	13,1	17,0	3,6	IR, SM, RMN ¹³ C
α -Phellandrène	996	1163	0,1	-	-	-	-	-	-	IR, SM
α -Terpinène	1008	1178	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	Tr	IR, SM
<i>p</i> -Cymène	1010	1269	0,3	0,7	0,4	0,5	1,4	1,5	1,0	IR, SM, RMN ¹³ C
Limonène*	1020	1199	2,1	1,8	3,9	5,9	2,4	2,5	3,5	IR, SM, RMN ¹³ C
β -Phellandrène*	1020	1208	0,6	1,4	0,8	1,3	2,3	2,4	1,0	IR, SM, RMN ¹³ C
(<i>Z</i>)- β -Ocimène	1026	1230	0,2	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4	0,1	IR, SM, RMN ¹³ C
(<i>E</i>)- β -Ocimène	1038	1247	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	Tr	IR, SM
Terpinolène	1078		Tr	Tr	Tr	0,1	-	-	Tr	IR, SM
Fenchol	1098	1578	0,1	0,1	0,3	0,3	0,1	0,1	0,3	IR, SM
<i>trans-p</i>-Menth-2-ène-1-ol	1108	1559	10,5	19,4	31,7	26,6	28,5	22,6	11,6	IR, SM, RMN ¹³ C
<i>cis-p</i> -Menth-2,8-diène-1-ol	1116	1662	Tr	0,1	0,1	0,1	-	0,1	0,1	IR, SM
<i>cis-p</i>-Menth-2-ène-1-ol	1124	1624	7,2	13,4	19,8	16,1	16,3	15,4	8,2	IR, SM, RMN ¹³ C
Bornéol	1148	1696	-	Tr	-	-	-	Tr	0,2	IR, SM
Terpinéol-4	1160	1597	Tr	Tr	-	-	0,3	0,2	0,1	IR, SM
α-Terpinéol	1171	1692	2,1	1,1	4,5	3,8	1,2	0,9	2,7	IR, SM, RMN ¹³ C
<i>cis</i>-Pipéritol	1180	1674	3,2	5,3	9,0	7,1	8,5	5,4	3,3	IR, SM, RMN ¹³ C
<i>trans</i>-Pipéritol	1191	1741	4,6	8,1	11,7	8,9	8,8	8,8	5,1	IR, SM, RMN ¹³ C
Nérol	1209	1795	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	-	0,1	IR, SM
Pipéritone	1229	1722	0,2	0,5	0,5	0,3	0,9	0,6	0,5	IR, SM, RMN ¹³ C
Géraniol	1239	1842	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	0,5	IR, SM
δ -Elémène	1331	1464	0,1	Tr	-	-	-	-	Tr	IR, SM
β -Elémène	1385	1584	2,6	0,7	0,4	0,4	0,3	0,5	1,3	IR, SM, RMN ¹³ C
Cascarilladiène (Eudesma-5,7-diène)	1411	1568	0,2	Tr	Tr	-	-	-	Tr	IR, SM
(<i>E</i>)- β -Caryophyllène	1416	1590	0,4	0,1	Tr	-	-	-	0,1	IR, SM
γ -Elémène	1426		0,2	Tr	-	-	-	-	Tr	IR, SM

γ -Muuroloène	1467		0,3	0,2	-	Tr	-	0,1	0,3	IR, SM
Séлина-4,11-diène	1473	1667	1,0	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	IR, SM, RMN ¹³ C
Germacrène D	1476	1701	0,6	0,3	0,1	Tr	Tr	Tr	-	IR, SM, RMN ¹³ C
β -Sélinène	1479	1710	0,8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	IR, SM, RMN ¹³ C
δ -sélinène	1482	1685	0,7	0,3	0,1	Tr	0,2	0,1	0,3	IR, SM
4épi Cubébol	1485	1879	0,6	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	IR, SM, RMN ¹³ C
α -Sélinène	1488	1716	0,6	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,2	IR, SM, RMN ¹³ C
α -Bulnésène	1496	1707	0,5	0,1	0,1	-	-	-	0,1	IR, SM
γ -Cadinène	1502	1751	1,8	0,7	0,4	0,3	0,2	0,3	1,0	IR, SM, RMN ¹³ C
δ -Cadinène	1510	1749	0,3	0,2	Tr	Tr	0,1	0,1	0,3	IR, SM, RMN ¹³ C
β-Elémol	1534	2074	9,8	6,3	1,9	5,6	6,4	7,4	20,7	IR, SM, RMN ¹³ C
Germacrène B	1549	1819	0,8	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	IR, SM, RMN ¹³ C
Spathuléol	1560	2115	0,3	0,5	0,1	0,2	Tr	Tr	0,4	IR, SM, RMN ¹³ C
5épi, 7épi α -Eudesmol	1590	2132	0,9	0,5	0,1	0,2	0,1	0,2	0,6	IR, SM
Séлина-6-en-4-ol (Eudesm-6-en-4-α-ol)	1601	2155	5,1	2,1	1,4	1,3	0,6	0,5	1,5	IR, SM, RMN ¹³ C
Alismol	1606	2245	0,6	0,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	IR, SM
Eremoligéol	1610	2185	0,5	0,3	0,2	0,1	Tr	Tr	0,5	IR, SM, RMN ¹³ C
γ -Eudesmol*	1613	2159	1,5	1,0	0,1	0,1	0,1	0,2	2,1	IR, SM, RMN ¹³ C
5épi γ -Eudesmol*	1613	2093	0,3	0,1	-	-	-	-	0,2	IR, SM
ι -Muurolol	1619	2171	1,5	0,8	0,3	0,4	0,5	0,4	1,0	IR, SM, RMN ¹³ C
ι -Cadinol	1621	2161	1,8	0,5	0,2	0,6	0,1	0,5	0,6	IR, SM, RMN ¹³ C
α -Cadinol	1625	2220	0,9	0,4	Tr	0,3	0,1	0,1	0,5	IR, SM
β-Eudesmol*	1633	2220	4,0	3,4	0,7	1,7	1,8	3,7	7,2	IR, SM, RMN ¹³ C
Valérianol*	1633	2204	1,0	0,4	0,2	0,4	0,2	0,3	0,6	IR, SM, RMN ¹³ C
α-Eudesmol	1639	2211	3,0	2,1	0,5	1,2	1,1	2,3	4,0	IR, SM, RMN ¹³ C
Intermédeol	1641	2223	3,3	1,8	1,0	1,0	0,6	0,2	1,5	IR, SM, RMN ¹³ C
Juniper camphor	1677	2287	9,4	3,5	1,5	1,9	0,8	0,9	2,5	IR, SM, RMN ¹³ C
Géranyl linalol	1694		0,1	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	IR, SM
Total (%)			89,1	93,0	97,9	96,9	98,1	97,0	91,9	

^a : L'ordre d'éluion et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^bIr_a : Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. ^cIr_p : Indices de rétention mesurés sur colonne polaire. Tr : Traces. - : Absence totale du composé. Échantillons : G16 et G17 : Ghardaïa 2016 et 2017, respectivement ; B17 : Béchar 2017, PC : Plante complète (Rhizome, tiges et feuilles) ; PA : Parties aériennes (Tiges et feuilles) ; R : Rhizome.

-b- Variabilité chimique des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*

Dans le but de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus*, nous avons analysé 30 échantillons d'huile essentielle obtenus à partir du rhizome et des parties aériennes (tiges et feuilles) récoltés dans deux stations du Sahara (Béchar et Ghardaïa).

L'ensemble des 30 échantillons a été soumis à des analyses par CPG (FID) et les indices de rétention (IR) de différents composants ont été mesurés sur deux colonnes de polarité différente. Parmi eux, douze échantillons sélectionnés sur la base de leur profil chromatographique ont également été analysés par RMN ¹³C et huit échantillons par CPG-SM.

Au total, 57 composants ont été identifiés et sont les mêmes que ceux identifiés lors de l'étude détaillée de sept échantillons, présentée précédemment, représentant entre 88,9 à 98,1% de la composition chimique totale de l'huile essentielle (**Tableaux 1 et 2, Annexe 4**).

Ces huiles essentielles sont riches en alcools présentant le squelette menthanique. Nous remarquons une variabilité chimique quantitative particulièrement pour les composés majoritaires : *trans-p*-menth-2-ène-1-ol (10,5-31,7%), *cis-p*-menth-2-ène-1-ol (7,2-20,3%), β-élémol (0,5-20,7%), 2-carène (1,0-17,0%). D'autres constituants sont présents en quantités appréciables, à savoir : *cis*-pipéritol (3,2-12,6%), *trans*-pipéritol (4,6-12,8%), juniper camphor (0,5-9,4%), β-eudesmol (0,3-7,2%), limonène, (0,3-5,9%), α-terpinéol (0,9-5,8%), sélina-6-en-4-ol (0,3-5,1%), α-eudesmol (0,1-4,0%), intermédéol (0,2-3,3%), *p*-cymène (0,3-2,5%), β-élémane (0,1-2,6%), β-phellandrène (0,5-2,4%), pipéritone (0,2-2,2%), γ-eudesmol (0,1-2,1%), ι-muurolol (0,1-1,9%), 5épi, 7épi α-eudesmol (0,0-1,0%) et valérianol (0,0-1,0%) (**Tableau 24**).

Ayant observé des variations concernant les teneurs des composés majoritaires, les résultats de la composition chimique des 30 échantillons ont été soumis à l'analyse statistique dans le but de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*. Ainsi, ces compositions ont été soumises à trois tests statistiques : une analyse en composantes principales (ACP) (**Figure 27**), une partition utilisant la méthode du *K*-means et une classification hiérarchique ascendante euclidienne (CHA ou dendrogramme : **Figure 26**).

La combinaison des résultats de la classification ascendante hiérarchique et de l'analyse en composantes principales, suggère l'existence de deux groupes I et II dont le second peut être subdivisée en deux sous-groupes notés IIA et IIB. Ils sont indiqués en couleur dans l'ACP et dans le dendrogramme, en fonction de la somme des pourcentages des composés menthaniques. Par contre, deux échantillons sont plus discriminés : G17 E3 PC et B17 E1 PA. Ces deux

échantillons atypiques se distinguent aisément sur l'ACP par une teneur inhabituellement élevée en alcools sesquiterpéniques : β -élémol (20,7% contre 0,5-13,6%), γ -eudesmol (2,1% contre 0,1-1,7%) et β -eudesmol (7,2% contre 0,3-5,7%) pour l'échantillon (G17 E3 PC) et en sesquiterpènes ; juniper camphor (9,4% contre 0,8-3,5%), β -élémente (2,6% contre 0,1-1,5%), sélina-6-en-4-ol (5,1% contre 0,4-2,1%) et intermédéol (3,3% contre 0,2-2,7%) pour l'échantillon (B17 E1 PA). Ce dernier est aussi caractérisé par la plus faible teneur en *p*-cymène (0,3% contre 0,4-2,5%), en β -phellandrène (0,6% contre 0,5-2,4%) et en pipéritone (0,2% contre 0,3-2,3%). Ces deux échantillons sont aussi les moins riches en alcools menthaniques : *trans-p*-menth-2-ène-1-ol (11,6 et 10,5%, respectivement, contre 15,0-31,7%), *cis-p*-menth-2-ène-1-ol (8,2 et 7,2%, respectivement, contre 10,8-20,3%), *cis*-pipéritol (3,3 et 3,2%, respectivement, contre 3,9-12,6%) et en *trans*-pipéritol (5,1 et 4,6%, respectivement, contre 6,5-12,8%).

Le groupe I regroupe 10 échantillons tandis que l'échantillon G17 E1 PC qui présente la plus importante teneur en 2-carène (17,0% contre 1,0-13,1% pour tous les autres échantillons) apparait à part. Ce groupe se différencie du groupe II par sa teneur plus faible en *trans-p*-menth-2-ène-1-ol (M = 19,5% ; ET = 2,1), en *cis-p*-menth-2-ène-1-ol (M = 13,4% ; ET = 1,5) et en *cis*-pipéritol (M = 5,7% ; ET = 1,1). En outre, le β -élémol (M = 9,3% ; ET = 2,8), le γ -eudesmol (M = 1,2% ; ET = 0,3), le ι -muurolol (M = 1,0% ; ET = 0,5), le β -eudesmol (M = 4,2% ; ET = 0,9) et l' α -eudesmol (M = 2,3% ; ET = 0,7) sont les autres composés présents à des teneurs appréciables.

Le groupe II (17 échantillons) caractérisé par une teneur élevée en *trans-p*-menth-2-ène-1-ol, en *cis-p*-menth-2-ène-1-ol et en *cis*-pipéritol, est subdivisé en deux sous-groupes IIA et IIB, tandis que l'échantillon G16 E2 PC, qui se distingue par sa plus faible teneur en 2-carène (1,0% contre 4,8-13,1% pour tous les autres échantillons de ce groupe), apparait isolé. Le sous-groupe IIA est le plus riche en *trans-p*-menth-2-ène-1-ol (M = 30,0% ; ET = 1,4), en *cis-p*-menth-2-ène-1-ol (M = 19,1% ; ET = 1,2) et en *cis*-pipéritol (M = 9,5% ; ET = 1,5). En revanche, le sous-groupe IIB contient des teneurs appréciables en β -élémol, en *p*-cymène, en pipéritone, en ι -muurolol, en β -eudesmol et en α -eudesmol.

En confrontant nos résultats avec les données de la littérature (**Tableau 23**), nous constatons que la composition chimique de nos échantillons se rapproche de celles citées dans les travaux antérieurs concernant *Cymbopogon schoenanthus*, originaire d'Algérie. Cependant, les teneurs mesurées dans cette étude en *trans-p*-menth-2-ène-1-ol (10,5-31,7%), et *cis-p*-menth-2-ène-1-ol (7,2-20,3%), apparaissent plus élevées que celles de la littérature, les teneurs en le *trans* et *cis* -*p*-menth-2-ène-1-ol, n'excède jamais 18%, (**Sousa et al., 2005 ; Bouchikhi**

Tani et al., 2009 ; Hadeif et al., 2015, Aous et al., 2019). A notre connaissance, certains sesquiterpènes oxygénés présents en quantités appréciables dans nos échantillons, n'ont jamais été cités dans la littérature : juniper camphor (jusqu'à 9,4%), sélina-6-en-4-ol (jusqu'à 5,1%), τ -muurolol (jusqu'à 1,9%), 5épi, 7épi α -eudesmol (jusqu'à 1,0%) et valérianol (jusqu'à 1,0%). En revanche, l'intermédeol présent jusqu'à 3,3% dans nos échantillons a été citée dans une seule publication, celle de **Pavlović et al. en 2016**, avec un pourcentage variant entre 6,1 à 17,3%, dans les huiles essentielles des tiges séchées et des inflorescences de *C. schoenanthus* récoltées au Soudan.

Tableau 23 : Comparaison des teneurs des composés majoritaires avec la littérature

Composés	Nos échantillons	Sousa et al., 2005	Bouchikli Tani et al.,	Hadeif et al., 2015	Hellali et al., 2016	Aous et al., 2019	
						DJ-T	B-G-E-O
<i>trans-p</i> -Menth-2-ène-1-ol	10,5-31,7	10,8	9,5	13,0	----	0,5-0,6	6,7-9,2
<i>cis-p</i> -Menth-2-ène-1-ol	7,2-20,3	17,8	18,6	15,0	----	0,8-1,0	12,1-15,1
β -Elémol	0,5-20,7	13,7	7,4	10,0	6,9	4,8-9,5	4,9-9,9
2-Carène	1,0-17,0	----	----	7,0	4,9	9,3-16,7	13,4-20,4
<i>cis</i> -Pipéritol	3,2-12,6	9,1	----	----	0,1	0,0-0,4	3,3-6,9
<i>trans</i> -Pipéritol	4,6-12,8	6,3	4,9	----	----	0,0-0,1	5,4-7,7
Juniper camphor	0,5-9,4	----	----	----	----	----	----
β -Eudesmol	0,3-7,2	----	----	----	9,3	3,2-3,7	2,8-7,7
Limonène	0,3-5,9	2,4	7,0	5,0	1,4	1,9-3,0	0,0-13,0
α -Terpinéol	0,9-5,8	5,6	----	----	1,5	0,6-1,2	0,1-3,6
Sélina-6-en-4-ol	0,3-5,1	----	----	----	----	----	----
α -Eudesmol	0,1-4,0	1,7	3,7	----	1,9	2,7-2,8	2,6-4,5
Intermédeol	0,2-3,3	----	----	----	----	----	----
<i>p</i> -Cymène	0,3-2,5	----	5,9	2,0	----	0,1-0,2	0,7-1,5
β -Elémène	0,1-2,6	----	----	----	0,6	0,1-0,5	0,4-1,3
β -Phellandrène	0,5-2,4	----	----	5,0	----	----	0,4-8,0
Pipéritone	0,2-2,2	----	7,2	----	63,4	55,1-63,2	0,5-1,1
γ -Eudesmol	0,1-2,1	2,2	3,1	----	----	1,1-1,8	0,7-2,8
τ -Muurolol	0,1-1,9	----	----	----	----	----	----
5épi, 7épi α -Eudesmol	0,0-1,0	----	----	----	----	----	----
Valérianol	0,0-1,0	----	----	----	----	----	----
<i>cis</i> -Triménal	----	3,8	----	----	----	----	----
γ -Terpinène	----	----	5,1	----	----	----	----
<i>cis-p</i> -Menth-1-en-3-ol	----	----	----	8,0	----	----	----
<i>trans-p</i> -Menth-1-en-3-ol	----	----	----	9,0	----	----	----
α -Phellandrène	Tr-0,1	----	----	3,0	----	Tr-0,1	Tr-1,2
<i>p</i> -Menth-4(8)-en-3-one	----	----	----	2,0	----	----	----
Isolongifolan-8-ol	----	----	----	2,0	----	----	----
γ -Cadinène	0,2-1,8	----	----	2,0	0,3	0,2-0,3	0,2-0,5
10-épi- γ -Eudesmol	----	----	----	----	1,3	----	----

---- : Absence du composé. Tr : Trace. DJ : Djanet. T : Tamanrasset. B : Béchar. G : Ghardaïa. E : El Menia. O : Ouargla.

Paradoxalement, **Kadri et al. (2017)**, rapportent un profil chimique des huiles essentielles des parties aériennes et des racines de *C. schoenanthus*, récoltées à Ghardaïa

totalemment différent. Cette huile essentielle est constituée principalement de guaïol (20,44%), du *cis*- β -terpinéol (16,23%), de l'hinésol (10,55%), du *cis*-hydrate de sabinène (9,98%) et du 4-carène (7,70%), suivis du δ -sélénène (2,42%), du 1,8-cinéole (1,86%), de l'agarospirol (1,79%). Les mêmes composés sont retrouvés dans l'huile essentielle des racines mais avec des proportions différentes : agarospirol (14,21%), *cis*- β -terpinéol (12,61%), 4-carène (6,92%), *cis*-hydrate de sabinène (6,62%) et guaïol (5,88%). Par contre, **Hellali et al., 2016**, avancent une composition caractérisée par des teneurs élevés en pipéritone (63,35%) pour un échantillon d'huile essentielle des parties aériennes de *C. schoenanthus* originaire de l'Illizi (Sud-est d'Algérie). De même, deux autres échantillons prélevés également dans l'extrême sud (Djanet (région d'Illizi) et Tamanrasset) sont très riches en pipéritone (63,2% et 55,1%, respectivement) (**Aous et al., 2019**). Les échantillons riches en pipéritone sont également récoltés au Togo (68% ; 69,0% ; 61,0% ; 69,01%, respectivement) (**Koba et al., 2004 ; Ketoh et al., 2005 ; 2006 ; Gbogbo et al., 2006**) au Burkina Faso (59,1 et 55,6% ; 42%, respectivement) (**Menut et al., 2000 ; Onadja et al., 2007**), au Bénin (68,4% ; 60,3% ; 58,9%, respectivement) (**Alitonou et al. (2012 ; Kpoviessi et al., 2014 ; Bossou et al., 2015)**), en Soudan (47,7-71,5% ; 18,48%, respectivement) (**Pavlović et al., 2016 ; Yagi et al., 2016**) et en Arabie Saoudite (14,6%) (**Hashim et al., 2016**). Enfin, certains auteurs rapportent ponctuellement des compositions radicalement différentes. Un échantillon d'huile essentielle de *C. schoenanthus* originaire du Brésil contient du géraniol (59,42% ; 62,5%), du géraniol (13,49% ; 12,5%) et du néral (8,98% ; 8,2%) comme composés majoritaires (**Katiki et al., 2011 ; 2012**). Un autre échantillon de l'huile essentielle des feuilles et des inflorescences de *C. schoenanthus* récoltées à Burkina Faso, est caractérisé par l'association 1,8-cinéole (50,2%) / camphre (13,5%) (**Gbenyedji et al., 2014**). Enfin, la composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes (plante spontanée et cultivée) de *C. schoenanthus* récoltées en Inde (**Andola et Maithani, 2018**) représente une composition intermédiaire avec les composés suivants : *cis*-hydrate de sabinène (30,1 et 31,6%), *trans*-hydrate de sabinène (17,0 et 14,5%), *cis*-pipéritol (9,6 et 18,5%), *trans*-pipéritol (8,5 et 7,2%), pipéritone (2,7 et 3,7%), limonène (3,2 et 3,8%) et *p*-cymène (4,5 et 4,3%).

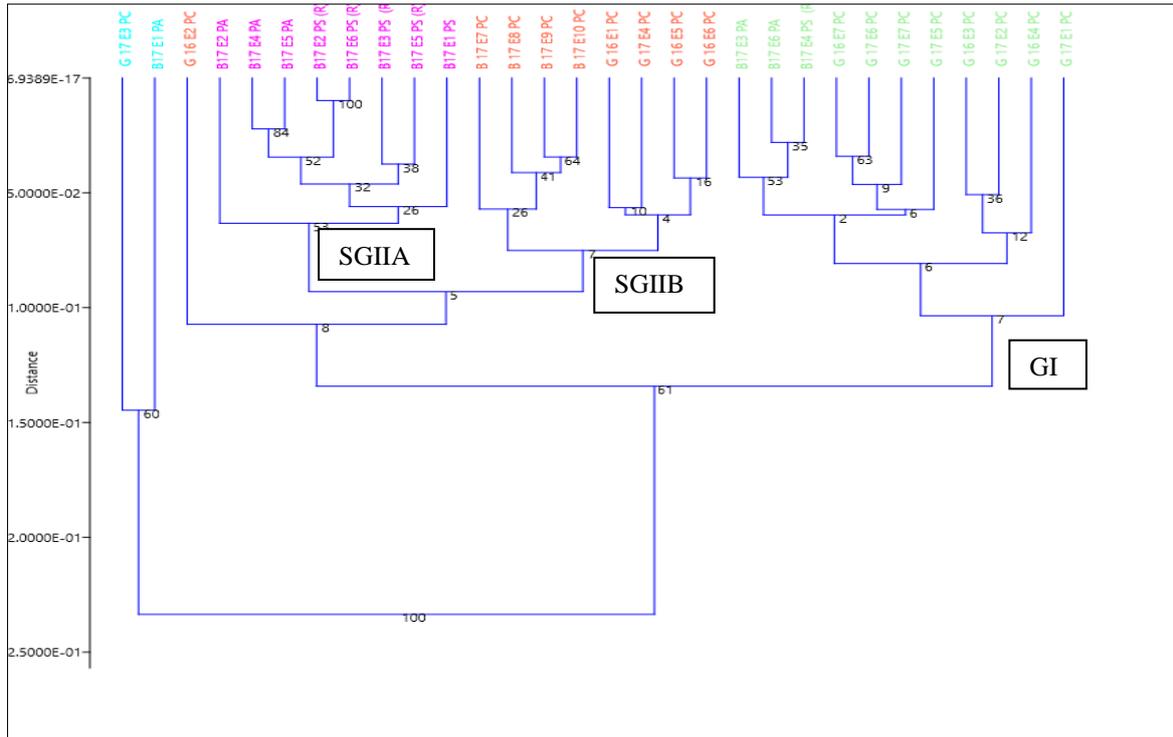


Figure 26 : Dendrogramme obtenu à partir de l'analyse de Cluster de 30 échantillons des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*

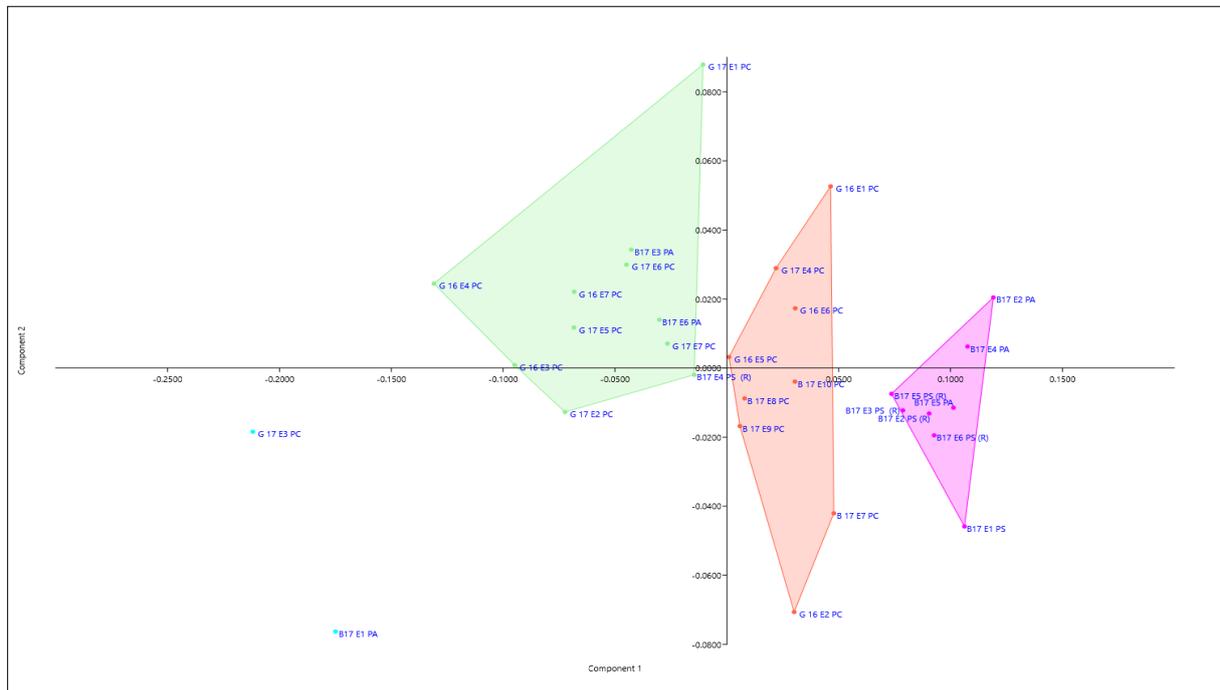


Figure 27 : Analyse en composantes principales de la composition chimique de 30 échantillons des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*

Tableau 24 : Composés majoritaires identifiés dans les 30 échantillons des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*

Composés (en %)	B17 E1 PA	G17 E3 PC	GI (10 échantillons)				G17 E1 PC	SGIIA (8 échantillons)				G16 E2 PC	SGIIB (8 échantillons)			
			Moy ^a	ET ^b	Min ^c	Max ^d		Moy ^a	ET ^b	Min ^c	Max ^d		Moy ^a	ET ^b	Min ^c	Max ^d
2-Carène	2,1	3,6	8,9	1,9	6,1	12,6	17,0	8,3	1,8	4,8	11,1	1,0	8,7	2,3	5,4	13,1
<i>p</i> -Cymène	0,3	1,0	1,3	0,6	0,7	2,5	1,5	0,5	0,1	0,4	0,7	0,5	1,1	0,5	0,5	1,9
Limonène	2,1	3,5	1,7	0,2	1,4	1,9	2,5	2,6	0,9	1,6	4,1	0,3	3,3	1,8	1,4	5,9
β-Phellandène	0,6	1,0	1,3	0,3	0,9	1,8	2,4	0,9	0,2	0,7	1,3	0,5	1,2	0,5	0,8	2,3
<i>trans-p</i> -Menth-2-ène-1-ol	10,5	11,6	19,5	2,1	15,0	22,5	22,6	30,0	1,4	28,4	31,7	25,2	26,0	1,6	23,8	28,5
<i>cis-p</i> -Menth-2-ène-1-ol	7,2	8,2	13,4	1,5	10,8	15,9	15,4	19,1	1,2	16,9	20,3	18,5	15,8	1,1	13,5	17,0
α-Terpinéol	2,1	2,7	1,2	0,1	0,9	1,4	0,9	2,4	1,1	1,6	4,5	1,3	2,7	1,8	1,2	5,8
<i>cis</i> -Pipéritol	3,2	3,3	5,7	1,1	3,9	7,9	5,4	9,5	1,5	8,2	12,6	8,6	8,0	1,4	6,8	11,0
<i>trans</i> -Pipéritol	4,6	5,1	8,1	1,0	6,5	9,7	8,8	11,4	0,9	9,9	12,5	12,8	8,9	0,8	7,2	10,1
Pipéritone	0,2	0,5	0,9	0,3	0,5	1,3	0,6	0,6	0,2	0,4	0,9	1,1	1,1	0,7	0,3	2,2
β-Elémène	2,6	1,3	0,9	0,3	0,5	1,5	0,5	0,3	0,1	0,1	0,5	0,8	0,4	0,1	0,3	0,7
β-Elémol	9,8	20,7	9,3	2,8	6,1	13,6	7,4	1,7	0,6	0,5	2,4	5,5	6,0	1,5	2,8	7,6
5épi, 7épi α-Eudesmol	0,9	0,6	0,5	0,2	0,3	1,0	0,2	0,1	0,1	Tr	0,2	0,5	0,2	0,1	0,1	0,4
Séline-6-en-4-ol	5,1	1,5	1,2	0,5	0,8	2,1	0,5	1,3	0,3	0,8	1,5	1,3	1,0	0,4	0,4	1,6
γ-Eudesmol	1,5	2,1	1,2	0,3	0,9	1,7	0,2	0,2	0,1	0,1	0,3	0,8	0,5	0,3	0,1	0,8
ι-Muurolol	1,5	1,0	1,0	0,5	0,5	1,9	0,4	0,3	0,1	0,1	0,4	0,9	0,5	0,3	0,1	1,0
β-Eudesmol*	4,0	7,2	4,2	0,9	3,3	5,7	3,7	0,7	0,3	0,3	1,0	2,5	2,1	0,4	1,7	2,6
Valérianol*	1,0	0,6	0,5	0,2	0,3	1,0	0,3	0,2	0,1	0,0	0,4	0,4	0,3	0,1	0,1	0,3
α-Eudesmol	3,0	4,0	2,3	0,7	1,4	3,8	2,3	0,5	0,2	0,1	0,7	1,3	1,1	0,3	0,6	1,6
Intermédiaireol	3,3	1,5	1,4	0,7	0,5	2,7	0,2	1,0	0,2	0,7	1,2	1,8	1,0	0,3	0,6	1,5
Juniper camphor	9,4	2,5	1,9	1,0	1,0	3,5	0,9	1,4	0,5	0,6	2,0	1,8	1,3	0,7	0,5	2,5

a : Moyenne (Moy). b : Écart type (ET). c : Valeur minimale (Min). d : Valeur maximale (Max). Les pourcentages sont donnés sur une colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). Tr : Trace.

Les **figures 28** et **29** démontrent que les composés qui participent à cette partition sont pour l'axe 1 : *trans-p*-menth-2-ène-1-ol, *cis-p*-menth-2-ène-1-ol, β -élémol, *cis*-pipéritol, *trans*-pipéritol et pour l'axe 2 : 2-carène.

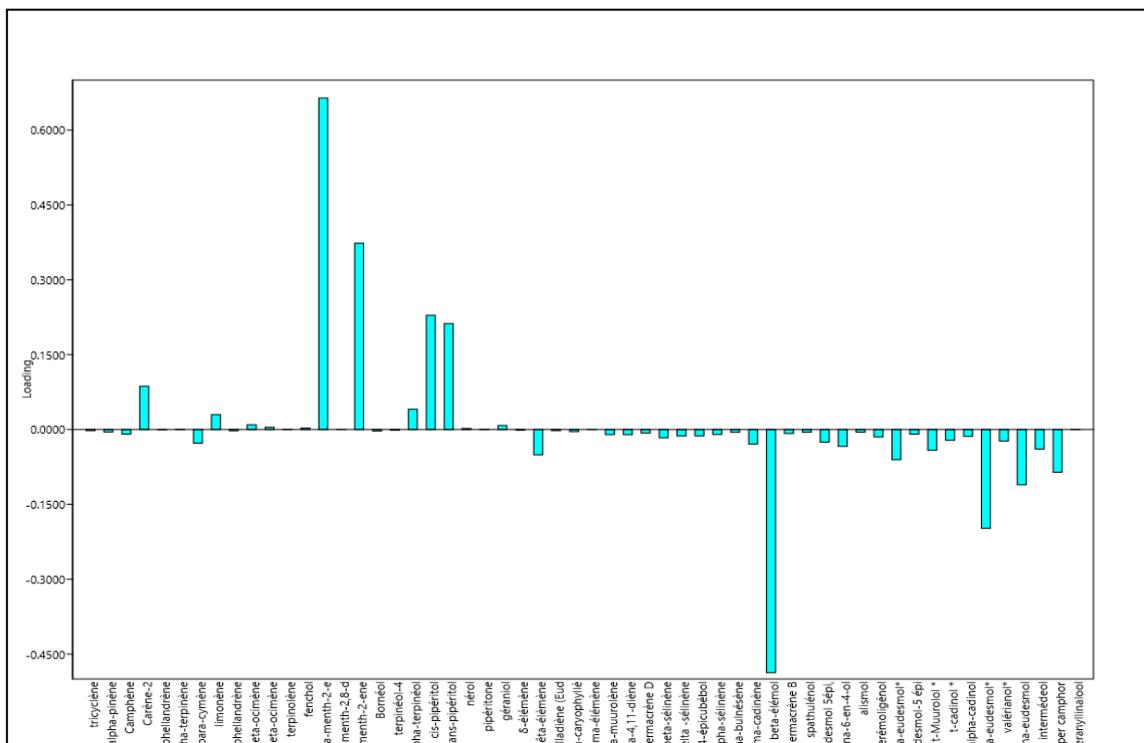


Figure 28 : Composés discriminants sur l'axe 1 de l'ACP

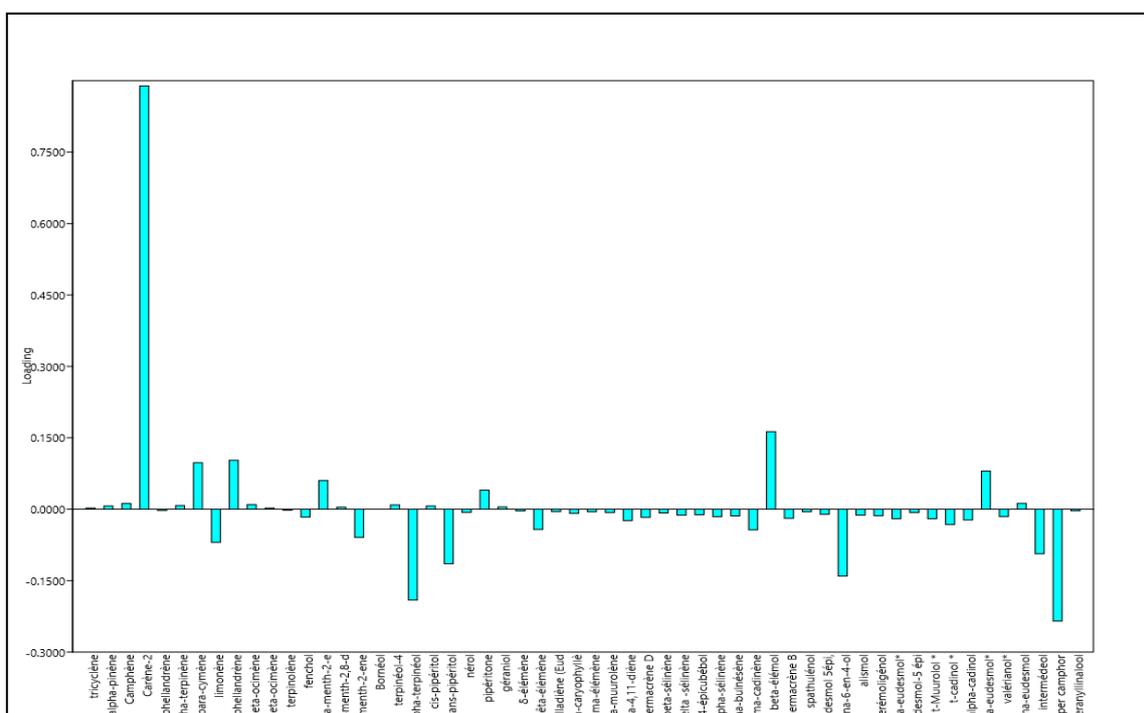


Figure 29 : Composés discriminants sur l'axe 2 de l'ACP

Le caractère atypique des échantillons G17 E3 PC et B17 E1 PA est lié à leur faible teneur en composés menthaniques associée à des teneurs élevées en β -éléamol, mais aussi en alcools sesquiterpéniques. Il faut souligner que ces deux échantillons sont issus de deux stations différentes et d'organes végétaux différents.

En conclusion, nous observons qu'il n'y pas d'effet liée à l'année de récolte puisque les échantillons de 2016 et de 2017 sont dispersés, pas de corrélation géographique, ni de corrélation liée à la nature du végétal (les différents organes). Nous pouvons donc conclure que cette variabilité qui demeure quand même limitée n'est pas liée à des facteurs géographiques ou pédoclimatiques. En tenant compte des données de la littérature et de celles cumulées dans notre étude, l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* d'Algérie semble caractérisée par une association d'alcools menthaniques et d'alcools sesquiterpéniques à squelette eudesmane.

III.2. Etude des activités biologiques des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*

Dans cette partie, nous avons étudié l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*. Afin de réaliser les activités biologiques, nous avons regroupé les échantillons d'huile essentielle qui présentent le même profil chromatographique, afin de disposer de quantités suffisantes pour pouvoir effectuer les tests. La composition chimique de ces échantillons est représentée dans le **tableau 25**.

Tableau 25 : Composés majoritaires des échantillons utilisés pour les activités biologiques

Composés (en %)	Ir	Groupe I	Sous-groupe IIA	Sous-groupe IIB
2-Carène	994	9,6	8,6	8,7
p-cymène	1010	1,4	0,6	1,2
Limonène	1019	1,8	2,6	3,8
β-Phellandrène	1019	1,5	0,8	1,3
trans-p-Menth-2-ène-1-ol	1106	20,2	30,1	25,0
cis-p-Menth-2-ène-1-ol	1122	14,0	18,9	15,4
α-Terpinéol	1170	1,2	2,3	2,9
cis-Pipéritol	1178	5,7	10,0	8,0
trans-Pipéritol	1188	8,4	11,2	8,9
Pipéritone	1224	1,0	0,9	1,0
β-éléamol	1529	8,1	1,5	5,4
Sélina-6-en-4-ol	1597	1,1	1,1	1,0
γ-Eudesmol	1612	1,2	0,3	0,6
β-Eudesmol	1629	4,0	0,8	2,3
α-Eudesmol	1634	1,5	0,5	1,3
Intermédeol	1636	1,5	1,0	1,1
Juniper camphor	1671	1,8	1,2	1,4

III.2.1. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus*

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* a été testée contre cinq bactéries, deux levures et trois champignons filamenteux, en utilisant la méthode de diffusion sur disque et dans l'affirmation, nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI) en utilisant la méthode de contact direct en milieu gélosé.

III.2.1.1. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* et l'antibiorésistance de chaque souche vis-à-vis des contrôles positifs, sont donnés dans le **tableau 26**. Une lecture globale des résultats montre que les échantillons des sous-groupes IIA et IIB sont plus actifs que l'échantillon du groupe I, et cela vis-à-vis de l'ensemble des micro-organismes testés.

Concernant les souches bactériennes, *Staphylococcus aureus* s'est montrée la plus sensible, et cela vis-à-vis des trois échantillons testés, avec des diamètres de zone d'inhibition allant de $19,3 \pm 1,2$ jusqu'à $30,7 \pm 0,6$ mm. Les autres souches testées, à savoir *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* se sont montrées résistantes à l'ensemble des échantillons, avec des diamètres de zone d'inhibition variant entre 8,0 mm et 11,0 mm.

Ces résultats révèlent une meilleure activité de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* que celle décrite dans la littérature pour l'espèce *Staphylococcus aureus*. Ceci a été rapporté également par **Aous et al.** en **2019**. Ils avancent que les six échantillons testés sont actifs vis-à-vis des micro-organismes testés, à savoir : *S. aureus* ($22 \pm 0,3$ à $32 \pm 1,8$ mm), *B. subtilis* ($11 \pm 0,1$ à $25 \pm 0,9$ mm), *E. coli* ($15 \pm 0,3$ à $27 \pm 0,7$ mm) et *C. albicans* ($28 \pm 1,3$ à $38 \pm 0,7$ mm). Ils rapportent également que les échantillons riches en péperitone sont plus actifs que ceux qui contiennent des quantités assez importantes en *cis* et *trans-p*-menth-2-ène-1-ol.

En effet, **Hellali et al. (2016)**, **Hashim et al. (2016)** et **Kadri et al. (2017)** rapportent des diamètres de zone d'inhibition compris entre $12,5 \pm 0,6$ mm et $19,5 \pm 0,7$ mm. Ces mêmes auteurs montrent dans leurs études une meilleure activité antimicrobienne pour les souches *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, en comparaison avec nos résultats, avec des diamètres de zone d'inhibition compris entre $11,10 \pm 0,9$ mm et $15 \pm 1,4$ mm. Enfin des résultats semblables aux nôtres ont été rapportés concernant la souche *Pseudomonas aeruginosa*, dans l'étude de **Kadri et al. (2017)** qui rapportent un diamètre de zone d'inhibition de l'ordre de $7,33 \pm 0,3$ mm.

Concernant les levures testées, *Candida albicans* 26790 s'est révélé très sensible aux trois échantillons d'huile essentielle GI, SGIIA et SGIIB, au point où il n'y avait pas de croissance. *Candida albicans* 10231 s'est montré également sensible vis-à-vis des trois échantillons, mais avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre $19,5 \pm 6,4$ mm et $31,0 \pm 2,8$ mm.

Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux rapporté par **Hellali et al.** en **2016**, qui rapportent une activité modérée de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* vis-à-vis de la souche *Candida albicans*, avec un diamètre de la zone d'inhibition, de l'ordre de $12 \pm 1,4$ mm. En revanche, **Aous et al.** (**2019**) rapportent des diamètres comparables aux nôtres en testant six échantillons de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* vis-à-vis de *C. albicans* ($28 \pm 1,3$ à $38 \pm 0,7$ mm).

Enfin, pour les champignons filamenteux testés, les souches *Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum* se sont révélées les plus sensibles aux huiles essentielles des échantillons des sous-groupes IIA et IIB avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre $15,5 \pm 0,7$ mm et $23,5 \pm 0,7$ mm. Paradoxalement, la souche *Aspergillus fumigatus* s'est montrée résistante aux huiles essentielles de tous les échantillons avec des diamètres de zone d'inhibition allant de $6 \pm 0,7$ mm à $7,5 \pm 0,7$ mm.

Gbogbo et al. en **2006**, rapportent également une bonne activité antifongique de l'huile essentielle de *C. schoenanthus* vis-à-vis de cinq souches microbiennes, à savoir : *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Bipolaris maydis*, *Fusarium oxysporum*, et *Nigrospora oryzae*. Ils avancent un pourcentage d'inhibition de la croissance des souches de l'ordre de 100% à une concentration de 1,14 µl/ml.

Tableau 26 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* relatives aux souches microbiennes selon la méthode de disque

Souches microbiennes	Huiles essentielles (15 µl/disque)			Antibiotique	Antifongiques	
	GI	SGIIA	SGIIB	CIP	NY	FLU
<i>Escherichia coli</i>	10,0 ± 0,0	11,0 ± 0,0	9,7 ± 0,6	34,7 ± 0,6	----	----
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	8,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	10,3 ± 0,6	27,7 ± 0,6	----	----
<i>Staphylococcus aureus</i>	19,3 ± 1,2	30,0 ± 0,0	30,7 ± 0,6	30,0 ± 0,0	----	----
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	30,0 ± 0,0	----	----
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	24,0 ± 3,5	31,0 ± 2,8	19,5 ± 6,4	----	16,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	p d c	p d c	p d c	----	19,0 ± 1,0	15,0 ± 0,0
<i>Aspergillus flavus</i>	13,5 ± 2,1 ^a	32,0 ± 0,0	24,5 ± 0,7	----	22,3 ± 0,6	6,0 ± 0,0
	11,0 ± 1,4 ^b	23,5 ± 0,7	15,5 ± 0,7	----	----	----
<i>Aspergillus fumigatus</i>	6,0 ± 0,0 ^a	9,0 ± 1,4	8,0 ± 0,0	----	33,7 ± 1,2	6,0 ± 0,0
	6,0 ± 0,0 ^b	7,5 ± 0,7	7,0 ± 0,0	----	----	----
<i>Fusarium oxysporum</i>	19,0 ± 1,4 ^a	34,5 ± 0,7	32,5 ± 0,7	----	16,0 ± 1,0	6,0 ± 0,0
	10,5 ± 0,7 ^b	16,0 ± 0,0	17,5 ± 0,7	----	----	----

CIP : Ciprofloxacine, FLU : Fluconazole, NY : Nystatine ont été utilisés comme contrôles positifs. Valeurs moyennes des zones d'inhibition de la croissance en mm y compris le diamètre du disque de 6 mm ± Ecart-type. ---- : Non testé. a, b : après 3 jours et 5 jours d'incubation, respectivement.

III.2.1.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par la méthode de contact direct en milieu gélosé

Selon les résultats obtenus précédemment concernant la sensibilité des souches microbiennes aux huiles essentielles, déterminée par la méthode de diffusion sur disque, nous avons sélectionné six souches microbiennes (à savoir : *Staphylococcus aureus*, les deux *Candida albicans*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, et *Fusarium oxysporum*), possédant une forte sensibilité vis-à-vis des échantillons d'huile essentielle testés pour lesquels nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice par la méthode de contact direct en milieu gélosé. Les résultats sont rapportés dans le **tableau 27**.

Tableau 27 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) en huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* relatives aux souches sensibles

Micro-organismes testés	Huile essentielle (µl/ml)		
	GI	SGIIA	SGIIB
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,5	1,0	0,5
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	4,0	3,0	3,0
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	2,0	2,0	2,0
<i>Aspergillus flavus</i>	2,0 ^a	----	1,0
	2,0 ^b	----	2,0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	< 0,25 ^a	1,0	0,5
	1,0 ^b	1,0	1,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	2,0 ^a	----	1,0
	2,0 ^b	----	2,0

---- : Non testé. GI : Groupe I ; SGIIA : Sous-groupe IIA ; SGIIB : Sous-groupe IIB. a, b : après 3 jours et 5 jours d'incubation, respectivement.

Ces résultats révèlent que la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* est la plus sensible aux échantillons d'huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* testés avec une CMI de l'ordre de 0,5 µl/ml pour les échantillons du groupe I et sous-groupe IIB, et 1 µl/ml pour l'échantillon du sous-groupe IIA, suivi de la souche *Aspergillus fumigatus* avec une CMI de 1 µl/ml, vis-à-vis de tous les échantillons testés.

Les souches *Candida albicans* ATCC 26790, *Aspergillus flavus* et *Fusarium oxysporum* montrent une bonne activité avec une CMI de l'ordre de 2 µl/ml. En revanche, la souche fongique *Candida albicans* ATCC 10231 s'est montrée la plus résistante avec des CMI variant entre 3 µl/ml et 4 µl/ml.

Ces résultats révèlent une activité moins importante que celle décrite dans la littérature. En effet, les travaux de **Hashim et al. (2016)**, décrivent des CMI vis-à-vis de la souche bactérienne *Staphylococcus aureus* de l'ordre de, 2,3 µg/ml. En revanche, **Alitonou et al. (2012)**, **Yagi et al. (2016)**, avancent une CMI très élevée de l'ordre de 2,63 mg/ml et 16 mg/ml, respectivement vis-à-vis de la même souche bactérienne. Dans une autre étude, **Koba et al. en 2004** ont testé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'un échantillon récolté dans la région du Togo riche en pipéritone (68%), vis-à-vis de plusieurs micro-organismes dont *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*, et décrits des CMI de 500 µl/ml, largement supérieures aux nôtres.

En conclusion, la bonne activité des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* est principalement liée à la présence des alcools menthaniques dont le *cis* et le *trans-p*-menth-2-ène-1-ol. Même si la somme des teneurs de ces deux composés diffère pour les trois échantillons testés (GI : 34,2% ; SGIIA : 50,0% ; SGIIB : 40,4%), nous avons obtenu une activité similaire vis-à-vis des différentes souches microbiennes testées. La présence dans les échantillons GI et SGIIB, d'alcools sesquiterpéniques en quantités notables : β-élémol, intermédéol, juniper camphor et trois eudesmol (α, β et γ) avec les pourcentages de l'ordre 18,1% et 12,1%, respectivement contre 5,3% dans l'échantillon SGIIA pourrait contribuer à l'activité.

III.2.2. Etude de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *C. schoenanthus*

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* a été mesurée par le test du piégeage des radicaux libres DPPH selon le protocole 2, les résultats sont présentés dans la **figure 30 (Tableau 1, Annexe 5)**. Il est à noter que nous avons testé seulement les échantillons du groupe I et IIB.

Les résultats obtenus montrent une bonne activité antioxydante des huiles essentielles testées avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 93,79% à une concentration de 256 mg/ml pour l'échantillon du groupe I, et un pourcentage de 87,08% à une concentration de 128 mg/ml pour l'échantillon du sous-groupe IIB, et une CI₅₀ de 16,30 ± 0,3 et 10,66 ± 0,1 mg/ml, respectivement.

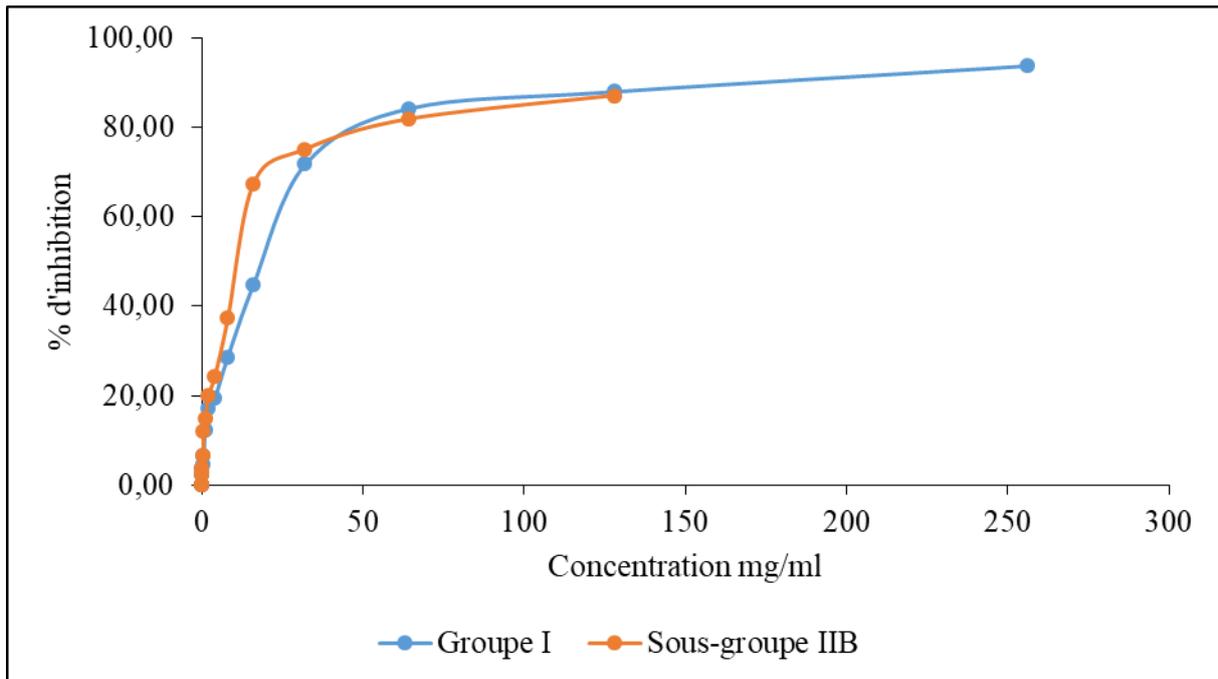


Figure 30 : Pourcentage d’inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* (Protocole 2)

Tableau 28 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* exprimée en CI_{50} (Protocole 2)

Echantillons	CI_{50} (mg/ml)
	Protocole 2
Groupe I	$16,30 \pm 0,3$
Sous-groupe IIB	$10,66 \pm 0,1$

Ces résultats obtenus, montrent une activité antioxydante plus importante que celle rapportée par **Hellali *et al.*** en **2016**, avec une CI_{50} de l’ordre de $44,21 \pm 3,78$ mg/ml, ainsi que par **Aous *et al.*** (**2019**), qui rapportent des pourcentages d’inhibition allant de 4,4 à 21,1% à des concentrations variant entre 100 et 2000 mg/l. En revanche, **Khadri *et al.*** en **2008**, révèlent que les huiles essentielles des feuilles fraîches et sèches et des racines sèches de *C. schoenanthus* ont montré un plus fort pouvoir antioxydant avec un pourcentage d’inhibition de l’ordre de $73,8 \pm 2,1\%$; $67,3 \pm 17,5\%$ et $61,0 \pm 5,6\%$, respectivement à une concentration de 2 μ l/ml.

Conclusion

L'Algérie possède, sans aucun doute, l'une des flores les plus riches au monde renfermant un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales depuis les rives de la méditerranée jusqu'aux confins du Sahara. Bon nombre d'entre-elles sont des espèces endémiques qui représentent un vaste réservoir de produits naturels à forte valeur ajoutée. De ce fait, elles constituent une ressource non négligeable en matière de molécules bioactives. Néanmoins, cette ressource reste mal connue d'un point de vue académique en l'absence d'études scientifiques et ne représente qu'un faible poids économique.

La valorisation d'un tel patrimoine, apportera non seulement un nouveau souffle pour la médecine conventionnelle, mais contribuera à l'essor de bon nombre de domaines, industriel, pharmaceutique, agricole et alimentaire.

Ce travail, réalisé au laboratoire des « Produits naturels », en collaboration avec l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse, s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, et plus précisément, des plantes aromatiques. Nous souhaitons mettre l'accent à la fois sur la diversité floristique, mais aussi sur la richesse en composés bioactifs naturels, dont la variabilité chimique sur un territoire très vaste, constitue un sujet d'étude intéressant.

Cependant, la valorisation de ces produits naturels passe par une étape d'analyse afin de les caractériser. En effet, la détermination de la composition chimique, la mise en évidence d'une éventuelle activité biologique constituent des étapes nécessaires pour la valorisation et donc l'exploitation dans les meilleures conditions possibles, dans divers domaines.

Dans ce contexte, l'analyse chimique des huiles essentielles est basée sur le couplage « en ligne » d'une technique chromatographique (CPG) qui individualise les constituants du mélange et une technique spectroscopique (SM ou éventuellement la RMN), qui permet d'identifier les constituants par comparaison avec les données spectrales de produit de référence contenues dans une bibliothèque des spectres.

Parallèlement, le laboratoire de l'équipe « Chimie et biomasse » de l'université de Corse a mis au point et développé une technique d'analyse des mélanges complexes, basée sur l'utilisation de la RMN ^{13}C comme outil d'identification des constituants, et éventuellement leur quantification, sans séparation préalable ou avec un fractionnement réduit au minimum. Un logiciel informatique, conçu et développé au laboratoire, permet de comparer les déplacements chimiques des spectres construits au laboratoire ou avec les données de la littérature.

Ainsi, l'objectif de notre travail est la valorisation de trois espèces végétales, à savoir : *Pituranthos scoparius*, *Santolina africana* et *Cymbopogon schoenanthus* poussant spontanément dans diverses régions de l'Algérie, en déterminant la composition et la variabilité

chimique ainsi que le pouvoir antimicrobien, antioxydant et anti-inflammatoire des huiles essentielles extraites de ces plantes.

L'espèce *Pituranthos scoparius* a montré une très grande variabilité concernant les rendements en huile essentielles, allant de 0,16 à 0,99%. Cette variabilité existe à la fois entre les échantillons d'une même station, entre les différentes stations, mais aussi entre les périodes d'échantillonnage. Les rendements les plus élevés ont été obtenus pour les régions du Sahara, allant de 0,24 à 0,70% pour la région de Ghardaïa et de 0,25 à 0,99% pour la région de Béchar, contrairement à ceux prélevés dans les hauts plateaux (Biskra et Batna) (0,16 à 0,43%). De plus, les rendements les plus élevés ont également été obtenus pendant la période du printemps. Cependant, une grande variation a été remarquée en comparant les rendements obtenus en 2016 et 2017 dans la station de Béchar, suggérant la probable grande influence des conditions climatiques. L'analyse détaillée de 10 échantillons d'huile essentielle en exploitant la complémentarité des techniques analytiques (CPG(Ir), CPG-SM et RMN ¹³C), nous a permis d'identifier 62 composés, représentant entre 91,2 et 99,3% de la composition chimique totale. Tous les échantillons sont caractérisés par une forte proportion de monoterpènes hydrocarbonés (sabinène, limonène, α -pinène) et/ou de phénylpropanoïdes (6-méthoxy élémicine, myristicine et apiole dill). Les teneurs des composés majoritaires varient considérablement d'un échantillon à l'autre : 6-méthoxy élémicine (0,0-58,2%), sabinène (1,1-32,4%), élémicine (0,0-29,1%), limonène (0,7-26,7%), myristicine (tr-20,1%), apiole dill (0,0-18,0%), α -pinène (0,7-17,1%), α -phellandrène (tr-15,4%), (*Z*)-ligustilide (0,0-9,7%) et germacrène D (0,2-9,5%). Ensuite, l'analyse statistique de la composition chimique de 93 échantillons suggère l'existence de trois groupes principaux. Les échantillons d'huile du **groupe I** (36 échantillons sur 93) se distinguent nettement de ceux des deux autres groupes par des teneurs élevées en 6-méthoxy élémicine (M = 33,7%), suivie du sabinène (M = 24,5%) et du limonène (M = 19,4%). Inversement, les phénylpropanoïdes, à savoir : la myristicine (0,0-0,3%), l'élémicine (0,0-0,4%) et l'apiole dill (0,0-0,1%) sont présents en très faibles quantités dans ce groupe. A notre connaissance, la composition chimique de ce groupe n'a jamais été rapportée dans la littérature. On peut signaler que tous les échantillons de ce groupe sont récoltés à Béchar, à l'exception de trois échantillons, qui proviennent de la région de Ghardaïa en période de pleine fructification. Pour le **groupe II** (12 échantillons sur 93) sont caractérisés par une teneur élevée en limonène (M = 22,0%) suivi de myristicine (M = 9,4%), α -pinène (M = 14,7%), α -phellandrène (M = 11,6%) et une plus faible quantité du sabinène (M = 1,4%). Tous les échantillons de ce groupe sont récoltés à Ghardaïa avant la période de fructification. Par ailleurs, la (*Z*)-ligustilide est présente à une teneur appréciable (jusqu'à 9,7%) dans ce groupe. Le **groupe III** est subdivisé en deux sous-

groupes (IIIA et IIIB) par rapport aux teneurs de l' α -pinène, le sabinène, la myristicine, l'élémicine et l'apiole dill. A noter que les échantillons de ce groupe sont récoltés à Biskra et à Batna. La composition chimique des échantillons du **sous-groupe IIIA** (20 échantillons sur 93) est caractérisée par une teneur très élevée en sabinène ($M = 39,7\%$) suivi de l'élémicine ($M = 4,6\%$). La composition des échantillons appartenant au **sous-groupe IIIB** (25 échantillons sur 93) est caractérisée par une plus faible teneur en sabinène ($M = 22,3\%$) et des teneurs significatives en myristicine ($M = 13,9\%$), en α -pinène ($M = 13,6\%$) et en apiole dill ($M = 11,7\%$). Il convient de souligner que le limonène, parmi les principaux composants des groupes I et II, est présent à des teneurs très faibles dans tous les échantillons des sous-groupes IIIA et IIIB ($M = 0,8\%$ et $M = 1,3\%$, respectivement).

Concernant l'espèce *Santolina africana*, les rendements obtenus sont très faibles mais varient considérablement d'un échantillon à l'autre, allant de 0,03 à 0,17%, et cela, même entre les échantillons d'une même station. En exploitant la complémentarité des techniques analytiques (CC, CPG(Ir), CPG-SM et RMN ^{13}C), nous avons détaillé l'analyse de dix-huit échantillons d'huile essentielle des parties aériennes (tiges, feuilles et fleurs) de *Santolina africana* récoltées dans trois stations de la province de Batna, à savoir : Fesdis (Fesdis et Bouilef), Oued Chaaba (Hamla). Au total, 91 composés représentant 92,4% à 96,1% de la composition chimique totale de l'huile essentielle ont été identifiés. Tous les échantillons sont caractérisés par de fortes proportions en monoterpènes (51,5-69,7%), à l'exception de trois échantillons : B4, B5 et F6 qui sont dominés par des sesquiterpènes (44,3-55,9%). La composition de l'huile essentielle de *S. africana* est généralement homogène. Cependant, nous remarquons une variabilité chimique quantitative particulièrement pour les composés suivants : germacrène D (0,1-25,3%), myrcène (4,2-20,9%), spathuléol (2,5-20,7%), α -bisabolol (2,2-20,0%), β -pinène (2,4-18,7%), 1,8-cinéole (5,0-16,8%), *cis*-chrysanthénol (0,7-16,5%), capillène (0,0-16,9%), santolina alcool (0,2-14,0%), camphre (0,2-7,9%), terpinéol-4 (1,4-7,3%) et lyratol (0,1-6,7%). Par ailleurs, bien que les teneurs des composés majoritaires varient considérablement d'un échantillon à un autre, il n'a pas été possible de distinguer des groupes. Par conséquent, un groupe principal, constitué de 16 échantillons et deux compositions atypiques (B5 et B6) ont été observés. Enfin, quatre composés minoritaires qui présentent une structure avec un motif di-alcyne correspondant à deux couples de stéréo-isomères sont également identifiés et rapportés pour la première fois dans l'espèce *S. africana* : le (*Z*) et (*E*)-2-(2',4'-hexadiynyldène)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diène ; le (*Z*) et (*E*)-tonghaosu.

Concernant l'espèce *Cymbopogon schoenanthus*, les rendements obtenus sont homogènes avec des moyennes comprises entre 0,6% et 0,9%. L'analyse détaillée de sept

échantillons par CPG, RMN ^{13}C et CPG-SM, a conduit à l'identification de 57 composés, représentant entre 89,1 et 98,1% de la composition globale. Il s'agit en majorité de composés monoterpéniques oxygénés avec un squelette de type menthane, avec le *trans-p*-menth-2-ène-1-ol (10,5-31,7%) et le *cis-p*-menth-2-ène-1-ol (7,2-19,8%) comme composés majoritaires, suivis de 2-carène (2,1-17,0%), un alcool sesquiterpénique, l'élémol (1,9-20,7%), le *trans*-pipéritol (4,6-11,7%) et le *cis*-pipéritol (3,2-9,0%). L'analyse statistique de la composition chimique de 30 échantillons d'huile essentielle obtenus à partir du rhizome et des parties aériennes (tiges et feuilles) récoltés dans deux stations du Sahara (Béchar et Ghardaïa), suggère l'existence de deux groupes principaux et deux compositions atypiques qui se différencient par leur faible teneur en composés menthaniques associée à des teneurs élevées en β -élémol, mais aussi en alcools sesquiterpéniques. En parallèle, le groupe II a été subdivisé en deux sous-groupes IIA et IIB.

Les résultats des activités biologiques des huiles essentielles de ces trois plantes, nous permettent d'avancer les points suivants :

Dans un premier temps, nous avons testé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des trois espèces de plantes étudiées en utilisant la méthode de diffusion sur disque et dans l'affirmation, nous avons déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de contact direct en milieu gélosé.

Les huiles essentielles de *Pituranthos scoparius* des huit échantillons testés, agissent de façon très différente sur les souches testées. Les huiles essentielles des échantillons de Biskra, de Bouilef, de Djerma G1 et de Djerma G2, ont montré les CMIs les plus faibles. Cependant, l'huile essentielle de l'échantillon de Djerma G2 s'est montrée la plus active vis-à-vis de la plupart des souches testées, avec des CMIs variant entre 2 et 4 $\mu\text{l/ml}$. Les souches microbiennes *Aspergillus fumigatus* et *Candida albicans* ATCC 26790, se sont révélées les plus sensibles à cette huile essentielle avec une CMI faible de l'ordre de 2 $\mu\text{l/ml}$. Aussi, *Candida albicans* ATCC 26790 s'est montré également sensible à l'huile essentielle de l'échantillon de Bouilef, avec une CMI de 3 $\mu\text{l/ml}$. En outre, nous avons noté une activité modérée de l'huile essentielle de l'échantillon de Djerma G2 vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et de *Candida albicans* ATCC 10231, avec une CMI de l'ordre de 3 $\mu\text{l/ml}$. Par ailleurs, les huiles essentielles des échantillons de Biskra, de Bouilef et de Djerma G1 se sont montrées également actives vis-à-vis d'*Aspergillus fumigatus* et de *Candida albicans* ATCC 26790, mais avec une CMI de l'ordre de 3 $\mu\text{l/ml}$. L'huile essentielle de l'échantillon de Ghardaïa s'est révélée active vis-à-vis uniquement d'*Aspergillus fumigatus*, mais avec une CMI de l'ordre de 4 $\mu\text{l/ml}$. En revanche, toutes les souches microbiennes testées se sont montrées résistantes aux huiles essentielles des

trois échantillons de Béchar, même à une CMI de l'ordre de 4 µl/ml. Il est à noter que ces échantillons sont riches en 6-méthoxy élémicine, jusqu'à 47%. Ainsi, ce composé n'est probablement pas doué d'activité antimicrobienne. Enfin, l'activité importante de l'échantillon de Djerma G2 est due probablement à la présence de la myristicine et du terpinéol-4. On peut avancer qu'il a une synergie entre ces deux composés.

Pour l'activité antimicrobienne de *Santolina africana*, Les résultats obtenus par la méthode de diffusion sur disque ont montré que l'huile est active vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, les deux levures et les trois champignons filamenteux avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 13,0 mm à 19,7 mm. Les souches microbiennes *Staphylococcus aureus* et *Aspergillus fumigatus* se sont révélées les plus sensibles, avec des zones d'inhibition de 19,7 mm et 17,5 mm, respectivement.

Enfin, les huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* se sont montrées les plus actives, en raison de leur composition chimique dominée par le *cis* et le *trans-p*-menth-2-ène-1-ol. Les résultats révèlent que *Staphylococcus aureus* est la plus sensible aux trois échantillons de *Cymbopogon schoenanthus* testés avec une CMI de l'ordre de 0,5 µl/ml pour les échantillons du groupe I et sous-groupe IIB, et 1 µl/ml pour l'échantillon du sous-groupe IIA, suivi de la souche *Aspergillus fumigatus* avec une CMI de 1 µl/ml, vis-à-vis de tous les échantillons testés.

Par ailleurs, la capacité de l'huile essentielle de *S. africana* à inhiber la lipoxygénase de soja a été évaluée. Les résultats de ce test montrent que le pourcentage d'inhibition augmente avec la concentration de l'huile essentielle, atteignant 57,6% à 0,075 mg/ml. Aucune activité de la LOX n'a pu être détectée en présence de 0,1 mg/ml d'huile essentielle de *S. africana*, suggérant une inhibition presque complète de l'activité de la LOX. La valeur de la CI₅₀ de l'huile essentielle de *S. africana* (0,065 ± 0,004 mg/ml) est 5 fois supérieure à celle du composé de référence NDGA (0,013 ± 0,003 mg/ml). Ces résultats nous permettent de considérer l'huile essentielle de *S. africana* comme un excellent inhibiteur de l'activité de la LOX, suggérant un potentiel anti-inflammatoire intéressant.

Nous avons aussi étudié l'activité antioxydante des huiles essentielles des trois plantes, en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH, selon deux protocoles, qui se distinguent par la nature du solvant : le méthanol et l'éthanol. Les résultats obtenus révèlent un faible pouvoir antioxydant pour l'ensemble des huiles essentielles testées par comparaison aux composés de référence. Cependant, le pouvoir antioxydant est plus intéressant en présence de l'éthanol. L'huile essentielle de *S. africana* s'est avérée la plus active, avec une CI₅₀ de l'ordre de 1,51 ± 0,04 mg/ml.

Ainsi, ces travaux de thèse ont permis d'avoir, une connaissance plus approfondie sur trois plantes aromatiques poussant à l'état spontané en Algérie, à savoir : *Pituranthos scoparius*, *Santolina africana* et *Cymbopogon schoenanthus*, par l'identification des composés volatils produits par ces plantes, ainsi que les activités biologiques dont elles sont dotées.

Ces travaux représentent une très modeste contribution dans la valorisation de la flore algérienne, il serait intéressant d'envisager comme perspectives d'élargir notre étude sur d'autres espèces endémiques, mais aussi :

- ✓ Investiguer profondément et rechercher des applications de l'huile essentielle des trois plantes étudiées ;
- ✓ Entreprendre une étude phytochimique de ces espèces afin d'isoler d'autres métabolites secondaires ;
- ✓ Poussez encore plus loin les tests des activités biologiques pour les trois espèces *in vitro* et *in vivo*, en évaluant l'activité anti-inflammatoire et antidiabétique à titre d'exemple.
- ✓ Entreprendre une étude de la toxicité de ceux-ci sur différentes lignées cellulaires (*in vitro*) et sur des modèles utilisant les animaux (*in vivo*) afin de déterminer les doses thérapeutiques.

Références Bibliographiques

Adams RP. (1989) Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy. Academic Press, San Diego, 780.

Adams RP, Thappa RK, Agarwal SG, Kapahi BK, Srivastava TN, Chaudhary RP. (1998) The Leaf Essential Oil of *Juniperus recurva* Buch.-Ham. ex D. Don from India and Nepal Compared with *J. recurva* var. *squamata* (D. Don) Parl. *Journal of Essential Oil Research*, **10(1)**, 21-24.

Adams RP. (2001) Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured: Carol Stream, 798.

Adida H, Frioui E, Djaziri R, Mezouar D. (2014) *In vitro* Antibacterial Activity of *Pituranthos scoparius* from Algeria. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **8**, 2095-2108.

Adida H, Benariba N, Bechiri A, Chekroun E, Djaziri R. (2015) Etude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*. *Phytothérapie*, 1-6.

Adorjan B, Buchbauer G. (2010) Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance Journal*. **25**, 407-426.

Ahmad A, Khan A, Kumar P, Bhatt RP, Manzoor N. (2011) Antifungal activity of *Coriaria nepalensis* essential oil by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *Yeast*, **28**, 611-617.

Ahmad VU, Jassbi AR. (1999) Analysis of the essential oil of *Echinophora sibthorpiana* guss. By means of GC, GC/MS and ¹³C-NMR techniques. *Journal of Essential Oil Research*, **11**, 107-108.

Ait-Ouazzou A, Cherrat L, Espina L, Lorán S, Rota C, Pagán R. (2011) The antimicrobial activity of hydrophobic essential oil constituents acting alone or in combined processes of food preservation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **12**, 320-329.

Albert K, Dachtler M, Glaser E, Händel H, Lacker T, Schlotterberck G, Strohschein S, Tseng LH, Braumanu U. (1999) On-line coupling of separation techniques to NMR. *Journal of High Resolution Chromatography*, **22**, 135-143.

Alitonou GA, Avlessi F, Tchobo F, Noudogbessi JP, Tonouhewa A, Yehouenou B, Menut C, Sohounhloue DK. (2012) Chemical composition and biological activities of essential oils from the leaves of *Cymbopogon giganteus* Chiov. and *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng (Poaceae) from Benin. *International Journal of Biolbiological and Chemical Sciences*, **6(4)**, 1819-1827.

Allen HK, Donato J, Wang HH, Cloud-Hansen KA, Davies J, Handelsman J. (2010) Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature Reviews Microbiology*, **8**, 251-259.

Amorati R, Foti MC, Valgimigli L. (2013) Antioxidant Activity of Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **16**, 835-847.

- Andola HC, Maithani A. (2018)** Essential Oil Profile of Wild and Cultivated Accession of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) from Uttarakhand Region. *Meicinal chemistry*, **8(1)**, 008-009.
- Andreou A, Feussner I. (2009)** Lipoxygenases – Structure and reaction mechanism. *Phytochemistry*, **70**, 1504-1510.
- Angioni A, Barra B, Russo MT, Coroneo V, Dessi S, Cabras P. (2003)** Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 3073-3078.
- Anitescu G, Doneanu C, Radulescu V. (1997)** Isolation of coriander oil: comparison between steam distillation and supercritical CO₂ extraction. *Flavour and Fragrance Journal*, **12**, 173-176.
- Aous W, Benchabane O, Outaleb T, Hazzit M, Mouhouche F, Yekkour A, Baaliouamer A. (2019)** Essential oils of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. from Algerian Sahara: chemical variability, antioxidant, antimicrobial and insecticidal properties. *Journal Of Essential Oil Research*, doi.org/10.1080/10412905.2019.1612790.
- Asbahani AE, Miladi K, Badri W, Sala M, Aït Addi EH, Casabianca H, El Mousadik A, Hartmann D, Jilale A, Renaud FNR, Elaissari A. (2015)** Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, **483**, 220-243.
- Attia S, Grissa KL, Mailleux AC, Heuskin S, Lognaye G, Hancea T. (2012)** Acaricidal activities of *Santolina africana* and *Hertia cheirifolia* essential oils against the two-spotted spidermite (*Tetranychus urticae*). *Pest Management Science*, **68(7)**, 1069-1076.
- Avlessi F, Alitonou GA, Djenontin TS, Tchobo F, Yèhouénoù B, Menut C, Sohounhloué D. (2012)** Chemical composition and Biological activities of the Essential oil extracted from the fresh leaves of *Chromolaena odorata* (L. Robinson) growing in Benin. *ISCA Journal of Biological Sciences*, **1(3)**, 7-13.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. (2008)** Biological effects of essential oils-A review. *Food and Chemical Toxicology*, **46**, 446-475.
- Baldovini N, Tomi F, Casanova J. (2001)** Identification and quantitative determination of furanodiene, a heat-sensitive compound, in essential oil by ¹³C-NMR. *Phytochemical Analysis*, **12**, 58-63.
- Bandoniene D, Pukalskas A, Venskutonis PR, Gruzdiene D. (2000)** Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. *Food Research International*, **33(9)**, 785-791.
- Bandoniene D, Murkovic M, Pfannhauser W, Venskutonis PR, Gruzdiene D. (2002)** Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and online HPLC-DPPH methods. *European Food Research and Technology*, **214**, 143-147.
- Bang KH, Lee DW, Park HM, Rhee YH. (2000)** Inhibition of fungal cell wall synthesizing enzymes by *trans*-cinnamaldehyde. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, **64**, 1061-1063.

- Barba Orellana FJ, Zhu Z, Koubaa M, Sant'Ana AS, Orlien V. (2016)** Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: a review. *Trends in Food Science & Technology*, **49**, 96-109.
- Barel S, Segal R, Yashphe J. (1991)** The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Ethnopharmacol*, **33**, 187-191.
- Bassolé IHN, Lamien-Meda A, Bayala B, Tirogo S, Franz C, Novak J, Nebié RC, Dicko MH. (2010)** Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. *Molecules*, **15**, 7825-7839.
- Bassolé IHN, Juliani HR. (2012)** Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. *Molecules*. **17**, 3989-4006.
- Basta A, Drobac M, Drobac M, Couladis M, Tzakou O, Olga Tzakou. (2007)** Essential oil composition of the flowerheads of *Chrysanthemum coronarium* L. from Greece. *Flavour and Fragrance Journal*, **22(3)**, 197-200.
- Bauer K, Garbe D, Surburg H. (2001)** Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses. *Wiley-VCH*, Weinheim, 293.
- Bayala B, Bassolé IHN, Gnoula C, Nebie R, Yonli A, Morel L, Figueredo G, Nikiema JB, Lobaccaro JMA, Simpoire J. (2014)** Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Proliferative Activities of Essential Oils of Plants from Burkina Faso. *PLoS One*, **9(3)**, e92122.
- Baylac S, Racine P. (2003)** Inhibition of 5-lipoxygenase by essential oils and other natural fragrant. *International Journal of Aromatherapy*, **13(2-3)**, 138-142.
- Béjaoui A, Boulila A, Ben Salem I, Boussaid M. (2017)** Chemical composition and bioactivities of the polyphenolic-rich extract of *Ormenis africana* Jord. and Fourr. *International Journal of Food Properties*, **20(8)**, 1786-1795.
- Bekhechi C, Atik Bekkara F, Casanova J, Tomi F. (2011)** Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Achillea odorata* L. subsp. *pectinata* (Lamk.) var. *microphylla* (Willd.) Willk. From North-Western Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, **23**, 42-46.
- Bekhechi C, Atik Bekkara F, Consiglio D, Bighelli A, Tomi F. (2012)** Chemical variability of the essential oil of *Juniperus phoenicea* var. *turbinata* from Algeria. *Chemistry and Biodiversity*, **9(12)**, 2742-2753.
- Béliveau R, Gingras D. (2005)** Les aliments contre le cancer. Édition du Trécarré, Outremont, 213.
- Belyagoubi-Benhammou N, Belyagoubi L, Bechlaghem N, Ghembaza N, Atik-Bekkara F. (2016)** Assessment of antioxidant potential and phytochemical analysis of *Pituranthos scoparius* crude extract and its fractions. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, **17(1)**, 51-57.

- Ben Mansour R, Gargouri B, Bouaziz M, Elloumi N, Belhadj Jilani I, Ghrabi Z, Lassoued S. (2011)** Antioxidant activity of ethanolic extract of inflorescence of *Ormenis africana* *in vitro* and in cell cultures. *Lipids in Health and Disease*, **10**(78), 1-7.
- Ben Othman M, Han J, El Omri A, Ksouri R, Neffati M, Isoda H. (2013)** Antistress Effects of the Ethanolic Extract from *Cymbopogon schoenanthus* Growing Wild in Tunisia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.
- Benchelah AC, Bouziane H, Maka M, Ouahès C. (2000)** Fleurs du Sahara : Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili. Ibis Press, Paris, 256.
- Benhammou N, Atik-Bekkara F, Kadifkova Panovska T. (2007)** Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Sciences*, **29**(3), 155-161.
- Benmekhbi L, Kabouche A, Kabouche Z, Ait-Kaki B, Touzani R, Bruneau C. (2008)** Five glycosylated flavonoids from the antibacterial butanolic extract of *Pituranthos scoparius*. *Chemistry of Natural Compounds*, **44**, 639-641.
- Berger MM. (2006)** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **20**, 48-53.
- Beuchat LR, Golden DA. (1989)** Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technology*, **43**, 134-142.
- Bianchini A, Tomi F, Richomme P, Bernardini A-F, Casanova J. (2004)** Eudesm-5-en-11-ol from *Helichrysum italicum* essential oil. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **42**, 983-984.
- Bighelli A, Casanova J. (2009)** Analytical methods for *Cymbopogon* oils in essential oil bearing grasses, the genus *Cymbopogon*. Edition Taylor & Francis, London, 195-215.
- Billot M, Wells FV. (1975)** Perfumery Technology: Art, Science, Industry. Ellis Horwood LTD, Chechester, United Kingdom.
- Blanc MC, Muselli A, Bradesi P, Casanova J. (2004)** Chemical composition and variability of the essential oil of *Inula graveolens* from Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, **19**, 314-319.
- Blois MS. (1958)** Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1200.
- Bohlmann F, Arndt C, Bornowski H, Kleine KM, Herbst P. (1964)** Polyacetylenverbindungen, LVI. Neue Acetylenverbindungen aus *Chrysanthemum*-Arten. *European Journal of Inorganic Chemistry*, **97**(4), 1179-1192.
- Bossou AD, Mangelinckx S, Yedomonhan H, Boko PM, Akogbeto MC, De Kimpe N, Avlessi F, Sohounhloue DC. (2013)** Chemical composition and insecticidal activity of plant essential oils from Benin against *Anopheles gambiae* (Giles). *Parasit Vectors*, **6**, 337.
- Bossou AD, Ahoussia E, Ruysbergh E, Adams A, Smagghe G, De Kimpe N, Avlessi F, Sohounhloue DCK, Mangelinckx S. (2015)** Characterization of volatile compounds from

three *Cymbopogon* species and *Eucalyptus citriodora* from Benin and their insecticidal activities against *Tribolium castaneum*. *Industrial Crops and Products*, **76(15)**, 306-317.

Bouchikhi Tani Z, Khelil MA, Bendahou M, Mestari M. (2009) Action des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de l'ouest algérien sur la mite *Tineola bisselliella*. *Revue Ivoirienne des Sciences et Technologie*, **14**, 175-186.

Boudjedjou L, Ramdani M, Zeraib A, Benmeddour T, Fercha A. (2019) Chemical composition and biological activities of Algerian *Santolina africana* essential oil. *Scientific African*, **4**, e00090.

Boudjelal A, Henchiri C, Sari M, Sarri D, Hendel N, Benkhaled A, Ruberto G. (2013) Herbalists and Wild Medicinal Plants in M'Sila (North Algeria): An Ethnopharmacology Survey. *Journal of Ethnopharmacology*, **148**, 395-402.

Boudoukha C, Bouriche H, Elmastas M, Aksit H, Kayir O, Genc N, Senator A. (2018) Antioxidant Activity of Polyphenolic Leaf Extract from *Santolina chamaecyparissus* L. (Asteraceae) and the Isolated Luteolin-7-O-Glucoside. *Journal of Pharmaceutical Research International*, **22(3)**, 1-12.

Bougatos C, Ngassapa O, Runyoro DKB, Chinou IB. (2004) Chemical Composition and *in vitro* Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two *Helichrysum* Species from Tanzania. *Zeitschrift für Naturforschung*, **59c**, 368-372.

Bouhdid S. (2009). Activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles : Application biotechnologique pour l'amélioration de la qualité des boyaux naturels. Thèse de doctorat en sciences. Université Abdelmalek Essaadi, Faculté des Sciences de Tétouan. Maroc, 104.

Bouhdid S, Abrini J, Baudoux D, Manresa A, Zhiri A. (2012) Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Journal de Pharmacie Clinique*, **31(3)**, 141-148.

Boukef MK. (1986) Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, 350.

Bousbia N, Abert Vian MA, Ferhat MA, Meklati BY, Chemat F. (2009) A new process for extraction of essential oil from *Citrus* peels: microwave hydrodiffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*, **90**, 409-413.

Boussaïd M, Bekhechi C, Beddou F, Chabane Sari D, Bighelli A, Casanova J, Tomi F. (2015) Chemical Variability of the Essential Oil Isolated from Aerial Parts of *Tetraclinis articulata* from North-Western Algeria. *Natural Product Communications*, **10(8)**, 1447-1452.

Boussaïd M, Bekhechi C, Atik-Bekkara F, Paoli M, Casanova J, Tomi F. (2016) Composition and Chemical Variability of the Cone Oil from Algerian *Tetraclinis articulata*. *Natural Product Communications*, **11(8)**, 1167-1170.

Boutaghane N, Nacer A, Kabouche Z, Ait-Kaki B. (2004) Comparative Antibacterial Activities of the Essential Oils of Stems and Seeds of *Pituranthos scoparius* from Algerian Septentrional Sahara. *Chemistry of Natural Compounds*, **40**, 606-607.

- Bouyahya A, Bakri Y, Et-Touys A, Talbaoui A, Khouchlaa A, Charfi S, Abrini J, Dakka N. (2017)** Resistance to Antibiotics and Mechanisms of Action of Essential Oils against Bacteria. *Phytothérapie*, 1-11.
- Boyle W. (1955)** Spices and essential oils as perspectives. *American Perfumer Essential Oil Review*, **66**, 25-28.
- Bradesi P, Bighelli A, Tomi F, Casanova J. (1996)** L'analyse des mélanges complexes par RMN du carbone-13. *Canadian Journal of Applied Spectroscopy*, Partie 1, **41**, 15-24, Partie 2, **41**, 41-50.
- Bruins AP. (1979)** Negative ion chemical ionisation mass spectrometry in the determination of components in essential oils. *Analytical Chemistry*, **51**, 967-972.
- Bruneton J. (1993)** Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. 2^{ème} édition Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 916.
- Bruneton J. (1999)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3^{ème} édition Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1120.
- Bruneton J. (2009)** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4^{ème} édition Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1269.
- Burt S. (2004)** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, **94**, 223-253.
- Cabral C, Francisco V, Cavaleiro C, Gonçalves MJ, Cruz MT, Sales F, Batista MT, Salgueiro L. (2012)** Essential oil of *Juniperus communis* subsp. *alpina* (Suter) needles: chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity. *Phytotherapy Research*, **26(9)**, 1352-1357.
- Cabral C, Poc J, Goncalves MJ, Cavaleiro C, Cruz MT, Salgueiro L. (2015)** *Ridolfia segetum* (L.) Moris (Apiaceae) from Portugal: A source of safe antioxidant and anti-inflammatory essential oil. *Industrial Crops and Products*, **65**, 56-61.
- Caldefie-Chézet F, Guerry M, Chalchat JC, Fusillier C, Vasson MP, Guillot J. (2004)** Anti-inflammatory effects of *Malaleuca alternifolia* essential oil on human polymorphonuclear neutrophils and monocytes. *Free Radical Research*, **38**, 805-811.
- Caldefie-Chézet F, Fusillier C, Jarde T, Laroye H, Damez M, Vasson MP. (2006)** Potential anti-inflammatory effects of *Malaleuca alternifolia* essential oil on human peripheral blood leukocytes. *Phytotherapy Research*, **20**, 364-370.
- Candan F, Unlu M, Tepe B, Daferera D, Polissiou M, Sokmen A, Akpulat HA. (2003)** Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, **87**, 215-220.
- Carrée P. (1953)** Précis de technologie et de chimie industrielle. Ed. Ballière J. B. et fils, Tome II.

- Carson CF, Riley TV. (1995)** Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*, **78**, 264-269.
- Carson CF, Hammer KA. (2011)** Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. In Thormar H. Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents. United Kingdom, *John Wiley & Sons LTD*, 338.
- Cassel E, Vargas RMF, Martinez N, Lorenzo D, Dellacass E. (2009)** Steam distillation modeling for essential oil extraction process. *Industrial Crops and Products*, **29**, 171-176.
- Cavalli JF, Tomi F, Bernardini AF, Casanova J. (2004a)** Combined analysis of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* by GC, GC-MS and ¹³C-NMR: quantitative determination of ascaridole, a heat-sensitive compound. *Phytochemical Analysis*, **15**, 275-279.
- Cavalli JF, Tomi F, Bernardini A-F, Casanova J. (2004b)** Dihydroagarofurans: the fourth isomer isolated from *Cedrelopsis grevei* bark oil. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **42**, 709-711.
- Cermelli C, Fabio A, Fabio G, Quaglio P. (2008)** Effect of *Eucalyptus* essential oil on respiratory bacteria and viruses. *Current Microbiology*, **56(1)**, 89-92.
- Chamblee TS, Karelitz RL, Radford T, Clark BC. (1997)** Identification of sesquiterpenes in *Citrus* essential oil by cryofocusing GC/FT-IR. *Journal of Essential Oil Research*, **9**, 127-132.
- Chami N, Chami F, Bennis S, Trouillas J, Remmal A. (2004)** Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, **8**, 217-226.
- Chanotiya CS, Sammal SS, Mathela CS. (2005)** Composition of a new chemotype of *Tanacetum nubigenum*. *Indian Journal of Chemistry*, **44B**, 1922-1926.
- Chavéron H. (1999)** Introduction to nutritional toxicology. Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 98.
- Chemat F. (2009)** Essential oils and aromas: Green extractions and Applications. HKB Publishers, Dehradun, 311.
- Chen F, Sun Y, Zhao G, Liao X, Hu X, Wu J, Wang Z. (2007)** Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography mass-spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry* **14**, 767-778.
- Cherchi G, Deidda D, De Gioannis B, Marongiu B, Pompei R, Porcedda S. (2001)** Extraction of *Santolina insularis* essential oil by supercritical carbon dioxide: influence of some process parameters and biological activity. *Flavour and Fragrance Journal*, **16(1)**, 35-43.
- Cheriti A, Belboukhari N, Sekkoum K, Hacini S. (2006)** Plants of algerian semi-arid regions used for the treatment of gastro-intestinal disorders. *Journal algérien des régions arides*. N° 05.
- Chibani S, Labeled A, Kabouche A, Semra Z, Smati F, Aburjai T, Kabouche Z. (2013)** Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Santolina rosmarinifolia* L. (Asteraceae) from Algeria. *Der Pharmacia Lettre*, **5**, 238-241.

- Chikhouné A, Pavleca JD, Shashkov M, Berroua Z, Chebbi K, Bougherra H, Zeroual B, Aliane K, Gagaoua M, Boudjellal A, Vovk I, Križman M. (2016)** Antioxidant Effect Induced by the Essential Oil of *Pituranthos scoparius* in a Formulation of a Whey Spread Emulsion. *Journal of Food Process Engineering*, 1-12.
- Claridge TDW. (1999)** High-Resolution NMR techniques in organic chemistry. Tetrahedron organic chemistry. Elsevier, Oxford, 19, 382.
- Clarke S. (2009)** Essential Chemistry for Aromatherapy. 2nd Edition, Churchill Livingstone, London, 320.
- Clevenger JF. (1928)** Apparatus for the determination of volatile oil. *American Pharmaceutical Association*. *17*, 345-349.
- Cohen Y, Jacquot C. (2008)** Pharmacologie. 6^{ème} édition, Elsevier, Masson, France, 512.
- Coleman WM, Gordon BM, Lawrence BM. (1989)** Examinations of the matrix isolation Fourier transform infrared spectra of organic compounds: part XII. *Journal of Applied Spectroscopy*, *43*, 298-304.
- Coleman WM, Lawrence BM. (1997)** A comparison of selected analytical approaches to the analysis of an essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, *12*, 1-8.
- Corcoran O, Spraul M. (2003)** LC–NMR–MS in drug discovery. *Drug Discovery Today*, *8*, 624-631.
- Corticchiato M, Casanova J. (1992)** Analyse des mélanges complexes par RMN du Carbone-13 : application aux huiles essentielles. *Analysis*, *20*, 51-58.
- Corticchiato M, Tomi F, Bernardini A-F, Casanova J. (1998)** Composition and intraspecific variability of essential oil from *Thymus herba-barona* Lois. *Biochemical Systematics and Ecology*, *26*, 915- 932.
- Coste H. (1937)** Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes. Tome 2. Librairie des Sciences et des Arts, Paris, 349.
- Couic-Marinier F, Lobstein A. (2013)** Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques, Elsevier, Masson, n° 525, 22-25.
- Cowan MM. (1999)** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, *12(4)*, 564-582.
- Cox SD, Mann CM, Markham JL, Bell HC, Gustafson JE, Warmington JR, Wyllie SG. (2000)** The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, *88*, 170-175.
- Cox SD, Mann CM, Markham JL (2001)** Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Microbiology*, *91*, 492-499.
- Cremin P, Donnelly DMX, Wolfender JL, Hostettmann K. (1995)** Liquid Chromatographic-Thermospray Mass Spectrometric Analysis of Sesquiterpenes of *Armillaria* (Eumycota: Basidiomycotina) species. *Journal of Chromatography A*, *710*, 273-285.

- Cutillas AB, Carrasco A, Martinez-Gutierrez R, Tomas V, Tudela J. (2018)** *Thymus mastichina* L. essential oils from Murcia (Spain): Composition and antioxidant, antienzymatic and antimicrobial bioactivities. *PLoS One*, **13**(1), e0190790.
- Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. (2000)** GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **48**, 2576-2581.
- Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG. (2003)** The effectiveness of plant essential oil on the growth of *Botrytis cinera*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis*. *Crop protection*, **22**, 39-44.
- Dahia M, Siracusa L, Laouer H, Ruberto G. (2009)** Constituents of the Polar Extracts from Algerian *Pituranthos scoparius*. *Natural Product Communications*, **4**, 1691-1692.
- Dalton DA. (1995)** Antioxidant defenses of plants and fungi. In: Ahmad S (ed) *Oxidative stress and antioxidant defenses in Biology*. Chapman and Hall, New York, 298-355.
- De Billerbeck VG, Roques C, Vaniere P, Marquier P. (2002)** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huile essentielle. *Hygiène* (Revue officielle de la société française d'hygiène hospitalière), **10**, 248-251.
- Deans SG, Ritchie G. (1987)** Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, **5**, 165-180.
- Delort E, Jaquier A. (2009)** Novel terpenyl esters from Australian finger lime (*Citrus australasica*) peel extract. *Flavour and Fragrance Journal*, **24**, 123-132.
- Demirci B, Ozek T, Baser KHC. (2000)** Chemical Composition of *Santolina chamaecyparissus* L. Essential Oil. *Journal of Essential Oil Research*, **12**, 625-627.
- Deng Q, Zinoviadou KG, Galanakis CM, Orlie V, Grimi N, Vorobiev E, Lebovka N, Barba FJ. (2014)** The effects of conventional and non-conventional processing on glucosinolates and its derived forms, isothiocyanates: Extraction, degradation, and applications. *Food Engineering Reviews*, **7**, 357-381.
- Derbesy M, Touche J, Zola A. (1989)** The Essential Oil of *Santolina chamaecyparissus* L. *Journal of Essential Oil Research*, **1**, 269-275.
- De-Reynal B, Multon JL. (2009)** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. 4ème édition, Tec & Doc Lavoisier, Paris, 698.
- Derome AE. (1987)** *Modern NMR techniques for chemistry research*. Pergamon Press: Oxford, 250.
- Derouiche K, Zellagui A, Gherraf N, Bousetla A, Dehimat L, Rhouati S. (2013)** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Santolina africana* flowers, endemic in Algeria. *Journal of BioScience and Biotechnology*, **2**(3), 201-206.
- Di Pasqua R, Hoskins N, Betts G, Mauriello G. (2006)** Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene,

cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 2745-2749.

Didi OEHM, Hadj-Mahammed M, Zabeirou H. (2003) Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla (Sahara septentrional est). *Courrier du savoir* – n°03, 47-51.

Djeddi S, Djebile K, Hadjbourega G, Achour Z, Argyropoulou C, Skaltsa H. (2012) *In vitro* Antimicrobial Properties and Chemical Composition of *Santolina chamaecyparissus* Essential Oil from Algeria. *Natural Product Communications*, **7(7)**, 937-940.

Dobignard A, Chatelain C. (2011) Index synonymique de la flore d'Afrique du nord. Dicotyledoneae: Acanthaceae – Asteraceae. Editions des conservatoires et jardins botaniques, Genève, Vol. 2, 111.

Domadia P, Swarup S, Bhunia A, Sivaraman J, Dasgupta D. (2007) Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde. *Biochemical Pharmacology*, **74**, 831-840.

Dordevic S, Petrovic S, Dobric S, Milenkovic M, Vucicevic, Zizic S, Kukic J. (2007) Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*, **109**, 458-463.

Dorman HJD, Deans SG. (2000) Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, **88**, 308-316.

Dorman HJD, Hiltunen R. (2004) Fe (III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions. *Food Chemistry*, **88**, 193-199.

Doyle MP. (2006) Antimicrobial resistance: implications for the food system. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **5**, 71-137.

Drazen JM, Dahlen SE, Lee TH. (1996) Five Lipoxygenase Products in Asthma. *CRC Press*, New York, 27.

Dugo P, Mondello L, Dugo L, Stancanelli R, Dugo G. (2000) LC-MS for the identification of oxygen heterocyclic compounds in *Citrus* essential oils. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **24**, 147-54.

Edris AE. (2007) Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents. *Phytotherapy Research*, **21**, 308-323.

El Ghazali GB, El Tohami MS, El Egami AB, Abdella WS, Mohammed MG. (1997) Medicinal plants of the Sudan. Part IV. Medicinal plants of Northern Kordofan. Khartoum: *Medicinal and Aromatic Plants Research Institute*, 77.

El Oualidi J, Khamar H, Fennane M, Ibn Tattou M, Chauvet S, Sghir Taleb M. (2012) Checklist des endémiques et spécimens types de la flore vasculaire de l'Afrique du Nord. Document de l'Institut Scientifique, n° 25.

El Rhaffari L, Zaid A. (2002) Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet) : un savoir empirique pour une pharmacopée renouvelée. Congrès Européen d'Ethnopharmacologie, Metz, 4, 293-318.

- El-Ghorab AH, Shaaban HA, El-massry KF, Shibamoto T. (2008)** Chemical composition of volatile extract and biological activities of volatile and less-volatile extracts of juniper berry (*Juniperus drupacea* L.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 5021-5025.
- Elizaquível P, Azizkhani M, Aznar R, Sánchez G. (2013)** The effect of essential oils on norovirus surrogates. *Food Control*, **32(1)**, 275-278.
- Eshwarappa RSB, Ramachandra YL, Subaramaihha SR, Subbaiah SGP, Austin RS, Dhananjaya BL. (2016)** Anti-Lipoxygenase activity of leaf gall extracts of *Terminalia chebula* (Gaertn.) Retz. (Combretaceae). *Pharmacognosy Research*, **8(1)**, 78-82.
- Fdil R, Lmachraa I, Fdil N, Ezoubeiri A, Gadhi CA. (2011)** Huile essentielle des parties aériennes de *Santolina africana*. *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, **150(1-4)**, 47-60.
- Fennane M, Ibn Tattou M, El Oualidi J. (2014)** Flore pratique du Maroc. Institut scientifique de Rabat, Volume 3, n° 40, Maroc, 794 .
- Fernandez X, Chemat F. (2012)** La chimie des huiles essentielles. Tradition et innovation, Vuibert, Paris, 288.
- Ferreira MJP, Costantin MB, Sartorelli P, Rodrigues GV, Limberger R, Henriques AT, Kato MJ, Emerenciano VP. (2001)** Computer-Aided method for identification of components in essential oils by ¹³C NMR spectroscopy. *Analytica Chimica Acta*, **447**, 125-134.
- Ferreira P, Cardoso T, Ferreira F, Fernandes-Ferreira M, Piper P, Sousa MJ. (2014)** *Mentha piperita* essential oil induces apoptosis in yeast associated with both cytosolic and mitochondrial ROS-mediated damage. *FEMS Yeast Research*, **14**, 1006-1014.
- Filipowicz N, Kamiński M, Kurlenda J, Asztemborska M, Ochocka JR. (2003)** Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. *Phytotherapy Research*, **17**, 227-231.
- Filippi JJ, Belhassen E, Baldovini N, Brevard H, Meierhenrich UJ. (2013)** Qualitative and quantitative analysis of Vetiver essential oils by comprehensive two-dimensional gas chromatography and comprehensive two-dimensional gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1288**, 127-148.
- Formáček V, Kubeczka KH. (1982)** ¹³C NMR analysis of essential oils in aromatic plants: basic and applied aspects. *Margaris N, Koedam A, Vokou D. Edition Martinus Nijhoff*, La Haye, 177-181.
- Foti MC. (2007)** Antioxidant properties of phenols. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **59**, 1673-1685.
- Fu YJ, Zu YG, Chen LY, Shi XG, Wang Z, Sun S, Efferth T. (2007)** Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. *Phytotherapy Research*, **21**, 989-994.
- Gao Y, Jin YJ, Li HD, Chen HJ. (2005)** Volatile organic compounds and their roles in bacteriostasis in five conifer species. *Journal of Integrative Plant Biology*, **47**, 499-507.

- García-Lafuente A, Guillamón E, Villares A, Rostagno MA, Martínez JA. (2009)** Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflammation Research*, **58(9)**, 537-552.
- Garcia-Plazaola JI, Becerril JM. (1999)** A rapid HPLC method to measure lipophilic antioxidants in stressed plants: simultaneous determination of carotenoids and tocopherols. *Phytochemical Analysis*, **10**, 307-313.
- Garg SN, Gupta D, Mehta VK, Kumar S. (2001)** Volatile Constituents of the Essential Oil of *Sanfolina chamaecyparissus* Linn. from the Southern Hills of India. *Journal of Essential Oil Research*, **13**, 234-235.
- Gaudy C, Buxeraud J. (2005)** Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Elsevier Masson, France, 269.
- Gautam R, Jachak SM. (2009)** Recent developments in anti-inflammatory natural products. *Medicinal Research Reviews*, **29(5)**, 767-820.
- Gazi MR, Kanda K, Yasuda M, Kato F. (2004)** Optimisation of cultural conditions and some properties of radical scavenging substances from *Sporobolomyces salmonicolor*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **7**, 1365-1370.
- Gbenyedji KBJN, Nyamador WS, Kasseney BD, Nebie CHR, Ketoh KG, Anani KKE, Glitho AI. (2014)** The use of two new formulations of *Ocimum canum* Sims and *Cymbopogon schoenanthus* L. In the control of *Amitermes evuncifer* Silvestri (Termitidae: Termitinae), in Togo. *International Journal of Natural Sciences Research*, **2(10)**, 195-205.
- Gbogbo KA, Batawila K, Anani K, Prince-David M, Gbéassor M, Bouchet P, Akpagana K. (2006)** Activité antifongique des huiles essentielles de *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) et *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. (Poaceae) sur des micromycètes influençant la germination du Maïs et du Niébé. *Acta Botanica Gallica*, **153(1)**, 115-124.
- Gerault G, Mary R. (2009)** Le guide de l'aromathérapie. Albin Michel, France, 381.
- Gill AO, Delaquis P, Russo P, Holley RA. (2002)** Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International Journal of Food Microbiology*, **73**, 83-92.
- Gill AO, Holley RA. (2004)** Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against and of eugenol against *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. *Applied and Environmental Microbiology*, **70**, 5750-5755.
- Gill AO, Holley RA. (2006)** Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *International Journal of Food Microbiology*, **111**, 170-174.
- Giordani R, Regli P, Kaloustian J, Mikail C, Abou L, Portugal H. (2004)** Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytotherapy Research*, **18**, 990-995.
- Gnavi G, Berteau CM, Usai M, Maffei ME. (2010)** Comparative characterization of *Santolina insularis* chemotypes by essential oil composition, 5S-rRNA-NTS sequencing and Eco RV RFLP-PCR. *Phytochemistry*, **71**, 930-936.

- Goetz P, Ghedira K. (2012)** Phytothérapie anti-infectueuse. Edition Springer-Verlage, Paris, France, 382.
- Gonny M, Cavaleiro C, Salgueiro L, Casonova J. (2006)** Analysis of *Juniperus communis* subsp. *alpina* needle, berry, wood and root oils by combination of GC, GC/MS and ¹³C-NMR. *Flavour and Fragrance Journal*, **21**, 99-106.
- Gourine N, Merrad B, Yousfi M, Stocker P, Gaydou EM. (2011)** Chemical Composition of the Essential Oil of *Pituranthos scoparius*. *Natural Product Communications*, 1151-1154.
- Grosso C, Figueiredo AC, Burillo J, Mainar AM, Urieta JS, Barroso JG, Coelho JA, Palavra AMF. (2009)** Supercritical fluid extraction of the volatile oil from *Santolina chamaecyparissus*. *Journal of Separation Science*, **32**, 3215-3222.
- Günther H. (1994)** La spectroscopie de RMN. Principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone-13 en chimie. *Masson*, Paris, 557.
- Gustafson JE, Liew YC, Chew S, Markham J, Bell HC, Wyllie SG, Warmington JR. (1998)** Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Letters in Applied Microbiology*, **26**, 194-198.
- Gutierrez J, Barry-Ryan C, Bourke P. (2008)** The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, **124**, 91-97.
- Haddouchi F, Chaouche TM, Halla N. (2016)** Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, 1-9.
- Hadef D, Saidi M, Yousfi M, Moussaoui Y. (2015)** GC/MS Analysis of Essential Oils of *Cymbopogon schoenanthus* and *Origanum majorana* L. Grown in Eastern Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, **27(10)**, 3575-3578.
- Hadji-Minaglou F, Bolcato O. (2005)** The potential role of specific essential oils in the replacement of dermacorticoid drugs (strong, medium and weak) in the treatment of acute dry or weeping dermatitis. *The International Journal of Aromatherapy*, **15**, 66-73.
- Hala GM, Christ H, Carla K. (2000)** Traditional uses of *Salvia libanotica* (East Mediterranean sage) and the effects of essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, **71(3)**, 513-520.
- Halliwell B. (1999)** How to characterize biological antioxidant. *Free Radical Research Communications*, **9**, 1-32.
- Hamada H, Mohammed B, Massiot G, Long C, Lavaud C. (2004)** Alkylated Isocoumarins from *Pituranthos scoparius*. *Natural Product Research*, **18**, 409-413.
- Hammiche V, Maiza K. (2006)** Traditional Medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology*, **105**, 358-367.
- Hashim GM, Almasaudi SB, Azhar E, Al Jaouni SK, Harakeh S. (2016)** Biological activity of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **24(7)**, 1458-1464.

- Hazzit M, Baaliouamer A, Faleiro L, Miguel G. (2006)** Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **54**, 6314–6321.
- Hellali N, Hadj Mohammed M, Ramdane F, Talli A. (2016)** Antimicrobial and antioxidant activities of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) spreng. essential oil, growing in Illizi – Algeria. *Journal of Medicinal Plants Research*, **10(14)**, 188-194.
- Hesse M, Meier H, Zeeh B. (2008)** Spectroscopic methods in organic chemistry. (2nd Ed.). Thieme, New-York, 453.
- Hunter M. (2009)** Essential Oils: Art, Agriculture, Science, Industry and Entrepreneurship (A Focus on the Asia-Pacific region). Nova Science Publishers, New York, 202.
- Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. (2012)** Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, **3**, 1-24.
- Ibrahim SRM, Mohamed GA, Alshali KZ, Al Haidari RA, El-Kholy AA, Zayed MF. (2017)** Lipoxygenase inhibitors flavonoids from *Cyperus rotundus* aerial parts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **28(3)**, 320-324.
- Inouye S, Abe S. (2007)** Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse. *Phytothérapie*, **1**, 2-4.
- Ioannou E, Poiata A, Hancianu M, Tzakou O. (2007)** Chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of the essential oils of flower heads and leaves of *Santolina rosmarinifolia* L. from Romania. *Natural Product Research*, **21(1)**, 18-23.
- Job A, Buenafe R, Abbas NM. (1998)** Determination of oxygenates in gasoline by FTIR. *Fuel Journal*, **77**, 1861-1864.
- IUCN International Union for Conservation of Nature. (2005)** A Guide to Medicinal Plants in North Africa. Centre for Mediterranean Cooperation, Malaga (Spain), 183.
- Jabrane A, Ben Jannet H, Harzallah-Skhiri F, Mastouri M, Casanova J, Mighri Z. (2009)** Flower and Root Oils of the Tunisian *Daucus carota* L. ssp. *maritimus* (Apiaceae): Integrated Analyses by GC, GC/MS, and ¹³C-NMR Spectroscopy, and *in vitro* Antibacterial Activity. *Chemistry and Biodiversity*, **6**, 881-889.
- Jafri MA, Farah, Javed K, Singh S. (2001)** Evaluation of the gastric antiulcerogenic effect of large cardamom (fruits of *Amomum subulatum* Roxb). *Journal of Ethnopharmacology*, **75**, 89-94.
- Jaset-Dongmo PM, Tatsadjieu NL, Tchinda Sonwa E, Kuate J, Amvam Zollo PH, Menut C. (2008)** Antiradical potential and antifungal activities of essential oils of the leaves of *Eucalyptus saligna* and *E. camaldulensis* against *Phaeoramularia angolensis*. *African Journal of Biotechnology*, **7**, 4045-4050.
- Jennings W, Shibamoto T. (1980)** Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography. 465 Seiten. Academic Press, New York, London, Sydney, Toronto, San Francisco.

- Joulain D. (1994)** Methods for analyzing essential oils. Modern analysis methodologies: use and abuse. *Perfumer & Flavorist*, **19**, 5-17.
- Joulain D, König WA. (1998)** The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons. E.B.-Verlag, Hamburg, 658.
- Julian D, Dorothy D. (2010)** Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **74**, 417-33.
- Juliani HR, Simon JE, Ramboatiana MMR, Behra O, Garvey A, Raskin I. (2004)** Malagasy aromatic plants: Essentials, antioxidant and antimicrobial activities. *Acta Horticulturae*, **629**, 77-81.
- Jung EK. (2009)** Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Chrysanthemum indicum* Against Oral Bacteria. *Journal of Bacteriology and Virology*, **39(2)**, 61-69.
- Kadri M, Salhi N, Yahia A, Amiar K, Ghabzia H. (2017)** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities from extracts of *Cymbopogon schoenanthus* L. (Spreng) of Algeria. *International Journal of Biosciences*, **10(1)**, 318-326.
- Kalemba D, Kunicka A. (2003)** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, **10**, 813-829.
- Karioti A, Vrahimi-Hadjilouca T, Droushiotis D, Rancic A, Hadjipavlou-Litina D, Skaltsa H. (2006)** Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus: Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Medica*, **72**, 1330-1334.
- Kashiwagi T, Nakashima T, Tebayashi SI, Kim CS. (2006)** Determination of the Absolute Configuration of Quercivorol, (1S,4R)-*p*-Menth-2-en-1-ol, an Aggregation Pheromone of the Ambrosia Beetle *Platypus quercivorus* (Coleoptera: Platypodidae). *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **70 (10)**, 2544–2546.
- Katiki LM, Chagas ACS, Bizzo HR, Ferreira JFS, Amarante AFT. (2011)** Anthelmintic activity of *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon schoenanthus* and *Mentha piperita* essential oils evaluated in four different in vitro tests. *Veterinary Parasitology*, **183**, 103-108.
- Katiki LM, Chagas ACS, Takahira RK, Juliani HR, Ferreira JFS, Amarante AFT. (2012)** Evaluation of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil in lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, **186**, 312-318.
- Ketoh GK, Glitho IA, Huignard J. (2002)** Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (F.) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Rond.) Hymenoptera Pteromalidae to three essential oils. *Journal of Economic Entomology*, **95**, 174-182.
- Ketoh GK, Koumaglo HK, Glitho IA. (2005)** Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research*, **41**, 363-371.

- Ketoh GK, Koumaglo HK, Glitho IA, Huignard J. (2006)** Comparative effects of *Cymbopogon schoenanthus* essential oil and piperitone on *Callosobruchus maculatus* development. *Fitoterapia*, **77**, 506-510.
- Khadri A, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Neffati M, Smiti S, Araújo MEM. (2008)** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. Determination of chemical composition by GC–mass spectrometry and ¹³C NMR. *Food Chemistry*, **109(3)**, 630-637.
- Khadri A, Neffati M, Smiti S, Falé P, Lino ARL, Serralheiro MLM, Araújo MEM. (2010)** Antioxidant, antiacetylcholinesterase and antimicrobial activities of *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng (lemon grass) from Tunisia. *LWT - Food Science and Technology*, **43(2)**, 331-336.
- Khajeh M, Yamini Y, Bahramifar N, Sefidkon F, Pirmoradei MR. (2005).** Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, **91**, 639-644.
- Khan MS, Ahmad I. (2011)** Antifungal activity of essential oils and their synergy with fluconazole against drug-resistant strains of *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **90(3)**, 1083-1094.
- Khubeiz MJ, Mansour G. (2016)** *In Vitro* Antifungal, Antimicrobial Properties and Chemical Composition of *Santolina chamaecyparissus* Essential Oil in Syria. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, **8(5)**, 372-378.
- Koba K, Sanda K, Raynaud C, Nenonene YA, Millet J, Chaumont JP. (2004)** Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. Africains vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie. *Annales de Médecine Vétérinaire*, **148**, 202-206.
- Koba K, Poutouli PW, Nenonene YA, Songai MS, Raynaud C, Sanda K. (2007)** Chemical composition and anti-termite activity of three tropical essential oils against Termite species *Trinervitermes geminatus* (Wasmann). *Journal des Sciences et Technologies*, **5**, 39-46.
- Koh KJ, Pearce AL, Marshman G, Finlay-Jones JJ, Hart PH. (2002)** Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *British Journal of Dermatology*, **147**, 1212-1217.
- Kon K, Rai M. (2012)** Plant essential oils and their constituents in coping with multidrug-resistant bacteria. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, **10(7)**, 775-790.
- Konovalov DA. (2014)** Polyacetylene Compounds of Plants of The Asteraceae Family (Review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*, **48(9)**, 36-53.
- Koubaa M, Barba FJ, Mhemdi H, Grimi N, Koubaa W, Vorobiev E. (2015)** Gas Assisted Mechanical Expression (GAME) as a promising technology for oil and phenolic compound recovery from tiger nuts. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **32**, 172-180.
- Koubaa M, Mhemdi H, Barba FJ, Roohinejad S, Greiner R, Vorobiev E. (2016)** Oil seed treatment by ultrasounds and microwaves to improve oil yield and quality: An overview. *Food Research International*, **85**, 59-66.

- Kováts E. (1965)** Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography*, **1**, 229-247.
- Kpoviessi S, Bero J, Agbani P, Gbaguidi F, Kpadonou-Kpoviessi B, Sinsin B, Accrombessi G, Frédéric M, Moudachirou M, Quetin-Leclercq J. (2014)** Chemical composition, cytotoxicity and in vitro antitrypanosomal and antiplasmodial activity of the essential oils of four *Cymbopogon* species from Benin. *J Ethnopharmacol*, **151(1)**, 652-659.
- Ksouri A, Dob T, Belkebir A, Dahmane D, Nouasri A. (2017)** Volatile Compounds and Biological Activities of Aerial Parts of *Pituranthos scoparius* (COSS. & DURIEU) SCHINZ (Apiaceae) from Hoggar, Southern Algeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, **16**, 51-58.
- Kubeczka KH, Formáček V. (1984)** Application of direct carbone-13 NMR spectroscopy in the analysis of volatiles. Schreier P. Edition, Walter de Gruyter & Co., Berlin, New-York, 219-230.
- Kubeczka KH., Schultze W, Formáček V, Herres W. (1988)** New Developments in Essential Oils Analysis by Fourier-Transform Spectroscopy, 10th International Congress of Essential Oils, *Fragrances and Flavors*, Washington, 16-20 Nov 1986. *Proceedings, Elsevier Science*, 931-950.
- Kumar A, Panghai S, Mallapur SS, Kumar M, Ram V, Singh BK. (2009)** Anti-inflammatory activity of *Piper longum* fruit oil. *Indian Journal of Pharmaceutical Science*, **71(4)**, 454-456.
- Labed F, Masullo M, Cerulli A, Benayache F, Benayache S, Piacente S. (2017)** Chemical Constituents of the Aerial Parts of *Santolina chamaecyparissus* and Evaluation of Their Antioxidant Activity. *Natural Product Communications*, **12(10)**, 1605-1608.
- Lam J, Bildsøe HK, Christensen LP, Thomasen T. (1989)** Chemical constituents of *Santolina chamaecyparissus*. *Acta Chemica Scandinavica*, **43(8)**, 799-802.
- Lambert RJW, Skandamis PN, Coote P, Nychas GJE. (2001)** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, **91**, 453-462.
- Lang G, Buchbauer G. (2012)** A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, **27**, 13-39.
- Lange G, Schultze W. (1988)** Differentiation of isopulegol isomers by chemical ionization mass spectrometry, in Bioflavour 87. Schreier P. Edition Walter de Gruyter & Co., Berlin, New-York, 115-122.
- Lardry JM, Haberkorn V. (2007)** L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie la Revue*, **61**, 14-27.
- Le Floc'h E. (1983)** Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Imprimerie Officielle de la République Tunisienne, Tunisie, 402.
- Legendre P, Legendre L. (1998)** Numerical ecology, Volume 24. *Elsevier Science*, Amsterdam, 1003.

- Leite AM, Lima EO, EL Souza, Diniz MFFM, Trajano VN, Medeiros IA. (2007)** Inhibitory effect of β -pinene, α -pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **43(1)**, 121-126.
- Lemos MF, Lemos MF, Pacheco HP, Endringer DC, Scherer R. (2015)** Seasonality modifies rosemary's composition and biological activity. *Industrial Crops and Products*, **70**, 41-47.
- Lesueur D, Bighelli A, Casanova J, Tran Minh H, Tran Huy T. (2009)** Composition of the essential oil of *Piper bavinum* C. DC. from Vietnam. *Journal of Essential Oil Research*, **21**, 16-18.
- Levy SB, Marshall B. (2004)** Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Journal of Nature Medicine*, **10**, 122-129.
- Li Y, Fabiano-Tixier AS, Chemat F. (2014)** Essential Oils as Reagents in Green Chemistry. 1^{ère} édition, Springer Cham Heidelberg, New York, Dordrecht, London, 71.
- Lin CT, Chen CJ, Lin TY, Tung JC, Wang SY. (2008)** Anti-inflammation activity of fruit essential oil from *Cinnamomum insularimontanum* Hayata. *Bioresource Technology*, **99**, 8783-8787.
- Lindon JC, Nicholson JK, Wilson ID. (2000)** Directly coupled HPLC–NMR and HPLC–NMR–MS in pharmaceutical research and development. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **748**, 233-258.
- Lis-Balchin M, Deans SG. (1997)** Bioactivity of selected plant essential oil against *Listeria monocytogenes*. *Journal of Applied Microbiology*, **82**, 759-762.
- Liu K, Rossi PG, Ferrari B, Berti L, Casanova J, Tomi F. (2007)** Composition, irregular terpenoids, chemical variability and antibacterial activity of the essential oil from *Santolina corsica* Jordan et Fourr. *Phytochemistry*, **68(12)**, 1698-1705.
- Lmachraa I, Fdil R, Fdil N, Mouzdahir A. (2012)** Essential oil of *Santolina africana* (Jord. & Fourr.) of Morocco: Chemical composition and isolation of the two major constituents). *Journal of Materials and Environmental Science*, **5(1)**, 67-72.
- Lmachraa I, Fdil R, Fdil N, Mouzdahir A. (2014)** Huile essentielle de *Santolina africana* (Jord. & Fourr.) du Maroc: Composition chimique et isolement des deux principaux constituants (Essential oil of *Santolina africana* (Jord. & Fourr.) of Morocco: Chemical composition and isolation of the two major constituents). *Journal of Materials and Environmental Science*, **5(1)**, 67-72.
- Lograda T, Messaoud R, Kiram A, Chalard P, Figueredo G. (2013)** Variation of Essential Oils Composition of *Pituranthos scoparius* in Algeria. *Global Journal of Research on Medicinal plants & Indigenous medicine*, **2**, 1-9.
- Loizzo MR, Tundis R, Menichini F, Duthie G. (2015)** Anti-rancidity effect of essential oils, application in the lipid stability of cooked turkey meat patties and potential implications for health. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **66**, 50-57.

- Lucini EI, Zunino MP, Lopez ML, Zygadlo JA. (2006)** Effect of monoterpenes on lipid composition and sclerotial development of *Sclerotium cepivorum*. *Journal of Phytopathology*, **154**, 441-446.
- Mabberley DJ. (1997)** The Plant-Book. A portable dictionary of the vascular plants. Ed. 2, *Cambridge University Press*, Cambridge, New York, Melbourne, 858.
- Manohar V, Ingram C, Gray J, Talpur NA, Echard BW, Bagchi D, Preuss HG. (2001)** Antifungal activities of origanum oil against *Candida albicans*. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **228**, 111-117.
- Mantle D, Anderton JG, Falkous G, Barnes M, Jones P, Perry EK. (1998)** Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, **121**, 385-391.
- Marouf A, Tremblin G. (2009)** Abrégé de biochimie appliqué. EDP Sciences, France, 490.
- Maruyama N, Sekimoto N, Ishibashi H. (2005)** Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *Journal of Inflammation*, **2**, 1-11.
- Maruyama N, Ishibashi H, Hu W, Morofuji S, Yamaguchi H. (2006)** Suppression of carrageenan and collagen induced inflammation in mice by geranium oil. *Mediators of Inflammation* **3**, 1-7.
- Marwat SK, Khan MA, Rehman FU, Bhatti IU. (2009)** Aromatic Plant Species Mentioned in the Holy Qura'n and Ahadith and Their Ethnomedicinal Importance. *Pakistan Journal of Nutrition*, **8(9)**, 1472-1479.
- Masada Y. (1976)** Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry. John Wiley & sons, New York.
- Masango P. (2005)** Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, **13**, 833-839.
- Mazzoni V, Tomi F, Casanova J. (1999)** A daucane type sesquiterpene from *Daucus carota* seed oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **14(5)**, 268-272.
- Mc Lafferty FW, Stauffer DB. (1994)** Wiley Registry of Mass Spectral Data (6th Ed.), Mass spectrometry library search system BenchTop/PBM, version 3.10 d. Palisade Co: Newfield.
- Mecherara-Idjeri S, Hassani A, Castola V, Casanova J. (2008a)** Composition and chemical variability of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Algeria Part I: Leaf oil. *Journal of Essential Oil Research*, **20**, 32-38.
- Mecherara-Idjeri S, Hassani A, Castola V, Casanova J. (2008b)** Composition and chemical variability of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Algeria Part II: fruit oil. *Journal of Essential Oil Research*, **20**, 104-107.
- Mendes N, Araujo N, Souza DC. (1990)** Molluscicidal and carcaricidal activity of different species of *Eucalyptus*. *Revista Societe Brasilia Medicinale Tropicale*, **23(4)**, 197-199.

- Menut C, Bessière JM, Samaté D, Djlbo AK, Buchbauer GSB. (2000).** Aromatic Plants of Tropical West Africa. XI. Chemical Composition, Antioxidant and Antiradical Properties of the Essential Oils of Three *Cymbopogon* Species from Burkina Faso. *Journal of Essential Oil Research*, **12**, 207-212.
- Meyer-Warnod B. (1984)** Natural essential oils: Extraction processes and application to some major oils. *Perfumer and Flavorist*, **9**, 93-104.
- Miguel MG. (2010)** Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils. *Molecules*, **15**, 9252-9287.
- Milner JÂ. (2001)** A historical perspective on garlic and cancer: Recent advances on the nutritional effects associated with the use of garlic as a supplement. *Journal of Nutrition*, **131**, 1027- 1031.
- Milner JÂ. (2006)** Preclinical perspectives on garlic and cancer: Significance of garlic and its constituents in cancer and cardiovascular disease. *Journal of Nutrition*, **136**, 827-831.
- Mondello L, Dugo P, Bartle KD. (1995)** Automated HPLC-HRGC: A Powerful Method for Essential Oil Analysis. Part V. Identification of Terpenes Hydrocarbons of Bergamot, Lemon, Mandarin, Sweet Orange, Bitter Orange, Grapefruit, Clementine and Mexican Lime Oils by Coupled HPLC-HRGC-MS (ITD). *Flavour and Fragrance Journal*, **1**, 33-42.
- Mourey A, Canillac N. (2002)** Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. *Food Control*, **13**, 289-292.
- Mroczek T, Ndjoko K, Glowniak K, Hostettmann K. (2004)** On-line structure characterization of pyrrolizidine alkaloids in *Onosma stellulatum* and *Emilia coccinea* by liquid chromatography–iontrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1056**, 91-97.
- Munari F, Dugo G, Cotroneo A. (1990)** Automated On-line HPLC-HRGC with Gradient Elution and Multiple GC Transfer Applied to the Characterization of *Citrus* Essential Oils. *Journal of High Resolution Chromatography*, **13**, 56-61.
- Muylaert A, Mainil JG. (2012)** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annales de Médecine Vétérinaire*, **156**, 109-123.
- Myszka K, Schmidt MT, Majcher M. (2016)** Inhibition of quorum sensing-related biofilm of *Pseudomonas fluorescens* KM121 by *Thymus vulgare* essential oil and its major bioactive compounds. *International Biodeterioration and Biodegradation*, **114**, 252-259.
- N’Guyen TT, Duong T T, Bighelli A, Castola V, Muselli A, Richomme P, Casanova J. (2004)** *Baekkea frutescens* leaf oil from Vietnam : composition and chemical variability. *Flavour and Fragrance Journal*, **19**, 217-220.
- Nam AM. (2014)** Contribution de la RMN ¹³C à l’analyse des huiles végétales, huiles essentielles et résines (*Olea europaea*, *Pinus halepensis* et *Cedrus atlantica*). Thèse de Doctorat, Université de Corse Pascal-Paoli, France, 187.
- NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (2001)** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement. NCCLS document M100- S11. USA: Villanova, **21(1)**.

- Nelson R. (1997)** *In vitro* activities of five plant essential oils against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **40**(2), 305-306.
- Neuhaus D, Williamson MP. (1989)** The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis. *Journal für Praktische Chemie*, **332**(5), 658.
- Newman DJ, Cragg GM, Snader KM. (2003)** Natural products as sources of new drugs over the period. *Journal of Natural Products*, **66**, 1022-1037.
- Nickavar B, Alinaghi A, Kamalinejad M. (2008)** Evaluation of the Antioxidant Properties of Five *Mentha* Species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **7**(3), 203-209.
- Nouasri A, Dob T, Krimats S, Dahmane D, Toumi M, Lynda L, Chelgoume C, Racheme F. (2015)** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Santolina chamaecyparissus* L. of Algeria. *Journal of Coastal Life Medicine*, **3**(3), 220-227.
- Núñez CV, Roque NF. (1999)** Sesquiterpenes from the stem bark of *Guarea guidonia* (L.) sleumer (Meliaceae). *Journal of Essential Oil Research*, **11**, 439-440.
- Oberprieler C. (2002)** A phylogenetic analysis of *Chamaemelum* Mill. (Compositae: Anthemideae) and related genera based upon nrDNA ITS and cpDNA trnL/trnF IGS sequence variation. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **138**, 255-273.
- Olufunke DM, Oladosu IA, Adeleke O, Ali MS. (2009)** Chemical composition and anti-inflammatory activity of the essential oil of the aerial part of *Mezoneuron benthamianum* Baill. (Caesalpinoideae). *European Journal of Applied Science*, **1**(3), 30-33.
- Omidbeygi M, Barzegar M, Hamidi Z, Naghdibadi H. (2007)** Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus xavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, **18**, 1518-1523.
- Onadja Y, Ouedraogo A, Samate AD. (2007)** Chemical Composition and Physical Characteristics of the Essential Oil of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. *Journal of Applied Sciences*, **7**(4), 503-506.
- Ottavioli J, Bighelli A, Casanova J. (2008)** Diterpene-rich needle oil of *Pinus pinaster* Ait. from Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, **23**, 121-125.
- Ouattara B, Simard RE, Holley RA, Piette GJ, Bégin A. (1997)** Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, **37**(2-3), 155-162.
- Ouattara ZA, Boti JB, Ahibo AC, Casanova J, Tomi F, Bighelli A. (2013)** Analysis of *Cleistopholis patens* leaf and trunk bark oils using combined GC- Flame ionisation detection, GC-Retention Index, GC-MS and ¹³C-NMR. *Phytochemical Analysis*, **24**, 574-580.
- Ouraini D, Agoumil A, Ismaili-Alaoui M, Alaoui K, Cherrah Y, Amrani M, Bellabas MA. (2005)** Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, **4**, 147-157.

- Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. (2007)** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, **18**, 414-420.
- Oussou KR, Kanko C, Guessend N, Yolou S, Koukoua G, Dosso M, N'guessan YT, Figueredo G, Chalchat JC. (2004)** Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte d'Ivoire. *Comptes Rendus de Chimie*, **7(10)**, 1081-1086.
- Oussou KR. (2009)** Etude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Thèse de doctorat en Biologie humaine tropicale, Université de Cocody-Abidjan, 116.
- Ovadia M, Kalily I, Berstein E. (2009)** Cinnamon Fraction Neutralizes Avian Influenza H5N1 Both In Vitro and In Vivo. *Antiviral Research*, **82(2)**, A35.
- Özek G, Demirci F, Özek T, Tabanca N, Wedge DE, Khan SI, Başer KHC, Duran A, Hamzaoglu E. (2010)** Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of volatiles obtained by four different techniques from *Salvia rosifolia* Sm., and evaluation for biological activity. *Journal of Chromatography A*, **1217**, 741-748.
- Ozenda P. (1991)** Flore et végétation du Sahara. 3^{ème} édition, CNRS, Paris, 662.
- Palá-Paúl J, Pérez-Alonso MJ, Velasco-Negueruela A, Palá-Paúl R, Sanz J, Conejero F. (2001)** Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp *Rosmarinifolia*. *Biochem. Syst. Ecol*, **29**, 663-672.
- Panizzi L, Flamini G, Cioni PL, Morelli I. (1993)** Composition and antimicrobial activity of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, **39(3)**, 167-170.
- Paolini J, Costa J, Bernardini AF. (2005)** Analysis of the essential oil from aerial parts of *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* (L.) by gas chromatography with electron impact and chemical ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1076**, 170-178.
- Pavlov A, Kovatcheva P, Georgiev V, Koleva I, Ilieva M. (2002)** Biosynthesis and radical scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta vulgaris*) hairy root cultures. *Zeitschrift für Naturforschung*, **57**, 640-644.
- Pavlović I, Omar E, Drobac M, Radenković M, Branković S, Kovačević N. (2016)** Chemical composition and spasmolytic activity of *Cymbopogon schoenanthus* (L.) Spreng. (Poaceae) essential oil from Sudan. *Industrial Crops and Products*, **91**, 249-254.
- Perricone M, Arace E, Corbo MR, Sinigaglia M, Bevilacqua A. (2015)** Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in Microbiology*, **6**, 1-7.
- Pfaller MA, Messer SA, Karlsson Å, Bolmström A. (1998)** Evaluation of the Etest method for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by using three different agar media. *Journal of Clinical Microbiology*, **36(9)**, 2586-2589.

- Pibiri MC. (2005)** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat en Sciences. École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse, 159.
- Pincemail J, Bonjean K, Cayeux K, Defraigne JO. (2002)** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, **16**, 233-239.
- Pintore G, Usai M, Bradesi P, Juliano C, Boatto G, Tomi F, Chessa M, Cerri R, Casanova J. (2002)** Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, **17**, 15-19.
- Politeo O, Jukic M, Milos M. (2006)** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils of twelve spice plants. *Croatica Chemica Acta*, **79(4)**, 545-552.
- Prabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. (2006)** *In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **6**, 39.
- Preedy VR. (2016)** Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Elsevier, Academic Press, London, 28-32.
- Prigge ST, Boyington JC, Gaffney BJ, Amzel LM. (1996)** Structure conservation in lipoxygenases: structural analysis of soybean lipoxygenase-1 and modeling of human lipoxygenases. *Proteins*, **24(3)**, 275-291.
- Qadir M, Shah WA. (2014)** GC-MS analysis, antibacterial, antioxidant and anticancer activity of essential oil of *Pinus roxburghii* from Kashmir, India. *International Journal Research Pharmacy Chemistry*, **4**, 228-232.
- Quézel P, Santa S. (1962)** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edition CNRS, Tome I, Paris, 1170.
- Quézel P, Santa S. (1963)** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edition CNRS, Tome II, Paris, 1169.
- Reichling J, Schnitzler P, Suschke U, Saller R. (2009)** Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties - an Overview. *Forschende Komplementarmedizin*, **16**, 79-90.
- Reichling J. (2010)** Antiviral effects of essential oils used traditionally in aromatherapy. *International Journal of Clinical Aromatherapy*, **7(1)**, 29-35.
- Reuter S, Gupta SC, Chaturvedi MM, Aggarwal BB. (2010)** Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free Radical Biology & Medicine*, **49**, 1603-1616.
- Rezzi S, Bighelli A, Castola V, Casanova J. (2002)** Direct identification and quantitative determination of acidic and neutral diterpenes using ¹³C-NMR spectroscopy: Application to the analysis of oleoresin of *Pinus nigra*. *Applied Spectroscopy*, **56**, 312-17.
- Rhind JP. (2015)** Aromatherapeutic Blending Essential Oils in Synergy. *Singing Dragon*, London, United Kingdom, 80.

- Ríos JL, Recio MC. (2005)** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **100**, 80-84.
- Roberto D, Micucci P, Sebastian T, Graciela F, Anesini C. (2009)** Antioxidant Activity of Limonene on Normal Murine Lymphocytes: Relation to H₂O₂ Modulation and Cell Proliferation. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, **106**, 38-44.
- Rojas J, Buitrago A. (2015)** Essential oils and their products as antimicrobial agents: Progress and prospects. In: Duarte, M.C.T., Rai, M. (eds.), Therapeutic Medicinal Plants. Boca Raton, FL, CRC Press, 253-278.
- Roselló-Soto E, Galanakis CM, Brnčić M, Orlie V, Trujillo FJ, Mawson R, Knoerzer K, Tiwari BK, Barba FJ. (2015)** Clean recovery of antioxidant compounds from plant foods, by products and algae assisted by ultrasounds processing. Modeling approaches to optimize processing conditions. *Trends in Food Science and Technology*, **42**, 134-149.
- Rossi PG, Bao L, Luciani A, Panighi J, Desjobert JM, Costa J, Casanova J, Bolla JM, Berti L. (2007)** (*E*)-Methylisoeugenol and Elemicin: Antibacterial Components of *Daucus carota* L. Essential Oil against *Campylobacter jejuni*. *J. Agric. Food Chem*, **55**, 7332-7336.
- Rossi, PG, Panighi J, Luciani A, Rocca-Serra, D, Maury J, Gonny M, Muselli A, Bolla JM, Berti L. (2007)** Antibacterial action of essential oils from Corsica. *Journal of Essential Oil Research*, **19**, 176-182.
- Rouessac F, Rouessac A, Cruché D. (2004)** Analyse Chimique -Méthodes et techniques instrumentales modernes. 6^{ème} édition, Dunod, Paris, 462.
- Ruiz-Navajas Y, Viuda-Martos M, Perez-Alvarez JA, Sendra E, Fernández-López J. (2012)** Chemical characterization and antibacterial activity of two aromatic herbs (*Santolina chamaecyparissus* and *Sideritis angustifolia*) widely used in the folk medicine. *Journal of Food Safety*, **32**, 426-434.
- Russell AD, Chopra I. (1996)** Understanding antibacterial action and resistance. 2nd edition, Ellis Horwood, London.
- Saad NY, Muller CD, Lobstein A. (2013)** Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, **28**, 269-279.
- Sabry A, El-Zayat SA, El-Said AHM, Abdel-Motaal FF, Magraby TA. (2014)** Mycoflora associated with Halfa-bar leaves and stems (*Cymbopogon schoenanthus* L. Sprengel), *in vitro* the antimicrobial activity of the plant leaves and stems secondary metabolites. *International Journal Current Microbiology and Applied Sciences*, **3(2)**, 874-882.
- Sadlon A, Lamson D. (2010)** Immune-modifying and antimicrobial effects of *Eucalyptus* oil and simple inhalation devices. *Alternative Medicine Review*, **15(1)**, 33-47.
- Sahki A, Sahki BR. (2004)** Le Hoggar : Promenade botanique. Édition Ésope, Lyon, France, 830.
- Salah-Fatnassi KBH, Hassayoun F, Cheraif I, Khan S, Jannet HB, Hammami M, Aouni M, Harzallah-Skhiri F. (2017)** Chemical composition, antibacterial and antifungal activities

of flowerhead and root essential oils of *Santolina chamaecyparissus* L., growing wild in Tunisia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24, 875-882.

Saleh MA, Clark S, Woodard B, Deolu-Sobogun SA. (2010) Antioxidant and free radical scavenging activities of essential oils. *Ethnicity and Disease*, 20(S1), 78-82.

Salgueiro L, Vila R, Tomas X, Tomi F, Cañigüeral S, Casanova J, Proença da Cunha A, Adzet T. (1995) Chemical polymorphism of the essential oil of *Thymus carnosus* from Portugal. *Phytochemistry*, 38, 391-396.

Salgueiro LR, Vila R, Tomi F, Figueiredo AC, Barroso JG, Cañigüeral S, Casanova J, Proença da Cunha A, Adzet T. (1997a) Variability of the essential oil of *Thymus caespititius* from Portugal. *Phytochemistry*, 45, 307-311.

Salgueiro LR, Vila R, Tomi F, Tomas X, Cañigüeral S, Casanova J, Proença da Cunha A, Adzet T. (1997b) Composition and intraspecific variability of the essential oil of *Thymus camphorates*. *Phytochemistry*, 45, 1177-1183.

Sandra P, Bicchi C. (1987) Chromatographic methods-Capillary gas chromatography in essential oil analysis. Huethig, Heidelberg, Verlag, New York.

Santoyo S, Cavero S, Jaime L, Ibañez E, Señoráns FJ, Reglero G. (2005) Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection*, 68(4), 790-795.

Sanz JF, Falcó E, Marco JA. (1990) New Actylenes from *Chrysanthemum coronarium* L., *Liebigs Annalen Der Chemie*, 303-305.

Šarac Z, Matejić JS, Stojanović-Radić ZZ, Veselinović JB, Džamić AM, Bojović S, Marin PD. (2014) Biological activity of *Pinus nigra* terpenes-Evaluation of FtsZ inhibition by selected compounds as contribution to their antimicrobial activity. *Computers in Biology and Medicine*, 54, 72-78.

Schnitzler P, Schön K, Reichling J. (2001) Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. *Pharmazie*, 56(4), 343-347.

Schnitzler P, Schuhmacher A, Astani A, Reichling J. (2008) *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. *Phytomedicine*, 15(9), 734-740.

Schultze W, Lange G, Schmaus G. (1992) Isobutane and ammoniac chemical ionization mass spectrometry of sesquiterpene hydrocarbons. *Flavour and Fragrance Journal*, 7, 55-64.

Sell CS. (2006) The Chemistry of Fragrance From Perfumer to Consumer. 2nd edition. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 329.

Sereshti H, Rohanifar A, Bakhtiari S, Samadi S. (2012) Bifunctional ultrasound assisted extraction and determination of *Elettaria cardamomum* Maton essential oil. *Journal of Chromatography A*, 1238, 46-53.

Shahi AK, Tava A. (1993) Essential Oil Composition of Three *Cymbopogon* Species of Indian Thar Desert. *Journal of Essential Oil Research*, 5, 639-643.

- Shama H, Mohamed R, Zakaria H, Badr S, Mohamed GH, Mustapha ELA. (2011)** Évaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha Pulegium* et d'*Eucalyptus camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, **80**, 824-836.
- Sharma N, Tripathi A. (2006)** Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiological Research*, **163**, 337-344.
- Shinde UA, Phadke AS, Nair AM, Mungantiwar AA, Dikshit VJ, Saraf MN. (1998)** Membrane stabilizing activity-a possible mechanism of action for the anti-inflammatory activity of *Cedrus deodara* wood oil. *Fitoterapia*, **70**, 251-257.
- Shinde UA, Kulkarni KR, Phadke AS, Nair AM, Mungantiwar AA, Dikshit VJ, Saraf MN. (1999)** Mast cell stabilizing and lipoxygenase inhibitory activity of *Cedrus deodara* (Roxb.) Loud. wood oil. *Indian Journal of Experimental Biology*, **37(3)**, 258-261.
- Siani AC, Ramos MF, Menezes-de-Lima OJR, Dos-Santos RB, Fernandez-Ferreira, Soares RO, Rosas EC, Susunaga GS, Guimaraes AC, Zoghbi MG, Henriques MG. (1999)** Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *Journal of Ethnopharmacology*, **66**, 57-69.
- Silva J, Abebe W, Sousa SM, Duarte VG, Machado MI, Matos FJ. (2003)** Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*. *Journal of Ethnopharmacology*, **89**, 277-283.
- Singh SB, Barrett JF. (2006)** Empirical antibacterial drug discovery-foundation in natural products. *Biochemical Pharmacology*, **71**, 1006-1015.
- Sipailiene A, Venskutonis PR, Baranauskiene R, Sarkinas A. (2006)** Antimicrobial Activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*, **18**, 698-703.
- Smaili T, Zellagui A, Gherraf N, Flamini G, Cioni PL. (2011)** Essential Oil Content of the Flowers of *Pituranthos scoparius* in Algeria. *Medicinal Plants*, **3**, 177-179.
- Soković M, Van Griensven LJLD. (2006)** Antimicrobial activity of essential oils and their components against the three major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. *European Journal of Plant Pathology*, **116**, 211-224.
- Solórzano-Santos F, Miranda-Navales MG. (2012)** Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion Biotechnology*, **23(2)**, 136-141.
- Sonboli A, Babakhani B, Mehrabian AR. (2006)** Antimicrobial Activity of Six Constituents of Essential Oil from *Salvia*. *Zeitschrift für Naturforschung*, **61c**, 160-164.
- Sousa EMBD, Câmara APC, Costa WA, Costa ACJ, Oliveira HNM, Galvão EL, Marques MMO. (2005)** Evaluation of the Extraction Process of the Essential Oil from *Cymbopogon schoenanthus* with Pressurized Carbon Dioxide. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **48**, 231-236.

- Sutour S, Tomi F, Bradesi P, Casanova J. (2011)** Chemical composition of the essential oil from Corsican *Mentha aquatica* combined analysis by GC(RI), GC-MS and ¹³C NMR spectroscopy. *Natural Product Communications*, **6**, 1-4.
- Swynghedauw B. (2006)** L'inflammation ? Au cœur du problème - L'inflammation, mécanisme général aux effets bien particuliers. *AMC pratique* n° 151.
- Talbaoui A, Jamaly N, Aneb M. (2012)** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. *Journal of Medicinal Plants Research*, **6**, 4593-4600.
- Teixeira-Duarte MC, Mara Figueira G, Sartoratto A, Rehder VLG, Delarmelina C. (2005)** Anticandida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **97(9)**, 305-311.
- Tepe B, Akpulat HK, Sokmen M, Daferera D, Yumrutas O, Aydin E, Polissiou M, Sokmen A. (2006)** Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. *Food Chemistry*, **97**, 719-724.
- Thomaidis NS, Georgiou CA. (1999)** Edible oil analysis by flow injection. *Laboratory Automation & Information Management*, **34**, 101-114.
- Thompson JD, Chalchat JC, Michet A, Linhart YB, Ehlers B. (2003)** Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes. *Journal of Chemical Ecology*, **29**, 859-880.
- Tisserand R, Young R. (2014)** Essential Oil Safety A Guide for Health Care Professionals. 2nd Edition, Churchill Livingstone, Elsevier, London, 784.
- Tognolini M, Barocelli E, Ballabeni V, Bruni R, Bianchi A, Chiavarini M, Impicciatore M. (2006)** Comparative screening of plant essential oils: Phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. *Life Sciences*, **78**, 1419-1432.
- Tomaino A, Cimino F, Zimbalatti V. (2005)** Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some spice essential oils. *Food Chemistry*, **89**, 549-554.
- Tomi F, Bradesi P, Bighelli A, Casanova J. (1995)** Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. *Journal of Magnetic Resonance Analysis*, **1**, 25-34.
- Tomi F, Casanova J. (2006)** ¹³C-NMR as a tool for identification of individual components of essential oils from Labiatae, A review. *Acta Horticulturae*, **723**, 185-192.
- Torbati M, Nazemiyeh H, Lotfipour F, Nemati M, Asnaashari S, Fathiazad F. (2014)** Chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activity of *Heracleum transcaucasicum* and *Heracleum anisactis* roots essential oil. *Bioimpacts*, **4(2)**, 69-74.
- Trombetta D, Castelli F, Sarpietro MG, Venuti V, Cristani M, Daniele C, Saija A, Mazzanti G, Bisignano G. (2005)** Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **49**, 2474-2478.
- Tundis R, Loizzo MR. (2018)** A Review of the Traditional Uses, Phytochemistry and Biological Activities of the Genus *Santolina*. *Planta Medica*, **84(09/10)**, 627-637.

- Turgis M, Han J, Caillet S, Lacroix M. (2009)** Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhi*. *Food Control*, **20**, 1073-1079.
- Turina AV, Nolan MV, Zygadlo JA, Perillo MA. (2006)** Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. *Biophysical Chemistry*, **122**, 101-113.
- Ultee A, Bennik MH, Moezelaar R. (2002)** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 1561-1568.
- Unlu M, Daferera D, Donmez E, Polissiou M, Tepe B, Sokmen A. (2002)** Composition and antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*, **83**, 117-121.
- Van den Dool H, Kratz PD. (1963)** A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, **11**, 463-471.
- Vérité P, Nacer A, Kabouche Z, Seguin E. (2004)** Composition of Seeds and Stems Essential Oils of *Pituranthos scoparius* (COSS. & DURIEU) SCHINZ. *Flavour and Fragrance Journal*, **19**, 562-564.
- Vernin G, Lageot C, Ghiglione C, Dahia M, Parkanyi C. (1999)** GC/MS Analysis of the Volatile Constituents of the Essential Oils of *Pituranthos scoparius* (COSS. & DURIEU) BENTH. & HOOK. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, **11**, 673-676.
- Verpoorte R, Choi YH, Kim HK. (2010)** Metabolomics: will it stay?. *Phytochemical Analysis*, **21**, 2-3.
- Victoria M, Elipe S. (2003)** Advantages and disadvantages of nuclear magnetic resonance spectroscopy as a hyphenated technique. *Analytica Chimica Acta*, **497**, 1-25.
- Viljoen A, van Vuuren S, Ernst E, Klepser M, Demirci B, Başer H, van Wyk BE. (2003)** *Osmitopsis asteriscoides* (Asteraceae)-the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. *Journal of Ethnopharmacology*, **88**, 137-143.
- Walsh SE, Maillard JY, Russell AD, Catrenich CE, Charbonneau DL, Bartolo RG. (2003)** Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, **94**, 240-247.
- Wan J, Wilcock A, Coventry MJ. (1998)** The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, **84**, 152-158.
- Wannissorn B, Jarikasem S, Siriwangchai T, Thubthimthed S. (2005)** Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*, **76**, 233-236.
- Warnke PH, Becker ST, Podschun R, Sivananthan S, Springer IN, Russo PA, Wiltfang J, Fickenscher H, Sherry E. (2009)** The battle against multi-resistant strains: renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, **37(7)**, 392-397.

- Wei A, Shibamoto T. (2007)** Antioxidant Activities and Volatile Constituents of Various Essential Oils. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **55**, 1737-1742.
- Wenqiang G, Shufen L, Ruixiang Y, Shaokun T, Can Q. (2007)** Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food chemistry*, **101**, 1558-1564.
- Weyerstahl P, Marschall H, Splittgerber U, Wolf D. (1996)** New sesquiterpene ethers from vetiver oil. *Liebigs Annalen*, **7**, 1195-1199.
- Weyerstahl P, Schlicht V. (1997a)** Synthesis of rac-bisabola-3(15), 10-dien-7-ol. *Liebigs Annalen*, **8**, 1789-1790.
- Weyerstahl P, Marschall H, Splittgerber U, Wolf D. (1997b)** New *cis*-eudesm-6-ene derivatives from vetiver oil. *Liebigs Annalen*, **7**, 1783-1787.
- Weyerstahl P, Marschall H, Weirauch M, Thefeld K, Surburg H. (1998)** Constituents of commercial Labdanum oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **13**, 295-318.
- Weyerstahl P, Marschall H, Wahlburg HC, Christiansen C, Rustaiyan A, Mirdjalili F. (1999a)** Constituents of the essential oil of *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) boiss. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, **14**, 121-130.
- Weyerstahl P, Marschall H, Eckhardt A, Christiansen C. (1999b)** Constituents of commercial brazilian Lantana oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **14**, 15-28.
- Weyerstahl P, Marschall H, Splittgerber U, Wolf D. (2000a)** 1,7-Cyclogermacra-1(10),4-dien-15-al, a sesquiterpene with a novel skeleton, and other sesquiterpenes from Haitian vetiver oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **15**, 61-83.
- Weyerstahl P, Marschall H, Splittgerber U, Wolf D. (2000b)** Analysis of the polar fraction of Haitian vetiver oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **15**, 153-173.
- Weyerstahl P, Marschall H, Splittgerber U, Wolf D, Surburg H. (2000c)** Constituents of Haitian vetiver oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **15**, 395-412.
- Whitman S, Gezginci M, Timmermann BN, Holman TR. (2002)** Structure-activity relationship studies of nordihydroguaiaretic acid inhibitors toward soybean, 12-human, and 15-human lipoxygenase. *Journal of Medicinal Chemistry*, **45**, 2659-2661.
- Wolfender JL, Ndjoko K, Hostettmann K. (1998)** LC/NMR in natural products chemistry. *Current Organic Chemistry*, **2**, 575-596.
- Wrang A, Lam J. (1975)** Polyacetylenes from *Chrysanthemum leucanthemum*. *Phytochemistry*, **14**, 1027-1035.
- Xianfei X, Xiaoqiang C, Shunying Z, Guolin Z. (2007)** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Chaenomeles speciosa* from China. *Food Chemistry*, **100** (4), 1312-1315.
- Xu T, Gherib M, Bekhechi C, Atik-Bekkara F, Casabianca H, Tomi F, Casanova J, Bighelli A. (2015)** Thymyl esters derivatives and a new natural product modhephanone from

Pulicaria mauritanica Coss. (Asteraceae) root oil. *Flavour and Fragrance Journal*, **30(1)**, 83-90.

Yagi S, Babiker R, Tzanova T, Schohn H. (2016) Chemical composition, antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities of essential oils from aromatic plants growing in Sudan. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **9(8)**, 763-770.

Yang Z. (2006) Online hyphenated liquid chromatography-nuclear magnetic resonance spectroscopy-mass spectrometry for drug metabolite and nature product analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **40**, 516-527.

Yanishlieva NV, Marinova EM, Gordon MH, Raneva VG. (1999) Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, **64**, 59-66.

Yapi TA, Boti JB, Ahibo AC, Bighelli A, Casanova J, Tomi F. (2013) Combined analysis of *Xylopiya rubescens* Oliv. leaf oil using gas chromatography with flame ionization detection, gas chromatography with mass spectrometry and ¹³C nuclear magnetic resonance: structure elucidation of new compounds. *Flavour and Fragrance Journal*, **28**, 373-379.

Yeh C, Chang, J, Wang K, Shieh D, Chiang L. (2013) Water extract of *Cinnamomum cassia* Blume inhibited human respiratory syncytial virus by preventing viral attachment, internalization, and syncytium formation. *Journal of Ethnopharmacology*, **147(2)**, 321-326.

Zaiter L, Benayache F, Beghidja N, Figueredo G, Chalard P, Chalchat JC, Marchioni E, Benayache S. (2015) Essential oils of *Santolina africana* Jord. & Fourr. and *Santolina chamaecyparissus* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, **18(6)**, 1338-1342.

Zhang H, Chen F, Wang X, Yao HY. (2006) Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food Research International*, **39**, 833-839.

Zsuzsanna S, Hohmann J, Molnar J. (2010) Recent advances in research of antimicrobial effects of essential oils and plant derived compounds on bacteria. *Ethnomedicine: A Source of Complementary Therapeutics*, 179-201.

Zupanc M, Prošek M, Dušan M. (1992) Combined CI and EI mass spectra in the analysis of essential oils. *Journal of High Resolution Chromatography*, **15**, 510-513.

Zuzarte M, Gonçalves MJ, Cruz MT, Cavaleiro C, Canhoto J, Vaz S, Pinto E, Salgueiro L. (2012) *Lavandula luisieri* essential oil as a source of antifungal drugs. *Food Chemistry*, **135(3)**, 1505-1510.

Annexes

Annexe 1

Tableau 1 : Composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* récoltées dans la région de Ghardaïa (Septembre 2016 - Janvier 2017)

Composés ^a	Ir ^{a,b}	Ir ^{p,c}	GM9 1 16	GM9 2 16	GM9 3 16	GM10 1 16	GM10 2 16	GM10 3 16	GM11 1 16	GM11 2 16	GM11 3 16	GM12 1 16	GM12 2 16	GM12 3 16	GM1 1 17	GM1 2 17	GM1 3 17
<i>α</i> -Thujène	922	1024	1,9	0,8	0,6	1,0	1,1	1,0	0,6	0,6	0,3	0,4	1,1	0,4	1,2	1,9	1,4
<i>α</i> -Pinène	930	1022	22,1	11,6	17,1	11,3	12,4	16,4	14,2	13,9	6,0	2,9	2,7	2,8	14,9	20,1	16,5
Camphène	943	1070	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	Tr	0,1	Tr	0,2	0,2	0,2
Thujadiène	946	-----	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Sabinène	964	1126	2,3	1,5	2,0	1,1	1,2	1,6	1,1	0,9	0,8	30,3	23,1	31,3	1,5	1,6	1,7
<i>β</i> -Pinène	969	1115	7,3	4,9	7,1	3,7	4,5	6,2	4,9	4,9	2,1	1,5	1,5	1,5	4,7	6,3	5,3
Myrcène	980	1165	1,3	0,9	1,1	1,0	0,8	0,9	1,0	0,7	0,7	Tr	0,8	0,8	0,9	1,0	1,0
<i>α</i> -Phellandrène	996	1169	13,1	8,0	15,4	11,3	6,2	8,9	14,9	8,2	10,8	0,8	0,1	0,1	11,3	17,8	13,2
3- <i>δ</i> -Carène	1005	1153	Tr	0,1	0,1	Tr	0,9	Tr	0,3	Tr	0,1	0,1	1,2	0,5	0,6	Tr	0,4
<i>α</i> -Terpinène	1008	1185	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,7	0,6	0,6	0,1	0,1	0,1
<i>p</i> -Cymène	1011	1276	3,7	1,6	3,9	3,3	3,3	5,6	5,6	3,6	5,4	0,5	0,8	0,6	6,8	5,4	6,4
Limonène	1021	1206	19,4	37,9	9,2	26,7	20,1	15,0	22,6	12,7	44,0	14,6	7,8	21,6	20,0	17,6	19,4
<i>β</i> -Phellandrène	1021	1214	6,8	3,5	7,9	5,7	3,4	5,3	7,4	4,1	5,4	0,1	0,1	0,2	5,8	8,4	6,6
(<i>Z</i>)- <i>β</i> -Ocimène	1024	1237	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,1	Tr	Tr	0,1	0,2	0,1
<i>γ</i> -Terpinène	1047	1249	0,6	0,3	0,3	0,4	1,2	0,7	0,6	0,2	1,1	1,6	1,8	1,5	0,4	0,6	0,5
<i>Trans</i> -hydrate de sabinène	1053	1467	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,2	0,2	0,3	-----	-----	-----
Terpinolène	1078	1287	0,2	0,3	0,5	0,3	0,4	0,4	0,4	0,5	0,3	0,3	0,5	0,3	0,5	0,3	0,4
<i>cis</i> -Hydrate de sabinène	1082	1541	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,1	0,2	0,2	-----	-----	-----
Campholénal	1102	1481	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	-----	-----
<i>trans</i> -Pinocarvéol	1122	1660	Tr	-----	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>cis</i> -Verbénol	1123	1658	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>trans</i> -Verbénol	1127	1682	0,1	-----	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2
Pinocarvone	1138	1573	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>p</i> -Menth-1,5-diène 8-ol	1144	1714	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Cryptone	1155	1661	Tr	-----	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-----	Tr	-----	0,2	0,1	0,2
<i>p</i> -Cymène-8-ol	1159	1846	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,1	Tr	-----	-----	0,1

Terpinéol 4	1161	1605	0,3	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,4	3,8	4,2	4,0	0,3	0,3	0,3
Myrténal	1169	1632	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	-----	Tr	-----	-----	-----
α-Terpinéol	1171	1700	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	-----	Tr	-----	-----	-----
Estragole	1174	1678	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Myrténol	1177	1796	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	-----	-----	-----
<i>trans</i>-Carvéol	1196	1840	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
<i>cis</i>-Carvéol	1208	1871	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	-----	-----
Cuminaldéhyde	1211	1782	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Carvone	1214	1738	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	Tr	0,2	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1
Cumin alcool	1262	2407	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Acétate de bornyle	1269	1583	0,1	-----	-----	0,2	Tr	0,2	0,1	Tr	Tr	-----	0,4	0,1	-----	Tr	-----
Thymol	1275	2224	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Tr	-----	Tr	0,1	0,1	-----
Carvacrol	1279	2223	-----	-----	0,2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	-----	Tr	-----	-----	-----
2,4-Décadiénal	1288	1798	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,1	-----	Tr	-----	-----	-----
Eugéol	1326	2176	-----	-----	-----	0,1	Tr	Tr	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Méthyleugéol	1369	2019	2,7	2,8	2,6	1,1	1,0	1,5	1,0	0,8	0,4	0,2	0,2	0,2	1,6	1,2	1,4
α-Copaène	1373	1492	0,3	0,5	0,7	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2
β-Cubébène	1384	1537	0,2	0,4	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
(<i>E</i>)-β-Caryophyllène	1416	1599	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-----	0,1	0,1	Tr	0,1
α-Cubébène	1446	1537	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Germacrène D	1473	1709	4,5	7,6	9,5	2,8	3,5	3,0	2,8	2,6	2,0	2,0	1,2	3,7	3,0	1,7	2,6
β-Sélinène	1479	2271	0,2	0,2	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,3	Tr	0,1	0,1	0,1
Myristicine	1488	1735	0,1	Tr	0,1	13,6	17,5	18,2	5,6	29,4	0,7	0,1	Tr	0,1	14,0	2,9	10,4
Bicyclogermacrène	1488	1733	0,5	0,7	0,5	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	0,7	0,7	0,4	0,7	0,4	0,4
δ-Cadinène	1512	1749	0,9	1,4	1,8	0,5	1,0	0,5	0,7	0,8	0,9	0,3	0,6	0,2	0,5	0,4	0,5
Elemicine	1518	2226	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	Tr	0,3	Tr	Tr	0,1	Tr
Spathuléol	1562	2125	1,0	0,3	0,3	0,8	1,9	1,1	1,1	1,0	1,3	Tr	Tr	Tr	0,8	1,1	0,9
6-Méthoxy élémicine	1566	2215	Tr	-----	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	29,4	41,6	25,1	Tr	Tr	Tr
Oxyde de caryophyllène	1570	1961	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Apiole dill	1590	2363	0,4	-----	0,1	5,0	5,7	0,3	1,3	3,8	0,3	0,1	Tr	Tr	1,0	0,6	0,8
<i>trans</i>-Muurolol	1624	2188	0,7	1,3	1,5	0,4	1,0	0,5	0,6	0,9	1,1	0,3	0,5	0,1	0,4	0,6	0,5
β-Eudesmol	1632	2231	1,1	1,2	2,9	0,9	1,4	1,2	0,7	1,4	1,8	0,1	0,4	0,3	0,6	0,9	0,7

α -Cadinol	1634	2228	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	-----	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
α -Eudesmol	1637	2218	-----	-----	0,2	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr	-----	Tr	-----	-----	-----
Eudesma-4(15),7-dièn-1- β -ol	1664	2347	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	Tr	-----	0,1	0,1	0,1	0,1
(Z)-Ligustilide	1691	2579	4,8	7,6	9,7	2,2	3,8	5,0	5,5	2,9	6,6	Tr	-----	Tr	2,9	5,0	3,5
Total (%)			97,5	96,6	98,0	95,4	94,8	95,7	95,6	95,9	95,0	92,0	94,2	97,9	96,0	97,8	96,6

^a : L'ordre d'élution et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^bIr_a: Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. ^cIr_p: Indices de rétention mesurés sur colonne polaire. Tr : Traces. GM : Ghardaïa. 9 : Septembre ; 10 : Octobre ; 11 : Novembre ; 12 : Décembre ; 1 : Janvier ; 16 : Année 2016 ; 17 : Année 2017.

Tableau 2 : Composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* récoltées dans la région de Biskra (Septembre 2016 - Janvier 2017)

Composés ^a	Ir _a ^b	Ir _p ^c	Bik9 1 16	Bik9 2 16	Bik9 3 16	Bik10 1 16	Bik10 2 16	Bik10 3 16	Bik11 1 16	Bik11 2 16	Bik11 3 16	Bik12 1 16	Bik12 2 16	Bik12 3 16	Bik1 1 17	Bik1 2 17	Bik1 3 17
α -Thujène	922	1024	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8	0,8	0,6	1,1	0,6	1,0	0,6	0,8	2,1	1,6	1,5
α -Pinène	930	1022	15,5	9,8	3,2	7,2	6,4	8,8	3,8	17,1	10,6	8,4	19,3	13,9	31,0	12,6	12,2
Camphène	943	1070	0,1	-----	-----	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	-----	0,1	Tr	Tr
Thujadiène	946	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Sabinène	964	1126	28,3	40,9	55,6	22,9	32,8	37,6	54,6	19,2	28,0	27,7	34,5	31,8	6,2	32,9	33,1
β -Pinène	969	1115	4,2	3,2	1,7	3,7	3,5	4,4	2,0	2,8	1,9	3,7	2,7	3,4	8,1	3,7	3,6
Myrcène	980	1165	1,1	1,2	1,2	0,4	0,5	0,7	1,0	0,8	0,3	1,0	0,8	1,0	1,0	1,2	1,2
α -Phellandrène	996	1169	2,2	1,3	0,5	0,3	0,4	0,9	0,4	0,6	0,3	0,8	0,4	0,6	2,3	0,8	0,8
3- δ -Carène	1005	1153	0,6	1,1	1,5	0,5	2,2	1,6	0,1	9,6	0,3	12,4	0,1	6,5	2,4	1,9	1,9
α -Terpinène	1008	1185	0,6	0,9	1,4	0,7	0,5	0,9	1,4	0,4	0,7	0,6	0,7	0,6	0,1	0,6	0,6
<i>p</i> -Cymène	1011	1276	3,4	2,6	1,6	3,0	4,8	3,9	2,4	3,1	3,5	4,4	4,3	4,5	7,7	5,7	5,6
Limonène	1021	1206	0,7	0,7	0,5	1,7	1,4	0,7	2,7	2,3	0,7	0,9	0,8	0,8	1,1	0,9	1,4
β -Phellandrène	1021	1214	0,8	0,6	0,3	0,3	0,4	0,5	0,3	0,2	0,1	0,5	0,4	0,4	0,8	0,5	0,5
(Z)- β -Ocimène	1024	1237	0,5	0,5	0,3	0,5	0,3	0,1	0,1	Tr	0,3	1,7	0,7	1,3	Tr	0,4	0,4
γ -Terpinène	1047	1249	1,1	1,7	2,4	1,7	1,0	1,8	2,9	1,2	1,4	1,1	1,4	1,3	0,3	1,3	1,4
<i>trans</i> -Hydrate de sabinène	1053	1467	0,2	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,7	0,2	0,4	0,3	0,3	0,3	0,1	0,4	0,4
Terpinolène	1078	1287	0,4	0,5	0,7	0,4	0,3	0,5	0,6	0,4	0,3	0,8	0,3	0,6	0,1	0,5	0,5
<i>cis</i> -Hydrate de sabinène	1082	1541	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,3	0,4	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2	Tr	0,2	0,2

δ -Cadinène	1512	1749	0,6	0,7	0,9	0,3	0,4	0,4	0,5	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,6	0,4	0,4
Elemicine	1518	2226	0,5	0,4	0,3	0,1	9,4	0,2	0,4	0,3	29,1	0,1	19,1	8,6	11,0	7,3	7,4
Spathuléol	1562	2125	0,4	0,1	0,2	0,9	-----	0,9	0,7	0,6	0,5	0,3	0,4	0,4	2,4	0,6	0,6
6-Méthoxy élémicine	1566	2215	-----	-----	0,2	0,4	8,5	0,1	0,1	0,1	0,1	-----	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1
Oxyde de caryophyllène	1570	1961	0,2	0,1	0,1	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	Tr	-----	0,1	0,1	0,1	0,1
Apiole dill	1590	2363	7,6	7,7	7,1	18,0	1,2	11,9	5,9	4,0	1,4	9,4	1,5	5,7	0,2	11,2	11,4
<i>t</i> -Muurolol	1624	2188	1,0	1,3	1,5	1,1	1,5	1,1	1,4	1,0	1,3	0,7	1,3	1,0	1,3	0,9	0,9
β -Eudesmol	1632	2231	0,8	0,6	1,0	0,3	0,6	0,6	0,6	0,4	0,3	0,1	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3
α -Cadinol	1634	2228	-----	-----	0,2	Tr	-----	-----	0,1	0,3	-----	-----	-----	-----	0,2	-----	-----
α -Eudesmol	1637	2218	0,3	Tr	0,1	Tr	0,5	0,5	0,5	0,4	0,3	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
Eudesma-4(15),7-dièn-1- β -ol	1664	2347	0,3	0,3	0,2	0,7	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
(<i>Z</i>)-Ligustilide	1691	2579	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Total (%)			98,2	98,4	97,8	86,2	95,5	95,1	97,1	95,0	94,9	96,0	98,8	98,4	96,8	97,3	97,8

^a : L'ordre d'éluion et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^bIr_a: Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. ^cIr_p: Indices de rétention mesurés sur colonne polaire. Tr : Traces. Bik : Biskra. 9 : Septembre ; 10 : Octobre ; 11 : Novembre ; 12 : Décembre ; 1 : Janvier ; 16 : Année 2016 ; 17 : Année 2017.

Tableau 3 : Composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* récoltées dans la région de Batna-Bouilef (Septembre 2016 - Janvier 2017)

Composés ^a	Ir _a ^b	Ir _p ^c	Bf 9 1 16	Bf 9 2 16	Bf 9 3 16	Bf10 1 16	Bf10 2 16	Bf10 3 16	Bf11 1 16	Bf11 2 16	Bf11 3 16	Bf12 1 16	Bf12 2 16	Bf12 3 16	Bf1 17	Bf1 2 17	Bf1 3 17
α -Thujène	922	1024	0,6	0,9	0,7	0,9	0,7	0,7	1,1	0,5	0,8	0,8	1,1	0,9	0,8	1,1	0,9
α -Pinène	930	1022	5,0	6,9	3,7	7,6	8,7	3,1	12,4	8,3	14,8	9,6	10,5	10,2	8,1	10,9	9,0
Camphène	943	1070	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Thujadiène	946	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Sabinène	964	1126	32,1	33,6	39,6	27,0	35,5	43,7	19,0	17,8	16,8	36,2	41,6	19,9	39,2	24,0	32,4
β -Pinène	969	1115	2,3	3,7	2,2	4,6	3,1	2,3	6,2	2,7	6,8	3,8	4,2	4,9	4,1	5,0	4,4
Myrcène	980	1165	0,9	0,7	0,8	0,3	0,6	0,4	0,4	0,3	0,4	0,7	0,6	0,4	0,5	0,5	0,5
α -Phellandrène	996	1169	1,7	1,0	1,3	0,2	0,4	0,2	0,3	0,3	0,2	1,0	0,4	0,1	0,1	0,3	0,2
3- δ -Carène	1005	1153	1,7	1,1	1,6	0,5	1,2	Tr	1,0	0,2	4,1	1,6	2,4	0,8	0,6	1,8	1,0
α -Terpinène	1008	1185	0,7	0,5	0,6	0,7	1,0	1,3	0,5	0,6	0,5	0,7	1,0	0,3	0,6	0,7	0,7

<i>p</i> -Cymène	1011	1276	3,9	4,2	2,9	3,6	1,5	5,0	3,3	1,9	1,4	4,1	4,5	4,7	4,0	5,3	4,4
Limonène	1021	1206	0,5	0,5	0,5	0,8	0,9	0,7	4,5	2,0	2,0	0,9	0,9	1,0	0,5	0,6	0,3
β -Phellandrène	1021	1214	0,7	0,6	0,6	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,2	0,5	0,4	0,2	0,2	0,3	0,1
(<i>Z</i>)- β -Ocimène	1024	1237	2,8	2,0	2,6	0,7	0,3	0,1	0,6	0,6	0,6	1,1	0,9	0,9	0,9	1,3	1,1
γ -Terpinène	1047	1249	1,3	0,8	1,0	1,3	2,0	2,7	1,1	1,3	1,1	1,6	1,9	0,9	1,5	1,6	1,6
<i>trans</i> -Hydrate de sabinène	1053	1467	0,4	0,3	0,4	0,4	0,2	0,5	0,1	0,3	0,1	0,4	0,4	0,3	0,5	0,4	0,5
Terpinolène	1078	1287	0,5	0,4	0,3	0,4	0,4	0,6	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,5
<i>cis</i> -Hydrate de sabinène	1082	1541	0,3	0,2	0,3	0,2	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2	0,3
Campholénal	1102	1481	0,3	Tr	0,2	0,2	Tr	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,9	0,2	0,3	0,3
<i>trans</i> -Pinocarvéol	1122	1660	0,2	0,2	0,2	0,9	0,2	0,8	0,7	0,7	0,3	0,6	0,6	1,5	0,9	1,1	1,0
<i>cis</i> -Verbénol	1123	1658	-----	-----	-----	0,1	-----	-----	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,4	0,1	0,2	0,2
<i>trans</i> -Verbénol	1127	1682	0,2	0,3	0,2	0,8	0,2	0,5	0,7	1,1	0,4	0,6	0,5	1,8	0,8	1,2	1,0
Pinocarvone	1138	1573	0,1	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4	0,8	0,3	0,6	0,5
<i>p</i> -Menth-1,5-dièn-8-ol	1144	1714	-----	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2
Cryptone	1155	1661	-----	0,1	0,1	0,2	Tr	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2
<i>p</i> -Cymène-8-ol	1159	1846	-----	0,1	0,1	0,1	Tr	-----	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,2
Terpinéol 4	1161	1605	5,3	3,4	4,2	4,0	2,7	10,4	2,9	3,5	2,2	5,0	5,1	4,4	6,3	6,4	6,5
Myrténal	1169	1632	Tr	0,1	Tr	0,3	0,1	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,9	0,3	0,4	0,4
α -Terpinéol	1171	1700	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
Estragole	1174	1678	-----	Tr	Tr	0,2	0,1	0,4	0,1	0,3	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Myrténol	1177	1796	-----	-----	-----	-----	-----	0,2	0,3	0,3	0,1	Tr	Tr	0,7	0,1	0,4	0,3
<i>trans</i> - Carvéol	1196	1840	-----	Tr	Tr	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1
<i>cis</i> -Carvéol	1208	1871	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Cuminaldéhyde	1211	1782	-----	Tr	Tr	0,1	Tr	0,2	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Carvone	1214	1738	-----	-----	-----	Tr	Tr	0,1	-----	0,1	-----	0,1	-----	0,1	Tr	0,1	0,1
Cumin alcool	1262	2407	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Acétate de bornyle	1269	1583	-----	-----	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Thymol	1275	2224	0,2	0,3	0,2	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,1	0,2	0,3	0,1	0,3	0,2
Carvacrol	1279	2223	-----	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1
2,4-Décadiènal	1288	1798	-----	Tr	-----	0,1	Tr	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	0,5	0,3	0,2	0,3
Eugénol	1326	2176	1,0	1,1	0,7	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	1,1	0,6	Tr	1,0	1,1	1,0
Méthyleugénol	1369	2019	0,4	0,3	0,2	1,0	0,2	1,2	0,3	0,6	0,2	-----	-----	-----	-----	-----	-----

α -Copaène	1373	1492	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1
β -Cubébène	1384	1537	Tr	0,1	Tr	0,1	Tr	0,2	Tr	Tr	Tr							
(<i>E</i>)- β -Caryophyllène	1416	1599	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
α -Cubébène	1446	1537	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Germacrène D	1473	1709	1,5	1,1	1,1	0,3	0,5	0,1	0,5	0,9	0,5	1,4	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	
β -Sélinène	1479	2271	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	Tr	Tr	Tr	
Myristicine	1488	1735	1,7	18,8	14,2	17,5	1,6	2,6	2,9	17,3	7,4	8,6	5,0	20,1	8,2	9,0	8,8	
Bicyclodermacrène	1488	1733	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
δ -Cadinène	1512	1749	0,4	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5	-----	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	
Elemicine	1518	2226	-----	0,1	-----	Tr	0,1	9,1	0,1	0,2	0,2	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	
Spathuléol	1562	2125	0,8	1,8	1,7	1,8	1,3	0,6	0,8	1,1	2,5	1,5	0,3	1,6	0,9	1,3	1,1	
6-Méthoxy élémicine	1566	2215	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	-----	Tr	-----	-----	-----	0,1	Tr	-----	-----	
Oxyde de caryophyllène	1570	1961	-----	0,1	0,1	0,4	0,3	0,1	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	
Apiole dill	1590	2363	29,9	7,9	13,2	10,5	31,2	2,0	31,4	24,9	29,2	11,3	9,5	5,0	12,0	12,7	12,8	
<i>t</i> -Muurolool	1624	2188	0,5	1,0	0,7	0,9	1,0	1,7	0,9	1,7	0,8	0,8	0,7	1,7	0,6	0,5	0,5	
β -Eudesmol	1632	2231	0,1	0,5	0,4	0,5	0,3	1,0	0,3	1,5	0,3	0,2	0,2	0,7	0,2	0,2	0,2	
α -Cadinol	1634	2228	0,1	0,3	0,1	0,4	0,3	-----	Tr	-----	0,4	0,1	0,1	-----	0,2	0,3	0,2	
α -Eudesmol	1637	2218	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Eudesma-4(15),7-dièn-1- β -ol	1664	2347	0,2	0,3	0,2	0,6	0,5	0,4	0,5	0,7	0,6	0,2	0,2	0,5	0,2	0,3	0,3	
(<i>Z</i>)-Ligustilide	1691	2579	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	Tr	0,1	Tr	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	
Total (%)			98,5	96,4	97,8	92,1	98,7	95,5	97,0	96,3	97,9	97,7	97,1	90,9	96,6	93,5	95,5	

^a : L'ordre d'élution et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^bIr_a: Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. ^cIr_p: Indices de rétention mesurés sur colonne polaire. Tr : Traces. Bf : Bouilef. 9 : Septembre ; 10 : Octobre ; 11 : Novembre ; 12 : Décembre ; 1 : Janvier ; 16 : Année 2016 ; 17 : Année 2017.

Tableau 4 : Composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* récoltées dans la région de Batna-Djerma (Septembre 2016 - Janvier 2017)

Composés ^a	Ir _a ^b	Ir _p ^c	Dj9 1 16	Dj9 2 16	Dj9 3 16	Dj10 1 16	Dj10 2 16	Dj10 3 16	Dj11 1 16	Dj11 2 16	Dj11 3 16	Dj12 1 16	Dj12 2 16	Dj12 3 16	Dj1 1 17	Dj1 2 17	Dj1 3 17
α -Thujène	922	1024	1,5	0,5	0,5	1,0	2,0	1,4	0,6	0,6	0,8	1,1	0,4	1,1	1,8	1,7	1,7
α -Pinène	930	1022	19,9	11,9	4,2	21,5	9,5	18,1	11,2	7,7	10,6	9,5	4,9	9,2	20,7	29,6	24,6

Camphène	943	1070	0,1	Tr	Tr	0,2	0,1	0,3	0,1	0,1	0,3	0,1	Tr	0,1	0,2	0,2	0,2
Thujadiène	946	-----	Tr	-----	-----	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,4	0,2
Sabinène	964	1126	27,4	34,9	32,4	10,5	50,1	17,6	10,5	45,6	20,1	42,1	23,4	41,2	20,3	13,2	17,7
β-Pinène	969	1115	5,1	2,7	2,1	9,6	2,5	5,9	2,6	3,9	3,8	4,1	3,0	4,0	8,3	7,4	7,9
Myrcène	980	1165	1,3	0,9	0,7	0,4	0,8	0,5	0,3	0,5	0,4	0,6	0,4	0,6	0,6	0,5	0,5
α-Phellandrène	996	1169	1,9	2,7	0,4	0,4	0,2	0,3	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	1,0	0,3	0,7
3-δ-Carène	1005	1153	-----	Tr	Tr	-----	-----	Tr	Tr	-----	Tr	0,1	0,1	0,1	-----	0,1	0,1
α-Terpinène	1008	1185	0,2	0,5	0,5	0,2	1,4	0,3	0,3	0,9	0,4	0,7	0,4	0,7	0,5	0,3	0,4
<i>p</i>-Cymène	1011	1276	4,0	4,0	2,6	7,1	3,1	4,6	5,5	1,8	5,3	4,3	5,7	4,2	7,1	9,6	8,2
Limonène	1021	1206	1,3	0,9	0,5	1,4	0,7	1,0	2,1	0,4	1,6	0,6	1,1	0,6	0,8	0,9	0,9
β-Phellandrène	1021	1214	1,0	1,0	0,4	0,5	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,6	0,3	0,5
(<i>Z</i>)-β-Ocimène	1024	1237	7,2	2,3	1,8	1,3	1,1	0,6	0,4	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	1,0	0,4	0,8
γ-Terpinène	1047	1249	0,5	0,8	0,9	0,5	2,7	0,7	1,2	1,8	1,1	1,5	1,5	1,5	1,0	0,7	0,9
<i>trans</i>-Hydrate de sabinène	1053	1467	0,2	0,3	0,3	0,1	0,8	0,2	0,2	0,6	0,3	0,5	0,5	0,5	0,3	0,2	0,2
Terpinolène	1078	1287	0,2	0,3	0,2	0,3	0,6	0,3	0,3	0,4	0,3	0,4	0,5	0,4	0,3	0,2	0,3
<i>cis</i>-Hydrate de sabinène	1082	1541	0,2	0,2	0,2	0,1	0,5	0,2	0,1	0,4	0,2	0,3	0,3	0,3	0,1	0,1	0,1
Campholénal	1102	1481	0,2	Tr	Tr	0,6	0,3	0,8	1,3	0,1	0,5	0,4	0,7	0,4	0,5	2,0	1,3
<i>trans</i>-Pinocarvéol	1122	1660	0,2	0,1	0,3	1,1	0,7	1,3	1,2	0,6	0,9	0,8	1,4	0,8	0,8	1,7	1,2
<i>cis</i>-Verbénol	1123	1658	-----	-----	-----	0,2	0,1	0,3	0,5	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,7	0,4
<i>trans</i>-Verbénol	1127	1682	0,4	0,2	0,3	1,4	0,5	1,8	2,3	0,5	1,4	0,9	1,4	1,0	1,1	3,0	2,0
Pinocarvone	1138	1573	0,1	Tr	0,1	0,6	0,1	0,7	0,7	0,1	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4	1,0	0,7
<i>p</i>-Menth-1,5-dièn-8-ol	1144	1714	-----	-----	-----	0,2	0,1	0,2	0,4	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,4	0,3
Cryptone	1155	1661	-----	-----	-----	0,2	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
<i>p</i>-Cymène-8-ol	1159	1846	-----	-----	-----	0,2	-----	0,1	0,1	-----	0,1	-----	-----	0,1	0,1	0,2	0,2
Terpinéol 4	1161	1605	2,1	2,9	4,7	1,6	7,3	2,2	2,1	5,2	2,9	5,4	10,9	5,4	3,5	2,3	3,0
Myrténal	1169	1632	0,1	Tr	0,1	0,6	0,1	0,7	0,7	0,1	0,4	0,3	0,5	0,3	0,5	1,2	0,8
α-Terpinéol	1171	1700	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1
Estragole	1174	1678	0,2	0,1	Tr	0,2	0,2	0,1	0,1	-----	-----	-----	0,3	-----	0,1	0,1	0,1
Myrténol	1177	1796	-----	-----	-----	0,4	0,1	0,5	0,5	Tr	0,3	0,3	0,5	0,3	0,3	0,7	0,5
<i>trans</i>-Carvéol	1196	1840	Tr	-----	-----	0,2	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,2
<i>cis</i>-Carvéol	1208	1871	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Cuminaldéhyde	1211	1782	-----	-----	-----	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1

Carvone	1214	1738	Tr	-----	-----	0,2	Tr	0,1	0,2	-----	0,1	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1
Cumin alcool	1262	2407	-----	-----	-----	-----	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	Tr	0,1	0,1
Acétate de bornyle	1269	1583	0,1	-----	-----	0,2	0,1	1,3	0,4	Tr	1,4	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Thymol	1275	2224	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2	0,3	0,6	0,1	0,3	0,1	0,4	0,1	0,2	0,2	0,2
Carvacrol	1279	2223	-----	-----	Tr	0,1	-----	Tr	-----	-----	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,2	0,2
2.4-Décadiénal	1288	1798	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	0,1	0,6	0,1	0,2	0,2	0,2
Eugénol	1326	2176	-----	1,2	1,1	0,1	Tr	0,1	0,1	-----	Tr	-----	Tr	-----	-----	-----	-----
Méthyleugénol	1369	2019	1,9	1,1	1,1	1,4	1,6	1,1	1,0	0,5	1,4	0,9	2,8	0,9	1,2	1,3	1,3
α-Copaène	1373	1492	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	-----	-----	-----
β-Cubébène	1384	1537	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
(E)-β-Caryophyllène	1416	1599	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
α-Cubébène	1446	1537	-----	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,2	Tr	Tr	Tr	Tr
Germacrène D	1473	1709	1,6	0,9	0,7	0,3	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,7	0,2	0,5
β-Sélinène	1479	2271	-----	0,1	0,1	0,1	-----	0,1	0,2	0,1	0,1	Tr	0,2	Tr	0,1	0,1	0,1
Myristicine	1488	1735	12,2	17,5	32,4	19,5	1,2	10,6	19,4	15,5	16,0	16,5	19,7	17,4	15,1	10,5	13,3
Bicyclogermacrène	1488	1733	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
δ-Cadinène	1512	1749	0,4	0,2	0,5	0,4	0,3	0,2	0,3	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2
Elemicine	1518	2226	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	0,2	Tr	0,2	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1
Spathuléol	1562	2125	1,2	1,4	1,3	1,9	0,7	1,4	1,7	0,2	1,9	1,0	0,9	1,1	1,4	1,4	1,4
6-Méthoxy élémicine	1566	2215	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,2	0,6	Tr	0,1	Tr	0,7	Tr	0,2	0,1	0,1
Oxyde de caryophyllène	1570	1961	-----	-----	-----	0,3	0,1	0,2	0,6	0,1	0,4	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1
Apiole dill	1590	2363	3,2	6,7	1,8	3,9	0,4	15,6	16,8	5,8	15,8	0,3	2,2	0,3	1,6	0,6	1,1
<i>t</i>-Muurolol	1624	2188	0,5	0,4	0,8	1,3	1,0	1,2	1,7	0,5	1,2	0,5	0,9	0,5	0,8	0,4	0,6
β-Eudesmol	1632	2231	0,4	0,2	0,9	0,8	1,2	0,5	1,1	0,7	1,0	0,1	2,4	0,1	0,4	0,2	0,4
α-Cadinol	1634	2228	Tr	0,1	-----	0,4	-----	0,3	-----	-----	0,3	-----	-----	-----	0,2	-----	0,1
α-Eudesmol	1637	2218	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Eudesma-4(15),7-dièn-1-β-ol	1664	2347	0,1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,4	1,0	0,1	0,5	0,1	0,3	0,1	0,3	0,2	0,2
(Z)-Ligustilide	1691	2579	1,2	0,1	0,4	0,2	0,7	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	0,4	Tr	0,1	-----	0,1
Total (%)			98,4	97,6	95,2	95,0	94,8	96,0	93,3	97,0	96,1	96,2	93,5	95,9	96,0	96,3	97,3

^a : L'ordre d'éluion et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^bIr_a: Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. ^cIr_p: Indices de rétention mesurés sur colonne polaire. Tr : Traces. Dj : Djerma. 9 : Septembre ; 10 : Octobre ; 11 : Novembre ; 12 : Décembre ; 1 : Janvier ; 16 : Année 2016 ; 17 : Année 2017.

Tableau 5 : Composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* récoltées dans la région de Béchar (Septembre 2016 - Janvier 2017)

Composés ^a	Ir _a ^b	Ir _p ^c	B9 1 16	B9 2 16	B9 3 16	B10 1 16	B10 2 16	B10 3 16	B11 1 16	B11 2 16	B11 3 16	B12 1 16	B12 2 16	B12 3 16	B1 1 17	B1 2 17	B1 3 17
<i>α</i> -Thujène	922	1024	0,4	0,6	0,3	0,4	0,4	0,5	0,4	0,3	0,3	0,3	0,2	0,4	0,5	0,3	0,9
<i>α</i> -Pinène	930	1022	4,9	4,2	0,7	1,6	1,9	2,2	2,9	3,4	3,6	2,7	3,6	1,6	1,7	2,6	2,4
Camphène	943	1070	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr	0,2	0,1	Tr	0,2
Thujadiène	946	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Sabinène	964	1126	26,9	36,2	32,4	22,5	24,4	26,9	31,6	17,6	21,6	23,8	12,9	36,5	6,1	20,6	1,1
<i>β</i> -Pinène	969	1115	2,4	2,2	0,9	1,1	1,2	1,4	1,7	1,1	1,3	1,3	1,4	1,2	0,8	1,3	0,8
Myrcène	980	1165	1,0	1,1	1,0	0,8	0,7	0,7	1,0	0,6	0,7	0,7	0,6	0,8	0,2	0,4	0,1
<i>α</i> -Phellandrène	996	1169	0,2	0,2	0,7	0,5	0,4	0,2	0,4	0,6	0,6	0,2	0,4	0,1	Tr	-----	Tr
3- <i>δ</i> -Carène	1005	1153	0,4	0,4	Tr	-----	-----	-----	-----	0,1	0,1	Tr	-----	0,1	-----	-----	-----
<i>α</i> -Terpinène	1008	1185	0,6	0,9	0,8	1,0	0,9	0,9	1,0	0,5	0,6	0,5	0,2	0,8	0,1	0,5	-----
<i>p</i> -Cymène	1011	1276	0,6	0,7	0,7	0,9	0,8	0,8	0,8	0,6	0,7	0,4	0,5	0,3	1,3	1,0	1,6
Limonène	1021	1206	25,6	13,6	19,1	10,3	11,1	12,3	24,6	19,3	20,6	25,9	34,8	16,0	19,9	21,1	22,4
<i>β</i> -Phellandrène	1021	1214	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	Tr
(<i>Z</i>)- <i>β</i> -Ocimène	1024	1237	Tr	-----	Tr	Tr	Tr	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,8	0,3	1,2
<i>γ</i> -Terpinène	1047	1249	1,1	1,9	1,6	1,8	1,7	1,6	2,2	3,0	2,8	1,3	0,9	1,7	0,5	1,4	0,2
<i>trans</i> -Hydrate de sabinène	1053	1467	0,2	0,4	0,4	0,2	0,2	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,3	0,1	0,2	-----
Terpinolène	1078	1287	0,4	0,5	0,4	0,4	0,4	0,3	0,5	0,3	0,3	0,2	0,1	0,4	0,1	0,2	Tr
<i>cis</i> -Hydrate de sabinène	1082	1541	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	Tr
Campholéal	1102	1481	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	Tr	-----	0,4	0,2	0,5
<i>trans</i> -Pinocarvéol	1122	1660	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2
<i>cis</i> -Verbénol	1123	1658	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>trans</i> -Verbénol	1127	1682	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	0,4	0,4	0,4
Pinocarvone	1138	1573	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,1	0,1	0,1
<i>p</i> -Menth-1,5 dièn-8-ol	1144	1714	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Cryptone	1155	1661	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>p</i> -Cymène-8-ol	1159	1846	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Terpinéol 4	1161	1605	3,9	6,3	7,1	5,8	5,0	4,2	6,6	2,7	3,5	2,8	1,4	4,4	1,5	4,0	0,3

Myrténal	1169	1632	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,2	0,1	0,2
α -Terpinéol	1171	1700	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	Tr	0,1	-----
Estragole	1174	1678	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Myrténol	1177	1796	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>trans</i> -Carvéol	1196	1840	Tr	-----	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0,9	0,6	1,0
<i>cis</i> -Carvéol	1208	1871	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,3	0,2	0,3
Cuminaldéhyde	1211	1782	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Carvone	1214	1738	-----	-----	Tr	-----	Tr	0,1	0,1	-----	-----	0,1	-----	Tr	1,4	0,8	1,6
Cumin alcool	1262	2407	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Acétate de bornyle	1269	1583	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,3	Tr	0,4
Thymol	1275	2224	0,2	0,2	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	-----	-----	Tr	0,1	-----	0,1
Carvacrol	1279	2223	Tr	-----	0,1	0,2	0,1	0,1	Tr	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
2,4-Décadiénal	1288	1798	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Eugénol	1326	2176	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Méthyleugénol	1369	2019	0,8	0,6	0,3	1,2	0,9	0,5	0,2	0,3	0,3	0,2	0,1	0,3	0,2	0,1	0,3
α -Copaène	1373	1492	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,2	0,1
β -Cubébène	1384	1537	0,1	Tr	0,1	0,2	0,1	Tr	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr
(<i>E</i>)- β -Caryophyllène	1416	1599	-----	Tr	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
α -Cubébène	1446	1537	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Germacrène D	1473	1709	3,2	2,2	3,1	5,8	4,1	2,4	1,4	4,0	3,2	3,9	5,1	2,6	0,7	1,8	0,2
β -Sélinène	1479	2271	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	-----
Myristicine	1488	1735	Tr	Tr	-----	0,2	0,3	0,3	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr
Bicyclogermacrène	1488	1733	0,7	0,4	0,4	0,8	0,6	0,3	1,1	1,5	1,4	0,4	0,3	0,5	0,2	0,2	0,1
δ -Cadinène	1512	1749	0,1	0,2	0,1	0,4	0,3	0,2	0,7	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,1	0,2	Tr
Elemicine	1518	2226	-----	0,1	-----	0,1	0,1	-----	-----	0,1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Spathuléol	1562	2125	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	2,1
6-Méthoxy élémicine	1566	2215	22,7	24,1	27,4	37,1	38,5	39,2	16,8	39,9	33,2	30,5	34,1	27,3	54,5	34,9	58,2
Oxyde de caryophyllène	1570	1961	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Apiole dill	1590	2363	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>l</i> -Muurolool	1624	2188	-----	0,1	-----	0,2	0,2	Tr	0,7	0,2	0,3	0,2	0,1	0,4	0,3	0,3	0,2
β -Eudesmol	1632	2231	0,1	0,6	0,1	1,1	0,8	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	0,2	0,5
α -Cadinol	1634	2228	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	-----	-----	-----

<i>trans</i> -Pinocarvéol	1122	1660	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
<i>cis</i> -Verbénol	1123	1658	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>trans</i> -Verbénol	1127	1682	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	-----	Tr	0,1	0,2	0,1	Tr	Tr	0,2	Tr	Tr	Tr	
Pinocarvone	1138	1573	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,1	-----	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	
<i>p</i> -Menth 1,5-dièn-8-ol	1144	1714	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Cryptone	1155	1661	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
<i>p</i> -Cymène-8-ol	1159	1846	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Terpinéol 4	1161	1605	3,4	5,7	3,9	3,5	3,3	3,3	2,6	2,6	3,8	2,5	0,3	4,4	2,5	2,3	6,8	2,8	3,7	1,8	
Myrténal	1169	1632	-----	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-----	0,1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
α -Terpinéol	1171	1700	0,1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	0,1	-----	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	Tr
Estragole	1174	1678	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Myrténol	1177	1796	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
<i>trans</i> -Carvéol	1196	1840	-----	0,1	0,1	-----	Tr	0,1	-----	-----	-----	-----	0,2	0,6	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1
<i>cis</i> -Carvéol	1208	1871	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,2	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Cuminaldéhyde	1211	1782	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Carvone	1214	1738	-----	-----	-----	0,1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	0,1	0,9	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	
Cumin alcool	1262	2407	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Acétate de bornyle	1269	1583	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	1,2	0,8	1,5	
Thymol	1275	2224	-----	-----	-----	-----	-----	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	-----	-----	-----	Tr	0,1	0,1	0,1	
Carvacrol	1279	2223	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	Tr	Tr	-----	-----	Tr	-----	-----	-----	
2,4-Décadiénal	1288	1798	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Eugénol	1326	2176	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Méthyleugénol	1369	2019	0,3	0,9	0,5	1,4	1,5	1,3	-----	-----	-----	0,3	0,3	0,5	0,6	0,7	0,3	-----	-----	-----	
α -Copaène	1373	1492	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	-----	-----	-----	0,2	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	-----	-----	-----	
β -Cubébène	1384	1537	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	Tr	Tr	-----	-----	0,1	Tr	
(<i>E</i>)- β -Caryophyllène	1416	1599	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
α -Cubébène	1446	1537	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	
Germacrène D	1473	1709	2,3	2,5	3,7	2,4	5,3	8,3	3,0	2,8	2,2	3,8	0,3	4,6	3,3	2,5	1,5	2,6	2,1	3,2	
β -Sélinène	1479	2271	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	-----	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	
Myristicine	1488	1735	-----	Tr	Tr	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	Tr	Tr	0,1	
Bicyclogermacrène	1488	1733	0,4	0,5	1,2	0,3	0,8	0,8	0,5	0,5	0,4	0,6	0,1	1,8	1,9	1,0	0,3	0,5	0,5	0,5	
δ -Cadinène	1512	1749	0,1	0,2	0,3	0,3	0,4	0,7	0,1	0,1	0,2	0,3	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	

Elemicine	1518	2226	-----	Tr	Tr	0,2	Tr	0,4	Tr	Tr	0,1	Tr	0,1	0,3	0,1	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr
Spathuléol	1562	2125	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
6-Méthoxy élémicine	1566	2215	20,2	31,0	46,6	59,6	51,4	50,8	15,1	15,4	20,1	29,5	46,9	13,1	41,9	41,7	25,2	29,9	30,3	29,3
Oxyde de caryophyllène	1570	1961	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Apiole dill	1590	2363	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
<i>t</i>-Muurolol	1624	2188	-----	0,1	0,2	0,3	0,2	0,7	Tr	Tr	0,1	0,2	0,3	0,1	-----	0,1	0,1	0,1	0,2	-----
β-Eudesmol	1632	2231	0,2	0,6	0,7	1,9	1,2	2,3	0,4	0,4	0,9	0,2	0,5	0,4	0,4	0,3	0,3	0,2	0,1	0,3
α-Cadinol	1634	2228	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	0,2	Tr	-----	-----	Tr	-----	Tr	-----	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
α-Eudesmol	1637	2218	-----	-----	-----	-----	-----	0,2	Tr	-----	0,1	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Eudesma-4(15),7-dièn-1-β-ol	1664	2347	-----	-----	Tr	0,1	Tr	0,1	-----	-----	Tr	Tr	Tr	Tr	-----	-----	Tr	-----	-----	-----
(Z)-Ligustilide	1691	2579	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Total (%)			98,0	99,6	99,3	98,6	98,7	98,7	98,9	99,1	98,9	99,3	96,6	96,3	97,7	99,8	99,0	99,6	99,4	99,4

^a : L'ordre d'élution et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^bIr_a: Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. ^cIr_p: Indices de rétention mesurés sur colonne polaire. Tr : Traces. B : Béchar. 3 : Mars ; 4 : Avril ; 5 : Mai ; 16 : Année 2016 ; 17 : Année 2017.

Annexe 2

Tableau 1 : Activité antioxydante des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH exprimée en pourcentage d'inhibition (Protocole 1)

Concentrations (mg/ml)	BGA	BSGB1	BSGB2	Ghardaïa	Bouilef	Djerma G1
25	1,60 ± 0,32	3,17 ± 0,01	7,04 ± 0,29	15,16 ± 0,44	51,25 ± 0,87	11,28 ± 0,50
50	5,40 ± 0,53	4,84 ± 0,63	14,08 ± 0,04	18,76 ± 0,72	66,64 ± 0,03	13,49 ± 0,38
100	8,21 ± 0,66	14,59 ± 0,06	25,80 ± 0,92	41,26 ± 0,53	86,07 ± 0,39	29,55 ± 0,54
200	13,68 ± 0,40	17,46 ± 0,91	39,96 ± 0,02	54,16 ± 0,38	92,27 ± 0,21	35,19 ± 0,02
400	32,14 ± 0,04	23,05 ± 0,46	53,30 ± 0,90	66,71 ± 0,33	94,99 ± 0,86	49,18 ± 0,06
800	43,16 ± 0,12	31,67 ± 0,01	69,01 ± 0,31	79,69 ± 0,88	98,19 ± 0,22	63,31 ± 0,74

BGA : Béchar groupe A ; BSGB1 : Béchar sous-groupe B1 ; BSGB2 : Béchar sous-groupe B2.

Tableau 2 : Activité antioxydante des huiles essentielles des parties aériennes de *Pituranthos scoparius* vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH exprimée en pourcentage d'inhibition (Protocole 2)

Concentrations (mg/ml)	BGA	BSGB1	BSGB2	Ghardaïa
0,015625	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
0,03125	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
0,0625	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
0,125	1,76 ± 0,38	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	2,39 ± 0,32
0,25	2,64 ± 0,10	0,00 ± 0,00	1,32 ± 0,60	3,83 ± 0,20
0,5	3,52 ± 0,25	0,00 ± 0,00	2,64 ± 0,35	4,78 ± 0,60
1	4,41 ± 0,60	1,32 ± 0,11	4,85 ± 0,21	6,22 ± 0,11
2	7,49 ± 0,16	3,52 ± 0,23	8,37 ± 0,12	6,22 ± 0,08
4	10,13 ± 0,44	4,85 ± 0,18	11,89 ± 0,43	10,05 ± 0,27
8	12,33 ± 0,28	6,61 ± 0,42	28,63 ± 0,20	24,40 ± 0,43
16	30,40 ± 0,50	9,69 ± 0,28	40,97 ± 0,44	40,67 ± 0,29
32	42,73 ± 0,43	16,30 ± 0,33	51,10 ± 0,28	55,98 ± 0,31
64	55,51 ± 0,15	26,87 ± 0,22	70,93 ± 0,78	69,86 ± 0,24
128	70,93 ± 0,34	48,46 ± 0,41	84,58 ± 0,51	77,99 ± 0,38
256	86,78 ± 0,10	74,89 ± 0,59	88,99 ± 0,10	86,60 ± 0,14

BGA : Béchar groupe A ; BSGB1 : Béchar sous-groupe B1 ; BSGB2 : Béchar sous-groupe B2.

Annexe 3

Tableau 1 : Activité antioxydante des huiles essentielles des parties aériennes de *Santolina africana* vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH exprimée en pourcentage d'inhibition (Protocoles 1 et 2)

Protocole 1		Protocole 2		
Echantillon 2016		Echantillon 2018	Echantillon 2018	
Concentrations (mg/ml)	% d'inhibition		Concentrations (mg/ml)	% d'inhibition
25	13,98 ± 0,20	2,01 ± 0,18	0,015625	13,45 ± 0,35
50	31,09 ± 0,24	8,04 ± 0,04	0,03125	13,25 ± 0,60
100	63,75 ± 0,42	22,97 ± 0,18	0,0625	14,26 ± 0,92
200	83,75 ± 0,33	38,98 ± 0,56	0,125	20,08 ± 0,92
400	92,81 ± 0,27	55,39 ± 0,97	0,25	23,09 ± 0,35
800	96,02 ± 0,08	78,90 ± 0,01	0,5	28,31 ± 1,20
			1	42,57 ± 0,92
			2	51,41 ± 2,12
			4	62,85 ± 0,92
			8	70,68 ± 1,84
			16	77,51 ± 2,12
			32	85,54 ± 2,17
			64	91,97 ± 1,25
			128	99,60 ± 0,35
			256	100,00 ± 0,00

Annexe 4

Tableau 1 : Composition chimique des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* récoltées dans la région de Béchar (Juillet 2017)

Composés ^a	I _r ^{a,b}	I _r ^{p,c}	Parties aériennes							Parties souterraines (Rhizome)					Plante complète			
			B17	B17	B17	B17	B17	B17	B17	B17	B17	B17	B17	B17	B17	B17	B17	B17
			E1 PA	E2 PA	E3 PA	E4 PA	E5 PA	E6 PA	E1 PA	E2 R	E3 R	E4 R	E5 R	E6 R	E7 PC	E8 PC	E9 PC	E10 PC
Tricyclène	920		----	----	0,1	----	----	0,1	----	----	Tr	Tr	----	----	----	Tr	Tr	----
α -Pinène	932	1016	Tr	----	0,1	Tr	Tr	0,1	----	----	Tr	0,1	Tr	----	Tr	0,1	Tr	Tr
Camphène	942	1063	----	----	0,2	Tr	Tr	0,2	----	----	Tr	0,2	Tr	----	----	0,1	Tr	Tr
2-Carène	995	1130	2,1	11,1	12,6	9,8	8,0	10,3	4,8	8,2	8,3	8,5	8,4	7,5	5,4	8,2	6,9	8,6
α -Phellandrène	996	1163	0,1	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
α -Terpinène	1008	1178	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	Tr	0,1	0,2
<i>p</i> -Cymène	1010	1269	0,3	0,6	0,7	0,5	0,4	0,7	0,4	0,7	0,5	0,8	0,5	0,6	0,7	0,7	0,6	0,5
Limonène*	1020	1199	2,1	2,5	1,8	2,2	2,5	1,6	3,9	1,8	4,1	1,9	2,2	1,6	5,6	2,9	4,6	5,9
β -Phellandrène*	1020	1208	0,6	0,9	1,4	1,0	0,8	1,1	0,8	1,3	1,0	1,4	0,7	1,0	1,0	0,9	0,8	1,3
(<i>Z</i>)- β -Ocimène	1026	1230	0,2	0,5	0,3	0,5	0,2	0,3	0,3	0,5	0,3	0,5	0,3	0,3	0,2	0,2	0,2	0,4
(<i>E</i>)- β -Ocimène	1038	1247	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
Terpinolène	1078		Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1
Fenchol	1098	1578	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,3	0,1	0,4	0,1	0,2	0,1	0,6	0,3	0,4	0,3
<i>trans-p</i> -Menth-2-ène-1-ol	1108	1559	10,5	31,6	19,4	31,1	30,8	20,7	31,7	28,7	29,0	21,8	28,4	28,9	26,3	23,8	24,8	26,6
<i>cis-p</i> -Menth-2,8-diène-1-ol	1116	1662	Tr	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr
<i>cis-p</i> -Menth-2-ène-1-ol	1124	1624	7,2	18,3	13,4	19,9	19,5	14,6	19,8	20,0	18,1	15,8	16,9	20,2	17,0	15,6	15,3	16,1
Bornéol	1148	1696	----	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	----	Tr	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	----
Terpinéol-4	1160	1597	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	----	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr	0,1	Tr	0,1	----
α -Terpinéol	1171	1692	2,1	1,6	1,1	1,6	2,7	1,2	4,5	1,6	3,8	1,4	2,0	1,7	5,8	3,0	4,3	3,8
<i>cis</i> -Pipéritol	1180	1674	3,2	12,6	5,3	9,3	9,2	5,6	9,0	8,2	8,7	5,7	10,8	8,3	7,8	7,1	6,9	7,1
<i>trans</i> -Pipéritol	1191	1741	4,6	10,6	8,0	12,0	11,5	8,8	11,7	12,2	10,5	9,7	9,9	12,5	10,1	9,3	8,4	8,9
Nérol	1209	1795	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,4	0,2	0,2	0,1
Pipéritone	1229	1722	0,2	0,9	0,5	0,6	0,6	0,6	0,5	0,7	0,4	0,7	0,8	0,8	0,6	0,7	0,5	0,3
Géranol	1239	1842	0,1	0,7	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,9	0,1	0,1	0,5	0,9	0,1	0,1	0,2	0,1
δ -Elémène	1331	1464	0,1	----	Tr	Tr	Tr	Tr	----	----	Tr	Tr	Tr	----	----	Tr	Tr	----

β-Elèmène	1385	1584	2,6	0,1	0,7	0,2	0,2	0,6	0,4	0,2	0,2	0,5	0,5	0,2	0,3	0,5	0,5	0,4
Cascarilladiène (Eudesma-5,7-diène)	1411	1568	0,2	----	Tr	----	----	Tr	Tr	Tr	----	Tr	Tr	Tr	----	Tr	Tr	----
(E)-β-Caryophyllène	1416	1590	0,4	Tr	0,1	----	----	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	----
γ-Elèmène	1426		0,2	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	----	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	----
γ-Muuroolène	1467		0,3	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	----	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	Tr
Séline-4,11-diène	1473	1667	1,0	Tr	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr
Germacrène D	1476	1701	0,6	0,1	0,3	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,3	0,1	Tr
β-Sélinène	1479	1710	0,8	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr	0,3	0,1	0,1	Tr	Tr	Tr	0,1
δ-Sélinène	1482	1685	0,7	0,1	0,3	0,1	0,1	0,3	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	Tr
4épi Cubébol	1485	1879	0,6	Tr	0,2	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1
α-Sélinène	1488	1716	0,6	Tr	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	Tr
α-Bulnésène	1496	1707	0,5	----	0,1	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	Tr	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	----
γ-Cadinène	1502	1751	1,8	0,2	0,7	0,2	0,2	0,7	0,4	0,3	0,2	0,6	0,5	0,4	0,4	0,6	0,5	0,3
δ-Cadinène	1510	1749	0,3	Tr	0,2	0,1	0,1	0,2	Tr	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,2	Tr
β-Elémol	1534	2074	9,8	0,5	6,3	1,9	1,9	6,4	1,9	1,4	2,4	6,1	2,1	1,4	2,8	5,1	6,8	5,6
Germacrène B	1549	1819	0,8	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr
Spathuléol	1560	2115	0,3	0,1	0,5	0,2	0,2	0,5	0,1	0,2	0,2	0,5	0,2	0,2	0,3	0,4	0,1	0,2
5épi, 7épi α-Eudesmol	1590	2132	0,9	Tr	0,5	0,1	0,1	0,4	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,1	0,3	0,4	0,2
Séline-6-en-4-ol	1601	2155	5,1	0,8	2,1	1,0	1,1	1,9	1,4	1,5	1,4	1,5	1,5	1,5	1,2	1,6	1,3	1,3
Alismol	1606	2245	0,6	0,1	0,4	0,2	0,2	0,4	0,1	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,1
Erémoligéol	1610	2185	0,5	Tr	0,3	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1
γ-Eudesmol*	1613	2159	1,5	0,1	1,0	0,3	0,3	1,0	0,1	0,2	0,3	1,0	0,3	0,2	0,5	0,8	0,7	0,1
5épi γ-Eudesmol *	1613	2093	0,3	----	0,1	Tr	----	0,1	----	Tr	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	----
τ-Muurolol	1619	2171	1,5	0,1	0,8	0,1	0,2	0,7	0,3	0,4	0,2	0,6	0,4	0,4	0,1	0,5	1,0	0,4
τ-Cadinol	1621	2161	1,8	----	0,5	----	----	0,3	0,2	----	----	0,4	Tr	----	0,3	0,3	0,3	0,6
α-Cadinol	1625	2220	0,9	0,2	0,4	0,2	0,1	0,4	Tr	0,5	0,1	0,3	Tr	0,5	0,1	0,3	0,4	0,3
β-Eudesmol *	1633	2220	4,0	0,3	3,4	0,8	0,9	3,4	0,7	0,4	1,0	3,3	0,9	0,6	1,7	2,6	1,7	1,7
Valérianol*	1633	2204	1,0	Tr	0,4	0,1	0,1	0,4	0,2	0,4	0,1	0,3	0,2	0,2	0,1	0,3	0,5	0,4
α-Eudesmol	1639	2211	3,0	0,1	2,1	0,6	0,6	1,9	0,5	0,4	0,7	1,5	0,6	0,4	1,0	1,6	1,3	1,2
Intermédiaireol	1641	2223	3,3	0,7	1,8	0,7	0,8	1,7	1,0	1,2	1,0	1,6	1,2	1,2	1,1	1,5	1,1	1,0
Juniper camphor	1677	2287	9,4	0,6	3,5	1,0	1,2	3,3	1,5	2,0	1,7	2,9	1,8	1,8	1,6	2,5	1,6	1,9

Géranyl linalol	1694	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr
Total (%)		89,1	96,9	93,0	97,4	96,2	92,9	97,9	95,8	96,6	93,2	94,8	95,2	95,0	94,2	94,4	96,9

^a : L'ordre d'éluion et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^bIr_a: Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. ^cIr_p: Indices de rétention mesurés sur colonne polaire. Tr : Traces. B17 : Béchar 2017, PC : Plante complète (Rhizome, tiges et feuilles) ; PA : Parties aériennes (Tiges et feuilles).

Tableau 2 : Composition chimique des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* récoltées dans la région de Ghardaïa (Avril 2016 – Janvier 2017)

Composés	Ir _a ^b	Ir _p ^c	Ghardaïa 2016							Ghardaïa 2017						
			G16	G16	G16	G16	G16	G16	G16	G17	G17	G17	G17	G17	G17	G17
			E1 PC	E2 PC	E3 PC	E4 PC	E5 PC	E6 PC	E7 PC	E1 PC	E2 PC	E3 PC	E4 PC	E5 PC	E6 PC	E7 PC
Tricyclène	920		----	----	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	0,1
α -Pinène	932	1016	----	----	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	0,3	0,2	Tr	0,2	0,1
Camphène	942	1063	Tr	Tr	0,2	0,1	Tr	Tr	0,1	0,2	0,1	0,6	0,3	0,1	0,3	0,2
2-Carène	995	1130	13,1	1,0	6,4	8,8	7,7	9,3	9,0	17,0	6,1	3,6	10,2	8,8	10,5	8,1
α -Phellandrène	996	1163	----	Tr	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
α -Terpinène	1008	1178	0,2	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr	0,1	0,2	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1
p-Cymène	1010	1269	1,4	0,5	1,3	2,5	1,9	1,4	1,9	1,5	0,8	1,0	1,5	1,8	1,2	1,2
Limonène*	1020	1199	2,4	0,3	1,5	1,6	1,4	1,7	1,8	2,5	1,4	3,5	1,8	1,6	1,8	1,6
β -Phellandrène*	1020	1208	2,3	0,5	----	1,8	1,2	1,3	1,8	2,4	1,4	1,0	1,0	0,9	1,2	1,2
(Z)- β -Ocimène	1026	1230	0,2	0,1	Tr	Tr	Tr	0,1	0,1	0,4	0,1	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2
(E)- β -Ocimène	1038	1247	0,1	Tr	----	----	Tr	Tr	Tr	0,2	Tr	Tr	0,1	Tr	Tr	0,1
Terpinolène	1078		----	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	Tr	----	0,1	Tr	0,1	0,1	Tr	Tr
Fenchol	1098	1578	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1
<i>trans-p</i> -Menth-2-ène-1-ol	1108	1559	28,5	25,2	18,9	15,0	23,9	27,1	19,8	22,6	18,5	11,6	26,8	18,0	20,7	22,5
<i>cis-p</i> -Menth-2,8-diène-1-ol	1116	1662	----	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,2
<i>cis-p</i> -Menth-2-ène-1-ol	1124	1624	16,3	18,5	12,8	10,8	16,5	16,3	13,0	15,4	13,8	8,2	13,5	11,5	14,6	13,9
Bornéol	1148	1696	----	0,1	0,1	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	0,1	0,2	0,1	Tr	0,1	0,1
Terpinéol-4	1160	1597	0,3	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	Tr	0,2	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2
α -Terpinéol	1171	1692	1,2	1,3	1,2	1,1	1,2	1,4	1,2	0,9	1,3	2,7	1,2	0,9	1,4	1,3
<i>cis</i> -Pipéritel	1180	1674	8,5	8,6	5,1	3,9	6,8	8,6	5,7	5,4	5,3	3,3	11,0	7,4	5,5	7,9

<i>trans</i> -Pipéritol	1191	1741	8,8	12,8	7,3	6,5	9,6	9,2	7,5	8,8	8,9	5,1	7,2	7,1	8,8	8,3
Nérol	1209	1795	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	----	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Pipéritone	1229	1722	0,9	1,1	1,2	1,0	2,2	1,4	1,1	0,6	0,5	0,5	2	1,3	0,9	1,1
Géraniol	1239	1842	0,3	0,2	0,3	0,1	Tr	0,4	0,3	0,3	Tr	0,5	0,3	0,2	0,4	0,2
δ -Elémène	1331	1464	----	Tr	Tr	0,1	----	----	Tr	----	Tr	Tr	----	Tr	----	Tr
β -Elémène	1385	1584	0,3	0,8	0,9	1,5	0,7	0,4	1,0	0,5	0,8	1,3	0,5	1,2	0,7	0,7
Cascarilladiène (Eudesma-5,7-diène)	1411	1568	----	Tr	Tr	Tr	----	----	Tr	----	Tr	Tr	0,1	Tr	Tr	Tr
(<i>E</i>)- β -Caryophyllène	1416	1590	----	0,1	0,1	0,1	Tr	----	Tr	----	Tr	0,1	----	0,1	Tr	Tr
γ -Elémène	1426		----	0,1	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	----	Tr	Tr	0,1	0,1	Tr	Tr
γ -Muuroène	1467		----	0,4	0,3	0,4	0,3	0,1	0,3	0,1	0,2	0,3	0,2	0,6	0,1	0,2
Séline-4,11-diène	1473	1667	Tr	0,2	0,1	0,2	0,1	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	Tr	0,2	Tr	0,1
Germacrène D	1476	1701	Tr	0,4	0,3	0,5	0,2	0,1	0,3	Tr	----	----	----	----	----	----
β -Sélinène	1479	1710	0,1	0,1	0,3	0,5	0,3	0,2	0,4	0,1	0,3	0,4	0,1	0,5	0,2	0,2
δ -Sélinène	1482	1685	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2	0,1	0,2	0,1	0,5	0,3	0,3	0,6	0,2	0,4
4épi Cubébol	1485	1879	0,1	0,2	0,1	0,2	Tr	Tr	0,2	0,1	0,3	0,4	0,1	0,4	0,2	0,2
α -Sélinène	1488	1716	Tr	0,3	0,2	0,3	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	Tr	0,1	0,1	0,2
α -Bulnésène	1496	1707	----	0,1	Tr	0,1	Tr	Tr	0,1	----	0,1	0,1	Tr	0,1	Tr	Tr
γ -Cadinène	1502	1751	0,2	0,7	0,7	0,7	0,5	0,3	0,5	0,2	0,6	0,9	0,4	0,9	0,5	0,5
δ -Cadinène	1510	1749	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,4	0,3	0,1	0,1	0,2	0,3
β -Elémol	1534	2074	6,4	5,5	13,6	13,5	7,6	6,8	11,0	7,4	9,9	20,7	6,8	8,0	9,5	8,6
Germacrène B	1549	1819	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,1	Tr	0,1	0,1	Tr	0,1	Tr	0,1
Spathuléol	1560	2115	Tr	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	Tr	0,3	0,4	0,2	0,3	0,3	0,3
5épi, 7épi α -Eudesmol	1590	2132	0,1	0,5	0,3	1,0	0,4	0,2	0,5	0,2	0,8	0,6	0,1	0,5	0,4	0,6
Séline-6-en-4-ol	1601	2155	0,6	1,3	1,0	0,9	0,4	0,7	0,9	0,5	1,3	1,5	0,8	1,0	0,8	1,1
Alismol	1606	2245	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,5	0,1	0,1
Erémoligénol	1610	2185	Tr	0,2	0,4	0,3	0,1	0,1	0,2	Tr	0,5	0,5	0,1	0,3	0,3	0,3
γ -Eudesmol*	1613	2159	0,1	0,8	1,4	1,7	0,6	0,6	1,2	0,2	1,6	2,1	0,4	0,9	1,4	1,1
5épi γ -Eudesmol *	1613	2093	----	0,2	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1	----	0,3	0,2	Tr	0,1	0,2	0,2
τ -Muurool	1619	2171	0,5	0,8	0,5	1,6	0,7	0,3	0,9	0,4	1,9	1,0	0,4	1,0	0,7	1,2
τ -Cadinol	1621	2161	0,1	----	----	----	0,3	----	----	0,5	----	0,6	----	0,3	----	----
α -Cadinol	1625	2220	Tr	0,4	0,4	0,4	0,3	0,2	0,3	0,1	0,4	0,5	0,2	0,5	0,4	0,3

β-Eudesmol *	1633	2220	1,8	2,5	5,7	5,6	2,6	2,3	4,4	3,7	4,6	7,2	2,0	4,1	4,4	3,3
Valérianol*	1633	2204	0,2	0,4	0,3	0,8	0,4	0,1	0,5	0,3	1,0	0,6	0,2	0,5	0,4	0,6
α-Eudesmol	1639	2211	1,1	1,3	3,0	2,6	0,9	1,2	2,2	2,3	3,8	4,0	0,6	1,4	2,6	2,2
Intermédiol	1641	2223	0,6	1,8	1,3	1,6	1,1	0,7	1,2	0,2	0,7	1,5	0,9	2,7	0,7	0,5
Juniper camphor	1677	2287	0,8	1,8	1,3	1,0	0,5	0,8	1,1	0,9	1,8	2,5	1,0	1,5	1,1	1,5
Géranyl linalol	1694		Tr	Tr	----	----	----	----	----	Tr	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1
Total (%)			98,1	92,2	90,1	90,4	92,2	94,9	92,4	97,0	91,6	91,9	94,2	88,9	94,1	93,4

^a : L'ordre d'élution et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^bIr_a: Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. ^cIr_p: Indices de rétention mesurés sur colonne polaire. Tr : Traces. G16 et G17 : Ghardaïa 2016 et 2017, PC : Plante complète (Rhizome, tiges et feuilles).

Annexe 5

Tableau 1 : Activité antioxydante des huiles essentielles de *Cymbopogon schoenanthus* vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH exprimée en pourcentage d'inhibition (Protocole 2)

Concentrations (mg/ml)	Huiles essentielles (% d'inhibition)	
	Groupe I	Sous-groupe IIB
0,015625	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
0,03125	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
0,0625	2,39 ± 0,04	2,39 ± 0,12
0,125	3,83 ± 0,15	3,83 ± 0,16
0,25	4,78 ± 0,12	6,70 ± 0,21
0,5	6,70 ± 0,06	11,96 ± 0,09
1	12,44 ± 0,23	14,83 ± 0,11
2	17,22 ± 0,11	20,10 ± 0,16
4	19,62 ± 0,03	24,40 ± 0,08
8	28,71 ± 0,07	37,32 ± 0,04
16	44,98 ± 0,09	67,46 ± 0,12
32	71,77 ± 0,13	75,12 ± 0,22
64	84,21 ± 0,18	81,82 ± 0,17
128	88,04 ± 0,21	87,08 ± 0,10
256	93,78 ± 0,11	Non testé

Annexe 6

Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* - Méthode des disques : Photos représentant les zones d'inhibition des échantillons d'HE relatives aux souches les plus sensibles



Zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus* par l'HE de *P. scoparius* – Béchar GA



Zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus* par l'HE de *P. scoparius* – Djerma G1



Zone d'inhibition d'*Aspergillus fumigatus* par l'HE de *P. scoparius* - Ghardaïa



Zone d'inhibition de d'*Aspergillus flavus* par l'HE de *P. scoparius* – Biskra

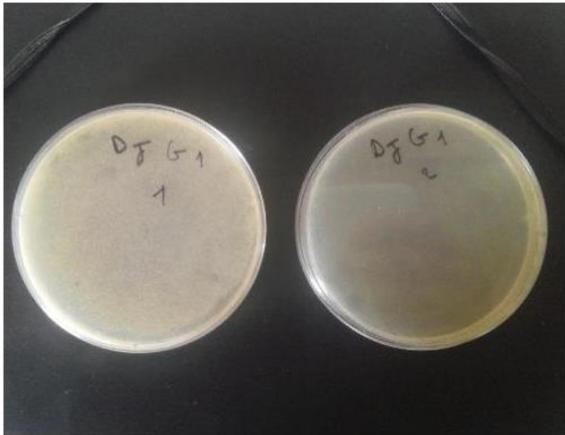


Zone d'inhibition de *Candida albicans* par l'HE de *P. scoparius* – Djerma G1



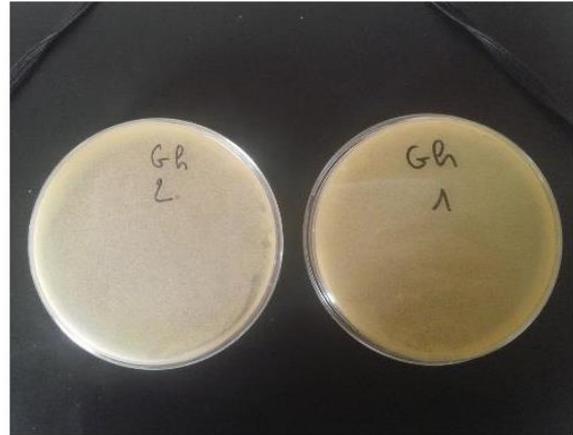
Zone d'inhibition de *Fusarium oxysporum* par l'HE de *P. scoparius* – Ghardaïa

Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pituranthos scoparius* - CMI : Photos représentant la résistance ou bien l'inhibition totale de quelques souches microbiennes vis-à-vis des huiles essentielles



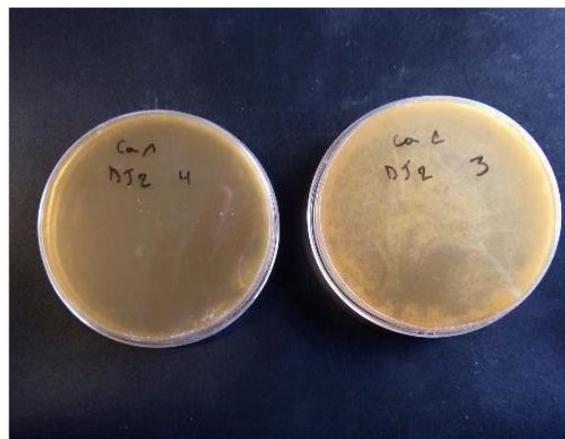
***P. scoparius* – Djerma G1**

Résistance partielle de *Candida albicans* à la concentration de 2 µl/ml



***P. scoparius* – Ghardaïa**

Résistance de *Staphylococcus aureus* à la concentration de 1 et 2 µl/ml



***P. scoparius* – Djerma G2**

Inhibition totale de *Candida albicans* à la concentration de 4 µl/ml

**Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Santolina africana* - Méthode des disques :
Photos représentant les zones d'inhibition des échantillons d'HE relatives aux souches les plus sensibles**



Zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus* par l'HE de *Santolina africana*



Zone d'inhibition de *Candida albicans* par l'HE de *Santolina africana*



Zone d'inhibition de *Candida albicans* par l'HE de *Santolina africana*



Zone d'inhibition de *Fusarium oxysporum* par l'HE de *Santolina africana*



Zone d'inhibition de *Aspergillus flavus* par l'HE de *Santolina africana*



Zone d'inhibition de *Aspergillus fumigatus* par l'HE de *Santolina africana*

Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* - Méthode des disques : Photos représentant les zones d'inhibition des échantillons d'HE relatives aux souches les plus sensibles



Zone d'inhibition de *Staphylococcus aureus* par l'HE de *C. schoenanthus*



Zone d'inhibition de *Candida albicans* par l'HE de *C. schoenanthus*



Zone d'inhibition de *Candida albicans* par l'HE de *C. schoenanthus*



Zone d'inhibition de *Aspergillus flavus* par l'HE de *C. schoenanthus*



Zone d'inhibition de *Fusarium oxysporum* par l'HE de *C. schoenanthus*



Zone d'inhibition de *Aspergillus fumigatus* par l'HE de *C. schoenanthus*

Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon schoenanthus* - CMI : Photos représentant la résistance ou bien l'inhibition totale de quelques souches microbiennes vis-à-vis des huiles essentielles



Inhibition totale de *Staphylococcus aureus* par à la concentration de 1 $\mu\text{l/ml}$



Inhibition totale de *Candida albicans* à la concentration de 2 $\mu\text{l/ml}$



Résistance partielle de *Aspergillus fumigatus* à la concentration de 0,5 $\mu\text{l/ml}$



Inhibition totale de *Aspergillus flavus* à la concentration de 2 $\mu\text{l/ml}$

Publications

Valorisation des travaux de la thèse

Les travaux exposés dans ce manuscrit ont fait l'objet de deux articles internationaux publiés dans les revues suivantes : *Chemistry and Biodiversity* ; *Molecules*. Journaux indexés et reconnus avec un comité de lecture international.

Malti CEW, Boussaïd M, Belyagoubi L, Paoli M, Gibernau M, Tomi F, Atik-Bekkara F, Bekhechi C. (2018) Chemical Variability of the Essential Oil of *Pituranthos scoparius* from Algeria. *Chemistry and Biodiversity*, 15(7), e1800149.

Malti CEW, Baccati C, Mariani M, Hassani F, Babali B, Atik-Bekkara F, Paoli M, Maury J, Tomi F, Bekhechi C. (2019) Biological Activities and Chemical Composition of *Santolina africana* Jord. et Fourr. Aerial Part Essential Oil from Algeria: Occurrence of Polyacetylene Derivatives. *Molecules*, 24, 204.

Participation à d'autres travaux de recherche

Bekhechi C, **Malti CEW**, Boussaïd M, Achouri I, Belilet K, Gibernau M, Casanova J, Tomi F. (2019) Composition and Chemical Variability of *Myrtus communis* Leaf Oil From Northwestern Algeria. *Natural Product Communications*, 14(5), 1-6.

Chemical Variability of the Essential Oil of *Pituranthos scoparius* from Algeria

Charaf Eddine Watheq Malti,^a Maghnia Boussaïd,^a Larbi Belyagoubi,^a Mathieu Paoli,^b Marc Gibernau,^b Félix Tomi,^{*b} Fewzia Atik Bekkara,^a and Chahrazed Bekhechi^a

^aLaboratoire des Produits Naturels, Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd, BP 119, Tlemcen, Algérie

^bUniversité de Corse-CNRS, UMR CNRS 6134, Equipe Chimie et Biomasse, Route des Sanguinaires, 20000 Ajaccio, France, e-mail: felix.tomi@univ-corse.fr

The chemical composition of 93 oil samples from the aerial parts of *Pituranthos scoparius*, harvested in three regions of Algeria, was investigated by GC-FID, GC/MS and ¹³C-NMR. Monoterpene hydrocarbons dominated in association with phenylpropanoids and a chemical variability was found highlighting three clusters. The composition of group I (36 samples) exhibited an atypical composition characterized by a very high contents of 6-methoxyelemicine (13.0 – 59.6%), followed by sabinene (1.1 – 43.0%) and limonene (6.6 – 39.0%), while the samples of group II (12 samples) contained a high content of limonene (9.2 – 44.0%), followed by myristicine (0.0 – 29.4%) and a lower amount of sabinene (0.8 – 2.3%). Group III (45 samples) could be divided in two subgroups. Subgroup SGIIIA was characterized by a very high content of sabinene (28.0 – 55.6%), followed by elemicine (0.0 – 29.1%), while the samples belonging to SGIIIB were characterized by the lower content of sabinene (6.2 – 35.5%) and a significant content of myristicine (1.5 – 32.4%), α -pinene (4.2 – 31.0%) and dill apiole (0.1 – 31.4%). Each harvested region was characterized by a different chemical composition.

Keywords: Apiaceae, *Pituranthos scoparius*, GC, GC/MS, ¹³C-NMR, statistical analyses.

Introduction

The genus *Pituranthos* Viv. (Syn. *Deverra* DC.) (Apiaceae family) is represented by 12 species widely distributed in North Africa.^[1] This genus is characterized by aphyllous, ephedroids perennial plants, forming dense clumps of generally branched erected stems. The umbels are polyphyllous involucre and involucel. The fruits are ovoid mericarps presenting six strips. In the flora of Algeria, this genus is represented by four species, namely, *P. chloranthus* (COSS. & DURIEU) BENTH. & HOOK., *P. battandieri* MAIRE, *P. scoparius* (COSS. & DURIEU) BENTH. & HOOK. and *P. reboudii* (COSS. & DURIEU) BENTH. & HOOK.^[2]

P. scoparius (COSS. & DURIEU) BENTH. & HOOK. (Syn. *Deverra scoparia* COSS. & DURIEU^{[1][3]}) is an endemic plant of North Africa (Mauritania, Morocco, Algeria and Tunisia) growing spontaneously in rocky pastures and widespread in high plateau and throughout the Sahara.^{[1][2][4]} The plants form upright tufts with non-divaricate stems that are in general totally aphyllous. The flowering stems present lateral umbels with short peduncles (1 – 3 cm). The flowers are white and the fruit is longer than wide, bristly with erect hairs.^[2]

P. scoparius, commonly known as 'Guezzah',^[2] has been used in folk medicine for the treatment of spasms, pains, diabetes, hepatitis, digestive disorders, urinary infections and for postpartum care.^{[5][6]} *P. scoparius* is also commonly known as 'Tattai' by Touareg people^[7] who used it in food as aroma for meal and bread.^[8]

Phytochemical studies revealed that *P. scoparius* contains a large variety of compounds. Five glycosylated flavonoids were isolated in butanolic extract (apigenin 7-O-glucoside or apigetrin, apigenin 7-O-rhamnoside, apigenin 6,8-di-C-glucoside, isorhamnetin 3-O-glucoside and apigenin 6,8-di-C-glucoside (vicenin-2)).^[9] Two isocoumarins have been isolated from the ethyl acetate extract of the root of *P. scoparius*: 6-hydroxy-5-methoxy-3-propylisocoumarin and 6-hydroxy-5,7-dimethoxy-3-propylisocoumarin.^[10] Two cinnamic acids (5-O-caffeoylquinic acid and 5-feruloylquinic acid), and 13 known flavonoids (vicenin-2, six quercetin and six isorhamnetin O-glycosylated derivatives) were identified in methanolic and aqueous extracts.^[11]

Some biological activities have been reported for the extract or essential oils of *P. scoparius*, such

as antioxidant activity^[12–15] and antimicrobial activity.^{[9][14][16][17]}

Several studies have been carried out on the composition of *P. scoparius* essential oil obtained by hydrodistillation of aerial parts, stems, flowers and seeds. However, most of the articles reported on the analysis of only one or two oil samples. The composition of the essential oil of different parts of *P. scoparius* harvested in Algeria exhibited a large chemical variability. Almost all the investigated plants were characterized by the occurrence of monoterpenes or phenylpropanoids as major components. Indeed, the first analysis was undertaken in 1999 on twigs and seeds oils isolated from *P. scoparius* harvested during autumn in Aïn Diss (Oum El Boughi, eastern Algeria). The twig oil contained mainly α -pinene (34%) and apiole (15%). In contrast, the seeds oil contained apiole (52%), bornyl acetate (21%) and α -pinene (11%).^[18]

Later, *Vérité et al.*^[19] compared the chemical composition of two oil samples isolated from different organs (stems and seeds) of *P. scoparius* harvested in April in Ghardaïa Province (southern Algeria). Seeds yielded an essential oil characterized by dill apiole (12.2%), limonene (11.2%), myristicine (11.1%), α -pinene (8.2%) and *p*-cymene (7.5%), whereas geracrene D (12.7%), limonene (9.8%) and myristicine (7.2%) were the main components of the stem oil.

Twelve essential oils from the aerial parts (stems and seeds) of *P. scoparius*, collected from different regions of Algeria (Ghardaïa, seven samples; Laghaouat, two samples and Djelfa, three samples), were also analyzed by GC and GC/MS. The composition was largely dominated by monoterpene hydrocarbons (44.4–81.9%). Some samples were also rich in phenylpropanoid compounds such as myristicine (0.0–31.1%) and dill apiole (0.4–47.3%). The statistical analyses showed the existence of two principal clusters. The chemical composition of the first group was dominated by dill apiole (1.4–47.3%) and α -pinene (23.7–35.8%) with some β -pinene (1.7–5.3%) and bornyl acetate (tr–9.6%). The samples belonging to this group were collected in the two regions of Laghouat and Djelfa. The essential oil of the second group contained much more limonene (32.7–66.5%) and myristicine (tr–31.1%). It may be noted that all samples from this group have been harvested in Ghardaïa.^[20]

During the same period, *Smaili et al.*^[21] reported on the composition of an oil sample isolated from the flowers harvested during autumn in M'sila (Center Algeria). The composition was mainly represented by monoterpenes, followed by phenylpropanoid derivatives. The main constituents of the essential oil were

myristicine (24.1%), α -pinene (17.4%) and α -phellandrene (15.6%).

Oils, obtained from aerial parts harvested during the flowering stage in October, from four locations of Algeria (Boussâada (M'sila), T'Kout (Batna), El Kantra and Mechouneche (Biskra)), contained sabinene (14.8–24.8%), α -pinene (8.3–23.3%) and α -terpinene (3.7–7.7%) as main components. Myristicine (7.6%) and dill apiole (6.6%) exhibited noticeable amounts for El Kantra sample, whereas dill apiole reached up to 16.8% in the Mechouneche sample.^[22]

Chikhoun et al.^[13] investigated the composition of fresh and dried aerial parts (stems and leaves) of *P. scoparius* collected from Souk Ahras (eastern Algeria). Both oils exhibited a composition dominated by monoterpene hydrocarbons: α -pinene (34.4% and 23.6%, respectively), sabinene (16.3% and 26.5%, respectively) and *p*-cymene (10.1% and 8.6%, respectively), but no phenylpropanoid derivatives were found. *Ksouri et al.*^[14] also investigated the composition of aerial parts oil sample isolated from plants harvested in March in Tamanrasset Province (Hoggar, southern Algeria). This oil sample was characterized by a high content of limonene (46.9%), followed by 1,8-cineole (7.6%). Among the unusual components of essential oils, (3*Z*)-butylidenephthalide (2.6%) and (3*E*)-butylidenephthalide (1.2%) were also found in this sample.

It appears from literature data that the essential oil from the aerial parts of *P. scoparius* exhibited a large chemical variability. All the investigated oil samples were characterized by the occurrence of monoterpene hydrocarbons (α -pinene, sabinene and limonene) associated with phenylpropanoids (myristicine and dill apiole). The contents of these compounds varied drastically from sample to sample. However, most of the articles reported on the analyses of only one or two oil samples, including different periods of harvesting and obviously, the reported compositions are not always representative of *P. scoparius*. Moreover, the West of Algeria was never investigated in any previous articles.

So, the purpose of this study is to characterize the yield and the chemical composition of the essential oil from the aerial parts of *P. scoparius* across Algeria. Firstly, we carried out detailed analysis of ten bulk samples, by combination of chromatographic and spectroscopic techniques. Secondly, we analyzed 83 samples of aerial parts oil from individual plants harvested in five locations of Algeria, in order to determine if *P. scoparius* from Algeria produce a homogeneous oil or to evidence any eventual chemical variability.

Results and Discussion

We choose five locations of sampling exhibiting diverse climatic conditions (Figure 1): Ghardaïa, Biskra, Batna (Fesdis-Bouilef and Djerma) and Béchar. To evaluate the intra-populational variability as well as the variation during the stages of development of plant, three plants were sampled every month from September 2016 to January 2017 during the reproductive cycle, i.e., from the beginning flowering to the end fructification.

Ten oil samples were submitted to GC analyses, in combination with retention indices, on two columns of different polarity, eight samples to GC/MS and two samples to ¹³C-NMR analyses. In total, 62 compounds were identified (Table 1), including various phenylpropanoids, accounting for 91.2 – 99.3% of the whole essential oil chemical composition. The content of all the major components varied drastically from sample to sample: 6-methoxyelemicine (0.0 – 58.2%), sabinene (1.1 – 32.4%), elemicine (0.0 – 29.1%), limonene (0.7 – 26.7%), myristicine (tr – 20.1%), dill apiole (0.0 – 18.0%), α -pinene (0.7 – 17.1%), α -phellandrene (tr – 15.4%), (*Z*)-ligustilide (0.0 – 9.7%) and germacrene D (0.2 – 9.5%). Four other compounds were presented at appreciable amounts: β -pinene (0.8 – 7.1%), β -phellandrene (tr – 7.9%), terpinen-4-ol (0.2 – 7.1%) and *p*-cymene (0.5 – 5.5%).

Five samples exhibited noticeable different chemical compositions characterized by very low amounts of myristicine (0.1 – 1.4%): sample 60 was characterized by the preeminence of 6-methoxyelemicine (58.2%), followed by limonene (22.4%); three samples (10, 12 and 81) were dominated by the association of sabinene/6-methoxyelemicine/limonene (30.3%/31.3%/32.4%; 29.4%/25.1%/27.4%; 14.6%/21.6%/19.1%, respectively). Sample 24 was characterized by equal

amounts of elemicine (29.1%) and sabinene (28.0%), followed by α -pinene (10.6%). The main components of sample 52 were myristicine (19.4%) and dill apiole (16.8%), followed by α -pinene (11.2%) and sabinene (10.5%). Sample 19 contained sabinene (22.9%) and dill apiole (18.0%) as major constituents, followed by myristicine (12.7%). The sample 42 exhibited a composition dominated by myristicine (20.1%) and sabinene (19.9%), accompanied by α -pinene (10.2%). Limonene was identified as the main compound of sample 4 (26.7%). In this sample, myristicine (13.6%), α -pinene (11.3%) and α -phellandrene (11.3%) accounted appreciable amounts, while α -pinene (17.1%) and α -phellandrene (15.4%) were the major components of the sample 3, followed by (*Z*)-ligustilide (9.7%) and germacrene D (9.5%), which are notable compared to the other samples (0.0 – 2.2% and 0.2 – 3.7%, respectively). α -Phellandrene reached appreciable contents in these last two samples compared to all other samples (tr – 0.7%).

Ninety-three samples of essential oil were obtained by hydrodistillation from aerial parts from individual plants of *P. scoparius* collected in five locations in Algeria (Figure 1).

Then, the chemical composition and the yields of 93 samples isolated from the aerial parts of *P. scoparius* harvested in five locations of Algeria, will be compared in order to study any eventual chemical variability. The essential oil yields (w/w) calculated from dry material varied drastically from sample to sample ranging from 0.16 to 0.99% even within a location (Tables 2 and 3). As it could be seen from Table 2, the highest yields were obtained for Sahara locations (Béchar and Ghardaïa) and the lowest were observed for plant collected in high plateau (Biskra and Batna). Furthermore, the highest yields were also obtained in spring (Table 3, Béchar). However, a great

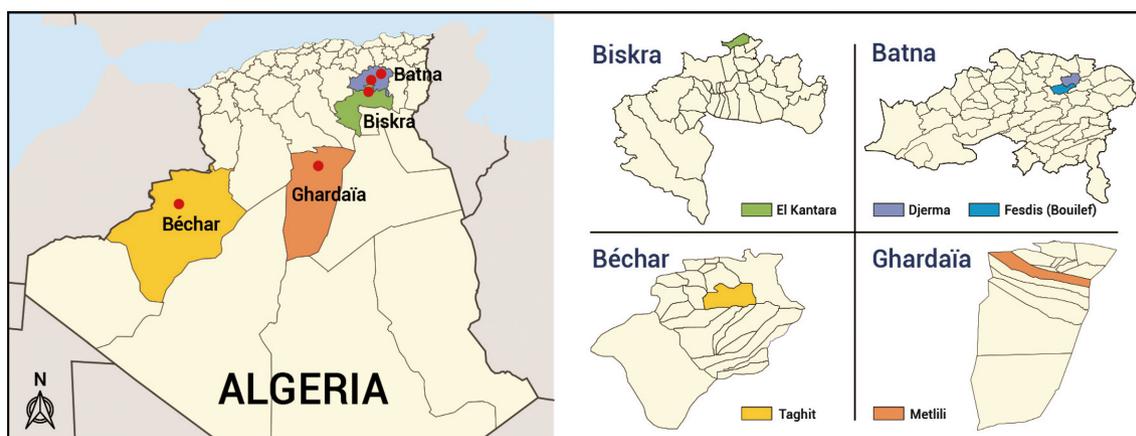


Figure 1. Sampling locations of *Pituranthos scoparius* from Algeria.

Table 1. Chemical composition of aerial parts essential oil of *Pituranthos scoparius* from Algeria

Component ^[a]	RI _a ^[b]	RI _p ^[c]	Sample										Identification mode
			3	4	10	12	19	24	42	52	81	60	
α -Thujene	922	1023	0.6	1.0	0.4	0.4	0.6	0.6	0.9	0.6	0.3	0.9	RI, MS, ¹³ C-NMR
α -Pinene	930	1022	17.1	11.3	2.9	2.8	7.2	10.6	10.2	11.2	0.7	2.4	RI, MS, ¹³ C-NMR
Camphene	942	1069	0.2	0.2	Tr ^[d]	Tr	0.1	0.1	0.1	0.1	–	0.2	RI, MS, ¹³ C-NMR
Thujadiene	946	–	–	–	–	–	Tr	–	0.1	0.1	–	–	RI, MS
Sabinene	964	1126	2.0	1.1	30.3	31.3	22.9	28.0	19.9	10.5	32.4	1.1	RI, MS, ¹³ C-NMR
β -Pinene	969	1115	7.1	3.7	1.5	1.5	3.7	1.9	4.9	2.6	0.9	0.8	RI, MS, ¹³ C-NMR
Myrcene	979	1165	1.1	1.0	0.8	0.8	0.4	0.3	0.4	0.3	1.0	0.1	RI, MS, ¹³ C-NMR
α -Phellandrene	996	1170	15.4	11.3	0.1	0.1	0.3	0.3	0.1	0.3	0.7	Tr	RI, MS, ¹³ C-NMR
δ -3-Carene	1003	1151	0.1	Tr	–	0.5	0.5	0.3	0.8	Tr	Tr	–	RI, MS
α -Terpinene	1008	1184	0.1	Tr	0.7	0.6	0.7	0.7	0.3	0.3	0.8	–	RI, MS
<i>p</i> -Cymene	1011	1275	3.9	3.3	0.5	0.6	3.0	3.5	4.7	5.5	0.7	1.6	RI, MS
Limonene*	1021	1206	9.2	26.7	14.6	21.6	1.7	0.7	1.0	2.1	19.1	22.4	RI, MS, ¹³ C-NMR
β -Phellandrene*	1021	1214	7.9	5.7	0.1	0.2	0.3	0.1	0.2	0.2	0.3	Tr	RI, MS, ¹³ C-NMR
(<i>Z</i>)- β -Ocimene	1024	1235	Tr	–	0.1	Tr	0.5	0.3	0.9	0.4	Tr	1.2	RI, MS, ¹³ C-NMR
γ -Terpinene	1047	1247	0.3	0.4	1.6	1.5	1.7	1.4	0.9	1.2	1.6	0.2	RI, MS, ¹³ C-NMR
<i>trans</i> -Sabinene hydrate	1052	1465	–	–	0.2	0.3	0.3	0.4	0.3	0.2	0.4	–	RI, MS
Terpinolene	1077	1286	0.5	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4	Tr	RI, MS, ¹³ C-NMR
<i>cis</i> -Sabinene hydrate	1082	1541	–	–	0.1	0.2	0.2	0.3	0.1	0.1	0.3	Tr	RI, MS
Campholenal	1104	1495	Tr	Tr	–	Tr	0.3	0.4	0.9	1.3	0.3	0.5	RI, MS, ¹³ C-NMR
<i>trans</i> -Pinocarveol	1122	1658	Tr	Tr	0.1	0.1	0.8	0.8	1.5	1.2	0.1	0.2	RI, MS
<i>cis</i> -Verbenol	1123	1658	–	–	–	–	0.1	0.2	0.4	0.5	0.2	0.1	RI, MS
<i>trans</i> -Verbenol	1127	1680	0.1	0.1	0.1	0.1	0.9	1.6	1.8	2.3	0.1	0.4	RI, MS, ¹³ C-NMR
Pinocarvone	1138	1571	Tr	–	–	–	0.3	0.3	0.8	0.7	–	0.1	RI, MS
<i>p</i> -Menth-1,5-dien-8-ol	1144	1714	Tr	Tr	–	–	0.2	0.2	0.2	0.4	–	Tr	RI, MS
Cryptone	1155	1661	0.1	0.1	Tr	0.1	0.2	0.3	0.2	0.2	–	–	RI, MS
<i>p</i> -Cymen-8-ol	1159	1846	Tr	Tr	–	Tr	0.1	0.2	0.3	0.1	0.1	0.1	RI, MS
Terpinen-4-ol	1160	1604	0.2	0.2	3.8	4.0	4.4	4.1	4.4	2.1	7.1	0.3	RI, MS, ¹³ C-NMR
Myrtenal	1169	1631	–	–	–	–	0.3	0.3	0.9	0.7	–	0.2	RI, MS
α -Terpineol	1171	1700	Tr	–	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	–	RI, MS
Estragole	1174	1678	Tr	–	–	Tr	0.3	0.3	0.2	0.2	–	Tr	RI, MS
Myrtenol	1177	1796	–	–	–	–	0.3	0.2	0.7	0.5	–	0.1	RI, MS
<i>trans</i> -Carveol	1196	1840	Tr	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.3	0.1	1.0	RI, MS, ¹³ C-NMR
<i>cis</i> -Carveol	1208	1871	–	–	–	Tr	0.1	–	–	–	–	0.3	RI, MS, ¹³ C-NMR
Cuminaldehyde	1211	1782	–	–	–	–	0.1	0.2	0.1	0.2	–	–	RI, MS
Carvone	1213	1738	0.1	0.1	0.1	0.1	–	Tr	0.1	0.2	Tr	1.6	RI, MS, ¹³ C-NMR
Cuminol	1262	2407	–	–	–	–	0.1	0.2	0.1	0.1	–	–	RI, MS
Bornyl acetate	1268	1583	0.1	0.2	–	0.1	0.2	–	0.1	0.4	–	0.4	RI, MS, ¹³ C-NMR
Thymol	1271	2179	0.2	0.1	–	–	0.4	0.2	0.3	0.6	0.1	0.1	RI, MS
Carvacrol	1279	2223	0.1	–	–	Tr	0.1	Tr	0.3	0.1	0.1	–	RI, MS
2,4-Decadienal	1288	1798	Tr	–	0.1	Tr	0.1	Tr	0.5	0.1	–	–	RI, MS
Eugenol	1326	2176	–	0.1	–	–	0.1	Tr	Tr	0.1	–	–	RI, MS
Methyleugenol	1369	2019	2.6	1.1	0.2	0.2	0.8	0.6	1.3	1.0	0.3	0.3	RI, MS, ¹³ C-NMR
α -Copaene	1373	1492	0.7	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.3	0.2	0.1	0.1	RI, MS
β -Cubebene	1384	1537	0.5	0.1	0.1	0.1	Tr	Tr	0.2	0.1	0.1	Tr	RI, MS
(<i>E</i>)- β -Caryophyllene	1416	1599	0.3	0.1	0.1	0.1	Tr	–	–	–	0.1	–	RI, MS
α -Cubebene	1446	1537	Tr	Tr	–	Tr	Tr	–	0.1	0.1	Tr	–	RI, MS
Germacrene D	1473	1710	9.5	2.8	2.0	3.7	0.5	0.3	0.2	0.3	3.1	0.2	RI, MS, ¹³ C-NMR
β -Selinene	1479	1712	0.3	0.1	0.1	Tr	0.1	0.1	0.2	0.2	0.1	0.1	RI, MS
Myristicine*	1488	2272	Tr	13.6	0.1	0.1	12.7	1.4	20.1	19.4	0.1	0.1	RI, MS, ¹³ C-NMR
Bicyclogermacrene*	1488	1733	0.5	0.3	0.7	0.4	–	–	–	–	0.6	0.2	RI, MS, ¹³ C-NMR
δ -Cadinene	1512	1758	1.8	0.5	0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3	0.1	Tr	RI, MS, ¹³ C-NMR
Elemicine	1518	2226	0.1	Tr	Tr	Tr	0.1	29.1	0.1	0.2	–	0.1	RI, MS
Spathulenol	1561	2125	0.4	0.8	–	–	0.9	0.5	1.6	1.7	–	2.1	RI, MS, ¹³ C-NMR
6-Methoxyelemicine	1567	2215	0.1	–	29.4	25.1	0.8	0.1	0.2	0.6	27.4	58.2	RI, MS, ¹³ C-NMR

Table 1. (cont.)

Component ^[a]	RI _a ^[b]	RI _p ^[c]	Sample										Identification mode
			3	4	10	12	19	24	42	52	81	60	
Caryophyllene oxide	1570	1961	Tr	Tr	–	Tr	0.4	0.1	Tr	0.6	–	–	RI, MS, ¹³ C-NMR
Dill apiole	1590	2363	0.1	5.0	–	–	18.0	1.4	5.0	16.8	–	Tr	RI, MS, ¹³ C-NMR
τ-Muurolool	1624	2187	1.5	0.4	0.3	0.1	1.1	1.3	1.7	1.7	–	0.2	RI, MS, ¹³ C-NMR
β-Eudesmol	1632	2230	2.9	0.9	0.1	0.3	0.3	0.3	0.7	1.1	0.1	0.5	RI, MS, ¹³ C-NMR
α-Cadinol	1634	2228	0.3	0.1	Tr	Tr	0.5	–	0.4	0.5	Tr	–	RI, MS
α-Eudesmol	1637	2218	0.2	0.1	–	–	–	–	–	–	–	–	RI, MS
Eudesma-4(15),7-dien-1β-ol	1664	2347	0.2	0.1	Tr	0.1	0.7	0.3	0.5	1.0	Tr	Tr	RI, MS
(Z)-Ligustilide	1691	2579	9.7	2.2	–	–	–	–	Tr	0.1	–	–	RI, MS, ¹³ C-NMR
Total (%)			98.0	95.4	92.1	98.0	91.2	94.9	92.4	93.5	99.3	98.4	
Monoterpene hydrocarbons			65.5	66.0	53.9	62.2	44.0	49.1	45.7	35.7	58.9	30.9	
Oxygenated monoterpenes			0.8	0.9	4.6	5.2	9.4	10.0	13.6	12.2	8.5	5.4	
Sesquiterpene hydrocarbons			13.6	4.1	3.4	4.7	1.0	0.7	1.2	1.0	4.1	0.6	
Oxygenated sesquiterpenes			5.5	2.4	0.4	0.5	3.9	2.2	4.5	6.1	0.1	2.8	
Phenylpropanoids			2.9	19.8	29.7	25.4	32.5	32.9	26.9	38.3	27.7	58.7	
Others			9.7	2.2	0.1	0.0	0.1	0.0	0.5	0.1	0.0	0.0	

^[a] Order of elution and percentages are given on apolar column (BP-1), except for compounds with * (BP-20). ^[b] RI_a: Retention indices measured on apolar column. ^[c] RI_p: Retention indices measured on polar column. ^[d] Tr: Traces.

variation was noticed when comparing 2016 vs. 2017, suggesting the probable great influence of climatic conditions.

All the 93 samples were submitted to GC-FID analyses to determine the retention indices (RIs) on two columns of different polarity. Among them, eight samples selected on the basis of their chromatographic profile were also analyzed by GC/MS and two samples by ¹³C-NMR following a computerized method developed in the Corsican laboratory.^[23–25] Therefore, the oil components were identified by comparison of their RIs and ¹³C-NMR chemical shift values with those of authentic samples compiled in our laboratory-made libraries.

Various compounds dominated the essential oil compositions and their contents varied drastically from sample to sample: 6-methoxyelemicine (0.0–59.6%), sabinene (0.8–55.6%), limonene (0.3–44.0%), α-pinene (0.7–31.0%), myristicine (0.0–32.4%), elemicine (0.0–29.1%) and dill apiole (0.0–31.4%). Other components were present at appreciable amounts: α-phellandrene (up to 17.8%), β-pinene (up to 9.6%), δ-3-carene (up to 12.4%), p-cymene (up to 9.6%), terpinen-4-ol (up to 10.9%), (Z)-ligustilide (up to 9.7%), germacrene D (up to 9.5%) and (Z)-β-ocimene (up to 7.1%).

The 93 samples were submitted to statistical analyses. Combination of hierarchical clustering dendrogram (Figure 2) and principal components analysis (PCA) (Figure 3), in which the plan defined by the first two axes described 77.49% of the total variance of the population, suggested the existence of three

principal groups, which were distinguished on the basis of 6-methoxyelemicine, sabinene, limonene, α-pinene, myristicine, elemicine and dill apiole contents. The mean percentage, the standard deviation, the minimum and the maximum percentage of the major components of group I, II and III are reported in Table 4.

The oil samples of group I (36 out of 93 samples) were clearly distinguished from those of the two other groups by high contents of 6-methoxyelemicine (13.0–59.6%, mean: 33.7%, SD: 12.3), followed by sabinene (1.1–43.0%, mean: 24.5%, SD: 10.6) and limonene (6.6–39.0%, mean: 19.4%, SD: 7.6). In addition, α-pinene (0.7–8.4%, mean: 3.0%, SD: 1.7), germacrene D (0.2–8.3%, mean: 3.0%, SD: 1.6) and terpinen-4-ol (0.3–7.0%, mean: 3.6%, SD: 1.6) were the other components present at appreciable contents. Conversely, phenylpropanoids, namely, myristicine (0.0–0.3%), elemicine (0.0–0.4%) and dill apiole (0.0–0.1%) were present in very low amounts in this group and no (Z)-ligustilide was recorded. It may be noted that the composition of all samples was quite similar. Otherwise, to the best of our knowledge, the chemical composition of group I, characterized by a high content of 6-methoxyelemicine (up to 59.6%) has never been reported in the literature from oils of the aerial parts (stems and/or flowers or seeds) of *P. scoparius*. It could be pointed out that all the samples of this group, three excepted, were isolated from plants harvested in Béchar. Moreover, the three samples coming from Ghardaïa and belonging to this group, were also dominated by

Table 2. Yields [%] of the essential oils of *Pituranthos scoparius* from Algeria

Month	Location											
	Ghardaïa			Biskra			Batna			Béchar		
	Mean ± SD ^[a]	Min ^[b]	Max ^[c]	Mean ± SD	Min	Max	Mean ± SD	Min	Max	Mean ± SD	Min	Max
September	0.43 ± 0.23	0.24	0.68	0.23 ± 0.05	0.19	0.29	0.28 ± 0.09	0.19	0.37	0.26 ± 0.06	0.22	0.33
October	0.37 ± 0.01	0.36	0.38	0.21 ± 0.02	0.19	0.22	0.29 ± 0.03	0.27	0.33	0.23 ± 0.04	0.18	0.25
November	0.42 ± 0.04	0.40	0.47	0.32 ± 0.12	0.19	0.43	0.26 ± 0.02	0.25	0.28	0.21 ± 0.03	0.17	0.23
December	0.66 ± 0.06	0.60	0.70	0.20 ± 0.03	0.17	0.23	0.29 ± 0.11	0.16	0.36	0.22 ± 0.03	0.18	0.25
January	0.58 ± 0.04	0.55	0.63	0.22 ± 0.01	0.21	0.23	0.27 ± 0.01	0.26	0.27	0.22 ± 0.03	0.19	0.25

^[a] SD: standard deviation. ^[b] Min: minimum. ^[c] Max: maximum.**Table 3.** Yields [%] of the essential oils of *Pituranthos scoparius* harvested in spring at Béchar (2016 and 2017)

	2016			2017		
	Mean ± SD ^[a]	Min ^[b]	Max ^[c]	Mean ± SD	Min	Max
March	0.96 ± 0.05	0.90	0.99	0.33 ± 0.09	0.25	0.43
April	0.45 ± 0.17	0.30	0.63	0.62 ± 0.12	0.53	0.75
May	0.63 ± 0.06	0.57	0.69	0.43 ± 0.01	0.42	0.44

^[a] SD: standard deviation. ^[b] Min: minimum. ^[c] Max: maximum.

6-methoxyelemicine, followed by sabinene. These samples occurred during the full fructification stage, otherwise all the other samples (non-full fructification stage) of this location constituted the group II.

Twelve samples of group II were characterized by a high content of limonene (9.2 – 44.0%, mean: 22.0%, SD: 10.0) followed by myristicine (0.0 – 29.4%, mean: 9.4%, SD: 9.4), α -pinene (5.9 – 22.1%, mean: 14.7%, SD: 4.3), α -phellandrene (6.2 – 17.8%, mean: 11.6%, SD: 3.4) and a lower amount of sabinene (0.8 – 2.3%, mean: 1.4%, SD: 0.4). However, myristicine reached an appreciable content at the beginning and end of flowering stage. In addition, germacrene D (up to 9.5%), β -pinene (up to 7.3%), *p*-cymene (up to 6.8%) and dill apiole (up to 5.7%) were found at appreciable contents. As mentioned previously, all the samples of this group have been harvested in Ghardaïa out of the full fructification season. Otherwise, (*Z*)-ligustilide, which was present at very low ratios (up to 0.7% for SG IIIA and up to 1.2% for SG IIIB) or totally absent in all samples of group I, reached an appreciable content (up to 9.7%) in group II, excepted during full fructification period (0.0 – tr). The chemical composition of *P. scoparius* essential oil, characterized by limonene as main compound followed by myristicine, is in agreement with literature data.^[20] The composition of samples belonging to groups I and II appeared much less homogenous than those of the cluster III.

According to the amounts of α -pinene, sabinene, myristicine, elemicine and dill apiole, group III could be divided into two subgroups. The samples of this group were harvested in Biskra and Batna. The chemical composition of samples of SG IIIA (20 out of 93 samples) was characterized by a very high content of sabinene (28.0 – 55.6%, mean: 39.7%, SD: 7.5) followed by elemicine (0.0 – 29.1%, mean: 4.6%, SD: 7.8). Other compounds also occurred at appreciable amounts: α -pinene (3.1 – 19.3%, mean: 9.0%, SD: 3.9), myristicine (0.3 – 17.3%, mean: 6.9%, SD: 5.7) and dill apiole (0.3 – 13.2%, mean: 6.6, SD: 4.8). The occurrence of terpinen-4-ol was also noted to vary

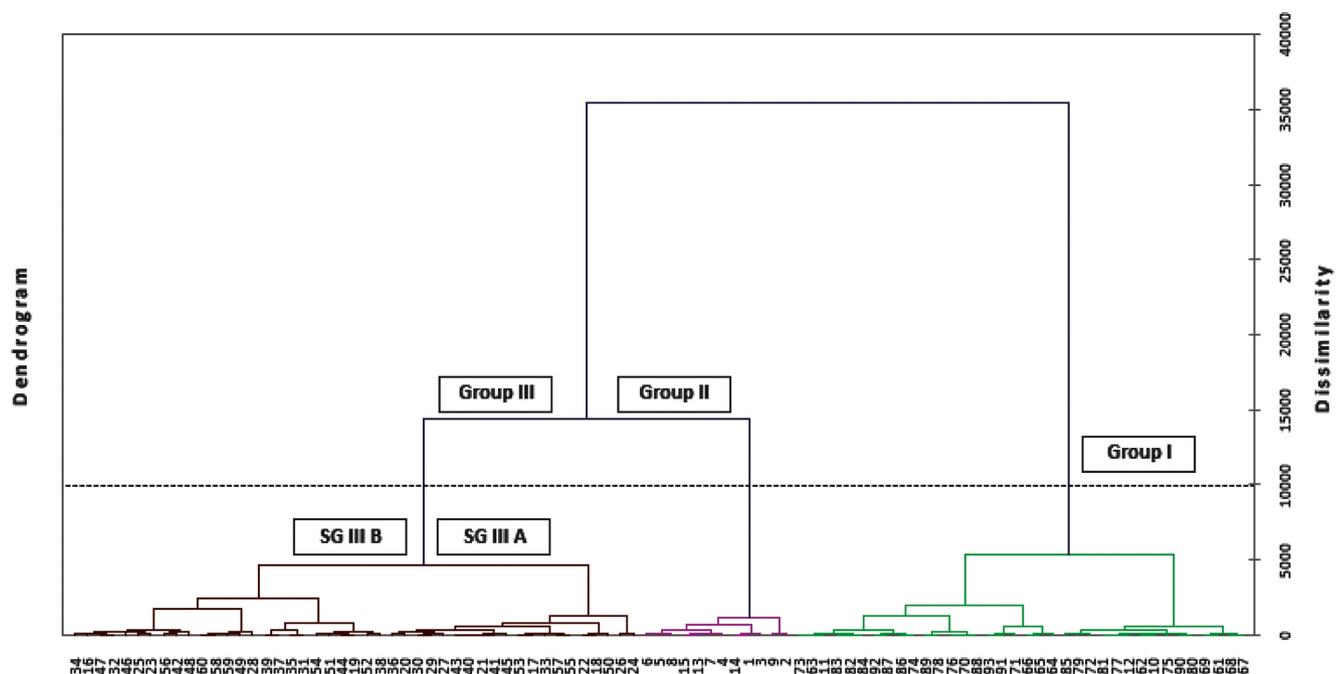


Figure 2. Dendrogram obtained from the cluster analysis of the oil constituents of 93 samples of *Pituranthos scoparius* from Algeria (cophenetic correlation = 0.7732).

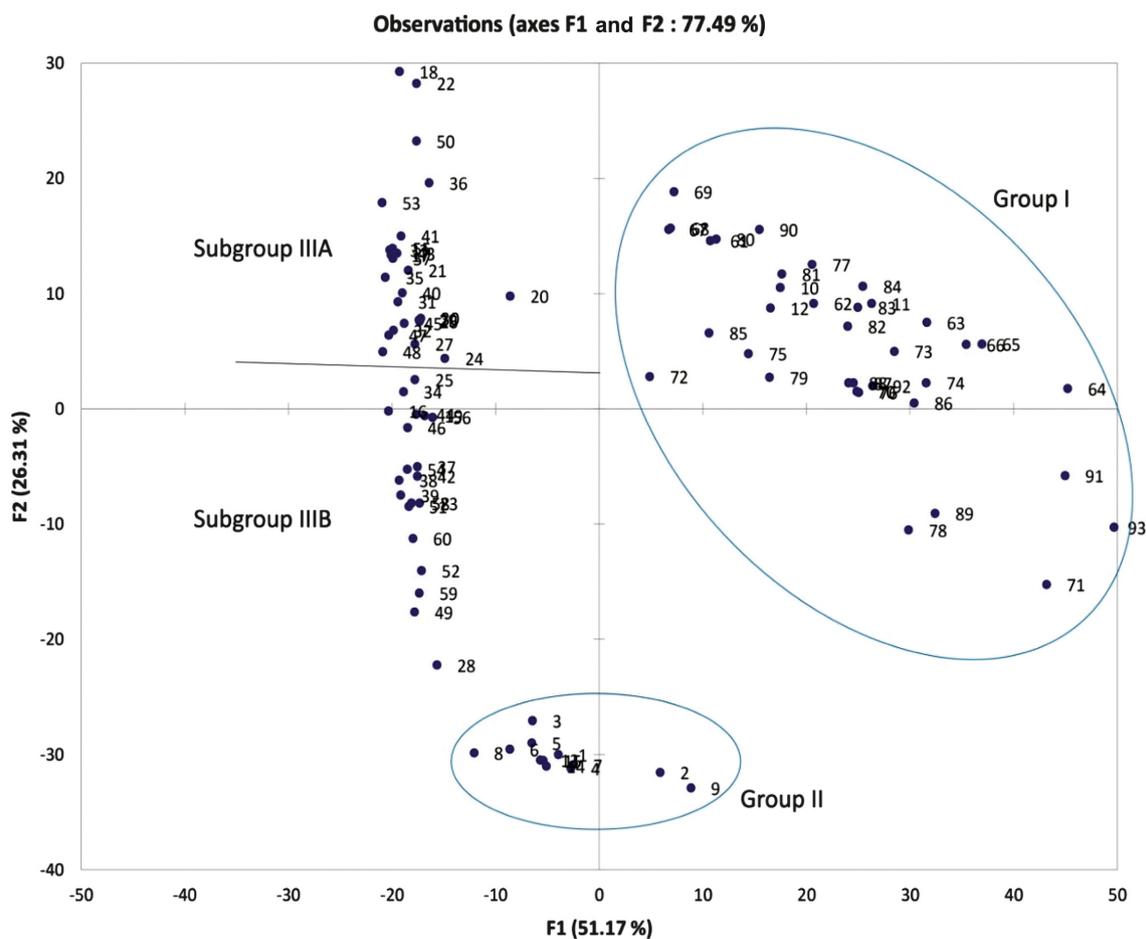


Figure 3. Discriminant analysis scatterplot of the oil constituents of 93 samples of *Pituranthos scoparius* from Algeria.

Table 4. Chemical variability of *Pituranthos scoparius* aerial parts essential oil (main components of 93 samples)

Constituent	Group I (36 samples)				Group II (12 samples)				Group III (45 samples)							
									Subgroup IIIA (SGIIIA - 20 samples)				Subgroup IIIB (SGIIIB - 25 samples)			
	Mean ^[a]	SD ^[b]	Min ^[c]	Max ^[d]	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max	Mean	SD	Min	Max
α -Pinene	3.0	1.7	0.7	8.4	14.7	4.3	5.9	22.1	9.0	3.9	3.1	19.3	13.6	7.5	4.2	31.0
Sabinene	24.5	10.6	1.1	43.0	1.4	0.4	0.8	2.3	39.7	7.5	28.0	55.6	22.3	8.0	6.2	35.5
β -Pinene	1.4	0.6	0.7	3.1	5.2	1.5	2.1	7.3	3.3	0.9	1.7	4.4	4.8	2.2	2.1	9.6
α -Phellandrene	0.5	0.4	0.0	1.2	11.6	3.4	6.2	17.8	0.5	0.4	0.1	1.3	0.8	0.8	0.1	2.7
δ -3-Carene	0.1	0.2	0.0	1.1	0.2	0.3	0.0	0.9	1.2	1.5	0.0	6.5	1.5	3.0	0.0	12.4
<i>p</i> -Cymene	0.8	0.4	0.2	1.7	4.5	1.5	1.6	6.8	3.9	1.1	1.6	5.7	4.6	2.1	1.4	9.6
Limonene	19.4	7.6	6.6	39.0	22.0	10.0	9.2	44.0	0.8	0.5	0.3	2.7	1.3	0.8	0.5	4.5
(<i>Z</i>)- β -Ocimene	0.1	0.4	0.0	1.9	0.0	0.1	0.0	0.1	0.7	0.6	0.1	2.6	1.2	1.4	0.0	7.1
Terpinen-4-ol	3.6	1.6	0.3	7.0	0.3	0.1	0.2	0.4	5.7	1.5	4.1	10.4	3.5	1.9	0.9	10.9
Germacrene D	3.0	1.6	0.2	8.3	3.8	2.4	1.7	9.5	0.6	0.5	0.1	1.7	0.7	0.6	0.1	2.5
Myristicine	0.1	0.1	0.0	0.3	9.4	9.4	0.0	29.4	6.9	5.7	0.3	17.3	13.9	7.0	1.5	32.4
Elemicine	0.1	0.1	0.0	0.4	0.1	0.0	0.0	0.1	4.6	7.8	0.0	29.1	0.6	2.2	0.0	10.9
6-Methoxyelemicine	33.7	12.3	13.0	59.6	0.1	0.1	0.0	0.1	0.5	1.9	0.0	8.5	0.1	0.2	0.0	0.7
Dill apiole	0.0	0.0	0.0	0.1	1.6	2.0	0.0	5.7	6.6	4.8	0.3	13.2	11.7	10.5	0.1	31.4
(<i>Z</i>)-Ligustilide	0.0	0.0	0.0	Tr	5.0	2.2	2.2	9.7	0.0	0.2	0.0	0.7	0.1	0.3	0.0	1.2

^[a] Mean value (Mean). ^[b] Standard deviation (SD). ^[c] Minimum content (Min). ^[d] Maximum content (Max). Percentages are given on apolar column (BP-1).

substantially (4.1 – 10.4%, mean: 5.7%, SD: 1.5). The same observation could be made for 6-methoxyelemicine present sometimes at appreciable contents (0.0 – 8.5%, mean: 0.5%, SD: 1.9). This compound was present at appreciable amounts (8.5%) in one sample of over 45 samples from Biskra during full flowering period. The chemical composition of samples belonging to SGIIIB (25 out of 93 samples) was characterized by a lower content of sabinene (6.2 – 35.5%, mean: 22.3%, SD: 8.0) and significant contents of myristicine (1.5 – 32.4%, mean: 13.9%, SD: 7.0), α -pinene (4.2 – 31.0%, mean: 13.6%, SD: 7.5) and dill apiole (0.1 – 31.4%, mean: 11.7%, SD: 10.5). In addition, δ -3-carene (up to 12.4%), terpinen-4-ol (up to 10.9%), elemicine (up to 10.9%), β -pinene (up to 9.6%), *p*-cymene (up to 9.6%) and (*Z*)- β -ocimene (up to 7.1%) were found among the main constituents. Elemicine (up to 9.1%) was present at appreciable amounts during full flowering period in one of over 30 samples of Batna (Fesdis and Djerma). It should be pointed out that limonene, among the main components of groups I and II, was present at very low ratios in all the samples of subgroups IIIA and IIIB (up to 2.7% and 4.5%, respectively).

A closer relationship between the oil composition and the annual rainfall can be assumed rather than with temperatures (Table 5). Indeed, the samples from group II correspond to the collection site of Ghardaïa, which is characterized by the minima of rainfall

(15 mm). On the other hand, the most elevated values of annual rainfall correspond to samples from group III collected in two sites (Biskra, 143 mm; Batna, 200 mm). The last site sampled (Béchar) associated with group I present an intermediate annual rainfall (103 mm).

Conclusions

This study confirmed the high chemical variability of *P. scoparius* essential oil. It could be pointed out that the oil samples belonging to three groups have been isolated from aerial parts harvested in three regions: i) Béchar/group I (including one sample – three seasonal replicates – of Ghardaïa), ii) Ghardaïa/group II and iii) Biska, Batna-Fesdis, Batna-Djerma/group III. The intra-

Table 5. Climatic data from the five harvest locations

Collected locations	Years	T ^[a]	TM ^[b]	Tm ^[c]	AR ^[d]
Béchar	2016	22.2	29.0	15.4	103
	2017	22.4	29.2	15.6	37
Batna Fesdis/Djerma	2016	16.3	24.1	8.5	200
Biskra	2016	23.4	29.3	17.6	143
Ghardaïa	2016	23.2	29.2	17.1	15

^[a] T: Yearly average temperature. ^[b] TM: Average temperature of the maxima of the year. ^[c] Tm: Average temperature of the minima of the year. ^[d] AR: Annual rainfall.

populational variability as well as the variation during the stages of development of plant appeared limited. To the best of our knowledge, the chemical composition of group I with the association 6-methoxyelemicine/sabinene/limonene and group III, characterized by the high content of sabinene followed by elemicine or myristicine, were also not yet reported in the literature for the aerial parts (stems and/or flowers or seeds) oil of *P. scoparius*. First, the identified chemical types were representative of the diversity of *P. scoparius* essential oil in Algeria. Second, these chemical differences might be probably due more to genetic differences rather than environmental (pedoclimatic) conditions.

Experimental Section

Plant Material and Oil Distillation

Total aerial parts (stems and flowers or fruits/seeds) from 93 individual plants of *Pituranthos scoparius* were collected. First, in five locations of Algeria (Figure 1), three plants were sampled every month from September 2016 to January 2017 (from the beginning flowering to the end fructification): Ghardaïa (Sample Nos. 1 – 15), Biskra (Sample Nos. 16 – 30), Batna (Fesdis-Bouilef; Sample Nos. 31 – 45), Batna (Djerma; Sample Nos. 46 – 60) and Béchar (Sample Nos. 79 – 93). The samples of Biskra and Batna collected from September to January were in reproductive stage but presented very few flowers or fruits per plant. Second, in Béchar (Sample Nos. 61 – 78), sampling took place during two successive spring seasons (2016 and 2017, respectively) with also three samples/month: March (Nos. 61 – 63 and 70 – 72), April (Nos. 64 – 66 and 73 – 75) and May (Nos. 67 – 69 and 76 – 78). Identification of the plants was performed by Dr. F. Hassani (Laboratory of Ecology and Management of Natural Ecosystems, University of Tlemcen, Algeria). A voucher specimen has been deposited with the Laboratory of Natural Products (Department of Biology, University of Tlemcen) under the accession No. A. 1941. Dry aerial parts (140 – 300 g) were submitted to hydrodistillation for 2 h. Yields have been calculated from dry material (w/w).

Analytical GC

GC analyses were performed on a PerkinElmer Clarus 500 gas chromatograph (FID) equipped two fused silica gel capillary columns (50 m × 0.22 mm, film thickness 0.25 μm), BP-1 (polydimethylsiloxane) and BP-20 (polyethylene glycol). The oven temperature was programmed from 60 to 220 °C at 2 °C/min and then held isothermal at 220 °C for 20 min, injector

temperature: 250 °C; detector temperature: 250 °C; carrier gas: hydrogen (1.0 mL/min); split: 1/60. The relative proportions of the oil constituents were expressed as percentages obtained by peak area normalization, without using correcting factors. Retention indices (RIs) were determined relative to the retention times of a series of *n*-alkanes with linear interpolation ('Target Compounds' software of PerkinElmer).

GC/MS Analysis

The essential oils were analyzed with a PerkinElmer TurboMass detector (quadrupole), directly coupled to a PerkinElmer Autosystem XL, equipped with a fused-silica gel capillary column (50 m × 0.22 mm i.d., film thickness 0.25 μm), BP-1 (dimethylpolysiloxane). Carrier gas, helium at 0.8 mL/min; split, 1/75; injection volume, 0.5 μL; injector temperature, 250 °C; oven temperature programmed from 60 to 220 °C at 2 °C/min and then held isothermal (20 min); ion source temperature, 250 °C; energy ionisation, 70 eV; electron ionization mass spectra were acquired over the mass range 40 – 400 Da.

¹³C-NMR Analysis

¹³C-NMR analyses were performed on a Bruker AVANCE 400 Fourier Transform spectrometer operating at 100.623 MHz for ¹³C, equipped with a 5 mm probe, in CDCl₃, with all shifts referred to internal tetramethylsilane (TMS). ¹³C-NMR spectra were recorded with the following parameters: pulse width (PW), 4 μs (flip angle 45°); acquisition time, 2.73 s for 128 K data table with a spectral width (SW) of 220,000 Hz (220 ppm); CPD mode decoupling; digital resolution 0.183 Hz/pt. The number of accumulated scans ranged 2000 – 3000 for each sample (around 40 mg of oil in 0.5 mL of CDCl₃). Exponential line broadening multiplication (1.0 Hz) of the free induction decay was applied before Fourier transformation.

Identification of Components

Identification of the components was based: i) on comparison of their GC retention indices (RIs) on polar and apolar columns, determined relative to the retention times of a series of *n*-alkanes with linear interpolation ('Target Compounds' software of PerkinElmer), with those of authentic compounds and ii) on comparison of the signals in the ¹³C-NMR spectra of essential oils with those of reference spectra compiled in the laboratory spectral library, with the help of a laboratory-made software.^[23 – 25] In the investigated

samples, individual components were identified by NMR at contents as low as 0.3 – 0.4%.

6-Methoxyelemicine. ¹H-NMR values were identical to those reported previously by Semenov *et al.*^[26] ¹³C-NMR (δ (C) ppm): 149.38 (C); 147.11 (C); 145.27 (C); 141.35 (C); 137.26 (CH); 127.91 (C); 115.72 (CH₂); 107.62 (CH); 61.17 (CH₃); 61.16 (CH₃); 61.06 (CH₃); 56.18 (CH₃); 34.08 (CH₂).

Data Analysis

Principal components analysis (PCA) and hierarchical clustering (Ward's method) were performed by Xlstat (Adinsoft, France).^[27]

Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge Prof. F. B. Lahfa (Dean, Faculty of Life Sciences, Tlemcen) for attribution of a travel grant (C. B.) and Dr. F. Hassani, University of Tlemcen, for his help on plant identification.

Author Contribution Statement

C. B. and F. A. B. conceived and designed the experiments. C. E. W. M., M. B., and L. B. performed sampling and extractions. M. P. performed GC, GC/MS and NMR experiments. M. G. performed statistical analyses. M. G., C. B., and F. T. contributed to the preparation of the manuscript.

References

- [1] A. Dobignard, C. Chatelain, 'Index synonymique de la flore d'Afrique du nord. Dicotyledoneae: Acanthaceae – Asteraceae', éditions des conservatoires et jardins botaniques, Genève, 2011, Vol. 2, p. 111.
- [2] P. Quézel, S. Santa, 'Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales', Edition CNRS, Tome II, Paris, 1963, p. 1169.
- [3] P. Ozenda, 'Flore et végétation du Sahara', 3rd edn., CNRS, Paris, 1991, p. 662.
- [4] J. El Oualidi, H. Khamar, M. Fennane, M. Ibn Tattou, S. Chauvet, M. Sghir Taleb, 'Checklist des endémiques et spécimens types de la flore vasculaire de l'Afrique du Nord', Document de l'Institut Scientifique, 2012, p. 25.
- [5] V. Hammiche, K. Maiza, 'Traditional Medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer', *J. Ethnopharmacol.* **2006**, *105*, 358 – 367.
- [6] A. Boudjelal, C. Henchiri, M. Sari, D. Sarri, N. Hendel, A. Benkhaled, G. Ruberto, 'Herbalists and Wild Medicinal Plants in M'Sila (North Algeria): An Ethnopharmacology Survey', *J. Ethnopharmacol.* **2013**, *148*, 395 – 402.
- [7] E. Le Floc'h, 'Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne', Imprimerie Officielle de la République Tunisienne, Tunisie, 1983, p. 402.
- [8] A. C. Benchelah, H. Bouziane, M. Maka, C. Ouahès, 'Fleurs du Sahara : Voyage ethnobotanique avec les Touaregs du Tassili', Ibis Press, 2000, p. 256.
- [9] L. Benmekhbi, A. Kabouche, Z. Kabouche, B. Ait-Kaki, R. Touzani, C. Bruneau, 'Five glycosylated flavonoids from the antibacterial butanolic extract of *Pituranthos scoparius*', *Chem. Nat. Compd.* **2008**, *44*, 639 – 641.
- [10] H. Hamada, B. Mohammed, G. Massiot, C. Long, C. Lavaud, 'Alkylated Isocoumarins from *Pituranthos scoparius*', *Nat. Prod. Res.* **2004**, *18*, 409 – 413.
- [11] M. Dahia, L. Siracusa, H. Laouer, G. Ruberto, 'Constituents of the Polar Extracts from Algerian *Pituranthos scoparius*', *Nat. Prod. Commun.* **2009**, *4*, 1691 – 1692.
- [12] H. Adida, N. Benariba, A. Bechiri, E. Chekroun, R. Djaziri, 'Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*', *Phytothérapie* **2015**, *1* – 6.
- [13] A. Chikhoun, J. D. Pavleca, M. Shashkov, Z. Berroua, K. Chebbi, H. Bougherra, B. Zeroual, K. Aliane, M. Gagaoua, A. Boudjellal, I. Vovk, M. Krizman, 'Antioxidant Effect Induced by the Essential Oil of *Pituranthos scoparius* in a Formulation of a Whey Spread Emulsion', *J. Food Proc. Pres.* **2016**, *1* – 12.
- [14] A. Ksouri, T. Dob, A. Belkebir, D. Dahmane, A. Nouasri, 'Volatile Compounds and Biological Activities of Aerial Parts of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Durieu) Schinz (Apiaceae) from Hoggar, Southern Algeria', *Trop. J. Pharm. Res.* **2017**, *16*, 51 – 58.
- [15] N. Belyagoubi-Benhammou, L. Belyagoubi, N. Bechlaghem, N. Ghembaza, F. Atik-Bekkara, 'Assessment of Antioxidant Potential and Phytochemical Analysis of *Pituranthos scoparius* Crude Extract and Its Fractions', *Orient. Pharm. Exp. Med.* **2017**, *17*, 51 – 57.
- [16] H. Adida, E. Frioui, R. Djaziri, D. Mezouar, 'In vitro Antibacterial Activity of *Pituranthos scoparius* from Algeria', *Int. J. Biol. Chem. Sci.* **2014**, *8*, 2095 – 2108.
- [17] N. Boutaghane, A. Nacer, Z. Kabouche, B. Ait-Kaki, 'Comparative Antibacterial Activities of the Essential Oils of Stems and Seeds of *Pituranthos scoparius* from Algerian Septentrional Sahara', *Chem. Nat. Compd.* **2004**, *40*, 606 – 607.
- [18] G. Vernin, C. Lageot, C. Ghiglione, M. Dahia, C. Parkanyi, 'GC/MS Analysis of the Volatile Constituents of the Essential Oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Durieu) Benth. & Hook. from Algeria', *J. Essent. Oil Res.* **1999**, *11*, 673 – 676.
- [19] P. Vérité, A. Nacer, Z. Kabouche, E. Seguin, 'Composition of Seeds and Stems Essential Oils of *Pituranthos scoparius* (Coss. & Durieu) Schinz', *Flavour Fragrance J.* **2004**, *19*, 562 – 564.
- [20] N. Gourine, B. Merrad, M. Yousfi, P. Stocker, E. M. Gaydou, 'Chemical Composition of the Essential Oil of *Pituranthos scoparius*', *Nat. Prod. Commun.* **2011**, *6*, 1151 – 1154.
- [21] T. Smaili, A. Zellagui, N. Gherraf, G. Flamini, P. L. Cioni, 'Essential Oil Content of the Flowers of *Pituranthos scoparius* in Algeria', *Med. Plants* **2011**, *3*, 177 – 179.
- [22] T. Lograda, R. Messaoud, A. Kiram, P. Chalard, G. Figueredo, 'Variation of Essential Oils Composition of *Pituranthos scoparius* in Algeria', *Glob. J. Res. Med. Plants Indigen. Med.* **2013**, *2*, 1 – 9.
- [23] F. Tomi, P. Bradesi, A. Bighelli, J. Casanova, 'Computer-aided Identification of Individual Components of Essential Oil Using Carbon-13 NMR Spectroscopy', *J. Magn. Reson. Anal.* **1995**, *1*, 25 – 34.

- [24] F. Tomi, J. Casanova, ¹³C-NMR as a Tool for Identification of Individual Components of Essential Oils from Labiatae - A review', in 'The Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation', Eds. C. Cervelli, B. Ruffoni and C. Dalla Guda, *Acta Hortic.* **2006**, 723, 185 – 192.
- [25] A. Bighelli, J. Casanova, 'Analytical Tools for Analyzing Cymbopogon Oils', in 'Essential Oil Bearing Grasses - Cymbopogons', Ed. A. Akhila, Taylor and Francis, 2009, p. 195.
- [26] V. V. Semenov, V. V. Rusak, E. M. Chartov, M. I. Zaretskii, L. D. Konyushkin, S. I. Firgang, A. O. Chizhov, V. V. Elkin, N. N. Latin, V. M. Bonashek, O. N. Stas'eva, 'Polyalkoxybenzenes from Plant Raw Materials. Isolation of Polyalkoxybenzenes from CO₂ Extracts of Umbelliferae Plant Seeds', *Russ. Chem. Bull.* **2007**, 56, 2448 – 2455.
- [27] P. Legendre, L. Legendre, 'Numerical Ecology', 2nd edn., Elsevier Science, Amsterdam, 1998.

Received April 9, 2018
Accepted May 11, 2018

Article

Biological Activities and Chemical Composition of *Santolina africana* Jord. et Fourr. Aerial Part Essential Oil from Algeria: Occurrence of Polyacetylene Derivatives

Charaf Eddine Watheq Malti ¹, Clémentine Baccati ², Magali Mariani ², Faiçal Hassani ³, Brahim Babali ³, Fewzia Atik-Bekkara ¹, Mathieu Paoli ², Jacques Maury ², Félix Tomi ^{2,*}  and Chahrazed Bekhechi ¹

¹ Laboratoire des Produits Naturels, Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd, Imama Tlemcen 13000, Algeria; mcew.malti@gmail.com (C.E.W.M.); f_atik@yahoo.fr (F.A.-B.); bekhechichahrazed@yahoo.fr (C.B.)

² Université de Corse-CNRS, UMR 6134 SPE, Route des Sanguinaires, 20000 Ajaccio, France; clementine.baccati@gmail.com (C.B.); mariani_m@univ-corse.fr (M.M.); mathieu.paoli@univ-corse.fr (M.P.); maury_j@univ-corse.fr (J.M.)

³ Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Département d'Ecologie et Environnement, Université Abou Bekr Belkaïd, Imama Tlemcen 13000, Algeria; faicalhassani@yahoo.fr (F.H.); miharb_babali@hotmail.fr (B.B.)

* Correspondence: felix.tomi@univ-corse.fr; Tel.: +33-495-52-4122

Academic Editor: Francesca Mancianti

Received: 24 November 2018; Accepted: 29 December 2018; Published: 8 January 2019



Abstract: The chemical composition of 18 oil samples of *Santolina africana* isolated from aerial parts at full flowering, collected in three locations in eastern Algeria was determined by GC(RI), GC/MS and ¹³C-NMR analysis. The major components were: germacrene D, myrcene, spathulenol, α -bisabolol, β -pinene, 1,8-cineole, *cis*-chrysanthenol, capillene, santolina alcohol, camphor, terpinen-4-ol and lyratol. The chemical composition appeared homogeneous and characterized by the occurrence of four derivatives which exhibited a conjugated alkene dialkyne moiety. They were identified for the first time in an essential oil from *S. africana*. The collective oil sample exhibited moderate antimicrobial and antioxidant activities whereas the anti-inflammatory activity presented a real potential. IC₅₀ value of *Santolina africana* essential oil (0.065 \pm 0.004 mg/mL) is 5-fold higher than IC₅₀ value of NDGA used as positive control.

Keywords: *Santolina africana* Jord. et Fourr.; Asteraceae; essential oil composition; ¹³C-NMR; antimicrobial activity; antioxidant activity; anti-inflammatory activity

1. Introduction

The *Santolina* genus belongs to the Asteraceae family and is represented by more than 10 species widely distributed in Mediterranean area [1]. In all *Santolina* species, *Santolina viridis* W. (South of France and North of Spain), *S. pectinata* Lag. (= *S. rosmarinifolia* L.) (Iberian Peninsula) and *S. chamaecyparissus* L. are the most widely spread species around the world. *S. africana* Jord. et Fourr. is synonym of *Ormenis africana* (Jord. et Fourr.) Litard. et Maire and *S. chamaecyparissus* L. var. *africana* B. et T. It is an endemic species to the North Africa (Morocco, Algeria and Tunisia) [2,3] that grows naturally in forests and steppe pastures. This species is a bushy, green or ashy sub-shrub. The stems are woody, with floriferous branches erect in tuft, bare and thickened at the apex. The lower leaves are linear-cylindrical with short and obtuse segments. The bracts are ovate-oblong. The outer corollas are tube-styled ovary. The flowerheads are discoidal, yellow, homogamous [2].

Some members of *Santolina* genus have been known as medicinal plants for a long time. *S. africana* is used in Moroccan folk medicine as a stomachic, abortive, anthelmintic, antidiabetic and emmenagogue [4,5]. In Tunisia, it is traditionally used for its hypoglycemic effect and for the treatment of stomach pains [6]. Some biological activities have been reported for the extracts or essential oils of *S. africana*, such as antioxidant activity [6–8], antimicrobial activity [7], accaricidal activity [9] and antidiabetic activity [8].

The chemical composition of the essential oils of species belonging to the genus *Santolina* has been widely studied [10]. *S. chamaecyparissus* is probably the most investigated species of this genus [11–22]. The composition of other species such as *S. corsica* [23,24], *S. insularis* [25,26], *S. rosmarinifolia* [27–29] was also reported. Monoterpenes such as 1,8-cineole, camphor, artemisia ketone and myrcene were the major components of essential oils isolated from some *Santolina* species growing in different regions of the world.

Conversely, only five studies have reported on the chemical composition of *S. africana* oil. The chemical composition of the volatile compounds isolated from various parts of the plant have been substantially investigated. Fdil et al. [4] compared the chemical composition of three oil samples isolated from different organs (stems, leaves and flowers) of *S. africana* plants harvested in Marrakech province (Morocco). The three samples oils exhibited respectively a composition dominated by oxygenated monoterpenes: camphor (69.14%/71.36%/80.44%), borneol (20.33%/18.13%/12.34%) and bornyl acetate (7.08%/8.12%/3.50%). The stem oil contained also noticeable amounts of α -humulene (3.14%) while the flowers oil exhibited an appreciable content of 1,8-cineole (3.32%). Another aerial part oil sample of Moroccan origin exhibited a similar composition, with camphor (54.3%), borneol (17.24%), bornyl acetate (8.61%) and 1,8-cineole (5.27%) as main components [5]. A Tunisian oil sample (stems and leaves) was characterized by a high content of terpinen-4-ol (54.96%), followed by α -terpineol (14.06%) and borneol (8.37%) [9]. Concerning Algerian *S. africana*, only two studies are reported in the literature. An oil sample (flowers) harvested in Constantine province (Algeria) was dominated by acenaphthene (25.23%), calarene (21.54%) and ocimene (17.44%) [7]. A drastically different composition has been reported for an aerial parts oil sample collected in the same region, β -eudesmol (14.58%) and β -pinene (12.78%) being the major compounds, followed by 1,8-cineole (10.02%), curcumene (7.96%), myrcene (6.94%) and spathulenol (5.96%) [18].

It appears from literature data that the essential oil (EO) from aerial parts of *S. africana* exhibits a tremendous chemical variability. Moreover, most of the papers reported on the analyses of only one or two oil samples and obviously, the reported compositions are not always representative of *S. africana*. Thus, the aim of the present work is to characterize the EO produced by this plant growing wild in Batna province (Algeria). Eighteen oil samples isolated from aerial parts at full flowering stage harvested in three locations have been analyzed by GC, GC/MS and ^{13}C -NMR. Then, the biological activities of the EO have been investigated as antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activities, this latter has never been investigated in any previous papers.

2. Results

Aerial parts of wild *S. africana* were collected in May in three locations (Figure 1) (six samples per location). Yields of EO isolated by hydrodistillation, calculated *w/w* vs. dry material varied drastically from sample to sample ranging from 0.03 to 0.17% even within a location (Table S1). As it could be seen from Table S1, the highest yields were obtained from Hamla (0.08–0.14%, samples H1–6) and Bouilef (0.15%, sample B5 and 0.17%, sample B6) and the lower from Bouilef and Fesdis (0.03% for samples B2, B4 and F6).

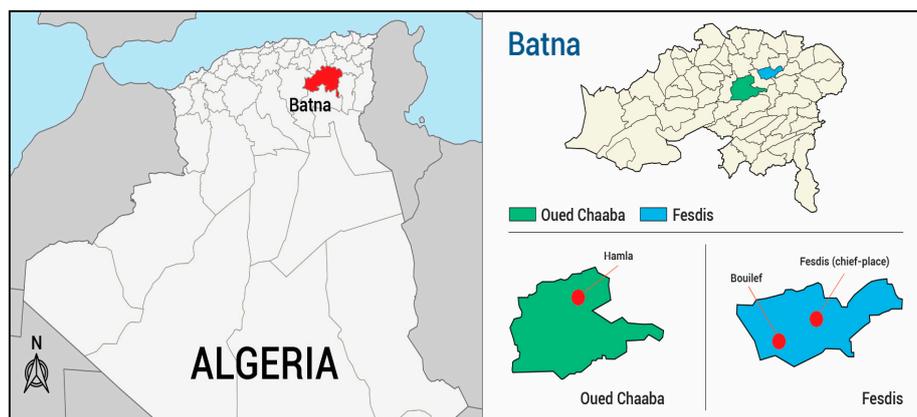


Figure 1. Sampling locations of *Santolina africana* from eastern of Algeria.

2.1. Chemical Composition of Essential Oil

Aerial parts oils samples were submitted to GC-FID analysis, to determine the retention indices (RIs) of the EO components on two columns of different polarity and to GC/MS analysis. Further analysis by ^{13}C -NMR confirmed the identification of the main components. To allow the identification of four polyacetylene derivatives present at moderate or low levels, a composite sample (F1 to F6) was submitted to column chromatography (CC) over silica gel. Nine fractions were obtained and analyzed by GC-FID, GC/MS and ^{13}C -NMR. In total, 91 components accounting for 92.4% and 96.1% of the whole oil chemical composition were identified (Table S1, Figure 2), including forty-three monoterpenes, thirty-one sesquiterpenes, five phenylpropanoids, six polyacetylene derivatives and six others. The composition of *S. africana* EOs is generally homogeneous; the oils were found to possess little differences in the chemical composition but considerable variation in the levels of the individual components. All the samples were characterized by high proportions of monoterpenes (51.5–69.7%), except three samples: B4, B5 and F6 which were dominated by sesquiterpenes (44.3–55.9%). The main components were germacrene D (0.1–25.3%), myrcene (4.2–20.9%), spathulenol (2.5–20.7%), α -bisabolol (2.2–20.0%), β -pinene (2.4–18.7%), 1,8-cineole (5.0–16.8%), *cis*-chrysanthenol (0.7–16.5%), capillene (0.1–16.9%), santolina alcohol (0.2–14.0%), camphor (0.2–7.9%), terpinen-4-ol (1.8–7.3%) and lyratalol (0.1–6.7%). Other two oxygenated monoterpenes: lyratal (tr-2.7%) and chrysanthenone (tr-4.5%), three sesquiterpene hydrocarbons: α -curcumene (0.3–3.2%), γ -curcumene (0.1–2.6%) and bicyclogermacrene (0.1–6.3%) as well as two oxygenated sesquiterpenes: β -elemol (up to 3.5%) and β -eudesmol (tr-3.0%) were present in appreciable amounts. Then, one sample for each location (B1, F5 and H1) and five other samples which exhibited various compositions (B3, B4, B5, B6 and H6) were presented in Table S1.

For instance, the content of capillene (a polyacetylene derivative) reached 16.9% in sample H6 vs. (0.2–7.5%) for the other samples of Hamla and vs. (tr-0.4%) for the samples of Fesdis and Bouilef. The samples B3 and B4 were characterized a high amount of oxygenated sesquiterpenes: spathulenol (15.1% and 20.7%, respectively) associated with α -bisabolol (13.2% and 20.0%, respectively). In the last two atypical samples (B5 and B6), a sesquiterpene hydrocarbon (germacrene D) was present as main compound (25.3 and 20.2%. respectively) vs. (0.0–7.5%) for all other samples.

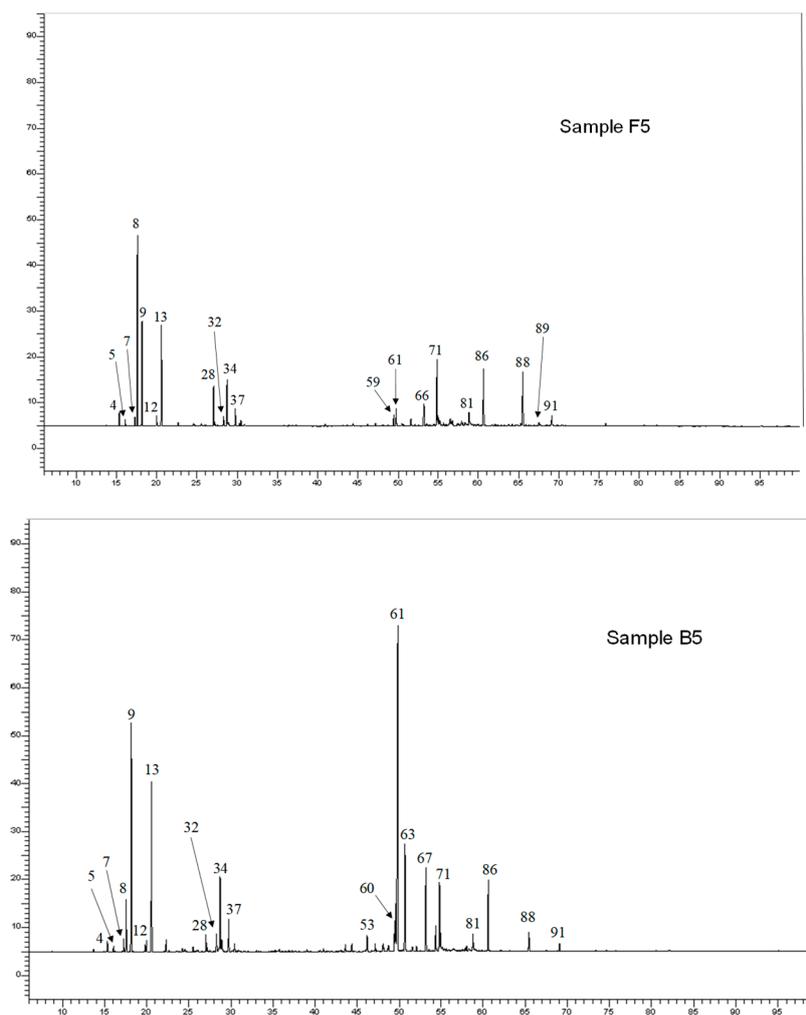


Figure 2. Gas chromatograms of *Santolina africana* EO (samples F5 up and B5 down). The numbered peaks are the identified components (see Table S1).

2.2. Identification of Polyacetylene Derivatives

In this study, the identification of four compounds proposed by the MS library was achieved. These compounds were presumed to be two pairs of stereoisomers ($m/z = 200$ and $m/z = 198$) corresponding to spiroacetalenol derivatives. Indeed, polyacetylene compounds are commonly found in the Asteraceae family [30]. The identification of these compounds was achieved by ^{13}C -NMR spectroscopy after fractionation (fractions Fr4 and Fr6, see Experimental part) by comparison of their spectral data with those reported in the literature. (*E*)- and (*Z*)-tonghaosu ($m/z = 200$) were identified by comparison with data previously described by Chanotiya et al. [31]. (*E*)-2-(2',4'-Hexadiynylidene)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diene was identified according to literature data [32] (Figure S1). In the ^{13}C -NMR spectrum of Fr4 in which the *E/Z* ratio was close to 8/1 (46.6%/6.3%), a series of 13 peaks corresponding to the *Z* isomer was observed. It is the first time that the four spiroacetalenol derivatives [30] were identified in an EO from *S. africana*. The contents of (*E*)-2-(2',4'-hexadiynylidene)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diene and (*E*)-tonghaosu reached 7.3% (B3) and 3.8% (B6), respectively. These compounds were previously reported in EO from *Chrysanthemum coronarium* L. (aerial parts) [33] and in some solvent extracts from *C. leucanthemum* (roots) [34], *C. coronarium* (aerial parts) [35] and *S. chamaecyparissus* (leaves and buds) [36].

2.3. Chemical Variability

The 18 samples were submitted to statistical analyses: the principal components analysis (PCA, covariance) (Figure 3, Table S1), in which the plan defined by the two axes F1 and F2 described 51.05% of the total variance of the population (the two axes F1 and F2 accounted for 31.70% and 19.35% respectively). It may be noted that the composition of all samples was qualitatively quite similar. Although the compositions of the individual samples varied substantially for various components, it was not possible to distinguish groups within the essential oil samples. Therefore, one main group (16 samples) and differentiated two atypical compositions (B5 and B6, Figure 3) were observed. Indeed, B5 and B6 were discriminated by a high percentage of sesquiterpene hydrocarbons (bicyclogermacrene, (*E*)- α -bisabolene, γ -curcumene) and particularly germacrene D, 25.3% (B5) and 20.2% (B6) vs. 0–7.5% for the other samples. All the samples from the Fesdis location were homogeneous, while the composition of the samples from the Hamla location appeared much less homogeneous. Conversely, it appeared that the Bouilef samples, located between the two others locations (Fesdis and Hamla) were different, so two samples (B3 and B4) were aggregated to those of the Fesdis location, whereas the two samples B1 and B2 were quite similar to the Hamla samples (Figure 3).

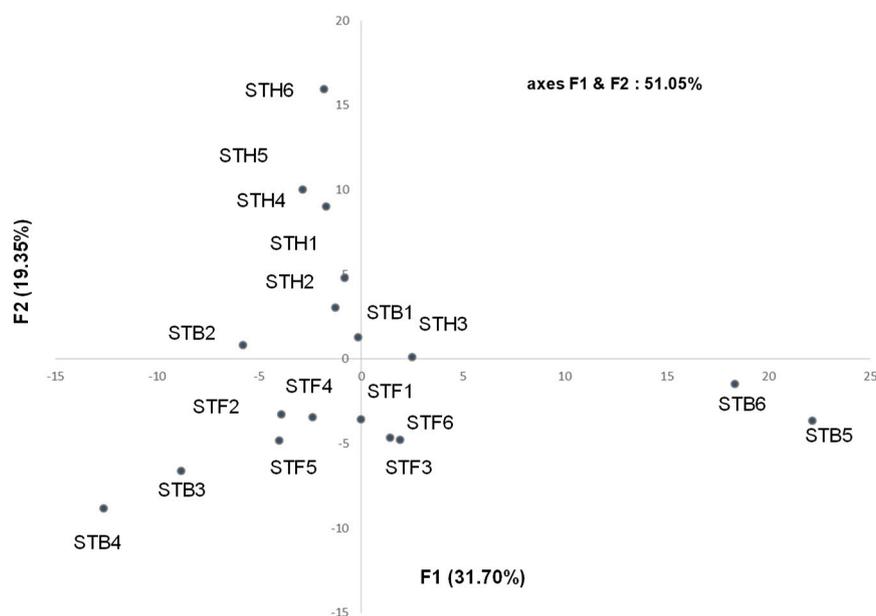


Figure 3. PCA of *Santolina africana* essential oil samples.

2.4. Antimicrobial Activity

The antimicrobial activity of the EO of *S. africana* isolated from the aerial part at full flowering was assayed against four bacteria, two yeasts and three filamentous fungi, using the agar disc diffusion method (Table 1).

Table 1. Antimicrobial activity of *S. africana* essential oil.

Microorganisms	Essential Oil (15 µL/disc)	Positive Controls						Negative Control (DMSO)
		CHL	VAN	GMN	CIP	FLU	NY	6.0
<i>Escherichia coli</i>	8.00 ± 0.0	25.0 ± 0.0	6.0 ± 0.0	23.0 ± 0.0	35.5 ± 0.7	—	—	6.0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6.0 ± 0.0	21.3 ± 0.6	6.0 ± 0.0	20.0 ± 0.0	30.5 ± 0.7	—	—	6.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	19.7 ± 0.6	25.5 ± 0.7	17.0 ± 0.0	21.0 ± 0.0	32.0 ± 0.0	—	—	6.0
<i>Bacillus cereus</i>	6.0 ± 0.0	29.5 ± 0.7	6.0 ± 0.0	21.0 ± 0.0	37.0 ± 0.0	—	—	6.0
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	13.0 ± 0.0	—	—	—	—	6.0 ± 0.0	16.0 ± 0.0	6.0
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	15.3 ± 1.5	—	—	—	—	15.0 ± 0.0	19.0 ± 1.0	6.0
<i>Aspergillus flavus</i>	20.5 ± 0.7 ^a	—	—	—	—	6.0 ± 0.0	22.3 ± 0.6	6.0
	13.5 ± 0.7 ^b	—	—	—	—	6.0 ± 0.0	—	6.0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	43.0 ± 2.8 ^a	—	—	—	—	6.0 ± 0.0	33.7 ± 1.2	6.0
	17.5 ± 3.5 ^b	—	—	—	—	6.0 ± 0.0	—	6.0
<i>Fusarium oxysporum</i>	38.5 ± 2.1 ^a	—	—	—	—	6.0 ± 0.0	16.0 ± 1.0	6.0
	15.0 ± 0.0 ^b	—	—	—	—	6.0 ± 0.0	—	6.0

CHL: Chloramphenicol, VAN: Vancomycin, GMN: Gentamicin, CIP: Ciprofloxacin, FLU: Fluconazole. NY: Nystatin were used as positive controls. Mean values of the growth inhibition zones, in mm, including the disc diameter of 6 mm. —: Not tested. ^a: After 3 days. ^b: After 5 days.

The oil was considered active when the diameter of inhibition zone was equal to or greater than 13 mm [24]. The agar diffusion method showed that the oil was effective against *Staphylococcus aureus*, the two yeasts and the three filamentous fungi with diameters of inhibition zone ranging from 13.0 mm to 19.7 mm. The most potent activity was demonstrated against *Staphylococcus aureus* and *Aspergillus fumigatus* with inhibition zones of 19.7 mm and 17.5 mm respectively. In contrast, the growth of *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* were not inhibited by the EO. This assumption is in accordance with previous studies on the *Santolina* genus. Indeed, the *S. africana* EO which contained acenaphtane (25.23%), calarene (21.54%), ocimene (17.44%) as its major components, exhibited a moderate or low activity against the same microorganisms with diameters of inhibition zone ranging from 6.50 mm to 20.15 mm. *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus* were the most susceptible to this EO, with inhibition zones of 20.15 and 19.5 mm, respectively [7].

2.5. Antioxidant Activity

The results of the DPPH• free radical scavenging test were presented in Table 2 and Figure S2. The EO of the aerial parts of *S. africana* have a high antioxidant activity at concentrations of 32, 64, 128 and 256 mg/mL, with inhibition percentages ranged between $85.54 \pm 2.17\%$ and $100 \pm 0.00\%$ and an IC_{50} value of 1.51 ± 0.04 mg/mL. However, the antioxidant potential of *S. africana* EO was found to be low than that of ascorbic acid (positive control), with a percentage inhibition of 100%, at a concentration of 2 mg/mL and a significantly lower IC_{50} value of 0.02 ± 0.0005 mg/mL.

Table 2. IC_{50} values and anti-inflammatory activity of *Santolina africana* essential oil.

Activity		Antioxidant		Anti-Inflammatory	
	Essential oil	1.51 ± 0.04	Essential oil	0.065 ± 0.004	
	Ascorbic acid	0.02 ± 0.0005	* NDGA	0.013 ± 0.003	
Anti-inflammatory activity (percentage inhibition of LOX)					
Concentration #	Inhibition (%)	Concentration #	Inhibition (%)		
0.015	23.4 ± 4.1	0.050	37.5 ± 2.8		
0.025	28.5 ± 5.5	0.075	57.6 ± 3.5		

Values are means of triplicates ± standard deviation; * NDGA: Nordihydroguaiaretic Acid; # mg/mL.

2.6. Anti-Inflammatory Activity

The anti-inflammatory potential of *S. africana* EO was evaluated by determining its ability to inhibit lipoxygenases (LOX). Indeed, LOXs are a non-heme iron-containing dioxygenases that convert linoleic, arachidonic and other polyunsaturated fatty acid into biologically active metabolites involved in the inflammatory and immune responses. Several inflammatory processes such as arthritis, bronchial asthma and cancer are associated with an important production of leukotrienes catalysed by LOX pathway from arachidonic acid [37–40]. The inhibition of the LOX pathway with inhibitors of LOX would prevent the production of leukotrienes and therefore could constitute a therapeutic target for treating of human inflammation-related diseases. Thus, the search for new LOX inhibitors appears us critical because many of which exhibit significant anti-inflammatory activity.

The ability of *S. africana* EO to inhibit soybean lipoxygenase was determined as an indication of potential anti-inflammatory activity. *S. africana* EO exhibited an inhibition of LOX activity (Table 2). The percentage of inhibition increases with the concentration of *S. africana* EO, i.e., 23.4% at 0.015 mg/mL to 57.6% at 0.075 mg/mL of EO. No LOX activity could be detected in the presence of 0.1 mg/mL of *S. africana* EO, suggesting almost complete inhibition of LOX activity. The IC_{50} values (concentration at which 50% of the lipoxygenase was inhibited) were determined for the *S. africana* EO and for the non-competitive inhibitor of lipoxygenase, the nordihydroguaiaretic acid (NDGA) (Table 2), usually used as reference in anti-inflammatory assays [38–40]. Data showed that the IC_{50}

value of *S. africana* essential oil (0.065 ± 0.004 mg/mL) is 5-fold higher than IC_{50} value of NDGA (0.013 ± 0.003 mg/mL).

3. Discussion

The composition of *S. africana* aerial part oils isolated from plants growing wild in eastern Algeria (Batna) was different from those reported for oils from Morocco [4,5], Tunisia [9] and Algeria (Constantine) [7,18], but it should be pointed that a similar composition has been reported for flowerhead oil of *S. chamaecyparissus* from Tunisia, which also contained 1,8-cineole, β -eudesmol (10.49%), terpinen-4-ol (6.97%), spathulenol (5.80%), camphor (5.27%) and germacrene D (5.03%) as major components [20]. Other compounds also occurred as main constituents: δ -cadinene (6.55%) and myrtenol (4.26%) which are present at low amounts in all our samples (tr-0.4%).

We can assume that the moderate or low antimicrobial activity of *S. africana* EO is related to one or various major components: 1,8-cineole (12.8%), germacrene D (7.2%), spathulenol (6.2%), *cis*-chrysanthenol (6.0%), myrcene (5.8%), β -pinene (5.2%), α -bisabolol (5.2%), terpinen-4-ol (3.2%), santolina alcohol (3.1%), lyratol (2.4%), capillene (2.2%), (*E*)- α -bisabolene (2.0%), limonene (1.9%), camphor (1.6%) and β -elemol (1.4%). 1,8-Cineole was previously described as antibacterial against *S. aureus* [41] while myrcene which accounted for 57.2% in the fraction Fr1 [23] was already reported as ineffective against *S. aureus* [23,42]. It has been reported also that β -pinene, α -pinene and germacrene D had slight activity against a panel of microorganisms. Indeed, the essential oil of *Pinus nigra* ssp. *pallasiana* (α -pinene. 42.3%; germacrene D. 30.6%) exhibited a low antimicrobial activity against the same strains with MICs in the range 10–20 mg/mL [43], so it has been demonstrated in the literature that the inhibitory activity of an EO results from a complex interaction between its different constituents, which may produce additive, synergistic or antagonistic effects, even for those present at low concentrations, i.e., 1,8-cineole in combination with camphor has shown higher antimicrobial effects [44]. In parallel, Lemos et al. [45] reported that the essential oil of *Rosmarinus officinalis* which contained camphor (24.4–35.9%) as major compound exhibited a high antimicrobial activity against *S. aureus* with MICs in the range 0.5–2.0 μ L/mL. Otherwise, an interesting antimicrobial activity of a lyratol-rich fraction (84%) was observed against *S. aureus* (19 mm), suggesting that lyratol could be the main responsive of the antimicrobial properties of *Santolina corsica* [23]. It has been summarized also that oxygenated terpenes, as well as alcohols which are present in appreciable amounts in our oil, are active but with differing specificity and levels of activity [46,47].

In previous studies, Derouiche et al. [7] reported a percentage inhibition of the free radical DPPH of the *S. africana* flower EO of about 13.80% at a concentration of 0.1 M, a value much lower than ascorbic acid (more than 70% of inhibition) used as a positive control. Nouasri et al. [17] evaluated the antioxidant activity of the essential oil of the aerial parts of *S. chamaecyparissus* using two methods, the DPPH \cdot free radical scavenging test and the β -carotene bleaching test. They reported that *S. chamaecyparissus* EO had low antioxidant capacity to reduce DPPH \cdot radical with an IC_{50} of about 43.01 ± 8.04 mg/mL, compared to BHT ($IC_{50} = 0.072 \pm 0.001$ mg/mL) and ascorbic acid ($IC_{50} = 0.004 \pm 0.001$ mg/mL). The β -carotene bleaching test revealed that the EO had a moderate activity with a percentage inhibition of the oxidation of linoleic acid of the order of $47.00 \pm 3.13\%$, a value that is higher than that of ascorbic acid tested (11.05%), but much lower than BHT (96.92%).

The measurement of antioxidant activity has revealed that aerial parts of *S. africana* EO exhibited an antioxidant activity that could have an eventual possibility to be used in the food industry, as a natural antioxidant agent, for the preservation of foodstuffs, or in the field of health, for the prevention of various diseases.

Concerning the anti-inflammatory activity, the low ratio between the two values of IC_{50} (*S. africana* EO vs. NDGA) makes it possible to consider the *S. africana* EO as a high inhibitor of the LOX activity [48]. Thus, according to the results, *S. africana* EO exhibits a high inhibition of LOX activity, suggesting an anti-inflammatory potential.

4. Materials and Methods

4.1. Plant Material

Aerial parts of *Santolina africana* were collected during the flowering period in May 2016 in three locations in the Batna province (Eastern Algeria): Fesdis (Fesdis: F1–6; Bouilef: B1–6) and Oued Chaaba (Hamla: H1–6) (Figure 1). Identification of the plant material was performed by Dr. Babali B., (Laboratory of Ecology and Management of Natural Ecosystems, University of Tlemcen, Imama Tlemcen, Algeria). A voucher specimen has been deposited at the Laboratory of Natural Products (Department of Biology, University of Tlemcen, Algeria), under the accession n° A. 2844. The essential oil was obtained by hydrodistillation of dried aerial parts (around 150–280 g) for 2 h. Yields have been calculated from dry material.

4.2. Gas Chromatography (GC) Analysis

GC analyses were performed on a Clarus 500 FID gas chromatograph (PerkinElmer, Courtaboeuf, France) equipped two fused silica gel capillary columns (50 m × 0.22 mm, film thickness 0.25 µm), BP-1 (polydimethylsiloxane) and BP-20 (polyethylene glycol). The oven temperature was programmed from 60 to 220 °C at 2 °C/min and then held isothermal at 220 °C for 20 min, injector temperature: 250 °C; detector temperature: 250 °C; carrier gas: hydrogen (1.0 mL/min); split: 1/60. The relative proportions of the oil constituents were expressed as percentages obtained by peak area normalization, without using correcting factors. Retention indices (RIs) were determined relative to the retention times of a series of *n*-alkanes with linear interpolation ('Target Compounds' software of PerkinElmer).

4.3. Mass Spectrometry

The EOs were analyzed with a PerkinElmer TurboMass detector (quadrupole, PerkinElmer, Courtaboeuf, France), directly coupled to a PerkinElmer Autosystem XL (PerkinElmer), equipped with a fused silica gel capillary column (50 m × 0.22 mm i.d., film thickness 0.25 µm), BP-1 (dimethylpolysiloxane). Carrier gas, helium at 0.8 mL/min; split: 1/75; injection volume: 0.5 µL; injector temperature: 250 °C; oven temperature programmed from 60 to 220 °C at 2 °C/min and then held isothermal (20 min); ion source temperature: 250 °C; energy ionization: 70 eV; electron ionization mass spectra were acquired over the mass range 40–400 Da.

4.4. NMR Analysis

¹³C-NMR analyses were performed on an AVANCE 400 Fourier Transform spectrometer (Bruker, Wissembourg, France) operating at 100.623 MHz for ¹³C, equipped with a 5 mm probe, in CDCl₃, with all shifts referred to internal tetramethylsilane (TMS). ¹³C-NMR spectra were recorded with the following parameters: pulse width (PW): 4 µs (flip angle 45°); acquisition time: 2.73 s for 128 K data table with a spectral width (SW) of 220.000 Hz (220 ppm); CPD mode decoupling; digital resolution 0.183 Hz/pt. The number of accumulated scans ranged 2000–3000 for each sample (around 40 mg of oil in 0.5 mL of CDCl₃). Exponential line broadening multiplication (1.0 Hz) of the free induction decay was applied before Fourier transformation.

4.5. Identification of Individual Components

Identification of the components was based: (i) on comparison of their GC retention indices (RIs) on polar and apolar columns, determined relative to the retention times of a series of *n*-alkanes with linear interpolation ('Target Compounds' software of PerkinElmer), with those of authentic compounds and (ii) on comparison of the signals in the ¹³C-NMR spectra of EOs with those of reference spectra compiled in the laboratory spectral library, with the help of a laboratory-made software [49–51]. In the investigated samples, individual components were identified by NMR at contents as low as 0.4%. Several compounds were identified by

comparison of ^{13}C -NMR chemical shifts with those reported in the literature, for instance capillene and capillin [27,52]; (*E*)-2-(2',4'-hexadiynylidene)-1,6-dioxaspiro[4.4]-nona-3,7-diene [32]; (*Z*) and (*E*)-tonghaosu. (2-(2',4'-hexa-diynyl-idene)-1,6-dioxaspiro[4.4]-non-3-ene [31,53].

4.6. Essential Oil Fractionation

A composite oil sample (F1 to F6, Fesdis; 247.9 mg) was submitted to flash chromatography (silica gel: 35–70 μm). Nine fractions (Fr1–Fr9) were eluted with a mixture of solvents of increasing polarity (pentane:diethyl ether, 100:0 to 0:100, and pure methanol); Fr1 (10.3 mg) and Fr2 (12.6 mg); pentane:Et₂O, 98:2; Fr3 (9.2 mg); pentane:Et₂O, 95:5 Fr4 (14.4 mg); pentane:Et₂O, 90:10 Fr5 (18.8 mg); pentane:Et₂O, 75:25 Fr6 (86.5 mg); pentane:Et₂O, 50:50 Fr7 (18.7 mg); pentane:Et₂O, 0:100; Fr8 (22.3 mg) and pure methanol, Fr9 (15.6 mg). All fractions of chromatography were analyzed by GC (RI), GC/MS and ^{13}C -NMR.

4.7. Antimicrobial Activity of the Essential Oil

4.7.1. Microbial Strains

Antimicrobial activity of the aerial part EO (Collective sample Bouilef-Hamla) were evaluated against two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Bacillus cereus* ATCC 25921) and two Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 8739, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603), two yeasts (*Candida albicans* ATCC 26790 and *C. albicans* ATCC 10231) and three filamentous fungi (*Fusarium oxysporum* MNHN 963917, *Aspergillus fumigatus* MNHN 566 and *Aspergillus flavus* MNHN 994294).

4.7.2. Screening of Antimicrobial Activity

The agar diffusion method [54] was used for the determination of antimicrobial activity of the EOs. Briefly, a suspension of the tested microorganisms (1 mL of a suspension at 10^6 cells/mL for bacteria and yeasts, 10^7 cells/mL for *S. aureus* and 10^4 spores/mL for filamentous fungi) was spread on the solid media plates, using Mueller–Hinton agar for bacteria, Sabouraud dextrose for yeasts and PDA for filamentous fungi. Filter paper discs (6 mm in diameter) were impregnated with 15 μL of the oil and 5 μL of DMSO and placed on the surface of inoculated plates. The activity was determined by measuring the inhibitory zone diameter in mm after incubation for 24 h at 37 °C for bacteria, 24–48 h at 30 °C for yeasts and 3 to 5 days at 25 °C for filamentous fungi. Fluconazole (FLU 25 μg /disc), nystatin (NY 30 μg /disc) were used as reference antifungal against yeasts and filamentous fungi and chloramphenicol (CHL 30 μg /disc), ciprofloxacin (CIP 10 μg /disc), gentamicin (GMN 10 μg /disc), vancomycin (VAN 30 μg /disc) were used as positive controls against bacteria. DMSO was used as negative control. Each test was performed in duplicate or in triplicate.

4.8. DPPH Radical Scavenging Activity

The antioxidant activity was measured on a sample of EO (Collective sample Fesdis F1–6). The antioxidant activity of *S. africana* EO was measured on the basis to scavenge of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH \cdot) free radical, according to the experimental protocol of Blois [55]. A volume of 2.5 mL with various concentrations (256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.03125 and 0.015625 mg/mL) of the EO in absolute ethanol were added to 1 mL of an ethanolic solution of DPPH at 0.03 mg/mL. For each concentration, a blank was prepared. In parallel, a negative control is prepared by mixing 2.5 mL of absolute ethanol with 1 mL of ethanolic solution of DPPH. After incubation in the dark for 30 min at room temperature, the absorbance was measured against a blank at 517 nm. The activity of the EO was compared to ascorbic acid as a positive control. DPPH free radical scavenging activity in percentage (%) was calculated using the following formula:

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100 \quad (1)$$

with: A_{control} is the absorbance of the negative control; A_{sample} is the absorbance of the tested sample.

The concentration of the EO required for the 50% reduction in the initial concentration of DPPH (IC_{50}) was calculated from the graph plotted of percentage inhibition against essential oil concentrations.

4.9. Anti-Inflammatory Capacity of *Santolina africana* Essential Oil

The anti-inflammatory capacity of *S. africana* essential oil (collective sample Fesdis F1–6) was evaluated by in vitro lipoxygenase inhibition assay [56–58]. The in vitro analysis for lipoxygenase inhibitory activity was performed using Lipoxidase type I–B (Lipoxygenase, LOX, EC 1.13.11.12) from Glycine max (soybean) purchased from Sigma-Aldrich Chimie (Saint-Quentin-Fallavier, France). It was determined by kinetic mode of spectrophotometric determination method, which was performed by recording the rate of change in absorbance at 234 nm. Indeed, the increase of absorbance at 234 nm due to formation of 13-hydroperoxides of linoleic acid (substrate used for LOX inhibition activity assay) [56–58].

A stock solution of LOX was prepared by dissolving around 5.7 units/mL of LOX in 0.2 M borate buffer pH 9.0 (1 unit corresponding to 1 μmol of hydroperoxide formed per min). Five concentrations of *S. africana* EO in dimethylsulfoxide (DMSO) were tested as inhibitor solution for LOX inhibition activity assay: 1.5, 2.5, 5.0, 7.5 and 10.0 mg/mL.

The LOX inhibition assays were performed by mixing 10 μL of LOX solution with 10 μL of inhibitor solution in 970 μL of boric acid buffer (0.2 M; pH 9.0) and incubating them briefly at room temperature. The reaction started by addition of 10 μL of substrate solution (Linoleic acid, 25 mM) and the velocity was recorded for 30 s at 234 nm. One assay was measured in absence of inhibitor solution and one assay was measured with DMSO mixed with distilled water (99.85% of DMSO in distilled water) which made it possible to eliminate the inhibition effect of DMSO. No inhibitor effect of DMSO on the LOX activity was detected and the LOX activity measured without inhibitor solution was considered as control (100% enzymatic reaction). All assays were performed on triplicate. The percentage of lipoxygenase inhibition was calculated according to the equation:

$$\text{Inhibition \%} = (V_{0\text{control}} - V_{0\text{sample}}) \times 100 / V_{0\text{control}} \quad (2)$$

$V_{0\text{control}}$ is the activity of LOX in absence of inhibitor solution and $V_{0\text{sample}}$ is the activity of LOX in presence of inhibitor solution [58]. The IC_{50} was calculated by the concentration of *S. africana* EO in DMSO inhibiting 50% of LOX activity.

4.10. Data Analysis

Principal components analysis (PCA) was performed using Xlstat (Adinsoft, Paris, France) [59].

Supplementary Materials: The following are available online, Table S1: Chemical composition of 18 samples of *Santolina africana* aerial part essential oil, Figure S1: Structure of polyacetylenes derivatives 88, 89, 90 and 91, Figure S2: Antioxidant test of *Santolina africana* essential oil and ascorbic acid against DPPH*.

Author Contributions: F.A.-B. and C.B. (Chahrazed Bekhechi) conceived and designed the experiments. C.E.W.M. performed sampling, extractions, antimicrobial and antioxidant activities. C.B. (Clementine Baccati) and C.B. (Chahrazed Bekhechi) performed GC, GC/MS, NMR experiments. F.H. and B.B. performed identification and description of the plant. M.M. and J.M. performed anti-inflammatory activity. M.P. performed statistical analyses. C.B. (Chahrazed Bekhechi), J.M. and F.T. contributed to the preparation of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: C.B. (Chahrazed Bekhechi) thanks the University of Corsica for a financial support (Associated Professor, September 2018).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Derbesy, M.; Touche, J.; Zola, A. The essential oil of *Santolina chamaecyparissus* L. *J. Essent. Oil Res.* **1989**, *1*, 269–275. [[CrossRef](#)]
2. Quézel, P.; Santa, S. *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*; Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique: Paris, France, 1963; pp. 972–977.
3. Dobignard, A.; Chatelain, C. *Index synonymique de la flore d'Afrique du nord Dicotyledoneae: Acanthaceae–Asteraceae*; Conservatoire et Jardin botaniques de la ville de Genève: Genève, Belgique, 2011; p. 363.
4. Fdil, R.; Lmachraa, I.; Fdil, N.; Ezoubeiri, A.; Gadhi, C.A. Huile essentielle des parties aériennes de *Santolina africana*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* **2011**, *150*, 47–60.
5. Lmachraa, I.; Fdil, R.; Fdil, N.; Mouzdahir, A. Huile essentielle de *Santolina africana* (Jord. & Fourr.) du Maroc: Composition chimique et isolement des deux principaux constituants. *J. Mater. Environ. Sci.* **2014**, *5*, 67–72.
6. Ben Mansour, R.; Gargouri, B.; Bouaziz, M.; Elloumi, N.; Belhadj Jilani, I.; Ghrabi, Z.; Lassoued, S. Antioxidant activity of ethanolic extract of inflorescence of *Ormenis africana* in vitro and in cell cultures. *Lipids Health Dis.* **2011**, *10*, 78–84. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Derouiche, K.; Zellagui, A.; Gherraf, N.; Bousetla, A.; Dehimat, L.; Rhouati, S. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils of *Santolina africana* flowers, endemic in Algeria. *J. Biosci. Biotechnol.* **2013**, *2*, 201–206.
8. Béjaoui, A.; Boulila, A.; Ben Salem, I.; Boussaid, M. Chemical composition and bioactivities of the polyphenolic-rich extract of *Ormenis africana* Jord. and Fourr. *Int. J. Food Prop.* **2017**, *20*, 1786–1795. [[CrossRef](#)]
9. Attia, S.; Grissa, K.L.; Mailleux, A.C.; Heuskin, S.; Lognay, G.; Hance, T. Acaricidal activities of *Santolina africana* and *Hertia cheirifolia* essential oils against the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). *Pest Manag. Sci.* **2012**, *68*, 1069–1076. [[CrossRef](#)]
10. Tundis, R.; Loizzo, M.R. A Review of the traditional use, phytochemistry and biological activities of the genus *Santolina*. *Planta Med.* **2018**, *84*, 627–637. [[CrossRef](#)]
11. Demirci, B.; Ozek, T.; Baser, K.H.C. Chemical composition of *Santolina chamaecyparissus* L. essential oil. *J. Essent. Oil Res.* **2000**, *12*, 625–627. [[CrossRef](#)]
12. Garg, S.N.; Gupta, D.; Mehta, V.K.; Kumar, S. Volatile constituents of the essential oil of *Santolina chamaecyparissus* Linn. from the Southern hills of India. *J. Essent. Oil Res.* **2001**, *13*, 234–235. [[CrossRef](#)]
13. Tognolini, M.; Barocelli, E.; Ballabeni, V.; Bruni, R.; Bianchi, A.; Chiavarini, M.; Impicciatore, M. Comparative screening of plant essential oils: Phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity. *Life Sci.* **2006**, *78*, 1419–1432. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Grosso, C.; Figueiredo, A.C.; Burillo, J.; Mainar, A.M.; Urieta, J.S.; Barroso, J.G.; Coelho, J.A.; Palavra, A.M. Supercritical fluid extraction of the volatile oil from *Santolina chamaecyparissus*. *J. Sep. Sci.* **2009**, *32*, 3215–3222. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Djeddi, S.; Djebile, K.; Hadjbourega, G.; Achour, Z.; Argyropoulou, C.; Skaltsa, H. In vitro antimicrobial properties and chemical composition of *Santolina chamaecyparissus* essential oil from Algeria. *Nat. Prod. Commun.* **2012**, *7*, 937–940. [[PubMed](#)]
16. Ruiz-Navajas, Y.; Viuda-Martos, M.; Perez-Alvarez, J.A.; Sendra, E.; Fernández-López, J. Chemical characterization and antibacterial activity of two aromatic herbs (*Santolina chamaecyparissus* and *Sideritis angustifolia*) widely used in the folk medicine. *J. Food Saf.* **2012**, *32*, 426–434. [[CrossRef](#)]
17. Nouasri, A.; Dob, T.; Krimats, S.; Dahmane, D.; Toumi, M.; Lynda, L.; Chelgoume, C.; Racheme, F. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Santolina chamaecyparissus* L. of Algeria. *J. Coast. Life Med.* **2015**, *3*, 220–227.
18. Zaiter, L.; Benayache, F.; Beghidja, N.; Figueredo, G.; Chalard, P.; Chalchat, J.C.; Marchioni, E.; Benayache, S. Essential oils of *Santolina africana* Jord. & Fourr. and *Santolina chamaecyparissus* L. *J. Essent. Oil Bear. Plant.* **2015**, *18*, 1338–1342.

19. Khubeiz, M.J.; Mansour, G. In vitro antifungal, antimicrobial properties and chemical composition of *Santolina chamaecyparissus* essential oil in Syria. *Int. J. Toxicol. Pharm. Res.* **2016**, *8*, 372–378.
20. Salah-Fatnassi, K.B.H.; Hassayoun, F.; Cheraif, I.; Khan, S.; Jannet, H.B.; Hammami, M.; Aouni, M.; Harzallah-Skhiri, F. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of flowerhead and root essential oils of *Santolina chamaecyparissus* L. growing wild in Tunisia. *Saudi J. Biol. Sci.* **2017**, *24*, 875–882. [[CrossRef](#)]
21. Labeled, F.; Masullo, M.; Cerulli, A.; Benayache, F.; Benayache, S.; Piacente, S. Chemical constituents of the aerial parts of *Santolina chamaecyparissus* and evaluation of their antioxidant activity. *Nat. Prod. Commun.* **2017**, *12*, 1605–1608.
22. Boudoukha, C.; Bouriche, H.; Elmastas, M.; Aksit, H.; Kayir, O.; Genc, N.; Senator, A. Antioxidant activity of polyphenolic leaf extract from *Santolina chamaecyparissus* L. (Asteraceae) and the isolated luteolin-7-O-glucoside. *J. Pharm. Res. Int.* **2018**, *22*, 1–12. [[CrossRef](#)]
23. Liu, K.; Rossi, P.G.; Ferrari, B.; Berti, L.; Casanova, J.; Tomi, F. Composition, irregular terpenoids, chemical variability and antibacterial activity of the essential oil from *Santolina corsica* Jordan et Fourr. *Phytochemistry* **2007**, *68*, 1698–1705. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Rossi, P.G.; Panighi, J.; Luciani, A.; de Rocca Serra, D.; Maury, J.; Gonny, M.; Muselli, A.; Bolla, J.M.; Berti, L. Antibacterial action of essential oils from Corsica. *J. Essent. Oil Res.* **2007**, *19*, 176–182. [[CrossRef](#)]
25. Cherchi, G.; Deidda, D.; De Gioannis, B.; Marongiu, B.; Pompei, R.; Porcedda, S. Extraction of *Santolina insularis* essential oil by supercritical carbon dioxide: Influence of some process parameters and biological activity. *Flavour Frag. J.* **2001**, *16*, 35–43. [[CrossRef](#)]
26. Gnani, G.; Bertea, C.M.; Usai, M.; Maffei, M.E. Comparative characterization of *Santolina insularis* chemotypes by essential oil composition. 5S-rRNA-NTS sequencing and EcoRV RFLP-PCR. *Phytochemistry* **2010**, *71*, 930–936. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Palá-Paúl, J.; Pérez-Alonso, M.J.; Velasco-Negueruela, A.; Palá-Paúl, R.; Sanz, J.; Conejero, F. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L. subsp. *rosmarinifolia*. *Biochem. Syst. Ecol.* **2001**, *29*, 663–672. [[CrossRef](#)]
28. Ioannou, E.; Poiata, A.; Hancianu, M.; Tzakou, O. Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oils of flower heads and leaves of *Santolina rosmarinifolia* L. from Romania. *Nat. Prod. Res.* **2007**, *21*, 18–23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Chibani, S.; Labeled, A.; Kabouche, A.; Semra, Z.; Smati, F.; Aburjai, T.; Kabouche, Z. Antibacterial activity and chemical composition of essential oil of *Santolina rosmarinifolia* L. (Asteraceae) from Algeria. *Pharm. Lett.* **2013**, *5*, 238–241.
30. Kononov, D.A. Polyacetylene compounds of plants of the Asteraceae family (Review). *Pharm. Chem. J.* **2014**, *48*, 615–633. [[CrossRef](#)]
31. Chanotiya, C.S.; Sammal, S.S.; Mathela, C.S. Composition of a new chemotype of *Tanacetum nubigenum*. *Indian J. Chem.* **2005**, *44*, 1922–1926. [[CrossRef](#)]
32. Sanz, J.F.; Falcó, E.; Marco, J.A. New Acetylenes from *Chrysanthemum coronarium* L. *Eur. J. Org. Chem.* **1990**, *3*, 303–305.
33. Basta, A.; Pavlović, M.; Couladis, M.; Tzakou, O. Essential oil composition of the flowerheads of *Chrysanthemum coronarium* L. from Greece. *Flavour Frag. J.* **2007**, *22*, 197–200. [[CrossRef](#)]
34. Wrang, P.A.; Lam, J. Polyacetylenes from *Chrysanthemum leucanthemum*. *Phytochemistry* **1975**, *14*, 1027–1035. [[CrossRef](#)]
35. Bohlmann, F.; Arndt, C.; Bornowski, H.; Kleine, K.M.; Herbst, P. Polyacetylenverbindungen, LVI, neue acetylenverbindungen aus *Chrysanthemum*-Arten. *Chem. Ber.* **1964**, *97*, 1179–1192. [[CrossRef](#)]
36. Lam, J.; Bildsøe, H.; Christensen, L.P.; Thomassen, T. Chemical constituents of *Santolina chamaecyparissus*. *Acta Chem. Scand.* **1989**, *43*, 799–802. [[CrossRef](#)]
37. Carrasco, A.; Ortiz-Ruiz, V.; Martinez-Gutierrez, R.; Tomas, V.; Tudela, J. *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography-mass spectrometry, antioxidant and lipoxigenase inhibitory bioactivities. *Ind. Crops Prod.* **2015**, *73*, 16–27. [[CrossRef](#)]

38. Cutillas, A.-B.; Carrasco, A.; Martínez-Gutierrez, R.; Tomas, V.; Tudela, J. Thyme essential oils from Spain: Aromatic profile ascertained by GC-MS and their antioxidant, anti-lipoxygenase and antimicrobial activities. *J. Food. Drug Anal.* **2018**, *26*, 529–544. [[CrossRef](#)]
39. Whitman, S.; Gezginci, M.; Timmermann, B.N.; Holman, T.R. Structure-activity relationship studies of nordihydroguaiaretic acid inhibitors toward soybean, 12-human, and 15-human lipoxygenase. *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 2659–2661. [[CrossRef](#)]
40. Jazet Dongmo, P.M.; Kuate, J.; Ngouana, V.; Damesse, F.; Tchinda Sonwa, E.; Amvam Zollo, P.H.; Menut, C. Comparaison des propriétés anti-radicalaires et anti-inflammatoires des huiles essentielles de *Citrus reticulata* var. *madagascar* et *Citrus sinensis* var. *casagrande* du Cameroun. *Fruits* **2008**, *63*, 201–208.
41. Santoyo, S.; Caverro, S.; Jaime, L.; Ibañez, E.; Señoráns, F.J.; Reglero, G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J. Food Prot.* **2005**, *64*, 790–795. [[CrossRef](#)]
42. Wannissorn, B.; Jarikasem, S.; Siritwangchai, T.; Thubthimthed, S. Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia* **2005**, *76*, 233–236. [[CrossRef](#)]
43. Šarac, Z.; Matejić, J.S.; Stojanović-Radić, Z.Z.; Veselinović, J.B.; Džamić, A.M.; Bojović, S.; Marin, P.D. Biological activity of *Pinus nigra* terpenes-evaluation of FtsZ inhibition by selected compounds as contribution to their antimicrobial activity. *Comput. Biol. Med.* **2014**, *54*, 72–78. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Viljoen, A.; van Vuuren, S.; Ernst, E.; Klepser, M.; Demirci, B.; Başer, H.; van Wyk, B.E. Osmitopsis asteriscoides (Asteraceae)-the antimicrobial activity and essential oil composition of a Cape-Dutch remedy. *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *88*, 137–143. [[CrossRef](#)]
45. Lemos, M.F.; Lemos, M.F.; Pacheco, H.P.; Endringer, D.C.; Scherer, R. Seasonality modifies rosemary's composition and biological activity. *Ind. Crops Prod.* **2015**, *70*, 41–47. [[CrossRef](#)]
46. Panizzi, L.; Flamini, G.; Cioni, P.L.; Morelli, I. Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *J. Ethnopharmacol.* **1993**, *39*, 167–170. [[CrossRef](#)]
47. Adam, K.; Sivropoulou, A.; Kokkini, S.; Lanaras, T.; Arsenakis, M. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia* and *Salvia fruticosa* essential oils against humanpathogenic fungi. *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 1739–1745.
48. Kamatou, G.P.P.; Viljoen, A.M.; Gono-Bwalya, A.B.; van Zyl, R.L.; van Vuuren, S.F.; Lourens, A.C.U.; Başer, K.H.C.; Demirci, B.; Lindsey, K.L.; van Staden, J.; et al. The in vitro pharmacological activities and a chemical investigation of three South African *Salvia* species. *J. Ethnopharmacol.* **2005**, *102*, 382–390. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Tomi, F.; Bradesi, P.; Bighelli, A.; Casanova, J. Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.* **1995**, *1*, 25–34.
50. Tomi, F.; Casanova, J. ¹³C-NMR as a tool for identification of individual components of essential oils from Labiatae—A review. *Acta Hort.* **2006**, *723*, 185–192. [[CrossRef](#)]
51. Bighelli, A.; Casanova, J. Analytical Tools for Analyzing Cymbopogon Oils. In *Essential Oil Bearing Grasses—Cymbopogons*, 1st ed.; Taylor and Francis: Boca Raton, FL, USA, 2009; p. 195.
52. Palá-Paúl, J.; Pérez-Alonso, M.J.; Velasco-Negueruela, A.; Ramos-Vázquez, P.; Gómez-Contreras, F.; Sanz, J. Essential oil of *Santolina rosmarinifolia* L. ssp. *rosmarinifolia*: First isolation of capillene, a diacetylene derivative. *Flavour Frag. J.* **1999**, *14*, 131–134.
53. Buono-Core, E.; Nuñez, M.V.; Lucera, A.; Vargas, R.M.; Jullian, C. Structural elucidation of bioactive principles in floral extracts of German Chamomille (*Matricaria recutita* L.). *J. Chil. Chem. Soc.* **2011**, *56*, 549–553. [[CrossRef](#)]
54. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test*; National Committee for Clinical Laboratory Standards: Wayne, PA, USA, 1997.
55. Blois, M. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **1958**, *181*, 1199–1200. [[CrossRef](#)]
56. Eshwarappa, R.S.B.; Ramachandra, Y.L.; Subaramaiha, S.R.; Subbaiah, S.G.P.; Austin, R.S.; Dhananjaya, B.L. Anti-Lipoxygenase activity of leaf gall extracts of *Terminalia chebula* (Gaertn.) Retz. (Combretaceae). *Pharmacogn. Res.* **2016**, *8*, 78–82. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

57. Srivastava, P.; Vyas, V.K.; Variya, B.; Patel, P.; Qureshi, G.; Ghate, M. Synthesis, anti-inflammatory, analgesic, 5-lipoxygenase (5-LOX) inhibition activities, and molecular docking study of 7-substituted coumarin derivatives. *Bioorg. Chem.* **2016**, *67*, 130–138. [[CrossRef](#)]
58. Bayala, B.; Bassole, I.H.; Gnoula, C.; Nebie, R.; Yonli, A.; Morel, L.; Figueredo, G.; Nikiema, J.-B.; Lobaccaro, J.-M.; Simpure, J. Chemical composition, antioxidant, anti-Inflammatory and anti-proliferative activities of essential oils of plants from Burkina Faso. *PLoS ONE* **2014**, *9*, 92122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Legendre, P.; Legendre, L. *Numerical Ecology*, 2nd ed.; Elsevier Science: Amsterdam, Netherlands, 1998.

Sample Availability: Samples of essential oils were available from the author (F.T.).



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

