



Année Universitaire : 2009-2010

Master Sciences et Techniques : CMBA  
Chimie des Molécules Bio Actives



**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES**  
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**Extraction et Caractérisation de la composition  
chimiques des huiles essentielles de *Nerium oleander* &  
*Artemisia herba alba***

**Présenté par:**

**ALAOUI BELGHITI Asmae**

**Encadré par:**

- Mr. E. DERWICH (CURI- Fès)
- Mr. A. BOULAHNA (FST-Fès)

**Soutenu Le 23 Juin 2010 devant le jury composé de:**

- Mr. F.KHALIL (FST-Fès)
- Mr. O. SENHAJI (FST-Errachidia)
- Mr. R. TAOUIL (FST-Errachidia)
- Mr. A. BENTAMA (FST-Fès)
- Mr. E. DERWICH (CURI- Fès)
- Mr. A. BOULAHNA (FST-Fès)

**Stage effectué au : Centre Universitaire Régional d'Interface de Fès (CURI)**



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**Nom et prénom:** ALAOUI BELGHITI Asmae

**Année Universitaire :** 2009/2010

**Titre:** *EXTRACTION ET CARACTERISATION DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE Nerium oleander & Artemisia herba alba*

## Résumé

Les huiles essentielles du *Nerium Oleander* de la région d'Ain Kanssara et d'*Artemisia herba alba* de la région Tazouta ont été extraites par la méthode d'hydrodistillation et ont été analysés par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM).

Les résultats obtenus montrent que le rendement en huile essentielle extraite des feuilles de *Nerium oleander* est de 0,13%. La composition chimique est constituée de composés majoritaires: neriine (15,31%), limonene (8,19%), 1,8-cineole (7,10%), solanone (6,05%), camphene (5,58%), sabinene (5,20%),  $\alpha$ -pinene (4,55%), trans-verbenol (4,02%), borneol (3,10%), aristolene (2,35%), terpinyl acetate (2,10 %) et isosativene (1,85 %), représentant 70,24% du total d'huile. Alors que celle d'*Artemisia herba alba*, le rendement est de 1%, son huile essentielle est constituée de composés majoritaires: camphre (21,02%), 1,8-Cineole (9,87%), chrysanthénone (7,01%),  $\beta$ -farnesène (5,46%),  $\alpha$ -thujone (4,09%),  $\beta$ -thujone (3,89%),  $\beta$ -eudesmol (2,01%),  $\beta$ -pinène (1,25%), davanone (1,08%), ocimene (1,05%) et pinocarvone (1,01 %). représentant 59,85% du total d'huile.

**Mots clés:** *Nerium oleander*, *Artemisia herba-alba*, huiles essentielles, CPG/SM.

# Sommaire

<i>Introduction</i> .....	1
<i>Chapitre I : Rappels Bibliographiques</i>	
<b>I- Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales (PAM)</b> .....	6
<b>II- les Huiles Essentielles (HE)</b> .....	7
<b>II-1-Définition</b> .....	7



---

II-2-Localisation et lieu de synthèse des huiles essentielles .....	7
II-3-Composition chimique des huiles essentielles .....	7
II-4-Rôle physiologique .....	11
II-5-Facteurs influençant la composition chimique .....	11
II-6-Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles .....	13
II-7-Activité biologique des huiles essentielles.....	13
II-8-Domains d'utilisations .....	15
III- Présentation des plantes aromatiques et médicinales étudiées.....	17
III-1- <i>Nerium oleander</i> .....	17
III-2- <i>Artemisia herba-alba</i> .....	23
IV- Méthodes d'extractions des Huiles essentielles .....	26
IV-1- Enfleurage et Macération .....	26
V-2- Expression .....	26
IV-3- Distillation: Hydrodistillation .....	26
IV-4- L'entraînement à la vapeur sèche .....	26
IV-5- L'extraction aux solvants volatils .....	26
IV-6- L'extraction au CO <sub>2</sub> supercritique .....	27
IV-7- L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes .....	27
V- Méthodes d'analyses des huiles essentielles .....	28
V-1- Chromatographie en phase gazeuse (CPG) .....	28
V-2-Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse et Spectrométrie de masse (CPG/SM).....	29
V-3- La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) .....	29
<i>Chapitre 2: Matériel et Méthodes</i>	
I- Matériel végétal .....	31
I-1-Récolte des plantes .....	31
I-2-Mode de conservation des plantes .....	33
I-3-Détermination de l'humidité .....	33
II- Extraction des huiles essentielles.....	34
II-1-Procédé d'extraction .....	34
II-2-Préparation des échantillons .....	35
II-3-Calcul du rendement .....	36
III- Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).....	36

*Chapitre 3: Résultats et discussions*



---

<b>I- Rendement en huiles essentielles .....</b>	<b>39</b>
<b>II- Composition chimique des huiles essentielles analysée par CPG/SM .....</b>	<b>39</b>
<b>III- Distribution en pourcentage des différents constituants des huiles essentielles des plantes étudiées .....</b>	<b>44</b>
<b>IV- Comparaison de la composition chimique des huiles essentielles des plantes étudiées .....</b>	<b>49</b>
<i>Conclusion générale et perspectives.....</i>	<b>51</b>
<i>Références Bibliographiques.....</i>	<b>52</b>
<i>Annexes.....</i>	<b>59</b>



## *Introduction :*

*Les* plantes nous relient au passé, au présent et à l'avenir. Nous les associons à d'appétissantes nourritures, aux parfums de la nature, aux médecines douces, à de paisibles jardins, à des savoirs utiles, à une histoire mystérieuse et à des pratiques sacrées. Chaque élément de cette tapisserie colorée avive les autres mais, sous les fils, la trame est verte, car la plante est à l'origine de tout ce charme [1].



*M*ais cette richesse doit être utilisée avec prudence et vigilance parce que Beaucoup d'herbes médicinales sont thérapeutiques à une certaine dose et toxiques à une autre [2]. Et sans doute c'est la plus vieille médecine du monde, et peut-être la forme encore la plus répandue sur notre planète aujourd'hui.

*L*e soigner par les plantes est un instinct aussi vieux que l'humanité, que l'on retrouve d'ailleurs dans le comportement des animaux. Cette pratique a engendré d'innombrables croyances sur ce qui sauve la vie et sur les forces qui lui sont néfastes. Beaucoup de remèdes phytothérapeutiques sont nés des observations, de l'inspiration et de l'expérience des guérisseurs, devenus des personnages révéérés dans toutes les tribus et chez les peuples [1].

*L*a pensée scientifique occidentale traditionnelle s'attache à expliquer un tout en analysant les propriétés des éléments qui le composent. Ainsi la botanique expose la fonction de chaque partie d'une plante, et la chimie analyse ses composants pour isoler les principes actifs [1].

*L*es principes actifs sont :

**Les Alcaloïdes :** composés organiques actifs contenant au moins un atome d'azote. Puissants, souvent toxiques (ex. morphine), ils donnent drogues, poisons et médicaments, et sont au centre de la recherche pharmaceutique.

**Les Amers :** Composés divers au goût amer ou piquant qui ouvrent l'appétit.

**Les Enzymes :** catalyseurs organiques essentiels pour les fonctions biochimiques, présents dans toutes les plantes.

**Les Glucosides :** substances qui, décomposées par des enzymes spécifiques, donnent un sucre et un aglycone thérapeutiquement actif, souvent toxique.

**Les Gommés et Résines :** substances adhésives insolubles dans les solvants organiques. Souvent produites en réaction à une blessure.

**Le Mucilage :** Gomme visqueuse se gonflant et formant un gel dans l'eau. Calme les irritations et inflammations de la peau.

**Les Saponines Glucosides :** émulsifiants, souvent irritants ou toxiques. Chimiquement proches des stéroïdes, qui produisent les hormones sexuelles.



Les Tanins : composés astringents qui coagulent les protéines du sang.


Les Vitamines et Minéraux : Nécessaires à diverses fonctions métaboliques, à la différence des enzymes, non catalyseurs.


Les Huiles Essentielles : Essences de plantes aromatiques, extraites par distillation, solvants organiques, pression [1].

Cette étude vise à traiter le dernier extrait cité: l'huile Essentielle des feuilles de deux plantes médicinales *Nerium Oleander* (Laurier Rose) et *Artemisia herba-alba* (Armoise blanche); ces deux espèces ont été choisies pour leur abondance. Et aussi aucun travail n'a été consacré à l'étude de ces deux espèces du moins pendant ces dernières années au sein de notre Master option chimie des molécules bioactives.

Notre travail sera donc réparti en 3 chapitres, initié par une recherche bibliographique où nous apportons un abrégé de l'histoire de l'utilisation des plantes médicinales au cours des siècles, des généralités sur les Huiles Essentielles, et un aperçu sur les plantes qu'on va étudier.

La deuxième partie présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir :

 Extraction des huiles essentielles par l'hydrodistillation Des deux plantes *Nerium oleander* et *Artemisia herba-alba*.

 La caractérisation de la composition chimique de l'huile volatile des deux plantes par la Chromatographie en Phase Gazeuse couplé à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM).

Et enfin le troisième chapitre discute les résultats obtenus dans cette étude.







*I-Généralités sur les plantes aromatiques et médicinales (PAM):*

➔ Une plante médicinale est une plante que l'on cultive ou que l'on cueille dans son milieu naturel pour ses propriétés médicinales. L'être humain utilise des plantes



depuis des milliers d'années pour traiter divers maux, le monde végétal est à l'origine d'un grand nombre de médicaments.

Récemment, des chercheurs ont estimé qu'il existe environ 400 000 espèces de plantes dans le monde, dont environ le quart ou le tiers ont été utilisées par les sociétés à des fins médicinales [3, 4, 5].

Dans plusieurs pays en voie de développement, une grande partie de la population fait confiance à des médecins traditionnels et à leurs collections de plantes médicinales pour les soigner. Les plantes aromatiques et médicinales ont eu une diversité infinie d'emplois, dans le domaine thérapeutique, alimentaire, cosmétique, industriel, etc.

Situé à l'angle Nord-ouest du continent Africain entre 21° et 36° de latitude de Nord et entre le 1er et le 17ème degré de longitude Ouest, le Maroc jouit d'une position privilégiée avec une façade maritime de 3446 Km de long s'ouvrant sur la méditerranée et l'océan atlantique.

Cette position géographique particulière confère au Maroc une gamme exceptionnelle de bioclimat très variées allant de l'humide et de sub-humide au saharien et désertique en passant par l'aride, le semi-aride et le climat de haute montagne dans le rifs, le moyen et le haut atlas où les altitudes dépassent respectivement 2500, 3000 et 4000m [6].

Au Maroc, les plantes aromatiques et médicinales, occupent une place très importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers problèmes de santé. Les remèdes utilisés sont considérés comme : moins chers, sans effets indésirables et ont tendance à être plus employés dans les maladies chroniques telles que le diabète, les rhumatismes, le cancer, etc.

Par ailleurs, l'exploitation et le commerce des plantes aromatiques et médicinales représentent, pour plusieurs familles dans la campagne et en ville, une source de revenu non négligeable, pour s'en apercevoir, il suffit de constater l'épanouissement du marché des plantes aromatiques et médicinales et la multiplication des vendeurs des plantes aromatiques et médicinales et/ou des produits cosmétiques à base des plantes. Et vu le développement rapide de la population, les besoins en produits aromatiques d'origine végétale, que ce soit simplement un matériel végétal ou les produits de transformation, ont augmenté d'une façon considérable [7].

### II-Huiles Essentielles (HE) :

Les huiles essentielles sont composées par des molécules aromatiques d'origines végétales présentant une très grande diversité de structure. Cependant ces huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, mais toujours précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une



part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes une forte demande toujours plus exigeante [8].

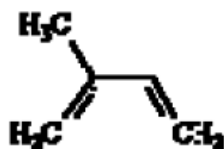
### ***II-1-Localisation et lieu de synthèse des Huiles Essentielles :***

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, bois, racines, des rhizomes, fruits et des graines. La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à l'huile essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, poils sécréteurs des Lamiacées, des poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae [9].

### ***II-2-Composition chimique des Huiles essentielles :***

➡ Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes, prépondérants dans la plupart des essences, et des dérivés du phénylpropane, retrouvé en tant que composé majoritaire dans quelques unes, telles que les essences d'anis, de cannelle, de girofle, etc... Divers autres constituants minoritaires leurs sont associés. De nombreux dérivés porteurs de fonctions diverses sont également considérés comme des composés terpéniques [10].

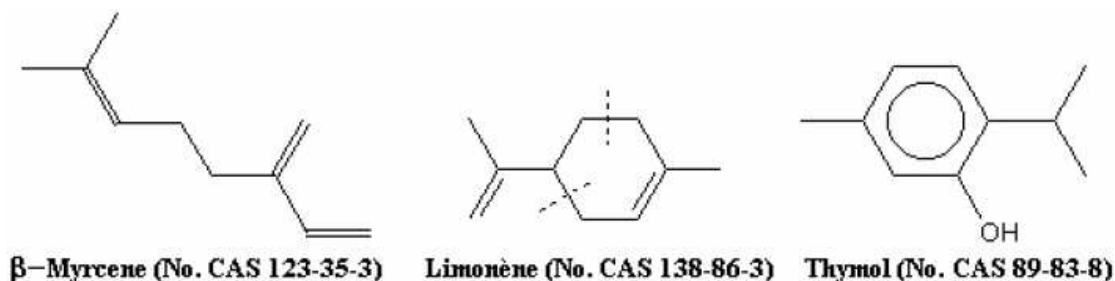
Les composés terpéniques sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique. Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés  $(C_5)_n$  ramifiées, dérivées du 2- méthylbutadiène (isoprène), nous pouvons réaliser la classification suivante :



***Figure 1: L'isoprène [10].***

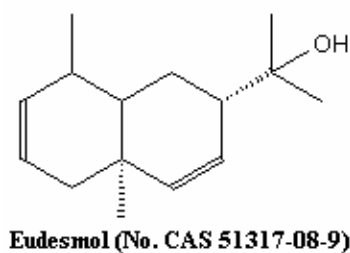


☑ Pour  $n = 2$ : les monoterpènes. Ces terpènes proprement dits sont des hydrocarbures en  $C_{10}$ . Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques.  
A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales, surtout alcool et aldéhyde.



**Figure 2:** Exemple des composants monoterpéniques [10].

☑ Pour  $n = 3$ : les sesquiterpènes. Ce sont des hydrocarbures de formule  $C_{15}$ , soit une fois et demie (sesqui-) la molécule des terpènes (en  $C_{10}H_{16}$ ).

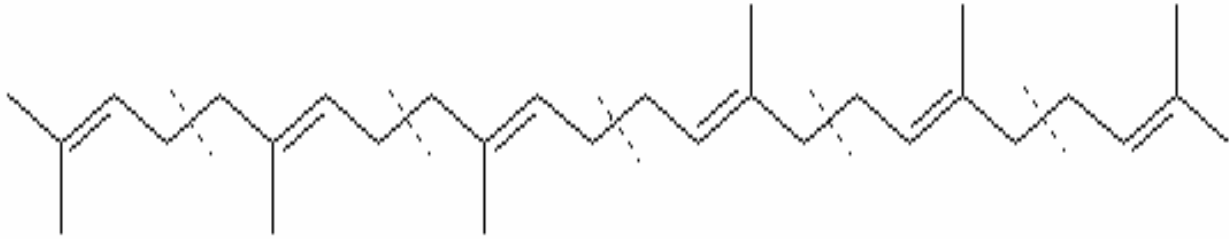


**Figure 3:** Exemple des composants sesquiterpéniques [10].

☑ Pour  $n = 4$ : les diterpènes qui sont des dérivés d'hydrocarbures en  $C_{20}$ . Ces composés, à point d'ébullition élevé, se rencontrent surtout dans les résines

☑ Pour  $n = 5$ : les sesterpènes. Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en  $C_{25}$  [10].

☑ Pour  $n = 6$ : les triterpènes. Ces composés en  $C_{30}$  sont très répandus, notamment dans les résines, à l'état libre, estérifiés, ou sous forme hétérosidique.



Squalène (No. CAS 7683-64-9)

Figure 4: Exemple des composants triterpéniques [10].

☑ Pour  $n = 8$  et les polyterpènes le caoutchouc naturel est l'exemple plus nommé. Le caoutchouc naturel est un polymère de l'isoprène. Il est produit par la Coagulation par la chaleur de la sève de l'hévéa.

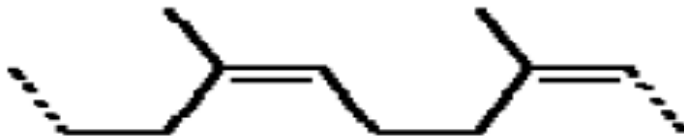
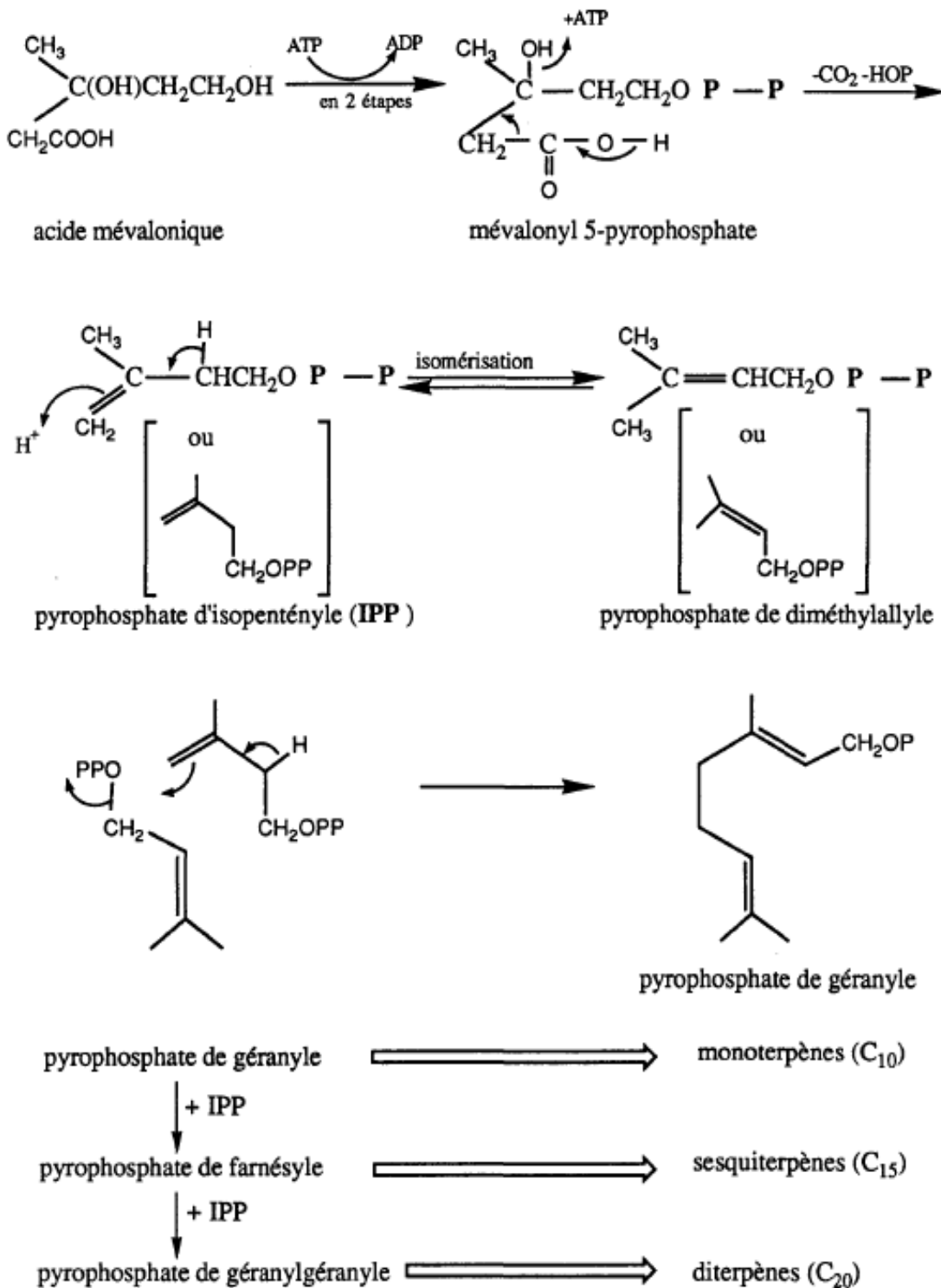


Figure 5: Caoutchouc naturel [10].



**Figure 6:** Schéma de la biosynthèse des terpènes [11].



- ➔ Dans une huile essentielle, nous retrouvons presque exclusivement des mono- et sesquiterpènes. Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes, ce sont des arènes issues d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique lui-même intermédiaire de la synthèse de la lignine à partir du phénylpropane. Les dérivés phénylpropanoïques et les terpénoïdes sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au sein des mêmes organes sécréteurs où ils forment l'essence naturelle [10].
- ➔ On observe des variations chimiques (qualitatives et quantitatives) importantes conduisent à admettre l'existence de races chimiques (exemple : Thymus à thymol, à geraniol, à carvacrol, à linalol) [12]. Parmi les nombreux constituants d'une huile essentielle, l'un domine généralement ; (composé majoritaire). La composition chimique des huiles essentielles varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la végétation. Elle peut aussi être modifiée au cours de l'extraction ou durant la conservation [13, 14, 15].

### ***II-3-Rôle physiologique :***

- ➔ Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu [16].
- ➔ Certainement, plusieurs effets apparents utiles ont été décrits : réduction de la compétition des autres espèces de plantes par inhibition chimique de la germination des graines, et protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides, et contre les herbivores par goût défavorables sur le système nerveux [17].
- ➔ La plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. Et comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques [18].





## *II-4-Facteurs influençant la composition chimique :*

### Les dénominations trompeuses du matériel végétal :

- ➡ Une huile essentielle doit, avant tout, autre chose, être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue [19, 20].

### Influence du cycle végétatif :

- ➡ Des variations importantes peuvent se produire au cours du cycle végétal autant en ce qui concerne le rendement et la composition chimique en huile essentielle [20].

### Influence des facteurs extrinsèques :

- ➡ Il s'agit là de l'incidence des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales (l'apport d'engrais et l'influence des variations N, P, K, régime hydrique), la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime de vents exercent une influence directe [21]. Ainsi les facteurs géographiques et édaphiques [20].

### La récolte du matériel végétal :

- ➡ Le ramassage du matériel végétal pose très souvent le problème de la contamination par d'autres espèces végétales surtout s'il s'agit de plantes à croissance rapide ou de végétaux qui poussent dans des lieux où se trouvent de nombreuses autres espèces végétales [19, 20].

### Les transformations du matériel végétal :

- ➡ Le matériel végétal qui va subir l'hydrodistillation n'est pas toujours traité immédiatement. Des modifications physiques et biochimiques dues à l'action de l'air, du soleil, de l'échauffement en tas peuvent se produire et se révéler fâcheuses pour la qualité de l'huile essentielle, surtout s'il s'agit de fleurs [20].

### Les hybridations, les facteurs de mutation, la polyploidie et les aberrations chromosomiques :

- ➡ Les hybridations introduisent l'hétérogénéité dans un peuplement végétal [20]. Une race chimique peut apparaître par mutation. Ce cas a «été signalé avec l'exemple





pour le Houblon (*Humulus lupulus L.*). Dans la plupart des cas, la polyploïdie augmente les rendements en huile essentielle (Carvi, Menthe, Camomille) [20].

#### Le polymorphisme chimique :

- ➔ Pour une même espèce botanique, il peut exister plusieurs races chimiques ou « chimiotypes ». On a parfois utilisé l'expression de « formes physiologiques ». [20].

#### Influence du procédé d'obtention:

- ➔ La labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations, etc. Il faut enfin signaler que la cinétique de distillation n'est pas la même pour tous les constituants d'une huile essentielle (carbures, alcools, cétones, etc.), la composition du distillat varie en fonction du temps [21].

### ***II-5- Propriétés physico-chimiques des Huiles Essentielles :***

- ➔ On trouve généralement les huiles essentielles incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Toutes les huiles essentielles sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les huiles essentielles de cannelle, de girofle et de sassafras. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation [22].

### ***II-6-Activité biologique des huiles essentielles :***

Les huiles essentielles agissent selon leur tropisme ; ce terme signifie que chaque huile exerce ses pouvoirs curatifs sur un organe ou une zone en particulier, ces substances volatiles pénètrent les tissus et l'organisme. Par exemple, l'HE de basilic est particulièrement active au niveau de la digestion. Celle de cyprès améliore la circulation. Il est donc très important de se renseigner sur les effets thérapeutiques



des HE car leur usage peut comporter des inconvénients. Par exemple, une HE de menthe des champs est indiquée pour stimuler les personnes fatiguées, elle soulage les douleurs névralgiques mais ne doit jamais être utilisée dans un bain, sous peine d'irritation sérieuse de la peau. Outre ces propriétés principales, elles ont toutes une vertu [7].

Les huiles essentielles présentent plusieurs activités biologiques :

#### Antibactérienne :

- ➡ Les phénols (carvacrol, thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (géraniol, menthol, terpinéol), aldéhydes (néral, géranial), etc... [7].

#### Antivirale :

- ➡ Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui, les huiles essentielles constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques [7].

#### Antifongique :

- ➡ Les mycoses sont d'une actualité criante, car les antibiotiques prescrits de manière abusive favorisent leur extension, avec les huiles essentielles on utilisera les mêmes groupes que ceux cités plus haut, on ajoutera les sesquiterpéniques et les lactones sesquiterpéniques. Par ailleurs, les mycoses ne se développent pas sur un terrain acide. Ainsi il faut chercher à alcaliniser le terrain [7].

#### Antiparasitaire :

- ➡ Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites [7].

#### Antiseptique :



- ➔ Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes [7].
- ➔ L'activité de quelques substances rencontrées dans les huiles essentielles est résumée dans le tableau 1.

**Tableau 1** : Bioactivité de quelques principes des huiles essentielles [23, 24].

Le composé	Bioactivités
Acetate de bornyl	antibactérien; antispasmodique; antiviral; expectorant; saveur; insectifuge; myorelaxant; pesticide; sédatif
Camphre	Allelopathique; analgésique; anesthésique; antiacné; antidiarrhétique; antidysentérique; antioxydant; antiseptique; antispasmodique; stimulant- CNS; cancer-préventif; carminatif; produit de beauté; expectorant; fongicide; herbicide; insectifuge; nématicide; pesticide; stimule la respiration; vibriocide
Carvone	antiacetylcholinestérase; antiseptique; CNS-stimulant; cancer-préventif; carminatif; saveur; insecticide; insectifuge; nématicide; parfumerie; pesticide; sédatif; trichomonocide; vermicide
Sabinene	Parfumerie
$\alpha$ - thujone	Antibactérienne ; insecticide ; larvicide ; pesticide
1,8- cineole	Antimicrobienne
Anethol/estragole	Antispasmodique
Linalool	Antimicrobienne, hypnotique, hypothermique
Beta asarone	Sédatif, hypnotique

**II-  
7-**

**Domaines d'utilisations des huiles essentielles :**



### II-7-1- phytothérapie :

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les huiles essentielles pour traiter un certain nombre de maladies. Le terme aromathérapie vient du chimiste Français René-Maurice Gattefosse, qui a utilisé l'huile essentielle de lavande pendant la première guerre mondiale pour soigner des blessures et des infections. Selon lui, la lavande était plus appropriée pour traiter les infections que plusieurs antiseptiques utilisés à cette époque. Cette spécialité préoccupe de plus en plus des médecins et des pharmaciens qui ont publié un nombre important d'ouvrages d'aromathérapie [22].

Les huiles essentielles sont largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries. La listerine qui est une solution constituée d'huiles essentielles de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les microorganismes de la salive et de la plaque dentaire. Les huiles essentielles de thym et de romarin ont été utilisées pour soulager la fatigue, les maux de tête, les douleurs musculaires et quelques problèmes respiratoires.

Malheureusement, ces prescriptions ne possèdent pas de bases scientifiques rigoureuses car elles sont souvent tirées de pratiques et de tâtonnements empiriques. Des études très récentes ont montré que le géraniol a une action sur les cellules cancéreuses du colon en plus de l'activité anti-inflammatoire, récemment mise en évidence [22].

### II-7-2-Utilisation en aéro-ionisation :

Dans les locaux, on peut aseptiser l'atmosphère avec un ionisateur d'huiles essentielles. Il se forme ainsi des aérosols vrais aromatiques, ionisés, créant de l'oxygène naissant ionique, fortement bactéricide, tout en contribuant à dépolluer l'atmosphère.

Elles servent dans la fabrication du " paragerm " , solution volatile à base d'essences naturelles (citron, lilas) à activité bactéricide, acaricide et fongistatique qui s'est révélée sans aucune toxicité pour l'homme aux doses utilisées [22].

### II-7-3-Parfumerie et cosmétologie :



L'utilisation des huiles essentielles dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et antioxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable [22].

#### II-7-4-Industrie alimentaire :

En industrie alimentaire, on cherche toujours à avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure. Une nouvelle technique pour réduire la prolifération des micro-organismes réside dans l'utilisation des huiles essentielles. Les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles sont utilisées dans la conservation des denrées alimentaires. Parmi le groupe diversifié des constituants chimiques des huiles essentielles, le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire. Ils y sont rajoutés pour rehausser le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires. Plusieurs travaux ont montré que les huiles essentielles de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires [22].

#### III-Présentation des plantes aromatiques et médicinales étudiées :

##### III-1-*Nerium oleander* :

Le laurier rose (*Nerium oleander*) est un arbuste de la famille des *Apocynacées* originaire de la rive sud de la mer Méditerranée. C'est un arbuste d'environ 2m de hauteur dont les fleurs blanches, jaunes, rouges ou saumon s'épanouissent de juillet à

septembre. Le laurier rose est une des plantes les plus dangereuses dont toutes les parties sont toxiques (présence d'hétérosides cardiotoniques). L'ingestion d'une simple feuille peut s'avérer mortelle pour un adulte, en raison des troubles cardiaques souvent provoqués. Les circonstances d'intoxications sont le plus souvent des accidents chez l'enfant [7].

**Tableau 2 : Carte d'identité de la plante *Nerium oleander* [25].**

Nom latin	<i>Nerium oleander</i>
Nom Français	Laurier rose
Noms Vernaculaires	Oléandre, nérier, nérier à feuilles de laurier, nérion, nérion laurier-rose, laurose, laurelle, rosage, canne de Saint-Joseph, rhododendron de Pline, belladone (Corse)
Nom Arabe	الدفلة
Nom anglais	Oleander, common pink oleander

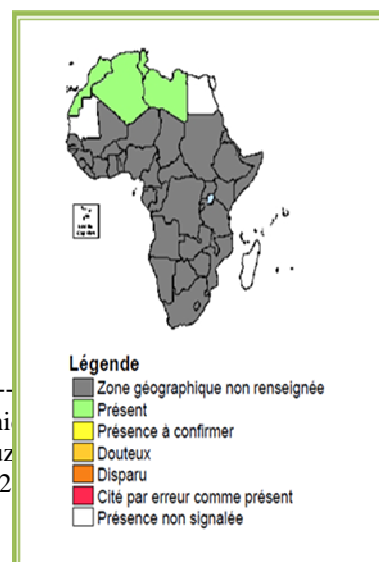
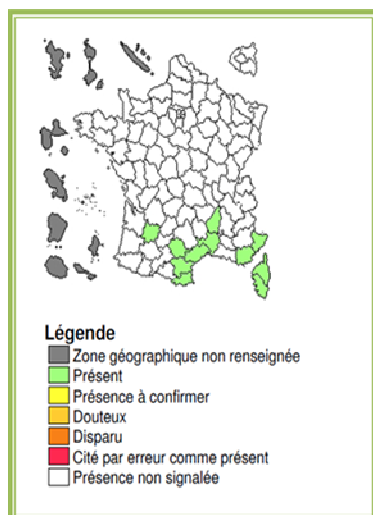




### III-1-a) Localisation géographique :

Cette plante croît spontanément en région méditerranéenne sur les berges rocailleuses et parfois même dans les zones littorales. Elle aime l'humidité et les sols profonds et bien drainés. Son adaptation à la sécheresse et son caractère très décoratif en font une plante fréquemment plantée dans les régions au climat méditerranéen ou subtropical .Si elle est abritée l'hiver sous serre, on peut même la faire pousser dans des régions plus septentrionales. On retrouve de nombreuses variétés dans les jardins [25].

On la trouve aussi au Bords des eaux, dans le Var et les Alpes-Maritimes ; Corse. De l'Europe, de l'Asie, de l'Afrique. Voici 2 cartes géographiques représentatives de la dispersion de la plante *Nerium oleander* au niveau de l'Afrique et la France [26]:





**Figure 7-a):** Distribution de la plante *Nerium oleander* au niveau de la France.

**Figure 7-b):** Distribution de la plante *Nerium oleander* au niveau de l'Afrique .

### III-1-b) Description Botanique :

#### ■ Classification :

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	Magnliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Gentianales
<b>Famille</b>	Apocynaceae
<b>Genre</b>	<i>Nerium</i>

#### ■ Description de la plante :

Le laurier rose est un arbrisseau dressé atteignant 2 à 4 m de hauteur. Ses racines sont blanchâtres et contiennent un suc laiteux peu abondant très astringent. Le bois contient également du suc amer, laiteux ou translucide, en grande quantité. Les feuilles, persistantes, sont opposées ou verticillées par trois. Elles sont lancéolées et mesurent jusqu'à 15





cm de long pour 2,5 cm de large en moyenne. Ce sont des feuilles Vert mat coriaces dont les nervures secondaires sont pennées très nombreuses et serrées.

Les fleurs, roses le plus souvent, sont disposées en corymbes terminaux. La corolle, mesurant 4 à 5 cm de diamètre, s'évase en cinq lobes étalés (fleur à cinq pétales soudés à la base).

Le fruit brun rougeâtre comporte deux follicules allongés, soudés jusqu'au début de la déhiscence. Il mesure 10 à 12 cm de long pour 1 cm de large environ. Il contient une certaine de petites graines duveteuse, surmontées d'une aigrette sessile qui facilite la dispersion par voie aérienne [25].

#### ☞ Période de floraison :

Le laurier rose fleurit de juin à septembre.

#### ☞ Biologie :

➔ Il existe de nombreuses variétés ornementales de laurier rose dont la couleur des fleurs peut aller du rouge sombre au blanc, en passant par l'orange, le jaune, etc. Les fleurs dégagent une odeur douceâtre à l'état frais et sont peu odorantes une fois séchées [25].

#### III-1-c- Composition Chimique :

➔ On y trouve des hétérosides cardiotoniques et cardiotoxiques voisins des hétérosides digitaliques.

- ☠ Oléandroside ou oléandrine
- ☠ Néroside ou nériine
- ☠ Nérianthoside ou nériantine
- ☠ Rosaginoside dans l'écorce
- ☠ Et de nombreux autres [25].

➔ On trouve également des saponines qui ont un effet irritant sur les muqueuses. Ces principes se retrouvent dans toutes les parties de la plante, les feuilles contenant environ 0,1 % d'oléandrine [27].

Aussi, des glucosides flavoniques, une résine, des agents tanins, du glucose, de la paraffine, de l'acide ursolique, de la vitamine C et une huile essentielle [28].

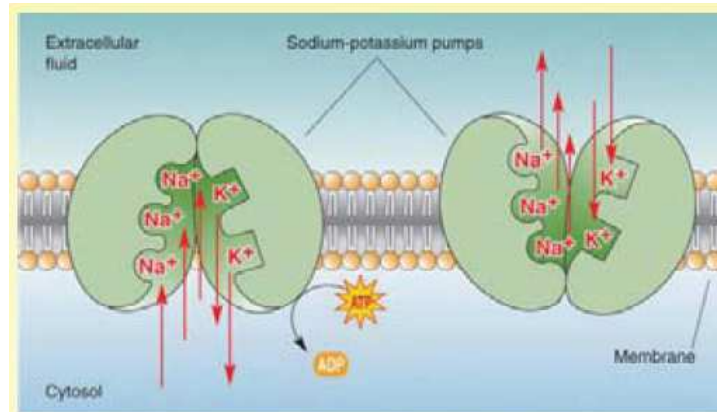
#### ☞ Mode d'action :

Les hétérosides inhibent les pompes  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPase dépendantes au niveau des cellules myocardiques (ces pompes permettent la sortie de trois ions sodium contre l'entrée de deux ions potassium dans la cellule).

On obtient ainsi un accroissement du taux intracellulaire de sodium entraînant secondairement un accroissement du taux intracellulaire de calcium et une diminution du taux intracellulaire de sodium (échange transmembranaire du sodium intracellulaire avec du calcium extracellulaire) responsable de l'augmentation de la



contractilité des fibres myocardiques (effet inotrope positif bien connu des digitaliques) [25].



**Figure 8:**  
hétérosides  
niveau des  
myocardiques.

Mode d'action des  
cardiotoniques au  
cellules

- ➔ On observe également un accroissement du taux de potassium extracellulaire, responsable d'arythmies (augmentation de l'excitabilité des cellules myocardiques par diminution de leur potentiel de repos). De plus, ces hétérosides ont une action chronotrope négative (action vagale) qui se traduit par une bradycardie [25].
- ➔ Les hétérosides cardiotoniques possèdent également un effet hypertenseur par augmentation de la résistance vasculaire périphérique (action sur les muscles lisses) [25].
- ➔ Enfin, ils ont un effet diurétique (principalement secondaire à leur effet inotrope positif), une action centrale directe de stimulation de l'area postrema induisant les vomissements, un pouvoir irritant sur les muqueuses digestives responsable de l'apparition de diarrhée, une action sur les cellules musculaires (trémulations voire convulsions liée à l'hyperexcitabilité des cellule) et une action sur le système nerveux (sommolence, faiblesse, altération de la vision, anorexie, nausée, hallucinations, délire) liée à l'action sur les pompes à sodium des cellules nerveuses [25].

- **Pharmacocinétique :**

- ➔ L'oléandrine est absorbée au niveau de l'estomac et se fixe sur les protéines plasmatiques (forte affinité pour l'albumine). Elle est métabolisée au niveau hépatique et il existe un cycle entéro-hépatique important. L'élimination se fait principalement dans les urines mais aussi au niveau des fèces [25].

### III-1-d- Propriétés Biologique :



- ➔ L'extrait hydro alcoolique des feuilles de *Nerium oleander* administré par trempage (10mg/100 ml) des larves de Rhizotrogini (*Coleoptera Scarabaeidae*) a un effet sur le taux de protéines de l'hémolymphe et sur l'activité de l'acétylcholinestérase.
- ➔ Les résultats statistiques ont montré une variation très significative au niveau du taux de protéines par rapport au témoin et une variation significative sur l'activité de l'acétylcholinestérase. Utilisé sous forme de boutures, le *Nerium oleander* repousse les larves de Rhizotrogini jusqu'à 20cm en profondeur du sol et limitent les dégâts de ces larves sur les cultures de céréales [29].

Aussi le *Nerium oleander* est utilisé dans la lutte contre les acridiens [30].

On retrouve l'utilisation de teinture mère de laurier rose et de rutoside dans des préparations homéopathiques indiquées dans le traitement de l'asthénie intellectuelle avec ralentissement mental, tristesse et irritabilité [25].

- ➔ L'oléandrine a été utilisée comme principe actif d'un médicament nommé **NERIOL®** (Laboratoires Nativelle) commercialisé en France de 1960 à 1968 pour le traitement des insuffisances cardiaques et des défaillances cardiaques dues au dysfonctionnement des valves mitrales sur des patients réfractaires aux cardiotoniques. On utilisait alors les propriétés cardiotoniques et diurétiques de l'oléandrine (comprimé à 0,2 mg). Les effets secondaires étaient digestifs (nausée, vomissements, diarrhée) et nerveux (vertiges). Ils étaient atténués par le fractionnement des prises.

Des études sur les propriétés antimutogènes des hétérosides du laurier rose sont actuellement en cours (utilité dans les traitements anticancéreux).

- ➔ Actuellement des recherches faites et pour la 1<sup>ère</sup> fois sur l'huile essentielle des fleurs du *Nerium oleander* prouvent que cette dernière a plusieurs activités comme antioxydant, antimicrobien, et antitumorale [31].

Nom latin	<i>Artemisia Herba -Alba</i>
<b>III-2-Artemisia herba-alba :</b>	
<b>Tableau 3 : Carte d'identité de la plante <i>Artemisia Herba Alba</i> [32].</b>	
Nom Français	Armoise blanche
Nom Arabe	الشبيح
Nom Anglais	<i>Artemisia Herba Alba</i>



III-2- a) Localisation géographique :

Plante peuplant les steppes argileuses, pâturages rocaillieux et terreux des plateaux et des basses montagnes des régions sèches. Elle est rencontrée au Maroc Oriental, Rif Oriental, Moyen-Atlas, Haut-Atlas, Anti-Atlas, Atlas Saharien [32]. Voici une carte géographique représentative de la dispersion de la plante *Artemisia Herba Alba* Asso:



Figure  
Carte

9:

géographique de la distribution d'Artemisia [33].

III-2-b) Description botanique :

• Classification:

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Genre</b>	Artemisia

■ Description de la plante :

Plante de 30-60cm, tiges nombreuses, couvertes de poils serrés et entrelacés, donnant aspect cotonneux, feuilles courtes,



un





généralement avec des poils argentés, formées par trois ou plusieurs feuilles, l'une, médiane, fortement incisée. Les fleurs ne sont pas nombreuses et rares [32].

#### ➤ Période de floraison :

➔ *Artemisia herba alba* (Armoise blanche, "Chih") est une plante appartenant à la famille des Astéracées, ligneux bas toujours vert, dont la croissance végétative a lieu à l'automne (feuilles de grande taille) puis dès la fin de l'hiver et au printemps (feuilles de petites tailles) [34].

#### III-2-c)-Composition chimique :

Divers métabolites secondaires ont été extraites à partir d'*Artemisia herba alba* les plus importants sont les lactones sesquiterpéniques qui se produisent avec une grande diversité structurale au sein du genre *Artemisia*, des flavonoïdes et des huiles essentielles [33].

#### III-3-d)- propriétés biologiques :

*Artemisia herba alba* est riche en huiles essentielles, cette espèce a des vertus purgatives évidentes jouant un grand rôle dans le contrôle des vers intestinaux, en particulier des ovins, mais pouvant également entraîner la mort de jeunes agneaux. Les feuilles de cette espèce sont utilisées en médecine traditionnelle pour soigner le diabète, bronchite, abcès, diarrhée et comme vermifuge [34].

Cette plante présente plusieurs propriétés à savoir :

■ Propriété antioxydante : En Jordanie, 21 plantes ont été récoltées de différentes zones utilisées pour l'évaluation de la capacité antioxydante. Le niveau de l'activité antioxydante est déterminé par la méthode DPPH et l'essai ABTS, ont montré que l'*Artemisia herba alba* à une activité antioxydante modérée par rapport aux autres plantes [35].

■ Propriété nématode : In vitro l'activité nématode des extraits phénoliques (20 µg/ml) à partir de 20 plantes de la Jordanie a été testée contre deux espèces de nématodes à galles. L'extrait de feuilles d'*Artemisia herba alba* a présenté le résultat le plus efficace en causant 22, 51, et 54 % de mortalité après 24, 48 et 72 h d'exposition respectivement [36].

■ Propriété antibactérienne : In vitro l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* à été évaluée sur des microorganismes viraux, l'huile essentielle de cette dernière a montré une très forte action sur les *Staphylococcus*, et une faible action inhibitrice sur les entérobactéries [37].

■ Propriété antileishmaniose : l'extrait aqueux et l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* a été évalué pour le test antileishmaniose et qui représente le résultat le plus élevé. La plus forte activité leishmaniose a été observée pour l'huile essentielle avec



une concentration de 2 µg/ml comparée à deux autres souches testées. L'extrait aqueux a montré une concentration de 4 µg/ml [38].

#### IV- Méthodes d'extraction des Huiles essentielles (HE) :

##### IV-1) Enfleurage et Macération :

→ Cette technique, la plus ancienne, très coûteuse et peu employée aujourd'hui. On l'emploie pour des fleurs sensibles, ne supportant pas un chauffage trop élevé, comme par exemple le jasmin, la violette et la rose. Les fleurs sont mises à macérer dans des graisses ou des huiles et chauffées (bain-marie ou soleil) et étalées sur des châssis en bois pendant plusieurs jours. Une fois gorgés de parfum, les corps gras sont filtrés au travers de tissus de lin ou de coton. Les huiles sont ensuite lavées à l'alcool pur, filtrées et évaporées [39].

##### IV-2) Expression :

→ C'est une technique simple où les écorces des agrumes sont pressées à froid pour extraire leurs huiles essentielles.

##### IV-3) Distillation : Hydrodistillation :

→ La distillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. Les extraits végétaux sont chauffés jusqu'à ébullition; l'huile essentielle s'évapore alors avec les vapeurs dégagées, puis est condensée (elle redevient liquide lorsqu'on la refroidit) et séparée de l'eau.

##### IV-4) L'entraînement à la vapeur sèche :

→ Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche a été mis au point. La masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée. Les cellules se distendent et les particules d'huile se libèrent. Ces dernières sont alors vaporisées et condensées dans un serpentin réfrigéré. La récupération de l'huile essentielle est la même que dans le cas de l'hydrodistillation.

##### IV-5) L'extraction aux solvants volatils :

→ Cette technique est elle aussi utilisée avec des fleurs ne supportant pas la chaleur, la distillation ne convient que pour les végétaux dont le rendement en huile essentielle est suffisamment important, les solvants très volatils par exemple l'éther, et L'hexane qui s'évaporent rapidement sont employées. Le solvant lave la matière première qui subira après décantation et concentration, une distillation partielle. Ce solvant volatil est alors séparé de la "concrète" par filtrage, puis glaçage de -12°C à -15°C. La précieuse substance ainsi obtenue est à nouveau filtrée et concentrée à faible pression.

##### IV-6) L'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique :



Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique : le CO<sub>2</sub>. Sous pression et à température supérieure à 31°C, le gaz carbonique se trouve dans un état "supercritique", la matière végétale est chargée dans l'extracteur puis le CO<sub>2</sub> est introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO<sub>2</sub> reprend sa forme gazeuse et est complètement éliminé. L'extrait végétal est isolé, les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine sans trace résiduelle de solvant.

IV-7) L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes:

Basée sur un principe relativement simple, l'extraction sans solvant assistée par microondes consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant organique. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par la matière végétale. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'eau et d'huile essentielle, par la suite facilement séparable par simple décantation.

La durée de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes de végétaux frais a été fixée après observation de la quantité d'huile essentielle extraite au cours du temps. Il est apparu qu'après trente minutes d'extraction celle-ci cesse d'évoluer de façon significative. La durée totale d'une extraction sans solvant assistée par micro-ondes a donc été fixée à trente minutes [40].



**Figure 10 :**  
sans solvant  
[40].

Montage de l'extraction  
assistée par micro-ondes

V-Méthodes d'analyse des  
V-1-

Huiles Essentielles :  
Chromatographie en phase

gazeuse (CPG):



La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La chromatographie en phase gazeuse est la technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles. Elle permet d'opérer la séparation de composés volatils de mélanges très complexes et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit [41].

➡ Pour chacun des composés, deux indices de rétention, polaire et apolaire, peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (indice de Kovats) [42] ou en programmation de température (indice de rétention) [43]. Ils sont ensuite comparés avec ceux de produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature).

Toutefois, il est fréquent d'observer des variations, parfois importants, lorsque l'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire et ceux de la littérature.

V-2- Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse et Spectrométrie de masse (CPG/SM):

➡ Le couplage CPG/SM en mode impact électronique (SM-IE) est la technique la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Il permet de connaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation [44, 45]. Dans la source d'ionisation les molécules sont bombardées à l'aide d'électrons, conduisant ainsi à la formation des ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil.

Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse, est ensuite détecté et transformé en un signal utilisable.

➡ Finalement, l'ordinateur enregistre les données provenant du spectromètre de masse et les convertit en valeurs des masses et des intensités des pics et en courant ionique total. Il permet l'examen des données enregistrées et leur manipulation : spectres de masse, chromatogrammes reconstitués, soustraction d'un spectre par rapport à un autre, calcul d'une moyenne sur plusieurs spectres, etc.

➡ Les spectres de masse ainsi obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles.

V-3- La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) :

La RMN du proton et du carbone 13 permet d'aboutir à la détermination complète des structures avec en particulier la stéréochimie des liaisons entre atomes [46].





I-Matériel végétal :

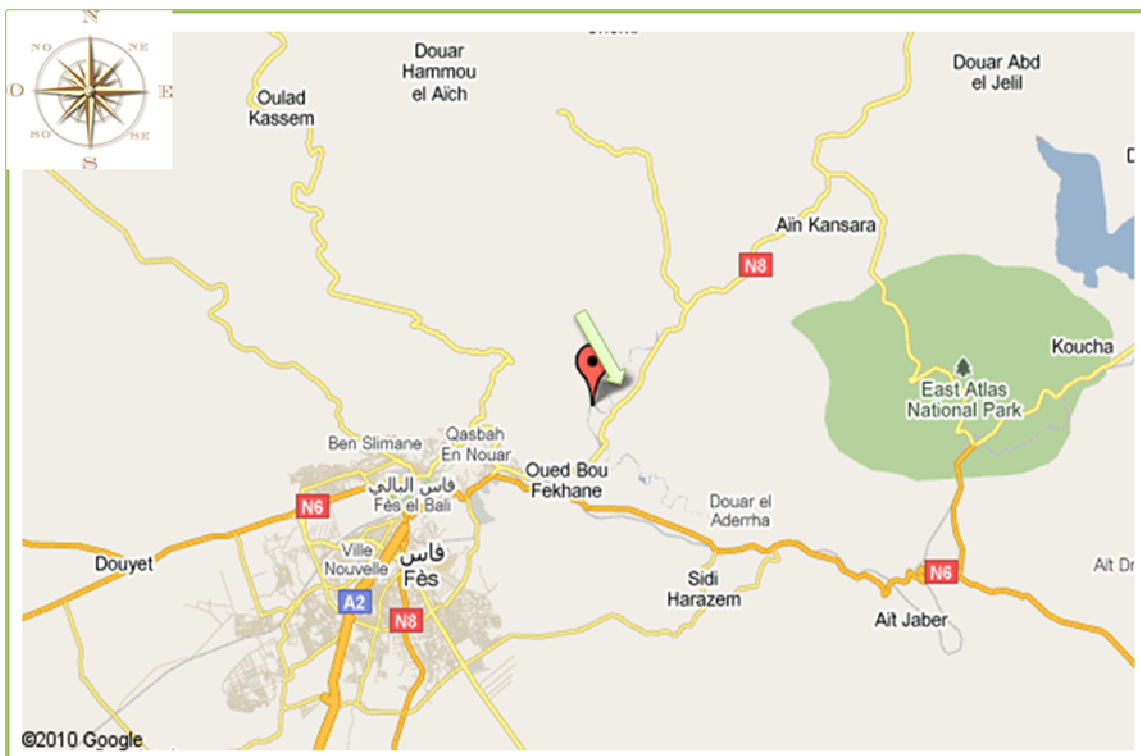
**I-1-Récolte des plantes:**

-Lieu :

La récolte des feuilles des deux plantes de *Nerium oleander* et *Artemisia herba alba* a été effectuée dans des zones différentes.

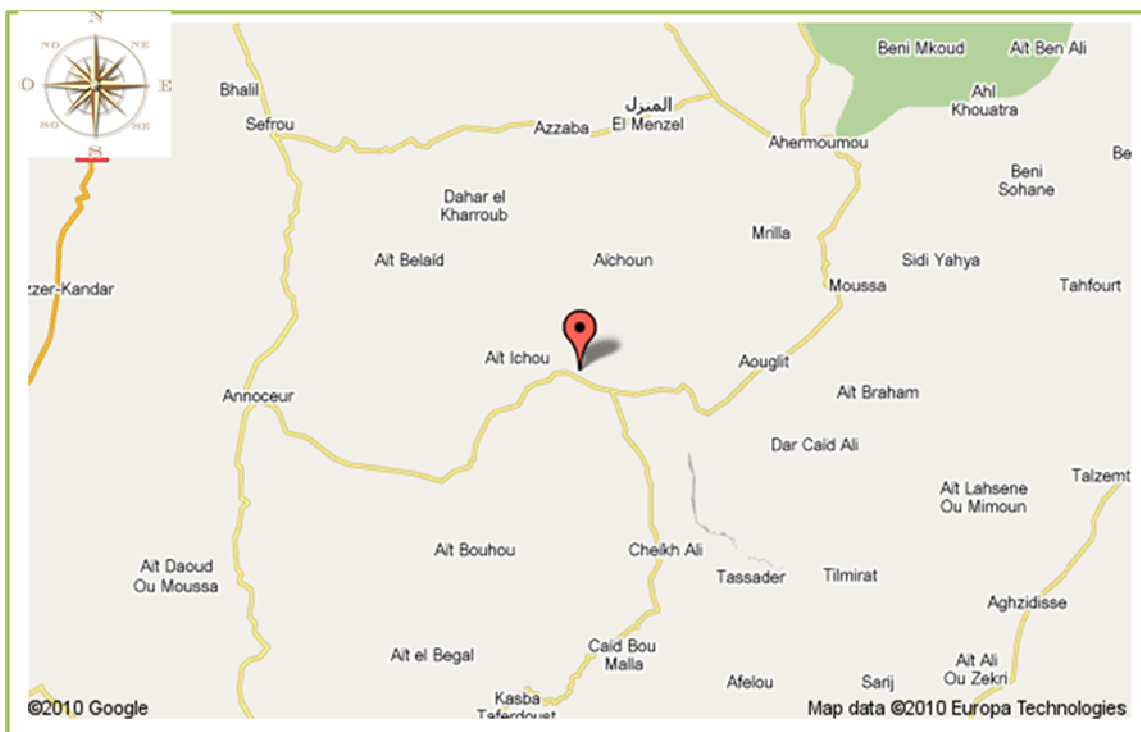
Les feuilles de *Nerium oleander* ont été récoltées durant le mois de mars 2010 dans la région d'Ain kansara se situe à environs 14 km de du Nord Est de la ville de Fès.

Voici la carte géographique de la zone de récolte du *Nerium oleander* :



**Figure 11 :** Carte géographique montrant la station de la récolte.

Les feuilles d'*Artemisia Herba Alba* ont été récoltées dans la région Tazouta, 32Km de la ville de Séfrou.





**Figure 12:** Carte géographique de la ville de Séfrou montrant la station de la récolte.

-Conditions climatiques des régions de prélèvements :

\*Le climat de la région d'Ain kansara est le même que pour la ville de Fès .Elle est située près du [Moyen Atlas](#), à l'intérieur des terres ; elle bénéficie d'un [climat méditerranéen](#) mais fortement mâtiné de continentalité et subissant l'effet de versant des montagnes Le froid hivernal rappelle très souvent la neige abondante du Moyen Atlas à 60 km au sud de la ville. Cela se traduit par une forte amplitude thermique. L'hiver peut, en fonction de l'altitude, s'avérer très rigoureux. Les précipitations annuelles sont comprises entre 600 et 700mm.

En avril, les températures moyennes maximales sont de 18 °C et les minimales de 8 °C. En septembre, les minimales sont voisines de 15 °C, tandis que les maximales dépassent légèrement les 27 °C. L'été, les températures moyennes maximales montent jusqu'à 35 °C. Enfin, l'hiver est, comparativement aux régions littorales ou méridionales, froid. Cependant, il paraît beaucoup plus doux que celui des régions de l'Oriental, du Rif ou de l'Atlas .En ce qui concerne la végétation de la région d'Ain Kansara on trouve les oliviers.

\*Le climat de la région de Tazouta est de type continental: froid et relativement humide en hiver et sec en été. Le climat de la région convient à tous ceux que la mer et la haute montagne refusent d'accueillir. Aux agités, il donne l'équilibre, aux normaux la sérénité. La pluviométrie moyenne annuelle est de 642mm. La température moyenne annuelle varie entre 14°C et 31°C.

### **I-2-Mode de conservation des plantes :**

Les échantillons, fraîchement récoltés, sont sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 3 jours. Les feuilles ont été ensuite isolées du reste de l'échantillon et conservées au frais jusqu'au moment de leurs utilisations.



**Figure 13:** L'échantillon du *Nerium oleander*.





**Figure 14:** L'échantillon d'*Artemisia herba alba*.

### I-3-Détermination de l'humidité :

Le contenu en humidité des plantes a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve.

Technique de séchage :

- On met la même masse fraîche de feuilles utilisé dans l'hydrodistillation dans une étuve réglée à 60°C pendant 48h.
- Après refroidissement on pèse une deuxième fois (masse sèche)

Considérons :

$m_f$  = masse de l'échantillon "plante fraîche".

$m_s$  = masse de l'échantillon "plante sèche".

H% = taux d'humidité exprimé en pourcentage.

$$H\% = (m_f - m_s) / m_f \times 100$$

### II-Extraction des huiles

#### II-1-Préparation des échantillons :

☑ La plante *Nerium oleander* :

On pèse 200g de Feuilles

Broyage des feuilles au Moulinex

On met le broya dans un ballon d'1L et contenant 700 ml d'eau

On porte à l'ébullition pendant 3 h

☑ La plante *Artemisia Herba Alba* (Asso) :

On pèse 60g de Feuilles

On coupe les feuilles en petits morceaux très fin à l'aide d'un ciseau

On met les feuilles découpées dans un ballon d'1L et contenant 700 ml

On porte à l'ébullition pendant 3 h

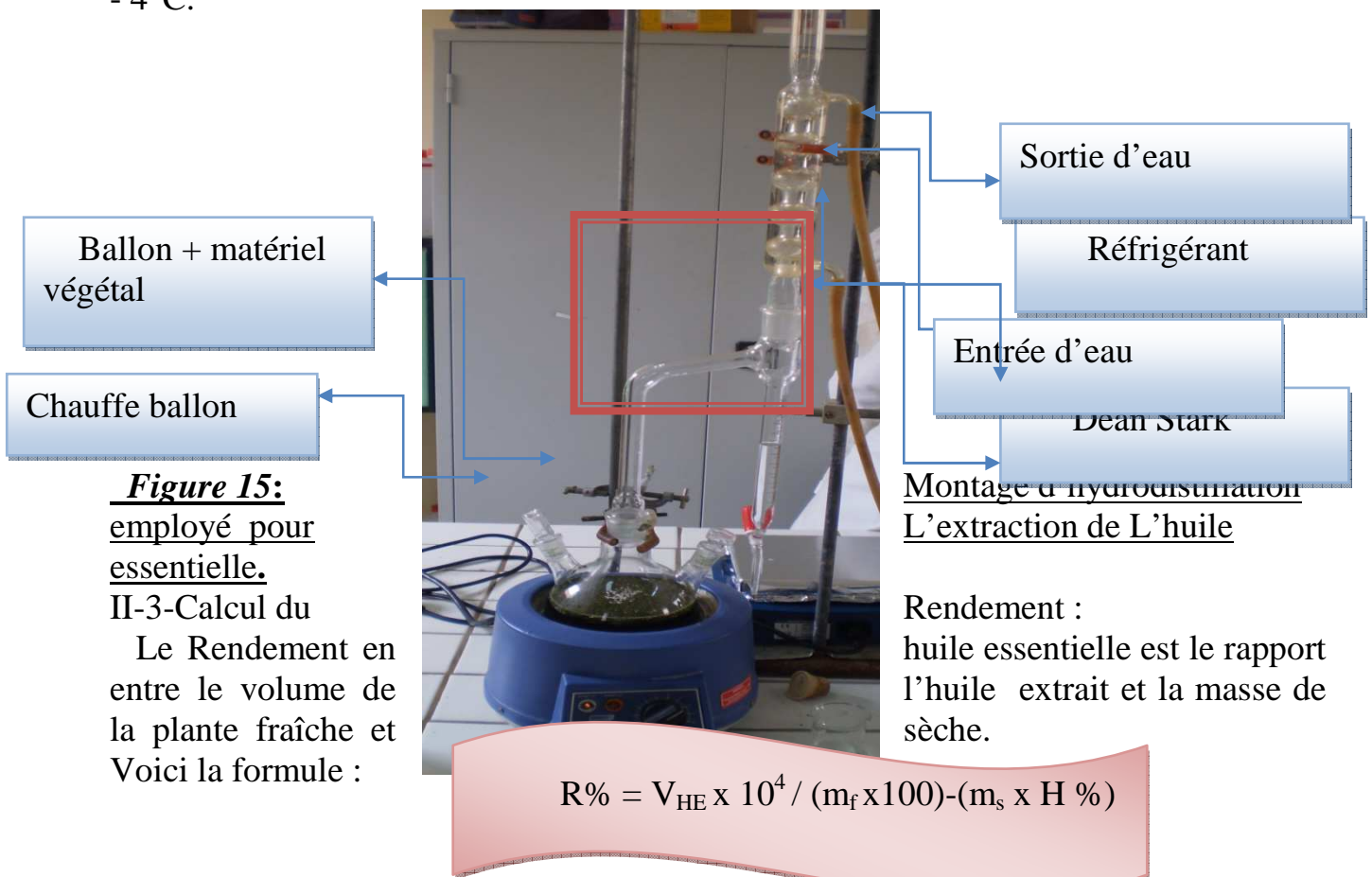
## II-2-Procédé d'extraction :

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation à l'aide du montage Dean Stark.

### Principe:

Le matériel végétal est placé dans un ballon d'un litre contenant 700 ml d'eau. Le ballon est surmonté d'un Dean Stark et d'un réfrigérant ascendant. Le mélange est porté à reflux à l'aide d'un manteau chauffant. Les essences sont alors entraînées par la vapeur d'eau, condensées puis séparées par le Dean Stark. Le reflux est poursuivi jusqu'à ce que le distillat apparaisse parfaitement limpide. La décantation du distillat donne deux phases :

- Une phase organique sous forme d'une huile légèrement colorée et d'odeur assez forte.
- Une phase aqueuse qu'on extrait à l'aide d'un solvant organique comme par exemple (l'éther diéthylique ou l'hexane), dans le but d'augmenter le rendement en huile essentielle et qui donne après évaporation du solvant une deuxième phase organique qu'on regroupe avec la première. L'huile essentielle obtenue est séchée par le sulfate de sodium anhydre et conservée à l'abri de la lumière à une température de  $-4^{\circ}\text{C}$ .



Avec :

Rdt (%) : rendement en huiles essentielles

$m_s$  : masse de l'échantillon "plante sèche".

$m_f$  : masse de l'échantillon "plante fraîche".

$V_{HE}$ : Volume de l'huile essentielle par ml

III-Analyse des huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM):

La composition chimique des huiles des feuilles plantes a été déterminée par les techniques de chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de Masse (CPG/SM, Thermo Fisher) au Centre Universitaire Régional d'Interface de Fès.

### Appareillage CPG/SM:



**Figure 16:** Appareillage de la CPG/SM source C-PI-I

La CPG /SM est constituée de :

Injecteur

L'injecteur est une zone chauffée où l'échantillon est introduit en au moyen d'une seringue puis vaporisé et mélangé au gaz vecteur. Le gaz vecteur, classiquement de l'hélium, constitue la phase dite "mobile" ; son rôle consiste à véhiculer les analytes depuis l'injecteur jusqu'au détecteur via la colonne analytique. La température de l'injecteur est fixée à 240 °C et celle de détecteur (source d'ionisation) est de 260°C. Le débit du gaz vecteur (Hélium) est fixé à 1 ml/min. Le volume de l'échantillon injecté est de 1 µl de l'huile diluée dans l'hexane.

Four + colonne

Le four contient l'élément clé de la séparation chromatographique: la colonne analytique. De nos jours, les colonnes utilisées en CPG-SM sont des colonnes dites "capillaires".

La colonne utilisée est une colonne capillaire apolaire en silice de type (Wcot Fused Silica), Phase stationnaire (CP-SIL5CB), 50 m de longueur, 0,32 mm de diamètre et 1,25 µm d'épaisseur. La température de la colonne est programmée de 40 à 280 °C à raison de 3 °C/min.





Le triplis

C'est un passeur automatique, instrument qui permet l'injection de l'échantillon.

Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est une technique de détection extrêmement précise qui permet la détermination des structures moléculaires. Elle est composée de : système d'introduction, la source d'ions, l'analyseur, et un détecteur. La trappe d'ions en mode impact électronique (IE) avec une énergie d'ionisations de 70 eV.

Les constituants de l'huile essentielle ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux du répertoire de la bibliothèque de type (NIST-

Résultats



L

Rendement en huiles essentielles:

Les huiles essentielles ont été extraites des matériaux végétaux frais, le rendement en huile essentielle varie avec la plante utilisée, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction, et l'origine de la plante. Les rendements en huiles essentielles (HE) ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la plante selon la formule du rendement citée ci-dessus. L'échantillon de *Nerium oleander* (Région d'Ain Kansara) a fourni un rendement d'environ **0,13%**. Et pour la deuxième plante *Artemisia Herba Alba* (Région Tazouta) le rendement est **1.00%**.

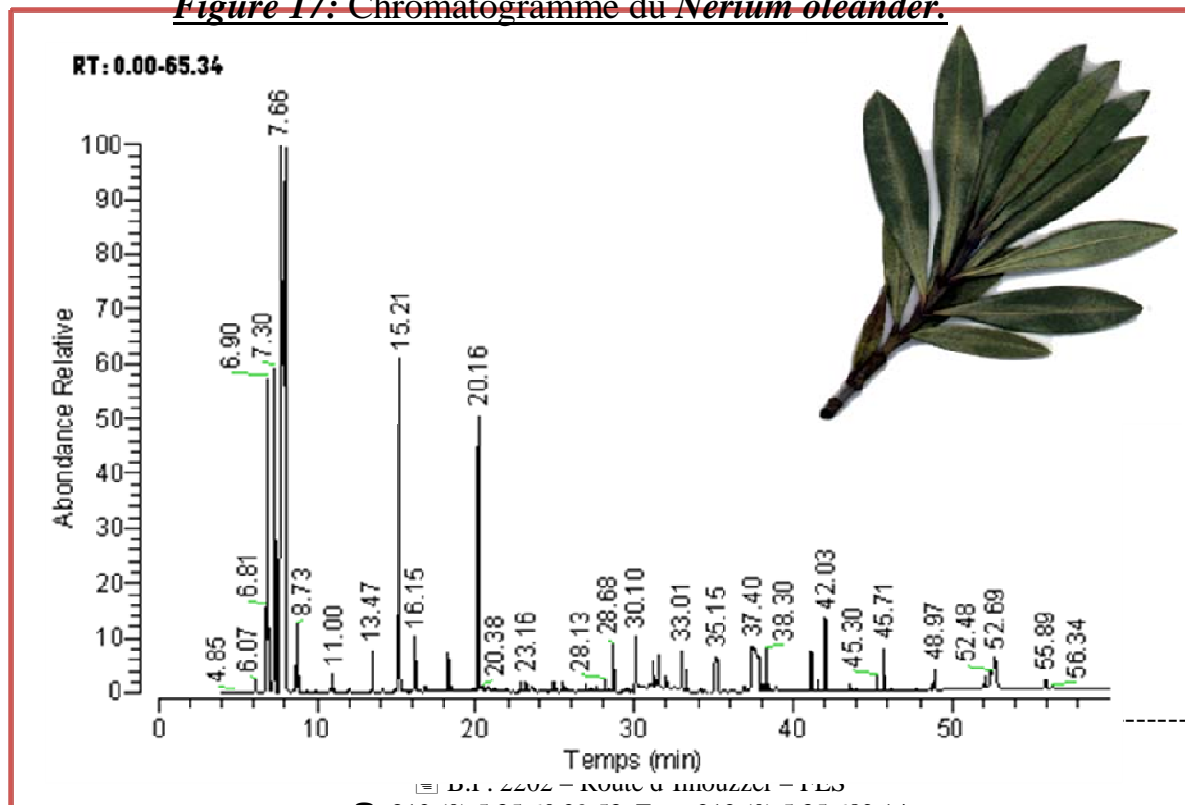
#### II-Composition chimique des huiles essentielles analysées par CPG/SM :

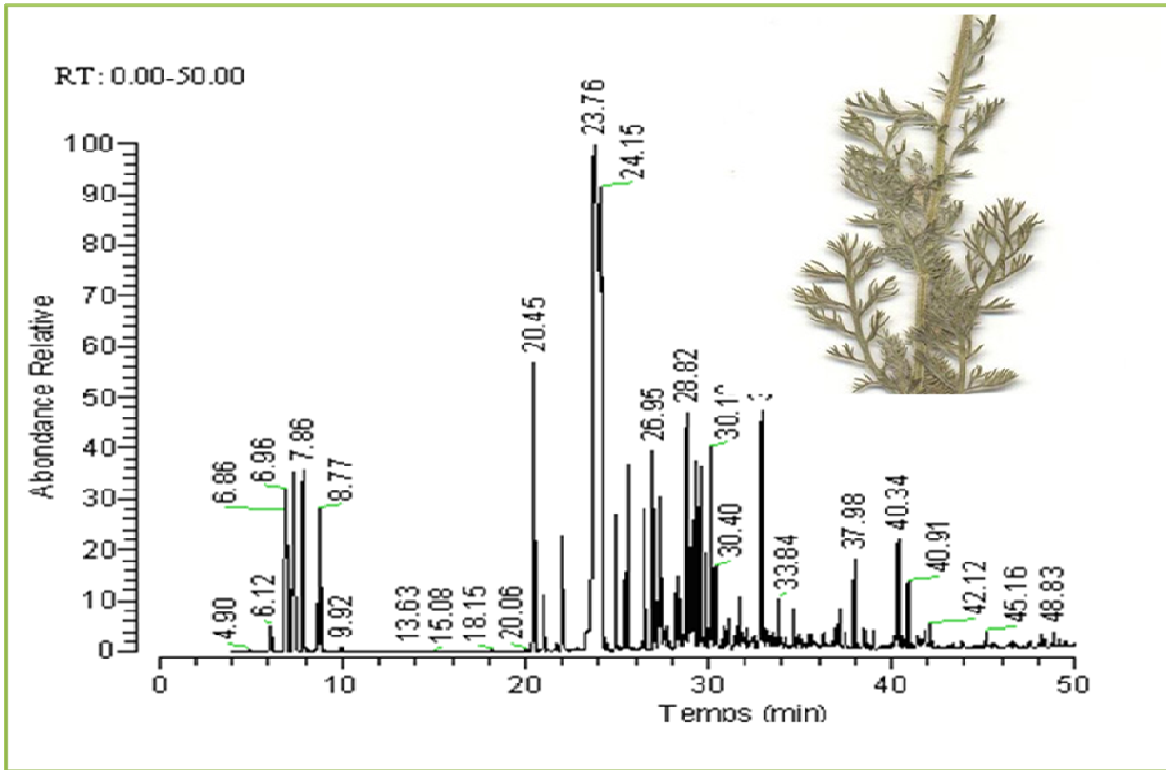
Les analyses par CPG/SM, de la composition chimique de l'huile essentielle des deux plantes médicinales le *Nerium oleander* et de l'*Artemisia Herba Alba* ont été effectuées au Centre Universitaire Régional d'Interface (CURI) Université Sidi Mohamed Ben Abdallah de Fès.

A partir des ces figures 17 et 18 montrant les deux chromatogrammes nous avons noté : trente six (36) composés dans l'huile essentielle de la feuille de Laurier rose (*Nerium oleander*), et vingt-sept (27) composés déterminés dans l'huile essentielle de la feuille d'Armoise blanche (*Artemisia Herba alba*).

Ces différents composés identifiés par la Bibliothèque NIST-MS sont donnés dans les tableaux 4 et 5.

**Figure 17: Chromatogramme du *Nerium oleander*.**






**Figure 18: Chromatogramme d'Artemisia herba alba.**

**Tableau 4 : Composition chimique de l'huile essentielle du Nerium oleander (laurier rose)**



Pic	Constituants chimiques	Formules chimiques	*T <sub>R</sub> (min)	Air (%)
	Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté des Sciences et Techniques α-Thujone <a href="http://www.fst-usmba.ac.ma">www.fst-usmba.ac.ma</a>	$C_{10}H_{16}O$	6,90	0,10
<del>2</del>	<del>3-Carene</del>	<del><math>C_{10}H_{16}</math></del>	<del>7,30</del>	<del>0,10</del>
3	Neriine	$C_{24}H_{40}N_2$	7,66	15,31
4	α-Terpinene	$C_{10}H_{10}$	8,01	0,11
5	α -Pinene	$C_{10}H_{16}$	8,61	4,55
6	Camphene	$C_{10}H_{16}$	8,73	5,58
7	Elemene	$C_{15}H_{24}$	11,00	0,30
8	β-Pinene	$C_{10}H_{16}$	15,21	0,30
9	β-caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	16,15	0,16
10	1.8-Cineole	$C_{10}H_{18}$	18,27	7,10
11	Limonene	$C_{10}H_{16}$	18,48	8,19
12	Verbenol	$C_{10}H_{16}O$	20,16	0,10
13	Sabinene	$C_{10}H_{16}O$	20,72	5,20
14	Borneol	$C_{10}H_{18}O$	22,86	3,10
15	Terpinene-4-ol	$C_{10}H_{18}O$	23,16	0,12
16	Seychellene	$C_{15}H_{24}$	23,54	0,16
17	Copaene	$C_{15}H_{24}$	24,90	0,20
18	Ylangene	$C_{15}H_{24}$	25,52	0,10
19	Patchoulene	$C_{15}H_{24}$	26,92	0,15
20	Isosativene	$C_{15}H_{24}$	27,26	1,85
21	Aristolene	$C_{15}H_{24}$	28,13	2,35
22	Solanone	$C_{13}H_{22}O$	28,68	6,05
23	β-Phellandrene	$C_{10}H_{16}$	30,10	0,17
24	Myrcene	$C_{10}H_{16}$	30,26	1,15
25	Terpene hydrochlorite	$C_{10}H_{17}Cl$	30,97	0,20
26	Cymene	$C_{10}H_{14}$	31,19	0,24
27	Bornyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	31,34	0,07
28	terpinyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	31,54	2,10
29	Neryl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	31,99	0,11
30	Terpinolene	$C_{10}H_{16}$	33,01	0,10
31	Eudesmol	$C_{15}H_{26}O$	33,28	0,12
<del>32</del>	<del>Trans-verbenol</del>	<del><math>C_{10}H_{16}O</math></del>	<del>35,15</del>	<del>4,02</del>
33	Caranbol	$C_{14}H_{20}O$	37,40	0,20
34	1-Octen-3-ol	$C_8H_{16}O$	38,30	0,19



**Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle *d'Artemisia Herba Alba* (Armoise blanche)**

Rendement en HE (%)

0,13 %

Pic	Constituants chimiques	T <sub>R</sub> (min)	Air (%)	Formules chimiques
1	$\alpha$ -Pinène	27,41	0,12	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
2	Sabinène	21,01	0,58	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
3	$\beta$ -pinène	40,34	1,25	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
4	r-Cymène	31,25	0,09	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>
5	1.8-Cineole	24,15	9,87	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
6	$\alpha$ -Thujone	28,82	4,09	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
7	$\beta$ -Thujone	30,18	3,89	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
8	Chrysanthénone	20,45	7,01	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O
9	trans-Sabinol	34,49	0,11	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
10	trans-Pinocarvéol	34,50	0,18	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O
11	z-caryophyllène	26,91	0,01	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
12	Camphre	23,76	21,02	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>
13	Sabina cétone	30,75	0,01	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O
14	Pinocarvone	24,50	1,01	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O
15	Terpinén-4-ol	39,20	0,02	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
16	D-germacrène	41,75	0,04	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
17	Acétate de chrysanthényle	21,75	0,01	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
18	Acétate de sabinyle	41,54	0,05	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
19	$\beta$ -Farnesène	32,90	5,46	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
20	Spathuléol	28,50	0,25	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O
21	$\beta$ -Eudesmol	26,95	2,01	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O
22	Davanone	40,91	1,08	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>
23	Isoborneole	37,80	0,03	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
24	Cyperene	31,50	0,45	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
25	Limonene	48,50	0,01	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
26	Chamazulene	38,54	0,15	C <sub>14</sub> H <sub>16</sub>
27	Ocimene	37,98	1,05	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
<b>Total des surfaces (%)</b>				<b>59,85</b>

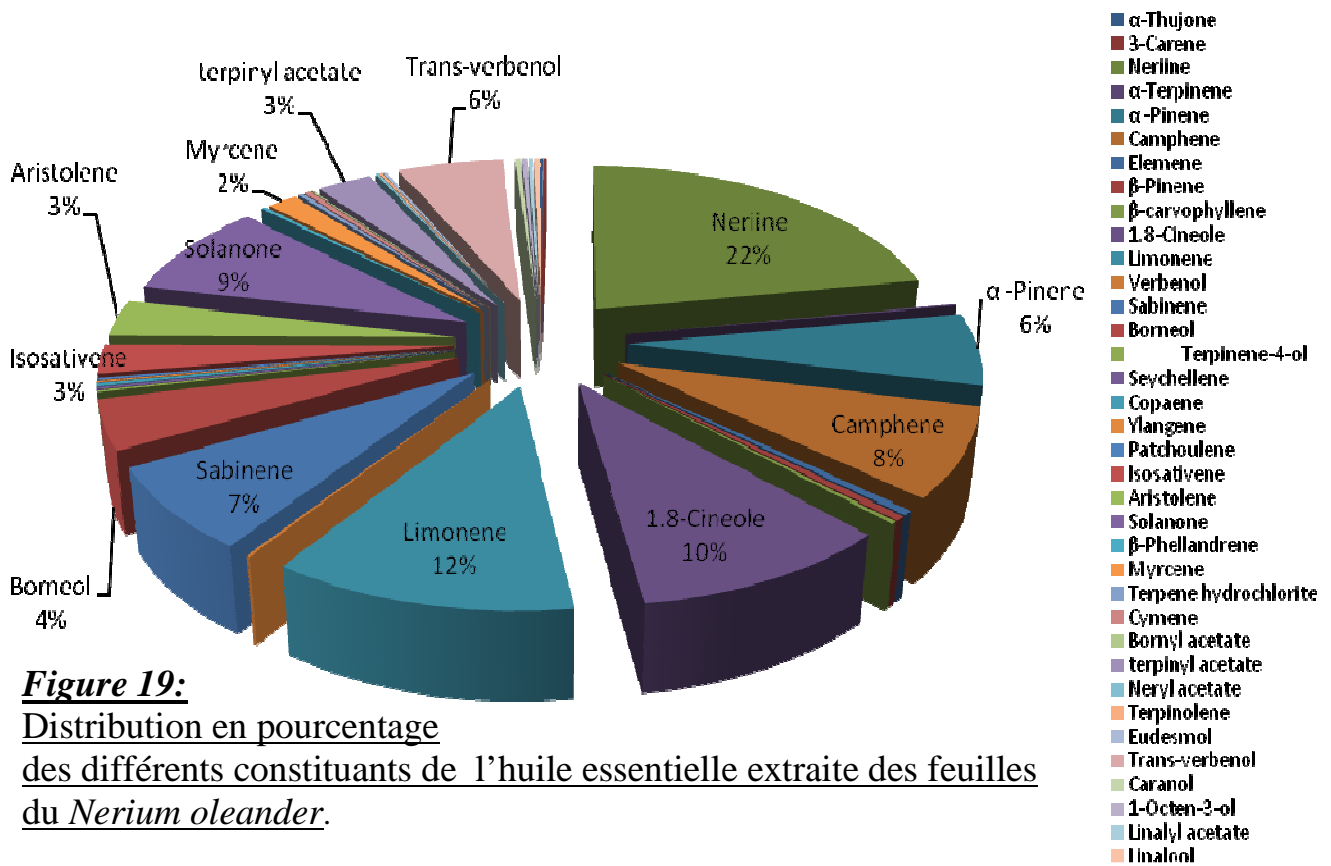
Avec :  
T<sub>R</sub>:  
Temp  
s de  
reteni  
on (en  
min)  
Air:  
Surfac  
e des  
pics  
au  
niveau  
du  
chrom  
atogra  
mme

Rendement (%)

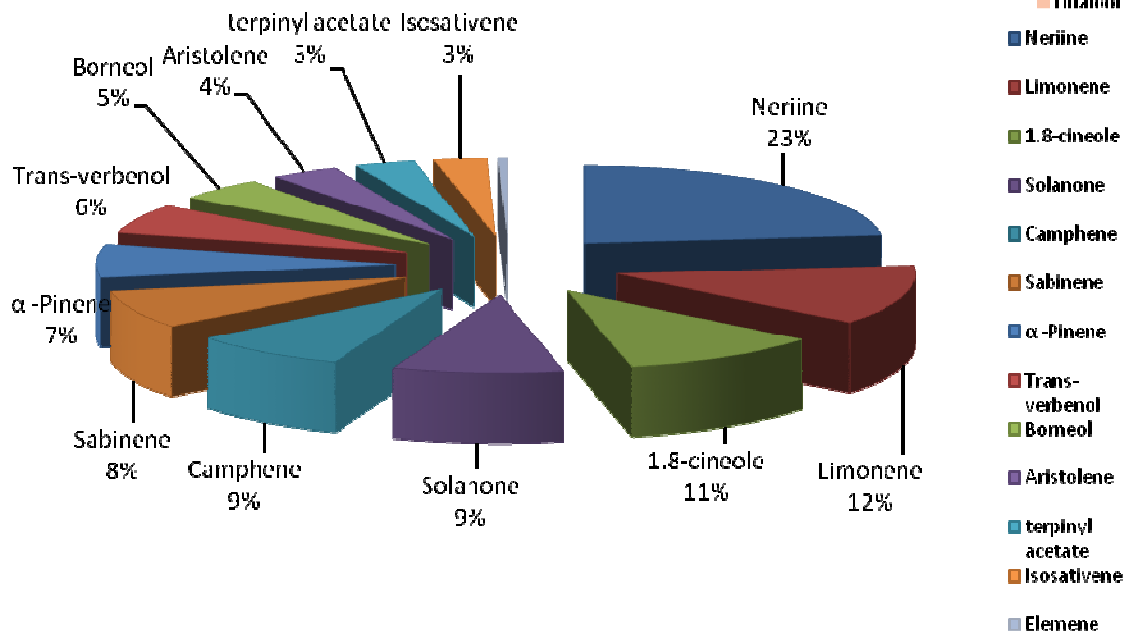
Distrib  
ion en  
pourcent  
age des  
différent  
s  
constitu  
ants de  
l'huile  
essentielle  
des  
deux  
plantes :

La  
distrib  
ution  
en  
pour  
centage  
est  
illustr  
ée

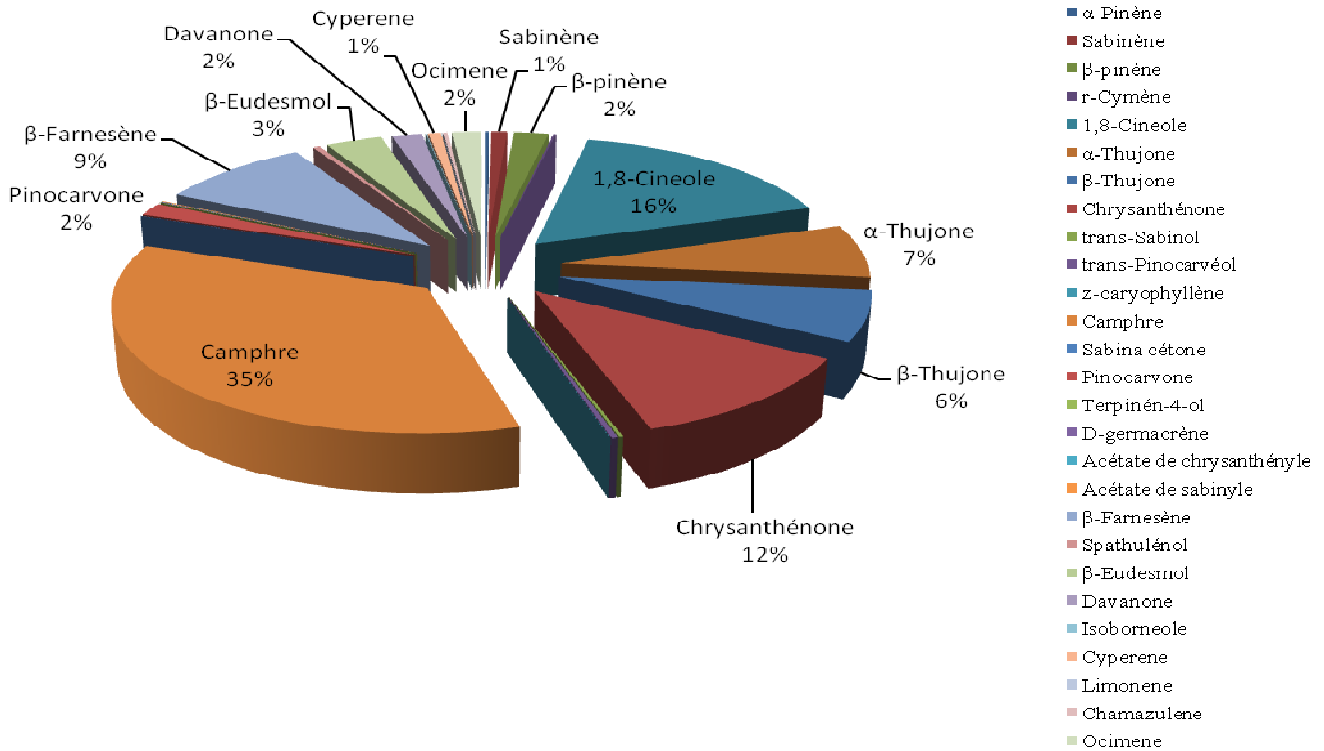
dans les figures 19, 20, 21, et 22 suivants :



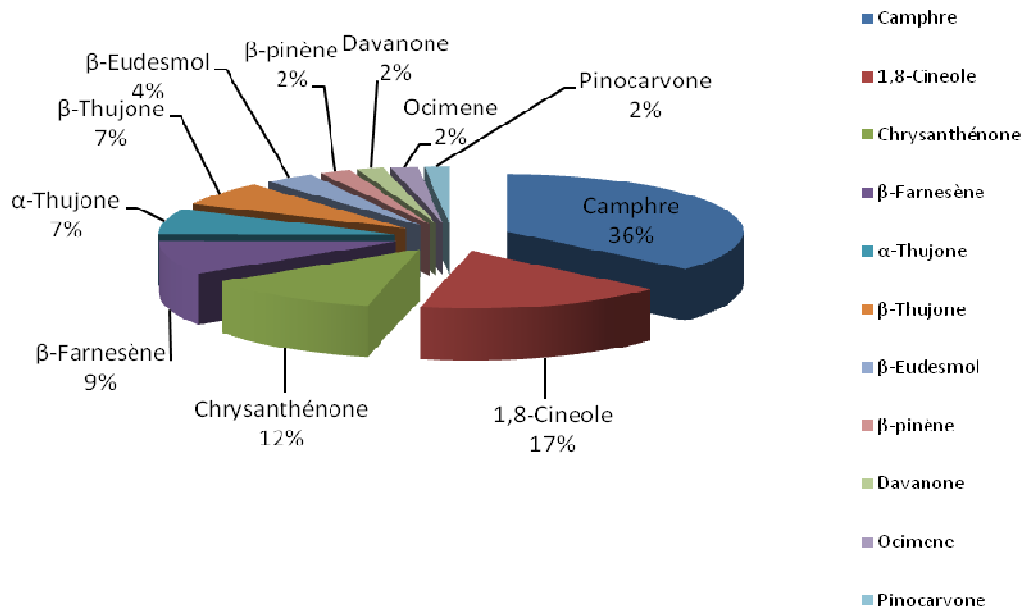
**Figure 19:** Distribution en pourcentage des différents constituants de l'huile essentielle extraite des feuilles du *Nerium oleander*.



**Figure 20:** Distribution en fonction du pourcentage des différents composants majoritaires existant dans l'huile essentielle de la feuille du *Nerium oleander*.



**Figure 21:** Distribution en pourcentage des différents constituants de l'huile essentielle extraite des feuilles d'*Artemisia herba alba*.



**Figure 22:** Distribution en fonction du pourcentage des différents composants majoritaires existant dans l'huile essentielle de la feuille d'*Artemisia herba alba*.

Les figures 19 et 21 présentent respectivement la distribution des différents composés identifiés dans l'huile essentielle des deux plantes. A partir de la figure 20 et 22 nous pouvons distinguer le(s) composé(s) majoritaire(s), qui représente(nt) le principe actif et donc nous pouvons déterminer le chimotype des deux plantes.

Le chimotype ou race chimique de chaque huile essentielle sera donc :

☑ L'huile essentielle issue du *Nerium oleander* est de chimotype neriine/ limonene / 1.8-cinéol.

☑ L'huile essentielle issue d'*Asteris Herba Alba* est de chimotype Camphre /1.8-cinéol /Chrysanthénone.

L'huile essentielle de *Nerium oleander* est constituée de 36 composés représentant un taux global de 70,24 %. Le composé majoritaire est le Neriine avec un taux de 15,31%, accompagné d'autres constituants à des teneurs relativement importantes citant :

Les monoterpènes (le limonene (8,19 %), le 1.8-cineole (7,1%), camphene (5,58 %)...) )

Les monoterpènes oxygénés (sabinene (5,20 %), trans-verbenol (4,02 %)....)

On note aussi la présence d'autres composés avec des pourcentages plus faibles :

Les sesquiterpènes (Copaene (0,2%), seychellene (0,16 %), patchoulene (0,15%) etc....).



Les sesquiterpènes oxygénés (Eudesmol (0,12 %)).

ET autres composés oxygénés comme le solanone (6,05 %) et le 1-Octen-3-ol (0,19 %).

En comparant notre huile essentielle des feuilles du *Nerium olenader* et celle des fleurs du *Nerium oleander* d'Arabie Saoudite selon le tableau suivant :

**Tableau 6 : Comparaison des composés majoritaires de la fleur et la feuille de la plante médicinale *Nerium oleander* (Laurier rose)**

Plante	Parties étudiées	Rendement en Huile essentielle	Composés majoritaires
<i>Nerium oleander</i> (desert taef ;Arabie Saoudite) [31].	Fleurs	0,1%	Camphre (12, 76 %), Eugenol (10, 45 %), $\alpha$ -Campholenal (5,05%), thymol (8, 43%).
<i>Nerium oleander</i> (Ain kanssara; Maroc)	Feuilles	0,133 %	Neriine (15, 31%), Limonene (8, 19%), 1.8-Cineole (7, 10%), Solanone (6, 05%).

- ➡ Des études faites sur l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* ont rapporté en général qu'elle est composée de monoterpènes principalement oxygénés comme le 1.8-cinéol, chrysanthenone, chrysanthenol,  $\alpha$  et  $\beta$  thujones, et le camphre qui représente le pourcentage le plus élevé [47, 48].
- ➡ Des travaux effectués en en Jordanie ont montré que les monoterpènes réguliers sont les prédominants avec un pourcentage de (39,3 %). Les principaux composés sont le  $\alpha$  et  $\beta$  thujones (27,7%) les autres éléments majoritaires identifiés sont : l'acétate de sabinyl (5,4%), germaceneD (4,6%),  $\alpha$ -Eudesmol (4,2%) et le carophyllene acétate (5,7%) [49].
- ➡ Celle provenant du Maroc a été généralement caractérisée par des substances cétoniques élevées comme l' $\alpha$  et  $\beta$  thujones et le camphre [50, 51, 52] alors que le



davanone et le chrysanthenyl acétate sont les composés majoritaires dans d'autres huiles essentielles de chémotypes différents [53]. Dans le leader du marché d'exportation de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*, 16 chémotypes ont été trouvés [54], avec 12 monoterpènes considérés pour composés principaux et 4 squelettes sesquiterpéniques représentant la majeure partie de l'huile. Les enquêtes n'ont signalés aucune corrélation entre les chémotypes et la répartition géographique [55].

Des recherches réalisées sur l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* en Espagne ont montré que les hydrocarbures monoterpéniques et les monoterpènes sont les composés les plus abondants, mais de grandes quantités de sesquiterpènes ont été trouvés pour certaines populations. Le camphre, 1.8-cinéol, p-cymène et le davanone ont été les principaux éléments trouvés [56].

- ➔ En ce qui concerne l'huile essentielle de la Tunisie les composés les plus dominants sont le cinéole, thujones, chrysanthenone, camphre, borneol, acétate de chrysanthenyl, acétate de Sabinyl, davana ether, et enfin le davanone [57].
- ➔ Pour la composition de l'huile essentielle de l'Algérie est constituée de camphre,  $\alpha$  et  $\beta$  thujones, 1.8-cinéol, et le chrysanthenyl représentent les éléments majoritaires [58, 59, 60].
- ➔ L'extraction par hydrodistillation des feuilles d'*Artemisia herba alba* de la région Tazzouta de quelques Km de la ville de sefrou au Maroc montre une HE constituée de monoterpènes oxygénés et qui sont les composés majoritaires de l'huile, et des sesquiterpènes comme ( $\beta$ -Farnesène,  $\beta$ -Eudesmol ...).

#### IV-Comparaison de la composition chimique des huiles essentielles des plantes étudiées :

Le tableau suivant résume nos résultats obtenus dans cette étude :

**Tableau 7:** comparaison de la composition de l'huile essentielle des 2 plantes *Nerium oleander* et *Artemisia herba alba*

Espèces	Composés Majoritaires	Rendement obtenu en HE (%)	Total des Aïrs (%)
---------	-----------------------	----------------------------	--------------------





<i>Nerium oleander</i>	Neriine (15, 31%), Limonene (8, 19%), 1.8-Cineole (7, 10%), Solanone (6, 05%).	0,13	70,24
<i>Artemisia herba alba</i>	Camphre (21,02%) 1.8-Cineole (9,87%) Chrysanthénone (7,01%) $\beta$ -Farnasène (5, 46%)	1	59,85

Ces deux plantes sont constituées de composés différents, même si on trouve quelques éléments semblables comme le 1.8-Cineole est qui constitue un pourcentage important chez les 2 plantes.

Concernant le rendement en huile essentielle, l'*Artemisia herba alba* représente un pourcentage plus élevé que le *Nerium oleander*.

Pour l'Air total, les composés extractibles du *Nerium oleander* représentent un pourcentage de 70,24 % et 59,85 % pour *Artemisia herba alba*.

### *Conclusion générale et perspective*

Le retour à la phytothérapie constitue aujourd'hui une alternative très importante pour la pharmacologie moléculaire, en effet notre flore marocaine représente une richesse à intérêt économique, social, et culturel. Ainsi notre travail s'inscrit dans le cadre de la conservation et la valorisation des plantes médicinales et aromatiques marocaines.

L'objectif de cette présente étude est la détermination de la composition chimique des huiles essentielles de deux plantes issues de deux régions différentes : *Nerium oleander*, plante récoltée de la région d'Ain Kanssara et *Artemisia herba-alba*, récoltée de la région de Tazouta. Après l'extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation, on a recours à l'une des méthodes instrumentales d'analyses qui est la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).



Les rendements en huiles essentielles des feuilles des deux plantes étudiées sont : pour *Nerium oleander* 0,13%, et pour *Artemisia herba-alba* (1%). Les composés majoritaires identifiés au niveau des huiles essentielles de *Nerium oleander* sont : Neriine, limonene et 1.8-Cineole, alors qu'au niveau d'*Artemisia herba-alba*, on a identifié le camphre, Cineole et chrysanthenone.

D'une manière globale, nous avons constaté que les huiles essentielles sont composées d'un nombre important de constituants connus (36 composés pour *Nerium oleander* et 27 composés pour *Artemisia herba-alba*). Chaque huile apparaît comme un mélange indissociable de vertus thérapeutiques intéressantes.

Pour les perspectives, il faut mener une étude détaillée sur les activités biologiques de ces huiles pour montrer leur importance et la possibilité de leur exploitation dans certains domaines: pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, insecticides, industriels, etc.

# Références Bibliographiques



## Références Bibliographiques

- [1]:Bermness, L, 2005. Plantes Aromatiques et Médicinales 700 espèces Larousse édition française. p6-8-11-22.
- [2]:Fugh-Berman, A, 2000. Herb-drug interactions, 355: 134–38.
- [3]:Delaveau, P, 1974. Plantes agressives et poisons végétaux. Copyright Horizons de France.
- [4]:Taddei, L, 1984. Plantes Aromatiques et Médicinales .1er Colloque International du Maroc, rabat, pp. 235-238.
- [5]: Malo, N, 1991. 10ième Journées Internationales HE, Digne-Les-Bains 5-6-7; pp. 28.
- [6]: La grande Encyclopédie du Maroc. Flore et Végétation.
- [7]:Benayad, N, 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées .p-7-15-23-24.
- [8]:Lucchesi, M. E, 2005. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. p70
- [9]:Bruneton, J, 1993. Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Paris, France : Lavoisier. 278-279.
- [10]:Hernandez Ochoa L.R, 2005. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine "solvant/actif" d'origine végétale. p32, p33, p34
- [11]:France-Ida, J, 1992. Analyse de produits naturels de *Taxus canadensis*. p31
- [12]:Cosentino, S., C. I. Tuberoso, B. Pisano, M. Satta, V. Mascia, E. Arzedi and F. Palmas, 1999. In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian Thymus* essential oils. Lett Appl Microbiol. 29(2): 103-105.



- [13]:Mundina, M., R. Vila, F. Tomi, X. Tomas, J. F. Ciccio, T. Adzet, S. Casanova and S. Canigueral, 2001. Composition and Chemical polymorphism of the essential oils from *Pipper lanceaefolium*. *Biochem. Syst. Ecol.* 29(7): 739-748
- [14]:Demetzos, C., B. Stahl, T. Anastassaki, M. Gazouli, L. S. Tzouveleakis and M. Rallis, 1999. Chemical analysis and antimicrobial activity of the resin Ladano, of its essential oil and of the isolated compounds. *Planta Med.* 65(1): 76-78.
- [15]:Jou, N.T., R. B. Yoshimori, G. R. Mason and M. R. Lieblin, 1997. Single tube. nested, reverse transcriptase PCR for detection of viable *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.* 35: 1161-1165.
- [16]:Rai, M. K., D. Acharya and P. Wadegaonkar, 2003. Plant derived-antimycotics: Potential of Asteraceous plants, In: *Plant-derived antimycotics: Current Trends and Future prospects*, Haworth press, N-York, Londin, Oxford. 165- 185.
- [17]:Porter, N, 2001. Essential oils and their production. *Crop & Food Research.* Number 39.
- [18]:Belaïche, P, 1979.Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome I. l'Aromathérapie.Ed. Maloine S.A. Paris.
- [19]:Garnero, J, 1976. Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention, du contrôle et de l'étude de la composition d'une huile essentielle- *Rivista Italiana EPPOS*, pp. 105-125.
- [20]:Garnéro, J, 9-1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Editions techniques- *Encyclopédie des médecines naturelles.* (Paris, France), phytothérapie, Aromathérapie, C-2, pp. 2-20.
- [21]:Bruneton, J, 1999. Pharmacognosie. *Phytochimie, plantes médicinales*, 3e edition. Ed. Tec et doc. Paris.
- [22]:Rhayour, K, 2002. Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. p10- 11- 12-13.
- [23]:Teixeira da Silva, J. A, 2004. Mining the essential oils of the Anthemideae. *African Journal of Biotechnology.* 3 (12): 706-720.
- [24]:Svoboda, K. P and J. B. Hampson, 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti inflammatory and other



related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.

[25]:Jouve, c, 2009. Contribution a l'élaboration d'un site Internet de toxicologie végétale chez les remuants: monographies des principales plantes incriminées d'après les données du cnidien p149-154.

[26]:Bock, B, 2009. Tela Botanica; Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France BDNFF V4.02.

[27]:Becker, G, 1995. Plantes toxiques. Gründ. Quelques spécialités de chez nous: intoxications par les plantes, le chloralose et le méthanol.

[28]:Hakimi, 2004. Traduction du traité complet des deux arts en médecine vétérinaire: hippologie et hippiatrice. (Le naceri) p 239.

[29]:Madaci, B., R. Merghem, B. Doumandji, N. Soltani, 2008. Effet du *Nerium Oleander*, laurier-rose, (Apocyanacees) sur le taux des protéines, l'activité de l'ache et les mouvements des vers blancs rhizotrogini, (*coleoptera scarabaeidae*). p73-78.

[30]:Benfekih, L. A, 2006. Recherches quantitatives sur le criquet migrateur *Locusta migratoria* (Orth. Oedipodinae) dans le Sahara algérien. Perspectives de lutte biologique à l'aide de microorganismes pathogènes et de peptides synthétiques. p36

[31]:Ali, H. F., F. M. A. EL-Ella and N. F. Nasr, 2010. Screening of chemical analysis, Antioxidant Antimicrobial and Antitumor Activities of Essential oil of Oleander (*Nerium oleander*). International Journal of Biological Chemistry. 4 (4): 190-202.

[32]:Plantes aromatiques et médicinales du Haut Atlas Oriental UCODEP, 2009. p41

[33]:Abou El-Ham, H. M., A. E. Magdi, E. H. Mohame, E. H. Soleiman, M. E Abeer. and S. M. Naglaa, 2010. Chemical Constituents and Biological Activities of Artemisia herba-alba. International Journal of Biological Chemistry. 4(4):190-202.

[34]:Le Floc'h. E, 1983. Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Editions Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique.

[35]:Al-Mustafa, A. H and O. Y. Al-Thunibat, 2008. Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. Pakistan Journal of biological sciences, 11(3): 351-358



- [36]:Al-Banna, L., R. M. Darwish. And T. Aburjai, 2003. Effect of plant extracts and essential oils on root-knot nematode. *Phytopathologia Mediterranea* , 42(2): 123-128.
- [37]:Charchari, S., A. Dahoun, F. Bachi . And A. Benslimani, 1996. Antimicrobial activity in vitro of essential oils of *Artemisia herba-alba* Asso and *Artemisia judaica* L. from Algeria. *Riv. Ital. EPPOS*, 18: 3-6.
- [38]:Hatimi, S., M. Boudouma, M. Bichichi, N. Chaib and N. G. Idrissi, 2001. Evaluation in vitro de l'activité antileishmanienne d'*Artemisia herba-alba* Asso. *Thérapeutique, Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 94(1): 29-31.
- [39]:Mohammedi, Z, 2006. Etude de pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huiles Essentielles et Flavonoïdes de quelques plantes de la Région de Tlemcen. p6-7
- [40]:Lucchesi, M.E, 2005. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. p53-61-70.
- [41]:Arpino, P., A. Prévôt, J. Serpinet, J. Tranchant, A. Vergnol, P. Witier, 1995. *Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse*, Masson, Paris.
- [42]:Kováts, E, 1965. Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. *Advances in Chromatography*, Chap. 7: 229-247.
- [43]:Van Den dool and Kartz, 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatog*, 11: 463-471.
- [44]:Longevialle, P, 1981. *Spectrométrie de masse des substances organiques*. Masson, Paris, pp 83-98.
- [45]:Constantin, E, 1996. *Spectrométrie de masse*. Lavoisier Tec & Doc, Paris, pp 1-14.
- [46]:Lafont, 2002. *Méthodes Physiques de Séparation et d'Analyse et Méthodes de dosage des Biomolécules*. Biologie et Multimédia.
- [47]:Lawrence, B. M, 1981. *Progress in essential oils, perfume. & flavor.*, 6(1), 37-8, 43-6.
- [48]:Lemberg, S, 1982. *Armoise- Artemisia herba alba. Perfume. & flavor.*, 7, 58-60, 62-63.





- [49]:Hudaib, M and T. Aburjai, 2006. Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* growing in Jordan, J. Essen. Oil Res., 18: 301-304.
- [50]:Cohen, A., J. P. Lavergne, A. Leblanc, 1972. Constituents of *Artemisia herba-alba* (typica). I. essential oils, Bulletin de la société des sciences naturelles et physiques du Maroc. 52(1-2): 1-19.
- [51]:Ouyahya, A., R. Negre, J. Viano, Y. F. Lozano and E. Gaydou, 1990. Essential oils from Moroccan *Artemisia negrei*, *A. mesatlantica* and *A. herba alba*. *Lebensm Wiss. Technol.*, 23: 528-530
- [52]:Benjilali, B. and H. Richard, 1980. Study of some populations of *Artemisia herba-alba* from Morocco. *Riv. Ital. Essen.*, 62: 69-74.
- [53]:Benjilali, B. J. Sarris and H. Richard, 1982. New chemotypes of *Artemisia herba-alba*, *Sci. Aliments*, 2: 515-527.
- [54]:Lamiri, A., A. Belanger, M. Berrada, S. Zrira, B. Benjilali, 1997. Chemical polymorphism of *Artemisia herba-alba* Asso from Morocco (in French) Rabat: Morocco, 69-79.
- [55]:Lamiri, A., A. Belanger, M. Berrada, M. M. Ismaili-Alaoui and B. Benjilali, 1997. Origin of chemical polymorphism of Moroccan *Artemisia herba-alba* Asso (in French); Rabat: Morocco, 81-92.
- [56]:Feuerstein, I., A. Danin and R. Segal, 1988. Constitution of the essential oil from an *Artemisia herba-alba* population of Spain, *Phytochemistry*, 27: 433-434.
- [57]:Haouari , M. and A. Ferchichi, 2009. Essential oil composition of *Artemisia herba-alba* from southern Tunisia, *Molecules*, 14: 1585-1594.
- [58]:Vernin, G and L. O. Merad, 1994. Mass spectra and Kovats indexes of some new cis-chrysanthenyl esters found in the essential oil of *Artemisia herba-alba* from Algeria. *J. Essen. Oil Res.*, 6: 437-338.
- [59]:Vernin, G., O. Merad, G. M. Vernin, R. M. Zamkotsian and C. D. Parkanyi, 1995. GC/MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from Algeria. *Develop in food Sci.*, 37A, 147-205.





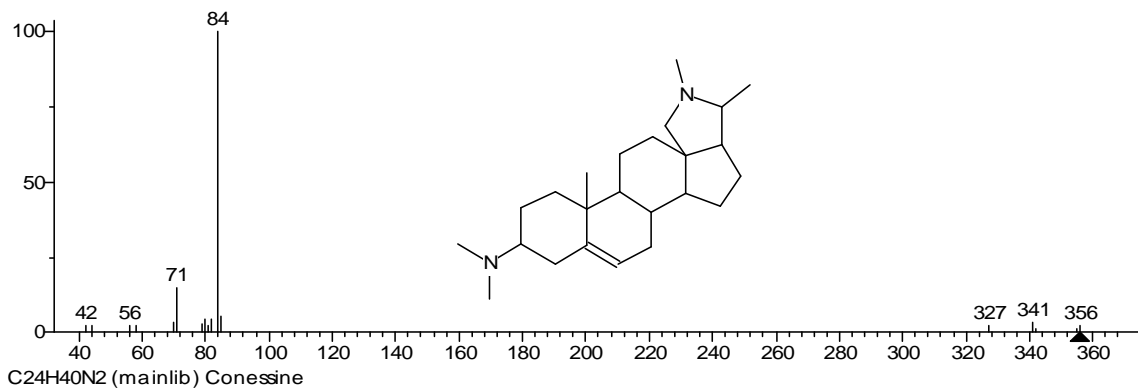
---

[60]: Vernin, G and C. Parkanyi, 2001. GC/MS analysis of *Artemisia herba-alba* Asso. from Algeria, Nonpolar and polar extracts. Riv. Ital. EPPOS, 32: 3-16.



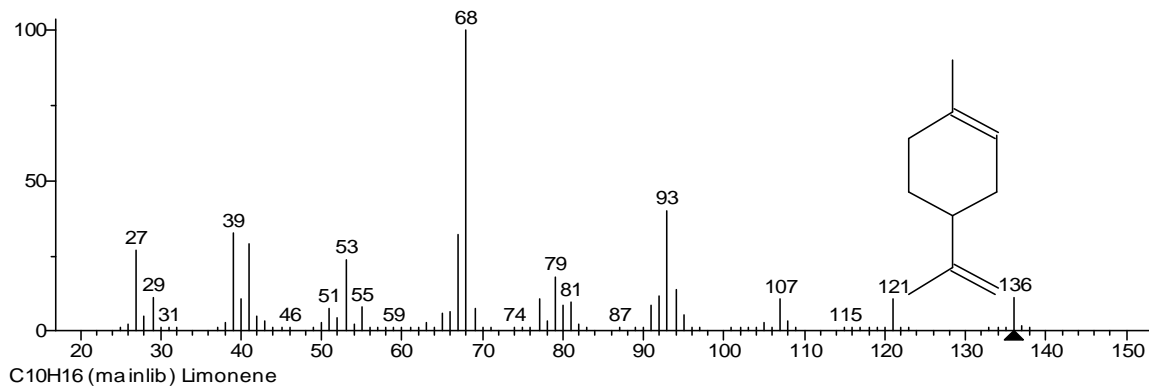
# ANNEXES

## Spectres de masse et structures chimiques des composés majoritaires de *Nerium oleander*

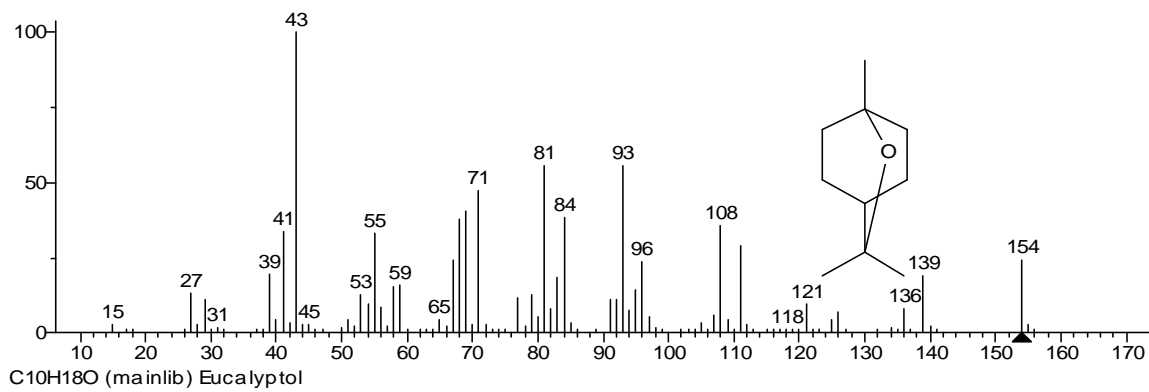




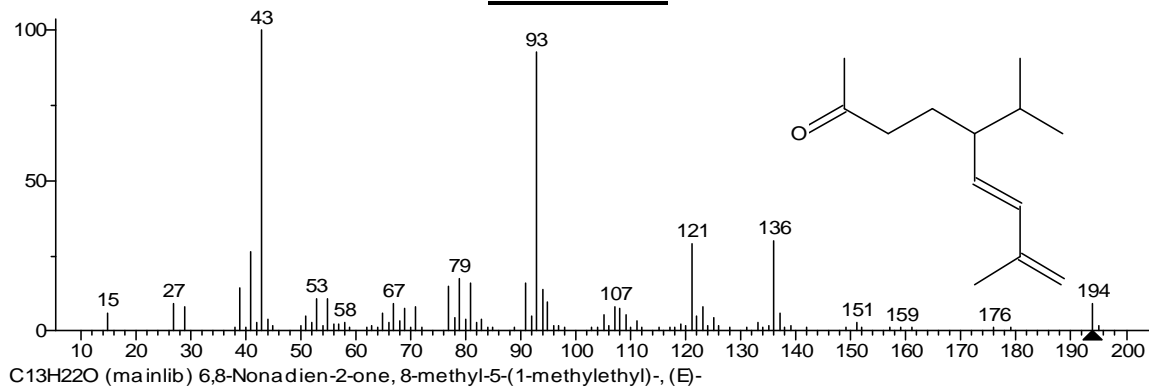
### Nerine



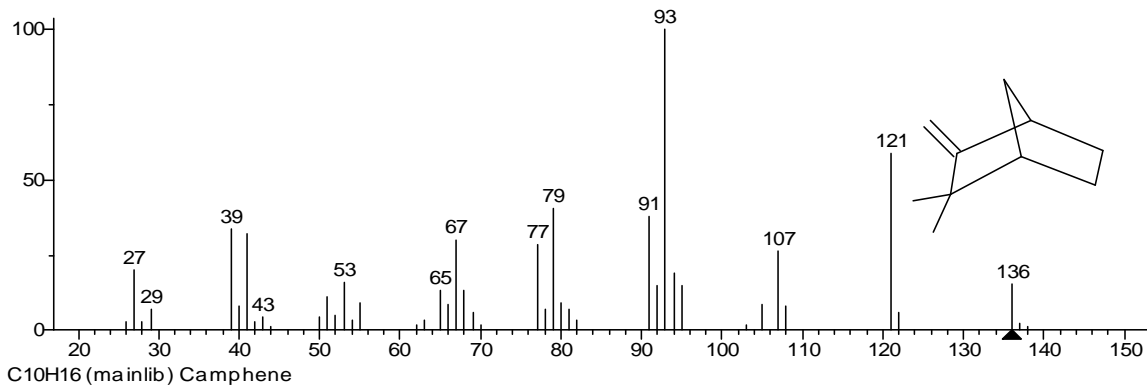
### Limonene



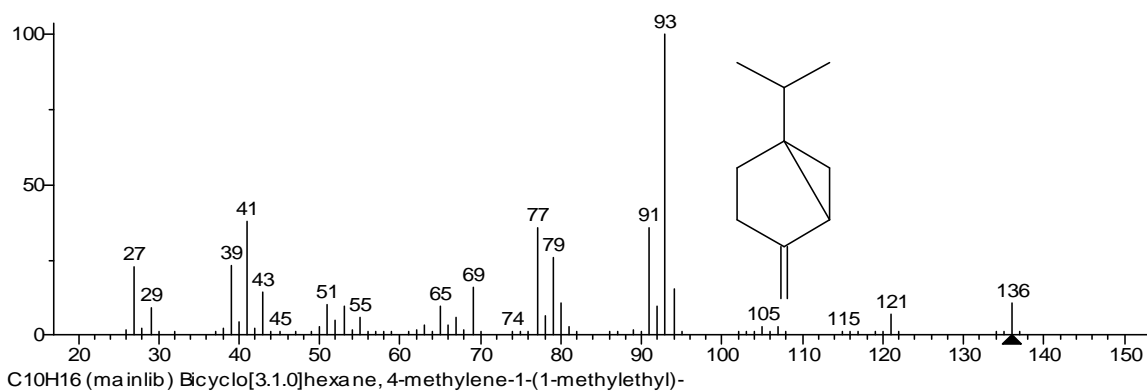
### 1.8-Cineole



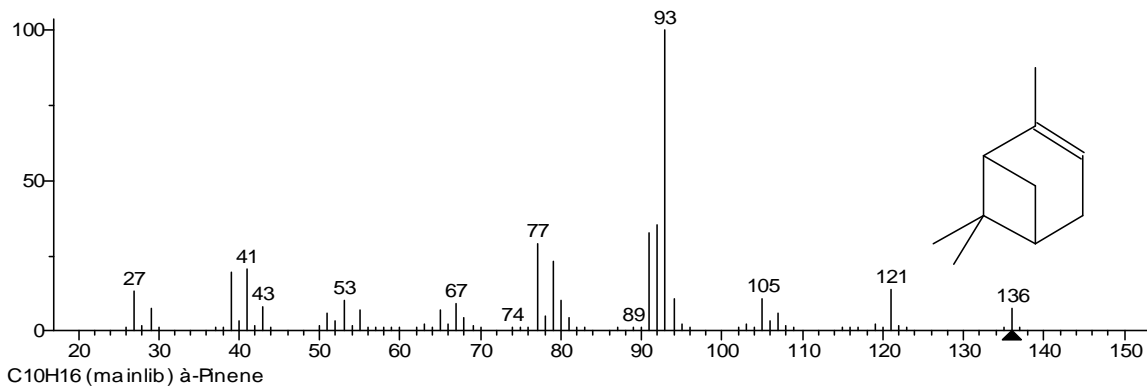
### Solanone



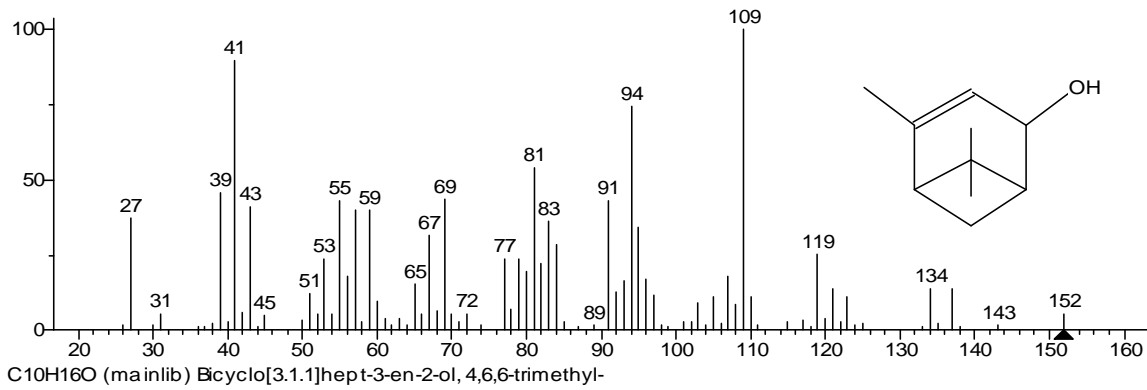
### Camphene



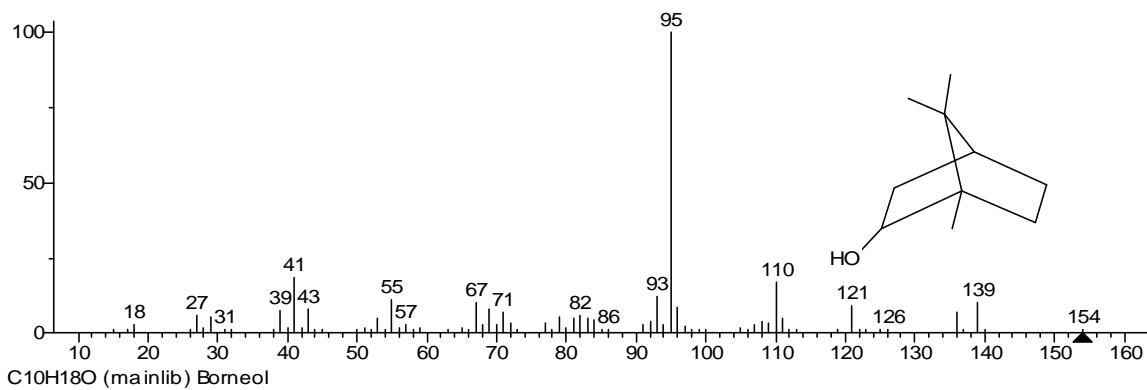
### Sabinene



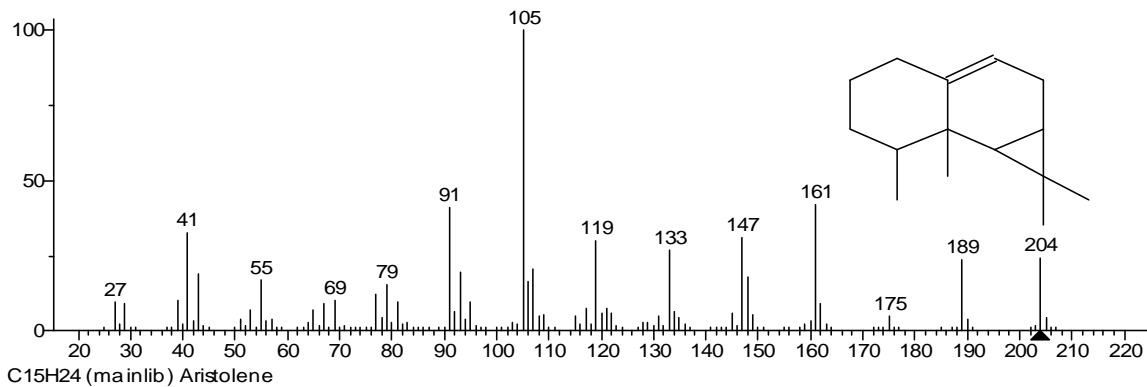
### $\alpha$ -Pinene



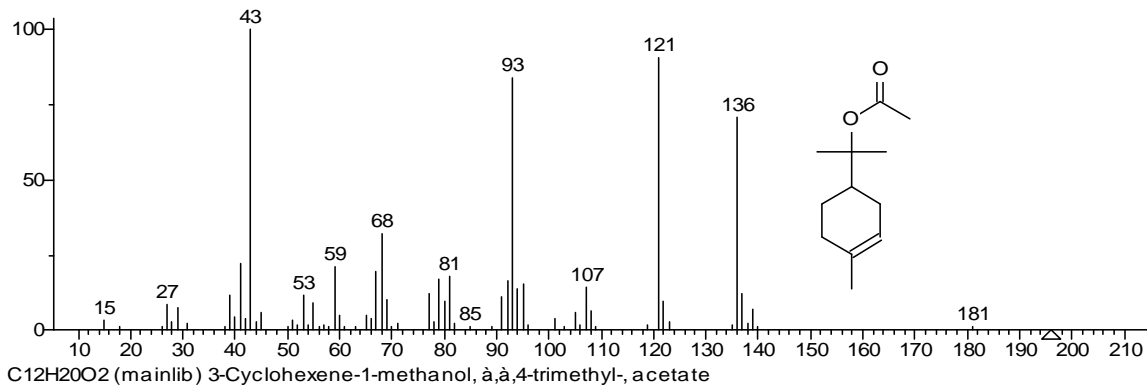
### Trans-verbenol



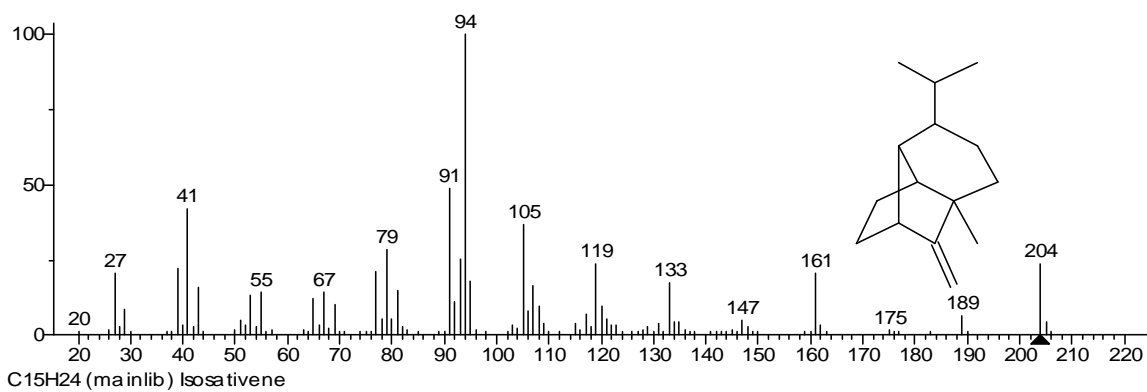
### Borneol



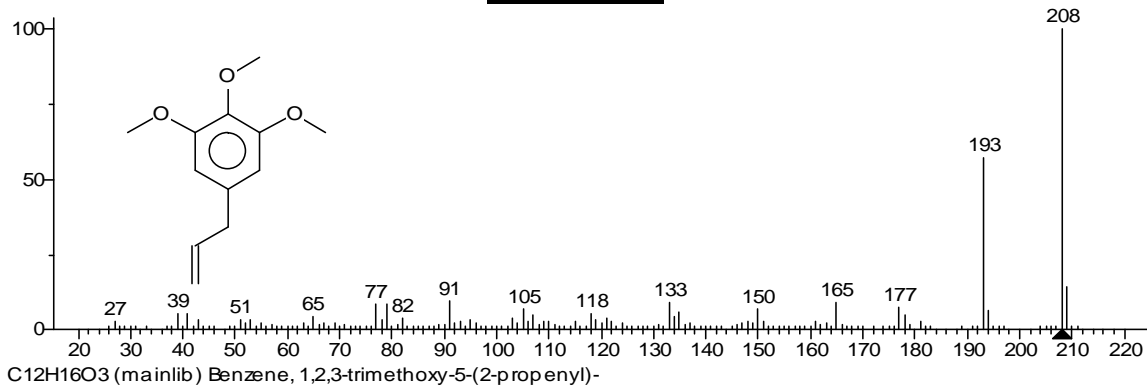
### Aristolene



### Terpinylacetate



### Isosativene

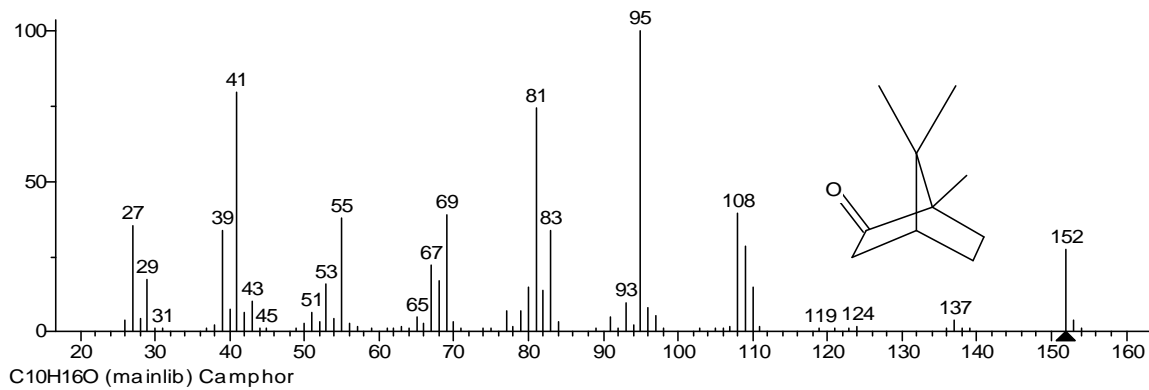


### Elemene

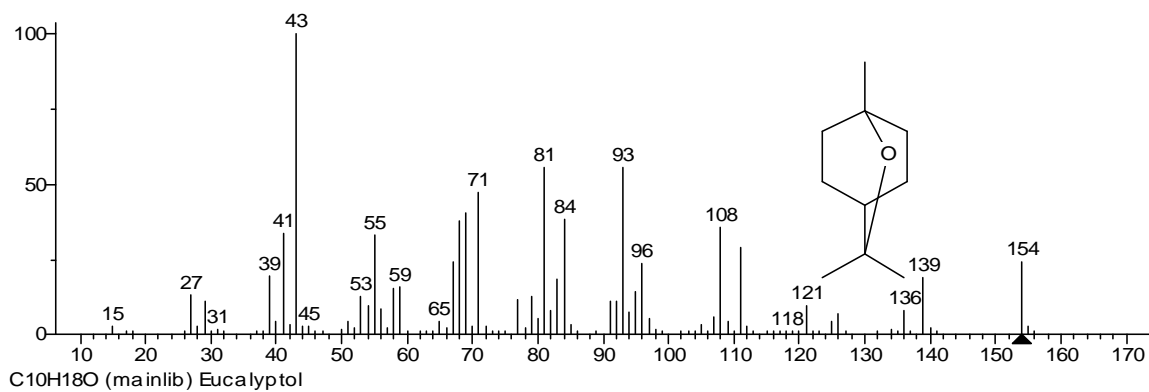




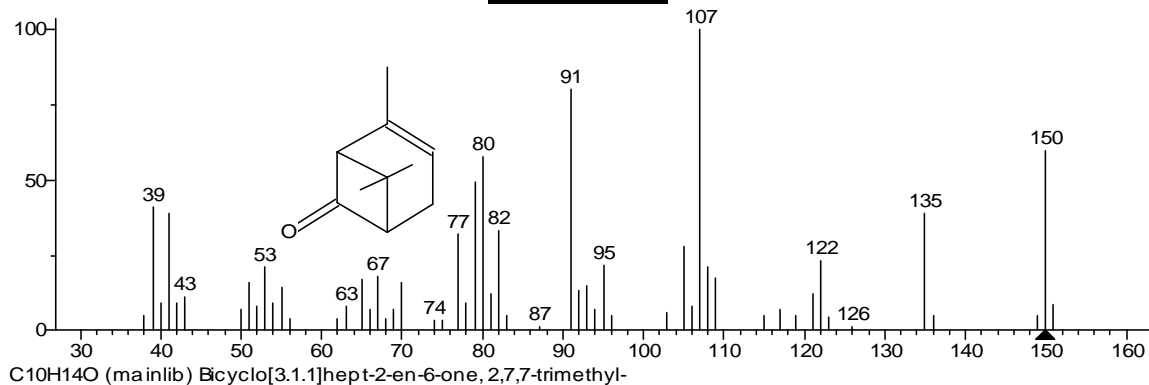
## Spectres de masse et structures chimiques des composés majoritaires *Artemisia herba-alba*



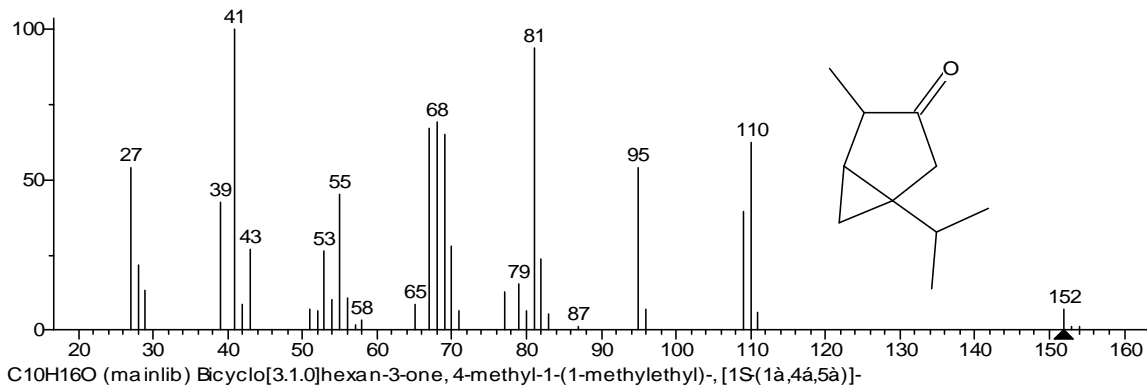
**Camphre**



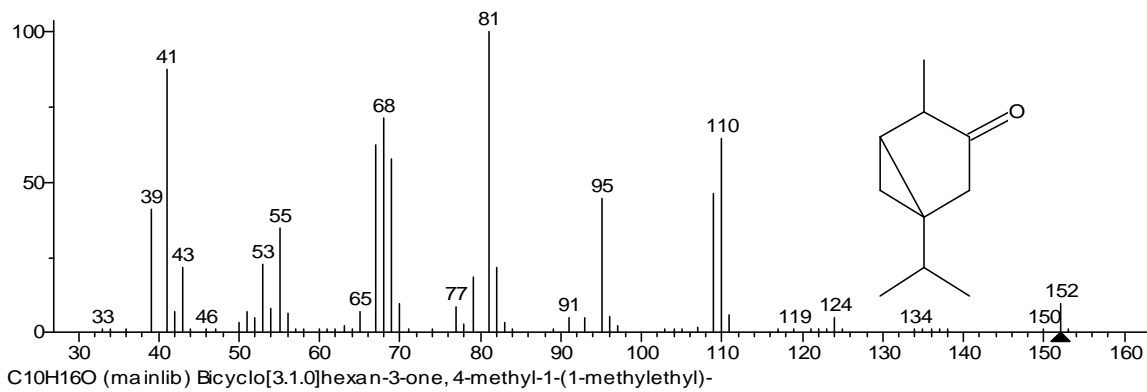
**1.8-Cineole**



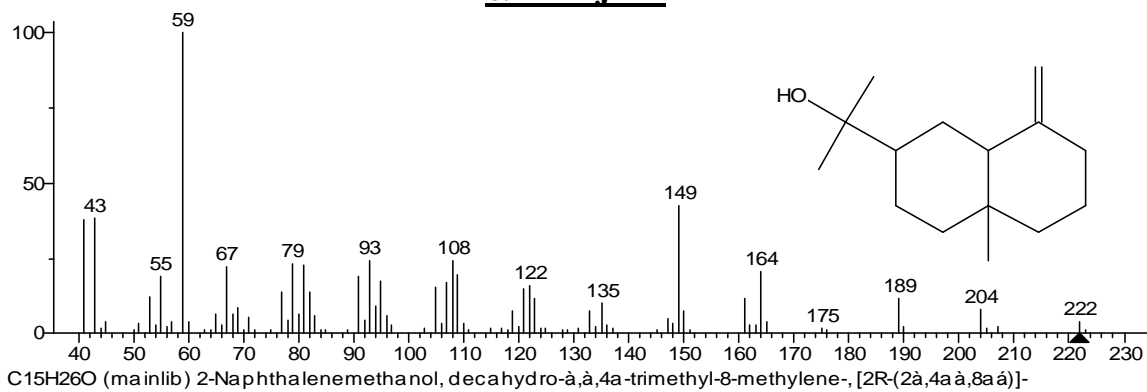
**Chrysanthenone**



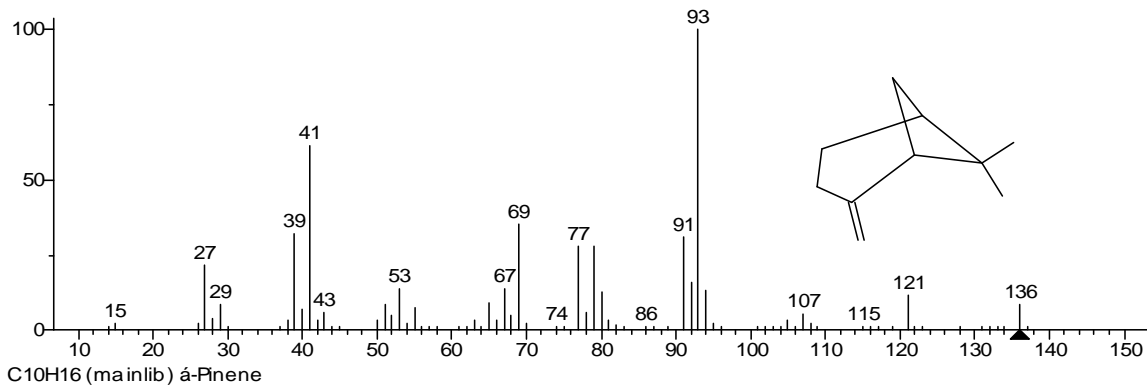
**$\beta$ -Thujone**



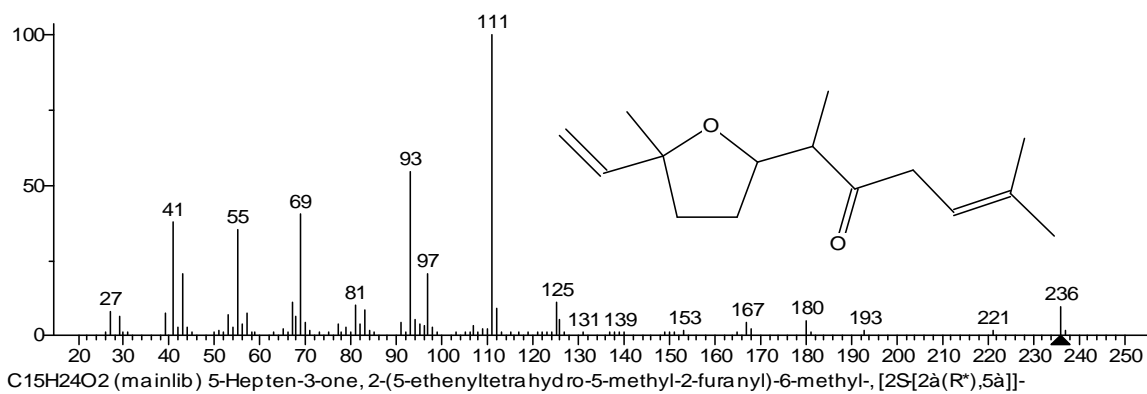
**$\alpha$ -Thujone**



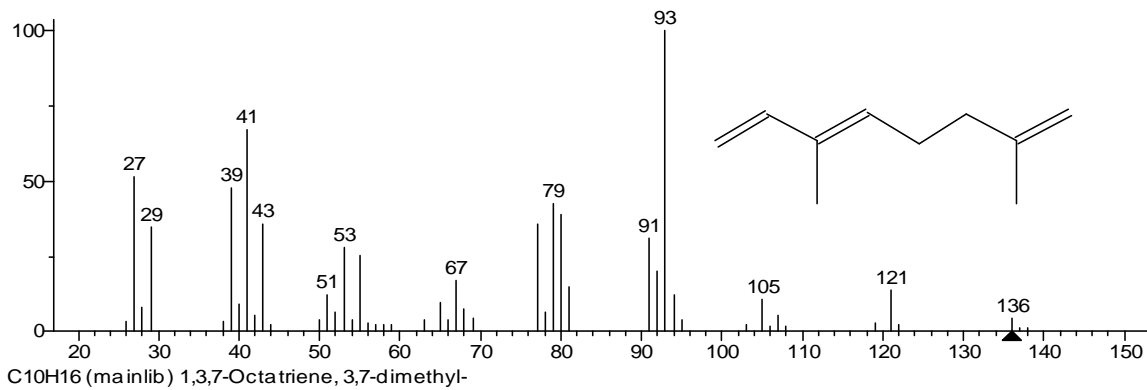
**$\beta$ -Eudesmol**



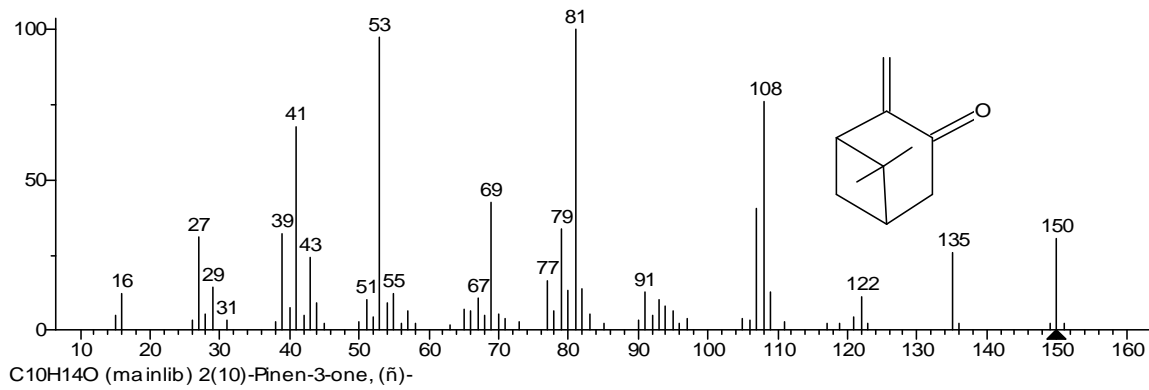
### $\beta$ - pinene



### Davanone



### Ocimene



**pinocarvone**