



**HAL**  
open science

**Caractérisation de nouvelles molécules et variabilité chimique de trois plantes du continuum Corse-Sardaigne: Chamaemelum mixtum, Anthemis maritima et Eryngium maritimum.**

Florent Darriet

► **To cite this version:**

Florent Darriet. Caractérisation de nouvelles molécules et variabilité chimique de trois plantes du continuum Corse-Sardaigne: Chamaemelum mixtum, Anthemis maritima et Eryngium maritimum.. Chimie organique. Université Pascal Paoli, 2011. Français. NNT: . tel-00804279

**HAL Id: tel-00804279**

**<https://theses.hal.science/tel-00804279>**

Submitted on 25 Mar 2013

**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.



**UNIVERSITE DE CORSE-PASCAL PAOLI**  
**ECOLE DOCTORALE ENVIRONNEMENT ET SOCIETE**  
**UMR CNRS 6134 (SPE)**



**Thèse présentée pour l'obtention du grade de**  
**DOCTEUR EN CHIMIE**  
**Mention : CHIMIE ORGANIQUE ET ANALYTIQUE**

**Soutenue publiquement par**  
**FLORENT DARRIET-GIUDICELLI**

le 25 Juillet 2011

---

**CARACTERISATION DE NOUVELLES MOLECULES ET VARIABILITE  
CHIMIQUE DE TROIS PLANTES DU CONTINUUM CORSE-  
SARDAIGNE: *CHAMAEMELUM MIXTUM*, *ANTHEMIS MARITIMA* ET  
*ERYNGIUM MARITIMUM*.**

---

**Directeur(s) :**

Mr Jean Costa, Professeur, Université de Corse  
Mr Alain Muselli, Dr-HDR, Université de Corse

**Rapporteurs :**

Mme Chantal Menut, Professeure, ENS de Chimie de Montpellier  
Mr Mauro Marchetti, Directeur de recherche, CNR de Sassari (Italie)

**Jury**

Mme Chantal Menut, Professeure, ENS de Chimie de Montpellier  
Mr Mauro Marchetti, Directeur de recherche, CNR de Sassari (Italie)  
Mr Antoine-François Bernardini, Professeur, Université de Corse  
Mr Alain Muselli, Dr-HDR, Université de Corse  
Mr Felix Tomi, Professeur Université de Corse  
Mr Nicolas Baldovini, Dr, Université de Nice



## **AVANT PROPOS**

Ce travail a été réalisé sous la direction de Monsieur le Professeur Jean COSTA et de Monsieur le Maître de Conférences Docteur, HDR Alain MUSELLI au sein de l'équipe « Chimie des Produits Naturels » de l'Université de Corse Pascal Paoli, équipe faisant partie intégrante de l'UMR CNRS 6134 « Sciences pour l'Environnement ».

Je tiens à exprimer au Professeur Jean COSTA ma respectueuse gratitude. Merci avant tout pour l'infinie patience dont il a témoigné à mon égard dans les moments les plus délicats de ma thèse. Sa direction rigoureuse, sa grande expérience, ses précieux conseils et ses encouragements dynamiques ont permis le bon déroulement et l'aboutissement de ce travail de thèse. Je le remercie, aussi, de s'être soucié de mon devenir.

Je remercie sincèrement le Docteur Alain MUSELLI, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour son dévouement exemplaire et son encadrement sans faille que pour ses recommandations et avis judicieux durant nos séances de travail.

Je suis très sensible à l'honneur que me font Madame le Professeure Chantal MENUT (Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier) et Monsieur Mauro MARCHETTI Directeur de Recherche, (CNR Sassari, Italie) en acceptant d'être les rapporteurs de ce travail. Je suis très heureux de bénéficier de leurs observations et je tiens à leur exprimer ma sincère reconnaissance pour cette marque d'intérêt.

Je veux exprimer, ici, ma respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur Antoine-François BERNARDINI, ancien directeur du laboratoire de « Chimie des Produits Naturels », pour avoir bien voulu participer à ce jury mais surtout, pour m'avoir chaleureusement accueilli au laboratoire et pour m'avoir toujours encouragé depuis le Master.

Merci à Monsieur Félix TOMI, Professeur (Université de Corse) et directeur du laboratoire « Chimie et Biomasse » pour m'avoir initié aux arcanes de la RMN bidimensionnelle et pour avoir accepté de juger mon travail.

Je suis honoré que Monsieur Nicolas BALDOVINI, Maître de Conférences (Université de Nice – Sophia Antipolis), ait accepté d'évaluer mon travail de thèse.

Je remercie la Collectivité Territoriale de Corse (CTC) d'avoir financé ma thèse à travers l'Agence de Développement Economique de la Corse (ADEC).

Mon camarade Sylvain SUTOUR, Docteur (Université de Corse) a toujours été disponible pour m'aider à mener à bien mes investigations en RMN. Qu'il en soit remercié.

Le moment est venu de saluer tous les collègues membres actifs et sympathisants de l'équipe CPN, responsables de la bonne ambiance qui caractérise notre laboratoire.

Un grand merci tout d'abord à Julien PAOLINI, Maître de Conférences (Université de Corse) pour les conseils et encouragements qu'il m'a prodigué et ce, depuis le Master. Je remercie également Jean-Marie DESJOBERT (Ingénieur) et Franck RENUCCI (Technicien), Jimmy pour son aide technique si précieuse dans le cadre de la recherche, son esprit positif et l'ambiance qu'il sait faire régner au laboratoire, Franck pour son aide dans la préparation et le bon déroulement des séances de Travaux Pratiques que j'ai encadré. Je salue Toussaint BARBONI, Docteur, et Pierre TOMI, Maître de Conférences ainsi que tous mes condisciples Nicolas VENTURINI, Stéphane ANDREANI, Yin YANG, Nassim DJABOU et Gregory CRISTOFARI. Je leur souhaite bonne chance dans l'accomplissement de leurs travaux.

Merci à mes parents, mon frère Pascal et l'ensemble de mes amis pour m'avoir toujours soutenu dans les moments difficiles. Enfin j'embrasse ma compagne Patricia et notre petite fille espiègle Luna qui savent me donner le sourire.

# SOMMAIRE

<b><u>INTRODUCTION</u></b> .....	<b>1</b>
----------------------------------	----------

## **CHAPITRE I :**

<b><u>METHODOLOGIE D'ANALYSE ET ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</u></b> .....	<b>5</b>
---	----------

### **A-LES METHODES D'ANALYSE DES COMPOSES VOLATILS**

<b>DANS LES VEGETAUX</b> .....	<b>7</b>
--------------------------------	----------

#### **I-PREPARATION DES ECHANTILLONS : HUILES ESSENTIELLES ET**

<b>FRACTIONS VOLATILES DES VEGETAUX</b> .....	<b>7</b>
---	----------

<b>1-Les huiles essentielles et autres extraits</b> .....	<b>7</b>
---	----------

1.1-Préparation d'une huile essentielle par hydrodistillation .....	<b>7</b>
---	----------

1.2-Expression à froid .....	<b>7</b>
------------------------------	----------

1.3-Technique d'extraction au CO <sub>2</sub> supercritique .....	<b>8</b>
---	----------

1.4-L'extraction assistée par micro-ondes .....	<b>8</b>
---	----------

<b>2- Etude de la phase gazeuse émise par un végétal</b> .....	<b>10</b>
--	-----------

#### **2.1- Micro Extraction sur Phase Solide**

en mode Espace de Tête (EdT-MEPS).....	<b>10</b>
--	-----------

#### **2.2- Optimisation des paramètres expérimentaux**

et répétabilité de l'analyse .....	<b>12</b>
------------------------------------	-----------

#### **2.3- Intérêt de l'EdT-MEPS pour l'analyse des composés**

volatils issus des végétaux.....	<b>12</b>
----------------------------------	-----------

II- SÉPARATION DES CONSTITUANTS PRÉALABLEMENT A LEUR IDENTIFICATION.....	13
III- IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS D'UN MELANGE.....	14
1-La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	14
2-Le couplage en ligne Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM).....	16
2.1-CPG/SM en mode « Impact Electronique » (CPG/SM-IE).....	18
2.2-CPG/SM en mode « Ionisation Chimique » (CPG/SM-IC) .....	18
2.2.1-Ionisation Chimique Positive (ICP).....	19
2.2.2-Ionisation Chimique Négative (ICN) .....	20
2.2.3-Applications aux constituants des huiles essentielles.....	20
3-Les autres techniques de couplage .....	22
4-La Résonance Magnétique Nucléaire du carbone-13 (RMN- <sup>13</sup> C) .....	24
IV- METHODOLOGIE D'IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS VOLATILS D'UN MELANGE COMPLEXE .....	27
V- OUTILS STATISTIQUES .....	31
1-Analyse en Composante Principale (ACP).....	31
2-Classification Ascendante Hiérarchique (CAH) .....	31
VI- ACTIVITES BIOLOGIQUES .....	32
1-Méthode de diffusion sur gel .....	32
2-Méthode de dilution en milieu liquide.....	33
<b>B-ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE <i>CHAMAEMELUM MIXTUM</i>, <i>ANTHEMIS MARITIMA</i> ET <i>ERYNGIUM MARITIMUM</i>.....</b>	<b>34</b>
I-ETUDE BIBLIOGRAHIQUE DE DEUX ASTERACEE DU LITTORAL	

CORSO SARDE : <i>CHAMAEMELUM MIXTUM</i> ET <i>ANTHEMIS MARITIMA</i>	
ET DES COMPOSES CHIMIQUES PRESENTS DANS LES GENRES	
<i>CHAMAEMELUM</i> ET <i>ANTHEMIS</i> .....	34
1- <i>Chamaemelum mixtum</i> et le genre <i>Chamaemelum</i> .....	35
1.1-Description botanique.....	35
1.2-Compositions chimiques des extraits et huiles essentielles des	
espèces du genre <i>Chamaemelum</i> .....	36
1.2.1-Les constituants de l'huile essentielle	
de <i>Chamaemelum mixtum</i> .....	36
1.2.2.- Les constituants des extraits des espèces du	
genre <i>Chamaemelum</i> .....	37
2- <i>Anthemis maritima</i> et le genre <i>Anthemis</i> .....	38
2.1- Description botanique.....	39
2.2-Compositions chimiques des extraits et huiles essentielles des	
espèces du genre <i>Anthemis</i> .....	40
2.2.1-Les constituants des huiles essentielles des espèces du genre	
<i>Anthemis</i> .....	40
2.2.2-Les constituants des extraits des espèces du genre <i>Anthemis</i> .....	44

## II-ETUDE BIBLIOGRAHIQUE D'UNE APIACEE DU LITTORAL CORSO

### SARDE : *ERYNGIUM MARITIMUM* ET DES COMPOSES CHIMIQUES

PRESENTS DANS LE GENRE <i>ERYNGIUM</i> .....	47
1-Description botanique.....	47

2-Compositions chimiques des extraits et huiles essentielles des espèces du genre <i>Eryngium</i> .....	49
2.1-Les constituants des huiles essentielles des espèces du genre <i>Eryngium</i> .....	49
2.2-Les constituants des extraits des espèces du genre <i>Eryngium</i> .....	55

## **CHAPITRE II :**

### **COMPOSITIONS CHIMIQUES DES HUILES ESSENTIELLES DE**

#### **CHAMAEMELUM MIXTUM, D'ANTHEMIS MARITIMA**

#### **ET D'ERYNGIUM MARITIMUM..... 57**

#### **A-HUILES ESSENTIELLES DE CHAMAEMELUM MIXTUM -**

#### **DESCRIPTION D'UNE NOUVELLE CETONE..... 59**

1-Analyse préliminaire de l'huile essentielle de *C. mixtum* et fractionnement ..... 59

2- Identification du composé **76** ..... 61

2.1-Etude des spectres de masse en impact électronique et en ionisation chimique ..... 62

2.2-Etude du spectre de RMN du carbone-13..... 64

2.3-Purification du composé **76** ..... 64

2.4-Analyse structurale des composés **76** et **76red** par RMN ..... 65

3-Bilan de l'étude de l'huile essentielle de *Chamaemelum mixtum*..... 68

#### **B-HUILES ESSENTIELLES D'ANTHEMIS MARITIMA DE CORSE ET**

#### **DE SARDAIGNE - DESCRIPTION D'ESTERS DU CHRYSANTHENYLE... 71**

1-Etude de l'huile essentielle d'*A. maritima* de Corse ..... 71

1-1-Analyse préliminaire et fractionnement ..... 71

1.2-Etude des composés non identifiés .....	73
2-Etude de l'huile essentielle d' <i>A. maritima</i> de Sardaigne.....	77
3-Stratégie d'identification des esters de chrysanthényle.....	80
3.1-Hémi-synthèse des esters .....	82
3.2- Contribution de l'ICP-CH <sub>4</sub> à la détermination de la stéréochimie des esters de chrysanthényle.....	82
3.3- Contribution de la RMN .....	84
4- Bilan de l'étude des huiles essentielles d' <i>A. maritima</i> .....	88

## **C-HUILE ESSENTIELLE D'*ERYNGIUM MARITIMUM* -**

### **DESCRIPTION DE NOUVEAUX SESQUITERPENES OXYGENES..... 96**

1-Analyse préliminaire de l'huile essentielle d' <i>E. maritimum</i> et fractionnement.....	96
2-Etude des composés non identifiés.....	99
3-Séparation et analyse structurale par RMN des sesquiterpènes non identifiés .....	101
3.1-Stratégie de séparation.....	101
3.2-Analyses structurales des composés <b>55</b> , <b>56</b> , <b>57</b> et <b>58</b> par RMN.....	102
3.2.1-Etude des spectres de RMN à une dimension : RMN du proton, du carbone-13 et séquence à transfert de polarisation DEPT .....	102
3.2.2-Characterisation structurale du composé <b>57</b> .....	104
3.2.3-Characterisation structurale du composé <b>55</b> .....	106
3.2.4-Etude RMN du composé <b>58</b> .....	108
3.2.5-Etude RMN du composé <b>56</b> .....	110
4-Bilan de l'étude de l'huile essentielle des parties aériennes d' <i>E. maritimum</i> .....	112

### **CHAPITRE III :**

#### **ETUDE DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE ET DE LA**

#### **VARIABILITE CHIMIQUE ..... 115**

##### **A-ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES**

##### **DES HUILES ESSENTIELLES ..... 117**

##### **B-VARIABILITE CHIMIQUE INTER STATIONS DES HUILES**

##### **ESSENTIELLES ..... 120**

###### 1-Compositions chimiques des huiles essentielles de *C. mixtum* du continuum

    Corso-Sarde ..... 120

###### 2-Compositions chimiques d'échantillons d'huiles essentielles d'*A. maritima* du

    continuum Corso-Sarde ..... 127

###### 3-Compositions chimiques des huiles essentielles d'*E. maritimum* du continuum

    Corso-Sarde ..... 134

###### 4-Bilan..... 140

##### **C-ETUDE DES HUILES ESSENTIELLES ET DES FRACTIONS**

##### **VOLATILES DES DIFFERENTS ORGANES ..... 142**

###### 1-Composés volatils des organes de *Chamaemelum mixtum* ..... 143

    1.1-Compositions chimiques des huiles essentielles des organes..... 143

    1.2-Compositions chimiques des fractions volatiles captées par MEPS ..... 145

###### 2-Composés volatils des organes d'*Anthemis maritima* ..... 150

    2.1-Compositions chimiques des huiles essentielles des organes..... 150

2.2-Compositions chimiques des fractions volatiles captées par MEPS .....	151
3-Composés volatils des organes d' <i>Eryngium maritimum</i> .....	160
3.1-Compositions chimiques des huiles essentielles des organes.....	160
3.2-Compositions chimiques des fractions volatiles captées par MEPS .....	161
4-Bilan des études des organes des trois plantes .....	166
<b><u>CONCLUSION</u></b> .....	<b>169</b>
<b><u>PARTIE EXPERIMENTALE</u></b> .....	<b>173</b>
<b><u>REFERENCES</u></b> .....	<b>189</b>
<b><u>ANNEXES</u></b> .....	<b>205</b>
1-SPECTRES DE CPG/SM-IC .....	205
2-SPECTRES DE RMN .....	209
3-FRACTIONNEMENT SUR COLONNE.....	213
4-CHROMATOGRAMMES OBTENUS PAR CPG-DIF .....	214



# **INTRODUCTION**

Ce travail de thèse s'inscrit dans le cadre d'un projet structurant « Ressources Naturelles » (RN) de l'Université de Corse portant sur la biodiversité insulaire et plus particulièrement sur la qualité, la caractérisation et la valorisation des substances naturelles végétales. Ce projet structurant est l'une des composantes de l'UMR CNRS 6134 (Sciences pour l'Environnement). Ces travaux de recherche ont été réalisés au Laboratoire de Chimie des Produits Naturels.

Notre domaine de recherche concerne la valorisation des Plantes à Parfums, Aromatiques et Médicinales poussant à l'état spontané ou cultivées en Corse ou encore pouvant y être introduites dans un objectif de développement durable. La Corse est d'une manière générale riche en PPAM susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique ou encore agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes. Nos études visent aussi bien les espèces végétales faisant déjà l'objet d'une exploitation que celles, non encore exploitées, susceptibles d'intéresser les producteurs et les industriels. La détermination de la composition chimique des huiles essentielles permet de les caractériser, d'en évaluer la qualité et de mettre en évidence une éventuelle spécificité locale.

Notre travail s'inscrit à 3 niveaux :

- à l'échelon régional, dans le cadre de la politique menée par la Collectivité Territoriale de Corse (CTC), notamment, l'Agence de Développement Economique de la Corse (ADEC) à travers l'appel régional à proposition.
- A l'échelon national, dans le cadre d'une labellisation du centre de recherche par le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche et par le CNRS.

- Enfin, à l'échelon international, dans le cadre des financements de la Communauté européenne à travers les crédits FEDER et les PIC Interreg Italie France « Iles » Sardaigne- Corse-Toscane. Nos travaux ont donné lieu à une collaboration avec des équipes de recherche étrangères, notamment avec le Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives de l'Université de Tlemcen (Algérie).

Ce travail de thèse portant principalement sur les compositions chimiques des huiles essentielles et des fractions volatiles de trois plantes des littoraux de Corse et de Sardaigne : *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum* a deux objectifs majeurs :

- Un objectif fondamental : accroître notre connaissance des constitutions chimiques des huiles essentielles et fractions volatiles des trois espèces et plus particulièrement de caractériser les composés naturels non décrits ou partiellement décrits, présents dans ces trois plantes. Pour ce faire il convient de mettre en œuvre la stratégie d'analyse du laboratoire, puis de l'optimiser le cas échéant pour surmonter les difficultés d'identification.
- Un objectif plus appliqué à travers l'étude de la variabilité géographique des huiles essentielles afin de déceler une éventuelle spécificité régionale ou micro-régionale en vue d'une valorisation commerciale des trois plantes. Mais également, à travers l'analyse des compositions des huiles essentielles des organes séparés et la recherche d'activités antibactériennes et antifongiques.

Cet ouvrage comporte 3 chapitres présentant respectivement l'état bibliographique de la question, les résultats d'analyses et les discussions.

Dans le **chapitre I**, la partie A est un exposé des principales techniques (i) d'extraction d'huiles essentielles et de fractions volatiles ; (ii) d'analyses d'huiles

essentielles et de fractions volatiles ; (iii) d'études statistiques et (iv) d'études d'activités biologiques. Nous y décrivons également la méthodologie d'analyse développée au sein de notre laboratoire et que nous avons appliquée.

La partie B propose une description botanique, puis une revue bibliographique sur les compositions chimiques des huiles essentielles et extraits de plantes issus des genres, auxquels appartiennent les 3 espèces étudiées dans notre ouvrage.

Dans le **chapitre II**, nous présentons dans des parties dédiées, les compositions chimiques des huiles essentielles de *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum*. En corolaire nous détaillons les analyses menant à l'identification de composés détectés au cours de l'étude des trois plantes. Nous y exposons les stratégies analytiques ayant permis de contourner les divers écueils rencontrés au cours de ces études.

Le **chapitre III** est consacré aux études finalisées menées sur chacune des plantes. Les activités biologiques des huiles essentielles et de leurs fractions sur une gamme de bactéries et champignon sont abordées dans la partie A. L'étude statistique des variations de compositions chimiques des huiles essentielles liées aux positionnements géographiques des stations de prélèvement est présentée en partie B. Enfin, les constitutions des huiles essentielles et fractions volatiles des différents organes, ont été étudiées et comparées dans la partie C.

En fin d'ouvrage, nous présentons la partie expérimentale qui reprend la préparation des huiles essentielles, les conditions expérimentales des diverses analyses et hémisynthèses. En annexe, sont donnés un certain nombre d'éléments intéressants mais qui, à notre sens, auraient rendu la lecture moins aisée s'ils avaient été insérés dans le manuscrit.



**CHAPITRE I**  
**METHODOLOGIE D'ANALYSE**  
**ET ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

Les huiles essentielles constituent généralement une matière première destinée à des secteurs d'activités aussi divers que ceux de la parfumerie et des cosmétiques, des industries pharmaceutique et agroalimentaire. Dans la perspective de leur valorisation, une parfaite connaissance de la composition chimique d'une huile essentielle est nécessaire aux producteurs pour en contrôler la qualité mais aussi pour y déceler une éventuelle typicité locale.

En outre, l'analyse chimique des composés volatils constitue un aspect intéressant au niveau écologique car ces composés sont d'importants marqueurs biologiques de la plante ayant, notamment, un effet fondamental dans l'attraction des insectes pour la pollinisation. Cela explique l'essor récent des études destinées à accroître l'ensemble des connaissances relatives à la constitution en volatils des plantes et aussi l'essor des outils d'analyse afférents.

Malgré les développements constants des moyens de séparation et d'identification, l'analyse demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques pour parvenir à élucider la structure de molécules absentes des référentiels de comparaison, voire non encore décrites dans la littérature.

Enfin, la sécurité alimentaire ainsi que la multi-résistance des micro-organismes sont deux des préoccupations les plus importantes en santé publique. Il est donc nécessaire de mettre en évidence des principes actifs permettant de réduire ou d'éliminer les microorganismes présents dans les aliments et/ou qui sont résistants aux antibiotiques classiquement utilisés. Dans ce contexte les huiles essentielles et les extraits peuvent être utilisés comme additifs antibactériens.

Nous examinerons dans ce chapitre, les diverses méthodes de préparation qui fournissent les huiles essentielles et les fractions volatiles préconcentrées, les méthodes d'identification des constituants de ces matrices, les outils de traitement statistique des données, ainsi que les différents tests mis en œuvre pour la détermination des activités biologiques. Enfin, nous mènerons l'étude bibliographique relative aux aspects botaniques et aux compositions chimiques de trois espèces : *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum* ainsi que de leur genre respectif.

# **A - LES METHODES D'ANALYSE DES COMPOSES VOLATILS DANS LES VEGETAUX**

## **I-PREPARATION DES ECHANTILLONS : HUILES ESSENTIELLES ET FRACTIONS VOLATILES DES VEGETAUX**

### 1-Les huiles essentielles et autres extraits.

#### 1.1-Préparation d'une huile essentielle par hydrodistillation.

Historiquement, l'hydrodistillation a été la première méthode employée pour la préparation d'une huile essentielle et c'est encore aujourd'hui la méthode de référence.<sup>1</sup>

L'hydrodistillation est une distillation hétérogène. L'eau recouvrant le matériel végétal est portée à ébullition sous pression atmosphérique. Une fois libérés, sous forme d'un mélange azéotropique, les composés volatils contenus dans des glandes sécrétrices, sont entraînés mécaniquement par la vapeur d'eau. Dans le « système Clevenger » préconisé par la pharmacopée européenne,<sup>2</sup> l'eau distillée est recyclée dans le bouilleur par cohobage.<sup>3</sup> Après refroidissement, le mélange eau-huile essentielle se sépare par décantation. Le système Clevenger permet ainsi la conservation d'une quantité d'eau identique durant toute la durée de l'extraction.

#### 1.2-Expression à froid.

Le procédé de l'expression à froid est plus rentable que l'hydrodistillation pour l'obtention d'huiles essentielles de zestes d'hespéridés.<sup>5</sup> Le principe en est basé (i) sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et (ii) sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois, via une gamme variée d'appareillage.

### 1.3-Technique d'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique.

L'extraction par les fluides supercritique<sup>6</sup> et plus spécifiquement le dioxyde de carbone s'est développée à partir des années 70. Les principaux avantages de cette technique résident dans l'utilisation de fluides supercritiques qui présentent l'avantage d'avoir une vitesse de diffusion dix fois supérieure et une viscosité dix fois inférieure à celles des solvants liquides. Ces caractéristiques permettent d'extraire avec facilité, notamment, les molécules d'intérêt tels les hydrocarbures aromatiques bicycliques, les pesticides, les polychlorobiphényles mais aussi les caroténoïdes, les flavonoïdes et les terpènes dans les huiles essentielles et cela sans dégradation thermique.

Les fluides supercritiques ont des propriétés se situant entre celles d'un gaz et celles d'un liquide. Ils ont ainsi une viscosité proche de celle d'un gaz, une densité proche de celle du liquide avec un meilleur pouvoir de diffusion. Le point critique est atteint lorsque le changement d'état liquide-gaz n'est plus observé. Le fluide est alors dans un état supercritique intermédiaire entre l'état liquide et l'état gazeux (pour CO<sub>2</sub> : 303 K, 73,8 bars) tout en restant à basse température par rapport à l'hydrodistillation. Le principal désavantage de cette technologie réside dans son coût élevé à l'achat.

### 1.4-L'extraction assistée par micro-ondes.

En 1986, Ganzler *et al.*<sup>7</sup> et Lane et Jenkins<sup>8</sup> furent les premiers à présenter une technique d'extraction, avec ou sans solvant, assistée par micro-ondes en vue d'une analyse chromatographique. Différentes techniques d'extraction assistée par micro-ondes ont été développées depuis et de plusieurs brevets ont été déposés. D'une manière générale, les micro-ondes interagissent simultanément et sélectivement par rotation dipolaire et conduction ionique avec les molécules polaires présentes dans les glandes sécrétrices du végétal entraînant un échauffement localisé suivi d'une expansion puis d'une rupture des membranes cellulaires. D'une manière générale, par rapport à une hydrodistillation classique, les avantages de cette technique sont la rapidité, l'atténuation des risques d'altération thermique et la présence en plus grande quantité de composés oxygénés.

Une revue détaillée des diverses techniques d'extraction assistée par micro-ondes a été présentée par Marie Lucchesi dans sa thèse de doctorat<sup>9</sup> :

- le mode « MAE » (Microwave Assisted Extraction)<sup>10</sup> : les analytes sont libérés dans le solvant, il ne s'agit plus d'une huile essentielle mais bien d'un extrait au solvant. Ce procédé présente un grand intérêt notamment pour l'extraction de composés thermosensibles puisqu'en utilisant un solvant de faible constante diélectrique ce dernier reste froid.

- Le mode « VMHD » (Vaccum Microwave HydroDistillation) ou hydrodistillation assistée par micro-ondes sous vide pulsé, est une technique d'extraction qui s'inspire de l'hydrodistillation classique ; elle est basée sur l'utilisation conjointe des micro-ondes et d'un vide pulsé. L'extraction est dix fois plus rapide que l'hydrodistillation pour un rendement similaire. Les composés les plus thermosensibles semblent être conservés après extraction par VMHD contrairement à une hydrodistillation classique.<sup>11</sup>

- Le mode « SFME » (Solvant Free Extraction Microwave Extraction) est le mode d'extraction le plus récent. Ce mode décrit par Luchessi et *al.*<sup>12,13</sup> est mis en œuvre sans ajout de solvants organiques, par simple humidification du végétal sec avant extraction. Dans ce cas, l'eau localisée en surface du végétal s'échauffe libérant ainsi les composés volatils qui sont récupérés par distillation. Le procédé ne correspond ni à une extraction assistée par micro-ondes classique consommatrice de solvant, ni à une hydrodistillation consommatrice d'eau, mais s'avère être une originale combinaison entre un chauffage par micro-ondes et une distillation à sec sous pression atmosphérique. Les principaux avantages de cette technique résident dans la faible durée d'extraction (30 minutes en moyenne), son caractère respectueux de l'environnement mais également la diminution du risque d'altération thermique des composés. Les rendements sont similaires voire supérieurs à ceux obtenus par hydrodistillation et la proportion de composés oxygénés est plus importante que dans les huiles essentielles classiques.

## 2-Etude de la phase gazeuse émise par un végétal.

L'extraction des composés volatils est un domaine d'étude qui a connu un essor considérable ces 20 dernières années ; les méthodes de capture de ces composés sur adsorbant se sont diversifiées.<sup>14</sup>

L'extraction par exposition dans l'espace de tête (EdT) consiste à prélever les composés volatils contenus dans la phase gazeuse en équilibre thermodynamique avec une matrice solide ou liquide, à fin de caractérisation. Traditionnellement, le prélèvement s'opère en mode statique ou en mode dynamique. En mode statique, l'extraction se fait sans épuisement de la matrice. En mode dynamique (système « purge and trap », par exemple), les composés volatils sont entraînés par un gaz inerte et piégés dans un tube contenant un adsorbant, le plus couramment du TENAX. Le mode dynamique permet un épuisement des volatils de la matrice étudiée. Cette méthode est courante dans l'analyse des arômes des fruits ou des viandes.<sup>15,16</sup> Elle peut également être utilisée sur d'autres types de matrices comme les hydrolats.<sup>17</sup>

Bicchi *et al.* présentent une revue détaillée de toutes les techniques d'échantillonnages de fractions volatiles végétales en espace de tête.<sup>18</sup>

### 2.1-Micro Extraction sur Phase Solide en mode Espace de Tête (EdT-MEPS).

La MEPS est une méthode d'extraction sans solvant développée par Arthur et Pawliszyn en 1990.<sup>19</sup>

En mode Espace de Tête (EdT-MEPS), elle permet l'échantillonnage dans l'espace de tête de composés contenus dans des matrices solides d'origines alimentaire, biologique ou environnementale. L'extraction des molécules se fait par adsorption à l'aide d'une seringue comportant une aiguille à l'intérieur de laquelle est positionnée une fibre en silice fondue (1 à 2 cm de longueur) revêtue d'une phase polymérique (7 à 100  $\mu\text{m}$  d'épaisseur) qui fait office de phase stationnaire.<sup>20</sup> Il existe plusieurs revêtement de la fibre : (i) le polydiméthylsiloxane (PDMS) ou le polyacrylate (PA) pour les polymères liquides, (ii) le divinylbenzène (DVB) ou le carbowax (CW) pour les polymères poreux et (iii) les polymères très poreux du type carboxen (CAR) dont la capacité de rétention est très élevée. Les fibres peuvent être composées d'un, de deux ou de trois polymères.

L'extraction des composés volatils émis par un végétal par exposition dans l'espace de tête implique un double équilibre, l'un entre la phase solide et la phase gazeuse et l'autre entre la phase gazeuse et le revêtement de la fibre<sup>20</sup>:



avec  $S_s$  : Substance dans la matrice à l'équilibre

$S_e$  : Substance dans l'espace de tête à l'équilibre

$S_f$  : Substance dans le revêtement de la fibre à l'équilibre

$K_{es}$  : Coefficient de distribution entre la matrice et l'espace de tête

$K_{fe}$  : Coefficient de distribution entre l'espace de tête et la fibre

Il a été établi une relation<sup>21</sup> entre la quantité de substance adsorbée par la fibre sur le polymère  $n$  et sa concentration initiale dans la matrice  $C_0$  (avec  $V_f$  : Volume du revêtement de la fibre,  $V_s$  : Volume de la matrice et  $V_e$  : Volume de l'espace de tête):

$$n = \frac{K_{fe}K_{es}V_fC_0V_s}{K_{fe}K_{es}V_f + K_{es}V_e + V_s}$$

Lorsque la fibre est exposée dans l'espace de tête, les composés sont extraits par volatilité décroissante. L'augmentation de la température accélère ce processus puisqu'elle influe sur la vaporisation des composés donc sur leurs concentrations dans l'EdT. Cependant, une augmentation de la température trop importante provoque un déplacement de l'équilibre EdT / Fibre vers l'EdT, ce qui se traduit par une diminution du signal FID.

La fraction captée par EdT-MEPS est le plus souvent analysée avec la chromatographie en phase gazeuse (CPG) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (DIF) ou couplée en ligne à un spectromètre de masse (CPG/SM). La désorption des molécules se fait alors dans l'injecteur de la CPG. Ces couplages permettent l'exploitation qualitative et semi-quantitative du procédé.

## 2.2-Optimisation des paramètres expérimentaux et répétabilité de l'analyse.

La composition de la fraction volatile d'un végétal captée par EdT-MEPS dépend des paramètres expérimentaux.<sup>22</sup>

D'une manière générale, la nature de la fibre, le temps et la température de désorption ressortent de compromis rapportés dans la littérature et ne sont pas à optimiser systématiquement. En effet, de nombreux travaux réalisés sur la nature de la fibre<sup>23</sup> ont montré que le meilleur rendement d'extraction dans notre domaine d'étude est obtenu pour les fibres triples : une phase liquide, le PDMS pour les composés les moins polaires et deux phases solides poreuses, le CAR et le DVB pour les composés les plus polaires. Ce type de fibre permet l'extraction de composés volatils sur une large gamme, s'étendant de C<sub>3</sub> à C<sub>20</sub>.

Au contraire, la masse de végétal, les temps et températures d'équilibre et d'extraction doivent être optimisés pour chaque nouvelle espèce analysée. En effet ces paramètres sont les plus susceptibles d'influer sur la nature et la quantité de composés chimiques captés par EdT-MEPS.

Les analyses par EdT-MEPS sont systématiquement répétées trois fois; les abondances des composés sont présentées sous forme d'une moyenne assortie d'un écart type. Cela permet de tenir compte de l'erreur expérimentale inhérente à ce procédé et de s'assurer de la répétabilité de l'analyse. Le coefficient de variation CV (rapport de l'écart type sur la moyenne exprimée en %) sur les aires totales et les aires des composés majoritaires est également utilisé pour valider les résultats. Pour des CV inférieurs à 20 %, on considère que les analyses sont répétables.<sup>22</sup>

## 2.3-Intérêt de l'EdT-MEPS pour l'analyse des composés volatils issus des végétaux.

La composition chimique de la phase gazeuse émise ne peut être comparée directement avec celle de l'huile essentielle d'un même végétal. L'analyse par EdT-MEPS permet d'obtenir l'empreinte de la fraction volatile à une température donnée ; dans la littérature on parle de « fingerprint ».<sup>24-27</sup>

L'intérêt majeur de l'EdT-MEPS est son application aux plantes ne renfermant pas ou très peu d'huile essentielle ; dans ce cas, elle devient la seule technique capable de fournir une information sur les composés volatils de la plante.

## II- SÉPARATION DES CONSTITUANTS PRÉALABLEMENT A LEUR IDENTIFICATION

D'une façon générale, même en routine, lorsque les constituants identifiés représentent moins de 90% en masse de l'huile essentielle totale après analyse, on procède à un fractionnement de cette huile essentielle par distillation fractionnée et/ou par une ou plusieurs techniques chromatographiques (CC, CCM, CLHP, CPG préparative). Chaque fraction, est un mélange moins complexe avec un nombre moins important de coélutions.

Un grand nombre d'huiles essentielles, plus ou moins complexes, ont été étudiées selon cette voie. Bicchi et *al.*<sup>28</sup> ont utilisé cette procédure pour l'analyse poussée de l'huile essentielle d'*Artemisia roxburghiana*. Le fractionnement poussé de l'huile essentielle (80 g), mené par distillation fractionnée sous vide, CC et CCM préparatives, a permis l'identification de 108 constituants, principalement par comparaison des indices de rétention en CPG et des spectres de masse en CPG/SM. Il convient également d'évoquer les travaux de Weyerstahl et *al.*,<sup>29-32</sup> qui réalisent des fractionnements très poussés de l'huile essentielle, par distillation fractionnée et chromatographies répétées (CC, CCM). Les composés isolés ont été identifiés sur la base de leurs données spectrales de masse et de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone-13. Ainsi, ce n'est pas moins de 150, 160 et 170 composés qui ont été identifiés respectivement dans les huiles essentielles de *Pulicaria gnaphalodes*,<sup>30</sup> d'*Artemisia sieberi*<sup>31</sup> et du Lantana du Brésil.<sup>32</sup>

La technique du fractionnement est très fréquemment mise en œuvre au sein de notre laboratoire. Depuis peu, un fractionnement performant est réalisé à l'aide d'un système chromatographique automatisé qui a permis, en plusieurs occasions, d'aboutir à des composés purs.

### III- IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS D'UN MELANGE

De manière schématique, il existe deux types de démarches analytiques. La première est la méthode chromatographique procédant par individualisation des composés du mélange. L'identification est réalisée à l'aide des indices de rétention, d'une part, et des spectres de masse, d'autre part. C'est la méthode conventionnelle d'analyse des huiles essentielles, mais aussi la méthode de référence du marché. La seconde méthode est le recours à la RMN du carbone 13 des mélanges ne nécessitant pas d'individualisation préalable, mais ne pouvant être appliquée que sous certaines conditions.

Notre laboratoire a opté pour la première démarche, c'est-à-dire l'usage de la chromatographie en phase gazeuse associée à une détection par ionisation de flamme (CPG-FID) et de la chromatographie en phase gazeuse couplée en ligne avec la spectrométrie de masse (CPG/SM). En tant que de besoin, il est fait appel à la RMN comme outil d'analyse structurale.

#### 1-La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition.<sup>33</sup> C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Les progrès technologiques réalisés dans ce domaine avec la présence de plus en plus fréquente de « *fast GC* » raccourcissent considérablement le temps d'analyse tout en conservant une bonne efficacité de séparation.<sup>34</sup>

La CPG-DIF (détecteur à ionisation de flamme) permet une analyse quantitative ; elle fournit le pourcentage relatif de chaque signal par rapport à l'ensemble des signaux du mélange analysé. Cette méthode est utilisée dans notre ouvrage.

Elle permet, également, une analyse qualitative sur la base des temps de rétention. Ceux-ci, bien que spécifiques d'un composé, ont tendance à varier d'une

analyse à l'autre, notamment du fait du vieillissement des colonnes. Pour une colonne donnée, chaque constituant est caractérisé par des indices calculés à partir d'une gamme d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (indice de Kováts)<sup>35</sup> ou en programmation de température (indices de rétention).<sup>36</sup> Ces derniers demeurent constants dans la mesure ou la programmation de température reste identique ; ils sont calculés sur colonne polaire (Irp) et apolaire (Ira) et sont comparés à ceux d'échantillons authentiques contenus dans une bibliothèque de référence propre au laboratoire, dans des bibliothèques commerciales<sup>37,38</sup> ou encore reportés dans la littérature. La bibliothèque élaborée au laboratoire contient ainsi, les indices de rétention de plus de 800 composés spécifiques des huiles essentielles et répertoriés dans des conditions expérimentales analogues à celles de la matrice étudiée.

La reproductibilité parfaite des indices de rétention est difficile à obtenir et ne peut être observée que sur des chromatogrammes réalisés sur une période courte avec des conditions expérimentales rigoureusement identiques. Les variations les plus importantes sont observées lorsqu'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire avec ceux de la littérature, particulièrement pour ce qui concerne la colonne polaire.<sup>39</sup> Dans le domaine des huiles essentielles, il a été montré que 230 sesquiterpènes de même masse moléculaire présentent des indices de rétention compris dans un intervalle de seulement 300 unités.<sup>40</sup> Il s'ensuit une grande incertitude dans l'identification des constituants. De plus, les nombreux cas de coélution montrent que la comparaison des indices de rétention et même la méthode des surcharges ont leurs limites pour l'identification de l'ensemble des composés.

Le développement de la CPG multidimensionnelle notamment sous l'impulsion de Mondello *et al.* et des phases stationnaires chirales a permis de surmonter certaines difficultés rencontrées dans la séparation des composés dans les huiles essentielles. Ainsi, la CPG bidimensionnelle couplée à une spectrométrie de masse (CPG/CPG/SM), mettant en ligne deux colonnes capillaires, permet la séparation, l'identification et la quantification de composés minoritaires pouvant coéluer avec des composés plus abondants.<sup>41</sup> L'échantillon est injecté dans une pré-colonne apolaire classique, puis les composés sont transférés dans une deuxième colonne plus courte,

plus fine et de polarité différente pour assurer l'orthogonalité du système.<sup>42</sup> Les composés sont séparés selon deux procédés différents. Dans la technique du découpage ou « *heart-cutting* », on sélectionne un certain laps de temps durant lequel, les composés d'intérêt issus de la première colonne seront transférés vers la seconde, via une vanne. Cette méthode permet de résoudre de façon sélective les problèmes de coélution. En « *comprehensive 2D* », l'ensemble de la fraction passe dans les deux colonnes. Le transfert est assuré par un modulateur dont les fonctions sont d'isoler, de concentrer et d'introduire continuellement des coupes d'effluents de la première colonne (dimension 1) vers la deuxième colonne (dimension 2). L'efficacité de ces méthodes est illustrée dans divers travaux sur l'application de la CPG bidimensionnelle à l'étude d'huiles essentielles.<sup>43,44</sup>

L'utilisation de colonnes chirales est également possible en CPG bidimensionnelle et permet d'affiner l'analyse énantiomérique des constituants d'un mélange complexe qui, dans plusieurs cas, parviennent à différencier des énantiomères monoterpéniques en mélange.<sup>45</sup>

## 2-Le couplage en ligne Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM).

L'utilisation d'un spectromètre de masse comme détecteur en chromatographie en phase gazeuse a été développée dans les années 1950 par Roland Gohlke et Fred McLafferty néanmoins, les appareils de routine CPG/SM à colonnes capillaires se sont répandus dans les années 1980.<sup>46</sup> Depuis, cette méthode de couplage n'a cessé d'évoluer et a trouvé de nombreuses applications dans les domaines de l'agroalimentaire, des produits pétroliers (carburants, matières synthétiques), des produits naturels (parfumerie, cosmétique, médecine), etc... Dans le secteur particulier des huiles essentielles, le couplage CPG/SM est, aujourd'hui, la technique de référence.<sup>47,48</sup> En effet, le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (CPG/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe.

Deux modes d'ionisation sont possibles : l'ionisation par impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (IC). Dans ce dernier cas, on distingue l'ionisation chimique positive (ICP) et l'ionisation chimique négative (ICN).

Il existe plusieurs analyseurs de masse mais les plus fréquents pour l'analyse des huiles essentielles sont le « quadripôle » et le piège à ions ou « ion trap ». Tous deux utilisent la stabilité des trajectoires pour séparer les ions selon le rapport masse sur charge  $m/z$ .<sup>49,50</sup> Les analyseurs quadripolaires linéaires sont les plus répandus, ils sont constitués de quatre barres cylindriques soumises deux à deux à un potentiel composé d'une tension continue  $U$  et d'une tension alternative  $V\cos(\omega t)$ . Cette polarisation, permet aux ions pénétrant entre les barres de parcourir une trajectoire sinusoïdale définie selon les équations de Mathieu. Les tensions  $U$  et  $V$  appliquées à un instant  $t$  permettent le passage de l'ion de masse  $m$ . Il faut modifier le rapport  $U/V$  selon une droite dite de fonctionnement maintenant  $U/V$  constant pour permettre le passage des ions selon leur masse croissante. Ce réglage des tensions permet de donner une trajectoire stable aux ions pour qu'ils traversent le quadripôle ou une trajectoire instable afin qu'ils percutent les barres et soient perdus. Par la suite, le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse, est détecté et transformé en un signal utilisable.

Les détecteurs les plus courants sont les channeltrons (multiplicateurs d'électrons) et les photomultiplicateurs ; ils amplifient l'intensité du signal détecté ils permettent la conversion des ions en signaux électriques. L'ordinateur enregistre et convertit des grandeurs digitales fournit par le spectromètre en grandeurs analogiques traitées par l'ordinateur et utilisables par l'analyste. Les signaux sont visualisés sous forme de pics d'intensités variables et rangés sur une échelle de rapport masse/charge : il s'agit du spectre de masse. La quantité d'ions filtrée par l'analyseur et perçue par le détecteur en fonction du temps, permet également de reconstituer un chromatogramme par traitement informatique.<sup>51</sup> Le mode d'acquisition des données chromatographiques « SCAN » avec lequel on réalise un balayage sur une gamme de masses prédéterminée conduit à un chromatogramme reconstitué rendant possible l'analyse qualitative de chaque composé, mais ne permet pas pour autant une méthode de quantification des composés analysés.

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

En mode impact électronique (IE), l'ionisation des substances sortant de la colonne capillaire se fait par bombardement à l'aide d'un faisceau d'électrons d'énergie de 70 eV provenant d'un filament chauffé. Les fragments ioniques positifs ainsi obtenus, dont éventuellement l'ion moléculaire, forment le spectre de masse du composé. Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés avec ceux des produits de référence contenus dans des bibliothèques informatisées commerciales riches de plusieurs milliers de composés.<sup>38,52-54</sup> Une bibliothèque « Laboratoire » a été construite ; elle contient plus de 800 composés rencontrés dans les huiles essentielles, dont une grande majorité de terpènes.

En mode IE, il se présente des difficultés qui sont dues principalement :

- à la similitude des spectres de masse. C'est le cas de composés proches d'un point de vue structural comme les quatre isomères du menthol ou du farnésol<sup>55,56</sup> ou les acétates d'isobornyle et de bornyle qui sont épimères. Cette similitude des spectres de masse est également observée pour certaines molécules possédant des squelettes différents telles les (Z,Z) et (E,Z)- $\alpha$ -farnésène (sesquiterpènes linéaires avec 4 insaturations) et le *cis*- $\alpha$ -bergamotène (sesquiterpène bicyclique diénique)<sup>57</sup> ou encore le 1-*endo*-bourbonanol (sesquiterpène tricyclique) et le 1,6-germacradièn-5-ol (sesquiterpène monocyclique).<sup>58</sup>

- à la faible intensité voire à l'absence du pic moléculaire sur le spectre de masse.

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

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

L'ionisation chimique résulte des travaux de Field et Munson sur le comportement du méthane et de l'isobutane en spectrométrie de masse sous une pression voisine de un Torr dans la source.<sup>59</sup> Le spectre de masse enregistré dans ces

conditions était invariablement pollué par des pics correspondant à des masses élevées dues aux impuretés présentes dans le gaz. Ils portèrent leur attention non plus sur les gaz méthane et isobutane, mais sur ces impuretés, ils en déduisirent les principes d'une nouvelle méthode générale d'analyse en spectrométrie de masse.

Notre laboratoire a eu recours à l'analyse par CPG/SM-IC pour identifier les constituants d'huiles essentielles, comme les esters du thymol, dihydrothymol, nérol, bornéol et lavandulol.<sup>60-62</sup>

### 2.2.1-Ionisation Chimique Positive (ICP).

La technique ICP consiste, dans un premier temps, à ioniser le gaz réactif X par impact électronique pour donner  $X^+$  qui réagit ensuite avec les molécules de gaz réactif par le biais de collisions produisant le gaz réactif ionique appelé « plasma d'ionisation » et composé majoritairement d'ions  $XH^+$ . Les ions  $XH^+$  ainsi formés, d'énergie moindre que les électrons qui leur ont donné naissance, réagissent avec la substance M étudiée selon des réactions de types ions-molécules engendrant peu de fragmentations.<sup>63,64</sup> Cette ionisation est régie par les affinités protoniques de X et de M.

Le méthane<sup>65</sup> utilisé comme gaz réactant (ICP- $CH_4$ ) produit couramment l'ion pseudo moléculaire  $[M+H]^+$ . Dans le cas où la molécule M ne présente pas d'insaturation, elle ne peut pas accepter de proton ; il est alors possible d'observer l'ion pseudo moléculaire  $[M-H]^+$  par perte d'ion hydrure. En outre, avec les molécules polaires on observera la formation d'adduits  $[M+C_2H_5]^+$  et  $[M+C_3H_5]^+$ . Ainsi, en ICP- $CH_4$ , la série d'ions  $(M+1)^+$ ,  $(M+29)^+$ ,  $(M+41)^+$  aide, entre autre, à la détermination de la masse moléculaire de la substance analysée.

En ICP, l'action du gaz ammoniac<sup>66</sup> forme couramment, les ions  $[M+H]^+$  et  $[M+NH_4]^+$  à partir de molécules polaires. D'autres substances, les hydrocarbures saturés par exemple, ne sont pas efficacement ionisées par ce gaz.

Notons, également, que l'isobutane<sup>63</sup> est couramment utilisé en ICP sur les composés organiques.

### 2.2.2-Ionisation Chimique Négative (ICN).

L'obtention d'ions négatifs est liée à deux processus distincts. Dans le cas d'une interaction électrons-molécules, l'ionisation chimique a lieu par capture électronique tandis que dans le cas d'une interaction ions-molécules, l'ionisation chimique est produite par des ions réactants.<sup>67,68</sup> Dans ce dernier cas, le processus est analogue à celui de l'ICP. Parmi les gaz réactifs, l'ammoniac est le plus fréquemment utilisé pour la formation des ions quasi moléculaires  $[M-H]^-$ .

### 2.2.3-Applications aux constituants des huiles essentielles.

#### ***Composés hydrocarbonés***

Des alcanes et des alcènes ont été étudiés par Field et *al.*<sup>69,70</sup> en ICP-CH<sub>4</sub>. Les spectres des alcanes sont caractérisés par les ions quasi moléculaires  $[M-H]^+$  abondants (25 à 45%) et une série d'ions alkyles  $[C_nH_{2n+1}]^+$  issus de leur fragmentation. Les spectres des alcènes mono-insaturés se différencient des précédents principalement par deux types d'ions quasi-moléculaires  $[M+H]^+$  et  $[M-H]^+$  et par une série d'ions alkyles et une série d'ions alkényles  $[C_nH_{2n-1}]^+$  issus de leurs fragmentations respectives.<sup>70</sup> L'ICP-CH<sub>4</sub> ne permet pas de préciser la position de la double liaison. Des alcynes, des alcadiènes et des cycloalcènes ont également été étudiés en ICP-CH<sub>4</sub> par Field<sup>70</sup>; leurs spectres présentent les deux types d'ions quasi-moléculaires  $[M+H]^+$  et  $[M-H]^+$  et deux séries d'ions  $[C_nH_{2n-1}]^+$  et  $[C_nH_{2n-3}]^+$  correspondantes. Les ions  $[M-H]^+$  sont particulièrement abondants pour les cycloalcènes alors que pour les alcynes et les alcadiènes, les séries d'ions alkyles et alkényles prédominent. Les cycloalcanes ont été étudiés en ICP-CH<sub>4</sub> par Munson et Field.<sup>71</sup> Leurs spectres se singularisent, dans beaucoup de cas, par des ions quasi moléculaires  $[M+H]^+$  peu abondants (entre 2 et 5%) et  $[M-H]^+$  abondants (entre 25 et 75%).

Les spectres ICP-NH<sub>3</sub> des sesquiterpènes hydrocarbonés<sup>57</sup> contiennent en général trois ions caractéristiques :  $[M+H]^+$  et les adduits  $[M+NH_4]^+$  et  $[M+NH_4.NH_3]^+$ . Les ions  $[M+H]^+$  où  $[M+NH_4]^+$  correspondent souvent aux pics de base des spectres ICP-NH<sub>3</sub>.

Certains composés ne sont pas ionisés en ICP-NH<sub>3</sub>: ar-curcumène, ar-himachalène, cuparène et d'une façon assez générale, les alcanes.<sup>72</sup>

### *Composés oxygénés*

En ICP-CH<sub>4</sub> et en ICP-C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>, les alcools saturés protonés sont instables, la réaction de transfert de proton est suivie d'une fragmentation.<sup>73</sup> Le pic de base correspond à l'ion [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> formé par la perte d'une molécule d'eau à partir de la molécule protonée. Ces alcools se caractérisent également par la perte d'un hydrure pour former les ions [M-H]<sup>+</sup>. Cette abstraction n'est possible que si l'alcool est primaire ou secondaire. Ces ions [M-H]<sup>+</sup> peuvent perdre H<sub>2</sub>O pour former des ions alkényles [ROH-H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>. Ainsi les pics correspondant aux séries d'ions alkyles et alkényles sont observés sur les spectres. D'une manière générale, les spectres ICP-CH<sub>4</sub> des alcools y compris les alcools terpéniques (bornéol, terpinéol, linalol et citronello) contiennent quasi-systématiquement les pics correspondant aux ions [M-H]<sup>+</sup> (4-14%) et [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> (100%).

Les ions [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> sont également présents dans les spectres des aldéhydes et des cétones terpéniques ; ils sont dus à la protonation de l'atome d'oxygène entraînant une rapide fragmentation par perte d'une molécule d'eau.<sup>74,75</sup> Les cétones et les aldéhydes donnent des ions [M+H]<sup>+</sup> en ICP-CH<sub>4</sub>, cet ion correspond au pic de base dans le cas des cétones. Les aldéhydes linéaires, quant à eux, donnent des ions [M+H-H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup> très abondants issus de la fragmentation de la molécule protonée.<sup>76</sup>

Les adduits [M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> et [M+C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> ne sont pas observés en ICP-CH<sub>4</sub> pour les alcools terpéniques.<sup>75</sup> Ainsi, les cétones peuvent être distinguées des alcools homologues par la formation des ions [M+H]<sup>+</sup>, [M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> et [M+C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> en forte abondance. En ICP-CH<sub>4</sub>, les esters linéaires fournissent également des ions [M+H]<sup>+</sup> ainsi que des adduits [M+C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup> et [M+C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>]<sup>+</sup>. La fragmentation préférentielle des ions [M+H]<sup>+</sup> consiste en l'élimination d'une molécule d'acide carboxylique.

Knight *et al.*<sup>77</sup> et Lange *et al.*<sup>78</sup> ont étudié les spectres ICP-NH<sub>3</sub> des alcools et des esters terpéniques. Par réaction d'association, ces composés conduisent aux adduits [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> et [M+NH<sub>4</sub>.NH<sub>3</sub>]<sup>+</sup> en teneurs élevées permettant la détermination de la masse molaire. Les spectres des alcools présentent des pics intenses correspondant

aux ions  $[M+NH_4-H_2O]^+$  et  $[M+NH_4.NH_3-H_2O]^+$ . Le déplacement de  $H_2O$  par réaction avec l'ion  $NH_4^+$  étant aussi observé avec les cétones, les ions  $[M+NH_4-H_2O]^+$  ne sont donc pas spécifiques des alcools.

Bruins<sup>79,80</sup> et plus récemment Paolini,<sup>60</sup> ont observé que le mode ICN-NH<sub>3</sub> permet d'identifier les esters par la présence des ions carboxylates  $[RCOO]^-$  et alcoolates  $[M-RCOO]^-$  spécifiques.

### ***Conclusion***

Les natures des ions produits en CPG/SM-IC et leurs abondances diffèrent en fonction du gaz réactant utilisé mais également en fonction de la nature du composé analysé<sup>81</sup> Sachant cela, on perçoit tout l'intérêt que nous avons à mettre en œuvre la CPG/SM-IC selon plusieurs modes et avec différents gaz réactants pour l'étude d'un composé donné. Les diverses analyses apportent systématiquement des précisions sur la masse de la molécule analysée et souvent, des indications sur la nature du composé. Cependant, de nombreuses études ont mis en évidence l'influence des paramètres expérimentaux, notamment la température et la pression dans la source d'ionisation, sur les résultats d'une analyse en IC.<sup>82</sup> Il convient, donc, d'être prudent, en particulier dans la comparaison de spectres enregistrés dans des conditions expérimentales différentes.

### **3-Les autres techniques de couplage.**

Les nombreuses difficultés liées aux similitudes de spectres rencontrées lors de l'analyse de mélanges complexes selon les différentes techniques et méthodes connues, ont conduit, à la mise au point de la spectrométrie de masse multidimensionnelle à double analyseur<sup>83</sup> (SM/SM) ou à triple analyseur.<sup>84</sup> Cette technique a connu un développement rapide ces dernières années. Le principe consiste à sélectionner un ion issu de la première fragmentation afin de le fragmenter de nouveau. Les fragments de l'ion secondaire constituent alors le deuxième spectre de masse, qui varie selon l'origine de l'ion primaire. Decouzon et *al.*<sup>85</sup> ont montré que ce couplage permettait de différencier les quatre isomères du dihydrocarvéol à partir des fragments caractéristiques induits par la stéréochimie de la molécule (position axiale

ou équatoriale des groupements hydroxyle et méthyle) alors que cela n'est pas possible en ICN simple.

Le couplage en ligne de la CPG et de la spectroscopie infrarouge par transformée de Fourier (CPG/IRTF) est une technique particulièrement intéressante pour différencier deux composés ayant des fonctions différentes mais des spectres de masse semblables.<sup>86</sup> A titre d'exemple, les quatre isomères du farnésol et ceux du menthol<sup>87</sup> ou encore le nérol et le géraniol<sup>88</sup> sont distingués sur la base de leurs spectres infrarouge alors que leurs spectres de masse sont proches. L'IRTF a aussi montré son efficacité dans l'identification de composés susceptibles de subir des transpositions sous l'effet de l'impact électronique.<sup>89</sup>

Pour éviter réarrangements et dégradations thermiques de molécules lors d'analyses en CPG/SM, le couplage en ligne de la chromatographie liquide haute performance avec la spectrométrie de masse (CLHP/SM) peut être utilisé ponctuellement. La CLHP présente, également, un intérêt lorsqu'elle est utilisée avec une colonne préparative. En effet, Morin et *al.*<sup>90</sup> ont identifié de nombreux composés dans une huile essentielle de verveine en la fractionnant préalablement par CLHP semi-préparative, puis en analysant les fractions obtenues par CPG/SM.

Le développement des techniques chromatographiques multidimensionnelles mixtes HPLC-CPG a permis de réaliser des progrès notables dans le domaine de la séparation des mélanges complexes,<sup>91</sup> notamment les huiles essentielles et les fractions volatiles captées par MEPS. Ainsi, le couplage en ligne CPL-CPG associe la sélectivité de la chromatographie en phase liquide à l'efficacité des colonnes capillaires.<sup>92</sup> Cette méthode est particulièrement bien adaptée à l'analyse des huiles essentielles du genre *Citrus*<sup>93</sup> pour lesquelles les constituants ont été identifiés à l'aide d'un couplage CLHP-CPG.

Enfin, il convient de signaler l'existence d'un couplage direct de la CLHP et de la RMN du proton ; deux méthodes peuvent être utilisées : la première, dite par « flux non continu », consiste à arrêter l'élution quand un constituant est détecté par un détecteur UV. La seconde est dite par « flux continu » ; l'acquisition des données est faite à l'aide d'une sonde où le liquide est en écoulement constant. La présence de solvants protonés dans les échantillons à analyser est un handicap pour ce type de couplage mais cette difficulté est contournée par la mise en œuvre de techniques d'irradiation sélective ou par l'utilisation de solvants deutérés.<sup>94</sup> Cette association est principalement utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour l'étude de mélanges relativement simples, par exemple pour l'identification de métabolites dans les urines<sup>94</sup> et la détection d'impuretés dans certains médicaments.<sup>95</sup> Elle est également utilisée dans l'industrie agroalimentaire, dans l'analyse de polymères et des carburants.<sup>94</sup> En outre, Spring et *al.*<sup>96</sup> ont utilisé ce couplage pour élucider la structure de trois lactones sesquiterpéniques présentes dans un extrait de feuilles de *Zaluzania grayana*.

#### 4-La Résonance Magnétique Nucléaire du carbone-13 (RMN-<sup>13</sup>C).

##### ***RMN des mélanges***

Une alternative aux méthodes d'analyse chromatographiques décrites supra est la RMN du carbone-13 des mélanges, sans individualisation des constituants. Cette technique, initiée par Formáček et Kubeczka,<sup>97</sup> développée par Casanova et *al.*<sup>98-101</sup> offre d'intéressantes potentialités.

Le principe consiste à attribuer les raies de résonance de chacun des carbones de chaque composé à partir du spectre unique du mélange et de les comparer à celles de produits de référence répertoriés dans des bibliothèques.<sup>99,100</sup> Contrairement aux techniques chromatographiques, les constituants ne font pas l'objet d'une individualisation en RMN. Différents aspects sont à considérer, à savoir l'observation et l'individualisation des différentes raies de résonance dans le spectre du mélange et l'attribution de chacune de ces raies à un carbone d'un produit donné permettant son identification.

En regard de la technique de Formáček et Kubeczka, l'avantage de la méthode développée par l'équipe « Chimie et Biomasse » réside dans l'informatisation de la recherche réalisée par un logiciel permettant de comparer le déplacement chimique de chaque carbone dans un spectre expérimental, avec ceux des atomes de carbone de composés purs répertoriés dans la bibliothèque de spectres élaborée au laboratoire à partir d'échantillons authentiques et/ou dans la bibliothèque construite à partir des données décrites dans la littérature. Ainsi, l'informatisation de la recherche permet, en un laps de temps très court, l'édition de toutes les informations nécessaires à la caractérisation des constituants d'un mélange complexe (attribution des raies de résonance, variation des déplacements chimiques, superpositions, intensité des signaux)<sup>101</sup>. La RMN du carbone-13 des mélanges s'est montrée particulièrement utile pour :

- la différenciation et l'identification de molécules structurellement très proches (ie : stéréoisomères) comme le montrent les travaux réalisés sur les isomères du menthol, du dihydrocarvéol et sur leurs acétates<sup>102</sup> ou ceux portant sur les cédrènes et les funébrènes qui ne diffèrent que par la jonction des cycles.<sup>103</sup>

- l'identification des composés qui coéluent en CPG. Par exemple, l'étude par CPG/SM de l'huile essentielle de *Piper betle* du Viêt-Nam<sup>104</sup> pouvait conduire à l'identification du  $\delta$ -cadinol avec une teneur de l'ordre de 20%. L'analyse par RMN du carbone-13 a montré qu'en réalité il s'agissait de  $\tau$ -muurolol et de  $\tau$ -cadinol à une teneur d'environ 10% chacun et qui coéluaient sur la colonne de CPG utilisée.

- l'identification de deux sesquiterpènes furaniques, molécules thermosensibles, dans l'huile essentielle de *Smyrnia olusatrum*<sup>105</sup> a été rendue possible par cette technique ; le furanodiène se réarrange en furanoélémente et cette transposition de Cope se produit principalement dans l'injecteur de la CPG.

Cette méthode trouve ses limites pour les produits présents dans le mélange avec une abondance relative trop faible alors même que l'analyse chromatographique est encore opérante. La complémentarité des deux méthodes a montré son efficacité pour l'analyse d'un grand nombre d'huiles essentielles de plantes aromatiques de Corse *Teucrium polium*,<sup>106</sup> *Doronicum corsicum*,<sup>61</sup> *Thymus herba barona*<sup>107</sup> ou encore

*Stachys glutinosa*<sup>108</sup> mais également pour mettre en évidence la variabilité chimique de plusieurs plantes<sup>109,110</sup> notamment pour un grand nombre de *Citrus*.<sup>111</sup>

### ***RMN structurale***

Parmi toutes ces techniques spectrométriques, la RMN est la technique de choix pour la caractérisation des molécules organiques ; elle permet l'accès à des informations concernant le squelette et la fonctionnalisation des molécules.<sup>112,113</sup>

La RMN bidimensionnelle<sup>114-116</sup> conduit à des spectres de corrélation proton-proton (COSY et NOESY) et proton-carbone (HSQC et HMBC) et permet de mettre en évidence des interactions (directes et indirectes) entre les noyaux. Elle fournit des renseignements très précis sur la structure moléculaire. La séquence HSQC permet de savoir à quel carbone est lié chaque proton (couplage  $^1J_{CH}$ ). Les séquences COSY ( $^3J_{HH}$ ) et HMBC ( $^2J_{CH}$ - $^4J_{CH}$ ) autorisent la construction du squelette de la molécule. La séquence NOESY peut fournir de nombreuses informations sur l'orientation spatiale des protons et donc sur la stéréochimie de la structure.

Enfin, les spectres de corrélation carbone-carbone (INADEQUATE :  $^1J_{CC}$ ) permettent de construire pas à pas le squelette carboné de la molécule. Cependant, leurs enregistrements nécessitent une importante quantité de produit, ce qui limite l'utilisation de cette technique.

## IV- METHODOLOGIE D'IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS VOLATILS D'UN MELANGE COMPLEXE

### *Analyse des huiles essentielles et des composés volatils captés par MEPS*

L'identification des constituants d'une huile essentielle ou d'une fraction volatile est une opération nécessitant l'utilisation, l'adaptation et l'optimisation des techniques d'analyse, ainsi que la mise en œuvre d'une méthodologie d'analyse rigoureuse.

La méthodologie d'analyse du laboratoire est basée sur l'utilisation conjointe de la CPG-DIF et de la CPG/SM.

L'huile essentielle ou la fraction volatile est analysée par CPG-Ir d'une part, et par CPG/SM-IE, d'autre part (figure 1). Le calcul des indices de rétention sur colonne polaire et apolaire ainsi que la quantification des composés s'effectuent par CPG-DIF. L'analyse par CPG/SM permet d'obtenir les spectres de masse des divers constituants individualisés qui sont ensuite comparés à ceux répertoriés dans des bibliothèques, l'une élaborée au laboratoire : bibliothèque « Arômes » et les autres, commerciales, en éditions traditionnelles ou informatisées [König-Joulain,<sup>37,38</sup> Wiley,<sup>53</sup> Adams,<sup>54</sup> Nist<sup>52</sup>]. Chaque proposition du logiciel de comparaison des spectres de masse est assortie d'une note de concordance qui reflète la validité de la structure proposée. Si la note de concordance est correcte, on compare les indices de rétention du constituant proposé à ceux présents dans la bibliothèque élaborée au laboratoire, ou dans des bibliothèques commerciales [Joulain,<sup>37,38</sup> NIST<sup>117</sup>], ou répertoriés dans la littérature. Toutefois, on ne se limite pas simplement à la note de concordance ; on procède systématiquement à l'examen du spectre de masse du composé recherché afin d'en tirer les principales informations : masse de l'ion moléculaire et fragmentations caractéristiques. A ce stade, trois cas peuvent se présenter (**figure I.1** et **figure I.2**) :

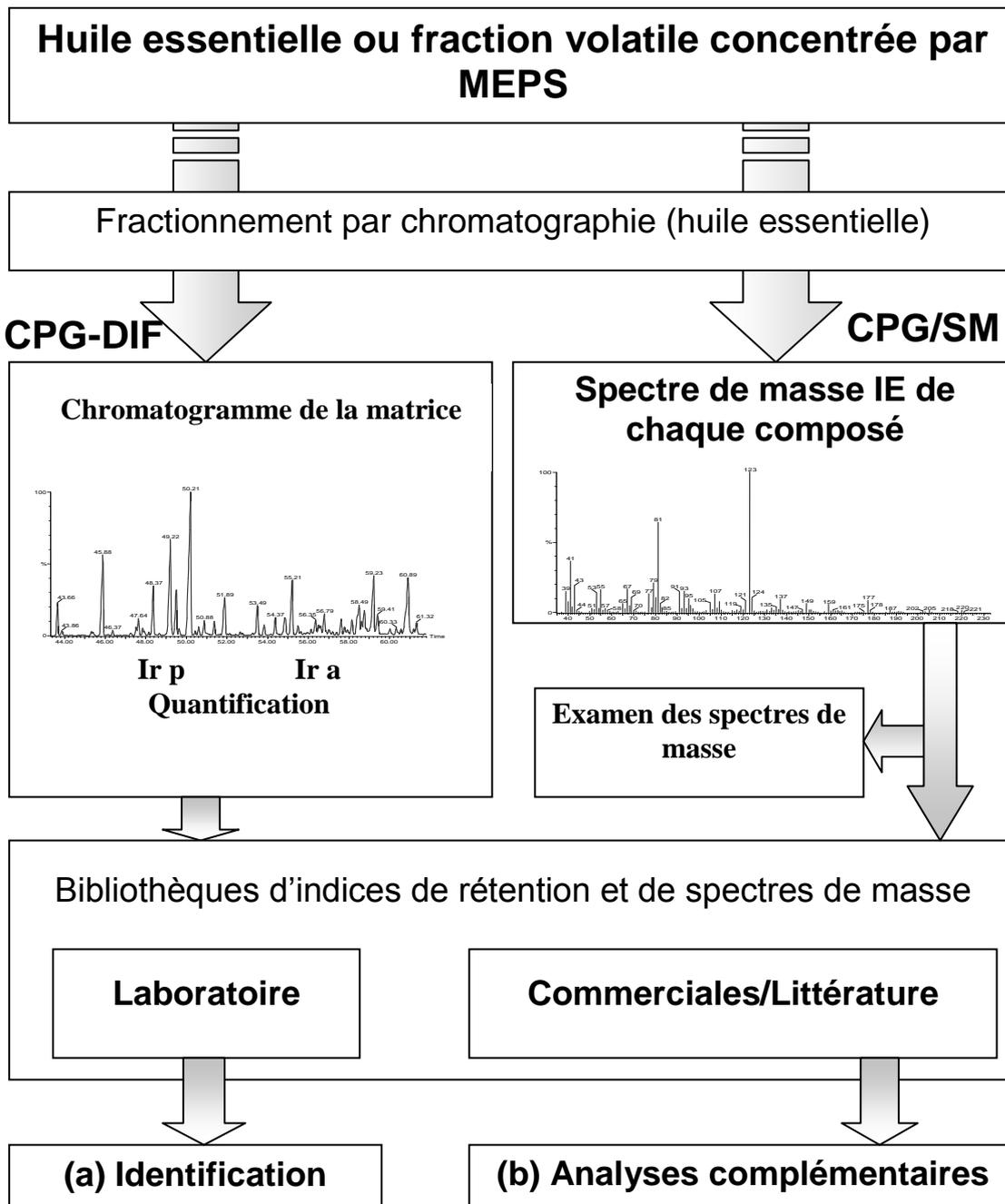
(a), le spectre de masse du constituant individualisé et ses indices de rétention coïncident à ceux d'un composé présent dans la bibliothèque élaborée au laboratoire. L'identification du constituant est réalisée sans ambiguïté de façon suffisamment fiable pour rendre inutile toute autre opération.

(b), les données spectrales et les indices de rétention du constituant ne correspondent à ceux d'aucun composé de la bibliothèque « Arômes » mais correspondent à celles d'un composé présent dans les bibliothèques commerciales (ou dans la littérature). Dans ce cas, par l'étude des fragmentations principales, nous vérifions si le spectre de masse du produit proposé est bien en accord avec la structure de ce dernier. Cette approche mécanistique peut être complétée, lorsque cela s'avère possible, soit par une hémisynthèse suivie de l'exploitation de l'analyse du composé synthétisé, soit par une analyse par RMN du carbone 13.

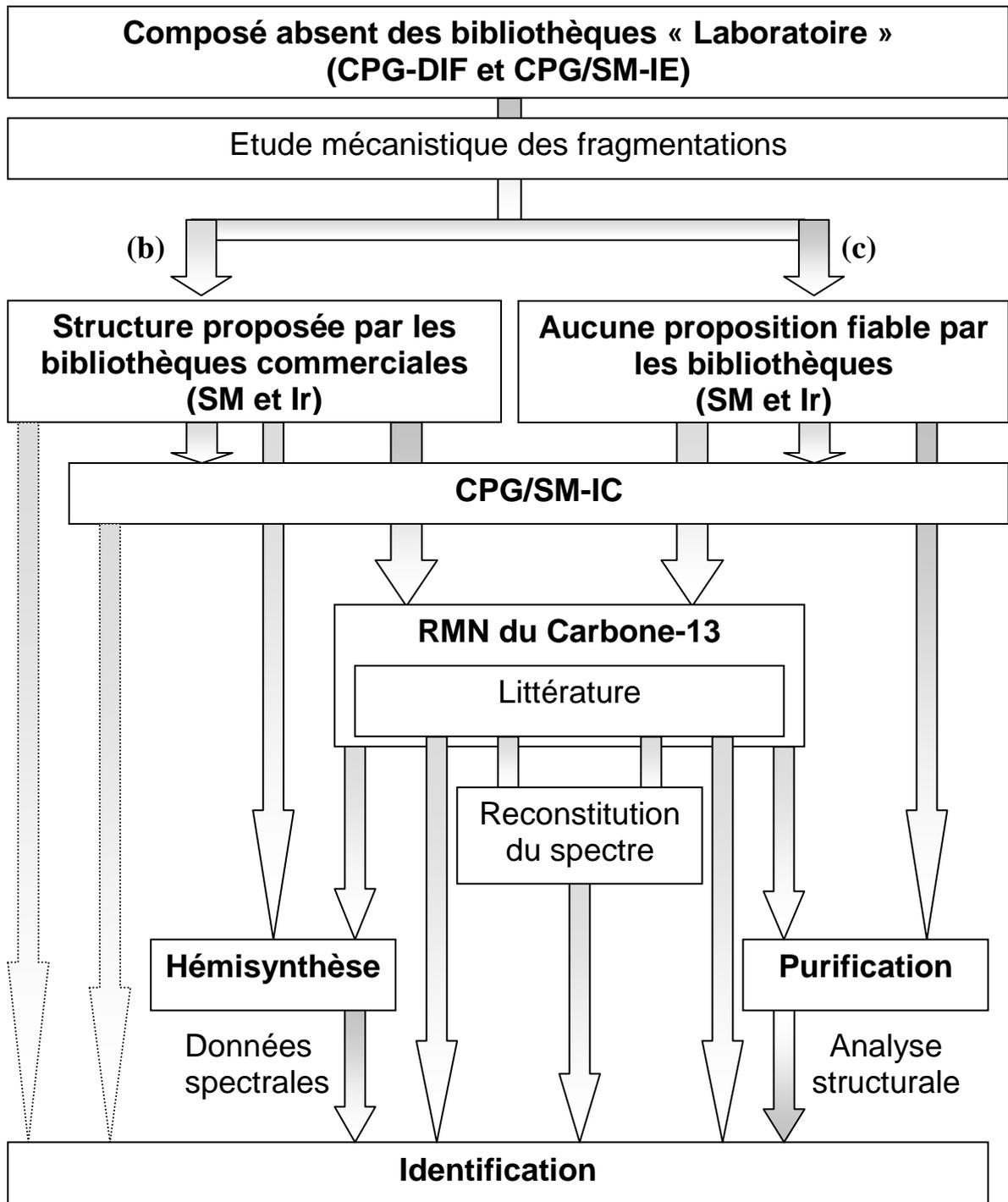
(c), aucune proposition fiable de structure n'est faite par aucune des bibliothèques. Dans le cas d'une huile essentielle, il convient de fractionner afin d'obtenir le composé aussi pur que possible dans une fraction afin de la soumettre à l'analyse structurale par RMN.

La technique de l'IC apparaît également comme une source complémentaire de renseignements dans les cas **b** et **c**. Selon la littérature et ainsi que nos propres travaux l'établissent, cette complémentarité peut être mise à profit pour obtenir une information plus fiable sur plusieurs points :

- la détermination de la masse moléculaire si le pic moléculaire n'est pas observable sur le spectre de masse en mode IE ;
- l'identification des groupes fonctionnels présents dans la molécule, basée sur les fragmentations caractéristiques des différentes familles de composés ;
- la stéréochimie des composés à partir des intensités relatives de certains pics caractéristiques.



**Figure I.1** : Identification des constituants d'une huile essentielle et d'une fraction volatile concentrée par MEPS, par combinaison des techniques de CPG et de CPG/SM.



**Figure I.2 :** Méthodes d'analyses complémentaires des constituants d'une huile essentielle.

## V- OUTILS STATISTIQUES

Les travaux de recherche actuels sur les compositions chimiques d'huiles essentielles et des fractions volatiles pré-concentrées par MEPS, intègrent de plus en plus des variations de composition chimique induites par les critères environnementaux (origine des végétaux), physiologiques (stade végétatif de la plante) ou encore génétiques. Pour étudier la variabilité chimique de l'huile essentielle ou de la fraction volatile d'une plante en fonction du lieu de récolte, il est préférable d'effectuer un traitement statistique de la matrice constituée par la composition chimique. Pour cela, les deux outils les plus fréquemment utilisés sont l'analyse en composante principale (ACP) et la classification ascendante hiérarchique (CAH).<sup>118</sup> Ces deux outils permettent d'avoir une vision synthétique, des similitudes ou des différences au sein d'un ensemble d'échantillons. Sans entrer dans les théories régissant les statistiques, nous allons montrer le parti que le chimiste peut en tirer.

### 1-Analyse en Composante Principale (ACP).

L'ACP est un outil permettant de convertir un nuage de points d'un espace multivarié en un nuage de points dans un espace à 2 dimensions. Les points et les différentes variables de cet espace sont projetés selon les 2 axes perpendiculaires, les plus représentatifs de l'ensemble du nuage.<sup>118</sup> Concrètement, dans notre domaine d'étude, les variables sont généralement les constituants du mélange tandis que les points sont les diverses stations de récolte.

### 2-Classification Ascendante Hiérarchique (CAH).

La CAH est une méthode d'agglomération de différents points dans un espace varié. On établit tout d'abord la dissimilarité entre chaque point via des calculs de distance, ensuite, le système choisi agglomère les points entre eux de façon itérative et abouti à la formation de plusieurs groupes. Les agglomérations successives sont représentées sous forme d'arborescence sur le dendrogramme issu de la CAH. Ceci permet ainsi de regrouper les échantillons selon plusieurs groupes, en fonction de l'importance, de la dissimilarité entre chaque rameau de l'arbre.<sup>118</sup>

L'utilisateur doit faire preuve de prudence dans les conclusions tirées des représentations issues de son échantillonnage géographique. Dans une ACP, il est important que les deux axes choisis aient un pourcentage de représentation suffisamment élevé pour que l'ACP soit jugée pertinente. Si le pourcentage est trop faible, les conclusions qui découlent de la représentation sont erronées. De même, la CAH, bien que permettant d'établir différents groupes, ne fournit strictement aucune information concernant les affinités de ces groupes avec les diverses variables utilisées.

Dans notre cas, nous avons systématiquement établi les groupes les plus représentatifs en CAH et confirmé ces groupes en ACP. Une fois les groupes et leur composition fixés, les affinités de chaque groupe avec les composés discriminants ont été déterminées par l'ACP. *In fine*, et selon la classification ainsi faite, chaque échantillon a été confronté aux données de la matrice afin d'éviter les aberrations toujours possibles en ACP.

## **VI- ACTIVITES BIOLOGIQUES**

L'étude des activités biologiques des huiles essentielles est l'un des principaux moyens de valoriser commercialement ces dernières ou d'expliquer son utilisation en médecine traditionnelle. Les activités biologiques les plus couramment observées sont les activités antibiotiques et antifongiques. Les deux méthodes les plus usitées pour les évaluer sont celle de la diffusion sur gel et celle de la dilution en milieu liquide.<sup>119</sup>

### 1-Méthode de diffusion sur gel.

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

Pour les tests standards, on considère qu'une huile essentielle, fraction ou molécule est active pour une souche donnée si le diamètre d'inhibition est supérieur ou égal à 15 mm.<sup>120</sup>

Cette technique est la plus couramment utilisée dans le domaine de recherche des huiles essentielles, elle présente l'avantage d'être rapide, d'une grande simplicité à mettre en œuvre et de nécessiter qu'une faible quantité de matrice. S'agissant des inconvénients, une huile très visqueuse, voire une huile qui cristallise, aura un diamètre d'inhibition faible ou nul même si elle est fortement bactéricide. Cela est dû, dans ces cas à un problème de diffusion sur le gel.

## 2-Méthode de dilution en milieu liquide.

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

Pour les tests standards, on considère qu'une huile essentielle, fraction ou molécule est active pour une souche donnée pour une CMI inférieure à 1000 µg/ml.<sup>120</sup>

Cette technique, complémentaire de la méthode de diffusion, donne directement la CMI mais, par rapport à la méthode précédente, présente l'inconvénient d'être grande consommatrice en temps d'expérience et en quantité de matrice nécessaire.

## **B - ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE *CHAMAEMELUM MIXTUM*, *ANTHEMIS MARITIMA* ET *ERYNGIUM MARITIMUM***

Cette partie est consacrée à l'étude bibliographique des trois plantes étudiées : *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum* ainsi qu'à leur genre d'appartenance respectif.

I-ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE DEUX ASTERACEAE DU LITTORAL CORSO SARDE : *CHAMAEMELUM MIXTUM* ET *ANTHEMIS MARITIMA* ET DES COMPOSES CHIMIQUES PRESENTS DANS LES GENRES *CHAMAEMELUM* ET *ANTHEMIS*.

*Chamaemelum mixtum* et *Anthemis maritima* appartiennent à la famille des Astéracées et à la tribu des Anthemidées. Dans ce paragraphe, nous procéderons à leur description botanique et nous nous intéresserons aux composés chimiques présents dans les genres correspondants.

La famille des Astéracées (synonyme : Composées) est une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend 1 500 genres et près de 13 000 espèces. Ce sont essentiellement des plantes herbacées même s'il peut exister des arbres, des arbustes ou des lianes dans cette famille qui est présente sur la quasi-totalité des zones tempérées du globe. Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelée un involucre.<sup>121</sup>

La tribu des Anthemidées, subdivision de la famille des Astéracées, comprend, une centaine de genres et plus de 1200 espèces réparties dans toutes les zones tempérées du globe.

## 1-*Chamaemelum mixtum* et le genre *Chamaemelum*.

### 1.1-Description botanique.

Le genre *Chamaemelum* est proche du genre *Anthemis* duquel il se différencie par les fleurs à corolle enveloppant l'apex de l'akène. Il comporte seulement deux espèces: *Chamaemelum mixtum* dont le croquis est reporté dans la **figure I.3** et *Chamaemelum fuscatum*.<sup>122</sup> Cette dernière est rare en Corse.



**Figure I.3** : Croquis botanique de *Chamaemelum mixtum*.<sup>122</sup>

*Chamaemelum mixtum* anciennement appelée *Ormenis mixta*, *Anthemis mixta* ou encore *Cladanthus mixtus* (ces changements découlent des nouvelles classifications génétiques) est une espèce odorante à tiges longues de 10 à 40 cm. On la rencontre sur terrains siliceux, surtout dans l'Ouest et le Midi de la France. Ses capitules, dont les fleurs en languette sont blanches et jaunes à la base, se développent depuis le mois de juin jusqu'au mois de septembre. Les feuilles sont généralement une fois divisées, plus rarement deux fois, et leurs divisions, entières ou dentées sont un peu épaisses et terminées en pointe. L'involucre est composé de bractées largement membraneuses et restant appliquées sous le capitule fructifère. Les fleurs jaunes de la partie centrale se

prolongent à la base en une sorte de coiffe qui recouvre le sommet de l'ovaire adhérent, cette coiffe se prolonge d'un côté en petit appendice. Les bractées en forme de paillettes, situées entre les fleurs, sont ovales-allongées, aiguës, pliées dans leur longueur et velues à leur sommet. C'est une plante annuelle, souvent rougeâtre, couverte de petits poils, à tiges fleuries dressées ou redressées, à racine principale développée.<sup>122</sup> *C. mixtum* est une plante cultivée au Maroc pour le commerce de son huile essentielle qui posséderait des propriétés anxiolytiques, aphrodisiaques et antibactériennes d'où son surnom parfois de « Camomille marocaine ».<sup>123</sup>

En Corse, cette plante pousse essentiellement dans les arrières dunes et autres terrains situés à moins d'un kilomètre des littoraux sablonneux de la Plaine orientale et de la région Bastiaise. On la trouve également sur certaines arrières plages de la côte occidentale dans les régions de Calvi et Ajaccio notamment.<sup>122</sup>

## 1.2-Compositions chimiques des extraits et huiles essentielles des espèces du genre *Chamaemelum*.

Si nous avons dénombré une dizaine de publications relatives aux extraits du genre, pour ce qui est des huiles essentielles, nous n'avons trouvé dans la littérature que trois publications<sup>123-125</sup> traitant de *Chamaemelum mixtum* du Maroc.

### 1.2.1-Les constituants de l'huile essentielle de *Chamaemelum mixtum*.

Ces publications<sup>123-125</sup> décrivent la composition chimique des huiles essentielles de *Chamaemelum mixtum* du Maroc. Le santolina alcool (27,9-32,0%), l' $\alpha$ -pinène (3,6-15,0 %), le germacrène D (3,3-10,2 %), le yomogi alcool (2,8-4,5 %) et le (*E*)- $\beta$ -farnésène (2,5-4,5 %) en sont les composés majoritaires. L'*épi*- $\alpha$ -cadinol (4,4 %), l' $\alpha$ -cadinol (3,8 %) et l'artémisia alcool (3,6 %) d'un côté, la camphénilone (4,8 %) et le cubénoïl (3,2 %) de l'autre ont également été identifiés comme composés majoritaires respectivement dans les articles de Zrira *et al.*<sup>123</sup> et Satrani *et al.*<sup>124</sup>

On note ici, la présence de 3 monoterpènes irréguliers : santolina alcool (connu pour son pouvoir attractif sur les abeilles et pour favoriser la pollinisation), le yomogi alcool et l'artémisia alcool, composés souvent retrouvés dans les huiles essentielles de plantes de la famille des Astéracées. Ces molécules sont représentées à la **figure I.3**.

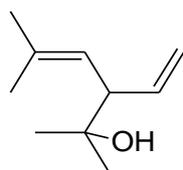
L'activité biologique de l'huile essentielle de *C. mixtum* du Maroc étudiée par Satrani *et al.*<sup>124</sup> met en exergue une activité contre les bactéries *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus* et les mycoses *Penicillium parasiticus*, *Aspergillus niger* et *Trametes pini*.

L'activité anti corrosive de l'huile essentielle de *Chamaemelum mixtum* sur l'acier se révèle faible.<sup>126</sup>

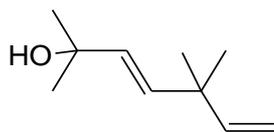
#### 1.2.2- Les constituants des extraits des espèces du genre *Chamaemelum*.

Une publication sur les extraits des parties aériennes de *Chamaemelum mixtum* obtenus à l'aide d'un mélange hexane / diéthyl oxyde / méthanol<sup>127</sup> recense la présence de deux nouvelles coumarines : la corfine et la 3'-hydroxycorfine et évaluent leur activité antifongique. Seule la première molécule est jugée efficace avec un diamètre d'inhibition élevé et une faible CMI. Ces molécules sont également représentées à la **figure I.4**.

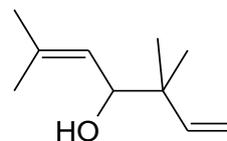
De Pascual Teresa *et al.* ont cosigné trois publications,<sup>128-130</sup> décrivant la composition des extraits des parties aériennes de *Chamaemelum fuscatum*. Dans l'extrait à l'hexane des parties aériennes de la plante, les auteurs ont identifié par CPG, CPG-SM, IRFT et RMN du proton, 5 nouveaux esters naturels dont 4 linéaires. Les analyses par CPG, CPG-SM et IRTF de l'extrait au chloroforme des parties aériennes de la plante ont permis d'identifier 3 sesquiterpènes de type eudesmane connus ainsi que 10 nouveaux eudesmanolides caractérisés par RMN du proton et du carbone-13. Les extraits de racines de *C. fuscatum* ont été analysés par Bohlmann *et al.*<sup>131-134</sup> au début des années 70 qui ont mis en évidence la présence de 5 nouvelles molécules de la famille des polyines identifiées par RMN du proton et IRTF.



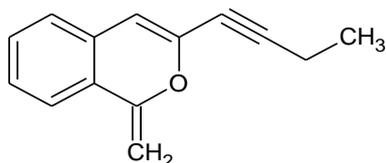
Santolina alcool



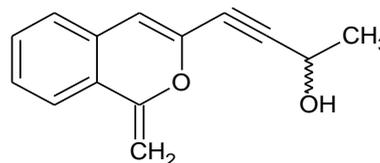
Yomogi alcool



Artemisia alcool



Corfine



3' Hydroxycorfine

**Figure I.4** : Exemples de molécules présentes dans les huiles essentielles ou dans les extraits de *C. mixtum*.

### 2-Anthemis maritima et le genre Anthemis.

Le genre *Anthemis* englobe environ 130 espèces répandues en Europe de l'Ouest, en Asie du Sud-ouest, sur le pourtour méditerranéen et plus rarement en Afrique du Sud. Dans nos contrées, elles sont communément appelées camomilles. Leurs habitats variés vont du bord de mer sur sol sablonneux et alcalin à l'étage montagnard en milieu rocaillieux, en passant par les champs et les bords de rivières.<sup>135</sup>

*A. tinctoria* (la camomille des teinturiers) et *A. nobilis* (la camomille romaine) sont les deux principales espèces cultivées. La première espèce est prisée pour ses qualités ornementales, elle comporte de nombreuses sous-espèces aux couleurs de fleurs différentes. Pour son odeur agréable, l'huile essentielle d'*A. nobilis* entre dans la composition de savons et shampoings, elle est également l'une des plantes médicinales les plus cultivées en France. Depuis l'antiquité elle est utilisée en médecine traditionnelle pour ses nombreuses activités biologiques : antifongique, antiseptique, diurétique, sédative et anti-inflammatoire.<sup>136</sup>

Parmi les espèces poussant à l'état sauvage dans nos contrées, nous pouvons citer *A. arvensis* (camomille des champs), *A. altissima* (camomille géante), *A. cotula* (camomille puante) qui est utilisée traditionnellement sous forme d'infusion comme anti-spasmodique et *A. maritima*, abondante sur le littoral de la méditerranée

(notamment sur la côte orientale de la Corse) dont le croquis est reporté dans la **figure I.5**.

### 2.1- Description botanique.

Les plantes du genre *Anthemis* ont des capitules à fleurs de deux sortes, celles du pourtour en languettes blanches, les autres en tube et jaunes. Les premières sont pistillées ou plus rarement stériles ; les secondes sont stamino-pistillées. Le réceptacle commun devient allongé et conique après la floraison et présente des bractées en forme de paillette, situées entre les fleurs. L'involucre est composé de bractées se recouvrant en partie les unes sur les autres, sa forme générale étant celle d'une demi-sphère. Les fruits, plus longs que larges, sont pourvus de côtes, au moins du côté intérieur ; ils sont dépourvus d'aigrette. Dans les capitules fructifères, les fleurs en tube passées forment par leur ensemble une masse très bombée, et les fleurs en languette persistante deviennent plus ou moins renversées. Les plantes de ce genre se présentent sous la forme d'herbes ou d'arbustes nains à feuilles alternes et très divisées<sup>121</sup>.



**Figure I.5** : Croquis botanique d'*Anthemis maritima*<sup>122</sup>

Les tiges d'*A. maritima* mesurent de 10 à 25 cm de longueur, sont étalées, couchées sur le sol ou redressées. Les capitules, à fleurs en languette blanches, s'épanouissent depuis le mois de mai jusqu'au mois d'août. Les feuilles épaisses ou même un peu charnues sont ponctuées de petits creux à leur face supérieure ; les feuilles moyennes, une fois profondément divisées, ont leurs divisions les plus larges de 2 à 4 millimètres de largeur ; ces divisions sont généralement obtuses à leur sommet. L'involucre est composé de bractées inégales, membraneuses sur les bords et à parties supérieures, non élargies à leur sommet. Les fleurs jaunes de la partie centrale des capitules ont le tube dilaté à la base. Les fruits sont surmontés d'une couronne membraneuse aiguë. L'espèce est vivace. Ce sont des plantes à tiges rameuses, plus ou moins étalées, peu ou pas velues, à racine principale développée.<sup>122</sup>

## 2.2-Compositions chimiques des extraits et huiles essentielles des espèces du genre *Anthemis*.

Nous avons recensé près de 70 publications traitant de la composition chimique des huiles essentielles et des extraits de plantes du genre *Anthemis* et de leurs activités biologiques. Une seule d'entre elle concerne les extraits d'*A. maritima*.

### 2.2.1-Les constituants des huiles essentielles des espèces du genre *Anthemis*.

A notre connaissance il y a dans la littérature une vingtaine de publications rapportant les travaux sur les huiles essentielles des parties aériennes de 17 espèces et sous espèces de plantes du genre *Anthemis*. Aucune ne concerne *A. maritima*. Le **tableau I.1** recense les composés majoritaires présents dans ces huiles essentielles.<sup>137-</sup>  
<sup>148</sup> Certains de ces composés sont représentés dans la **figure I.6** en fin de partie.

De l'analyse de ce tableau, il ressort une large prédominance des composés oxygénés. Il est à remarquer que le composé majoritaire de 16 échantillons sur les 22 décrits dans la littérature est un composé oxygéné. Parmi les monoterpènes oxygénés, on relève sept alcools, trois acétates, deux cétones, un aldéhyde et un oxyde. Les sesquiterpènes oxygénés sont représentés principalement par trois alcools cycliques, le spathulénol, étant le plus fréquemment trouvé. Les autres composés oxygénés majoritaires sont deux acides linéaires dont l'acide palmitique, des esters insaturés et

ramifiés comme l'angélate d'isobutyle, deux alcools benzyliques et le benzaldéhyde. En ce qui concerne les squelettes, ils peuvent être linéaires tels le linalol, l'acétate de linalyle et le santolinatriène (monoterpène irrégulier), cyclique comme le terpinéol-4, ou encore bicycliques ( $\alpha$ - et  $\beta$ -thujone, bornéol et acétate de chrysanthényle) et tricycliques (1,8-cinéole). Dans les six autres échantillons décrits dans la littérature, le composé principal est un terpène hydrocarboné tel le santolinatrène, le para-cymène, le germacrène D ou le *trans*-caryophyllène.

Les huiles essentielles d'*A. melampodina* d'Égypte,<sup>138</sup> d'*A. nobilis* d'Italie<sup>144</sup> et l'échantillon d'*A. melanolepsis* de Grèce<sup>141</sup> semblent se distinguer des autres par la présence de molécules non terpéniques parmi les composés principaux. Les huiles essentielles d'*A. warneri*<sup>141</sup> et *A. ruthenica*<sup>147</sup> est la seule à avoir un diterpène pour composé majoritaire: le 13,14-labdiène-8-ol (5,4-12 %). L'acétate de *cis*-chrysanthényle est prépondérant dans les échantillons d'huiles essentielles de *A. chia* 2 (42%) et *A. chia* 3 (55%), mais n'est pas cité dans les huiles essentielles des autres plantes du genre, bien que cette molécule soit couramment trouvée dans les huiles essentielles d'Astéracées.<sup>135</sup>

Au regard des travaux publiés, on peut conclure à une variabilité interspécifique dans le genre mais également à l'existence d'une variabilité intraspécifique des huiles essentielles. On observe que les résultats varient grandement en fonction de la localisation géographique de l'échantillon. A cet égard, la composition chimique de l'huile essentielle d'*A. nobilis* est assez particulière, en effet, elle contient une forte proportion d'esters non terpéniques, des angélates de 2-méthylbutyle, d'isobutyle et d'isoamyle.<sup>144</sup> Cette composition spécifique des camomilles romaines cultivées en Europe, ne se retrouve pas forcément dans celles poussant sous d'autres latitudes. Contrairement à ceux d'Italie les échantillons *A. nobilis* du Brésil ne contiennent aucun ester angélique,<sup>148</sup> mais sont caractérisés par la présence de 1,8-cinéole (14%). De même, les compositions chimiques des huiles essentielles d'*A. altissima* de Grèce<sup>141</sup> et d'Iran,<sup>145</sup> sont très différentes, les composés majoritaires sont le thujadiène (27%) en Grèce, le *trans*-caryophyllène (25%) et le germacrène D (7%) en Iran.





L'étude menée sur les échantillons d'*A. chia* originaire de Grèce met également en évidence les nombreuses variations que l'on peut trouver au sein des huiles essentielles d'une même espèce.<sup>141</sup> Alors que *A. chia* 1, renferme 3 % d'esters monoterpéniques, les deux autres (*A. chia* 2 et *A. chia* 3) en contiennent plus de 42%. Le composé majoritaire est l'acétate de *cis*-chrysanthényle pour les deux premiers (41,0% et 50,0%) tandis que celui du troisième est le *trans*-caryophyllène (7,5%). Enfin, les huiles essentielles des deux échantillons d'*A. melanolepsis* provenant de deux stations de Crète situées à des altitudes différentes (50 et 500 mètres), présentent des compositions dissemblables. Les composés majoritaires sont l'alcool benzylique (26,9%) et le benzaldéhyde (13,8%) pour le premier alors que l'alcool *p*-méthylbenzylique (33,6%) suivi du *trans*-verbénol (9,9%) prédominent dans le second. L'activité antibactérienne des huiles essentielles de certaines espèces du genre *Anthemis* a été étudiée.<sup>137,148,149</sup> Par exemple, l'huile essentielle d'*A. xylopoda* a montré une activité sur plusieurs bactéries, notamment sur *S. aureus*. L'huile essentielle d'*A. melampodina* est connue pour son effet larvicide.<sup>138</sup> Enfin, l'huile essentielle d'*A. nobilis* possède un effet sédatif<sup>135</sup> et potentiellement anti-spasmodique.<sup>150</sup>

### 2.2.2-Les constituants des extraits des espèces du genre *Anthemis*.

Une cinquantaine d'articles décrivent la composition des extraits aux solvants des plantes du genre *Anthemis*. Nous avons représenté certains composés représentatifs des squelettes les plus fréquemment rencontrés, dans les huiles essentielles ou les extraits du genre *Anthemis* sur la **figure I.6** en fin de partie.

Une seule publication traite d'extraits préparés à partir d'*A. maritima*.<sup>151</sup> Elle décrit l'identification de 3 nouvelles molécules naturelles de type anthémionone A, B et C décrites par RMN du carbone-13 et du proton dans l'extrait à l'acétate d'éthyle. Ces trois molécules ont une activité anti-tumorale sur plusieurs souches de cellules cancéreuses. En outre, il est également fait mention de 4 autres molécules connues, extraites à l'éther de pétrole : trois flavonoïdes (salvigenine, cirsimaritrine et eupatiline) et un triglycéride (*2-trans,trans*-sorbo-1,3-dimyristine).

Les composés chimiques des extraits des autres espèces du genre *Anthemis*, sont répartis dans deux familles chimiques : les polyphénols et les lactones sesquiterpéniques.

### ***Composés phénoliques : flavonoïdes, coumarines et acides phénoliques.***

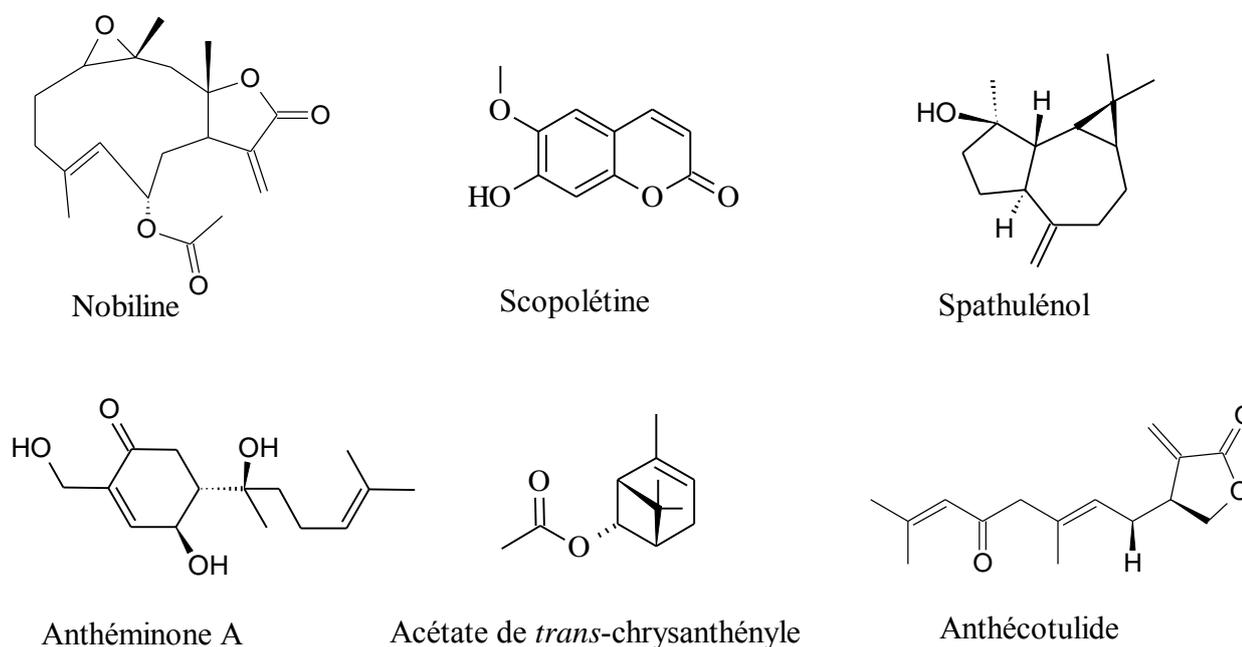
Les flavonoïdes ont en commun une structure benzo- $\gamma$ -pyrone. Ils constituent une classe de composés dont l'activité biologique a été abondamment étudiée<sup>152</sup> et sont présents dans les végétaux de la tribu des *Anthemideae*, plus particulièrement du genre *Anthemis*.<sup>153</sup> Ces molécules sont capables de moduler l'activité enzymatique et d'affecter le comportement de systèmes cellulaires en raison de leurs activités anticancéreuse, anti-allergène, antispasmodique, anti-inflammatoire ou encore bactéricide.<sup>152,154,155</sup> Par exemple, l'extrait d'*A. cotula* qui contient des flavones, flavonols aglycones et flavonols glucosides, manifeste une forte activité contre *S. epidermis* et *E. coli*.<sup>156</sup> L'extrait d'*A. nobilis* possède des propriétés antispasmodiques et anti-inflammatoires dues, entre autre, à la présence d'apigénine et de quercétine qui sont probablement les flavonoïdes les plus connus et les plus utilisés.<sup>154</sup>

Les coumarines (structure benzo- $\alpha$ -pyrone) sont également présentes dans les extraits des plantes du genre *Anthemis* comme, par exemple, la scopoletine dans les extraits d'*A. pseudocotula*.<sup>152</sup> Enfin signalons la présence de deux acides phénoliques dans les extraits d'*A. nobilis*<sup>154</sup>: l'acide chlorogénique aux vertus antibactériennes et de l'acide *trans*-caféique, acide connu pour ses propriétés anti-inflammatoires.

### ***Lactones sesquiterpéniques***

Les lactones sesquiterpéniques sont des constituants caractéristiques de la famille des Astéracées. On les trouve principalement dans les parties aériennes des plantes.<sup>154</sup> Dans la voie de biosynthèse, toutes ces lactones sesquiterpéniques ont pour précurseur le pyrophosphate de *trans*-farnésyle.<sup>157</sup> La littérature récente recense plus d'une centaine de lactones sesquiterpéniques identifiées dans le genre *Anthemis*<sup>158</sup> et qui peuvent être classées en quatre groupes: les germacranolides, les eudesmanolides, les guaïanolides et les mono et di-lactones sesquiterpéniques linéaires. Ces lactones

possèdent une grande diversité structurale qui se traduit par une variation de la nature et de la position de groupements fonctionnels tels époxy, hydroxyle, carboxylate et carbonyle ainsi que par une variation du nombre et la position des insaturations. Elles sont des constituants importants des plantes car elles ont potentiellement une activité antibiotique, fongicide ou anti-tumorale qui seraient dues au groupement fonctionnel  $\gamma$ -lactone.<sup>154,159</sup> Citons par exemple la nobiline extraite d'*A. nobilis* connue pour ses actions cytotoxique et antitumorale ; la pyréthrosine, allergène de contact isolée dans *A. cupiana* ; la tatriline, l'*épi*-tatriline, la deacétyl- $\beta$ -cyclopyréthrosine, la sivosinolide et l'altissine issues des extraits d'*A. altissima* ont montré une activité antimicrobienne contre certaines bactéries, notamment *Helicobacter pylori*, impliquées dans les infections alimentaires.<sup>159</sup> Enfin, nous pouvons citer les activités antiparasitaires et antibactériennes de l'anthécotulide et ses dérivées, issus des extraits d'*A. cotula*<sup>156</sup> et d'*A. auriculata*.<sup>160</sup>



**Figure I.6** : Exemple de molécules présentes dans les huiles essentielles ou les extraits d'espèces du genre *Anthemis*.

## II-ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE D'UNE APIACEE DU LITTORAL CORSO SARDE : *ERYNGIUM MARITIMUM* ET DES COMPOSES CHIMIQUES PRESENTS DANS LE GENRE *ERYNGIUM*.

La famille des Apiacées (synonyme : Ombellifères), est une famille de plantes dicotylédones qui comprend 420 genres et près de 3000 espèces réparties essentiellement dans les régions tempérées du monde. C'est une famille relativement homogène caractérisée, notamment, par son inflorescence typique : l'ombelle. Les espèces les plus connues sont la carotte et la coriandre, certaines sont toxiques telle la grande cigüe.

Certaines espèces du genre *Eryngium* ont un usage commercial. Les graines d'*Eryngium foetidum* sont utilisées comme substitut de la coriandre et servent de condiment.<sup>161</sup> *Eryngium bourgatii* de couleur améthyste, *Eryngium alpinium* variété « Blue star » d'un bleu profond, *Eryngium pandanifolium* pouvant atteindre 3 mètres de hauteur, *Eryngium giganteum* et *Eryngium planum* sont couramment utilisés en tant que plantes d'ornement ou pour la confection de bouquets floraux. Ces espèces sont appréciées pour la vivacité de leurs couleurs bleutées et leur caractère rustique ne nécessitant que peu d'entretien.

Certaines espèces sont utilisées en médecine traditionnelle. Les racines possèdent souvent des propriétés diurétiques, fébrifuges et anti-inflammatoires voire même antidiabétiques pour *E. creticum*.<sup>162-164</sup>

Les racines d'*Eryngium maritimum* sont utilisées traditionnellement sous forme de décoction en qualité de diurétique et fébrifuge.<sup>165</sup> De part le réseau racinaire qu'elle produit, la plante présente un intérêt environnemental majeur car elle contribue à la tenue des dunes sablonneuses,<sup>166</sup> particulièrement sur le littoral breton, aquitain et corse (dune de la plage de l'Ostriconi par exemple).

### 1-Description botanique.

Le genre *Eryngium* (panicaut) se reconnaît aisément aux fleurs qui sont presque groupées en capitules entourées d'un involucre épineux. Le calice porte à son sommet

5 dents très développées, terminées par une fine épine. Les pétales sont échancrés, ovales ou allongés, avec une longue pointe recourbée en dedans, dressés ou plus ou moins rapprochés entre eux par leur partie supérieure. Les styles sont plus ou moins écartés l'un de l'autre, mais non renversés. Le fruit est ovoïde ou presque globuleux, plus ou moins comprimé parallèlement à la cloison, sans côtes apparentes et couvert de petites écailles dressées, se recouvrant les unes les autres de bas en haut. On ne distingue pas les canaux sécréteurs résinifères dans les parois du fruit, car ils y forment un réseau visible seulement au microscope. Ce sont des plantes sans poils, épineuses, à fleurs blanches ou bleues.<sup>121</sup>



**Figure I.7 :** Croquis botanique d'*Eryngium maritimum*.<sup>122</sup>

*Eryngium maritimum*, (**figure I.7**) désignée plus couramment sous le terme de panicaut des mers est une plante glauque, plus ou moins bleuâtre, parfois même d'une teinte bleue vers le haut, très épineuse, de 30 à 60 cm de hauteur, qui croît dans les sables maritimes où elle est souvent abondante. La floraison s'étend depuis le mois de juin jusqu'au mois de septembre. C'est une des espèces les plus caractéristiques des côtes de la Mer du Nord, de la Manche, de l'Atlantique et de la Méditerranée. Les

feuilles sont raides et très coriaces, ondulées sur les bords, à nervures très marquées, à lobes et à dents étalés de tous cotés et terminées par de fortes épines. Les feuilles inférieures ont un pétiole allongé, engainant par sa base, et un limbe dont le contour général est arrondi ou en forme de rein : la gaine qui se trouve à la base des feuilles moyennes n'est pas épineuse. Les fleurs sont groupées en capitules hémisphériques presque globuleux. L'involucre, ordinairement bleuâtre, est formé de 4 à 6 bractées, larges, étalées, très coriaces, à dents ou lobes épineux. Parmi les petites bractées qui sont entre les fleurs, les plus extérieures sont terminées par 3 épines écartées les unes des autres. A la maturité, les 5 dents persistantes du calice sont étalées en étoile au sommet du fruit. Ce fruit est ovoïde et revêtu d'écailles qui sont en pointe à leur sommet. C'est une plante vivace, à tige florifère rameuse dans le haut et dont les rameaux sont très étalés, à tige souterraine ramifiée produisant des rejets. La racine principale est persistante, longue, blanche et épaisse et pénètre profondément dans le sable, ce qui explique son rôle dans la tenue des dunes.

## 2-Compositions chimiques des extraits et huiles essentielles des espèces du genre *Eryngium*.

Le genre *Eryngium* a fait l'objet d'une cinquantaine de publications décrivant les compositions chimiques des huiles essentielles et des extraits d'une vingtaine d'espèces, ainsi que l'activité biologique des extraits. A notre connaissance, les seuls travaux concernant *E. maritimum* ont été rapportés par le biais d'une communication par affiche pour ce qui est de la composition de l'huile essentielle<sup>167</sup> et à travers trois publications sur les extraits et les activités anti-inflammatoires des extraits de tige et de racine, testés sur des rats ou des cellules in vitro.<sup>162,165,168</sup>

### 2.1-Les constituants des huiles essentielles des espèces du genre *Eryngium*.

Nous avons recensé une vingtaine de publications relatives à une quinzaine d'espèces différentes, ainsi que 4 communications par affiche de Kubeczka et coll. présentées à l'International Symposium of Essential Oil (ISEO), dont une seule concernant *E. maritimum*. Nous savons par le biais du résumé du préprogramme que les composés majoritaires de l'huile essentielle d'*E. maritimum* des parties aériennes

étudiée<sup>167</sup> sont le germacrène D (43,1 %- 42,4 %) et un aldéhyde sesquiterpénique : le 9-murolène-15-aldéhyde (22,4 %-16,4 %) qui est présenté comme un nouveau produit naturel. Les composés majoritaires de l'huile essentielle de racines sont : le  $\gamma$ -guaiène (40,2 %), le 2,3,4-triméthylbenzaldéhyde (24,5 %) et le germacrène D (10,6 %).

Six publications<sup>169-174</sup> traitent des huiles essentielles de diverses parties d'*E. foetidum* de différentes régions du monde. Six publications de Pala-Paul et al.<sup>175-180</sup> décrivent les compositions des huiles essentielles des différents organes de huit espèces d'*Eryngium* d'Espagne et d'Australie. Deux publications portent sur les huiles essentielles de diverses parties d'*E. amethystinum* et d'*E. yuccifolium*<sup>181,182</sup> et quatre autres concernent des huiles essentielles de parties aériennes d'*Eryngium* endémiques d'Iran et d'Argentine.<sup>183-186</sup>

Ces travaux montrent que les constituants des huiles essentielles des plantes du genre *Eryngium* se répartissent en deux groupes principaux : les composés non terpéniques oxygénés et les composés terpéniques hydrocarbonés. Les composés présents avec une teneur supérieure à 4% sont reportés dans les **tableaux I.2** et **I.3** (reporté sur deux pages), correspondant respectivement aux groupes précités. Certains de ces composés sont représentés dans la **figure I.8** en fin de partie.

### *Les constituants oxygénés non terpéniques*

Parmi les 37 échantillons décrits dans la littérature les huiles essentielles de 15 d'entre eux possèdent un composé majoritaire oxygéné non terpénique et pour huit de ces échantillons, cette classe de composés représente plus de 50% de la composition totale. Il s'agit souvent d'aldéhydes linéaires comme le (*E*)-2-dodécanal ou d'isomères du triméthylbenzaldéhyde. Nous retrouvons ces types d'aldéhydes dans la plupart des huiles essentielles des diverses parties aériennes d'*E. foetidum*,<sup>169-171,173,174</sup> d'*E. corniculatum*,<sup>175</sup> d'*E. amethystinum*,<sup>176</sup> d'*E. expandum*<sup>176</sup> ainsi que dans l'huile essentielle de racines d'*E. yuccifolium*.<sup>181</sup> D'autres composés oxygénés non terpéniques sont présents dans une moindre mesure dans ce groupe d'échantillons :

- des acides linaires tel l'acide-2-dodécanoïque dans *E. foetidum* du Vietnam.<sup>170</sup>
- des cyclohexadiènes comme le 2-formyl-1,1,5-triméthylcyclo-hexa-2,5-diène-4-ol présent dans les racines d'*E. foetidum* L. de Malaisie.<sup>171</sup>
- des alcools polyinsaturés comme la falcarinol des parties aériennes d'*E. yuccifolium* d'Allemagne.<sup>181</sup>

### ***Les constituants hydrocarbonés terpéniques***

Les huiles essentielles de 22 échantillons ont une composition chimique dont le composé majoritaire est un terpène hydrocarboné. Nous trouvons de façon récurrente des sesquiterpènes hydrocarbonés comme le germacrène D, le bicyclogermacrène ou le *trans*-caryophyllène et dans une moindre mesure le valencène et l' $\alpha$ -muurolène. Nous trouvons, également, des monoterpènes tels l' $\alpha$ -pinène et le terpinolène, ainsi qu'un diterpène : le phyllocladène composé majoritaire des huiles essentielles d'*E. glaciale* (41,0 %-49,0 %)<sup>177</sup> et d'*E. bourgatii* (15,0 %-37,6 %).<sup>178</sup>

### ***Autres constituants***

Les huiles essentielles de certains échantillons ont une composition qui se distingue des deux groupes précédents. Citons les huiles essentielles d'*E. paniculatum*<sup>183</sup> dont la composition chimique est dominée par l'(*E*)-anéthol (52,6 %), d'*E. bungei*<sup>184</sup> dominée par le cuminol (55,3 %) et le carvacrol (8,9 %), d'*E. pandanifolium*<sup>176</sup> riche en acétate de bornyle (20,8 %) et d'*E. rostratum*<sup>176</sup> dominée par le  $\beta$ -bisabolol (65,3 %). L'huile essentielle de graine d'*E. foetidum*<sup>174</sup> a également une composition atypique par rapport aux parties aériennes issues d'*E. foetidum*, en plus de la présence de terpènes hydrocarbonés elle est riche en carotol (19,3 %) et en (*E*)-anéthol (9,4 %).







## 2.2-Les constituants des extraits des espèces du genre *Eryngium*.

Nous avons recensé plus de 20 publications concernant la composition chimique des extraits aux solvants de plantes du genre *Eryngium* ; neuf d'entre elles traitent aussi de leurs activités biologiques.<sup>162-165,168,187-190</sup>

La plupart des extraits biologiquement actifs étudiés renferment des triterpènes saponines, mais le lien de cause à effet n'a pas été établi explicitement sauf pour les propriétés antifongiques. Outre cette classe de composés, on retrouve plus rarement, dans les extraits de plante du genre *Eryngium*, des composés acétyléniques et des composés phénoliques.

Nous avons représenté certains composés représentatifs des squelettes les plus fréquemment rencontrés, dans les huiles essentielles ou les extraits du genre *Eryngium* sur la **figure I.8** en fin de partie.

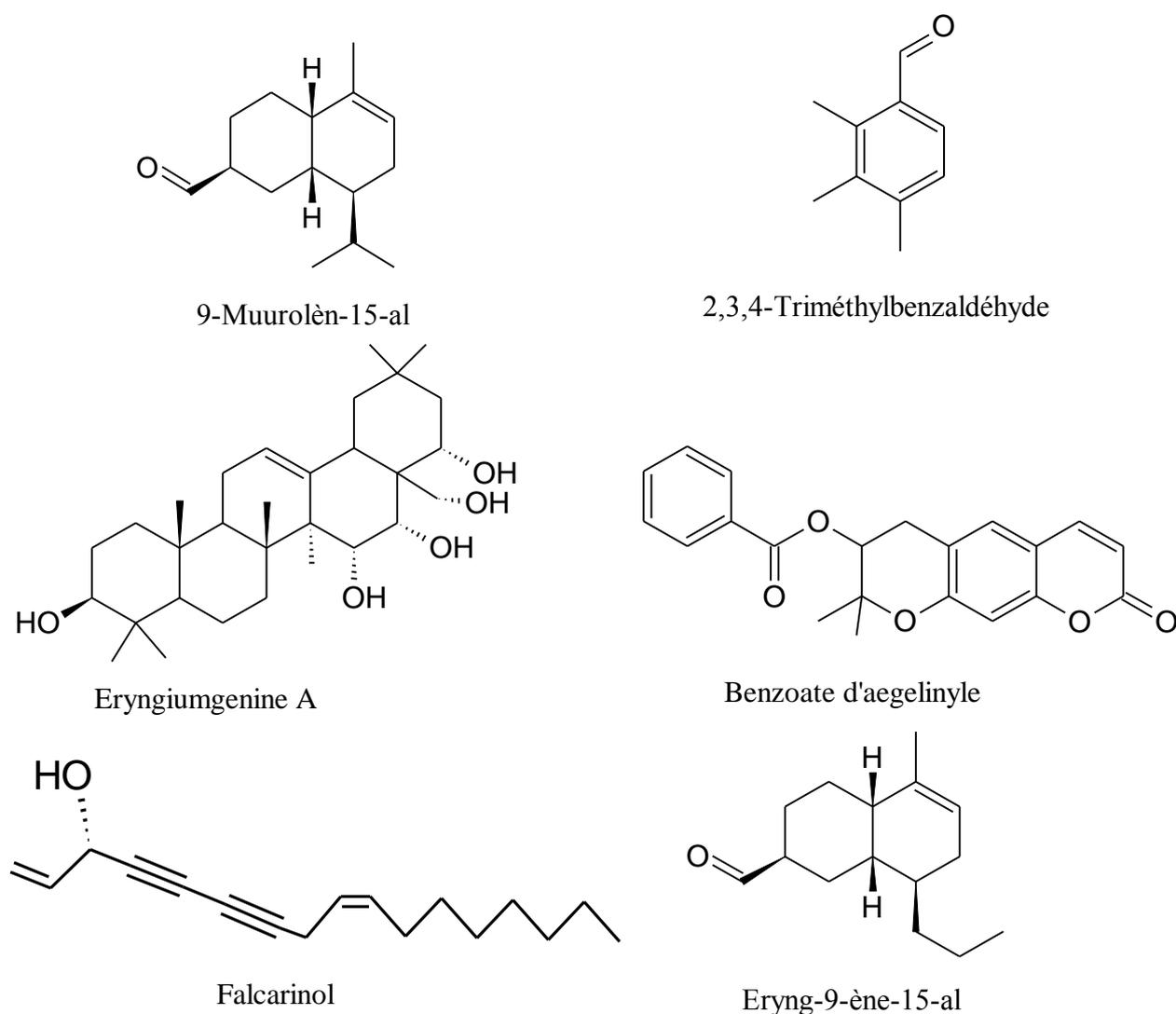
### *Les triterpènes saponines*

Cette famille de composés est présente dans la quasi-totalité des extraits d'*Eryngium* rapportés dans la littérature et nous y avons dénombré plus d'une trentaine de composés de ce type. Ils sont principalement pentacycliques (souvent 5 cycles à 6 carbones), sous forme d'acide,<sup>188,189</sup> d'ester<sup>191</sup> et de glycoside.<sup>192</sup> Ces composés sont connus pour provoquer une émulsion en cas de frottement de la plante qui les contient, d'où le terme saponine et pour leurs capacités antifongiques.

### *Autres composés*

Dans les extraits de certaines plantes du genre *Eryngium*, des polyphénols de la famille des flavonoïdes ont été décrits pour la première fois, comme par exemple la trifoline-6'-O-β-D-glucopyranosyl dans les extraits d'*E. planum*<sup>193</sup> ; des coumarines comme le benzoate d'aegelinyl dans *E. campestre*<sup>194</sup> ; des acides phénoliques comme l'acide rosmarinique-(*R*)-3'-O-β-D-glucopyranosyle d'*E. alpinum*.<sup>195</sup> Cette famille de composés n'est toutefois pas retrouvée systématiquement dans les extraits du genre *Eryngium*.

Quelques extraits de plantes du genre *Eryngium* comportent des composés acétyléniques comme le falcarinol d'*E. planum* et d'*E. bourgatii*<sup>196-198</sup>. Il est également fait mention de cyclohexanones, notamment la 3-( $\beta$ -D-glucopyranosyloxyméthyl)-2,4,4-triméthyl-2,5-cyclohexène-1-one dans l'extrait d'*E. campestre*.<sup>199</sup> Citons enfin deux composés présents dans l'extrait des parties aériennes d'*E. creticum* : l'eicos-8-11-diène-18-ol-2-one et surtout l'éryng-9-ène-15-al<sup>200</sup> dont la structure est proche d'un composé présent dans l'huile essentielle d'*E. maritimum* étudiée par Kubeczka.<sup>167</sup>



**Figure I.8 :** Exemples de molécules présentes dans les extraits ou les huiles essentielles d'espèces du genre *Eryngium*.

**CHAPITRE II**  
**COMPOSITIONS CHIMIQUES DES HUILES**  
**ESSENTIELLES DE *CHAMAEMELUM MIXTUM*,**  
**D'*ANTHEMIS MARITIMA* ET D'*ERYNGIUM***  
***MARITIMUM***

Le but premier de ce chapitre est de décrire les compositions chimiques des huiles essentielles des trois plantes qui font l'objet de notre étude, deux Astéracées et une Apiacée. Pour cela nous avons mis en œuvre la méthodologie d'analyse développée au laboratoire et présentée au chapitre précédent. En l'occurrence, après analyse, les huiles essentielles ont été fractionnées par chromatographie colonne sur gel de silice de façon à obtenir des mélanges moins complexes. Les composés reconnus par nos bibliothèques propres ont été considérés comme identifiés. Les composés proposés par une bibliothèque commerciale ont fait l'objet d'analyses complémentaires : purification ; analyse par CPG/SM-IC, RMN du proton et du C-13 et hémi synthèse.

Cependant, un certain nombre de constituants restaient non identifiés, nous conduisant à imaginer et à développer une stratégie d'analyse plus spécifique.

## A - HUILES ESSENTIELLES DE *CHAMAEMELUM MIXTUM*- DESCRIPTION D'UNE NOUVELLE CETONE

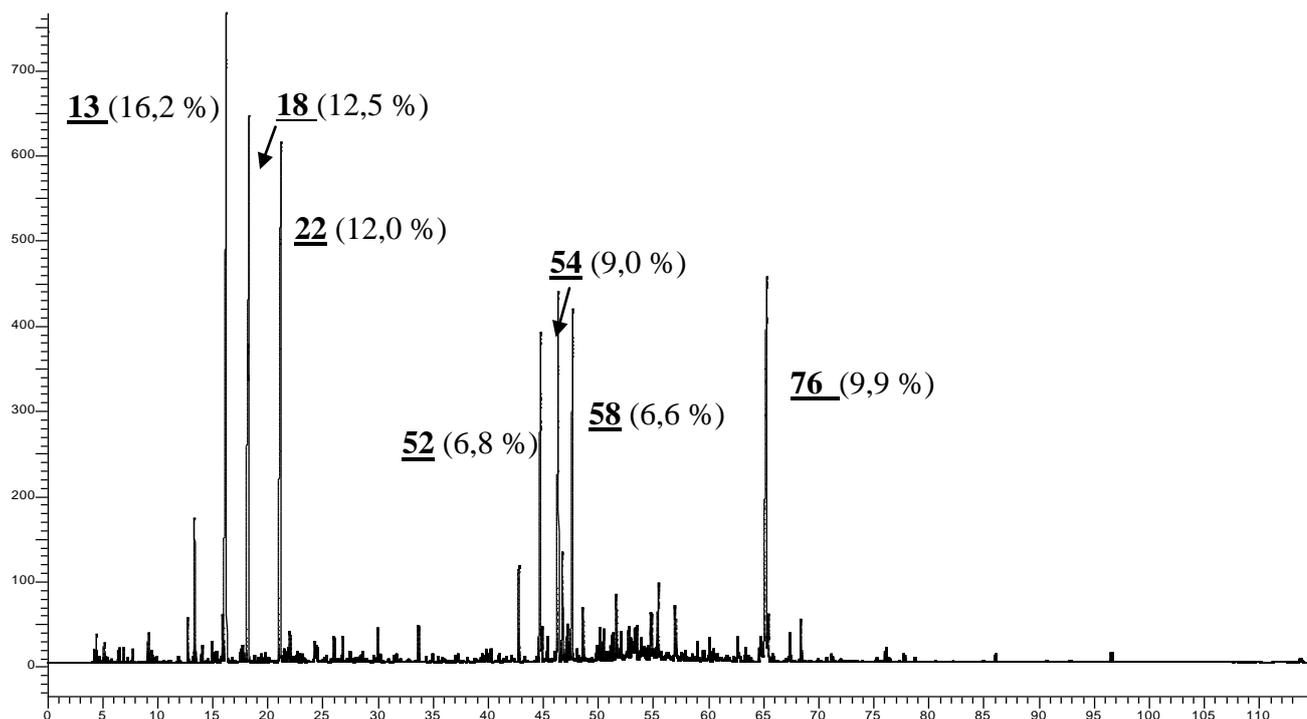
Des échantillons d'huiles essentielles de *Chamaemelum mixtum* du Maroc ont été étudiés récemment par Zrira *et al.*<sup>123</sup> et Satrani *et al.*<sup>124</sup> Cependant, l'étude que nous avons menée sur plusieurs échantillons d'huile essentielle obtenus à partir de *C. mixtum* de Corse a permis de mettre en évidence une composition chimique originale, la présence d'un nouveau composé naturel, de donner sa structure et d'en décrire les données spectrales.

### 1-Analyse préliminaire de l'huile essentielle de *C. mixtum* et fractionnement.

Le matériel végétal a été récolté en mai 2008, sur la plage de l'Arinella à la sortie Sud de Bastia (Haute Corse) où elle pousse en abondance. Il a été hydrodistillé durant 5 heures dans un appareillage de type Clevenger avec un rendement de 0,02 % par rapport à la masse de végétal frais. Nous avons ainsi préparé 9,5 g d'huile essentielle.

L'huile essentielle des parties aériennes avant fractionnement est analysée par CPG-Ir et CPG/SM-IE. Le profil chromatographique est donné à la **figure II.1**. Ces analyses ont permis d'identifier 44 composés (**tableau II.1** en fin de partie A) représentant 75,4 % de la composition chimique de l'huile essentielle. Les identifications ont été établies sur la base des bibliothèques « Arômes » propres au laboratoire pour 42 d'entre eux ; les deux autres ont été identifiés sans ambiguïté à l'aide des bibliothèques commerciales et leurs noms sont suivis de la référence de la bibliothèque dans le **tableau II.1**.

S'agissant des composés identifiés, 19 sont des composés hydrocarbonés et 25 sont des composés oxygénés. Les trois composés majoritaires sont des monoterpènes oxygénés irréguliers : le yomogi alcool **13** (16,2 %), le santolina alcool **18** (12,5 %) et l'artémisia alcool **22** (12,0 %) qui représentent 40,7 % de la totalité de la composition chimique.



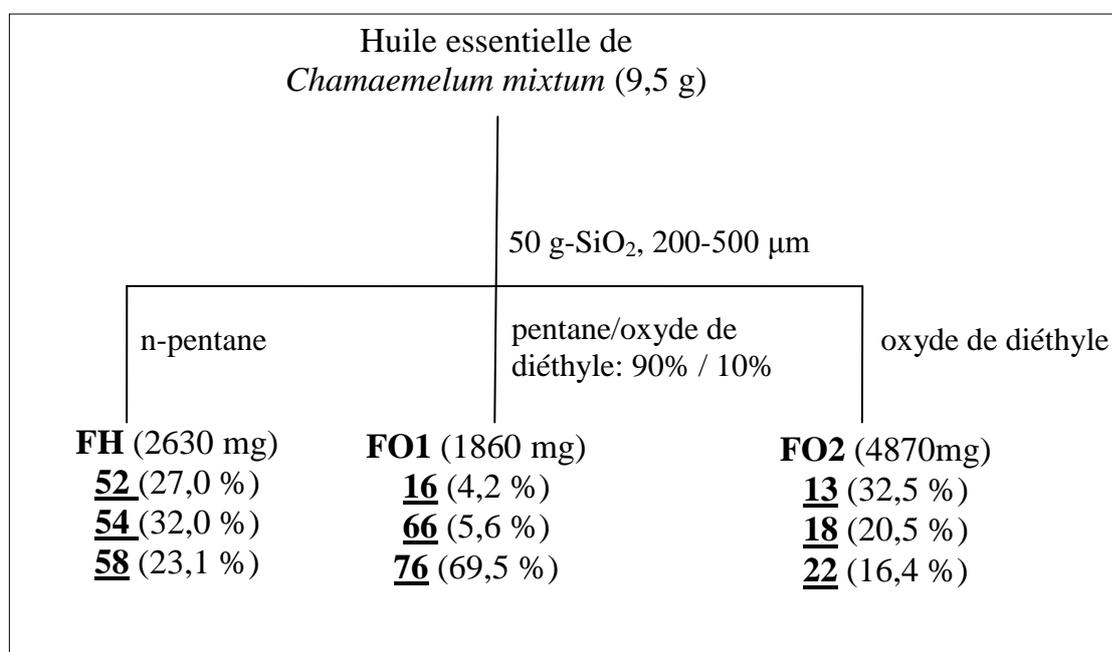
**Figure II.1** : Chromatogramme de l'huile essentielle de *C. mixtum*.

Ils sont suivis de trois sesquiterpènes hydrocarbonés : le germacrène D **54** (9,0 %), le (*E*)- $\beta$ -farnésène **52** (6,8 %) et le (*E,E*)- $\alpha$ -farnésène **58** (6,6 %). Ces composés ont déjà été trouvés dans l'huile essentielle de *C. mixtum* du Maroc<sup>123-125</sup>. Toutefois, sur le chromatogramme (**figure II.1**) de notre échantillon, apparaît un composé relativement abondant : **76** (9,9 % ; Ira : 1827, Irp : 2194), non signalé par les auteurs précités, et pour lequel, aucune banque de données à notre disposition ne propose de structure.

Nous avons procédé au fractionnement de l'huile essentielle sur colonne ouverte de silice de forte granulométrie avec un mélange pentane/oxyde de diéthyle comme éluant, ce qui nous a conduits à 3 fractions. Le schéma du fractionnement est donné à la **figure II.2**. L'analyse de ces trois fractions selon la séquence habituelle CPG-Ir et CPG/SM-IE a permis d'identifier 33 composés supplémentaires dont les plus abondants n'excèdent pas une teneur de 0,8 % dans l'huile essentielle. Le **tableau II.1** reprend les compositions des fractions ; les pourcentages indiqués sont les teneurs

relatives des constituants dans les fractions. Enfin, la colonne de droite du tableau récapitule la composition globale de l'huile essentielle.

A ce stade de l'étude après fractionnement, nous avons identifié 77 composés représentant 80,2 % de l'huile essentielle, 64 composés ont été identifiés sur la base de la bibliothèque « Arômes » de notre laboratoire et 13 composés l'ont été à l'aide de bibliothèques commerciales (**tableau II.1**) sans autres analyses complémentaires. L'identification du composé **76** fait l'objet de la suite de notre étude sur cette huile essentielle.



**Figure II.2** : Schéma de fractionnement de l'huile essentielle de *C. mixtum* sur colonne de gel de silice.

## 2- Identification du composé 76.

Pour déterminer la structure du composé **76**, nous avons enchaîné les séquences analytiques comme explicité dans l'exposé de la méthodologie dans le **chapitre I**.

## 2.1-Etude des spectres de masse en impact électronique et ionisation chimique.

La fraction **FO1** contenant le composé **76** (69,5 %) a été analysée par CPG/SM-IE et CPG/SM-IC avec l'ammoniac et le méthane comme gaz réactants ; les spectres de masse du composé **76** ont été interprétés.

Sur le spectre SM-IE, le pic à m/z 250 (1%) correspond à l'ion de masse la plus élevée, nous faisons l'hypothèse qu'il s'agit du pic moléculaire dans la mesure où la molécule **76** ne possède pas d'atome d'azote. Le pic moléculaire étant de faible intensité, nous pouvons supposer que la molécule n'est pas cyclique et qu'elle ne comporte pas de doubles liaisons conjuguées. Le pic de base apparaît à m/z 113, les autres ions abondants se situent à m/z 43 (95%) et m/z 85 (55%). La différence de masse de 28 uma entre les ions m/z 113 et m/z 85, est caractéristique d'une décarbonylation et donc de la présence d'un groupement carbonyle dans la molécule. Cela est en adéquation avec la polarité et la constitution de la fraction **FO1** contenant **76** ; elle a été éluée à partir d'un mélange pentane/oxyde de diéthyle (90/10) et elle comporte des cétones, des aldéhydes et des esters. A noter que l'ion  $[M-H]^+$  à m/z 249 caractéristique de la perte de l'hydrogène d'un groupe formyle n'est pas observable.

Sur les spectres de masse enregistrés en mode IC-NH<sub>3</sub>, la masse moléculaire de 250 du composé **76** est confirmée par l'observation des ions pseudo-moléculaires  $[M-H]^-$  à m/z 249 et  $[M+H]^+$  à m/z 251 observés respectivement en ICN-NH<sub>3</sub> et en ICP-NH<sub>3</sub>. Ils sont pics de base sur les spectres correspondants. Sur le spectre enregistré en mode ICN-NH<sub>3</sub>, les ions de type  $[RCOO]^-$  ou  $[M-COR]^-$ , caractéristiques des esters ne sont pas présents; le spectre en mode ICP-NH<sub>3</sub> ne comporte pas un pic de base de type  $[M+NH_4-H_2O]^+$  caractéristique de la fonction alcool.<sup>77-80</sup>

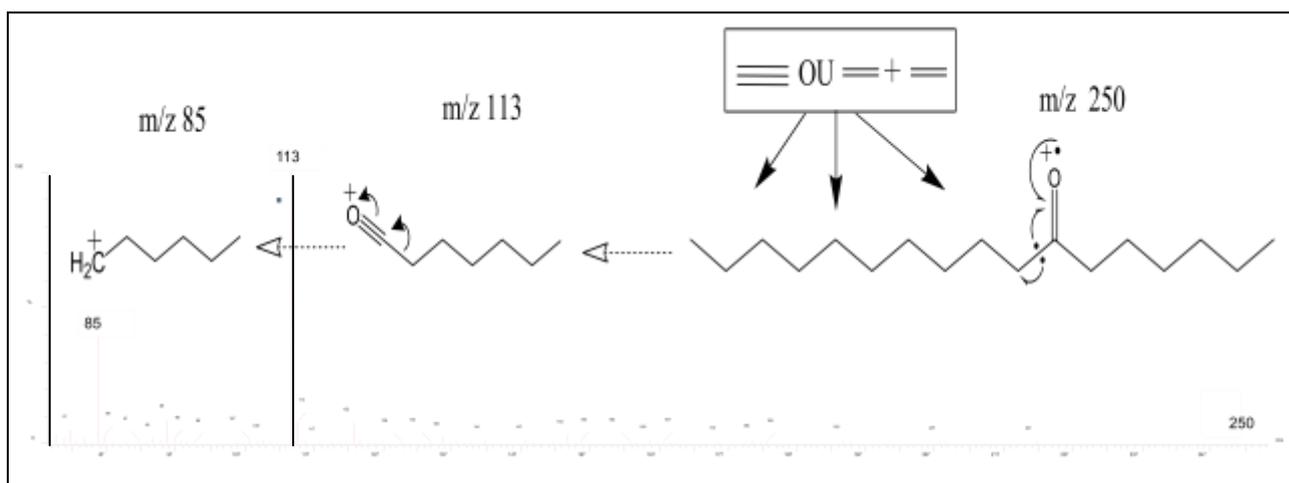
Le spectre de masse enregistré en mode ICP-CH<sub>4</sub>, nous permet d'observer le couple d'ions  $[M+H]^+$  à m/z 251 (65 %) et  $[M+H-H_2O]^+$  à m/z 233 (20 %). L'abondance relativement élevée de l'ion pseudo moléculaire et l'abondance

relativement faible de l'ion provenant de sa déshydratation nous orientent vers une cétone linéaire.<sup>75-76</sup> Ces spectres sont rapportés dans la première partie des annexes.

L'hypothèse retenue quant à la nature de **76** est donc celle d'une cétone linéaire de masse 250 et de formule brute  $C_{17}H_{30}O$ .

En impact électronique, le clivage le plus probable pour les cétones linéaires est un clivage hétérolytique, initié par le radical produit lors de l'ionisation de l'oxygène du groupement carbonyle. Ce clivage a lieu en  $\alpha$  du groupement CO, il élimine le plus gros des deux substituants. Il renseigne ainsi sur la substitution du groupement carbonyle et permet de positionner la fonction cétone sur la chaîne linéaire.<sup>49,50</sup>

L'étude du spectre du composé **76** enregistré en IE permet de constater que l'ion  $m/z$  85 donne la masse de l'un des substituant du groupement carbonyle. L'ion  $m/z$  85 correspondrait donc à  $[C_6H_{13}]^+$  et proviendrait de la décarbonylation de l'ion  $m/z$  113 lui-même issu d'un clivage en  $\alpha$  du carbonyle donnant un ion de formule  $[C_7H_{13}O]^+$ . L'ion  $[C_6H_{13}]^+$  ne peut être qu'une portion de chaîne saturée. La séquence de fragmentation telle que nous l'interprétons est l'objet de la **figure II.3**. Il ressort de cette analyse que le carbonyle est en position 7 sur la chaîne carbonée et que pour être en adéquation avec la masse du composé, deux centres d'insaturation doivent être positionnés sur le plus gros des substituants.



**Figure II.3** : Mécanisme de fragmentation en impact électronique du composé **76** conduisant aux ions à  $m/z$  113 et 85.

## 2.2-Etude du spectre de RMN du carbone-13 en mélange.

Le spectre de RMN du carbone 13 de la fraction **FO1** (**76**: 69,5 %) a permis d'observer 17 raies de forte intensité attribuées comme suit à partir de la séquence DEPT ( $\delta_c$  ppm, multiplicité) : 209,29 (C) ; 139,01 (CH) ; 133,55 (CH) ; 121,06 (CH) ; 114,29 (CH<sub>2</sub>) ; 42,39 (CH<sub>2</sub>) ; 41,68 (CH<sub>2</sub>) ; 33,75(CH<sub>2</sub>) ; 31,63(CH<sub>2</sub>) ; 29,22 (CH<sub>2</sub>) ; 28,93 (CH<sub>2</sub>) ; 28,81 (CH<sub>2</sub>) ; 28,77 (CH<sub>2</sub>) ; 27,48 (CH<sub>2</sub>) ; 23,81 (CH<sub>2</sub>) ; 22,53 (CH<sub>2</sub>) ; 14,05 (CH<sub>3</sub>). La séquence DEPT permet de confirmer la formule brute C<sub>17</sub>H<sub>30</sub>O qui requiert donc 3 centres d'insaturation. Le déplacement chimique du carbone quaternaire résonnant à 209,29 ppm est caractéristique du carbone fonctionnel d'une cétone. On note l'absence de carbone acétylénique et la présence de quatre carbones éthyléniques dont un de type méthylénique résonnant à 114,29 ppm. On conclut donc à un système diénique dont l'une des doubles liaisons est en position terminale. A ce stade, on peut donc envisager une structure non ramifiée de dièn-7-one sans conjugaison. Si l'une des liaisons  $\pi$  est terminale, la position de l'autre double liaison reste à déterminer.

Le composé **76** a été purifié en vue d'une analyse structurale par RMN afin de positionner la seconde double liaison et assurer ainsi l'attribution des différents carbones de la molécule.

## 2.3-Purification du composé 76.

Les chromatographies successives sur colonne ouverte de silice fine (63-200  $\mu$ m) de la fraction **FO1** ont conduit à des sous-fractions contenant le composé **76** avec une teneur d'au mieux 73,2 %. La difficulté de séparation est, sans doute, due à la présence, dans la fraction **FO1** de composés de polarités proches de celle du composé **76** (oxydes, aldéhydes et esters). Nous nous proposons d'isoler le composé **76** sous sa forme réduite **76red** (alcool). Pour cela nous procédons à la réduction de la fraction **FO1** en **FO1red** par de l'hydrure d'aluminium lithium.

**FO1red** a été soumise à un fractionnement sur colonne de silice fine (63-200  $\mu$ m). Une fraction **FIred** a été isolée avec une teneur en composé **76red** (Ira : 1862, Irp : 2282) de 94,5 %. Une partie de cette fraction a été oxydée par du pyridium

chlorochromate. Le mélange **FI** provenant de l'oxydation de la fraction **FIred** contient 96,1 % du composé **76** (Ira : 1827, Irp : 2194).

#### 2.4-Analyse structurale des composés **76** et **76red** par RMN.

Les analyses structurales de **76** dans la fraction **FI** et **76red** dans la fraction **FIred** ont été menées par RMN du carbone-13, du proton et par RMN-2D en utilisant les séquences HSQC, HMBC et COSY. Tous les résultats sont consignés dans le **tableau II.2**.

Le spectre de RMN du proton du composé **76** confirme, par l'observation de 5 hydrogènes éthyléniques ( $\delta_H$  : 4,85-5,80 ppm), la présence de deux doubles liaisons, dont une extrême. Le groupement cétone est confirmé par l'absence de proton aldéhydique dans le spectre de **76** et par l'observation d'un proton à 3,65 ppm qui assure la présence d'un alcool dans celui de **76red** et la validité de notre protocole expérimental.

Nous avons confirmé la position 7 du groupement carbonyle par i) l'observation de corrélations hétéronucléaires à courte distance entre des protons H-6 et H-8 à 2,41 et 3,13 ppm, portés par les deux méthylènes déblindés à 42,39 et 41,68 ppm caractéristiques de carbones en  $\alpha$  d'un groupement carbonyle et par ii) l'observation de corrélations dans la matrice HMBC entre le carbone portant le groupement fonctionnel C-7 à 209,29 ppm et les protons H-6 et H-8. Le fort déblindage du carbone fonctionnel à 209,29 ppm prouve que la double liaison du carbonyle n'est pas conjuguée avec une double liaison allylique, en cas de conjugaison, le déplacement chimique du carbonyle est inférieur à 200 ppm.

Plusieurs observations ont permis de déterminer la position de la seconde double liaison :

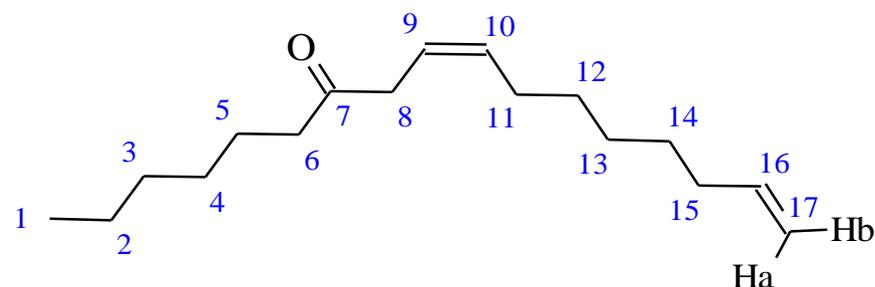
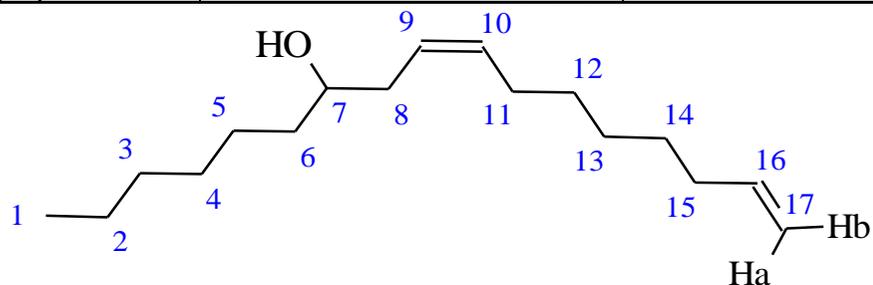
- Le fort déblindage des deux protons (d) à 3,13 ppm portés par le carbone à 41,68 ppm permet de les situer en position 8 entre deux systèmes  $\pi$ .
- Les corrélations sur la matrice COSY entre les deux protons à 3,13 ppm portés par le carbone 8 et les 2 protons éthyléniques à 5,54 et 5,58 ppm portés par les 2 carbones voisins à 121,06 et 133,05 ppm.

- Sur la matrice de corrélation des couplages proton-carbone à longue distance (HMBC), le proton résonant à 5,54 ppm porté par le carbone allylique à 121,06 ppm est corrélé avec le carbone fonctionnel de la cétone (C-7) à 209,29 ppm.
- Les deux protons équivalents portés par le C-8 apparaissent sous la forme d'un doublet alors que les deux protons portés par le C-6 apparaissent sous la forme d'un triplet, la proximité du carbone allylique C-9 portant un seul proton permet de lever tout les doutes sur la position de la double liaison.

La stéréochimie de la double liaison a été déterminée par l'observation du déplacement chimique du C-11 à 27,48 ppm. Cette valeur de déplacement chimique en  $\alpha$  d'un carbone allylique sur une chaîne linéaire est caractéristique<sup>201</sup> des isomères Z, c'est une valeur blindée par effet  $\gamma$  stérique du C-8 sur le C-11. Cette observation est en adéquation, avec la valeur de la constante de couplage en RMN du proton entre H-9 et H-10 de 11 Hz

Les deux molécules **76** et **76red** présentant logiquement de fortes similitudes dans la plupart des déplacements chimiques de leurs protons et carbones, la poursuite de l'attribution de ces déplacements au vue des corrélations HSQC, HMBC et COSY est aisée. A l'issue de l'analyse structurale, nous avons identifié **76** : (Z)-heptadéc-9,16-adien-7-one qui est un nouveau produit naturel et **76red** : (Z)-heptadéc-9,16-adièn-7-ol, lui non plus jamais décrit à l'état naturel mais absent de l'huile essentielle. Les spectres RMN de **76** sont consultables dans la seconde partie des annexes.

<b>76red</b> : (Z)-heptadécane-9,16-diène-7-ol								<b>76</b> : (Z)-heptadécane-9,16-diène-7-one							
C	RMN- <sup>13</sup> C		RMN- <sup>1</sup> H			RMN-2D			RMN- <sup>13</sup> C		RMN- <sup>1</sup> H			RMN-2D	
	δ	DEPT	δ	Multiplicité	J(Hz)	HMBC	COSY		δ	DEPT	δ	Multiplicité	J(Hz)	HMBC	COSY
1	14,09	CH <sub>3</sub>	0,88	t	6,5	2,3	2		14,05	CH <sub>3</sub>	0,89	t	6,5	2,3	2
2	22,64	CH <sub>2</sub>	1,28	m		1,3,4	1,3		22,53	CH <sub>2</sub>	1,27	m		1,3,4	1,3
3	31,86	CH <sub>2</sub>	1,28	m		1,2,4,5	2,4		31,63	CH <sub>2</sub>	1,27	m		1,2,4,5	2,4
4	28,81	CH <sub>2</sub>	1,35	m		6,5,3,2	5,3		28,77	CH <sub>2</sub>	1,35	m		6,5,3,2	5,3
5	25,73	CH <sub>2</sub>	1,3	m		7,6,4,3	6,4		23,81	CH <sub>2</sub>	1,56	qui	6,6	7,6,4,3	6,4
6	36,87	CH <sub>2</sub>	1,45	m		7,8,5	7,5		42,39	CH <sub>2</sub>	2,41	t	5,0	7,8,5,4	7,5
7	71,54	CH	3,65	qui	5,8	6,8,9	10,6		209,29	C				6,8,9	
8	35,36	CH <sub>2</sub>	2,2	t	6,8	10,9,6	7,9		41,68	CH <sub>2</sub>	3,13	d	6,2	7,10,9,6,5	6,7,9,10
9	125,24	CH	5,4	dt	11,0-6,8-1,5	8,10,11	8,11		121,06	CH	5,55	dt	11,0-6,2-1,5	8,11	8,11
10	134,6	CH	5,55	dt	11,0-7,5-1,4	11,8,9	8,11		133,55	CH	5,58	dt	11,0-7,5-1,4	11,8,12	8,11
11	27,38	CH <sub>2</sub>	2,05	m		10,9,13,12	10,12		27,48	CH <sub>2</sub>	1,27	m			
12	29,53*	CH <sub>2</sub>	1,35	m					29,22	CH <sub>2</sub>	1,35	m			
13	29,37*	CH <sub>2</sub>	1,35	m					28,93*	CH <sub>2</sub>	1,35	m			
14	28,81	CH <sub>2</sub>	1,35	m		13,12,16,15			28,81*	CH <sub>2</sub>	1,35	m		13,12,16,15	
15	33,76	CH <sub>2</sub>	2,03	m		17a,17b,16,14,13	16,14		33,75	CH <sub>2</sub>	2,03	m		17a,17b,16,14,13	17a,17b,16,14
16	139,09	CH	5,8	ddt	17,1-10,5-6,7	15,14	17a,17b,15		139,01	CH	5,8	ddt	17,1-10,5-6,7	15,14	17a,17b,15
17	114,23	CH <sub>2</sub>	a 5,01 b 4,94	ddt	17,1-2,1-1,5	15	16		114,29	CH <sub>2</sub>	a 4,95 b 4,85	ddt	17,1-2,1-1,5	15	16



**Tableau II.2:** Structures et déplacements chimiques en RMN du proton et du carbone-13 ( $\delta$ , ppm dans  $\text{CDCl}_3$ ) - Corrélations de RMN-2D Carbone-Carbone (HMBC) et Proton-Proton (COSY) de la (Z)-heptadéc-9,16-adiène-7-one et de la (Z)-heptadéc-9,16-adiène-7-ol.

### 3-Bilan de l'étude de l'huile essentielle de *Chamaemelum mixtum*.

Nous avons identifié 77 composés par seule analyse en CPG-Ir et CPG/SM-IE. A ceux-ci s'ajoute un nouveau composé naturel la (Z)-heptadéc-9,16-adiène-7-one qui représente 9,9 % de la composition de l'huile essentielle. Ce composé a été identifié, par le biais de son isolement sous sa forme réduite, par la mise en œuvre de la séquence d'analyse structurale en CPG/SM-(IE), CPG/SM-(IC) et RMN mono et bidimensionnelle. En corolaire, nous avons également décrit l'alcool correspondant (Z)-heptadéc-9,16-adiène-7-ol. A notre connaissance, les données spectrales de ces deux composés sont décrites pour la première fois.

Au total, nous avons donc identifié 78 constituants représentant 90,1 % de la composition de l'huile essentielle. Le **tableau II.1** récapitule les constituants de l'huile essentielle. Sa composition est dominée par les composés oxygénés (62,4 %) et plus particulièrement par les 3 alcools monoterpéniques irréguliers : le yomogi alcool **13** (16,2 %), le santolina alcool **18** (12,5 %) et l'artémisia alcool **22** (12,0 %) qui représentent 40,7 % de la composition chimique de l'huile essentielle. La (Z)-heptadéca-9,16-diène-7-one **76** (9,9 %) est le quatrième composé oxygéné majoritaire. Ce nouveau composé est un dérivé lipidique, probablement issu du catabolisme ou de l'oxydation d'acides gras polyinsaturés.<sup>202</sup> Les composés hydrocarbonés représentent 27,7 % de la composition de l'huile essentielle, le germacrène D **54** (9,0 %), le (E)- $\beta$ -farnésène **52** (6,8 %) et le (E-E)- $\alpha$ -farnésène **58** (6,6 %) sont les composés hydrocarbonés majoritaires.

A notre connaissance, à ce jour, seules des huiles essentielles de *C. mixtum* du Maroc ont été rapportées dans la littérature.<sup>123-125</sup> La composition chimique de l'huile essentielle de Corse se distingue d'un point de vue qualitatif par la présence de la (Z)-heptadéc-9,16-adiène-7-one **76**. Dans les huiles essentielles du Maroc, le yomogi alcool (2,8-4,5 %) **13**, le (E)- $\beta$ -farnésène (2,5-4,5 %) **52**, l'artémisia alcool (t-3,6 %) **22** et le (E-E)- $\alpha$ -farnésène (t) **58** ne sont pas aussi abondants que dans les huiles essentielles de Corse. Signalons, enfin, que ces dernières ne présentent jamais l' $\alpha$ -pinène **7** comme composé majoritaire (1,3 %) alors que c'est le cas dans les huiles essentielles du Maroc (3,6-15,0 %).

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	HE avant fractionnement	Fractions			HE en fin d'études
						FH	FO1	FO2	
1	Heptane	700'	700	700	t	t	-	-	t
2	3-Méthylbutanol <sup>52</sup>	718'	716	1178	0,1	-	-	0,1	0,1
3	2-Méthylbutanol <sup>52</sup>	724'	717	1170	0,1	-	-	0,1	0,1
4	Hexanal	770'	770	1055	0,1	-	0,1	-	0,1
5	3-Méthylpentanol <sup>38</sup>	825'	824	1299	-	-	-	0,3	0,1
6	Santolinatriène	909	901	1018	t	-	-	-	t
7	$\alpha$ -Pinène	936	927	992	1,3	2,1	-	-	1,3
8	Camphène	942	940	1035	0,1	0,3	-	-	0,1
9	6-Méthylhept-5-èn-2-one	972	961	1311	0,2	-	t	-	0,2
10	Sabinène	973	964	1095	0,1	0,1	-	-	0,1
11	$\beta$ -Pinène	978	967	1078	0,1	0,2	-	-	0,1
12	Myrcène	987	977	1130	0,4	0,2	-	-	0,4
13	Yomogi alcool	991	981	1387	16,2	-	-	32,5	16,2
14	m-Cymène	1013	1011	1268	0,1	0,1	-	-	0,1
15	p-Cymène	1015	1012	1267	0,1	0,1	-	-	0,1
16	1,8-Cinéole	1024	1020	1209	1,6	-	4,2	-	1,6
17	Limonène	1025	1021	1243	-	1,1	-	-	0,1
18	Santolina alcool	1029	1026	1395	12,5	-	-	20,5	12,5
19	(E)-Oct-2-énal <sup>38</sup>	1034	1032	1253	-	-	-	-	0,1
20	Artémisia cétone	1044	1047	1352	0,1	-	0,5	-	0,1
21	$\gamma$ -Terpinène	1051	1046	1243	t	0,1	-	-	t
22	Artémisia alcool	1073	1072	1479	12,0	-	-	16,4	12,0
23	6-Méthylhept-3,5-adièn-2-one <sup>52</sup>	1079'	1077	1084	-	-	-	0,2	0,1
24	Terpinolène	1080'	1078	1280	-	0,1	-	-	0,1
25	Linalol	1082'	1081	1544	0,1	-	-	0,2	0,1
26	Nonanal	1083'	1083	1394	0,1	-	0,5	-	0,1
27	Hotriénol <sup>38</sup>	1083	1083	1575	-	-	-	0,4	0,3
28	Isovalérate de 2-méthylbutyle	1094'	1098	1274	0,1	-	-	-	0,1
29	trans-Pinocarvéol	1126	1120	1650	-	-	-	0,4	0,2
30	trans-Non-2-énal	1139	1132	1568	-	-	-	-	0,1
31	Pinocarvone	1137	1136	1558	0,1	-	-	-	0,1
32	Bornéol	1150	1148	1698	-	-	-	0,8	0,3
33	Terpinèn-4-ol	1164	1160	1600	0,2	-	-	0,4	0,2
34	Myrténal	1172	1172	1628	-	-	-	-	t
35	$\alpha$ -Terpinéol	1176	1173	1178	t	-	-	0,3	t
36	Formiate de bornyle	1199	1212	1557	0,4	-	0,2	-	0,4
37	Oxyde de thymyle et méthyle	1215	1214	1589	-	-	0,3	-	0,1
38	Géranol	1235	1237	1731	-	-	-	0,2	0,1
39	(E)-Déc-2-énal	1240	1248	1652	-	-	-	-	t
40	Acétate de bornyle	1270	1267	1540	0,4	-	1,6	-	0,4
41	Undécane-6-ol	1283	1282	1676	-	-	0,3	-	0,1
42	(E,E)-Déc-2,4-adiénal	1291	1290	1820	0,1	-	-	-	0,1
43	Tiglate de cis-hexényle <sup>38</sup>	1297'	1305	1641	-	-	0,3	-	t
44	Acétate de myrtényle	1304	1306	1680	-	-	0,1	-	t
45	trans-Undéc-2-énal <sup>38</sup>	1342'	1347	1757	-	-	-	-	0,1
46	Acétate de géranyle	1362	1363	1752	0,1	-	t	-	0,1
47	(Z)-Jasmone	1371	1373	1909	0,1	-	-	0,3	0,1
48	$\alpha$ -Ylangène	1376	1375	1476	-	0,5	-	-	t
49	$\beta$ -Elémène	1389	1384	1589	-	0,3	-	-	0,1
50	$\beta$ -Caryophyllène	1420	1416	1547	1,2	4,7	-	-	1,2
51	$\beta$ -Ylangène	1420	1420	1562	-	0,3	-	-	t
52	(E)- $\beta$ -Farnésène	1446	1445	1626	6,8	27,0	-	-	6,8

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	HE avant fractionnement	Fractions			HE en fin d'études
						FH	FO1	FO2	
53	$\gamma$ -Muuroolène	1474	1471	1681	0,1	0,1	-	-	0,1
54	Germacrène D	1479	1478	1661	9,0	32,0	-	-	9,0
55	Zingiberène	1489	1489	1717	0,4	1,2	-	-	0,4
56	Bicyclogermacrène	1494	1494	1727	0,2	1,0	-	-	0,2
57	$\alpha$ -Muuroolène	1496	1496	1719	-	t	-	-	t
58	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farnésène	1498	1498	1705	6,6	23,1	-	-	6,6
59	$\gamma$ -Cadinène	1507	1507	1752	0,2	0,6	-	-	0,2
60	$\delta$ -Cadinène	1520	1513	1749	0,6	2,9	-	-	0,6
61	Cadina-1,4-diène	1523	1523	1763	-	0,1	-	-	t
62	$\alpha$ -Cadinène	1534	1536	1745	-	0,2	-	-	t
63	( <i>E</i> )-Nérolidol	1553	1549	2037	0,4	-	-	0,7	0,4
64	1,5-Epoxysalvial-4-ène <sup>38</sup>	1571'	1568	1870	-	-	-	-	0,3
65	Spathulénol	1572	1570	2119	0,4	-	-	1,0	0,4
66	Oxyde de caryophyllène	1578	1570	1980	0,8	-	5,6	0,6	0,8
67	Globulol	1589	1589	2074	-	-	-	0,8	0,4
68	Copabornéol	1595	1592	2159	-	-	-	1,0	0,3
69	Lédol	1600	1599	2029	-	-	-	0,7	0,4
70	Oxyde d'aromadendrène	1623	1617	2002	-	-	0,7	-	0,2
71	12-épi Cédrol <sup>38</sup>	1620	1620	2163	-	-	-	0,6	0,3
72	$\tau$ -Muurolol	1933	1634	2143	0,8	-	-	2,4	0,8
73	$\tau$ -Cadinol	1933	1638	2163	-	-	-	0,3	0,1
74	$\alpha$ -Cadinol	1943	1645	2227	1,1	-	-	3,2	1,1
75	Germacra-4,5,10-trièn-1 $\alpha$ -ol <sup>38</sup>	1680	1676	2298	-	-	-	2,6	0,8
<b>76</b>	<b>(Z)-Heptadéc-9,16-adièn-7-one</b>	-	<b>1827</b>	<b>2194</b>	-	-	<b>69,5</b>	-	<b>9,9</b>
77	Tricosane <sup>52</sup>	2300'	2300	2300	-	0,4	-	-	0,1
78	Pentacosane <sup>52</sup>	2500'	2500	2500	-	0,8	-	-	t
Total identifié					75,4	99,6	14,4	87	90,1
Composés hydrocarbonés					27,3	99,6	-	-	27,7
Composés oxygénés					48,1	-	14,4	87	62,4
Monoterpènes hydrocarbonés					2,0	4,2	-	-	2,2
Monoterpènes oxygénés					43,8	-	6,9	72,4	44,8
Sesquiterpènes hydrocarbonés					25,1	94	-	-	25,2
Sesquiterpènes oxygénés					3,5	-	6,3	13,9	6,3
Autres composés hydrocarbonés					0,2	1,4	-	-	0,3
Autres composés oxygénés					0,8	-	1,2	0,7	11,3

HE=Huile essentielle ; Irl=Indices de rétention littérature issu de la bibliothèque commerciale Joulain<sup>38</sup>, Irl'si issu de la bibliothèque commerciale Nist<sup>117</sup>; Ira=Indices de rétention apolaire ; Irp=Indices de rétention polaire ; L'ordre d'éluion est donné sur colonne apolaire. La teneur d'un composé est exprimée en pourcentage relatif de la fraction correspondante. Les composés ont été identifiés à partir de la bibliothèque « Arômes » du laboratoire sauf ceux dont la bibliothèque commerciale est précisée par une référence en exposant.  
 FH : Fraction hydrogénée (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 100/0) - FO1 : Fraction oxygénée (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 90/10) - FO2 : Fraction oxygénée (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 90/10) - FO3 : Fraction oxygénée (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 0/100).

**Tableau II.1** : Compositions chimiques de l'huile essentielle de *C. mixtum* de Corse et de ses fractions.

## **B - HUILES ESSENTIELLES D'ANTHEMIS MARITIMA DE CORSE ET DE SARDAIGNE - DESCRIPTION D'ESTERS DU CHRYSANTHENYLE**

A notre connaissance, l'huile essentielle d'*Anthemis maritima* n'a encore jamais été décrite. Dans cette deuxième partie de chapitre, nous présentons l'étude d'huiles essentielles préparées à partir de matériel végétal récolté en Corse et en Sardaigne. En tirant partie des similitudes et des différences des compositions chimiques de ces huiles, nous avons mis en place une stratégie d'analyse permettant d'identifier une série de composés qu'il ne nous avait pas été possible de séparer les uns des autres et dont les données spectrales, pour la plupart d'entre eux, sont absentes de la littérature. Cette partie a fait l'objet d'une publication parue dans *Phytochemical Analysis*.<sup>203</sup>

### 1-Etude de l'huile essentielle d'*A. maritima* de Corse.

#### 1-1-Analyse préliminaire et fractionnement.

L'étude des échantillons d'*A. maritima* originaire de Corse, a été menée sur des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation à partir de matériel végétal récolté en 6 stations au cours des mois de juin et juillet 2006 ; le rendement moyen est faible (0,015 %). Les stations sont peu denses, la plante pousse de façon éparse et généralement sur des zones littorales où elle a un intérêt écologique. L'huile essentielle de chaque station a été soumise à l'analyse par CPG-DIF et CPG/SM. Cette analyse préliminaire met en évidence des analogies dans les profils chromatographiques des différents échantillons; une étude statistique de la variabilité est exposée dans le chapitre III. Dans la perspective d'un fractionnement, toutes ces huiles essentielles ont été cumulées et nous avons ainsi obtenu 4 g d'une huile essentielle collective dénommée dans la suite « huile essentielle de Corse ».

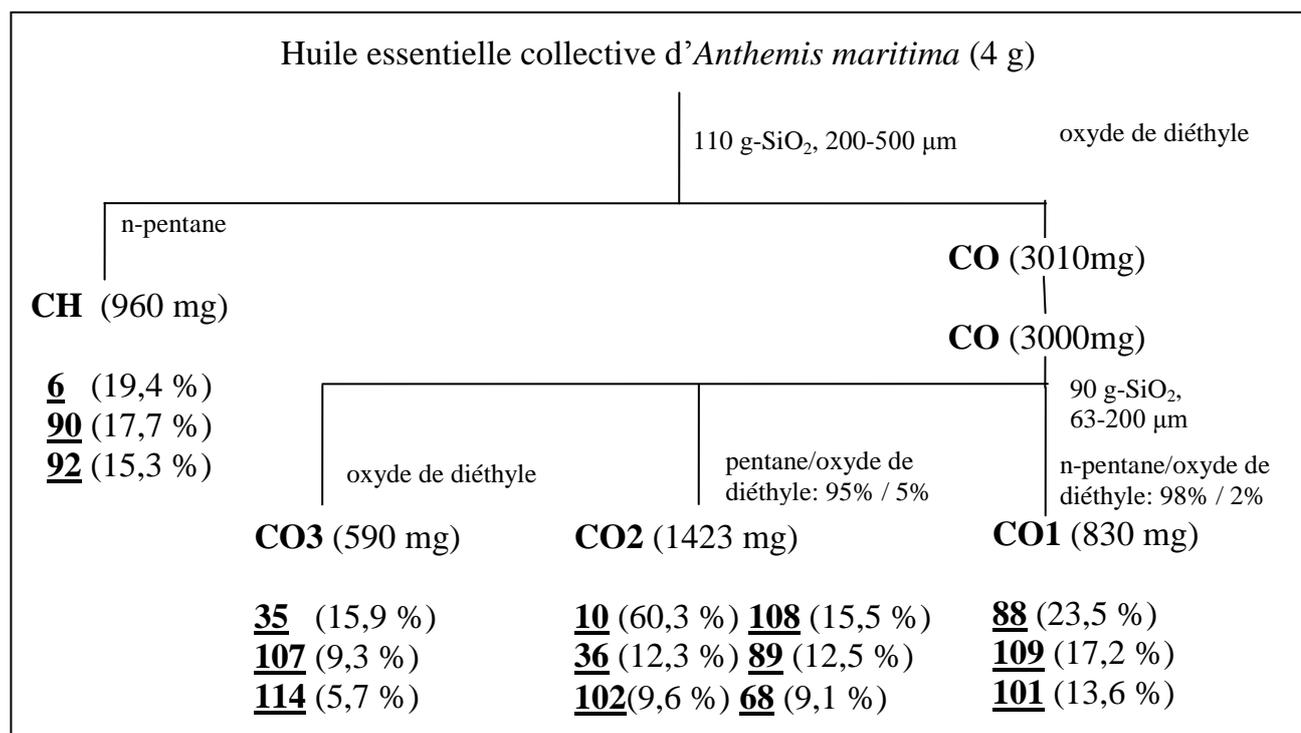
Les analyses par CPG-Ir et CPG/SM-IE de l'huile essentielle de Corse avant fractionnement ont permis d'identifier 66 composés (**tableau II.3** en fin de partie B)

représentant 61,6 % de la composition chimique de l'huile essentielle. Les identifications ont été réalisées à partir des bibliothèques de spectres de masse et d'indices de rétention « Arômes » du laboratoire pour 55 d'entre eux ; les 11 autres ont été identifiés sans ambiguïté à l'aide des bibliothèques commerciales, leurs noms sont suivis de la référence de la bibliothèque dans le **tableau II.3**. Outre ces composés, figurent 10 composés : **56**, **61**, **68**, **72**, **78**, **88**, **89**, **101**, **102** et **109**, dont les abondances varient de 0,1 à 6,8% et qui représentent globalement 25,5 % de la composition chimique de l'huile essentielle. Leurs spectres de masse enregistrés en IE présentent des similitudes certaines ; les bibliothèques d'indices de rétention et de spectres de masse ne proposent aucune structure plausible. Ces dix composés Non Identifiés (NI) sont notés en gras dans le **tableau II.3**.

Les composés majoritaires sont le 6-méthylhept-5-èn-2-one **10** (19,3 %), NI **88** (6,8 %), NI **89** (5,9 %), l' $\alpha$ -pinène **6** (4,9 %), NI **109** (4,9 %), le bicyclogermacrène **92** (4,8 %), le germacrène D **90** (4,3 %) et NI **101** (3,8 %). Les autres constituants n'excèdent pas 2,3 %.

L'huile essentielle a été fractionnée sur colonne ouverte, avec un mélange pentane /oxyde de diéthyle comme éluant, selon le schéma donné à la **figure II.4**. Un premier fractionnement, réalisé avec de la silice de forte granulométrie a conduit à une fraction hydrocarbonée ( $n\text{-C}_5\text{H}_{12}$  : 100%) et à une fraction oxygénée ( $\text{Et}_2\text{O}$  : 100%). Le fractionnement de cette dernière par une chromatographie à l'aide de silice de plus faible granulométrie a conduit à l'obtention de 3 fractions. Ces fractions ont été analysées en CPG-Ir et CPG/SM-IE. Ainsi, 21 composés supplémentaires ont été identifiés.

A ce stade de l'étude, nous avons identifié 87 composés représentant 62,7 % de la composition chimique de l'huile essentielle, 63 composés ont été identifiés avec notre bibliothèque « Arômes » et 24 avec les bibliothèques commerciales à notre disposition.



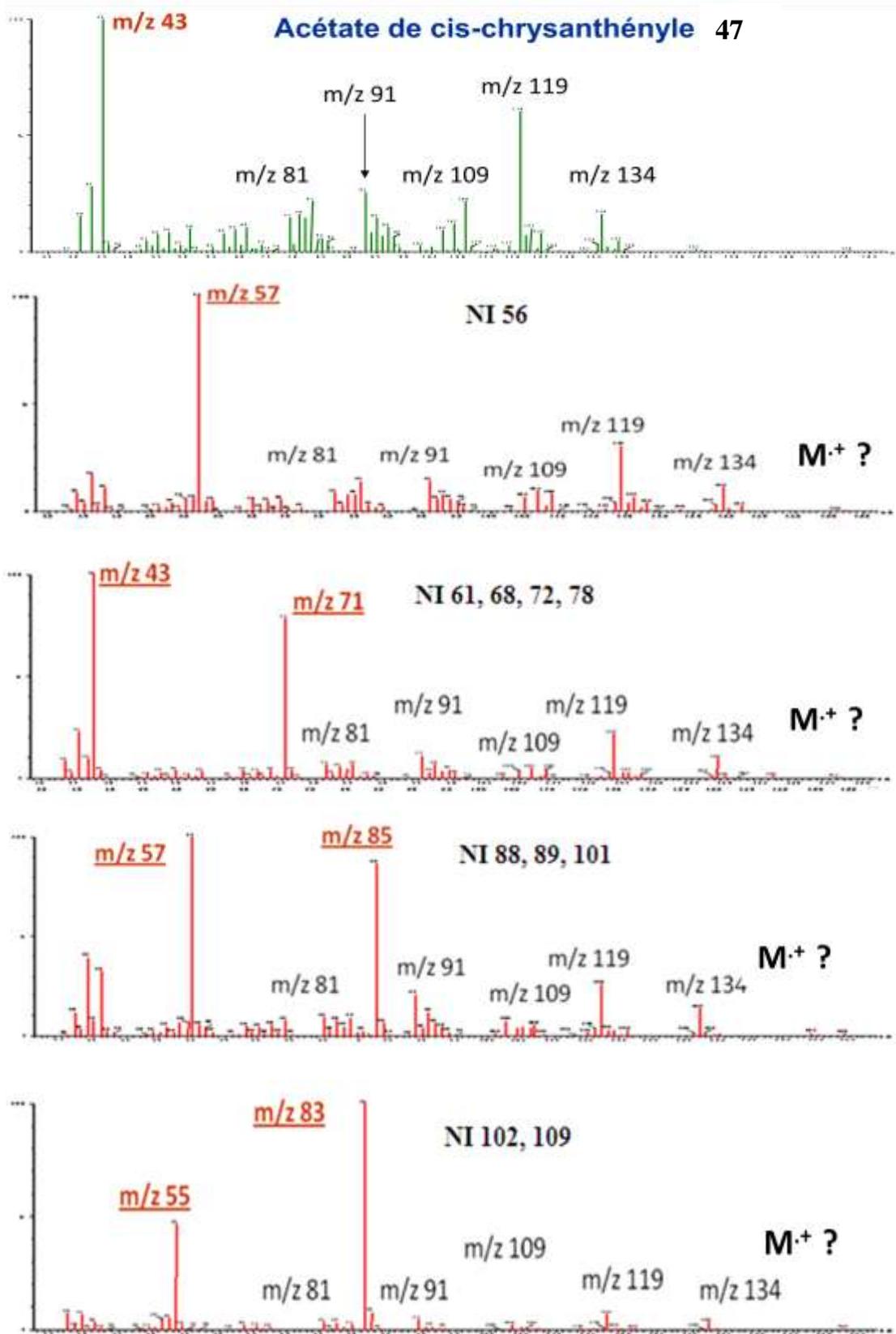
**Figure II.4** : Schéma de fractionnement de l'huile essentielle d'*A. maritima* de Corse sur colonne de gel de silice.

### 1.2-Etude des composés non identifiés.

L'ensemble des composés non identifiés NI précités est présent dans la fraction oxygénée **CO1**, celle-ci a été analysée en outre par CPG/SM-IC.

#### ***Etude de la fraction CO1 par CPG/SM-IE***

Outre les composés NI, la fraction **CO1** contient les esters et les oxydes de l'huile essentielle. Les spectres de masse des composés NI enregistrés en mode IE montrent de nombreuses similitudes entre eux mais également avec celui de l'acétate de *cis*-chrysanthényle **47** repéré dans cette même fraction. En effet, les ions à  $m/z$  81, 91, 109, 119 et 134 sont présents sur tous les spectres étudiés. Ces derniers diffèrent seulement par un ou deux ions soulignés sur la **figure II.5**. On note également l'absence systématique de l'ion moléculaire  $M^+$ .



**Figure II.5** : Spectres de masse en mode IE de l'acétate de *cis*-chrysanthényle **47** et des 10 composés NI.

A partir de ce qui précède, nous pouvons raisonnablement faire l'hypothèse que les composés NI constituent une série d'esters du *cis*-chrysanthénol. Toutefois, la masse et la nature du fragment carboxylate ainsi que la stéréochimie de la molécule ne peuvent être déterminées sur la base de cette seule analyse des spectres IE.

Il est à noter que les esters du chrysanthényle sont cités dans plusieurs publications relatives à la tribu des *Anthemideae*<sup>140,204,205</sup>. Signalons également que seules les données spectrales de RMN du carbone-13 et du proton des acétates sont décrites dans la littérature<sup>206,207</sup>; le *cis*-propionate de chrysanthényle a été, quant à lui, uniquement décrit par RMN du proton<sup>205</sup>. Toutes les tentatives de fractionnement de la fraction **CO1** en vue d'isoler les NI se sont révélées inefficaces.

### ***Etude de la fraction CO1 par CPG/SM-IC***

La fraction **CO1** a été analysée par CPG/SM-IC avec le méthane et l'ammoniac comme gaz réactants. Les trop faibles teneurs en NI **61** (0,5 %) et **72** (à l'état de trace) dans la fraction n'ont pas permis d'obtenir de spectres de masse exploitables en mode IC. Nous n'avons pas rencontré cette difficulté pour les huit autres composés NI présents avec une abondance d'au moins 2,2 %.

Dans chaque cas, les spectres en ICP-NH<sub>3</sub> de ces 8 composés permettent l'observation de l'ion pseudo moléculaire [M+H]<sup>+</sup>.

Les spectres en ICN-NH<sub>3</sub> fournissent davantage d'informations. Outre l'ion pseudo moléculaire [M-H]<sup>-</sup>, les spectres comportent notamment deux ions :

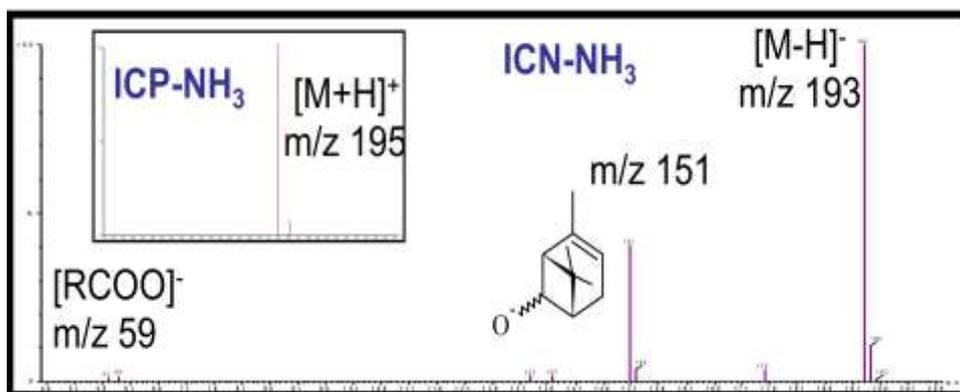
- (i) [RCOO]<sup>-</sup> à m/z variable, caractéristique de la masse de l'ion carboxylate. Le défaut de masse correspondant à la partie alkyle a une valeur constante de 135.
- (ii) [M-RCO]<sup>-</sup> à m/z 151 correspondant à l'ion alcoolate et caractéristique du fragment chrysanthénolate dans les esters correspondants. Le défaut de masse correspond à la partie acyle de l'ester.

Sur chacun des spectres en ICP-CH<sub>4</sub>, on observe l'ion [M-RCOO]<sup>+</sup> de masse m/z 135, relatif à la partie alkyle et caractéristique du cation chrysanthényle après perte de l'ion carboxylate dans les esters correspondants.

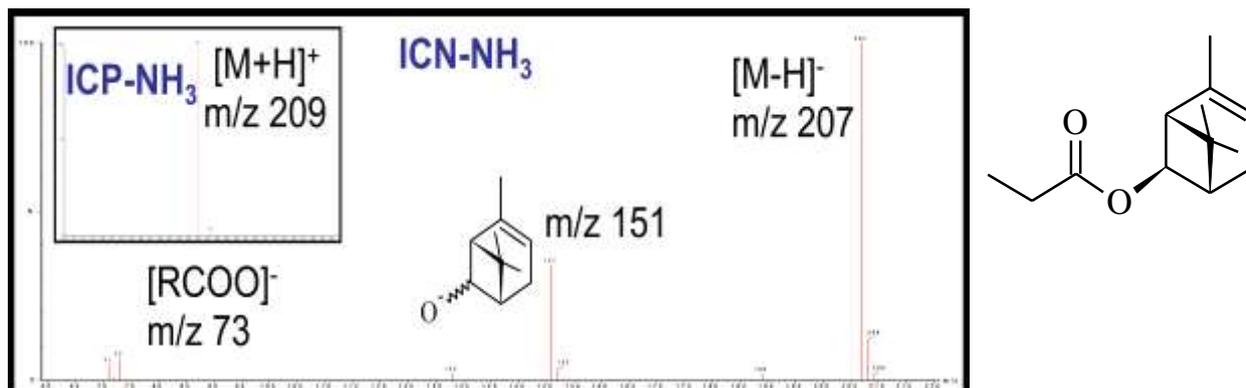
Toutes ces informations sont concordantes et nous permettent de mieux cerner la structure des molécules sans qu'il soit possible d'être plus précis à ce stade de l'étude:

- Le composé NI **56**, de masse molaire 208, est identifié comme étant le propionate de *cis*-chrysanthényle.
- Les composés NI **68** et **78**, de masse molaire 222, sont : l'un le butyrate et l'autre l'isobutyrate de *cis*-chrysanthényle. Par analogie de spectre CPG/SM-IE nous pouvons supposer que **61** et **72** sont : l'un le butyrate et l'autre l'isobutyrate de *trans*-chrysanthényle.
- Les composés NI **88**, **89** et **101**, de masse molaire 236, sont le valérate, l'isovalérate et le 2 méthylbutyrate de *cis*-chrysanthényle.
- Les composés NI **102** et **109**, de masse molaire 234, sont, l'un l'angélate et l'autre le tiglate de *cis*-chrysanthényle.

A titre d'exemple, pour illustrer le raisonnement menant à nos conclusions, les figures II.6.a et II.6.b montrent les spectres en IC-NH<sub>3</sub> de l'acétate de *cis*-chrysanthényle et du propionate de *cis*-chrysanthényle. Les spectres des autres composés présentés en première partie des annexes sont pareillement interprétables.



**Figure II.6.a** : Spectres enregistrés en ICP-NH<sub>3</sub> et ICN-NH<sub>3</sub> de l'acétate de *cis*-chrysanthényle **47**.



**Figure II.6.b** : Spectres enregistrés en ICP-NH<sub>3</sub> et ICN-NH<sub>3</sub> du propionate de *cis*-chrysanthényle **56**.

#### 2-Etude de l'huile essentielle d'*A. maritima* de Sardaigne.

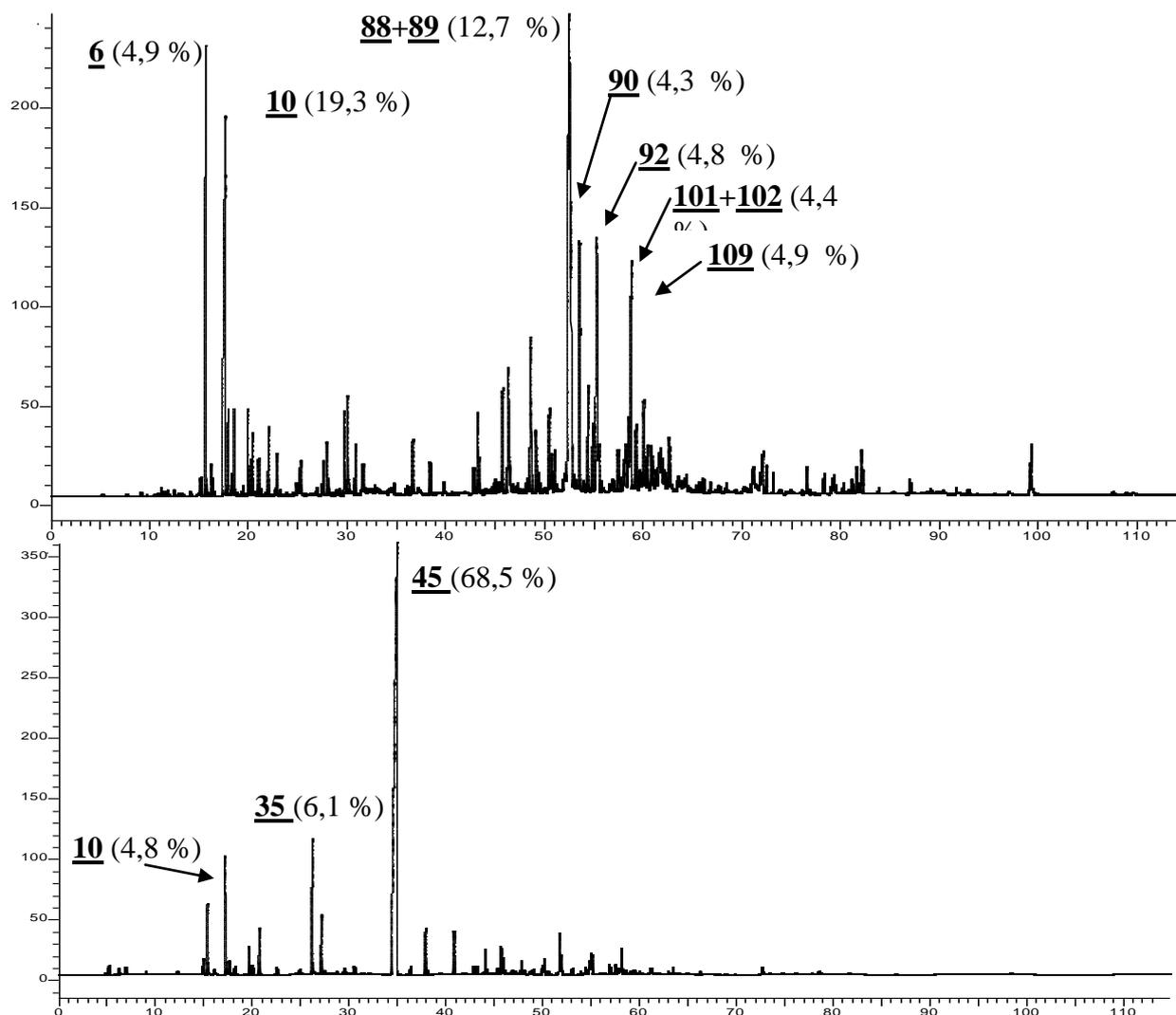
Nous avons procédé à un travail analogue sur les huiles essentielles de Sardaigne. Le profil chromatographique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation à partir de matériel végétal récolté sur une plage située à 5 kilomètres à l'ouest de Cagliari a plus particulièrement retenu notre attention. Afin de mener une étude approfondie nous avons préparé 7 grammes de cette huile essentielle.

Les analyses par CPG-Ir et CPG/SM-IE ont permis d'identifier 57 composés repris au **tableau II.3** représentant 85,0 % de la composition chimique de l'huile essentielle. Un numéro donné correspond à un seul et même composé que l'huile essentielle provienne de Corse ou de Sardaigne.

Bien qu'identifiés avec une probabilité hautement significative sur la base des propositions des bibliothèques commerciales, les composés **35** (*trans*-chrysanthénol : 6,1 %) et **45** (acétate de *trans*-chrysanthényle : 68,5 %) ont fait l'objet d'une confirmation par RMN en raison de leur importance comme intermédiaires de synthèse dans la suite de l'étude. En outre, 14 composés non identifiés notés NI ont été repérés (**53**, **56**, **61**, **68**, **72**, **78**, **81**, **82**, **88**, **89**, **93**, **101**, **102** et **109**), parmi lesquels 10 étaient déjà présents dans l'huile essentielle d'*A. maritima* de Corse. Le profil

chromatographique de cette huile essentielle est qualitativement et quantitativement différent de celui de l'échantillon de Corse.

Les deux profils sont repris en comparaison à la **figure II.7**.

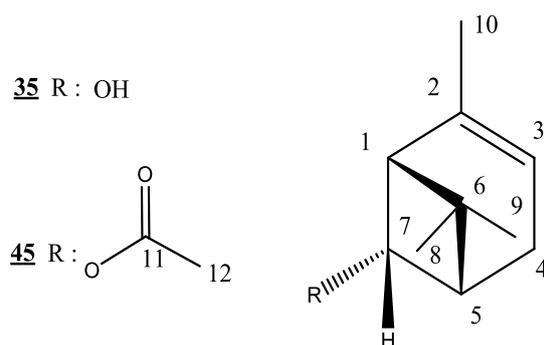


**Figure II.7:** Chromatogrammes des huiles essentielles d'*A. maritima* de Corse (partie supérieure) et de Sardaigne (partie inférieure).

L'huile essentielle a été fractionnée sur colonne ouverte de façon tout à fait semblable à celle de l'huile essentielle de Corse (**figure II.4**). Nous avons obtenu 4 fractions : SH (n-C<sub>5</sub>H<sub>12</sub> : 100%, 0,36 g), SO1 (n- C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 98/2, 4,06 g), SO2 (n-

C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 95/5, 0,75 g) et SO<sub>3</sub> (Et<sub>2</sub>O :100 %, 1,48 g). Toutes les fractions ont été analysées en CPG-Ir et CPG/SM-IE. Les spectres de RMN du carbone-13 des fractions **SO1** contenant **45** (71,0 %) et **SO3** contenant **35** (52,9 %) ont été enregistrés et par comparaison avec les valeurs de déplacements chimiques décrites dans la littérature,<sup>207</sup> nous avons confirmé les identifications du *trans*-chrysanthénol **35** et de l'acétate de *trans*-chrysanthényle **45** (**tableau II.4**). Tous les carbones ont été repérés y compris les carbones quaternaires, les superpositions de carbones étant limitées. Les variations de déplacements chimiques entre les valeurs mesurées dans les fractions et celles décrites dans la littérature n'excèdent pas 0,08 ppm pour **45** et 0,42 ppm pour **35**.

Carbones	$\delta^{207}$ (ppm)	$\delta$ <b>45</b> (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)	$\delta^{207}$ (ppm)	$\delta$ <b>35</b> (ppm)	$\Delta\delta$ (ppm)
1	52,50	52,57	0,07	55,20	54,83	0,37
2	135,30	135,31	0,01	137,80	138,09	0,29
3	118,60	118,57	0,03	119,00	118,97	0,03
4	26,90	26,85	0,05	25,80	25,85	0,05
5	44,50	44,46	0,04	46,30	45,88	0,42
6	32,10	32,10	0,00	31,70	31,94	0,24
7	66,60	66,52	0,08	62,90	62,70	0,20
8	26,20	26,22	0,02	29,70	29,71	0,01
9	19,00	19,02	0,02	19,00	18,94	0,06
10	23,10	23,10	0,00	23,70	23,79	0,09
11	171,20	171,10	0,10			
12	21,00	21,01	0,01			



**Tableau II.4:** Structures et déplacements chimiques ( $\delta$ , ppm dans CDCl<sub>3</sub>) de l'acétate de *trans*-chrysanthényle **45** et du *trans*-chrysanthénol **35** mesurés dans **SO1** et **SO3** identifiés par comparaison avec les données de la littérature.<sup>207</sup>

Après fractionnement nous avons identifié 79 composés dont 60 à partir de notre bibliothèque « Arômes » et 19 à partir des bibliothèques commerciales. Les composés majoritaires sont l'acétate de *trans*-chrysanthényle **45** (68,5 %), le *trans*-chrysanthénol **35** (6,1 %) et le 6-méthylhept-5-èn-2-one **10** (4,8 %). Les autres constituants identifiés n'excèdent pas 1,5 %.

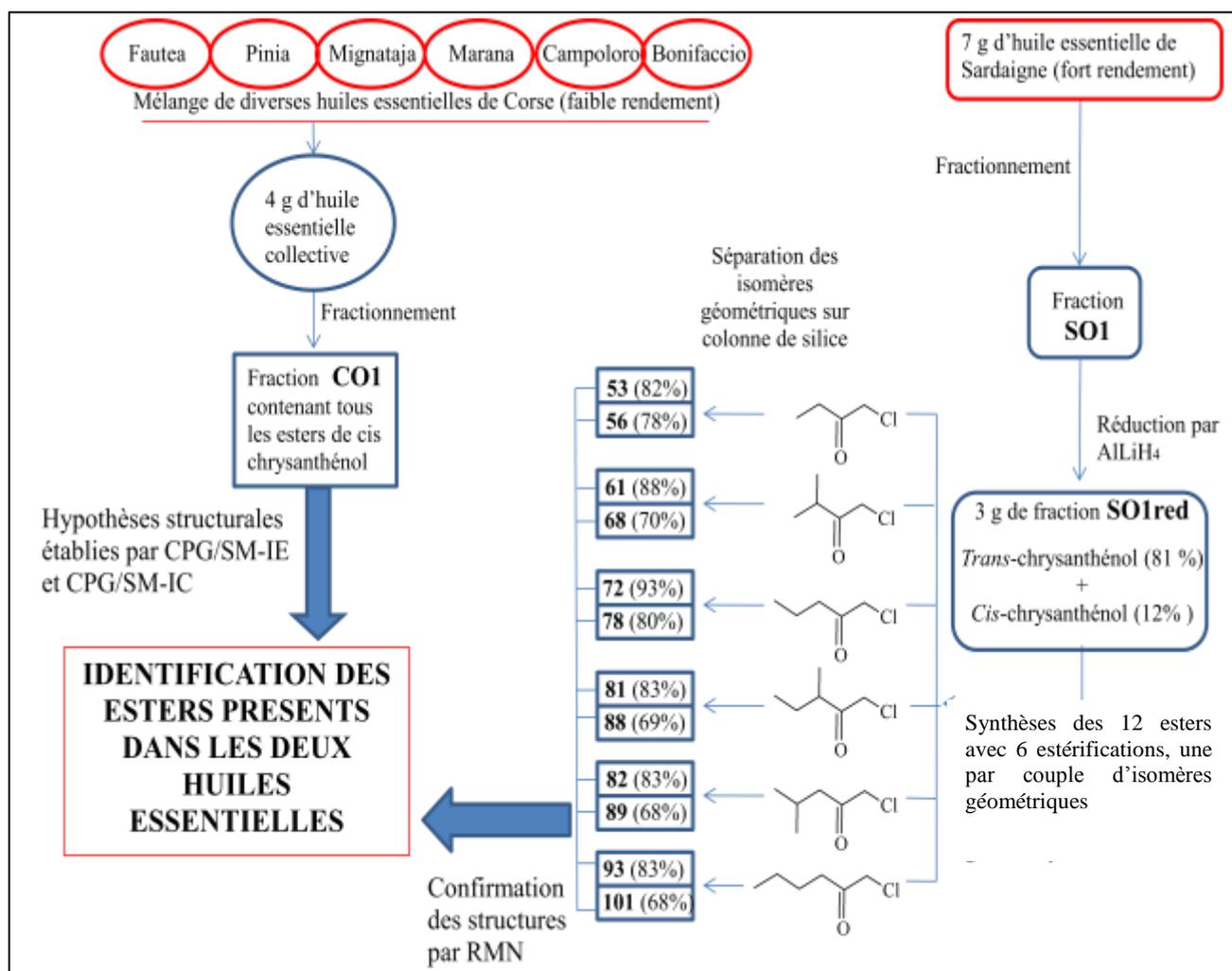
### 3-Stratégie d'identification des esters de chrysanthényle.

Les spectres en IE des composés NI **53**, **81**, **82** et **93** présentent les mêmes analogies entre eux et avec les spectres des 10 autres composés NI repérés dans l'huile essentielle d'*A. maritima* de Corse. Cela nous conduit à penser que nous sommes également en présence d'un mélange de *cis* et *trans* esters de chrysanthényle. Sur la base des spectres en CPG/SM-IE nous pouvons supposer que :

- Le composé NI **53**, de masse molaire 208, est le propionate de *trans*-chrysanthényle.
- Les composés NI **81**, **82** et **93**, de masse molaire 236, sont l'isovalérate, le 2 méthylbutyrate et le valérate de *trans*-chrysanthényle.
- 

Les hypothèses établies sur la base de l'analyse des spectres IC des esters de l'huile de Corse, d'une part, et sur les similitudes de spectre IE entre esters de Corse et de Sardaigne, d'autre part, doivent être confirmées pour valider les identifications. De plus, les différenciations entre isomères géométriques et isomères de squelette ne peuvent être établies sur la base de ces analyses. L'impossibilité de purifier efficacement les esters à partir des deux huiles essentielles étudiées, nous a conduits à mettre en œuvre une stratégie d'analyse qui, après avoir intégré les apports et orientations de la CPG/SM-IE et IC sur les esters de l'huile essentielle de Corse, va utiliser les esters de l'huile essentielle de Sardaigne comme support à la synthèse des esters de chrysanthénol.

Du fait des rendements importants de l'huile essentielle de Sardaigne (0,09 %) et de sa forte teneur en esters de chrysanthénoyl, nous disposons potentiellement d'une quantité de chrysanthénoyl suffisante pour réaliser toutes les héli-synthèses. Les données RMN des composés synthétisés vont ainsi permettre de valider l'identification des esters présents dans les deux huiles essentielles. Notre stratégie est reprise de façon schématique dans la **figure II.8**.



**Figure II.8:** Stratégie mise en œuvre pour l'identification des esters de chrysanthényle présents dans les huiles essentielles d'*A. maritima* de Corse et de Sardaigne.

### 3.1-Hémi-synthèse des esters.

La réduction par l'hydrure d'aluminium lithium de la fraction **SO1** (3,3 g) a conduit à une fraction **SO1red** de 3015 mg, dominée par le *trans*-chrysanthénol **35** (81,0 %), présent en compagnie du *cis*-chrysanthénol **39** (12,0 %). A partir de **SO1red** et à l'aide des chlorures d'acides correspondant nous avons synthétisé les esters suivants : propionate, butyrate, isobutyrate, valérate, isovalérate et 2-méthylbutyrate de *cis* et *trans* chrysanthényle conformément aux hypothèses faites sur la base des spectres en CPG/SM-IC et IE. Chaque ester est obtenu sous forme d'un mélange d'isomères géométriques.

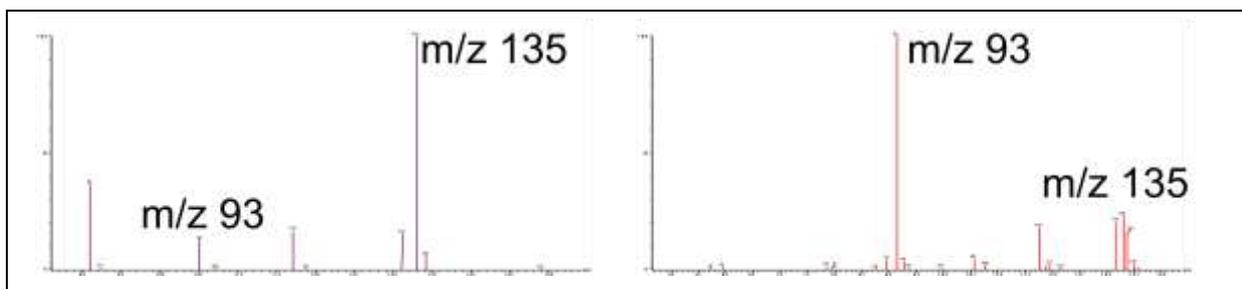
Après séparation sur colonne ouverte de silice de chaque couple d'isomères, les fractions contenant les 12 esters ainsi synthétisés et isolés (voir partie expérimentale) ont fait l'objet d'analyses en CPG-DIF, CPG/SM-IE et IC. Ils ont également été analysé par RMN du carbone-13 et DEPT et lorsque cela a été réalisable nous avons enregistré les spectres de RMN du proton ainsi que les séquences de RMN à deux dimensions : COSY, HSQC et HMBC.

Les indices de rétention mesurés sur colonne apolaire et polaires ainsi que les spectres de masse enregistrés en IE, ICN et ICP avec NH<sub>3</sub> comme gaz réactant des composés ainsi synthétisés, sont totalement en accord avec ceux des composés présents dans les huiles essentielles : **53**, **56**, **61**, **68**, **72**, **78**, **81**, **82**, **88**, **89**, **93** et **101**.

Les cas des NI **102** et **109** ont été traités à part ; supposés être les tiglates et angélates de chrysanthényle, il ne nous a pas été possible de réaliser leur hémi-synthèse.

### 3.2- Contribution de l'ICP-CH<sub>4</sub> à la détermination de la stéréochimie des esters de chrysanthényle.

En utilisant le mode l'ICP-CH<sub>4</sub>, les spectres de masse des 14 esters étudiés se répartissent en deux types de spectres tels que donnés à la **figure II.9**, à l'instar des spectres que nous observons pour les acétates de *cis* et de *trans* chrysanthényle (**45**, **47**) respectivement.

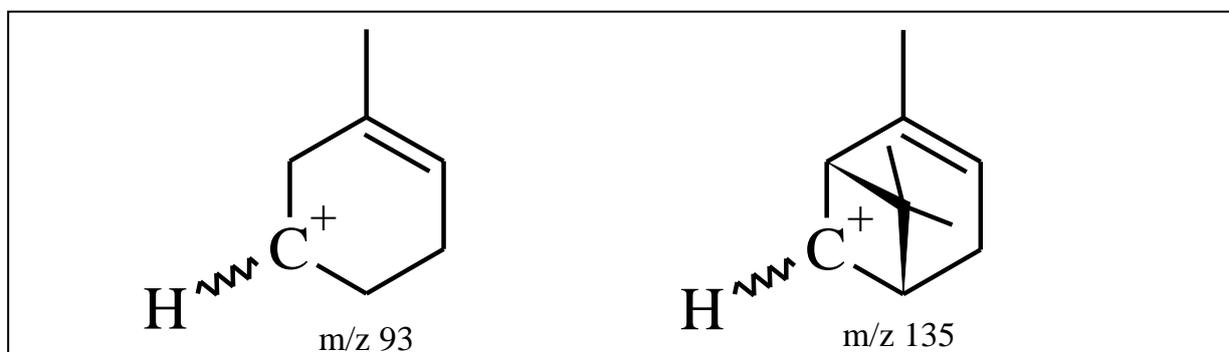


**Figure II.9** : A gauche, le spectre ICP-CH<sub>4</sub> de l'acétate de *cis*-chrysanthényle **47**. A droite le spectre ICP-CH<sub>4</sub> de l'acétate de *trans*-chrysanthényle **45**.

Les deux ions caractéristiques apparaissent à m/z 93 et m/z 135 ; le premier est pic de base de l'acétate de *trans*-chrysanthényle **45** tandis que le second est pic de base de l'acétate de *cis*-chrysanthényle **47**. Par extrapolation de cette observation, nous pouvons déterminer la stéréochimie *cis* et *trans* des divers composés.

Ainsi les spectres des composés **45**, **53**, **61**, **72**, **81**, **82** et **93** présentant tous l'ion m/z 93 comme pic de base, correspondent donc aux esters de *trans*-chrysanthénol tandis que les spectres des composés **47**, **56**, **68**, **78**, **88**, **89**, **101**, **102** et **109** admettant l'ion à m/z 135 comme pic de base, correspondent aux esters de *cis*-chrysanthénol.

L'ion m/z 135 (**figure II.10**) provient de la perte du fragment carboxylate à partir de l'ion moléculaire et l'ion m/z 93 provient de la perte du carbone diméthylé suivi de la perte du fragment carboxylate. Il semblerait bien que dans le cas des esters de la série *trans*, l'effet stabilisant de l'hyperconjugaison entre l'orbitale  $\pi$  intracyclique et l'orbitale  $\pi$  du groupement carboxylate favorise la fragmentation du pont carboné.



**Figure II.10** : Structures des ions à m/z 93 et m/z 135 en ICP-CH<sub>4</sub>, caractéristiques de la fragmentation des esters de chrysanthénol selon leur isométrie géométrique.

### 3.3- Contribution de la RMN.

Les 12 esters **53**, **56**, **61**, **68**, **72**, **78**, **81**, **82**, **88**, **89**, **93** et **101** ont fait l'objet d'une analyse et d'une attribution complète des signaux observés sur les spectres de RMN du carbone-13. Ces attributions sont en accord avec les données spectrales des acétates de chrysanthényle déjà décrits dans la littérature<sup>206,207</sup> ; les déplacements chimiques sont repris dans le **tableau II.5**. Nous avons ainsi pu vérifier nos hypothèses, d'une part, et lever l'indétermination sur les isomères géométriques, d'autre part. En outre, nous avons étudié les spectres de RMN du proton et les spectres à deux dimensions COSY, HSQC et HMBC des esters **53**, **56**, **61**, **72**, **78**, **81**, **82**, et **93** ; les données spectrales correspondantes sont rapportées dans le **tableau II.6**.

*In fine* nous confirmons l'identification :

- des propionates de *cis*- et *trans*-chrysanthenyle (composés **56** et **53** respectivement)
- des isobutyrate de *cis*- et *trans*-chrysanthenyle (composés **68** et **61** respectivement)
- des butyrates de *cis*- et *trans*-chrysanthenyle (composés **78** et **72** respectivement)
- des 2-méthylbutyrates de *cis*- et *trans*-chrysanthenyle (composés **88** et **81** respectivement)
- des isovalérates de *cis*- et *trans*-chrysanthenyle (composés **89** et **82** respectivement)
- des valérates de *cis*- et *trans*-chrysanthenyle (composés **101** et **93** respectivement)

Nous constatons, qu'entre les deux séries de stéréoisomères, il y a 14 ppm de différence pour le déplacement chimique de C-7 et 7 ppm pour celui de C-2. On remarque également que dans une même série (*cis* ou *trans*), quelle que soit la longueur de la chaîne du groupement acyle, les déplacements chimiques du C-7 ne varient que très peu. Enfin, pour l'isomère *trans* on observe un effet  $\gamma$  sur le C-9 alors qu'on ne l'observe pas pour les isomères *cis*.

#### ***Identification des composés 102 et 109***

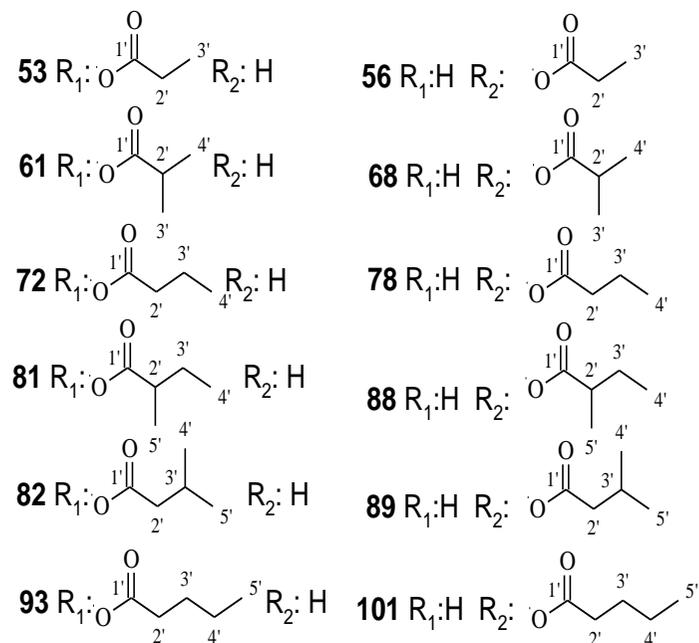
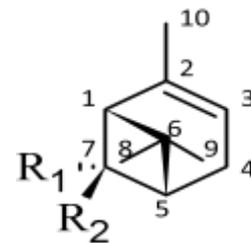
Les spectres de masse ICN-NH<sub>3</sub> des composés **102** et **109** sont en accord avec ceux d'esters de chrysanthénol ; ils mettent en évidence un ion carboxylate [RCOO]<sup>-</sup> à m/z 85 caractéristique d'un ester contenant le motif tiglate ou angélate. Pour ces deux

composés, les spectres enregistrés en ICP-CH<sub>4</sub> sont caractéristiques d'esters du *cis*-chrysanthényle.

L'analyse par RMN du Carbone-13 de la fraction **CO1**, bien que ne permettant pas une attribution complète des déplacements chimiques de chaque carbone (notamment les carbones quaternaires), a permis de confirmer la structure de **102** et **109**. Les 4 signaux des carbones caractéristiques de la partie carboxylate de l'angélate (127,35 ppm, 140,52 ppm, 20,70 ppm et 15,89 ppm) ont été repérés dans le spectre de la fraction analysée, ainsi que les 4 signaux des carbones caractéristiques de la partie carboxylate du tiglate (127,35 ppm, 139,01 ppm, 14,49 ppm et 12,09 ppm). Ces valeurs de déplacements chimiques sont en accord avec celles des motifs angélates et tiglates décrites dans la littérature.<sup>61,201</sup> De même, deux séries de déplacements chimiques de valeurs similaires ont été observées ; ces valeurs sont caractéristiques du fragment alcoolate du *cis*-chrysanthénol.

La confirmation de l'isomérisie *cis* ainsi que l'intensité des signaux des deux séries de 4 carbones du groupe carboxylate ont permis d'identifier : le composé **102** comme étant l'angélate de *cis*-chrysanthényle, (intensité relative des signaux RMN les plus faibles et abondance moins élevée dans la fraction : 13,6 %) et le composé **109** comme étant le tiglate de *cis*-chrysanthényle (intensité relative des signaux RMN les plus fortes et abondance plus élevée dans la fraction : 17,2 %).

Esters de <i>trans</i> -chrysanthenyle							Esters de <i>cis</i> -chrysanthenyle					
C	$\delta$ 53	$\delta$ 61	$\delta$ 72	$\delta$ 81	$\delta$ 82	$\delta$ 93	$\delta$ 56	$\delta$ 68	$\delta$ 78	$\delta$ 88	$\delta$ 89	$\delta$ 101
1	52,56	52,62	52,61	52,71	52,69	52,64	51,50	51,56	51,52	51,57	51,55	51,54
2	135,25	135,20	135,28	135,23	135,33	135,30	142,06	142,11	142,06	142,13	141,02	142,09
3	118,61	118,70	118,64	118,74	119,69	118,64	117,88	117,89	117,88	117,89	117,89	117,89
4	26,85	26,89	26,88	26,90	26,91	26,89	31,82	31,85	31,82	31,55	31,83	31,83
5	44,38	44,34	44,39	44,38	44,45	44,42	45,19	45,25	45,22	45,27	45,27	45,24
6	32,10	32,12	32,12	32,14	32,15	32,12	37,20	37,16	37,20	37,19	37,21	37,21
7	66,24	66,07	66,26	66,15	66,31	66,26	80,07	80,10	80,02	80,05	80,02	80,04
8	26,23	26,25	26,23	26,24	26,24	26,24	26,73	26,74	26,73	26,73	26,73	26,75
9	19,02	19,01	19,03	19,02	19,04	19,03	22,61	22,60	22,62	22,61	22,61	22,61
10	23,10	23,09	23,12	23,13	23,14	23,11	22,53	22,55	22,54	22,55	22,54	22,54
1'	174,46	177,07	173,67	173,73	173,16	173,84	174,14	176,80	173,40	176,48	176,52	173,52
2'	27,77	34,06	36,40	41,27	43,64	34,19	28,11	34,26	36,76	41,37	43,64	34,58
3'	9,05	18,87	18,57	26,82	25,68	27,17	9,05	18,87	18,38	26,83	25,69	26,97
4'		19,06	13,70	11,67	22,43	22,24		19,06	13,72	11,67	22,40	22,29
5'				16,82	22,42	13,73				16,82	22,40	13,73



**Tableau II.5** : Structures et déplacements chimiques de RMN du carbone-13 ( $\delta$ , ppm dans  $CDCl_3$ ) des NI **53**, **56**, **61**, **68**, **72**, **78**, **81**, **82**, **88**, **89**, **93** et **101**.

<b>H</b>	<b>53</b>	<b>61</b>	<b>72</b>	<b>81</b>	<b>82</b>	<b>93</b>	<b>56</b>	<b>78</b>
1	2,52 (1H, ddd, 5,4 ; 5,4 ; 1,9)	2,52 (1H, ddd, 5,4 ; 5,4 ; 1,9)	2,52 (1H, ddd, 5,4 ; 5,4 ; 1,9)	2,52 (1H, ddd, 5,4 ; 5,4 ; 1,9)	2,52 (1H, ddd, 5,4 ; 5,4 ; 1,9)	2,52 (1H, ddd, 5,4 ; 5,4 ; 1,9)	2,14 (1H, m)	2,15 (1H, m)
3	5,35 (1H, m)	5,34 (1H, m)	5,35 (1H, m)	5,35 (1H, m)	5,36 (1H, m)	5,36 (1H, m)	5,26 (1H, m)	5,26 (1H, m)
4	2,09 (2H, m)	2,08 (2H, m)	2,09 (2H, m)	2,1 (2H,m)	2,1 (2H, m)	2,09 (2H, m)	2,33 (2H, m)	2,3 (2H, m)
5	2,33 (1H, tddd, 6,5 ; 5,4 ; 5,4 ; 5,3) 5,4, 5,4, 5,3)	2,32 (1H, tddd, 6,5 ; 5,4 ; 5,4 ; 5,3)	2,32 (1H, tddd, 6,5 ; 5,4 ; 5,3)	2,31 (1H, tddd, 6,5 ; 5,4 ; 5,4 ; 5,3) 5,4, 5,4, 5,3)	2,31 (1H, tddd, 6,5 ; 5,4 ; 5,4 ; 5,3) 5,4, 5,3)	2,32 (1H, tddd, 6,5 ; 5,4 ; 5,4 ; 5,3) 5,4, 5,4, 5,3)	2,14 (1H, m)	2,15 (1H, m)
7	4,98 (1H, dd, 5,4 ; 5,4)	4,96 (1H, dd, 5,4 ; 5,4)	4,98 (1H, dd, 5,4 ; 5,4)	4,98 (1H, dd, 5,4 ; 5,4)	4,98 (1H, dd, 5,4 ; 5,4)	4,98 (1H, dd, 5,4 ; 5,4)	4,53 (1H, s)	4,53 (1H, s)
8	1,26 (3H, s)	1,24 (3H, s)	1,26 (3H, s)	1,26 (3H, s,)	1,26 (3H, s)	1,26 (3H, s)	1,43 (3H, s)	1,44 (3H, s)
9	0,9 (3H, s)	0,88 (3H, s)	0,9 (3H, s)	0,92 (3H, s)	0,92 (3H, s)	0,9 (3H, s)	0,91 (3H, s)	0,92 (3H, s)
10	1,59 (3H, td, 1,9)	1,57 (3H, td, 1,9)	1,6 (3H, td, 1,95)	1,6 (3H, td, 1,9)	1,6 (3H, td, 1,9)	1,6 (3H, td, 1,9)	1,69 (3H, dd, 1,9)	1,67 (3H, dd, 1,9)
2'	2,26 (2H, q, 7,6)	2,48 (1H, hept, 7,5)	2,23 (2H, td, 7,4, 1,0)	2,29 (1H, br)	2,12 (2H, d, 3,8,	2,25 (2H, td 5,6 ; 1,5)	2,37 (2H,q, 7,6)	2,32 (2H, t, 7,5)
3'	1,16 (3H, t, 7,6)	1,11 (6H, d, 7,4)	1,61 (2H, sept, 7,4)	2,2 (2H, q, 7,4)	2,04 (1H, m, 7,7)	1,54 (2H, quint, 7,7)	1,16 (3H, t, 7,5)	1,68 (2H, sept, 7,4)
4'		1,11 (6H, d, 7,4)	0,93 (3H, t, 7,4)	1,32 (6H, d, 7,4)	0,9 (3H, m)	1,32 (2H, sept, 7,7)		0,97 (3H, t, 7,5)
5'				1,32 (6H, d, 7,4)	1,08 (3H, m)	0,9 (3H, t, 7,2)		

*Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm dans le CDCl<sub>3</sub>. Entre parenthèses, sont précisés successivement : le nombre d'hydrogène correspondant au signal, la multiplicité du signal et la valeur de la constante de couplage (Hz) entre protons.*

**Tableau II.6** : Données RMN du proton des composés NI **53**, **56**, **61**, **72**, **78**, **81**, **82**, et **93**

#### 4- Bilan de l'étude des huiles essentielles d'*A. maritima*.

L'élaboration d'une stratégie d'analyse adaptée aux difficultés d'identification des composés inconnus, ainsi qu'aux spécificités des huiles essentielles d'*A. maritima* de Corse et de Sardaigne a conduit à l'identification de 14 esters du chrysanthénol. L'utilisation synergique de la CPG/SM-IE et de la CPG/SM-IC pour l'huile essentielle de Corse, d'une part, puis la réalisation d'hémi-synthèses à partir de l'huile essentielle de Sardaigne et le recours à la RMN, d'autre part, ont permis de décrire complètement 12 de ces 14 esters. A notre connaissance seuls les acétates de chrysanthényle étaient complètement décrits et, à l'exception des valeurs de déplacements chimiques des protons du propionate de *cis*-chrysanthényle<sup>206</sup>, aucune donnée spectrale de RMN n'était rapportée dans la littérature sur les autres esters de chrysanthényles. L'identification du tiglate et de l'angélate de *cis*-chrysanthényle est validée par le faisceau d'indices concordants issus de l'apport (i) de l'ICP et ICN-NH<sub>3</sub> pour la détermination de la masse ; (ii) de l'ICP-CH<sub>4</sub> pour la détermination de l'isomérisation géométriques des esters et (iii) de la RMN du Carbone-13 appliquée à ces deux composés en mélange pour validation des deux structures.

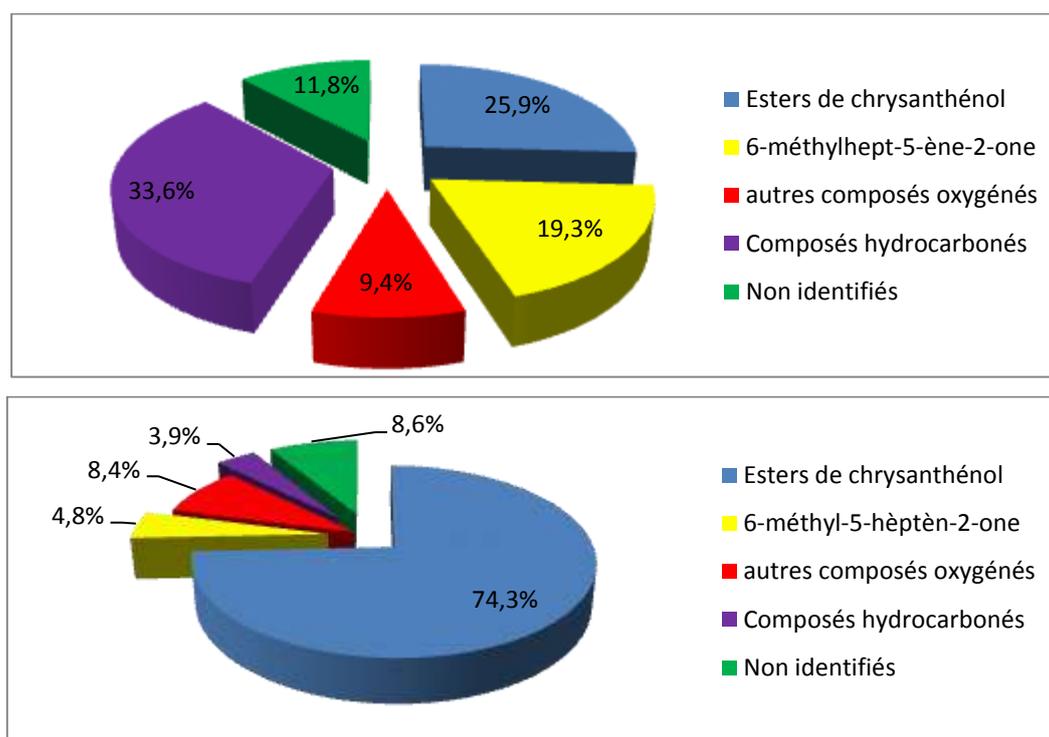
Par ces travaux nous avons également décrit l'huile essentielle d'*A. maritima* qui n'avait fait l'objet d'aucune publication auparavant. Nous avons identifié 93 composés représentant 91,4 % de l'huile essentielle d'*A. maritima* de Sardaigne et 97 composés représentant 88,2 % de l'huile essentielle d'*A. maritima* de Corse, soit 124 composés différents au total.

Les compositions chimiques des huiles essentielles des deux provenances sont nettement différentes comme l'illustrent les diagrammes de la **figure II.11**. Dans l'huile essentielle de Cagliari, les esters de chrysanthényle et les chrysanthénols d'isomérisation *trans*, représentent la majeure partie de la composition chimique (78,2 %). L'acétate de *trans*-chrysanthényle **45** est le composé dominant (68,5 %) suivi du *trans*-chrysanthénol **35** (6,1 %) et de la 6-méthyl-5-heptèn-2-one **10** (4,8 %).

L'huile essentielle de Corse a une teneur plus importante en composés hydrocarbonés (33,6 %), notamment en sesquiterpènes hydrocarbonés (19,5 %). Néanmoins, les composés oxygénés représentent la majeure partie de la composition de cette huile (54,1 %) notamment les esters de *cis*-chrysanthényle (28,3 %). Les

composés majoritaires sont le 6-méthylhept-5-èn-2-one **10** (19,8 %), le 2-méthylbutyrate de *cis*-chrysanthényle **88** (6,8 %), l'isovalérate de *cis*-chrysanthényle **89** (5,9 %), l' $\alpha$ -pinène **6** (4,9 %) et le bicyclogermacrène **92** (4,8 %).

Les esters de chrysanthényle présents en abondance dans les deux échantillons étudiés, sont des métabolites secondaires provenant du cation pinyle issu du nérylpyrophosphate.<sup>202,208</sup> Parmi ces esters, les acétates de chrysanthényle, sont très fréquemment retrouvés dans les plantes du genre *Anthemis*, et plus généralement au sein de la vaste tribu *Anthemideae*, notamment dans les genres *Artemisia*,<sup>204,205</sup> *Tanacetum*<sup>209,210</sup> et *Chrysanthemum*.<sup>211</sup> Néanmoins la présence des autres esters de chrysanthényle, tout particulièrement dans l'huile essentielle d'*A. maritima* de Corse, rend la composition chimique de cette huile essentielle originale ; ces esters n'ayant été recensés en grand nombre que dans l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* d'Algérie.<sup>204</sup>



**Figure II.11** : Représentation graphique des compositions chimiques des huiles essentielles d'*A. maritima* de Corse (en haut) et de Sardaigne (en bas) en fonction des familles chimiques.

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	HE de Corse avant fractionnement	Fractions				HE de Corse en fin d'étude	HE de Sardaigne avant fractionnement	Fractions				HE de Sardaigne en fin d'étude
						CH	CO1	CO2	CO3			SH	SO1	SO2	SO3	
1	(Z)-3-Hexèn-1-ol <sup>52</sup>	832	831	1380	-	-	-	-	0,3	t	-	-	-	-	-	-
2	Santolinatriène	909	905	1018	t	0,1	-	-	-	t	-	0,3	-	-	-	0,3
3	$\alpha$ -Thujène	932	928	1023	0,1	0,1	-	-	-	0,1	0,1	0,2	-	-	-	0,1
4	(E)-Hept-2-ènal <sup>52</sup>	931	929	1315	-	-	-	0,1	-	t	-	-	-	-	-	-
5	Benzaldéhyde <sup>38</sup>	932	929	1525	-	-	0,3	t	-	t	-	-	-	-	-	-
6	$\alpha$ -Pinène	936	931	1022	4,9	11,4	-	-	-	4,9	0,6	5,7	-	-	-	0,6
7	$\alpha$ -Fenchène	941	942	1047	0,1	0,2	-	-	-	0,1	-	0,2	-	-	-	t
8	Camphène	942	943	1066	-	0,5	-	-	-	0,2	0,2	0,5	-	-	-	0,2
9	Octèn-3-ol	962	964	1477	-	-	-	-	0,1	t	-	-	-	-	0,1	t
10	6-Méthylhept-5-èn-2-one	972	966	1320	19,3	-	-	60,3	-	19,3	4,8	-	-	67,3	-	4,8
11	Sabinène	973	968	1103	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	t
12	$\beta$ -Pinène	978	975	1089	2,3	4,5	-	-	-	2,3	-	0,7	-	-	-	0,1
13	6-Méthylhept-5-èn-2-ol	986	979	1450	-	-	-	-	0,2	t	-	-	-	-	0,1	t
14	Myrcène	987	984	1135	1,7	3,0	-	-	-	1,7	0,1	3,5	-	-	-	0,1
15	Déhydro-1,8-cinéole	993	989	1170	-	-	-	-	-	-	t	-	0,1	-	-	t
16	$\alpha$ -Phellandrène	1002	999	1164	-	0,1	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-
17	$\Delta$ -3-Carène	1010	1008	1126	0,7	2,9	-	-	-	0,7	0,3	2,2	-	-	-	0,3
18	meta-Cymène-	1013	1011	1142	0,2	0,8	-	-	-	0,2	0,2	1,0	-	-	-	0,2
19	para-Cymène	1015	1014	1139	0,2	1,6	-	-	-	0,2	0,1	1,5	-	-	-	0,1
20	Phénylacétaldehyde	1012	1016	1616	t	-	-	t	-	t	-	-	-	-	-	-
21	1,8-Cinéole	1024	1022	1196	0,4	-	0,6	-	-	0,4	0,4	-	1,8	-	-	0,4
22	Limonène	1025	1023	1174	-	0,4	-	-	-	t	-	3,1	-	-	-	t
23	(Z)- $\beta$ -Ocimène	1029	1024	1230	t	0,2	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-
24	(E)- $\beta$ -Ocimène <sup>38</sup>	1039	1038	1247	0,2	0,3	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-
25	ortho-Crésol <sup>38</sup>	1042	1042	1927	-	-	-	-	-	-	t	-	-	-	0,1	t
26	$\gamma$ -Terpinène	1051	1051	1220	0,4	0,9	-	-	-	0,4	0,1	1,1	-	-	-	0,1

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	HE de Corse avant fractionnement	Fractions				HE de Corse en fin d'étude	HE de Sardaigne avant fractionnement	Fractions				HE de Sardaigne en fin d'étude
						CH	CO1	CO2	CO3			SH	SO1	SO2	SO3	
27	<i>trans</i> -hydrate de Sabinène <sup>54</sup>	1053	1055	1452	-	-	-	-	-	-	t	-	-	-	0,2	t
28	Octanol	1063	1063	1532	t	-	-	-	t	t	t	-	-	-	0,2	t
29	para-Cyménène	1075	1074	1432	t	t	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-
30	Terpinolène <sup>38</sup>	1076	1081	1253	-	0,3	-	-	-	0,1	-	0,3	-	-	-	0,1
31	Nonanal	1076	1082	1394	0,1	-	0,4	0,5	-	0,1	-	-	-	-	-	-
32	6-Méthylhept-3,5-adiène-2-one <sup>38</sup>	1083	1084	1570	-	-	-	t	-	t	-	-	-	0,5	-	t
33	Filifolone	1083	1086	1410	0,2	-	-	0,5	-	0,2	-	-	-	1,1	-	0,1
34	Chrysanthénone <sup>38</sup>	1088	1106	1477	-	-	-	0,1	-	t	-	-	-	1,2	-	t
35	<i>trans</i> -Chrysanthénoïl <sup>38</sup>	1096	1107	1453	0,1	-	-	-	0,3	0,1	6,1	-	-	-	52,9	6,1
36	Camphre	1123	1123	1517	1,0	-	-	12,3	-	1,0	0,3	-	-	2,3	0,3	0,3
37	<i>cis</i> -Verbénol	1132	1130	1618	-	-	-	-	-	-	t	-	-	-	0,2	t
38	<i>trans</i> -Verbénol	1136	1133	1644	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	t
39	<i>cis</i> -Chrysanthénoïl <sup>54</sup>	1147	1153	1455	1,6	-	-	-	15,9	1,6	0,3	-	-	-	4,2	0,3
40	Albène <sup>54</sup>	1154	1154	1286	0,9	2,0	-	-	-	0,9	t	1,5	-	-	-	t
41	Terpinéol-4	1164	1168	1577	0,4	-	-	-	0,9	0,4	t	-	-	-	4,8	t
42	$\alpha$ -Terpinéol	1176	1177	1650	0,2	-	-	-	2,4	0,2	t	-	-	-	0,9	t
43	Myrténoïl	1178	1182	1789	t	-	-	-	1,3	t	t	-	-	-	0,3	t
44	<i>trans</i> -Carvéol	1200	1202	1882	-	-	-	-	-	-	t	-	-	-	0,1	t
45	Acétate de <i>trans</i> -chrysanthényle	1238	1230	1522	t	-	0,6	-	-	t	68,5	-	71,0	-	-	68,5
46	( <i>E</i> )-Déc-2-èneal	1238	1238	1652	0,1	-	-	0,9	-	0,1	-	-	-	-	-	-
47	Acétate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1253	1250	1542	0,4	-	1,5	-	-	0,4	0,2	-	0,6	-	-	0,2
48	Acide nonanoïque	1263	1258	2127	-	-	-	-	-	-	t	-	-	-	0,3	t
49	Acétate de bornyle	1270	1269	1575	-	-	-	-	-	-	t	-	0,2	-	-	t
50	Thymol	1274'	1273	2143	0,5	-	-	4,2	-	0,5	t	-	-	-	1,3	t

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	HE de Corse avant fractionnement	Fractions				HE de Corse en fin d'étude	HE de Sardaigne avant fractionnement	Fractions				HE de Sardaigne en fin d'étude
						CH	CO1	CO2	CO3			SH	SO1	SO2	SO3	
51	Carvacrol	1278	1281	2000	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	0,2	0,1
52	( <i>E,E</i> )-Déc-2,4-adiénal	1291	1289	1820	0,1	-	-	1,4	-	0,1	-	-	-	-	-	-
<b>53</b>	<b>Propionate de <i>trans</i>-chrysanthényle</b>	-	<b>1314</b>	<b>1583</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>1,6</b>	-	-	<b>1,5</b>
54	7- $\alpha$ -Silphiperfol-5-ène	1329	1329	1396	-	-	-	-	-	-	t	0,3	-	-	-	t
55	Eugénol	1331	1332	2171	0,5	-	-	-	0,9	0,5	t	-	-	-	0,2	t
<b>56</b>	<b>Propionate de <i>cis</i>-chrysanthényle</b>	<b>1334</b>	<b>1341</b>	<b>1627</b>	-	-	<b>5,0</b>	-	-	<b>1,0</b>	-	-	<b>0,3</b>	-	-	<b>0,3</b>
57	Silphin-1-ène	1350	1349	1438	-	-	-	-	-	-	t	t	-	-	-	t
58	7- $\beta$ -Silphiperfol-5-ène	1352	1349	1422	-	-	-	-	-	-	0,1	2,6	-	-	-	0,1
59	$\alpha$ -Cubébène	1355	1351	1452	t	0,2	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-
60	$\alpha$ -Longipinène <sup>38</sup>	1360	1355	1526	-	-	-	-	-	-	t	0,5	-	-	-	t
<b>61</b>	<b>Isobutyrate de <i>trans</i>-chrysanthényle</b>	-	<b>1360</b>	<b>1592</b>	-	-	<b>0,5</b>	-	-	<b>0,1</b>	-	-	<b>1,3</b>	-	-	<b>1,0</b>
62	( <i>E</i> )- $\beta$ -Damascénone <sup>38</sup>	1364	1362	1810	-	0,1	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
63	Cyclosativène <sup>54</sup>	1371	1369	1483	-	0,7	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-
64	Méthyleugénol	1380'	1374	1980	0,2	-	-	-	0,5	0,2	t	-	-	-	0,6	t
65	Modéph-2-ène <sup>54</sup>	1384	1378	1518	-	-	-	-	-	-	-	t	-	-	-	t
66	$\alpha$ -Copaène	1384'	1380	1463	1,4	4,7	-	-	-	1,4	0,5	3,2	-	-	-	0,5
67	$\beta$ -Bourbonène	1386	1383	1515	t	0,9	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-
<b>68</b>	<b>Isobutyrate de <i>cis</i>-chrysanthényle</b>	<b>1390</b>	<b>1387</b>	<b>1636</b>	-	-	<b>8,1</b>	-	-	<b>1,8</b>	-	-	<b>0,9</b>	-	-	<b>0,2</b>
69	Modéphène	1383	1388	1500	0,2	1,2	-	-	-	0,2	t	18,5	-	-	-	t
70	$\beta$ -Elémène	1389	1392	1555	-	-	-	-	-	-	t	2,1	-	-	-	t
71	$\alpha$ -Isocomène	1389	1393	1510	-	-	-	-	-	-	t	2,2	-	-	-	t
<b>72</b>	<b>Butyrate de <i>trans</i>-chrysanthényle</b>	-	<b>1394</b>	<b>1657</b>	-	-	<b>t</b>	-	-	<b>t</b>	-	-	<b>0,4</b>	-	-	<b>t</b>
73	$\beta$ -Isocomène	1411	1407	1571	0,1	0,3	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
74	Ylanga-2-4-diène <sup>38</sup>	1411	1411	1572	t	t	-	-	-	t	t	1,2	-	-	-	t

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	HE de Corse avant fractionnement	Fractions				HE de Corse en fin d'étude	HE de Sardaigne avant fractionnement	Fractions				HE de Sardaigne en fin d'étude
						CH	CO1	CO2	CO3			SH	SO1	SO2	SO3	
75	$\alpha$ -Cédrène	1418	1420	1537	-	-	-	-	-	-	0,2	6,2	-	-	-	0,2
76	<i>trans</i> -Caryophyllène	1421	1424	1564	2,3	7,7	-	-	-	2,3	t	14,1	-	-	-	t
77	$\beta$ -Copaène	1430	1425	1581	t	0,7	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-
<b>78</b>	<b>Butyrate de <i>cis</i>-chrysanthényle</b>	<b>1440</b>	<b>1427</b>	<b>1704</b>	-	-	<b>2,2</b>	-	-	<b>0,6</b>	-	-	<b>0,8</b>	-	-	<b>0,1</b>
79	Géranylacétone	1430	1429	1851	0,1	-	-	0,5	-	0,1	-	-	-	-	-	-
80	<i>épi</i> - $\beta$ -Santalène	1446	1445	1629	0,2	0,3	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-
<b>81</b>	<b>2-Méthylbutyrate de <i>trans</i>-chrysanthényle</b>	-	<b>1450</b>	<b>1662</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>2,1</b>	-	-	<b>1,1</b>
<b>82</b>	<b>Isovalérate de <i>trans</i>-chrysanthényle</b>	-	<b>1452</b>	<b>1592</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>1,0</b>	-	-	<b>t</b>
83	( <i>E</i> )- $\beta$ -Farnésène	1446	1452	1642	1,5	5,6	-	-	-	1,5	t	1,1	-	-	-	t
84	$\alpha$ -Humulène	1455	1455	1665	-	3,1	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-
85	Prézizaène	1452	1456	1598	-	-	-	-	-	-	t	2,0	-	-	-	t
86	Muurola-4,11-diène <sup>38</sup>	1458	1461	1623	-	t	-	-	-	t	-	1,4	-	-	-	t
87	$\gamma$ -Gurgujène	1472	1470	1654	0,5	2,0	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-
<b>88</b>	<b>2-Méthylbutyrate de <i>cis</i>-chrysanthényle</b>	-	<b>1477</b>	<b>1696</b>	-	-	<b>23,5</b>	-	-	<b>6,8</b>	-	-	<b>2,5</b>	-	-	<b>0,7</b>
<b>89</b>	<b>Isovalérate de <i>cis</i>-chrysanthényle</b>	<b>1485</b>	<b>1479</b>	<b>1710</b>	-	-	<b>12,5</b>	-	-	<b>5,9</b>	-	-	<b>0,9</b>	-	-	<b>0,3</b>
90	Germacrène D	1474'	1484	1673	4,3	18,2	-	-	-	4,3	t	0,9	-	-	-	t
91	Zingibérène	1489	1488	1676	-	0,7	-	-	-	t	-	0,3	-	-	-	t
92	Bicyclogermacrène	1494	1495	1690	4,8	6,8	-	-	-	4,8	0,9	3,3	-	-	-	0,9
<b>93</b>	<b>Valérate de <i>trans</i>-chrysanthényle</b>	<b>1500</b>	<b>1496</b>	<b>1749</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>0,5</b>	-	-	<b>t</b>
94	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farnésène	1498	1498	1747	-	-	-	-	-	-	t	0,4	-	-	-	t
95	$\beta$ -Bisabolène	1503	1501	1720	0,2	0,7	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-
96	$\beta$ -Curcumène	1503	1506	1691	2,1	4,1	-	-	-	2,1	t	0,3	-	-	-	t
97	$\gamma$ -Cadinène	1507	1512	1721	0,7	0,7	-	-	-	0,7	-	0,2	-	-	-	t
98	1- $\alpha$ -H-Présilphiperfolane-9- $\alpha$ -ol	1519	1518	1980	-	-	-	-	-	-	0,3	-	-	-	0,7	0,3

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	HE de Corse avant fractionnement	Fractions				HE de Corse en fin d'étude	HE de Sardaigne avant fractionnement	Fractions				HE de Sardaigne en fin d'étude
						CH	CO1	CO2	CO3			SH	SO1	SO2	SO3	
99	$\beta$ -Sesquiphellandrène	1516	1520	1716	-	-	-	-	-	-	t	6,6	-	-	-	t
100	$\delta$ -Cadinène	1520	1521	1736	t	0,1	-	-	-	t	t	6,4	-	-	-	t
<b>101</b>	<b>Valérate de <i>cis</i>-chrysanthényle</b>	-	<b>1525</b>	<b>1820</b>	-	-	<b>13,6</b>	-	-	<b>3,8</b>	-	-	<b>0,7</b>	-	-	<b>0,1</b>
<b>102</b>	<b>Angélate de <i>cis</i>-chrysanthényle</b>	<b>1525</b>	<b>1525</b>	<b>1800</b>	-	-	<b>3,6</b>	-	-	<b>0,6</b>	-	-	<b>1,3</b>	-	-	<b>0,1</b>
103	( <i>E</i> )- $\alpha$ -Bisabolène	1530	1526	1753	0,4	0,9	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-
104	$\alpha$ -Calacorène	1527	1532	1895	0,1	0,2	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
105	( <i>E</i> )-Nérolidol	1553	1549	2037	0,2	-	-	-	1,3	0,2	-	-	-	-	-	-
106	Palustrol	1569	1564	1920	0,2	-	-	-	2,6	0,2	-	-	-	-	-	-
107	Spathuléol	1572	1568	2092	0,4	-	-	-	9,3	0,4	0,2	-	-	-	4,3	0,2
108	Oxyde de caryophyllène	1578	1575	1970	0,6	-	-	15,5	-	0,6	0,2	-	-	2,2	-	0,2
<b>109</b>	<b>Tiglate de <i>cis</i>-chrysanthényle</b>	<b>1578</b>	<b>1579</b>	<b>1934</b>	-	-	<b>17,2</b>	-	-	<b>4,9</b>	-	-	<b>1,4</b>	-	-	<b>0,4</b>
110	Copabornéol	1595	1592	2140	0,8	-	-	-	8,1	0,8	t	-	-	-	1,3	t
111	Cadin-4-èn-7-ol <sup>38</sup>	1637	1631	2096	0,5	-	-	3,1	3,4	0,5	-	-	-	-	-	-
112	$\tau$ -Cadinol <sup>38</sup>	1642	1633	2132	-	-	-	-	1,1	t	0,2	-	-	-	2,1	0,2
113	$\tau$ -Muurolol	1636	1634	2143	-	-	-	-	0,3	t	-	-	-	-	-	-
114	$\alpha$ -Cadinol	1643	1640	2231	0,9	-	-	-	5,7	0,9	-	-	-	-	-	-
115	Géranyle para-cymène	1985	1977	2298	0,2	0,1	-	-	-	0,2	-	0,1	-	-	-	t
116	Géranyle- $\alpha$ -terpinène	2005	1995	2213	0,4	0,2	-	-	-	0,4	-	t	-	-	-	t
117	Docosane <sup>52</sup>	2000'	2001	2000	0,4	0,2	-	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-
118	Undécosane <sup>52</sup>	2100	2100	2099	-	0,1	-	-	-	t	-	0,1	-	-	-	t
119	Phytol	2114	2109	2581	0,2	-	-	-	0,8	0,2	t	-	-	-	t	t
120	Dodécosane <sup>52</sup>	2200	2201	2203	0,1	0,2	-	-	-	0,1	t	0,1	-	-	-	t

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	HE de Corse avant fractionnement	Fractions				HE de Corse en fin d'étude	HE de Sardaigne avant fractionnement	Fractions				HE de Sardaigne en fin d'étude
						CH	CO1	CO2	CO3			SH	SO1	SO2	SO3	
121	Tridécosane <sup>52</sup>	2300	2299	2300	1,0	3,8	-	-	-	1,0	-	0,1	-	-	-	t
122	Tetradécosane <sup>52</sup>	2400	2402	2402	-	0,3	-	-	-	t	-	0,1	-	-	-	t
123	Pentacosane <sup>52</sup>	2500	2504	2499	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	t
124	Heptacosane <sup>52</sup>	2700	2697	2701	-	2,3	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-
	Total identifié				61,6	96,4	8,9	99,4	54,5	88,2	85,0	97,2	73,7	74,6	76,0	91,4
	Composés hydrocarbonés				32,6	96,3	-	-	-	33,6	3,4	97,2	-	-	-	3,9
	Composés oxygénés				29,0	-	8,9	99,4	54,5	54,1	81,6	-	73,7	74,6	76,0	87,5
	Monoterpènes hydrocarbonés				11,7	29,3	-	-	-	12,0	1,7	21,9	-	-	-	2,2
	Monoterpènes oxygénés				5,6	-	8,2	17,6	21,3	30,7	75,9	-	73,7	4,6	66,8	81,8
	Sesquiterpènes hydrocarbonés				18,8	59,8	-	-	-	19,5	1,7	73,8	-	-	-	1,7
	Sesquiterpènes oxygénés				3,6	-	-	18,6	31,8	3,6	0,9	-	-	2,2	8,4	0,9
	Autres hydrocarbonés				2,1	7,2	-	-	-	2,1	-	1,5	-	-	-	t
	Autres oxygénés				19,8	-	0,7	63,2	1,4	19,8	4,8	-	-	67,8	0,8	4,8

**Les esters de chrysanthényle en caractère gras ont tous été synthétisés à l'exception du 102 et 109. Ils ont été analysés et identifiés par CPG/SM-IC et par RMN.** HE=Huile essentielle ;Irl=Indices de rétention littérature issu de la bibliothèque Joulain<sup>38</sup>, Irl'si issu de la bibliothèque NIST<sup>117</sup>; Ira=Indices de rétention apolaire ; Irp=Indices de rétention polaire ; L'ordre d'élution est donné sur colonne apolaire. La teneur d'un composé est exprimée en pourcentage relatif de la fraction correspondante. Les composés ont été identifiés à partir de la bibliothèque « Arômes » du laboratoire sauf ceux dont la bibliothèque commerciale est précisée par une référence en exposant.  
CH : fraction hydrogénée de l'huile de Corse (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 100/0) - CO1 : fraction oxygénée de l'huile de Corse (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 95/5) - CO2 : fraction oxygénée de l'huile de Corse (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 90/10) - CO3 : fraction oxygénée de l'huile de Corse (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 0/100).  
FH : fraction hydrogénée de l'huile de Sardaigne (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/ Et<sub>2</sub>O : 100/0) - FO1 : fraction oxygénée de l'huile de Sardaigne (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 95/5) - FO2 : fraction oxygénée de l'huile de Sardaigne (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 90/10) - FO3 : fraction oxygénée de l'huile de Sardaigne (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 0/100).

**Tableau II.3 :** Compositions chimiques des huiles essentielles d'*A. maritima* de Corse et de Sardaigne et de leurs fractions

## C - HUILE ESSENTIELLE D'*ERYNGIUM MARITIMUM*- DESCRIPTION DE NOUVEAUX SESQUITERPENES OXYGENES.

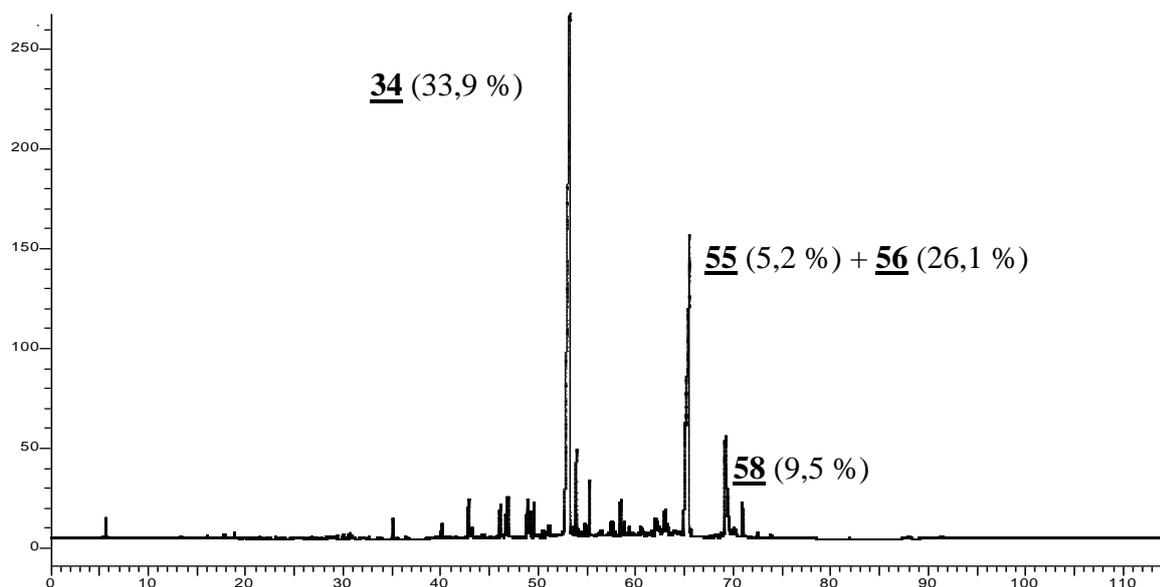
A notre connaissance, il n'y a que très peu de données disponibles sur l'huile essentielle d'*Eryngium maritimum*. Dans cette troisième partie du chapitre, nous présentons les résultats de notre étude sur les huiles essentielles de cette plante préparées à partir de végétal de Corse. Nous nous attarderons plus particulièrement sur l'analyse structurale de plusieurs nouveaux sesquiterpènes présents dans l'huile essentielle ainsi que sur les difficultés de séparation nous ayant conduit à adapter notre stratégie méthodologique.

### 1-Analyse préliminaire de l'huile essentielle d'*E. maritimum* et fractionnement.

Le matériel végétal a été récolté sur la plage du Quercioni près de Mignataja en Haute-Corse de juin à juillet 2007. Il a été hydrodistillé durant 5 heures dans un appareillage de type Clevenger avec un rendement de 0,08 % par rapport à la masse de végétal frais. Nous avons ainsi préparé 10 g d'huile essentielle.

L'huile essentielle des parties aériennes avant fractionnement est analysée par CPG-Ir et CPG/SM-IE. Le profil chromatographique est donné à la **figure II.12** et laisse apparaître environ 70 composés. Ces analyses ont permis d'identifier avec certitude 36 composés (**tableau II.7** en fin de partie C) représentant 51,3 % de la composition chimique de l'huile essentielle. Les identifications ont été réalisées à partir des bibliothèques d'indices de rétention et de spectres de masse « Arômes » propres au laboratoire pour 34 d'entre eux ; les deux autres ont été identifiés sans ambiguïté à l'aide des bibliothèques commerciales et leurs noms sont suivis de la référence de la bibliothèque dans le **tableau II.7**.

Le germacrène D **34** (33,9 %) est le composé majoritaire. Les autres composés identifiés n'excèdent pas 2,2 % de la composition de l'huile essentielle.



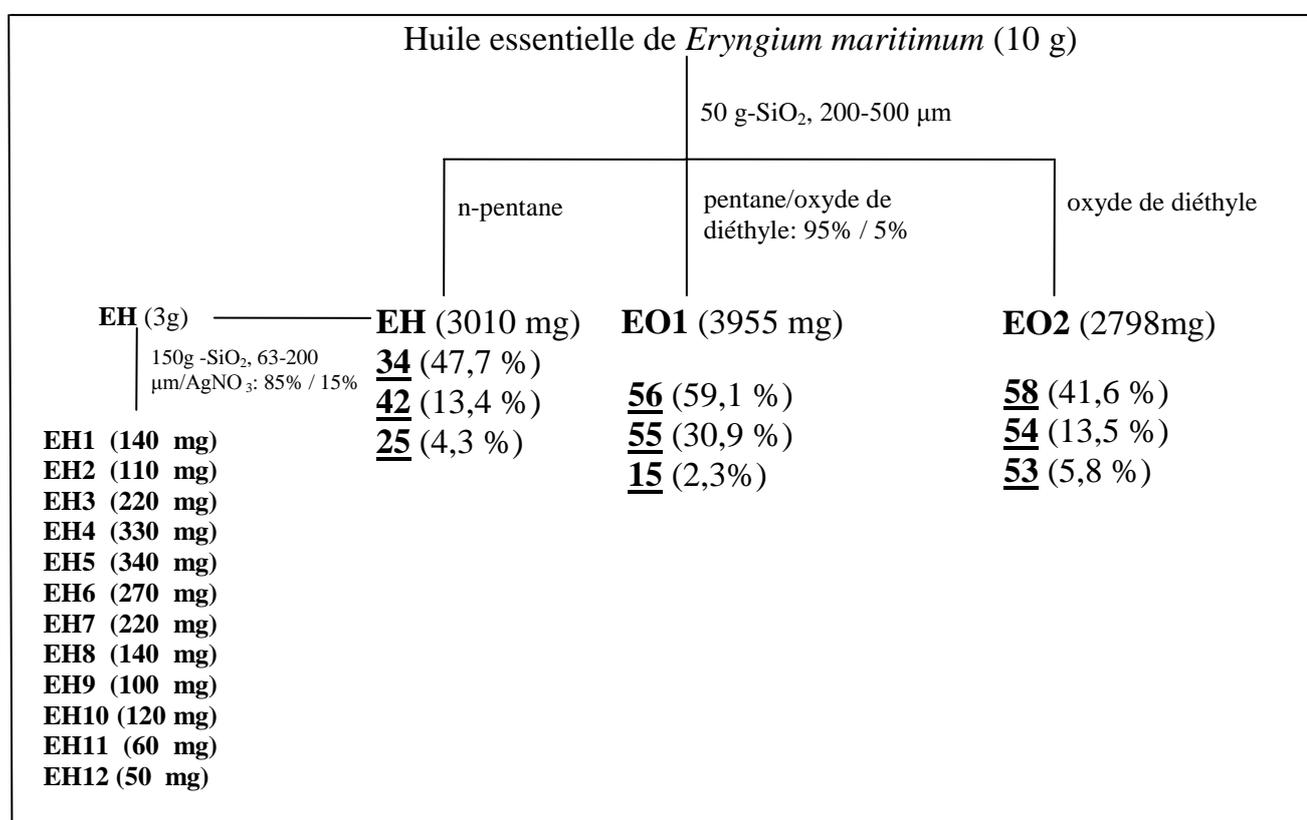
**Figure II.12** : Chromatogramme de l'huile essentielle d'*E. maritimum*.

Les bibliothèques « Arômes » du laboratoire et commerciales à notre disposition ne proposent aucune structure, pour les trois composés présents avec les plus fortes abondances **55** (5,2 %), **56** (26,1 %) et **58** (9,5 %).

Nous avons procédé au fractionnement de l'huile essentielle sur colonne ouverte de silice de forte granulométrie avec un mélange pentane/oxyde de diéthyle comme éluant, ce qui nous a conduit à trois fractions : une fraction hydrocarbonée **EH** ( $n\text{-C}_5\text{H}_{12}$  : 100%) et deux fractions oxygénée **EO1** ( $n\text{-C}_5\text{H}_{12}/\text{Et}_2\text{O}$  : 98/5) et **EO2** ( $\text{Et}_2\text{O}$  : 100%). La fraction **EH** a été fractionnée à son tour sur colonne de silice de faible granulométrie imprégnée de nitrate d'argent et nous avons ainsi recueilli 12 fractions **EH1-EH12** (le détail de ces fractions est rapporté en troisième partie des annexes). Le schéma du fractionnement est illustré par la **figure II.13**. L'analyse des fractions selon la séquence habituelle CPG-Ir et CPG/SM-IE a permis d'identifier 18 composés supplémentaires dont les plus abondants n'excèdent pas une teneur de 0,4 % dans l'huile essentielle. Le **tableau II.7** reprend les compositions des fractions et, dans sa colonne de droite, récapitule la composition globale de l'huile essentielle.

A ce stade de l'étude après fractionnement, nous avons identifié 54 composés représentant 53,3 % de l'huile essentielle, 47 ont été identifiés à l'aide des

bibliothèques « Arômes » du laboratoire et 7 composés ont été identifiés sans ambiguïté sur la base des propositions de banques commerciales. En outre, le fractionnement a permis de repérer un nouveau composé NI : **57** (0,4 % dans l'huile essentielle et 1,1 % dans la fraction **EO2**) inconnu de toutes les banques de données. Les composés **55** et **56** sont élués dans la fraction **EO1**, fraction contenant les aldéhydes et les cétones, ils coéluent sur colonne apolaire avec un indice de rétention de 1684 et sont mal séparés sur colonne polaire ( $I_{rp55} = 2163$  et  $I_{rp56} = 2173$  respectivement). Les composés **57** et **58** sont élués dans la fraction **EO2** en compagnie des alcools ; ces 2 composés ont des indices de rétentions relativement proches en colonne apolaire ( $I_{ra} = 1734$  et  $1742$  respectivement ;  $I_{rp} = 2422$  et  $2452$  respectivement).



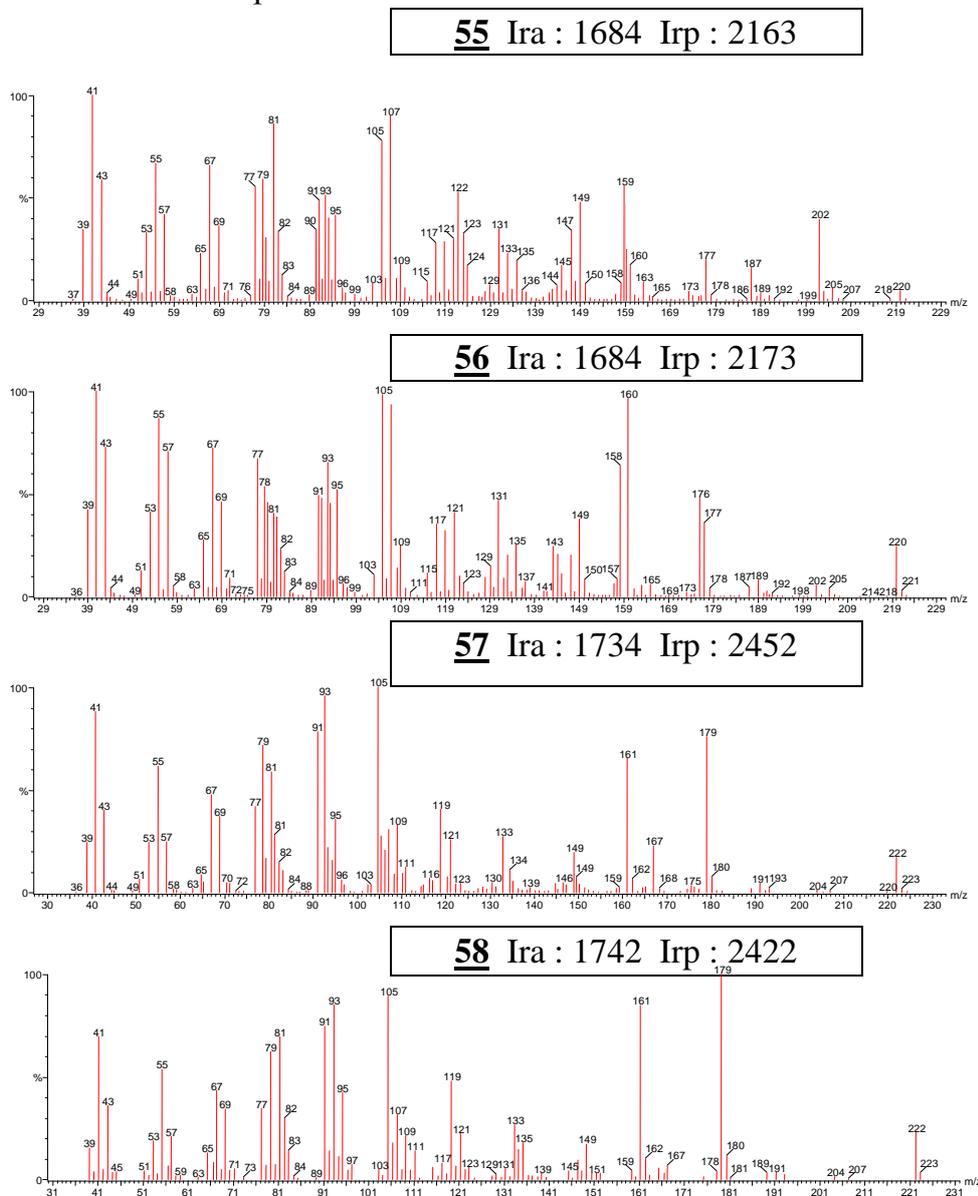
**Figure II.13** : Schéma de fractionnement de l'huile essentielle d'*E. maritimum* sur colonne de gel de silice.

## 2 - Etude des composés non identifiés.

Nous avons étudié les spectres de masse des quatre composés non identifiés en CPG/SM-IE et CPG/SM-IC.

### Analyse par CPG/SM-IE

L'étude des spectres de masse en CPG/SM-IE (**figure II.14**) ne fournit que peu d'informations exploitables



**Figure II.14 :** Spectres de masse enregistrés en CPG-SM(IE) et indices de rétention mesurés sur colonne apolaire (Ira) et polaire (Irp) en CPG-DIF des composés **55**, **56**, **57** et **58**.

Les spectres des composés **55** et **56** présentent certaines similitudes, tandis que les spectres de **57** et **58** sont quasiment identiques. Les pics moléculaires des quatre composés semblent être les pics  $m/z$  220 pour **55** et **56** et  $m/z$  222 pour **57** et **58**, néanmoins nous devons confirmer la masse molaire des composés par CPG/SM-IC.

### Analyse par CPG/SM-IC.

L'ensemble des spectres est présent dans la première partie des annexes.

- IC-NH<sub>3</sub>

Les spectres des quatre composés non identifiés en modes ICP-NH<sub>3</sub> et ICN-NH<sub>3</sub>, permettent de confirmer :

- (i) Une masse moléculaire de 220 pour les composés **55**, **56** du fait de la présence des ions  $[M-H]^-$  à  $m/z$  219 en ICN-NH<sub>3</sub> et  $[M+NH_4]^+$  à  $m/z$  238 en ICP-NH<sub>3</sub>,
- (ii) Une masse moléculaire de 222 pour les composés **57** et **58** du fait de la présence des ions  $[M-H]^-$  à  $m/z$  221 en ICN-NH<sub>3</sub> et  $[M+H]^+$  à  $m/z$  223 en ICP-NH<sub>3</sub>.

Aucun autre pic n'est exploitable avec ce mode d'ionisation. L'absence d'ion carboxylate indique l'absence d'esters.

- ICP-CH<sub>4</sub>

Selon ce mode d'ionisation, les spectres de masse des composés **55** et **56** présentent deux ions caractéristiques :  $[M+H]^+$  à  $m/z$  221 et  $[M+H-H_2O]^+$  à  $m/z$  203 généralement observés pour des fonctions carbonylées. En outre, le fait que l'ion  $[M+H-H_2O]^+$  soit le pic de base des deux spectres nous oriente plutôt vers deux aldéhydes sesquiterpéniques.<sup>75-76</sup>

Les spectres de masse des composés **57** et **58** présentent également un couple d'ions caractéristiques :  $[M-H]^+$  à  $m/z$  221 et  $[M+H-H_2O]^+$  à  $m/z$  205 observés sur les spectres d'alcools terpéniques cycliques.<sup>74</sup>

### 3-Séparation et analyse structurale par RMN des sesquiterpènes non identifiés.

Les composés **55** et **56** présents dans la fraction **EO1**, d'une part, et les composés **57** et **58** dans la fraction **EO2**, d'autre part, n'ont pu être séparés par chromatographie sur colonne ouverte de silice.

Dans le but d'effectuer l'analyse structurale par RMN, nous avons dû concevoir une stratégie de séparation afin d'obtenir chacun des composés aussi pur que possible.

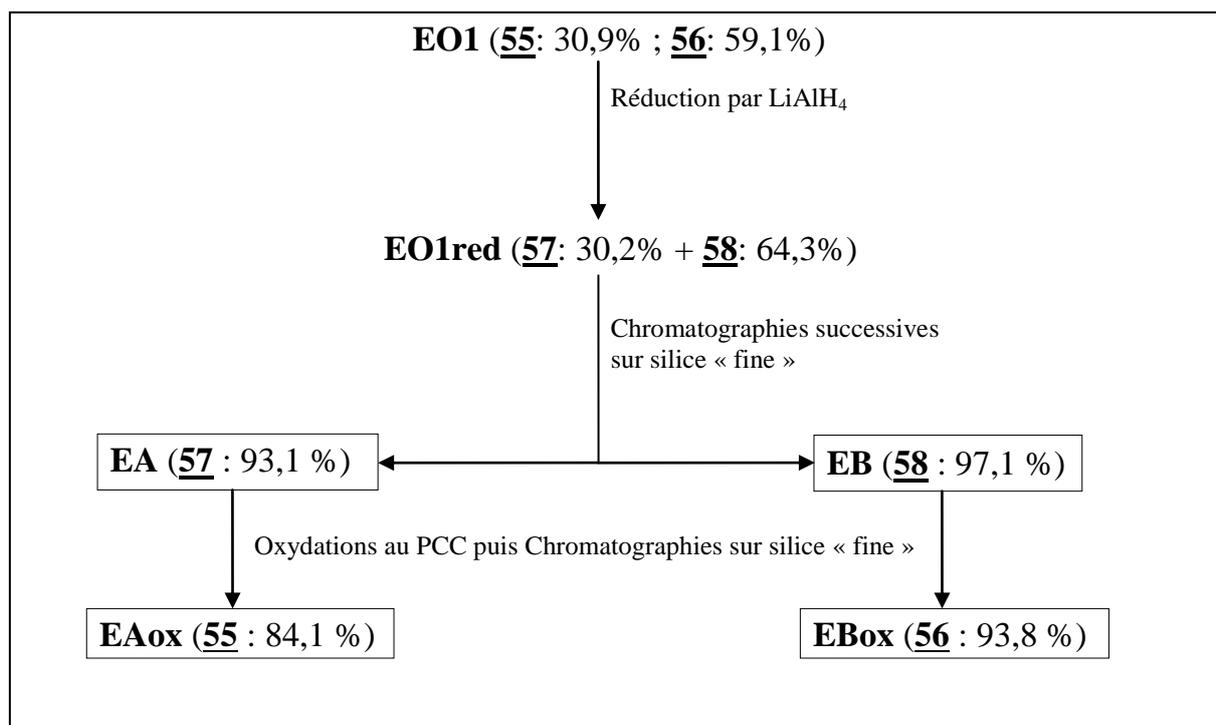
#### 3.1-Stratégie de séparation.

Nous avons ainsi mis au point une séquence expérimentale basée sur la transformation des fonctions chimiques des molécules concernées afin de modifier leurs polarités et faciliter leur séparation en chromatographie sur colonne. Ces séquences sont représentées sur la **figure II.15**.

Dans un premier temps, par action de l'hydrure d'aluminium lithium, nous avons réduit la fraction **EO1**, les molécules **55** et **56** ont été transformées en deux alcools qui se sont avérés plus aisément séparables. Après analyse de contrôle par CPG-DIF et CPG/SM-IE nous avons constaté que la fraction résultante **EO1red** était constituée de deux composés présentant les mêmes indices de rétention (Ira : 1734, Irp : 2422 et Ira : 1742, Irp : 2452) et les mêmes spectres de masse IE que les composés **57** et **58**, respectivement. Les composés **55** et **57**, d'une part, et les composés **56** et **58**, d'autre part, sont donc des homologues.

La fraction **EO1red** a été soumise à des fractionnements successifs par chromatographie sur colonne de silice de faible granulométrie, pour lesquelles la quantité théorique de silice a été quadruplée afin d'optimiser le pouvoir de séparation. Ces chromatographies ont permis *in fine* d'obtenir 12 fractions, dont la fraction **EA** contenant le composé **57** avec une abondance de 93,1 % et la fraction **EB** contenant le composé **58** avec une abondance de 97,1 %.

Une partie des fractions **EA** et **EB** a ensuite été oxydée par action du chlorochromate de pyridinium ce qui a conduit aux fractions **EAox** et **EBox** contenant respectivement les composés **55** (84,1 %) et **56** (93,8 %). Les fractions **EA**, **EAox**, **EB** et **EBox** (encadrées dans la **figure II.15**) ont été analysées par RMN.



**Figure II.15** : Stratégie de séparation des composés **55**, **56**, **57** et **58**.

### 3.2-Analyses structurales des composés 55, 56, 57 et 58 par RMN.

#### 3.2.1-Etude des spectres de RMN à une dimension : RMN du proton, du carbone-13 et séquence à transfert de polarisation DEPT.

Les analyses précédentes des fractions **EA**, **EAox**, **EB** et **EBox** ont permis d'établir les éléments suivants :

-Les spectres de RMN du carbone-13 des composés **55** et **56** comportent des raies de résonance correspondant à des déplacements chimiques caractéristiques de groupements carbonyles (204,92 ppm et 205,19 ppm, respectivement). Les spectres de RMN du carbone-13 des composés **57** et **58** font apparaître des déplacements chimiques compris entre 67,59 et 69,03 ppm pouvant correspondre à des carbones d'alcools primaires.

-Les spectres RMN du proton des composés **55** et **56** confirment la fonction aldéhyde par l'observation de déplacements chimiques caractéristiques de protons aldéhydiques (9,59 ppm et 9,63 ppm, respectivement). De même pour les spectres des composés **57**

et **58** on observe les signaux attribuables aux protons des groupements hydroxyles (3,44 ppm et 3,45 ppm, respectivement).

-L'examen conjoint des spectres de RMN du carbone-13 et de la séquence DEPT nous renseigne sur le nombre d'atomes d'hydrogène portés par chaque atome de carbone. Pour chacun des composés, nous relevons 14 signaux : 3 méthyles, 4 méthylènes, 6 méthynes (dont un éthylénique) et un carbone quaternaire éthylénique. De plus nous observons pour les composés **55** et **56** un méthyne aldéhydique et pour les composés **57** et **58** un méthylène porteur d'un groupe hydroxyle, ce qui confirme la présence d'alcool primaire.

Ces observations, le calcul du nombre de centres d'insaturation et les valeurs des déplacements chimiques des atomes de carbone, nous orientent vers des squelettes sesquiterpéniques de type bicyclo[4.4.0]décane.

Compte tenu de ce qui précède nous pouvons dire que:

- **55** et **56** sont des aldéhydes sesquiterpéniques bicycliques de formule brute  $C_{15}H_{24}O$  et comportant une double liaison.

- **57** et **58** sont des alcools primaires sesquiterpéniques bicycliques de formule brute  $C_{15}H_{26}O$  et comportant une double liaison. Ces deux alcools sont les produits de réduction des composés **55** et **56** respectivement.

- Chaque molécule possède un groupement isopropyle, confirmé par la présence de deux méthyles résonant entre 0,77 et 0,90 ppm sous la forme de doublets, ainsi qu'un groupement méthyle en position allylique caractérisé par la présence d'un multiplet entre 1,62 et 1,64 ppm.

Nous supposons qu'il s'agit probablement de squelettes sesquiterpéniques de type muurolane ou cadinane déjà évoqués dans la même plante par Kubezcka.<sup>167,200</sup>

Les spectres de RMN du proton et du carbone-13 des composés **56**, **57** et **58** sont consultables dans la seconde partie des annexes.

### 3.2.2-Caractérisation structurale du composé 57.

La fraction **EA (57 : 93,1 %)** a été analysée par RMN à une dimension (proton, Carbone-13 et DEPT) et à deux dimensions (spectres de corrélations HMBC, HSQC, COSY et NOESY). L'analyse des séquences COSY, HMBC et HSQC, permet de valider : i) la structure bicyclo [4.4.0] décane, ii) la présence et la localisation du groupement isopropyle sur le carbone 7 du bicycle, iii) la localisation de la double liaison en position 9 et iv) la localisation de la fonction alcool primaire portée par un méthylène en position 4. Les résultats de ces analyses sont rapportés dans le **tableau II.8**. La **figure II.16** montre les principales corrélations en séquence NOESY du composé **57**.

Nous nous sommes intéressés plus particulièrement à l'attribution des carbones des quatre groupements méthylènes et à la stéréochimie de la molécule :

- Les corrélations observées sur les matrices HMBC et COSY assurent sans équivoque la localisation du carbone à 24,90 ppm en position 8 de par sa proximité avec la double liaison.

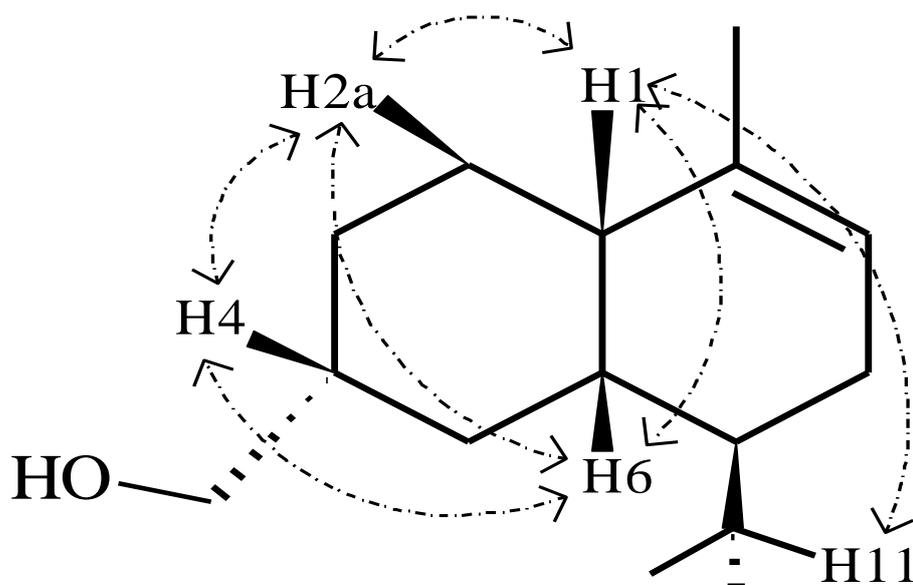
- L'étude du signal quadruplet de l'hydrogène résonnant à 1,11 ppm porté par le C-5, est riche d'enseignement. Cet hydrogène effectue un couplage fort de type géminé avec l'hydrogène équatorial et deux couplages axial-axial avec les hydrogènes axiaux portés par les carbones voisins (C-4 et C-6). Dans le cas présent, les constantes de couplage axial-axial et géminé sont quasi-identiques, d'où la régularité du quadruplet. Par ailleurs, l'observation d'une corrélation des spins nucléaires spatialement proches sur la matrice NOESY entre l'hydrogène axial porté par C-4 et l'hydrogène axial du C-6, tête de pont du bicycle, nous permet d'affirmer que le substituant porté par le C-4 est en position équatoriale.

- L'attribution du CH<sub>2</sub> à 25,51 ppm en position 3 est aisée grâce aux corrélations HMBC entre le C-15 et le proton à 0,80 ppm et NOESY entre les hydrogènes du C-15 et les 2 hydrogènes à 0,80 et 1,54 ppm portés par le carbone à 25,51 ppm. La valeur de déplacement chimique de ce carbone, inférieure à celle du C-2, s'explique par l'effet  $\gamma$  stérique exercé par le C-10.

- La détermination de la stéréochimie de la jonction de cycle est basée sur les deux observations suivantes : i) les valeurs de déplacements chimiques mesurés pour les carbones de jonction des bicycles de type muurolane (jonction *cis*) sont plus faibles (entre 32 ppm et 40 ppm selon les modèles) que pour les squelettes de type cadinane (jonction *trans*) entre 35 ppm et 43 ppm ; ii) la différence des valeurs de déplacements chimiques entre les deux carbones tête de pont est supérieure à 5 ppm dans les cadinanes et inférieure à 5 ppm dans les squelettes de type muurolane.<sup>212</sup> Outre les informations de la RMN du carbone-13, la corrélation spatiale observée sur la matrice NOESY entre les deux hydrogènes des carbones têtes de pont, confirme la jonction de cycle en position *cis*.

- L'observation de corrélations sur la matrice NOESY entre H-1 et H-11 d'une part et H-11 et H-6 d'autre part, permet d'affirmer que le groupement isopropyle est orienté du même côté que les hydrogènes sur les carbones têtes de ponts. Cela est confirmé par l'absence de corrélation NOESY entre H-6 et H-7.

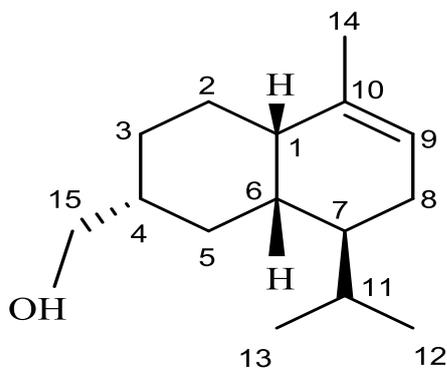
Au final, nous avons identifié **57** comme étant le 4 $\beta$ H-muurol-9- $\eta$ n-15-ol ; il s'agit d'un nouveau composé naturel.



**Figure II.16** : Structure du composé **57** et principales corrélations proton-proton spatialement proches sur la matrice NOESY.

N°	RMN- <sup>13</sup> C		RMN- <sup>1</sup> H			RMN-2D		
	δ	DEPT	δ	multiplicité	J(Hz)	HMBC	COSY	NOESY
1	33,85	CH	2,22	m		14	2a,2b,6,14	2a,2e,6,11,13,14
2	27,49	CH <sub>2</sub>	a 1,32	m			1,2b,3a,3e	6,1,3e,4,2b
3	25,51	CH <sub>2</sub>	e 2,03	dq	13,33-		1,2a,3a,3e	1,14,2a
			a 0,80	dd	3,33		2a,2b,3e,4	3e,5a,14,15
			e 1,54	m	13,6-3,2		2a,2e,3a,4	3a,2a,2e,4
4	40,71	CH	1,56	m		3e,3a	3a,3b,5a,5b,15	2a,3e,6,15
5	31,71	CH <sub>2</sub>	a 1,11	q	12,16	3,4,6,15	4,5e,6	5e,8e
			e 1,36	m			4,5a,6	7,5a,15
6	36,08	CH	1,83	dq	12,6-3,3	8a,5e	1,5a,5e,7	1,4,2a,11,13
7	44,70	CH	1,02	m			6,8a,8e,11	5e,8a,8e,12,13
8	24,90	CH <sub>2</sub>	e 1,95	m	20-m	12,13,	7,8a,14	8a,11,12
			a 2,06	dm			7,8e,14	8e,9,7,5a
9	121,71	CH	5,30	m		14	1,8a,8e,14	8a,8e,14
10	133,69	C				14		
11	27,98	CH	1,49	m		12,13	7,12,13	1,12,13
12	22,09	CH <sub>3</sub>	0,90	d	6,7	7,11,13	11	8e,7
13	20,61	CH <sub>3</sub>	0,88	d	6,7	7,11,12	11	11,6,1
14	21,18	CH <sub>3</sub>	1,64	m		1,9,10	1,8a,8e,9	1,2e,3a
15	68,81	CH <sub>2</sub>	3,45	d	6,4	5e	4	5a,5e,3a,3e,4

*e*: hydrogène équatorial, *a* hydrogène axial



**Tableau II.8** : Structure, données spectrales ( $\delta$ , ppm dans  $\text{CDCl}_3$ ) en RMN du proton et du Carbone-13 et corrélations observées en RMN 2D du 4 $\beta$ H-muurolo-9-èn-15-ol **57**.

### 3.2.3-Characterisation structurale du composé **55**.

La structure de **55** (84,1 % dans **EAox**) a été déduite après analyse et comparaison des spectres RMN du proton, du carbone-13, de transfert de polarisation (DEPT) avec ceux de l'alcool correspondant **57**. Il s'agit du 4 $\beta$ H-muurolo-9-èn-15-al, identifié par Kubezca sous la dénomination d'éryng-9-èn-15-al dans son poster sur l'huile essentielle d'*E. maritimum*.<sup>167</sup>

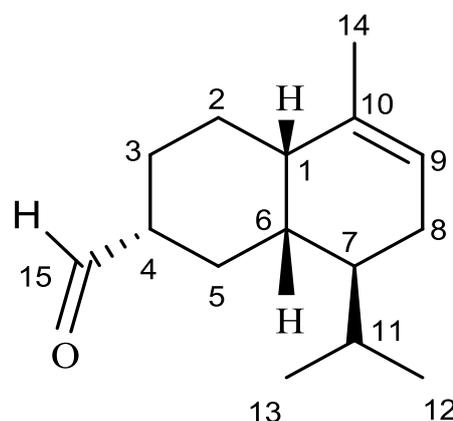
L'attribution des valeurs des déplacements chimiques des carbones et des hydrogènes a été relativement aisée. En RMN du carbone-13, les variations des valeurs

de déplacements chimiques entre le 4 $\beta$ H-muurool-9-èn-15-ol 57 et le 4 $\beta$ H-muurool-9-èn-15-al 55, des carbones C-2, C-3, C-4, C-5 et C-6 sont en accord avec les valeurs usuelles d'incrémentations.<sup>114</sup> Lors du changement de fonction, le carbone C-4 en  $\alpha$  du carbonyle est fortement déblindé (+ 9,61 ppm), les carbones C-5 et C-3 en  $\beta$  du carbonyle sont significativement blindés (- 3,90 ppm et - 3,16 ppm respectivement) et les carbones C-2 et C-6 en  $\gamma$  du carbonyle ne sont que sensiblement blindés (- 1,56 ppm et - 0,37 ppm respectivement).

A notre connaissance, nous reportons pour la première fois les données spectrales du 4 $\beta$ H-muurool-9-èn-15-al 55 (tableau II.9).

N°	RMN- <sup>13</sup> C		RMN- <sup>1</sup> H		
	$\delta$	DEPT	$\delta$	multiplicité	J(Hz)
1	33,99	CH	2,20	m	
2	25,93	CH <sub>2</sub>	a 1,37	m	
			e 2,05	m	
3	22,35	CH <sub>2</sub>	a 1,17	m	
			e 1,69	m	
4	50,32	CH	2,25	m	
5	27,81	CH <sub>2</sub>	a 1,45	m	
			e 1,55	m	
6	35,71	CH	1,86	m	
7	43,75	CH	1,07	m	
8	24,74	CH <sub>2</sub>	e 1,96	m	
			a 2,06	m	
9	121,94	CH	5,3	m	
10	133,21	C			
11	27,84	CH	1,54	m	
12	21,48	CH <sub>3</sub>	0,88	d	6,7
13	20,58	CH <sub>3</sub>	0,87	d	6,7
14	21,10	CH <sub>3</sub>	1,62	m	
15	204,92	CH <sub>2</sub>	9,59	d	2,4

*e: hydrogène équatorial, a hydrogène axial*



**Tableau II.9** : Structure et données spectrales ( $\delta$ , ppm dans CDCl<sub>3</sub>) en RMN du proton et du Carbone-13 du 4 $\beta$ H-muurool-9-èn-15-al 55.

### 3.2.4-Etude RMN du composé 58.

La fraction **EB (58)** : 97,1 %) a été analysée par RMN à une dimension (proton, Carbone-13 et DEPT) et à deux dimensions (spectres de corrélations HMBC, HSQC, COSY et NOESY). L'analyse des séquences de RMN 2D (COSY, HMBC et HSQC), permet de valider la structure plane bicyclo [4.4.0] décane identique à celle de **57**. Les données spectrales de RMN du proton, du carbone-13, la multiplicité des signaux des carbones et les corrélations 2D ont été rapportées dans le **tableau II.10**. Les principales corrélations en séquence NOESY sont reportées sur la **figure II.17**.

Les corrélations observées sur les matrices COSY et HMBC permettent d'attribuer tous les déplacements chimiques des carbones et hydrogènes ; en revanche, trois points relatifs à la stéréochimie doivent être explicités :

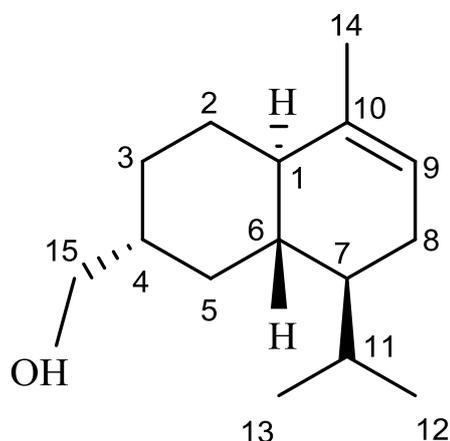
- Les valeurs des déplacements chimiques des carbones de jonction de cycle (42,95 et 35,64 ppm) sont caractéristiques de carbones d'une jonction *trans* ; l'écart pour les deux têtes de ponts est supérieur à 7 ppm orientent vers une molécule de type cadinane. Par ailleurs, l'absence de corrélation spatiale de spins sur la matrice NOESY entre les deux hydrogènes portés par les C-1 et C-6 têtes de pont, confirme la stéréochimie *trans* de la jonction de cycles, les deux hydrogènes étant anti coplanaires.

- La stéréochimie de la liaison entre les C-4 et C-15 a été déduite à la suite de l'examen de la multiplicité du signal de H-4 observé sur le spectre de RMN du proton. Il s'agit d'un multiplet de 15 pics de faible intensité présentant un effet toit et dont la constante de couplage apparente est régulière et faible (3,2 Hz). Cette structure du signal s'explique par le fait que H-4 est couplé avec les hydrogènes axiaux et équatoriaux des C-3 et C-5 (couplages axial-axial :  $^3J=12,5$  Hz ; couplages axial-équatorial :  $^3J=3,2$  Hz), d'une part, et avec les hydrogènes du C-15 ( $^3J=6,6$  Hz), d'autre part. On reconstitue ainsi le triplet de triplet de triplet de l'hydrogène sur C-4. Le groupement fonctionnel est donc en position équatoriale. Comme dans le cas de **57**, l'observation de corrélations NOESY entre H-6 et H-11, nous permet de préciser la stéréochimie du C-7.

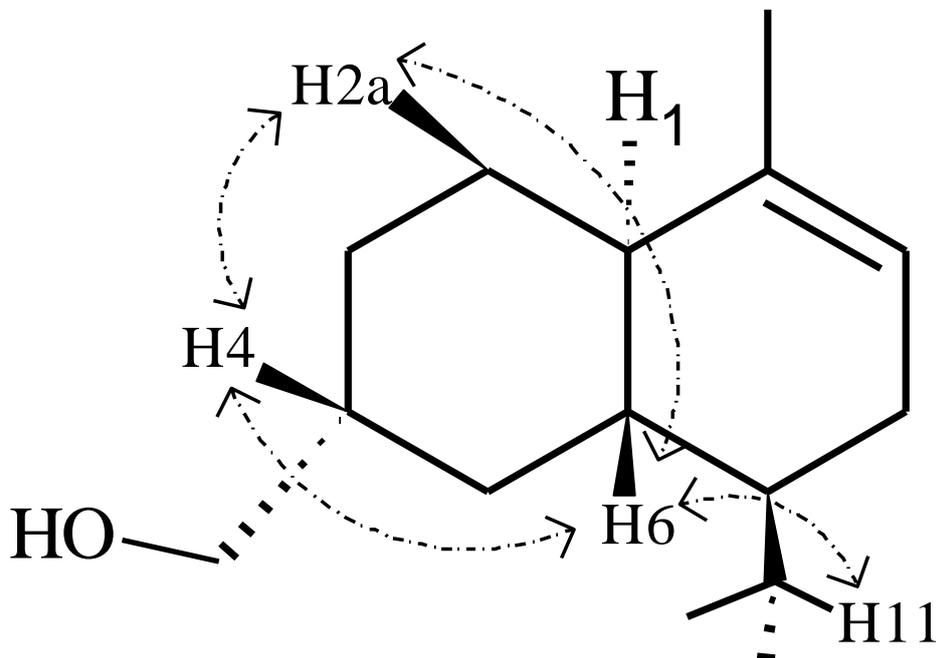
Nous avons ainsi identifié sans ambiguïté **58** comme étant le 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-ol, alcool sesquiterpénique primaire, qui à notre connaissance n'a jamais été rapporté dans la littérature.

N°	RMN- <sup>13</sup> C		RMN- <sup>1</sup> H			RMN-2D		
	$\delta$	DEPT	$\delta$	multiplicité	J(Hz)	HMBC	COSY	NOESY
1	42,95	CH	1,89	m		14,9,2a,2e,3a,3e	2a,6,14,2b	14
2	27,41	CH <sub>2</sub>	e 1,28 a 1,87	dtd m	15-12,5-3,2	3a,3b	1,3a,3b 3a	6,2e,4 3a,3b,2a,14
3	29,66	CH <sub>2</sub>	e1,83 a 0,97	m m		2a,2b,4 2a,2b,4	2a,2b,4 2a,2b	3b,15 3a,15
4	34,88	CH	1,56	ttt	12,5-6,6-3,2	2,3,5,6,15	3a,3e,5a,5e	6,2a,15
5	30,2	CH <sub>2</sub>	e 1,02 a 1,96	m m		3a,3b,4,6,15	6,5a,4 6,5e,4	5a,7,13,15 5e,15
6	35,64	CH	1,7	m		7,11,8a,1,4,5a,5b,3a		4,2a
7	34,18	CH	1,7	m		9,4,11,12,13,5a		5e
8	24,49	CH <sub>2</sub>	a 1,7 e1,92	m m		11,7 11,7	7,9 7,9	8e,9,12 8a,9
9	120,58	CH	5,35	m		7,8,14	14,1	8a,8e,14
10	137,84	C				2a,14,8a		
11	25,78	CH	1,94	m		6,7,8a,12,13	7,12,13	6,14
12	21,35	CH <sub>3</sub>	0,91	d	6,7	7,11,13	11	8a,13,11
13	14,53	CH <sub>3</sub>	0,77	d	6,7	7,11,12	11	12,11,5e
14	21,83	CH <sub>3</sub>	1,65	m		1,9,10	1,8a,9	2a,9,11
15	69,03	CH <sub>2</sub>	3,44	d	6,4	3,4,5	4	4,5a,5e,3a,3e

*e: hydrogène équatorial, a hydrogène axial*



**Tableau II.10:** Structure, données spectrales ( $\delta$ , ppm dans CDCl<sub>3</sub>) en RMN du proton et du Carbone-13 et corrélations observées en RMN 2 D du 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-ol **58**.



**Figure II.17 :** Structure du composé **58** et principales corrélations protons spatialement proches sur la matrice NOESY.

### 3.2.5-Etude RMN du composé 56.

La fraction **EBox** contenant **56** (93,8 %) a été analysée par RMN à une dimension (proton, Carbone-13 et DEPT) et à deux dimensions (spectres de corrélations HMBC, HSQC, COSY et NOESY). Ce composé a été obtenu par oxydation de l'alcool **56**, nous allons simplement vérifier qu'il s'agit bien du 4 $\beta$ H-cadin-9- $\alpha$ -15-al. Le **tableau II.11** reprend les attributions par RMN du Carbone-13 du proton et les diverses corrélations en fonction des séquences utilisées.

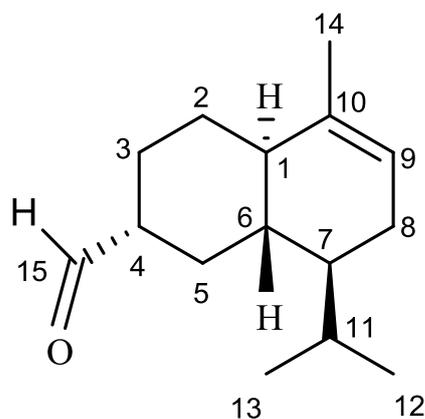
La difficulté d'attribution des signaux de RMN du carbone-13 pour les positions 2, 3 et 5 a pu être surmontée par l'étude de la multiplicité du signal du proton résonant à 2,15 ppm porté par le C-3 à 26,78 ppm. Le signal est un doublet (14,0 Hz, couplage géminé) de quadruplet (3,2 Hz, couplage axial-équatorial et équatorial-équatorial) qui correspond à un hydrogène en position équatoriale, sur C-2 ou C-3. Une corrélation spatiale observée sur la matrice NOESY entre l'hydrogène aldéhydique et le proton résonant à 2,15 ppm nous a permis d'attribuer le carbone à 26,78 ppm à la position 3. Sur cette même matrice NOESY, une autre corrélation est observée entre le proton aldéhydique et le proton résonant à 1,91 ppm et nous a

permis, d'attribuer le carbone à 26,58 ppm en position 5. Aucune corrélation ne serait possible avec les hydrogènes en position 2.

A l'issue de cette analyse nous avons conclu à l'identification de **56** comme étant le 4βH-cadin-9-èn-15-al, un nouveau composé naturel.

N°	RMN- <sup>13</sup> C		RMN- <sup>1</sup> H			RMN-2D		
	δ	DEPT	δ	multiplicité	J(Hz)	HMBC	COSY	NOESY
1	41,97	CH	1,86	m		14,2a,2e	6,14	14
2	25,94	CH <sub>2</sub>	e 1,35	m				
3	26,78	CH <sub>2</sub>	a 1,92 e 2,15	m dq	14,0-3,2			
4	45,37	CH	2,28	tm	10,9	3a,3e,5a,5e,15	3a,3e,5a,5e	6,2a,15
5	26,58	CH <sub>2</sub>	e 1,35 a 1,91	m m				
6	34,99	CH	1,83	m		7,11,8a,5a,5e	7,1	4,2a,11
7	34,26	CH	1,70	m		6,8a,8e,11,12,13	8a,8e,11,6	5e,6,11,12,13
8	24,39	CH <sub>2</sub>	a 1,77 e 1,91	m m		7,9,10,14	14,7,8e	8e,9,12
9	120,87	CH	5,34	m		8a,8e,14,1	8a,14	8a,8e, 14
10	137,12	C				8a,8e,14,9		
11	25,94	CH	1,9	m		7,12,13,8a,8e	7,12,13	6,14
12	21,24	CH <sub>3</sub>	0,91	d	6,7	7,11,13	11	8a,13,11
13	14,74	CH <sub>3</sub>	0,77	d	6,7	7,11,12	11	12,11,5e
14	21,71	CH <sub>3</sub>	1,65	m		1,9,10	8a,8e,1,9	1,2a,9,11
15	205,19	CH <sub>2</sub>	9,63	d	2,4	2,3,4,5	4	4,3a,3e,5a,5e

*e: hydrogène équatorial, a hydrogène axial*



**Tableau II.11** : Structure, données spectrales (δ, ppm dans CDCl<sub>3</sub>) en RMN du proton et du Carbone-13 et corrélations observées en RMN 2D du 4βH-cadin-9-èn-15-al **56**.

## 5-Bilan de l'étude de l'huile essentielle des parties aériennes d'*E. maritimum*.

A l'issue de l'ensemble des travaux sur l'huile essentielle d'*E. maritimum*, notamment après avoir élaboré un processus de séparation des composés coélus faisant intervenir l'hémi-synthèse dérivative, nous avons décrit en RMN trois nouveaux composés naturels : le 4 $\beta$ H-muurool-9-èn-15-ol **57**, le 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-al **56** et le 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-ol **58**. De plus nous rapportons pour la première fois les données structurales du 4 $\beta$ H-muurool-9-èn-15-al **55**. Notons que la présence de ce type d'alcools primaires sesquiterpéniques est assez peu fréquente dans les huiles essentielles.

La composition de l'huile essentielle d'*E. maritimum*, huile essentielle, qui à notre connaissance a seulement fait l'objet d'une communication par affiche,<sup>167</sup> est décrite de façon exhaustive dans les présents travaux de thèse. Nous avons identifié 58 constituants représentant 94,5 % de la composition de l'huile essentielle. Tous les constituants recensés et leurs abondances relatives sont présentés dans le **tableau II.6**. La composition chimique est largement dominée par les 44 sesquiterpènes qui représentent 92,0 % de l'huile essentielle, 42,2 % sont des sesquiterpènes hydrocarbonés et 49,8 % des sesquiterpènes oxygénés. Les 4 composés (**55-58**) décrits dans nos travaux représentent 41,2 % de la composition chimique de l'huile essentielle. Les composés majoritaires sont le germacrène D **34** (33,9 %), le 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-al **56** (26,1 %), le 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-ol **58** (9,5%) et le 4 $\beta$ H-muurool-9-èn-15-al **55** (5,2 %).

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	HE avant fractionnement	Fractions			HE en fin d'étude
						EH	EO1	EO2	
1	$\alpha$ -Pinène	936	930	994	0,1	0,6	-	-	0,1
2	6-Méthylhept-5-ène-2-one	972	967	1570	-	-	0,3	-	t
3	2-Pentyl-furane <sup>38</sup>	981	975	1201	-	-	t	-	t
4	Octanal	981	977	1290	t	-	0,1	-	t
5	Myrcène	987	983	1130	0,2	0,4	-	-	0,2
6	1,2,3-Triméthylbenzène	1011'	1006	1294	-	0,1	-	-	t
7	Limonène	1025	1019	1166	0,1	0,1	-	-	0,1
8	<i>cis</i> -Verbénol	1132	1126	1618	t	-	-	0,1	t
9	<i>trans</i> -Verbénol	1132	1130	1637	0,1	-	-	0,2	0,1
10	( <i>E</i> )-Non-2-ène <sup>38</sup>	1139	1144	1394	-	-	t	-	0,1
11	4-Méthylacétophenone <sup>38</sup>	1156	1153	1731	-	-	t	-	0,1
12	Décanal	1180	1182	1498	t	-	0,1	-	t
13	2,4,6-Triméthylbenzaldéhyde	1280'	1281	1827	-	-	t	-	t
14	2,4,5-Triméthylbenzaldéhyde	1305'	1297	1846	0,3	-	0,7	-	0,3
15	2,3,6-Triméthylbenzaldéhyde	1314'	1318	1935	1,5	-	2,3	-	1,5
16	$\alpha$ -Cubébène	1355	1346	1452	-	0,2	-	-	t
17	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Damascenone	1343	1349	1820	0,1	-	0,3	-	0,1
18	$\alpha$ -Copaène	1371'	1373	1447	0,6	2,5	-	-	0,6
19	$\alpha$ -Ylangène	1372'	1374	1476	-	0,1	-	-	t
20	$\beta$ -Bourbonène	1374'	1375	1474	0,4	1,5	-	-	0,4
21	$\beta$ -Elémène	1384	1385	1555	0,9	0,9	-	-	0,9
22	$\beta$ -Patchoulène	1388	1394	1475	t	0,1	-	-	t
23	$\beta$ -Gurjunène	1404	1405	1591	t	t	-	-	t
24	$\alpha$ -Gurjunène	1413	1411	1524	0,2	0,2	-	-	0,2
25	<i>cis</i> - $\alpha$ -Bergamotène	1414'	1416	1480	1,0	4,3	-	-	1,0
26	$\beta$ -Ylangène	1420	1420	1562	0,6	2,1	-	-	0,6
27	$\alpha$ -Sesquiphellandrène	1428'	1430	1765	0,1	0,4	-	-	0,1
28	$\beta$ -Copaène	1430	1431	1581	t	2,5	-	-	t
29	<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamotène	1434'	1435	1580	0,1	t	-	-	0,1
30	Aromadendrène	1443	1440	1611	0,1	1,1	-	-	0,1
31	$\alpha$ -Humulène	1455	1449	1665	0,1	1,3	-	-	0,1
32	$\gamma$ -Muuroolène	1473	1468	1681	-	2,6	-	-	0,4
33	$\alpha$ -Curcumène	1474	1471	1682	-	t	-	-	t
34	Germacrène D	1479	1478	1659	33,9	47,7	-	-	33,9
35	$\beta$ -Sélinène	1486	1483	1712	t	0,4	-	-	t
36	4- <i>épi</i> -Cubébol	1490	1487	1870	-	-	-	1,0	t
37	Bicyclogermacrène	1494	1491	1979	-	1,9	-	-	0,3
38	$\alpha$ -Muuroolène	1496	1494	1719	1,1	2,6	-	-	1,1
39	$\beta$ -Bisabolène	1503	1498	1720	1,1	1,7	-	-	1,1
40	$\gamma$ -Cadinène	1507	1505	1720	-	3,2	-	-	0,1
41	Cubébol	1514	1509	1924	-	-	-	0,4	0,3
42	$\delta$ -Cadinène	1520	1513	1700	1,2	13,4	-	-	1,2

N° Composés	Irl	Ira	Irp	HE avant fractionnement	Fractions			HE en fin d'étude
					EH	EO1	EO2	
43 Cadina-1,4-diène	1523	1526	1763	-	0,5	-	-	t
44 (E)-Nérolidol	1553	1549	2037	0,5	-	-	4,5	0,5
45 Spathuléol	1569	1561	2119	0,5	-	-	2,1	0,5
46 4 $\alpha$ -Hydroxygermacra-1,5-diène <sup>38</sup>	1571	1565	2296	1,1	-	-	2,9	1,1
47 Oxyde de caryophyllène	1578	1570	1950	0,5	1,2	-	-	0,5
48 4 $\beta$ -hydroxygermacra-1,5-diène <sup>38</sup>	1580	1571	2042	-	-	-	1,3	t
49 Muurola-4,10-dièn-8 $\alpha$ -ol <sup>38</sup>	1594	1597	2165	-	-	-	1,9	0,3
50 Oxyde d'aromadendrène	1623	1618	2002	0,4	1,1	-	-	0,4
51 $\tau$ -Muurolol	1933	1634	2143	0,8	-	-	5,3	0,8
52 $\tau$ -Cadinol	1933	1638	2163	-	-	-	1,7	0,4
53 $\alpha$ -Cadinol	1943	1645	2227	1,5	-	-	5,8	1,5
54 Eudesma-4,7-diène-1 $\beta$ -ol <sup>38</sup>	1671	1669	2354	2,2	-	-	13,5	2,2
<b>55 4<math>\beta</math>H-Muurol-9-èn-15-al</b>	-	<b>1684</b>	<b>2163</b>	-	-	<b>30,9</b>	-	<b>5,2</b>
<b>56 4<math>\beta</math>H-Cadin-9-èn-15-al</b>	-	<b>1684</b>	<b>2173</b>	-	-	<b>59,1</b>	-	<b>26,1</b>
<b>57 4<math>\beta</math>H-Muurol-9-èn-15-ol</b>	-	<b>1734</b>	<b>2422</b>	-	-	-	<b>1,1</b>	<b>0,4</b>
<b>58 4<math>\beta</math>H-Cadin-9-èn-15-ol</b>	-	<b>1742</b>	<b>2452</b>	-	-	-	<b>41,6</b>	<b>9,5</b>
Total identifié				51,3	94,6	3,8	40,7	94,5
Composés hydrogénés				41,8	92,3	-	-	42,6
Composés oxygénés				9,5	2,3	3,8	40,7	51,9
Monoterpènes hydrocarbonés				0,4	1,1	-	-	0,4
Monoterpènes oxygénés				0,1	-	-	0,3	0,1
Sesquiterpènes hydrocarbonés				41,4	91,2	-	-	42,2
Sesquiterpènes oxygénés				7,6	2,3	-	40,4	49,8
Autres oxygénés				1,8	-	3,5	-	2,0

HE=Huile essentielle ;Irl=Indices de rétention littérature issu de la bibliothèque Joulain<sup>38</sup>, Irl'si issu de la bibliothèque NIST<sup>117</sup>;Ira=Indices de rétention apolaire ; Irp=Indices de rétention polaire ; L'ordre d'élution est donné sur colonne apolaire. La teneur d'un composé est exprimée en pourcentage relatif de la fraction correspondante. Les composés ont été identifiés à partir de la bibliothèque « Arômes » du laboratoire sauf ceux dont la bibliothèque commerciale est précisée par une référence en exposant.  
EH : fraction hydrogénée (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 100/0) - EO1 : fraction oxygénée (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 95/5) - EO2 : fraction oxygénée (C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>/Et<sub>2</sub>O : 0/100).

**Tableau II.7** : Compositions chimiques de l'huile essentielle d'*E. maritimum* et de ses fractions.

**CHAPITRE III**  
**ETUDE DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE ET DE LA**  
**VARIABILITE CHIMIQUE.**

Pour une vision du végétal aussi étendue que possible, nous rapportons, dans ce chapitre, les travaux réalisés sur la mise en évidence des activités biologiques des huiles essentielles des trois plantes étudiées puis, les travaux sur leur variabilité inter stations afin de mettre en évidence d'éventuelles spécificités dans la perspective d'une valorisation. Enfin, nous terminons par l'analyse des composés présents dans les huiles essentielles obtenues à partir des organes séparés et par la mise en œuvre de la technique de micro extraction sur phase solide en mode espace de tête ou « head space » (EdT-MEPS), comme méthode alternative à l'hydrodistillation.

## **A - ETUDE DE L'ACTIVITE BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES.**

Dans le cadre d'une collaboration inter-universitaire formalisée avec le Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO) de l'Université Abou Bekr Belkaid (Tlemcen, Algérie), nous nous sommes intéressés aux activités biologiques des huiles essentielles de *C. mixtum*, d'*A. maritima* et d'*E. maritimum* de Corse et à celles de leurs fractions oxygénée et hydrocarbonée respectives. Nous ne disposons pas d'une quantité d'huile essentielle suffisante pour mener ces tests sur les huiles essentielles de Sardaigne, excepté pour *A. maritima*.

Les activités de ces huiles essentielles et fractions ont été testées sur 9 souches : trois bactéries Gram +, 5 bactéries Gram – et une levure représentant un panel varié de micro-organismes impliqués dans des infections nosocomiales et alimentaires. Au vu de la quantité importante d'huile essentielle nécessaire pour ces tests, nous n'avons pas pu fournir une huile essentielle par station, mais seulement là où les végétaux étaient les plus abondants. Les huiles essentielles ayant servi de support à notre étude ainsi que leurs fractions hydrocarbonées ou oxygénées sont celles présentées au **chapitre II**.

Le **tableau III.1** reporte les diamètres d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion sur gel et les concentrations minimales d'inhibition obtenues par dilution en milieu liquide, de chaque matrice sur chaque micro-organisme (les valeurs en gras dans le tableau sont celles pour lesquelles on estime que l'activité devient significative).

L'huile essentielle d'*E. maritimum* et plus spécifiquement sa fraction oxygénée, riche en sesquiterpènes alcooliques et aldéhydiques, manifeste une activité forte contre *Escherichia coli*.

Les huiles essentielles d'*A. maritima* de Corse et de Sardaigne n'ont pas révélé le même pouvoir antibiotique. L'huile essentielle de Corse s'est avérée

moyennement efficace contre la plupart des micro-organismes testés, tandis que l'huile essentielle de Sardaigne n'a montré qu'une très faible activité. La fraction hydrogénée d'*A. maritima* de Corse présente une activité intéressante sur *Listeria monocytogenes*, tandis que sa fraction oxygénée, riche en ester de *cis*-chrysanthénol et en 6-méthyl-5-heptèn-2-one, a montré une bonne activité contre *Staphylococcus aureus*. Signalons que les activités des esters de *cis*-chrysanthénol et de la 6-méthyl-5-heptèn-2-one n'ont jamais été testées.

Enfin, l'huile essentielle de *C. mixtum* est celle qui a manifesté l'activité la plus intéressante, tout particulièrement vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Echerichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis* et *Klebsiella pneumoniae*. De plus, la fraction oxygénée de *C. mixtum* est active sur *Listeria monocytogenes* et sur *Candida albicans*, cela est certainement dû à la forte présence d'alcools monoterpéniques irréguliers dans la fraction connue pour leur activité antibactérienne,<sup>213,214</sup> ainsi qu'à la présence de (*Z*)-heptadéc-9,16-adièn-7-one, des composés analogues ayant démontré une activité antifongique.<sup>215</sup>

En conclusion, nous rapportons, ici, l'activité des huiles essentielles d'*A. maritima* et *E. maritimum* pour la première fois. Cependant, bien que celles-ci présentent une certaine activité, l'huile essentielle de *C. mixtum*, et notamment sa fraction oxygénée, s'avère la plus performante dans la lutte contre divers micro-organismes. Bien que les activités de *C. mixtum* aient déjà fait l'objet d'étude<sup>124</sup> nous signalons pour la première fois son activité contre *C. albicans*, *C. freundii*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* et *L. monocytogenes* n'avait encore jamais été relevée.

Micro-organismes	Huiles essentielles										Antibiotiques	
	EMT	EMH	EMO	AMST	AMCT	AMCH	AMCO	CMT	CMH	CMO	<sup>a</sup> GEN	<sup>b</sup> AmB
<b>Bactéries Gram +</b>												
<i>Bacillus cereus</i>	8 // >1000	7 // >1000	11 // >1000	15 // >1000	10 // <b>91,1</b>	11 // >1000	15 // >1000	11 // >1000	10 // >1000	14 // <b>85,8</b>	18 // 4	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	7 // >1000	9 // >1000	10 // >1000	<b>17 // &gt;1000</b>	11 // <b>91,1</b>	15 // >1000	<b>16 // 82,2</b>	<b>30 // 90,0</b>	<b>17 // 82,5</b>	<b>25 // 85,8</b>	20 // 2	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	6 // >1000	7 // >1000	15 // >1000	11 // >1000	10 // >1000	<b>15 // 71,4</b>	14 // >1000	11 // >1000	11 // <b>82,5</b>	<b>15 // 85,8</b>	18 // 2	-
<b>Bactéries Gram -</b>												
<i>Echerichia coli</i>	<b>20 // &gt;1000</b>	11 // >1000	<b>17 // 85,7</b>	13 // <b>90,0</b>	8 // <b>91,1</b>	12 // <b>71,4</b>	11 // >1000	<b>25 // 90,0</b>	<b>18 // 82,5</b>	<b>20 // 85,8</b>	20 // 4	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 // >1000	7 // >1000	10 // >1000	8 // >1000	7 // >1000	8 // >1000	7 // >1000	10 // >1000	9 // >1000	11 // >1000	11 // 4	-
<i>Citrobacter freundii</i>	11 // >1000	8 // >1000	14 // >1000	<b>16 // &gt;1000</b>	11 // >1000	12 // >1000	13 // >1000	<b>30 // 90,0</b>	<b>20 // &gt;1000</b>	<b>24 // 85,8</b>	19 // 4	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 // >1000	8 // >1000	12 // <b>85,7</b>	15 // >1000	11 // <b>91,1</b>	10 // <b>71,4</b>	12 // <b>82,2</b>	<b>25 // 90,0</b>	<b>16 // 82,5</b>	<b>31 // 85,8</b>	18 // 4	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6 // >1000	7 // >1000	11 // >1000	12 // >1000	12 // <b>91,1</b>	11 // >1000	14 // <b>82,2</b>	<b>30 // 90,0</b>	<b>19 // &gt;1000</b>	<b>32 // 85,8</b>	20 // 4	-
<b>Levure</b>												
<i>Candida albicans</i>	10 // >1000	11 // >1000	15 // >1000	15 // >1000	10 // <b>91,1</b>	12 // >1000	14 // >1000	12 // >1000	11 // >1000	<b>20 // 85,8</b>	-	18 // 1
Diamètre d'inhibition sur disque d'agarose de 5 µl d'huile essentielle (Ce diamètre comprend les 6 mm du disque) // Concentration Minimum d'Inhibition en µg.ml <sup>-1</sup> ; <sup>a</sup> GEN : Gentamicine (15 µg) ; <sup>b</sup> AmB : Amphotericine B (100 µg) ; <b>EMT</b> : <i>E. maritimum</i> (HE brute); <b>EMH</b> : <i>E. maritimum</i> (Fraction hydrocarbonée); <b>EMO</b> : <i>E. maritimum</i> (Fraction Oxygénée); <b>AMST</b> : <i>A. maritima</i> de Sardaigne (HE brute); <b>AMCT</b> : <i>A. maritima</i> de Corse (HE brute); <b>AMCH</b> : <i>A. maritima</i> de Corse (Fraction hydrocarbonée); <b>AMCO</b> : <i>A. maritima</i> de Corse (Fraction Oxygénée); <b>CMT</b> : <i>C. mixtum</i> (HE brute); <b>CMH</b> : <i>C. mixtum</i> (Fraction hydrocarbonée); <b>CMO</b> : <i>C. mixtum</i> (Fraction Oxygénée). Les valeurs remarquables d'activités biologiques sont en caractères gras.												

**Tableau III.1** : Résultats des tests d'activité biologique des huiles essentielles d'*E. maritimum*, d'*A. maritima* et de *C. mixtum* sur huit bactéries et une levure.

## B - VARIABILITE CHIMIQUE INTER STATIONS DES HUILES ESSENTIELLES.

Dans cette partie nous nous proposons d'étudier la variabilité chimique des huiles essentielles en fonction du lieu de récolte de *Chamaemelum mixtum*, d'*Anthemis maritima* et d'*Eryngium maritimum* afin de déceler d'éventuelles spécificités micro régionales voire d'éventuels chémotypes.

Pour chaque espèce, nous avons étudié plus d'une douzaine d'échantillons d'huiles essentielles des parties aériennes de végétaux prélevés sur l'ensemble du littoral de Corse et de Sardaigne. Les analyses ont été menées par CPG-Ir et CPG/SM-IE, nous avons dressé les tableaux correspondants et nous avons procédé à une analyse statistique par Classification Hiérarchique Ascendante (CHA) et par Analyse en Composante Principale (ACP).

### 1-Compositions chimiques des huiles essentielles de *C. mixtum* du continuum Corso-Sarde.

Pour les 13 stations de Corse et de Sardaigne localisées sur la **figure III.1**, nous avons effectué une récolte de mai à juillet 2008 :

- En Corse (10 stations) : Marana **C1**, embouchure du Golo **C2**, Arinella **C3**, Quercioni **C4**, Calvi **C5**, Ostriconi **C6**, Lama **C7**, Ajaccio **C8**, Diane **C9** et Folleli **C10**.
- En Sardaigne (3 stations) : Praxis **S1**, La Caletta **S2** et Oristano **S3**.

Les résultats des analyses des compositions chimiques des huiles essentielles des parties aériennes totales sont repris dans le **tableau III.2**. Au total, 78 composés ont été identifiés ; nous n'avons pas identifié de composés qui n'aient pas été trouvés dans l'huile essentielle de référence étudiée au **chapitre II**. Ces composés représentent de 89,9 % à 93,5 % de la composition chimique globale. Pour ce qui est des échantillons dont le pourcentage d'identification est le plus bas, ils renferment une trentaine de composés dont les abondances sont inférieures à 0,5 % et que nous n'avons pu identifier. Les profils chromatographiques des échantillons provenant de

Corse et de Sardaigne sont qualitativement similaires ; toutefois, les huiles essentielles diffèrent par les abondances de leurs composés majoritaires.

La CHA permet de distinguer 3 groupes d'échantillons (**figure III.2**) :

- Groupe I : incluant les 3 échantillons de Sardaigne **S1-S3**.
- Groupe II : contenant 3 échantillons de Corse obtenus à partir du végétal récolté dans la région bastiaise **C1-C3**.
- Groupe III : constitué par les sept autres échantillons de Corse **C4-C10**.

L'ACP (**figure III.3**) confirme les résultats de la CHA et met en évidence les principales différences d'ordre quantitatif entre les 3 groupes de composition chimique. Les composés discriminants sont : la (*Z*)-heptadéc-9,16-adiène-7-one **76**, le yomogi alcool **13**, l'artémisia alcool **22**, le santolina alcool **18**, le germacrène D **54**, le (*E,E*)- $\alpha$ -farnésène **58** et le (*E*)- $\beta$ -farnésène **52**. On remarque que l'axe des abscisses (axe 1) est corrélé positivement avec les composés oxygénés et négativement avec les sesquiterpènes hydrocarbonés. Les deux axes décrivent plus de 50 % de la variabilité.

-**Le groupe I** comporte les huiles essentielles de Sardaigne, il est caractérisé par des teneurs en (*Z*)-heptadéc-9,16-adiène-7-one **76** (12,3-12,7 %) et surtout en santolina alcool **18** (39,8-46,2 %) supérieure à celles des huiles essentielles de Corse (12,5-16,6 % et 15,4-26,2 % respectivement pour les groupes II et III). Par contre, le germacrène D **54** est présent à un taux bien plus faible (0,5-1,2 % contre 6,0-28,6 %). Il en est de même pour le (*E,E*)- $\alpha$ -farnésène **57** (0,2-2,2 % contre 3,4-15,6 %). De fait, le pourcentage des sesquiterpènes hydrocarbonés (6,1-13,1 %) des échantillons de Sardaigne est nettement inférieur à celui des huiles essentielles de Corse (21,6-50,7 %).

-**Le groupe II** est celui des huiles essentielles obtenues à partir du végétal récolté dans la région bastiaise (Corse) et a la particularité d'être le seul à avoir le yomogi alcool **13** (14,3-16,2 %) et l'artémisia alcool **22** (12,0-13,2 %) comme composés majoritaires.

-**Le groupe III** regroupe les autres huiles essentielles de Corse. Celles-ci sont caractérisées par une plus forte teneur en germacrène D **54** (13,3-28,6 %) au regard des échantillons de la région bastiaise (6,0-9,0 %) et à fortiori de ceux de

Sardaigne (0,5-1,2 %). Elles possèdent, également, une forte teneur en sesquiterpènes hydrocarbonés (30,4-50,7 % contre 6,1-25,2 % pour les autres huiles). On constate également que leur rendement (0,051-0,070 %) est supérieur aux huiles essentielles des deux autres groupes (0,019-0,045 %).

Il existe 3 groupes de compositions chimiques différenciés sur la base des principaux composés. Ces groupes sont chacun conscrits à une zone géographique définie : Sardaigne, région de Bastia en Corse et autres régions de Corse. Si les différences de compositions chimiques entre les échantillons de Corse et de Sardaigne peuvent s'expliquer par la variation des facteurs environnementaux d'une île à l'autre, il est plus difficile de comprendre l'existence de ce groupe bastiais. Par exemple, les régions lagunaires de la plaine orientale et de la région bastiaise sont similaires d'un point de vue écologique mais les compositions des échantillons correspondants sont divergentes. Il conviendrait, ultérieurement, de procéder à une analyse de la composition des sols, ou encore mener une étude génétique pour mettre en évidence la cause de cette variabilité.

Nous remarquons enfin que les huiles essentielles de Corse et de Sardaigne, diffèrent des huiles essentielles du Maroc étudiées précédemment par la présence systématique de la (*Z*)-heptadéc-9,16-adiène-7-one comme composé majoritaire (4,4-12,7 %). Les compositions chimiques des échantillons d'huiles essentielles du groupe II, sont les plus éloignés de la composition chimique des huiles essentielles du Maroc.<sup>123-125</sup>

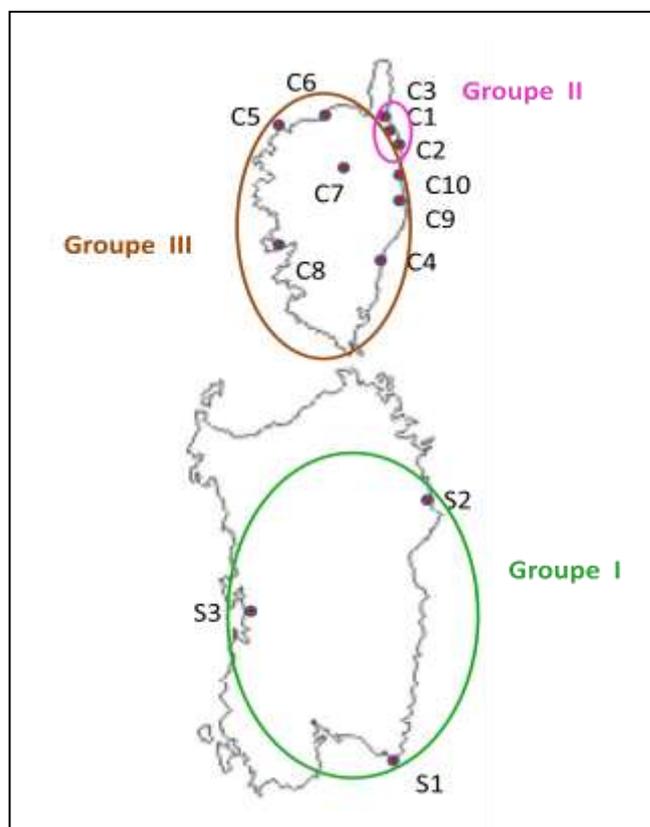
N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Echantillons de Corse										Echantillons de Sardaigne			
					Groupe II			Groupe III							Groupe I			
					C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	S1	S2	S3	
1	Heptane	700'	700	700	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
2	3-Méthylbutanol	718'	716	1178	0,1	t	0,1	t	0,1	t	t	t	t	t	0,2	0,2	0,1	0,1
3	2-Méthylbutanol	724'	717	1170	0,1	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
4	Hexanal	770'	770	1055	0,1	0,1	0,1	t	t	0,1	t	t	t	t	0,2	0,1	0,1	0,1
5	3-Méthylpentanol	825'	824	1299	0,1	0,2	0,2	t	t	0,1	0,1	0,1	t	t	0,2	0,3	0,2	0,2
6	Santolinatriène	909	901	1018	t	0,7	0,1	0,4	0,1	0,3	0,1	0,3	1	0,2	t	0,4	t	t
7	$\alpha$ -Pinène	936	927	992	1,3	1,7	1,5	3,9	1,2	1,9	2,0	2,1	2,4	1,0	0,6	3,5	0,6	0,6
8	Camphène	942	940	1035	0,1	0,2	0,2	0,3	0,1	0,5	0,1	0,3	0,2	t	t	0,2	t	t
9	6-Méthylhept-5-èn-2-one	972	961	1311	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	t	0,1	0,1	0,3	0,6	0,4	0,4
10	Sabinène	973	964	1095	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	t	t	0,1	t	t	0,1	t	t
11	$\beta$ -Pinène	978	967	1078	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	t	0,5	0,1	0,1	0,1
12	Myrcène	987	977	1130	0,4	0,2	0,2	3,6	0,1	0,1	t	t	0,7	0,2	0,1	0,9	0,2	0,2
13	Yomogi alcool	991	981	1387	16,2	14,3	15,8	3,6	0,7	6,4	1,2	4,9	4,0	2,3	2,2	2,2	2,9	2,9
14	m-Cymène	1013	1011	1268	0,1	0,2	0,2	-	0,1	0,1	t	t	0,2	t	t	0,1	t	t
15	p-Cymène	1015	1012	1267	0,1	0,1	0,1	-	t	0,1	t	t	t	t	0,1	0,2	0,2	0,2
16	1,8-Cinéole	1024	1020	1209	1,6	2,1	2,1	0,6	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,5	0,4	0,5	0,3	0,3
17	Limonène	1025	1021	1243	0,1	0,2	0,2	0,1	t	t	t	t	0,2	0,1	t	0,1	t	t
18	Santolina alcool	1029	1026	1395	12,5	15,6	13,9	26,2	17,1	21,3	21,2	21,9	22,9	15,4	43,3	46,2	39,8	39,8
19	(E)-Oct-2-énal	1034	1032	1253	0,1	0,1	0,1	t	t	0,1	t	t	t	t	0,1	0,1	t	t
20	Artémisia cétone	1044	1047	1352	0,1	t	0,1	t	t	t	t	t	t	0,2	t	t	0,1	0,1
21	$\gamma$ -Terpinène	1051	1046	1243	t	0,1	0,1	0,1	t	0,1	t	t	t	t	0,1	0,1	0,1	0,1
22	Artémisia alcool	1073	1072	1479	12,0	12,7	13,2	2,1	1,3	2,4	1,9	2,1	1,4	2,8	4,1	4,7	3,4	3,4
23	6-Méthylhept-3,5-adièn-2-one	1079'	1077	1084	0,1	0,1	0,1	t	t	t	t	t	t	t	0,1	0,1	0,1	0,1
24	Terpinolène	1080'	1078	1280	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,3	0,1	0,1	0,1
25	Linalol	1082'	1081	1544	0,1	0,5	0,5	0,2	0,4	0,1	0,1	t	3,0	0,8	0,1	0,5	0,3	0,3
26	Nonanal	1083'	1083	1394	0,1	t	t	0,2	t	0,1	0,3	0,2	t	0,2	0,4	0,1	0,3	0,3
27	Hotriénol	1083	1083	1575	0,3	t	t	t	t	0,1	t	0,2	t	t	t	t	t	t
28	Isovalérate de 2-méthylbutyle	1094'	1098	1274	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	t	0,2	0,2	0,1	0,1
29	trans-Pinocarvéol	1126	1120	1650	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,3	0,2	0,3	0,1	0,3	0,5	0,3	0,1	0,1
30	trans-Non-2-énal	1139	1132	1568	0,1	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t	0,1	t	t	t
31	Pinocarvone	1137	1136	1558	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2	t	0,1	0,3	0,2	1,3	1,3
32	Bornéol	1150	1148	1698	0,3	0,3	0,3	0,2	0,2	0,4	0,3	0,3	0,3	0,2	0,7	0,7	1,2	1,2

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Echantillons de Corse										Echantillons de Sardaigne		
					Groupe II			Groupe III							Groupe I		
					C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	S1	S2	S3
33	Terpinèn-4-ol	1164	1160	1600	0,2	0,3	0,3	0,1	0,1	t	0,1	t	0,1	t	0,2	0,2	0,2
34	Myrténal	1172	1172	1628	t	0,1	0,1	0,1	t	0,1	0,1	t	0,1	1,0	0,2	0,1	0,1
35	$\alpha$ -Terpinéol	1176	1173	1178	t	0,1	0,1	0,1	t	t	t	t	t	t	0,1	0,1	0,1
36	Formiate de bornyle	1199	1212	1557	0,4	0,6	0,6	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1	t	0,2	0,1	0,1
37	Oxyde de thymyle et méthyle	1215	1214	1589	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	t	t	t	t	t	0,6	0,1	0,1
38	Géraniol	1235	1237	1731	0,1	0,1	0,1	t	t	t	0,1	t	0,1	t	0,1	0,1	t
39	(E)-Déc-2-énal	1240	1248	1652	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,2	0,1	0,1
40	Acétate de bornyle	1270	1267	1540	0,4	0,5	0,5	0,3	0,2	0,9	0,2	0,2	0,6	t	0,7	0,7	0,1
41	Undécane-6-ol	1283	1282	1676	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,1	0,1	0,1
42	(E,E)-Déc-2,4-adiénal	1291	1290	1820	0,1	t	0,1	t	t	t	t	t	t	t	0,1	0,1	0,2
43	Tiglate de cis-hexényne	1297'	1305	1641	t	t	t	t	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	t	0,1	t	0,1
44	Acétate de myrtényne	1304	1306	1680	t	t	t	t	0,1	0,2	t	t	t	t	t	t	t
45	trans-Undéc-2-énal	1342'	1347	1757	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	0,3	t	0,7	0,2	0,2	t	t	0,3
46	Acétate de géranyle	1362	1363	1752	0,1	0,1	0,3	0,2	t	0,4	0,3	t	0,3	0,2	0,9	0,4	0,3
47	(Z)-Jasmone	1371	1373	1909	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2	t	0,2	0,1	0,5	1,1	0,4	0,1	0,5
48	$\alpha$ -Ylangène	1376	1375	1476	t	t	t	t	0,1	0,3	0,4	0,1	t	t	0,1	0,1	0,2
49	$\beta$ -Elémène	1389	1384	1589	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	t	0,3	0,3	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1
50	(E)- $\beta$ -Caryophyllène	1420	1416	1547	1,2	1,1	1,1	1,0	1,9	1,5	2,3	1,9	0,9	1,1	0,1	0,2	0,7
51	$\beta$ -Ylangène	1420	1420	1562	t	0,1	0,1	0,2	0,3	t	0,4	t	0,1	0,3	0,1	0,1	0,1
52	(E)- $\beta$ -Farnésène	1446	1445	1626	6,8	5,2	5,3	3,4	7,5	3,0	5,8	5,0	1,9	11,3	3,0	4,3	5,6
53	$\gamma$ -Muuroène	1474	1471	1681	0,1	0,2	0,1	0,4	0,1	t	t	0,1	0,4	0,4	0,1	0,8	0,2
54	Germacrène D	1479	1478	1661	9,0	6,0	7,0	25,2	24,1	21,7	28,6	20,2	20,5	13,3	0,6	0,5	1,2
55	Zingibèrene	1489	1489	1717	0,4	1,0	0,3	0,2	0,2	0,2	1,4	0,3	0,5	0,7	0,2	0,1	0,8
56	Bicyclgermacrène	1494	1494	1727	0,2	0,4	0,2	0,7	1,1	0,9	0,7	0,8	0,5	0,5	0,2	0,1	0,5
57	$\alpha$ -Muuroène	1496	1496	1719	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,1	0,2	0,2
58	(E,E)- $\alpha$ -Farnésène	1498	1498	1705	6,6	6,5	6,5	3,8	13,3	7,8	4,2	15,6	3,4	6,1	0,2	0,2	2,2
59	$\gamma$ -Cadinène	1507	1507	1752	0,2	0,2	0,1	0,3	0,3	0,2	0,5	0,2	0,4	0,5	0,1	0,2	0,4
60	$\delta$ -Cadinène	1520	1513	1749	0,6	0,5	0,6	1,2	1,3	0,9	2,0	1,7	1,4	1,2	0,2	0,2	0,2
61	Cadina-1,4-diène	1523	1523	1763	t	t	t	t	0,1	t	t	t	t	t	0,5	t	0,1
62	$\alpha$ -Cadinène	1534	1536	1745	t	0,3	0,3	0,1	0,2	0,3	0,2	0,1	0,1	0,7	0,4	0,3	0,6
63	(E)-nérolidol	1553	1549	2037	0,4	0,3	0,3	0,4	0,7	0,1	0,1	t	0,4	0,9	1,4	0,9	0,5
64	1,5-Epoxysalvial-4-ène	1571'	1568	1870	0,4	0,2	0,2	t	0,2	0,2	0,2	0,2	0,9	1,1	1,7	0,5	0,6
65	Spathuléol	1572	1570	2119	0,8	0,4	0,6	0,2	0,4	0,5	0,2	0,4	0,3	1	2,2	0,7	1,7
66	Oxyde de caryophyllène	1578	1570	1980	0,3	0,3	0,3	0,2	0,4	0,3	0,2	0,2	0,4	0,6	0,9	0,3	0,5

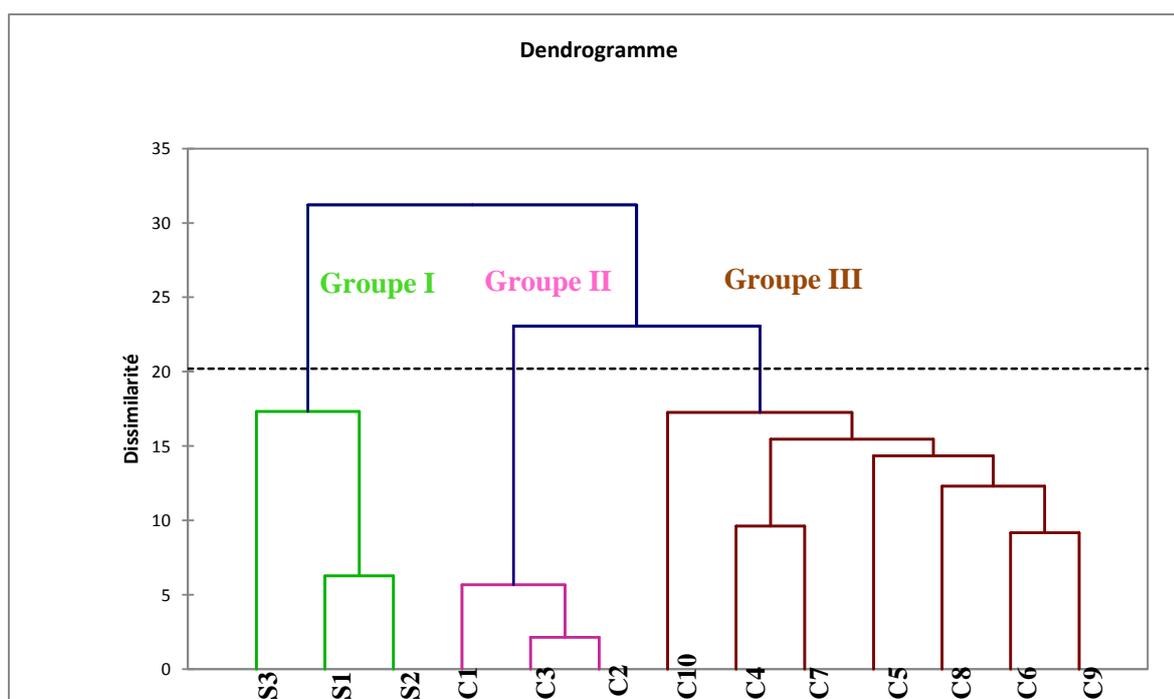
N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Echantillons de Corse										Echantillons de Sardaigne		
					Groupe II			Groupe III							Groupe I		
					C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	S1	S2	S3
67	Globulol	1589	1589	2074	0,4	0,9	0,7	0,3	0,1	0,3	0,2	0,1	0,2	1,7	1,0	0,4	2,4
68	Copabornéol	1595	1592	2159	0,3	0,5	0,4	0,1	0,3	0,4	0,1	0,1	0,9	1,7	0,7	0,3	0,2
69	Lédol	1600	1599	2029	0,4	0,5	0,4	0,1	0,3	0,4	1,0	0,3	0,2	0,8	0,2	0,3	0,2
70	Oxyde d'aromadendrène	1623	1617	2002	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,3	0,5	0,2	0,2	0,5	0,3	0,3	0,7
71	12-épi Cédrol	1620	1620	2163	0,3	0,7	0,7	0,1	0,3	0,2	0,3	0,2	0,2	2,0	1,3	0,6	1,3
72	τ-Muurolol	1933	1634	2143	0,8	0,2	0,2	0,6	1,2	1,1	1,8	1,5	2,4	0,7	0,8	0,7	1,5
73	τ-Cadinol	1933	1638	2163	0,1	0,8	0,8	1,0	1,9	2,0	0,4	2,5	3,1	2,6	0,3	0,3	0,4
74	α-Cadinol	1943	1645	2227	1,1	0,1	0,1	t	0,1	0,3	3,2	0,1	0,3	0,5	0,9	0,3	0,6
75	Germacra-4,5,10-trièn-1α-ol	1680	1676	2298	0,8	0,7	0,6	0,1	0,8	0,4	0,7	0,4	0,6	3,3	0,8	0,4	1,2
76	(Z)-Heptadéc-9,16-adièn-7-one	-	1827	2194	9,9	10,5	10,7	7,9	9,2	9,1	4,4	5,7	11,5	10,2	12,5	12,3	12,7
77	Tricosane	2300'	2300	2300	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,2	0,1	0,7
78	Pentacosane	2500'	2500	2500	t	0,2	0,2	t	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,6	0,2	0,1	0,9
	Total identifié				90,1	90,7	90,5	91,7	91,0	90,0	89,9	92,9	91,7	91,9	90,5	90,9	93,5
	Composés hydrocarbonés				27,7	25,5	24,8	45,4	52,9	40,3	49,4	49,3	35,6	38,9	8,2	13,4	16,0
	Composés oxygénés				62,4	65,2	65,7	46,3	38,1	49,7	40,5	43,6	56,1	53,0	82,3	77,5	77,5
	Monoterpènes hydrocarbonés				2,4	3,6	2,8	8,6	1,8	3,3	2,3	2,8	5,0	1,5	1,7	5,8	1,3
	Monoterpènes oxygénés				44,8	47,8	48,4	34,5	21,0	33,1	26,4	30,4	33,8	24,9	55,0	57,2	50,9
	Sesquiterpènes hydrocarbonés				25,2	21,6	21,7	36,7	50,7	36,8	46,8	46,3	30,4	36,4	6,1	7,4	13,1
	Sesquiterpènes oxygénés				6,3	5,8	5,5	3,2	6,9	7,0	8,9	6,2	10,1	17,4	12,5	6,0	11,8
	Autres hydrocarbonés				0,1	0,3	0,3	0,1	0,4	0,2	0,3	0,2	0,2	1,0	0,4	0,2	1,6
	Autres oxygénés				11,3	11,6	11,8	8,6	10,2	10,1	5,2	7,0	12,2	10,7	14,8	14,3	14,8
	Rendements ( % m/m vs. matériel végétal frais)					0,019	0,022	0,070	0,054	0,051	0,055	0,060	0,059	0,063	0,024	0,026	0,045

Irl=Indices de rétention littérature issu de la bibliothèque Joulain<sup>38</sup>, Irl' : si issu de la bibliothèque NIST<sup>117</sup>; Ira=Indices de rétention apolaire ; Irp=Indices de rétention polaire ; L'ordre d'élution est donné sur colonne apolaire. La teneur d'un composé est exprimée en pourcentage relatif de la fraction correspondante.

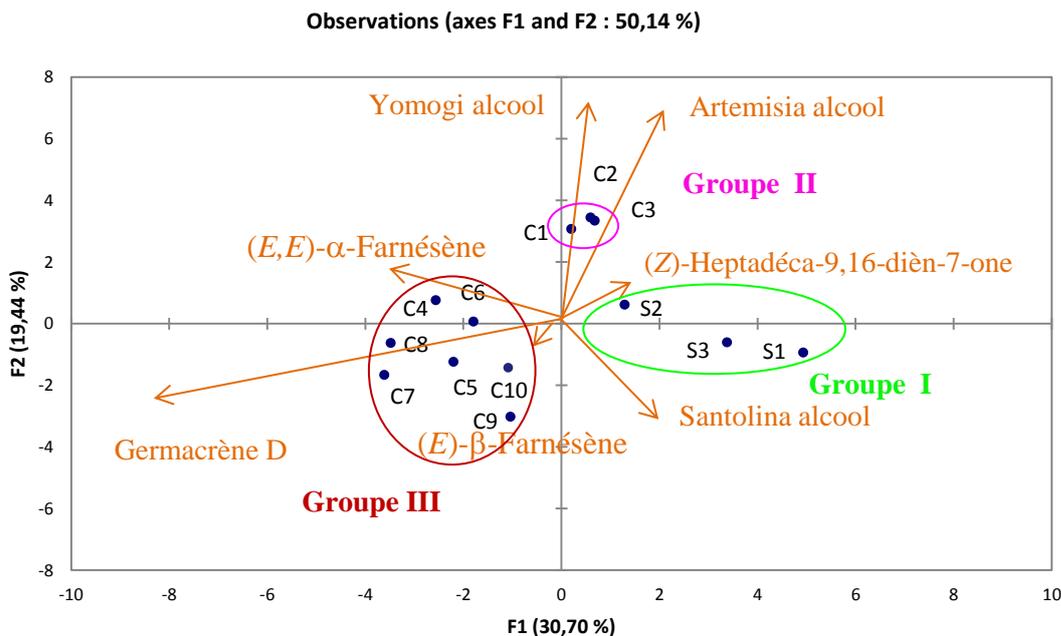
**Tableau III.2** : Compositions chimiques des huiles essentielles de *C. mixtum* de diverses localités de Corse et de Sardaigne.



**Figure III.1 :** Cartes des stations de prélèvements - Groupes de compositions chimiques des huiles essentielles de *C. mixtum*.



**Figure III.2 :** Dendrogramme des huiles essentielles de *C. mixtum* de Corse et de Sardaigne en fonction de leurs compositions chimiques.



**Figure III.3 :** ACP des compositions chimiques des huiles essentielles de *C. mixtum* de Corse et de Sardaigne.

2-Compositions chimiques d'échantillons d'huiles essentielles d'*A. maritima* du continuum Corso-Sarde.

Les résultats du **chapitre II** ont mis en exergue la disparité des compositions chimiques, tant au niveau qualitatif que quantitatif, des huiles essentielles de Corse et de Sardaigne étudiées. Nous avons effectué, de juin à juillet 2007, une récolte dans 17 stations de Corse et de Sardaigne. Les lieux de récoltes sont précisés à la **figure III.4** :

- En Corse (6 stations) : Fautea **C1**, Pinia **C2**, Quercioni **C3**, La Marana **C4**, Campoloro **C5**, Bonifacio **C6**.
- En Sardaigne (11 stations) : La Caletta **S1 S2**, Oristano **S3 S4**, Alghero **S5 S8**, Marina di Sorso **S6 S7** et Cagliari **S9 S10 S11**.

Les compositions chimiques des huiles essentielles correspondantes sont reprises dans le **tableau III.3**. Les taux d'identification varient entre 83,3 % et 91,6 % ; nous avons identifié 124 composés et aucun composé supplémentaire par rapport aux études exposées au **chapitre II**. Comme dans le cas de *C. mixtum* et d'une façon plus générale pour les Asteracées, les huiles essentielles dont les pourcentages

d'identification sont les moins importants, contiennent une trentaine de composés non identifiés (abondance < 0,5 %).

La CHA (**figure III.5**) montre deux groupes ayant une forte dissimilarité et confirme la présence de compositions typiques répartis comme suit :

- **Groupe I** : incluant les six échantillons de Corse **C1-C6** et les échantillons **S1** et **S2** de Sardaigne situés au nord-est sur la Costa Smeralda.
- **Groupe II** : comportant les autres échantillons de Sardaigne **S3-S11**.

L'ACP (**figure III.6**) confirme les conclusions tirées du dendrogramme et met en évidence les composés à l'origine de ces différences :

- **Groupe I** : les échantillons sont riches en esters de *cis*-chrysanthényle, en 6-méthylhept-5-èn-2-one **10** (8,8-24,9 %) et comportent une quantité importante de terpènes hydrocarbonés (25,9-39,8 %) comme le bicyclogermacrène **92** (3,7-5,4 %), l' $\alpha$ -pinène **6** (1,4-5,0 %), le (*E*)- $\beta$ -caryophyllène **76** (1,0-4,4 %) ou le myrcène **14** (0,3-8,7 %).

- **Groupe II** : les échantillons sont caractérisés par une composition chimique généralement riche en *trans*-chrysanthénol **35** (1,6-14,1 %) et surtout en acétate de *trans*-chrysanthényle **45** (12,6-68,5 %). Ils sont moins riches en composés hydrocarbonés (3,9-17,9 %) que les échantillons du groupe I (22,7-39,8 %).

On notera enfin, que les rendements en huile essentielle diffèrent selon le groupe : 0,01-0,02 % pour le groupe I (Corse + Nord Sardaigne) et 0,05-0,1 % pour le groupe II (Sardaigne).

Les deux groupes admettent des compositions chimiques très différentes que le simple changement d'île ne suffit pas à expliquer. En effet le cas des deux échantillons du nord est de la Sardaigne : **S1** et **S2** sont similaires, par le rendement et par leur composition aux huiles essentielles de Corse.<sup>26</sup> Il nous semble intéressant de compléter ces analyses chimiques par une étude génétique.

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Stations de Corse						Stations de Sardaigne										
					Groupe I						Groupe II										
					C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
1	(Z)-3-Hexèn-1-ol	832	831	1380	0,1	t	0,1	-	t	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	Santolinatriène	909	905	1018	t	t	t	t	t	0,1	-	-	2,7	0,6	t	t	t	t	0,1	t	0,3
3	$\alpha$ -Thujène	932	928	1023	t	0,2	0,2	0,1	t	0,3	0,1	t	0,4	t	t	0,2	0,3	t	0,2	0,4	0,1
4	(E)-Hept-2-ènal	931	929	1315	-	-	-	-	-	-	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Benzaldéhyde	932	929	1525	-	-	-	-	-	-	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	$\alpha$ -Pinène	936	931	1022	3,8	4,2	5,0	3,6	1,4	4,8	2,4	0,6	t	0,6	1,2	1,5	1,6	0,6	3,3	1,7	0,6
7	$\alpha$ -Fenchène	941	942	1047	0,1	0,3	0,3	0,8	0,1	0,8	0,8	0,2	-	-	0,1	-	0,5	-	t	t	t
8	Camphène	942	943	1066	t	t	0,2	0,2	t	t	0,1	t	0,4	0,2	0,1	1,2	1,8	0,3	0,1	0,1	0,2
9	Octèn-3-ol	962	964	1477	t	t	t	t	t	t	-	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
10	6-Méthylhept-5-èn-2-one	972	966	1320	18,9	18,7	8,8	22,2	16,2	24,9	5,7	6,3	8,0	4,7	8,6	5,3	6,5	6,9	7,1	4,3	4,8
11	Sabinène	973	968	1103	-	-	-	-	-	-	t	-	t	t	t	t	0,2	t	0,1	t	t
12	$\beta$ -Pinène	978	975	1089	4,6	3,7	3,9	1,5	0,5	7,0	0,6	0,2	0,6	0,3	0,1	0,3	0,2	0,2	0,4	0,3	0,1
13	6-Méthylhept-5-èn-2-ol	986	979	1450	-	-	-	0,1	-	-	0,1	t	t	t	t	0,1	t	t	t	t	t
14	Myrcène	987	984	1135	4,7	2,4	4,3	0,9	0,3	8,7	0,8	0,3	0,1	0,9	0,2	1,0	1,0	t	0,1	0,2	0,1
15	Déhydro-1,8-cinéole	993	989	1170	-	-	-	-	-	-	-	-	t	t	t	0,2	t	0,2	t	t	t
16	$\alpha$ -Phellandrène	1002	999	1164	0,1	0,1	0,1	0,1	t	0,2	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	$\Delta$ -3-Carène	1010	1008	1126	0,3	1,0	0,7	0,5	0,3	1,3	0,3	0,2	0,4	0,2	0,1	0,8	0,6	0,2	0,5	0,8	0,3
18	méta-Cymène-	1013	1011	1142	0,2	0,4	0,3	0,3	0,1	0,7	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2
19	para-Cymène	1015	1014	1139	0,4	0,2	0,5	0,4	0,2	0,5	0,5	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,4	0,2	0,3	0,2	0,1
20	Phénylacétaldehyde	1012	1016	1616	0,1	t	t	t	t	0,1	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	1,8-Cinéole	1024	1022	1196	0,3	0,3	0,3	0,5	0,2	0,8	0,3	0,1	1,6	0,4	0,1	0,4	0,6	0,5	0,2	1,1	0,4
22	Limonène	1025	1023	1174	t	t	t	t	t	t	0,3	t	t	0,1	0,3	t	t	t	0,1	0,1	t
23	(Z)- $\beta$ -Ocimène	1029	1024	1230	t	0,1	t	0,1	t	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	(E)- $\beta$ -Ocimène	1039	1038	1247	0,6	0,3	0,6	0,3	t	0,6	t	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	ortho-Crésol	1042	1042	1927	-	-	-	-	-	-	0,1	t	t	t	t	t	0,1	t	t	t	t
26	$\gamma$ -Terpinène	1051	1051	1220	0,3	0,4	0,4	0,4	0,1	1,0	t	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	t	0,2	0,1
27	trans-hydrate de Sabinène	1053	1055	1452	-	-	-	-	-	-	-	-	t	t	t	t	t	t	t	t	t
28	Octanol	1063	1063	1532	0,2	t	t	t	t	0,2	-	-	t	t	t	t	0,1	t	t	t	t
29	para-Cyménène	1075	1074	1432	-	-	-	-	-	-	0,2	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Terpinolène	1076	1081	1253	0,2	0,1	0,1	-	0,1	0,3	0,4	0,3	0,2	0,1	0,1	t	0,2	t	0,1	t	0,1
31	Nonanal	1076	1082	1394	0,4	0,1	0,2	0,1	0,3	0,2	t	t	-	0,3	0,2	-	0,1	-	0,1	-	-
32	6-Méthylhept-3,5-adièn-2-one	1083	1084	1570	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
33	Filifolone	1083	1086	1410	0,2	0,2	0,3	0,1	0,2	0,5	-	-	0,2	t	0,1	t	t	0,1	t	t	0,1
34	Chrysanthénone	1088	1106	1477	0,1	-	-	0,1	t	0,1	-	0,1	t	t	t	t	t	t	t	t	t
35	trans-Chrysanthénol	1096	1107	1453	0,1	0,3	0,3	0,3	0,2	0,6	0,2	0,2	1,6	1,6	4,8	14,1	4,8	8,3	4,9	6,2	6,1
36	Camphre	1123	1123	1517	0,1	t	0,5	1,7	0,2	0,1	2,5	1,5	5,4	2,7	2,1	7,3	9,8	6,5	0,1	0,1	0,3
37	cis-Verbénol	1132	1130	1618	-	-	-	-	-	-	0,1	-	t	0,1	0,2	t	0,1	t	0,1	t	t

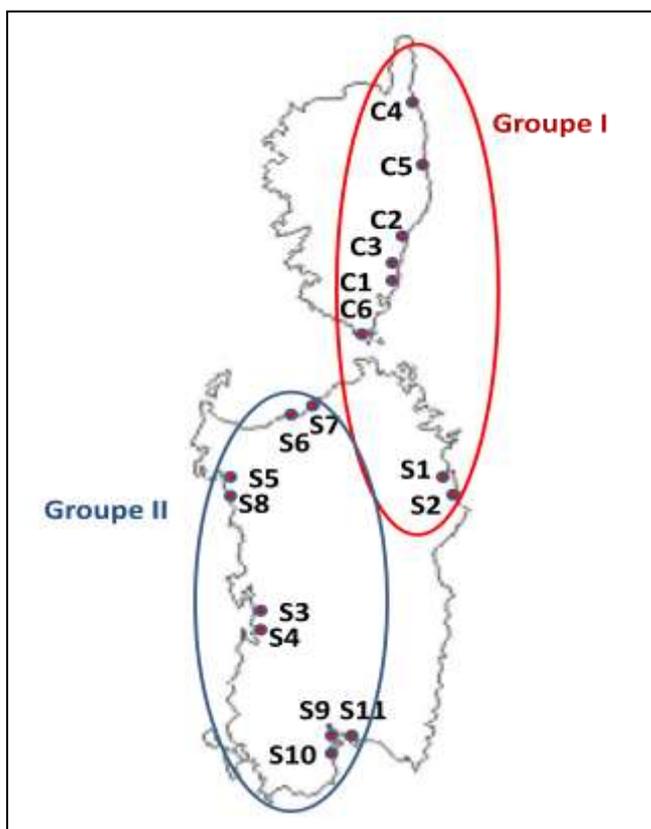
N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Stations de Corse						Stations de Sardaigne										
					Groupe I						Groupe II										
					C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
38	<i>trans</i> -Verbénol	1136	1133	1644	-	-	-	-	-	-	0,1	0,1	t	0,1	0,2	t	0,2	0,2	0,1	t	t
39	<i>cis</i> -Chrysanthénol	1147	1153	1455	0,3	0,4	1,0	1,4	1,9	0,2	3,1	2,4	3,6	1,5	2,6	0,2	1,6	0,1	0,2	0,2	0,3
40	Albène	1154	1154	1286	0,1	0,6	1,1	0,5	0,3	0,6	0,7	0,2	0,8	1,5	0,5	0,5	t	0,1	0,1	t	t
41	Terpinéol-4	1164	1168	1577	0,5	0,5	0,5	0,7	0,8	2,0	0,8	0,7	0,5	0,3	0,4	t	0,5	0,4	0,3	0,4	t
42	$\alpha$ -Terpinéol	1176	1177	1650	0,5	0,2	0,3	0,3	0,1	0,8	0,2	0,1	0,3	0,1	0,2	t	0,1	0,1	t	t	t
43	Myrtéol	1178	1182	1789	0,2	t	t	0,1	t	0,1	-	-	t	0,1	t	t	0,1	t	0,1	t	t
44	<i>trans</i> -Carvéol	1200	1202	1882	-	-	-	-	-	-	-	-	t	t	t	t	t	t	t	t	t
45	Acétate de <i>trans</i> -chrysanthényle	1238	1230	1522	t	0,1	0,1	0,1	0,2	0,3	0,3	0,7	12,6	17,2	34,9	47,9	48,0	55,3	59,0	63,0	68,5
46	( <i>E</i> )-Déc-2-ènal	1238	1238	1652	0,2	t	0,1	t	0,1	0,1	0,1	0,2	-	0,5	t	-	-	-	-	-	-
47	Acétate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1253	1250	1542	0,2	0,2	0,6	0,6	0,6	t	1,0	1,2	1,6	0,1	0,5	1,3	0,1	1,6	t	0,3	0,2
48	Acide nonanoïque	1263	1258	2127	-	-	-	-	-	-	0,2	-	t	t	t	t	t	0,1	t	t	t
49	Acétate de bornyle	1270	1269	1575	-	-	-	-	-	-	0,1	-	t	0,5	0,5	t	1,2	t	3,1	t	t
50	Thymol	1274'	1273	2143	0,5	0,3	0,4	0,3	0,2	0,4	0,3	0,7	0,4	0,4	0,3	0,1	0,2	t	0,1	0,1	t
51	Carvacrol	1278	1281	2000	-	-	-	-	-	-	0,4	t	t	0,1	t	t	0,1	t	0,1	t	0,1
52	( <i>E,E</i> )-Déc-2,4-adiènal	1291	1289	1820	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-
53	Propionate de <i>trans</i> -chrysanthényle	-	1314	1583	-	-	-	-	-	-	t	t	0,2	0,3	0,5	0,7	0,9	0,8	2,3	0,2	1,5
54	7- $\alpha$ -Silphiperfol-5-ène	1329	1329	1396	-	-	-	-	-	-	-	-	t	0,1	0,1	0,1	t	t	0,1	t	t
55	Eugénol	1331	1332	2171	0,1	2,7	0,3	0,3	0,5	0,3	-	0,4	t	0,1	t	t	t	t	t	t	t
56	Propionate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1334	1341	1627	0,8	0,8	1,4	0,8	1,5	2,5	3,6	3,4	2,6	2,0	0,9	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3
57	Silphin-1-ène	1350	1349	1438	-	-	-	-	-	-	-	-	t	0,2	t	t	t	t	0,1	t	t
58	7- $\beta$ -Silphiperfol-5-ène	1352	1349	1422	-	-	-	-	-	-	0,1	0,3	0,4	0,7	t	0,1	t	0,1	t	0,3	0,1
59	$\alpha$ -Cubébène	1355	1351	1452	t	t	t	-	0,1	-	t	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
60	$\alpha$ -Longipinène	1360	1355	1526	-	-	-	-	-	-	-	-	t	-	t	t	t	t	t	0,2	t
61	Isobutyrate de <i>trans</i> -chrysanthényle	-	1360	1592	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	-	0,2	0,2	1,2	0,5	0,2	0,6	0,8	0,9	1,0
62	( <i>E</i> )- $\beta$ -Damascénone	1364	1362	1810	0,1	t	0,1	0,1	t	t	0,1	t	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
63	Cyclosativène	1371	1369	1483	0,2	0,1	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-
64	Méthyleugénol	1380'	1374	1980	0,3	0,2	0,2	1,3	0,2	0,3	0,4	0,2	t	0,3	0,1	t	t	t	0,2	t	t
65	Modéphi-2-ène	1384	1378	1518	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	-	-	t
66	$\alpha$ -Copaène	1384'	1380	1463	1,0	1,1	1,4	1,3	1,5	0,8	3,2	1,1	1,3	0,4	t	0,7	0,1	1,3	t	0,2	0,5
67	$\beta$ -Bourbonène	1386	1383	1515	-	0,1	t	t	0,5	0,3	0,2	2,7	-	-	-	-	0,1	-	t	-	-
68	Isobutyrate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1390	1387	1636	0,3	0,9	2,3	2,0	5,0	0,5	5,3	4,6	4,9	2,5	2,3	0,2	0,2	0,4	t	0,6	0,2
69	Modéphène	1383	1388	1500	-	0,4	-	-	-	0,1	-	-	t	0,1	t	0,1	t	0,2	t	1,1	t
70	$\beta$ -Elémène	1389	1392	1555	-	-	-	-	-	-	0,1	-	t	t	t	t	t	t	0,1	t	t
71	$\alpha$ -Isocomène	1389	1393	1510	-	-	-	-	-	-	-	-	t	0,1	t	t	t	t	t	0,1	t
72	Butyrate de <i>trans</i> -chrysanthényle	-	1394	1657	t	0,1	0,1	t	t	t	0,1	-	t	0,2	t	t	0,1	t	0,1	t	t
73	$\beta$ -Isocomène	1411	1407	1571	t	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
74	Ylanga-2-4-diène	1411	1411	1572	0,1	t	0,2	t	0,1	t	1,3	1,5	0,1	0,7	0,2	t	0,9	t	t	0,1	t

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Stations de Corse						Stations de Sardaigne										
					Groupe I											Groupe II					
					C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
75	$\alpha$ -Cédrène	1418	1420	1537	-	-	-	-	-	-	0,7	t	0,6	t	1,5	0,6	0,4	0,7	0,8	0,5	0,2
76	(E)- $\beta$ -Caryophyllène	1421	1424	1564	1,4	2,9	2,5	2,0	4,4	1,1	1,0	1,4	1,9	2,3	t	0,4	0,1	t	0,1	0,2	t
77	$\beta$ -Copaène	1430	1425	1581	-	-	-	-	-	-	0,2	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
78	Butyrate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1440	1427	1704	0,3	0,3	0,8	0,7	0,7	0,1	0,6	0,7	0,6	0,7	0,5	0,1	0,1	0,1	t	t	0,1
79	Géranylacétone	1430	1429	1851	0,1	0,2	0,3	0,2	0,4	t	0,6	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80	<i>épi</i> - $\beta$ -Santalène	1446	1445	1629	0,3	t	-	0,9	2,1	0,2	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81	2-Méthylbutyrate de <i>trans</i> -chrysanthényle	-	1450	1662	-	-	-	-	-	-	1,7	-	0,4	t	2,4	1,1	0,5	1,2	t	t	1,1
82	Isovalérate de <i>trans</i> -chrysanthényle	-	1452	1592	-	-	-	-	-	-	t	t	t	0,7	t	0,1	0,2	t	0,1	0,6	t
83	(E)- $\beta$ -Farnésène	1446	1452	1642	0,3	1,4	1,7	0,8	0,7	0,3	0,7	3,4	0,4	t	t	0,2	t	0,2	0,4	0,3	t
84	$\alpha$ -Humulène	1455	1455	1665	t	0,5	0,5	0,1	-	-	0,7	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
85	Prézizaène	1452	1456	1598	-	-	-	-	-	-	t	t	0,1	0,3	t	0,1	t	0,2	t	t	t
86	Muurola-4,11-diène	1458	1461	1623	0,8	0,8	0,5	t	0,1	0,5	0,1	0,4	0,1	0,1	t	0,1	t	t	t	t	t
87	$\gamma$ -Gurgujène	1472	1470	1654	2,2	0,7	0,5	0,6	t	0,4	0,2	0,7	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-
88	2-Méthylbutyrate de <i>cis</i> -chrysanthényle	-	1477	1696	3,6	3,2	7,6	8,2	7,0	6,3	15,4	13,5	14,9	11,2	8,9	0,4	0,5	0,3	0,2	1,7	0,7
89	Isovalérate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1485	1479	1710	6,7	4,4	5,7	6,6	10,7	0,2	6,3	3,6	7,0	4,2	2,7	0,6	0,5	0,3	t	0,7	0,3
90	Germacrène D	1474'	1484	1673	0,3	5,3	4,1	3,4	0,1	0,1	0,2	2,9	t	0,1	t	t	t	t	0,1	t	
91	Zingibérène	1489	1488	1676	0,1	0,3	0,2	0,1	0,1	t	0,1	0,1	t	t	t	t	0,2	t	0,1	t	t
92	Bicyclodermacrène	1494	1495	1690	3,9	5,4	4,1	4,4	3,8	3,7	0,5	2,9	0,1	1,0	0,7	0,8	0,1	0,8	t	t	0,9
93	Valérate de <i>trans</i> -chrysanthényle	1500	1496	1749	-	-	-	-	-	-	t	-	t	0,1	t	t	t	0,1	t	0,4	t
94	(E,E)- $\alpha$ -Farnésène	1498	1498	1747	-	-	-	-	-	-	-	-	t	0,1	t	t	t	t	t	t	t
95	$\beta$ -Bisabolène	1503	1501	1720	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	1,0	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
96	$\beta$ -Curcumène	1503	1506	1691	2,2	2,5	1,5	2,5	0,5	1,4	0,1	2,1	t	0,6	t	t	t	t	0,3	t	t
97	$\gamma$ -Cadinène	1507	1512	1721	6,6	t	1,0	1,0	0,6	0,8	0,8	1,4	t	0,2	t	t	0,8	0,1	t	t	t
98	1- $\alpha$ -H-Présilphiperfolane-9- $\alpha$ -ol	1519	1518	1980	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,3	0,4	0,5	0,3	0,9	t	t	0,3
99	$\beta$ -Sesquiphellandrène	1516	1520	1716	-	-	-	-	-	-	-	-	t	0,7	0,3	t	0,1	t	0,1	0,1	t
100	$\delta$ -Cadinène	1520	1521	1736	t	t	t	t	t	0,2	3,4	-	t	0,5	0,5	t	0,1	0,1	t	0,1	t
101	Valérate de <i>cis</i> -chrysanthényle	-	1525	1820	6,1	3,2	5,5	1,9	2,6	0,2	5,5	4,0	0,6	t	0,1	0,1	t	t	t	0,4	0,1
102	Angélate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1525	1525	1800	0,7	0,4	0,5	0,1	0,6	0,1	1,0	0,6	0,3	t	0,2	0,1	t	t	t	0,1	0,1
103	(E)- $\alpha$ -Bisabolène	1530	1526	1753	0,3	0,4	0,7	0,3	0,3	t	0,9	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
104	$\alpha$ -Calacorène	1527	1532	1895	t	0,2	0,1	0,2	0,7	0,1	t	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
105	(E)-Nérolidol	1553	1549	2037	0,2	0,1	0,1	0,2	-	t	0,3	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
106	Palustrol	1569	1564	1920	0,2	0,3	0,2	0,1	2,5	0,5	1,0	1,8	-	0,8	0,8	-	0,5	-	0,6	-	-
107	Spathuléol	1572	1568	2092	1,1	0,2	0,5	0,6	1,0	1,1	1,3	0,7	0,7	1,3	0,9	0,3	0,5	0,4	0,8	0,3	0,2
108	Oxyde de caryophyllène	1578	1575	1970	0,4	0,5	1,1	0,6	1,6	0,7	2,1	0,9	1,7	t	2,8	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	0,2
109	Tiglate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1578	1579	1934	0,9	1,9	4,0	5,3	10,4	0,4	0,4	3,3	5,3	5,8	0,2	t	0,1	t	0,1	1,0	0,4
110	Copabornéol	1595	1592	2140	0,3	0,3	0,2	0,7	0,5	0,8	1,3	0,7	0,2	1,2	0,4	t	0,2	t	0,4	0,1	t
111	Cadin-4-èn-7-ol	1637	1631	2096	0,6	0,7	0,7	0,6	1,2	0,6	1,2	0,7	-	1,0	-	-	0,5	-	0,4	-	-

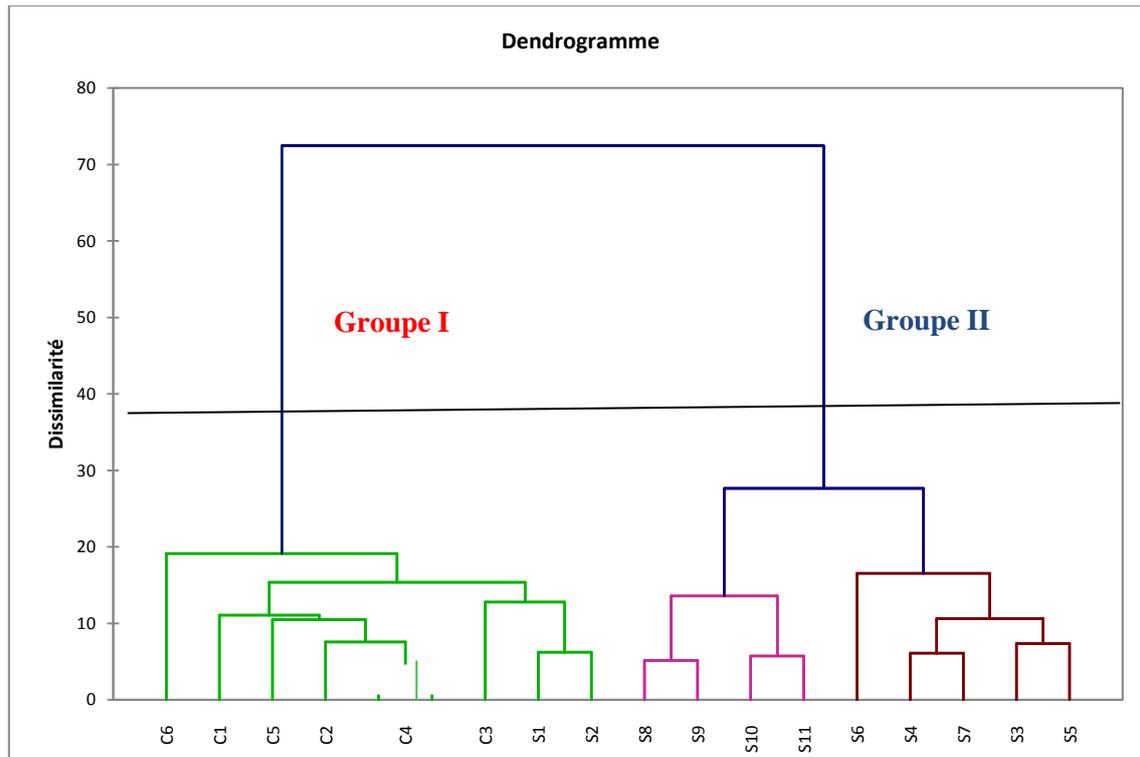
N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Stations de Corse						Stations de Sardaigne										
					Groupe I						Groupe II										
					C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11
112	$\tau$ -Cadinol	1642	1633	2132	-	0,4	-	t	-	0,4	0,2	1,0	0,6	0,4	0,3	0,2	0,3	0,4	0,2	t	0,2
113	$\tau$ -Muurolol	1636	1634	2143	0,7	-	0,5	-	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
114	$\alpha$ -Cadinol	1643	1640	2231	0,9	1,1	0,8	1,0	0,8	0,6	0,8	0,7	-	0,6	0,3	-	-	-	0,1	-	-
115	Géranyle para-cymène	1985	1977	2298	t	t	0,4	0,6	t	0,7	0,7	0,4	0,1	1,0	0,1	0,1	0,2	t	t	t	t
116	Géranyle- $\alpha$ -terpinène	2005	1995	2213	1,2	1,0	0,1	0,2	1,7	t	-	0,8	t	0,6	t	t	t	t	t	t	t
117	Docosane	2000'	2001	2000	0,7	0,9	0,6	0,5	0,8	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
118	Undécosane	2100	2100	2099	1,0	t	t	0,3	0,1	0,5	0,1	0,2	t	t	0,1	t	t	t	0,3	t	t
119	Phytol	2114	2109	2581	t	0,6	0,2	t	t	t	-	-	0,1	0,3	t	t	t	0,1	t	t	t
120	Dodécosane	2200	2201	2203	0,2	0,2	t	0,1	t	t	t	0,2	t	t	t	t	t	t	t	t	t
121	Tridécosane	2300	2299	2300	1,1	1,3	1,0	1,1	0,8	0,2	0,7	0,4	t	0,3	t	t	t	t	0,1	0,1	t
122	Tétradécosane	2400	2402	2402	t	t	t	t	t	t	0,1	-	t	t	0,2	t	t	t	t	t	t
123	Pentacosane	2500	2504	2499	-	-	-	-	-	-	0,4	t	-	0,2	0,1	-	-	-	0,1	t	t
124	Heptacosane	2700	2697	2701	-	-	-	-	-	-	0,4	t	-	0,3	0,1	-	-	-	0,6	-	-
	Total identifié				87,0	83,8	86,2	90,8	91,5	87,4	91,0	84,6	87,9	83,3	88,5	91,6	90,3	91,6	91,0	90,8	91,4
	Composés oxygénés				47,6	44,0	46,9	60,1	68,8	48,2	65,1	56,3	76,7	65,5	81,6	82,1	80,0	86,1	82,2	83,1	87,5
	Composés hydrocarbonés				39,4	39,8	39,3	30,7	22,7	39,2	25,9	28,3	11,2	17,8	6,9	9,5	10,3	5,5	8,8	7,7	3,9
	Monoterpènes hydrocarbonés				15,4	14,0	17,7	9,7	3,4	27,0	7,5	2,5	6,1	4,8	3,0	6,2	7,1	1,8	5,6	4,3	2,2
	Monoterpènes oxygénés				23,1	20,9	33,2	33,8	44,4	17,0	50,5	42,8	64,8	54,0	66,9	75,5	70,8	77,2	72,3	78,2	81,8
	Sesquiterpènes hydrocarbonés				19,8	22,4	19,5	18,2	15,9	10,4	16,0	23,8	5,0	10,6	3,3	3,2	3,0	3,7	2,1	3,3	1,7
	Sesquiterpènes oxygénés				4,4	3,6	4,1	3,8	7,6	5,0	8,2	6,7	3,6	5,6	5,9	1,2	2,4	1,9	2,6	0,6	0,9
	Autres hydrocarbonés				4,2	3,4	2,1	2,8	3,4	1,8	2,4	2,0	0,1	2,4	0,6	0,1	0,2	0,0	1,1	0,1	t
	Autres oxygénés				20,1	19,5	9,6	22,5	16,8	26,2	6,4	6,8	8,3	5,9	8,8	5,4	6,8	7,0	7,3	4,3	4,8
	Rendements (% m/m vs. matériel végétal frais)				0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,02	0,08	0,1	0,1	0,09	0,06	0,05	0,09	0,06	0,08

Irl=Indices de rétention littérature issu de la bibliothèque Joulain<sup>38</sup>, Irl' :si issu de la bibliothèque NIST<sup>117</sup>; Ira=Indices de rétention apolaire ; Irp=Indices de rétention polaire ; L'ordre d'élution est donné sur colonne apolaire. La teneur d'un composé est exprimée en pourcentage relatif de la fraction correspondante.

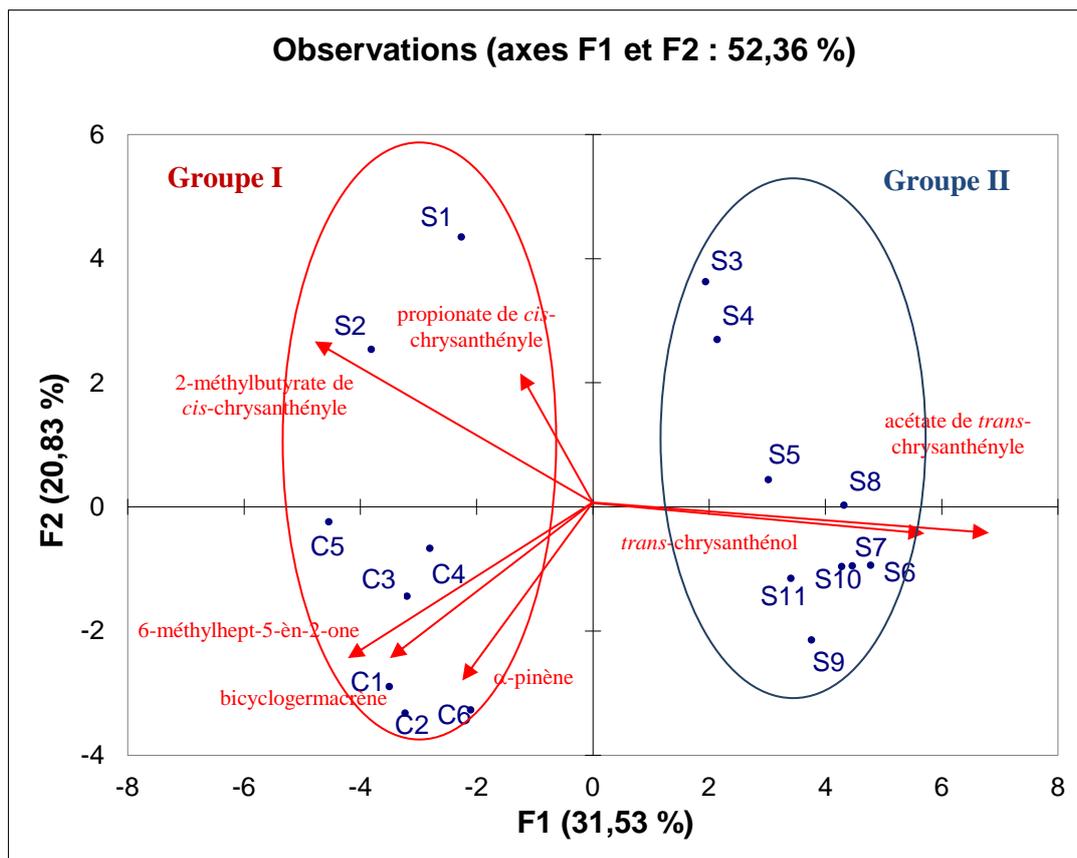
**Tableau III.3 :** Compositions chimiques des huiles essentielles d'*A. maritima* de diverses localités de Corse et de Sardaigne.



**Figure III.4:** Cartes des stations de prélèvements - Groupes de compositions chimiques des huiles essentielles d'*A. maritima*.



**Figure III.5 :** Dendrogramme des compositions chimiques des huiles essentielles d'*A. maritima* de Corse et de Sardaigne.



**Figure III.6** : ACP des compositions chimiques des huiles essentielles d'*A. maritima* de Corse et de Sardaigne.

### 3-Compositions chimiques des huiles essentielles d'*E. maritimum* du continuum Corso-Sarde.

Le matériel végétal a été récolté, de juin à juillet 2008, sur 12 stations de Corse et de Sardaigne localisées sur la **figure III.7** :

- En Corse (6 stations) : Quercioni **C1**, Pinia **C2**, Marana **C3**, Ostriconi **C4**, Figari **C5** et Calzarello **C6**.
- En Sardaigne (6 stations) : La Caletta **S1**, Caprera **S2**, Sorso **S3**, Oristano **S4**, Praxis **S5** et Cagliari **S6**.

Les compositions chimiques des huiles essentielles, sont reprises dans le **tableau III.4**. Les taux d'identification varient de 88,3 % à 95,8 % pour un total de 63 composés identifiés. Des monoterpènes, en l'occurrence : le santolinatriène **1'**, le

sabinène 2', le camphre 7', l'acétate de *trans*-chrysanthényle 12', mais aussi un sesquiterpène l'isopimara-8,15-diène 58' sont présents dans certaines huiles essentielles en faible quantité (trace à 2,1%), alors qu'ils n'avaient pas été trouvés dans l'huile essentielle étudiée dans le **chapitre II**.

Le dendrogramme de la CHA (**figure III.8**) nous montre la partition des échantillons en deux groupes faiblement discriminés:

- **Groupe I** : renfermant les six échantillons originaires de Corse **C1-C6**.
- **Groupe II** : comportant les six échantillons originaires de Sardaigne **S1-S6**.

L'ACP (**figure III.9**) confirme les conclusions tirées du dendrogramme et nous permet de discerner les principaux facteurs discriminants les deux groupes. Le germacrène D 34 est corrélé positivement avec l'axe 1, l'oxyde d'aromadendrane 50 et le 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-ol 58, sont corrélés négativement avec l'axe 1.

- **Groupe I** : les huiles essentielles de Corse sont discriminées par la prédominance du germacrène D 34 (32,2-45,9 % contre 13,7-23,8 % pour les échantillons de Sardaigne) et une teneur plus importante en sesquiterpènes hydrocarbonés (37,8-55,7 % contre 20,4-37,4 % pour la Sardaigne).

- **Groupe II** : les huiles essentielles de Sardaigne sont caractérisées par la présence d'oxyde d'aromadendrane 50 (1,2-5,0 % contre < 0,6 % pour les échantillons de Corse) et de 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-ol 58 (9,0-14,3 % contre 5,2-9,5% pour les échantillons de Corse). D'une manière générale, les huiles essentielles originaires de Sardaigne sont plus riches en sesquiterpènes oxygénés (46,9-62,3 % contre 37,4-49,8 % pour la Corse).

Au cours de cette étude, nous ne retrouvons pas de différence des compositions chimiques aussi marquée que dans l'étude des deux autres plantes. Dans ce cas, également, une étude de variabilité génétique compléterait utilement cette étude de la variabilité chimique, bien que ces variations soient plus probablement liées aux facteurs expérimentaux.

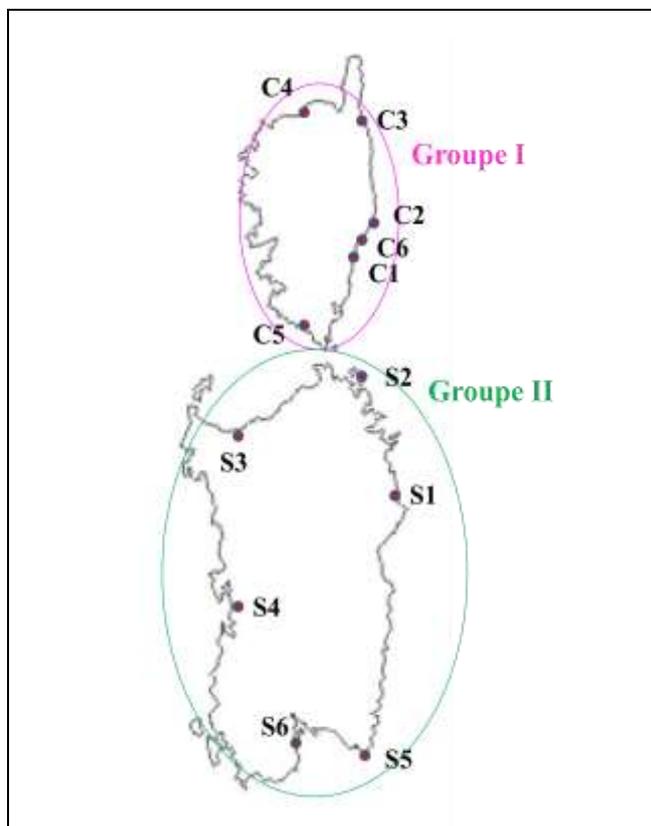
N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Echantillons de Corse						Echantillons de Sardaigne						
					Groupe I						Groupe II						
					C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	S2	S3	S4	S5	S6	
1'	Santolinatriène	909	903	1018	-	-	-	-	-	-	-	-	t	-	0,2	-	-
1	$\alpha$ -Pinène	936	930	994	0,1	0,5	0,4	t	0,4	0,1	0,1	0,2	0,2	0,4	0,4	0,2	1,3
2	6-Méthylhept-5-ène-2-one	972	967	1570	t	-	0,1	t	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	t	0,2
2'	Sabinène	973	973	1098	-	-	-	-	-	-	-	t	t	0,1	0,2	t	0,2
3	2-Pentyl-furane	981	975	1201	t	t	0,2	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,2
4	Octanal	981	977	1290	t	t	1,0	0,1	t	0,1	t	t	t	-	-	-	1,8
5	Myrcène	987	983	1130	0,2	0,6	t	t	0,7	t	t	0,1	0,2	t	0,1	0,2	t
6	1,2,3-Triméthylbenzène	1011'	1006	1294	t	t	0,1	t	t	t	t	0,5	0,2	0,1	t	0,1	0,4
7	Limonène	1025	1019	1166	0,1	0,1	0,2	t	0,1	t	t	1,0	0,2	0,1	0,9	0,4	0,2
7'	Camphre	1123	1123	1517	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-
8	<i>cis</i> -Verbénol	1132	1126	1618	t	t	t	t	t	t	t	t	t	0,1	t	0,1	0,2
9	<i>trans</i> -Verbénol	1132	1130	1637	0,1	t	0,1	t	t	t	t	0,2	t	0,2	0,3	0,1	1,2
10	( <i>E</i> )-Non-2-ène	1139	1144	1394	0,1	t	0,1	0,2	t	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	t	0,1	0,5
11	Méthyl-4-acétophenone	1156	1153	1731	0,1	t	0,2	t	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,7
12	Décanal	1180	1182	1498	t	0,1	0,1	t	t	t	t	t	t	0,1	t	t	0,2
12'	Acétate de <i>trans</i> -chrysanthényle	1238	1234	1494	-	-	-	-	-	0,5	0,5	0,1	1,7	2,1	1,5	0,4	0,4
13	2,4,6-Triméthylbenzaldéhyde	1280'	1281	1827	t	t	t	t	t	t	t	0,1	0,2	0,4	0,1	0,3	t
14	2,4,5-Triméthylbenzaldéhyde	1305'	1297	1846	0,3	0,3	0,4	0,5	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,5	0,2	0,5	1,2
15	2,3,6-Triméthylbenzaldéhyde	1314'	1318	1935	1,5	2,0	1,4	3,6	1,0	1,1	1,1	2,8	1,8	2,0	2,5	1,9	6,2
16	$\alpha$ -Cubébène	1355	1346	1452	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
17	( <i>Z</i> )- $\beta$ -Damascenone	1343	1349	1820	0,1	t	0,1	0,1	t	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1	t
18	$\alpha$ -Copaène	1371'	1373	1447	0,6	0,5	0,8	0,6	0,9	0,8	0,8	0,7	0,4	0,8	0,4	0,9	0,7
19	$\alpha$ -Ylangène	1372	1374	1476	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t	t
20	$\beta$ -Bourbonène	1374'	1375	1474	0,4	0,1	0,2	0,1	-	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,3	0,1	0,4
21	$\beta$ -Elémène	1384	1385	1555	0,9	0,9	1,1	1,0	1,3	1,3	1,3	0,5	0,4	1,2	0,9	1,0	0,8
22	$\beta$ -Patchoulène	1388	1394	1475	t	t	t	t	t	0,6	0,6	-	-	-	-	t	t
23	$\beta$ -Gurjunène	1404	1405	1591	t	-	t	-	-	-	-	-	0,1	0,1	-	t	0,1
24	$\alpha$ -Gurjunène	1413	1411	1524	0,2	t	0,6	0,7	-	0,7	0,7	0,6	0,9	1,1	0,8	1,0	0,9
25	<i>cis</i> - $\alpha$ -Bergamotène	1414'	1416	1480	1,0	t	1,7	0,7	1,8	1,0	1,0	2,4	3,8	1,2	1,2	1,0	1,5
26	$\beta$ -Ylangène	1420	1420	1562	0,6	t	1,0	0,2	0,7	0,9	0,9	-	0,1	0,2	-	0,2	0,9
27	$\alpha$ -Sesquiphellandrène	1428'	1430	1765	0,1	t	0,1	0,8	t	1,0	1,0	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,3
28	$\beta$ -Copaène	1430	1431	1581	t	-	0,2	t	0,5	t	t	-	-	-	-	-	t

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Echantillons de Corse						Echantillons de Sardaigne					
					Groupe I						Groupe II					
					C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	S2	S3	S4	S5	S6
29	<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamotène	1434'	1435	1580	0,1	-	0,2	t	0,2	0,1	-	-	0,1	-	-	-
30	Aromadendrène	1443	1440	1611	0,1	t	t	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,4	-	0,4	0,2
31	$\alpha$ -Humulène	1455	1449	1665	0,1	t	0,3	0,2	0,3	0,3	0,4	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2
32	$\gamma$ -Muuroolène	1474	1468	1681	0,4	0,1	0,2	0,1	t	t	0,1	0,3	0,3	0,1	t	t
33	$\alpha$ -Curcumène	1473	1471	1682	t	t	t	t	t	t	-	0,1	0,5	-	0,2	0,4
34	Germacrène D	1479	1478	1659	33,9	33,1	32,2	43,5	45,9	41,4	13,7	14,6	16,6	14,3	23,8	18,4
35	$\beta$ -Sélinène	1486	1483	1712	t	t	0,2	t	t	0,3	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	t
36	4- <i>Epicubébol</i>	1490	1487	1870	t	t	t	0,3	0,2	t	-	-	0,3	-	-	t
37	Bicyclogermacrène	1494	1491	1979	0,3	1,5	1,8	2,3	2,3	2,3	0,2	0,6	1,2	0,9	1,2	0,8
38	$\alpha$ -Muuroolène	1496	1494	1719	1,1	-	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,4	0,4	0,3	0,2	t
39	$\beta$ -Bisabolène	1503	1498	1720	1,1	-	0,1	0,1	t	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2
40	$\gamma$ -Cadinène	1507	1505	1720	0,1	0,4	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,4	0,2	0,3
41	Cubébol	1514	1509	1924	0,3	-	-	-	-	-	0,1	t	0,1	0,2	t	-
42	$\delta$ -Cadinène	1520	1513	1700	1,2	1,2	1,4	1,6	1,2	1,5	0,5	0,6	1,0	0,8	0,7	1,1
43	Cadina-1,4-diène	1523	1526	1763	t	-	0,1	t	-	0,2	0,1	0,3	0,2	0,2	0,1	-
44	( <i>E</i> )-Nérolidol	1553	1549	2037	0,5	0,2	0,8	0,5	t	0,4	0,7	0,5	1,0	0,7	0,6	1,5
45	Spathuléol	1569	1561	2119	0,5	1,5	0,3	0,1	0,1	1,1	0,9	1,3	1,7	1,5	1,2	0,1
46	4 $\alpha$ -Hydroxygermacra-1,5-diène	1571	1565	2296	1,1	0,3	2,2	0,6	0,9	0,6	1,9	1,1	0,7	0,5	0,4	3,6
47	Oxyde de caryophyllène	1578	1570	1950	0,5	0,2	1,4	0,1	0,4	0,2	0,8	0,6	0,5	0,3	0,3	2,1
48	4 $\beta$ -Hydroxygermacra-1,5-diène	1580	1571	2042	t	0,2	t	t	t	-	0,4	t	0,4	0,2	0,2	-
49	Muurola-4,10-dièn-8 $\alpha$ -ol	1594	1597	2165	0,3	0,7	0,7	0,4	0,1	0,4	0,4	0,8	0,7	0,4	0,2	0,1
50	Oxyde d'aromadendrène	1623	1618	2002	0,4	t	0,6	0,2	t	0,4	2,9	5,0	1,2	1,9	2,0	1,2
51	$\tau$ -Muurolol	1933	1634	2143	0,8	1,2	0,5	0,8	t	0,6	1,8	5,8	1,0	1,6	2,1	0,6
52	$\tau$ -Cadinol	1933	1638	2163	0,4	0,6	1,2	2,3	t	0,3	2,3	1,3	2,0	2,2	0,8	0,9
53	$\alpha$ -Cadinol	1943	1645	2227	1,5	1,9	0,6	0,2	0,6	1,1	2,0	1,8	0,9	0,8	0,8	0,8
54	Eudesma-4,7-diène-1 $\beta$ -ol	1671	1669	2354	2,2	3,1	t	t	t	t	2,3	0,7	1,3	0,5	0,3	0,6
55	4 $\beta$ H-Muurool-9-èn-15-al	-	1684	2163	5,2	6,9	7,4	8,3	7,4	7,5	6,3	7,6	8,9	9,0	8,5	9,2
56	4 $\beta$ H-Cadin-9-èn-15-al	-	1684	2173	26,1	24,2	18,5	19,4	21,0	19,1	26,1	20,7	22,9	22,8	20,7	19,7
57	4 $\beta$ H-Muurool-9-èn-15-ol	-	1734	2422	0,4	0,4	0,4	0,3	t	t	0,8	0,6	0,5	0,5	0,3	0,4
58	4 $\beta$ H-Cadin-9-èn-15-ol	-	1742	2452	9,5	7,9	8,5	5,2	6,7	7,6	12,5	11,5	10,0	13,7	14,3	9,0
58'	Isopimara-8,15-diène <sup>38</sup>	1981	1980	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	0,9	0,1	-

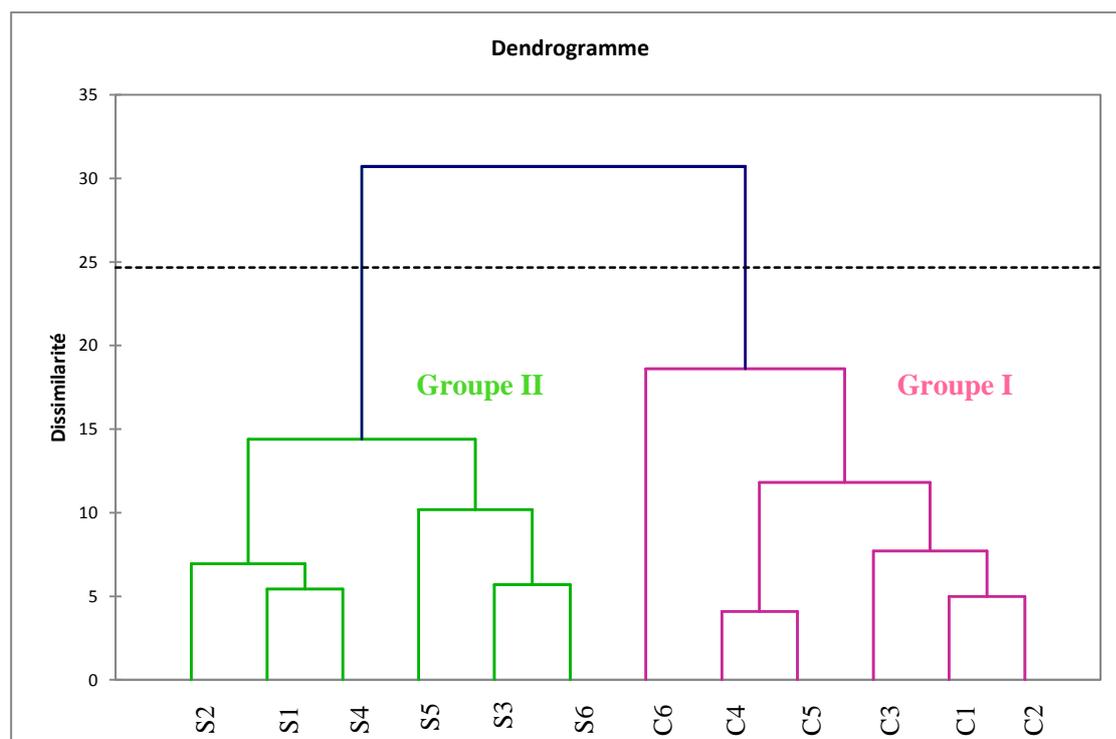
	Echantillons de Corse						Echantillons de Sardaigne					
	Groupe I						Groupe II					
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Total identifié	94,5	90,7	90,3	95,8	95,7	95,1	88,3	89,2	87,8	85,8	88,8	91,9
Composés hydrocarbonés	42,6	39,0	43,5	52,6	56,9	53,4	22,1	18,7	27,1	17,0	32,3	29,3
Composés oxygénés	51,9	51,7	46,8	43,2	38,8	41,7	66,2	70,5	60,7	68,8	56,5	62,6
Monoterpènes hydrocarbonés	0,4	1,2	0,6	t	1,2	0,1	1,2	0,6	0,6	1,8	0,8	1,7
Monoterpènes oxygénés	0,1	t	0,1	t	0,0	0,5	0,3	1,7	3,0	1,8	0,6	1,8
Sesquiterpènes hydrocarbonés	42,2	37,8	42,8	52,6	55,7	53,3	20,4	23,9	26,4	21,2	37,4	27,2
Sesquiterpènes oxygénés	49,8	49,3	43,2	38,8	37,4	39,4	62,3	60,0	54,2	57,9	46,9	49,8
Autres composés hydrocarbonés	t	t	0,1	t	t	0,0	0,5	0,2	0,1	t	0,1	0,4
Autres composés oxygénés	2,1	2,4	3,5	4,4	1,4	1,8	3,6	2,8	3,5	3,1	3,0	11,0
Rendements (% m/m vs. matériel végétal frais)	0,08	0,08	0,13	0,08	0,12	0,08	0,07	0,07	0,11	0,10	0,06	0,10

Irl=Indices de rétention littérature issu de la bibliothèque Joulain<sup>38</sup>, Irl' : si issu de la bibliothèque NIST<sup>117</sup> ; Ira=Indices de rétention apolaire ; Irp=Indices de rétention polaire ; L'ordre d'élution est donné sur colonne apolaire. La teneur d'un composé est exprimée en pourcentage relatif de la fraction correspondante.

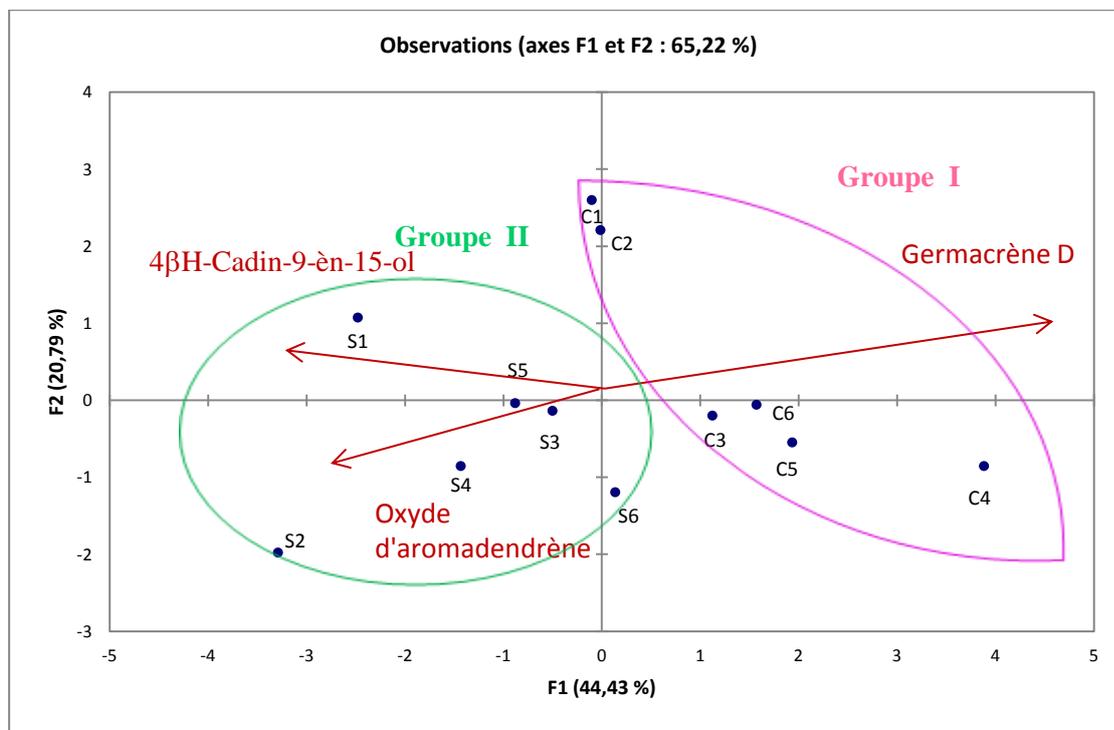
**Tableau III.4** : Compositions chimiques des huiles essentielles d'*E. maritimum* de diverses localités de Corse et de Sardaigne.



**Figure III.7 :** Cartes des stations de prélèvements - Groupes de compositions chimiques des huiles essentielles d'*E. maritimum*.



**Figure III.8 :** Dendrogramme des compositions chimiques des huiles essentielles d'*E. maritimum* de Corse et de Sardaigne.



**Figure III.9** : ACP des compositions chimiques des huiles essentielles d'*E. maritimum* de Corse et de Sardaigne.

#### 4-Bilan des études de variabilité chimique des huiles essentielles.

Pour chacune des trois espèces étudiées, nous observons une variabilité de la composition chimique des huiles essentielles des parties aériennes en fonction du lieu de récolte du matériel végétal. Variabilité modérée pour *E. maritimum* et *C. mixtum* permettant d'établir, respectivement, deux et trois groupes statistiques de compositions chimiques ; variabilité plus tranchée pour *A. maritima* permettant d'établir deux types de composition.

Nous constatons au vu de ces études, que d'une manière générale les échantillons d'huiles essentielles de Corse ont une composition chimique plus riche en terpènes hydrocarbonés et les échantillons de Sardaigne ont une composition chimique plus riche en terpènes oxygénés. Ces différences, comme nous l'avons précisé, sont très probablement liées aux facteurs environnementaux des deux îles tels l'ensoleillement ou plus particulièrement la composition du sol, comme le suggère certains travaux reliant la teneur en sesquiterpènes hydrocarbonés des huiles essentielles, à la minéralisation du sol sur lequel poussent les végétaux.<sup>216,217</sup> Les différences de compositions chimiques,

peuvent également s'expliquer par une diversité du patrimoine génétique des spécimens étudiés.

D'une manière générale il est fondamental de mettre en évidence une variabilité chimique des huiles essentielles selon le lieu de récolte :

- Dans le cadre de la recherche, d'un point de vue pratique, l'isolement d'un composé devant être soumis à une analyse structurale sera plus facile à partir d'un type de composition plutôt que de l'autre en fonction de l'abondance et de la nature des composés à étudier.

- En vue d'une valorisation commerciale ; les activités biologiques ou la fragrance d'une huile essentielle sont directement liées à sa composition chimique.

## C - ETUDE DES HUILES ESSENTIELLES ET DES FRACTIONS VOLATILES DES DIFFERENTS ORGANES.

Nous nous sommes tout d'abord intéressés aux huiles essentielles préparées à partir des différents organes d'une même plante (rameaux, fleurs, racines) ; nous avons examiné les similitudes et les différences des compositions chimiques afférentes.

Par la mise en œuvre de la technique de la Micro Extraction en Phase Solide (MEPS) en phase statique dans l'espace de tête, nous avons souhaité parfaire notre connaissance des composés les plus volatils des 3 plantes en identifiant les composés généralement perdus dans l'hydrodistillation. Nous avons voulu, également, accéder aux fractions volatiles des organes ne produisant pas d'huile essentielle telles les racines d'*A. maritima*. Pour ce faire, nous avons analysé par CPG-Ir et CPG/SM-IE les fractions volatiles des parties aériennes finement coupés de *C. mixtum*, *E. maritimum* et *A. maritima* et de leurs différents organes.

Ces analyses permettent, également, d'évaluer la technique MEPS comme méthode de préparation de l'échantillon alternative à l'hydrodistillation. Par souci de simplification, dans ce qui suit, nous désignerons par « MEPS » l'ensemble de la séquence préconcentration, extraction, analyses chromatographiques.

Pour une plante donnée, nous avons travaillé sur les parties aériennes et les organes séparés du végétal d'une même station pour l'ensemble des analyses. Excepté pour *A. maritima* pour laquelle nous avons identifié deux types de composition tranchés, nous n'avons effectué qu'une seule étude pour chacune des deux autres plantes. Les résultats des analyses par MEPS, présentés dans les tableaux III.5 à III.7, ont été obtenus après optimisation des conditions d'extraction. La température optimale d'extraction est de 70 °C pour tous les échantillons, excepté pour les racines d'*A. maritima* (90°C). Les temps d'extraction optima sont de : 5 mn pour les échantillons d'*E. maritimum*, 15 mn pour les parties aériennes de *C. mixtum* et *A. maritima* de Corse, 30 mn pour les parties aériennes d'*A. maritima* de Sardaigne et de 60 mn pour les racines d'*A. maritima* de Corse et de Sardaigne. L'ensemble des conditions d'extraction sont rapportées dans la partie expérimentale. Les analyses ont été systématiquement répétées trois fois et les

résultats sont ainsi assortis d'un écart type. Nous avons calculé les coefficients de variation (CV) pour vérifier la répétabilité de la méthode sur les aires totales obtenues en CPG-DIF et celles des composés majoritaires. Les chromatogrammes des fractions volatiles captées par MEPS des parties aériennes et des racines de chaque plante, ainsi que les chromatogrammes des huiles essentielles de racines de *C. mixtum* et d'*E. maritimum* sont consultables dans les annexes.

### 1-Composés volatils des organes de *Chamaemelum mixtum*.

Nous nous sommes intéressés aux compositions chimiques des huiles essentielles puis aux fractions volatiles captées par MEPS des rameaux, des fleurs et des racines de *C. mixtum* pris séparément ; nous les avons comparées entre elles, d'une part, et à la composition chimique des parties aériennes totales de la plante, d'autre part. Nous avons observé des différences et des points communs entre les huiles essentielles et les MEPS des divers organes. Pour cela nous avons sélectionné du matériel végétal récolté sur la plage de Folleli où la plante est abondante. Les résultats des analyses sont consignés dans le **tableau III.5** à la fin de la partie A.

#### 1.1-Compositions chimiques des huiles essentielles des organes.

Par rapport aux huiles essentielles des parties aériennes analysées précédemment, aucun nouveau composé n'a été trouvé, les composés oxygénés sont majoritaires (41,7-68,6 %). D'une manière générale, les composés oxygénés linéaires (55,9 %) sont les plus abondants dans l'huile essentielle de racines, les monoterpènes oxygénés sont les mieux représentés dans l'huile essentielle de fleurs (39,1 %), tandis les sesquiterpènes hydrocarbonés dominent la composition de l'huile essentielle de rameaux (48,3 %). Une analyse plus précise de la contribution de chaque organe à l'huile essentielle globale nous amène aux observations suivantes :

- L'huile essentielle de racines est assez particulière en ce sens que le composé majoritaire, la (Z)-heptadéc-9,16-adiène-7-one **76**, a une abondance de 55,8 %. Les autres constituants identifiés dans des proportions significatives sont l'acétate de bornyle **40** (3,5 %), le lédol **69** (3,4%) et le formiate de bornyle **36** (2,9 %). Le taux de caractérisation de cette huile essentielle n'est que de 70,2 %. Du fait de la petite taille des racines de *C. mixtum* et dans un souci de préservation du matériel végétal, les difficultés

rencontrées pour réunir une quantité « distillable » de racines ne nous ont pas permis de pousser notre étude plus avant. Cette huile essentielle comporte une dizaine de composés non identifiés représentant chacun de 1 à 2,5 % de la composition totale.

- Pour l'huile essentielle de fleurs, les monoterpènes oxygénés irréguliers (35,6 %) dont l'activité biologique est généralement importante sont majoritaires ; tout particulièrement le santolina alcool **18** (28,9 %) et le yomogi alcool **13** (7,6 %). Le germacrène D **54** (9,7 %) est nettement moins abondant que dans l'huile essentielle de rameaux. La même remarque peut être faite pour l'ensemble des sesquiterpènes hydrocarbonés (25,6 %). Il est à noter également, la faible teneur en (*Z*)-heptadéc-9,16-adièn-7-one **76** (1,7 %) dans cet organe. Nous constatons, ainsi, que le santolina alcool **18** (15,4 %) et le yomogi alcool **13** (2,3 %) de l'huile essentielle de parties aériennes proviennent majoritairement des fleurs. Précisons enfin que cette huile essentielle possède une vingtaine de composés minoritaires (< 0,5 %) que nous n'avons pu identifier avec certitude.

- L'huile essentielle des rameaux a pour composés majoritaires : la (*Z*)-heptadéc-9,16-adièn-7-one **76** (26,9 %), le germacrène D **54** (22,4 %) et le (*E*)- $\beta$ -farnésène **52** (11,2 %). Il est à remarquer la présence d'artémisia alcool **22** à un taux non négligeable (4,5 %). Les rameaux apportent ainsi la majeure contribution en ces quatre molécules dans l'huile essentielle de parties aériennes : (*Z*)-heptadéc-9,16-adièn-7-one **76** (10,2 %), germacrène D **54** (13,3 %), (*E*)- $\beta$ -farnésène **52** (11,3 %) et artémisia alcool **22** (2,8 %). Ceci s'explique par le fait que les rendements des parties aériennes et des tiges sont identiques (0,062 %) et trois fois supérieurs au rendement des fleurs (0,019 %).

On constate pour chacun des organes étudiés qu'une voie de biosynthèse a été privilégiée pour la production des composés majoritaires. Dans les racines, il s'agit de la dégradation d'acide gras.<sup>157,202</sup> Pour les fleurs, les deux monoterpènes irréguliers majoritaires identifiés dans l'huile essentielle ont pour précurseur commun le pyrophosphate de chrysanthémyle lui-même issu d'un assemblage irrégulier de deux sous unités isopréniques.<sup>202,208</sup> Enfin les rameaux produisent une huile essentielle riche en farnésènes issu des cations farnésyl d'une part et en germacrène D issu du *trans-trans*-germacrane d'autre part.<sup>202,208</sup>

## 1.2-Compositions chimiques des fractions volatiles captées par MEPS.

Nous avons identifié 64 composés présents dans les diverses fractions volatiles issues de *C. mixtum*. Ces composés ont déjà tous été recensés dans l'huile essentielle étudiée. Par la composition des fractions volatiles captées par MEPS, on remarque, que ce sont les fleurs qui contribuent le plus à la composition chimique des fractions volatiles de parties aériennes alors que c'est l'organe qui produit le moins d'huile essentielle (cf.A-1). Le calcul des CV des aires totales et de ceux des composés majoritaires fourni des valeurs comprises entre 0,6 % et 19,8 %, ce qui reste statistiquement acceptable pour valider la répétabilité des analyses. Les profils chromatographiques des fractions volatiles extraites par MEPS à partir des parties aériennes, des rameaux et des fleurs, sont similaires avec cependant quelques variations quantitatives importantes :

- La fraction volatile des parties aériennes a une composition chimique dominée par les sesquiterpènes hydrocarbonés (57,4 %). Les composés majoritaires sont : le (*E,E*)- $\alpha$ -farnésène **58** (25,4 %), le (*E*)- $\beta$ -farnésène **52** (12,7 %), le (*E*)- $\beta$ -caryophyllène **50** (12,7 %) et l' $\alpha$ -pinène **7** (7,2 %).

- La composition de la fraction volatile des rameaux est nettement dominée par les sesquiterpènes hydrocarbonés, ils représentent 79,1 % de la fraction volatile. Les (*E,E*)- $\alpha$ -farnésène **58** (27,6 %) et (*E*)- $\beta$ -farnésène **52** (21,8 %) sont les composés majoritaires, suivis du zingibérène **55** (7,9 %) et de l' $\alpha$ -muurolène **57** (7,7 %). Le composé oxygéné le plus abondant est le santolina alcool **18** (5,0 %).

- S'agissant des fractions volatiles des fleurs, le pourcentage de sesquiterpènes hydrocarbonés est seulement de 37,8 % avec le (*E*)- $\beta$ -farnésène **52** (12,4 %) et le (*E*)- $\beta$ -caryophyllène **50** (16,1 %) comme composés majoritaires. La teneur en monoterpènes oxygénés passe à 33,1 % pour les fleurs alors que ces derniers ne représentent que 6,1 % dans les fractions volatiles des rameaux. Cette classe de composés est principalement représentée par trois molécules : santolina alcool **18** (13,7 %), yomogi alcool **13** (8,5 %) et artémisia alcool **22** (10,0 %) qui sont connues pour leur rôle dans la pollinisation du fait de leur pouvoir attracteur sur les insectes<sup>123</sup>.

Si l'on met en regard les compositions des fractions volatiles captées par MEPS et les compositions des huiles essentielles des rameaux, des fleurs et des parties aériennes, on constate, que les terpènes hydrocarbonés tels le (*E,E*)- $\alpha$ -farnésène **58**, l'(*E*)- $\beta$ -farnésène **52**, le (*E*)- $\beta$ -caryophyllène **50** et l' $\alpha$ -pinène **7** ont un pourcentage relatif bien

plus important dans les fractions volatiles extraites par MEPS que dans les huiles essentielles correspondantes. Notons que cette remarque ne s'applique pas au germacrène D **54** dont le pourcentage relatif est très faible dans les fractions volatiles captées par MEPS alors que ce composé est majoritaire dans les huiles essentielles. Les composés oxygénés sont minorés dans les trois analyses réalisées par MEPS (11,1-36,3 %) alors qu'ils représentent de 41,7 à 57,3 % des 3 huiles essentielles correspondantes comme le montre les faibles taux de (*Z*)-heptadéc-9,16-adièn-7-one **76** (0-1,7 %) et de sesquiterpènes oxygénés (0,4-5,0 %) dans les compositions des fractions volatiles extraites par MEPS. A cette température d'extraction, les composés hydrocarbonés sont mieux extraits.

La fraction volatile des racines est très différente de celle des parties aériennes, en effet la (*Z*)-heptadéc-9,16-adièn-7-one **76** est le composé majoritaire (44,7 %) alors qu'il est minoritaire dans la fraction volatile des parties aériennes (0-1,7 %). Les autres composés ayant une concentration notable sont l'hexanal **3** (3,9 %), l'acétate de geranyle **40** (3,7 %) et le formiate de bornyle **36** (2,9 %). Nous constatons également que le profil chromatographique de la fraction de racine captée par MEPS est sensiblement identique à celui de l'huile essentielle de racine.

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles				Fractions volatiles captées par MEPS			
					parties aériennes	rameaux	fleurs	racines	parties aériennes	rameaux	fleurs	racines
1	Heptane	700'	700	700	t	-	t	-	0,1±0,00	t	t	-
2	3-Méthylbutanol	718'	716	1178	t	-	t	-	0,1±0,00	-	0,1±0,00	-
3	2-Méthylbutanol	724'	717	1170	t	-	t	-	t	t	0,1±0,00	3,9±1,05
4	Hexanal	770'	770	1055	t	-	t	-	-	-	-	-
5	3-Méthyl pentanol	825'	824	1299	t	-	0,1	t	0,1±0,00	t	0,1±0,05	-
6	Santolinatriène	909	901	1018	0,2	-	0,2	-	t	t	0,1±0,00	-
7	α-Pinène	936	927	992	1,0	1,1	0,3	-	7,2±1,35	3,3±0,25	8,3±0,60	1,3±0,45
8	Camphène	942	940	1035	t	-	t	-	0,1±0,00	t	t	0,9±0,30
9	6-Méthylhept-5-èn-2-one	972	961	1311	0,1	-	0,1	-	0,2±0,05	t	t	0,2±0,00
10	Sabinène	973	964	1095	t	-	t	-	0,1±0,00	t	t	1,5±0,30
11	β-Pinène	978	967	1078	t	0,1	-	0,1	0,1±0,00	t	t	0,5±0,00
12	Myrcène	987	977	1130	0,2	t	0,7	-	0,1±0,00	-	0,2±0,10	1,8±0,40
13	Yomogi alcool	991	981	1387	2,3	0,1	7,6	t	5,3±0,70	0,5±0,10	8,5±0,55	-
14	m-Cymène	1013	1011	1268	t	-	t	0,1	0,1±0,05	t	0,1±0,00	0,1±0,05
15	p-Cymène	1015	1012	1267	t	-	0,1	t	t	-	0,1±0,05	0,2±0,05
16	1,8-Cinéole	1024	1020	1209	0,5	t	-	-	-	-	-	0,2±0,10
17	Limonène	1025	1021	1243	0,1	t	-	-	2,0±0,20	-	1,9±0,55	-
18	Santolina alcool	1029	1026	1395	15,4	t	28,9	t	5,7±1,05	5,0±0,60	13,7±0,95	-
19	(E)-Oct-2-ènal	1034	1032	1253	t	-	t	-	-	t	-	0,7±0,15
20	Artémisia cétone	1044	1047	1352	0,2	-	0,1	0,1	t	t	t	-
21	γ-Terpinène	1051	1046	1243	t	-	t	-	0,1±0,00	t	t	-
22	Artémisia alcool	1073	1072	1479	2,8	4,5	t	t	4,6±0,50	0,3±0,05	10,0±1,90	0,5±0,00
23	6-Méthylhept-3,5-adièn-2-one	1079'	1077	1084	t	-	0,1	-	-	-	-	-
24	Terpinolène	1080'	1078	1280	t	-	t	-	-	0,1±0,00	-	-
25	Linalol	1082'	1081	1544	0,8	-	0,1	t	t	-	t	-
26	Nonanal	1083'	1083	1394	0,2	t	0,1	t	0,2±0,01	t	0,3±0,05	0,3±0,05
27	Hotriénol	1083	1083	1575	t	-	0,5	-	-	-	-	-
28	Isovalérate de 2-méthylbutyle	1094'	1098	1274	t	-	0,4	-	t	t	0,1±0,00	-
29	trans-Pinocarvéol	1126	1120	1650	0,3	t	0,3	0,1	0,2±0,10	t	0,3±0,05	0,5±0,10
30	Trans-Non-2-ènal	1139	1132	1568	t	-	t	t	-	-	-	0,4±0,15

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles				Fractions volatiles captées par MEPS			
					parties aériennes	rameaux	fleurs	racines	parties aériennes	rameaux	fleurs	racines
31	Pinocarvone	1137	1136	1558	0,1	-	t	t	0,3±0,15	-	0,2±0,10	-
32	Bornéol	1150	1148	1698	0,2	-	0,1	0,1	t	-	t	0,4±0,15
33	Terpinèn-4-ol	1164	1160	1600	t	-	0,1	t	0,2±0,00	-	t	-
34	Myrténal	1172	1172	1628	1	-	0,2	-	0,1±0,00	t	t	-
35	α-Terpinéol	1176	1173	1178	t	-	t	-	t	-	t	-
36	Formiate de bornyle	1199	1212	1557	t	-	t	2,9	0,1±0,00	-	0,2±0,00	2,9±0,90
37	Oxyde de thymyle et méthyle	1215	1214	1589	t	-	0,1	-	0,2±0,00	-	t	-
38	Géraniol	1235	1237	1731	t	-	0,2	t	-	-	-	-
39	(E)-Déc-2-éнал	1240	1248	1652	t	-	t	t	-	-	-	-
40	Acétate de bornyle	1270	1267	1540	t	t	0,1	3,5	0,1±0,00	0,2±0,05	t	2,5±0,40
41	Undécan-6-ol	1283	1282	1676	t	-	0,1	-	-	-	-	-
42	(E,E)-Déc-2,4-adiéнал	1291	1290	1820	t	-	t	0,1	-	-	-	-
43	Tiglate de cis-hexényle	1297'	1305	1641	t	t	0,2	t	-	-	-	-
44	Acétate de myrtényle	1304	1306	1680	t	t	0,1	0,1	-	-	-	-
45	Trans-Undéc-2-éнал	1342'	1347	1757	0,2	0,1	0,2	-	0,3±0,10	t	t	-
46	Acétate de géranyle	1362	1363	1752	0,2	t	-	t	0,2±0,05	t	-	3,7±0,35
47	(Z)-Jasmone	1371	1373	1909	1,1	-	0,7	-	0,1±0,00	0,1±0,00	0,2±0,05	-
48	α-Ylangène	1376	1375	1476	t	0,5	0,1	-	0,3±0,15	0,6±0,20	-	0,2±0,00
49	β-Elémène	1389	1384	1589	0,3	0,3	0,3	-	0,3±0,10	0,4±0,00	0,2±0,00	-
50	(E)-β-Caryophyllène	1420	1416	1547	1,1	1,2	0,4	-	12,7±2,45	3,1±0,70	16,1±4,05	-
51	β-Ylangène	1420	1420	1562	0,3	0,1	t	-	0,2±0,05	0,8±0,30	0,1±0,10	-
52	(E)-β-Farnésène	1446	1445	1626	11,3	11,2	7,7	0,6	12,7±1,00	21,8±5,22	12,4±2,15	4,1±0,60
53	γ-Muuroène	1474	1471	1681	0,4	-	0,1	0,1	-	-	-	-
54	Germacrène D	1479	1478	1661	13,3	22,4	9,7	0,1	0,8±0,20	t	0,4±0,20	-
55	Zingiberène	1489	1489	1717	0,7	2,6	1,0	0,1	3,3±0,90	7,9±1,80	0,2±0,05	-
56	Bicyclogermacrène	1494	1494	1727	0,5	1,6	0,4	0,1	0,6±0,25	5,4±1,00	2,4±0,50	-
57	α-Muuroène	1496	1496	1719	t	0,5	0,2	0,1	0,2±0,05	7,7±0,95	0,3±0,00	-
58	(E,E)-α-Farnésène	1498	1498	1705	6,1	5,6	5,1	t	25,4±5,05	27,6±4,10	5,1±0,70	0,4±0,00
59	γ-Cadinène	1507	1507	1752	0,5	0,5	0,1	0,2	0,2±0,05	t	0,2±0,05	3,7±0,95
60	δ-Cadinène	1520	1513	1749	1,2	1,7	0,4	t	0,3±0,05	t	0,4±0,05	-
61	Cadina-1,4-diène	1523	1523	1763	t	t	t	t	0,2±0,00	1,5±0,45	t	-

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles				Fractions volatiles captées par MEPS			
					parties aériennes	rameaux	fleurs	racines	parties aériennes	rameaux	fleurs	racines
62	$\alpha$ -Cadinène	1534	1536	1745	0,7	0,1	0,1	-	0,2±0,00	2,3±0,55	t	-
63	(E)-nérolidol	1553	1549	2037	0,9	t	0,9	0,1	0,2±0,00	0,8±0,15	0,1±0,00	-
64	1,5-Epoxyalvial-4-ène	1571'	1568	1870	1,1	0,3	0,4	t	0,2±0,00	0,1±0,00	-	-
65	Spathulénol	1572	1570	2119	1,0	0,1	0,3	0,1	0,3±0,10	t	0,1±0,00	-
66	Oxyde de caryophyllène	1578	1570	1980	0,6	0,2	0,9	t	1,1±0,35	0,1±0,00	0,1±0,00	0,5±0,20
67	Globulol	1589	1589	2074	1,7	0,1	3,9	1,0	0,1±0,00	3,4±1,50	-	-
68	Copabornéol	1595	1592	2159	1,7	0,4	0,7	0,1	t	t	-	-
69	Lédol	1600	1599	2029	0,8	0,5	2,9	3,4	1,0±0,35	0,4±0,15	-	2,7±1,00
70	Oxyde d'aromadendrène	1623	1617	2002	0,5	1,0	0,2	0,1	-	-	-	-
71	12- <i>épi</i> Cédrol	1620	1620	2163	2,0	2,1	1,1	0,1	0,3±0,10	-	0,1±0,00	-
72	$\tau$ -Muurolol	1933	1634	2143	0,7	0,7	0,2	0,9	0,3±0,05	0,1±0,00	-	-
73	$\tau$ -Cadinol	1933	1638	2163	2,6	4,0	1,3	t	0,2±0,10	t	t	0,3±0,00
74	$\alpha$ -Cadinol	1943	1645	2227	0,5	0,3	0,3	t	0,4±0,20	0,1±0,00	-	-
75	Germacra-4,5,10-trièn-1 $\alpha$ -ol	1680	1676	2298	3,3	0,4	2,1	0,1	-	-	-	-
76	(Z)-Heptadéc-9,16-adièn-7-one	-	1827	2194	10,2	26,9	1,7	55,8	1,7±0,90	t	-	44,7±3,85
77	Tricosane	2300'	2300	2300	0,4	0,1	0,4	t	-	-	-	-
78	Pentacosane	2500'	2500	2500	0,6	0,2	0,4	0,1	-	-	-	-
Total identifié					91,9	91,5	84,0	70,2	91,1	93,6	82,0	79,1
Composés hydrocarbonés					38,9	49,8	26,7	1,6	67,3	82,5	48,5	14,7
Composés oxygénés					53,0	41,7	57,3	68,6	23,8	11,1	36,3	64,4
Monoterpènes hydrocarbonés					1,5	1,2	1,2	0,1	9,8	3,4	10,7	6,3
Monoterpènes oxygénés					24,9	4,6	39,1	6,8	16,9	6,1	33,1	10,7
Sesquiterpènes hydrocarbonés					36,4	48,3	25,6	1,3	57,4	79,1	37,8	8,4
Sesquiterpènes oxygénés					17,4	10,1	15,2	5,9	4,1	5,0	0,4	3,5
Autres hydrocarbonés					1,0	0,3	0,9	0,2	0,1	t	t	-
Autres oxygénés					10,7	27	3,0	55,9	2,8	t	0,7	50,2
Rendements (% m/m vs. matériel végétal frais)					0,063	0,063	0,019	0,052				
Aires totales (10 <sup>6</sup> unités d'aire)									70,8±10,1	64,5±4,5	74,2±9,5	30,2±4,1

Irl=Indices de rétention littérature issu de la bibliothèque Joulain<sup>38</sup>, Irl' : si issu de la bibliothèque NIST<sup>117</sup> ; Ira=Indices de rétention apolaire ; Irp=Indices de rétention polaire ; L'ordre d'éluion est donné sur colonne apolaire. La teneur d'un composé est exprimée en pourcentage relatif de la fraction correspondante. Les pourcentages exprimés pour la MEPS sont la moyenne des résultats de 3 expériences, assortis de l'écart type.

**Tableau III.5 :** Compositions chimiques des fractions volatiles captées par MEPS et des huiles essentielles des parties aériennes et des organes de *C. mixtum* de Corse.

## 2-Composés volatils des organes d'*Anthemis maritima*.

Nous avons étudié les compositions chimiques des huiles essentielles préparées à partir des rameaux et des fleurs pris séparément. Les analyses des fractions volatiles captées par MEPS ont été effectuées sur les parties aériennes, les fleurs, les rameaux mais aussi sur les racines pour lesquelles nous n'avons pas obtenu d'huile essentielle. Les deux groupes statistiques étant franchement distincts, nous avons sélectionné une station appartenant à chacun d'eux. En conséquence, le matériel végétal a été prélevé sur la plage de Pinia en Corse (groupe I) et sur la plage de Cagliari en Sardaigne (groupe II). Les résultats des analyses sont consignés dans le **tableau III.6**.

### 2.1-Compositions chimiques des huiles essentielles des organes.

Il nous faut préciser que quel que soit l'île où a été prélevé le végétal, nous n'avons pas obtenu d'huile essentielle par hydrodistillation de 200 g de racines. Eu égard à la grande quantité de pieds sacrifiés pour obtenir de 200 grammes de racines et au rôle écologique de cette plante, nous n'avons pas poussé plus avant nos essais en supputant sur un rendement extrêmement faible sinon nul. Pour les deux types récoltés, signalons que le rendement des fleurs (0,01 % pour la Sardaigne et 0,002% pour la Corse) est bien plus faible que le rendement des parties aériennes et des rameaux (0,08 % pour les parties aériennes et rameaux de Sardaigne et 0,01 % pour les parties aériennes et rameaux de Corse). Nous n'avons pas trouvé de composés nouveaux par rapport à l'analyse des huiles essentielles des parties aériennes totales.

Globalement pour les deux compositions chimiques, la teneur en composés oxygénés varie peu entre les organes et les parties aériennes (60,4-68,0 % pour l'échantillon de Corse et 72,9-83,8 % pour l'échantillon de Sardaigne). Pour les deux échantillons, nous constatons que l'huile essentielle des parties aériennes est quasiment similaire à celle de rameaux. Ce sont donc principalement les rameaux qui contribuent à la composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes d'*A. maritima*.

Du point de vue qualitatif, les huiles essentielles de chacun des organes sont relativement homogènes. Les huiles essentielles de fleurs se distinguent de celles des rameaux et des parties aériennes par des variations quantitatives au niveau des composés majoritaires : L'échantillon provenant des fleurs de Sardaigne est moins riche en esters de chrysanthényle (52,6 % dont 47,7 % d'acétate de *trans*-chrysanthényle **45** contre 71,2 %

dont 65,8 % de **45** pour les rameaux). Nous remarquons, aussi que l'huile essentielle de fleurs de Corse a une bien plus forte concentration en 1,8-cinéole **21** (8,9 % contre 0,5% pour les rameaux) et une faible teneur en  $\alpha$ -pinène **6** (0,3 % contre 8,3 % pour les rameaux). Enfin, on constate que les deux échantillons d'huiles essentielles de fleurs ont une teneur plus faible en 6-méthylhept-5-èn-2-one **10** que les parties aériennes correspondantes (5,6 % contre 15,7% respectivement pour la Corse ; 0,8 contre 6,5% respectivement pour la Sardaigne).

## 2.2-Compositions chimiques des fractions volatiles captées par MEPS.

Nous avons identifié 86 composés dans la fraction volatile des parties aériennes (69 pour les plantes de Corse et 67 pour celles de Sardaigne) et 22 dans celles des racines (18 et 20 respectivement). Soit un total de 92 composés différents pour l'ensemble des fractions volatiles. Parmi ces composés, 86 ont déjà été identifiés précédemment dans l'étude d'*A. maritima* au chapitre II. Quatre composés supplémentaires ont été décelés et identifiés par les bibliothèques de notre laboratoire dans les fractions volatiles des racines : le bicycloélémente **55'**, l'iso-sativène **74'**, l' $\alpha$ -santalène **75'** et le  $\gamma$ -bisabolène **96'**. Ils sont indiqués en caractères gras dans le **tableau III.6**. Au vu des aires totales des fractions volatiles captées par MEPS, on remarque, que ce sont les fleurs qui contribuent le plus à la composition chimique des fractions volatiles de parties aériennes de Corse et les rameaux pour la composition chimique des fractions volatiles de parties aériennes de Sardaigne. Le calcul des CV des aires totales et de ceux des composés majoritaires fourni des valeurs statistiquement convenables comprises entre 0,1 % et 14,7 %.

S'agissant des parties aériennes et de leurs organes respectifs nous constatons :

- Pour les plantes de Sardaigne, les fractions volatiles des parties aériennes et des rameaux captées par MEPS ont des compositions chimiques similaires, caractérisées par les monoterpènes oxygénés (75,1 et 71,8 %), avec, comme composés majoritaires respectifs : l'acétate de *trans*-chrysanthényle **45** (36,8 et 40,4 %), le mélange 2-méthylbutyrate de *trans*-chrysanthényle **81**+ isovalérate de *trans*-chrysanthényle **82** (22,8 et 12,6 %) ou encore le 2-méthylbutyrate de *cis*-chrysanthényle **88** (2,1 et 6,5 %). La fraction volatile des fleurs se distingue de celles des rameaux et des parties aériennes, par une composition chimique moins marquée par les monoterpènes oxygénés (42,7 %) et

avec une abondance importante en terpènes hydrocarbonés (40,6 %). Les composés majoritaires sont : l'acétate de *trans*-chrysanthényle **45** (24,5 %), l' $\alpha$ -pinène **6** (14,4 %), le myrcène **14** (12,3 %) et l' $\alpha$ -cédrene **75** (5,0 %).

- Pour les plantes de Corse, les fractions volatiles des parties aériennes et des rameaux captées par MEPS ont des compositions chimiques similaires, avec une abondance en composés oxygénés de 54,8 % et 46,4 % respectivement et en composés hydrocarbonés de 39,7 % et 41,5 % respectivement. Les monoterpènes oxygénés constituent la famille la plus représentée (45,4-51,2 %). Pour les parties aériennes et les rameaux, les composés majoritaires sont respectivement: le 2-méthylbutyrate de *cis*-chrysanthényle **88** (13,6 et 18,2 %), l'isovalérate de *cis*-chrysanthényle **89** (6,2 et 9,1 %), l' $\alpha$ -pinène **6** (5,8 et 9,6 %), l'isobutyrate de *cis*-chrysanthényle **68** (4,8 et 5,9 %), le *trans*- $\beta$ -farnésène **83** (3,9 et 4,1 %), l' $\alpha$ -copaène **66** (3,3 et 5,5 %) et le tiglate de *cis*-chrysanthényle **109** (2,9 et 8,4 %). On remarque la présence du  $\beta$ -pinène **12** en tant que composé majoritaire de la fraction volatile émise par les rameaux (7,3 %). La fraction volatile des fleurs a une composition plus riche en composés oxygénés (70,1 %) ; en plus des esters de chrysanthényle cités pour les deux autres parties du végétal, nous avons identifié les composés majoritaires suivants : le 6-méthyl-5-heptèn-2-one **10** (10,8 %), l'acétate de *trans*-chrysanthényle **45** (9,5 %) et le palustrol **106** (4,8 %).

Les compositions chimiques des fractions volatiles des divers organes des parties aériennes de ces deux échantillons suivent la même tendance que les compositions chimiques des huiles essentielles des parties correspondantes. Les deux compositions chimiques sont ainsi, parfaitement discernables à partir d'une analyse de la fraction volatile réalisée par MEPS.

S'agissant des fractions volatiles des racines, nous constatons que leurs profils chromatographiques sont radicalement différents de ceux des fractions volatiles des parties aériennes. En effet, elles sont principalement constituées de sesquiterpènes hydrocarbonés (63,0 % et 66,4 %) et de monoterpènes hydrocarbonés (14,9 % et 18,1 %) pour un total de 77,9 et 84,5 % en composés hydrocarbonés, respectivement pour les plantes de Corse et de Sardaigne. Nous remarquons également que, contrairement aux parties aériennes, les fractions volatiles de racines provenant de Corse ou de Sardaigne ont des compositions chimiques similaires. Les composés majoritaires sont

respectivement le (*E*)- $\beta$ -farnésène **83** (22,6 et 31,4 %), le  $\beta$ -bisabolène **95** (9,9 et 12,9 %), l'albène **40** (9,0 et 10,7 %), le bicyclogermacrène **92** (3,9 et 7,0 %), et l' $\alpha$ -fenchène **7** (5,2 et 5,8 %). La seule différence qualitative notable entre les deux types de racines est la présence de germacrène D **90** dans l'échantillon de Corse (11,9 %). Dans ce dernier, une dizaine de composés reste non identifiée (0,5 à 1,5% par composé) ce qui explique le taux d'identification relativement bas de 78,2 %.

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles						Fractions volatiles captées par MEPS							
					Corse			Sardaigne			Corse				Sardaigne			
					Pa	Ram	F	PA	Ram	F	Pa	Ram	F	Rac	PA	Ram	F	Rac
1	(Z)-3-Hexèn-1-ol	832	831	1380	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Santolinatriène	909	905	1018	-	-	-	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	$\alpha$ -Thujène	932	928	1023	-	-	-	0,3	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	(E)-2-Heptènal	931	929	1315	-	-	-	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Benzaldéhyde	932	929	1525	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	$\alpha$ -Pinène	936	931	1022	8,2	8,3	0,3	0,9	1,1	-	5,8±0,20	9,6±1,05	3,6±0,10	-	3,7±0,85	0,7±0,05	14,4±0,25	-
7	$\alpha$ -Fenchène	941	942	1047	0,3	0,3	-	-	-	-	t	0,1±0,00	-	5,2±0,95	-	-	-	5,8±1,25
8	Camphène	942	943	1066	0,4	0,4	-	0,4	t	-	0,1±0,00	-	0,5±0,10	-	0,6±0,25	-	0,5±0,25	-
9	1-Octèn-3-ol	962	964	1477	t	t	-	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	6-Méthyl-5-heptèn-2-one	972	966	1320	15,7	16,7	5,6	6,5	7,4	0,8	1,6±0,35	-	10,8±1,6	-	1,1±0,05	0,6±0,15	1,7±0,45	-
11	Sabinène	973	968	1103	-	-	-	0,2	0,2	-	0,2±0,00	0,3	-	-	-	-	-	-
12	$\beta$ -Pinène	978	975	1089	2,4	2,4	t	t	t	-	0,9±0,10	7,3±1,25	1,4±0,00	-	0,5±0,15	-	0,2±0,05	-
13	6-Méthyl-5-heptèn-2-ol	986	979	1450	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	Myrcène	987	984	1135	0,9	0,9	t	0,5	0,6	0,2	2,6±0,30	2,6±1,10	1,2±0,00	0,2±0,00	1,0±0,30	1,0±0,05	12,3±1,00	-
15	Déhydro-1,8-cinéole	993	989	1170	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	$\alpha$ -Phellandrène	1002	999	1164	0,1	0,2	t	-	-	-	t	t	0,2±0,00	-	-	-	-	-
17	$\Delta$ -3-Carène	1010	1008	1126	0,7	0,7	3,3	0,8	0,5	t	0,3±0,05	0,6±0,10	1,0±0,00	-	0,2±0,05	0,2±0,00	0,5±0,25	-
18	meta-Cymène	1013	1011	1142	0,7	0,5	1,6	0,3	0,2	t	0,2±0,00	0,7±0,25	0,6±0,00	-	0,1±0,05	0,2±0,00	0,4±0,20	-
19	para-Cymène	1015	1014	1139	0,4	0,4	-	0,1	0,1	t	0,4±0,10	0,2±0,05	0,8±0,10	-	0,1±0,00	0,1±0,00	0,5±0,25	-
20	Phénylacétaldéhyde	1012	1016	1616	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	1,8-Cinéole	1024	1022	1196	1,0	0,5	8,9	0,3	0,2	0,2	1,2±0,35	0,6±0,20	1,0±0,10	-	0,3±0,15	0,3±0,15	0,7±0,35	-
22	Limonène	1025	1023	1174	t	t	t	t	t	t	-	-	-	0,2±0,00	1,0±0,00	0,1±0,00	0,1±0,01	0,9±0,15
23	(Z)- $\beta$ -Ocimène	1029	1024	1230	0,2	0,1	t	-	-	-	-	-	-	0,3±0,10	-	-	-	0,7±0,20
24	(E)- $\beta$ -Ocimène	1039	1038	1247	0,1	t	0,7	0,1	0,1	0,1	0,4±0,10	0,2±0,00	0,2±0,10	-	0,1±0,00	-	0,2±0,00	-
25	ortho-Crésol	1042	1042	1927	-	-	-	t	0,1	-	-	-	-	t	-	t	-	-
26	$\gamma$ -Terpinène	1051	1051	1220	1,1	1,0	1,4	0,1	0,1	t	0,2±0,10	0,9±0,05	0,7±0,10	-	-	-	-	-
27	<i>trans</i> -Sabinène hydrate	1053	1055	1452	-	-	-	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	Octanol	1063	1063	1532	0,1	t	0,3	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-	-

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles						Fractions volatiles captées par MEPS							
					Corse			Sardaigne			Corse				Sardaigne			
					Pa	Ram	F	PA	Ram	F	Pa	Ram	F	Rac	PA	Ram	F	Rac
29	para-Cymenène	1075	1074	1432	t	t	t	t	0,1	t	-	-	-	-	-	-	-	-
30	Terpinolène	1076	1081	1253	0,1	t	1,3	0,2	0,2	0,1	t	0,2±0,05	0,1±0,00	-	0,4±0,05	0,4±0,05	0,3±0,10	-
31	Nonanal	1076	1082	1394	0,2	0,2	0,8	-	-	-	t	0,1±0,00	0,3±0,10	0,1±0,00	-	-	-	0,1±0,00
32	6-Méthyl-3,5-heptadièn-2-one	1083	1084	1570	0,3	0,3	t	0,2	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
33	Filifolone	1083	1086	1410	t	t	-	0,1	-	0,1	-	-	-	-	0,2±0,05	0,2±0,02	0,2±0,00	-
34	Chrysanthénone	1088	1106	1477	0,1	t	-	-	-	-	0,1±0,00	0,1±0,05	0,2±0,00	-	2,1±0,35	1,4±0,1	2,1±0,25	-
35	<i>trans</i> -Chrysanthénol	1096	1107	1453	0,1	t	-	6,2	2,0	7,0	t	0,1±0,00	0,4±0,00	-	1,8±0,45	1,1±0,05	2,5±0,25	-
36	Camphre	1123	1123	1517	2,4	2,0	6,5	0,8	1,2	1,3	0,1±0,10	0,5±0,00	1,3±0,00	-	2,0±0,50	-	0,2±0,05	-
37	<i>cis</i> -Verbénol	1132	1130	1618	-	-	-	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	0,1±0,00	-	0,1±0,00	-
38	<i>trans</i> -Verbénol	1136	1133	1644	-	-	-	0,2	0,1	0,2	-	-	-	-	-	0,1±0,00	0,1±0,00	-
39	<i>cis</i> -Chrysanthénol	1147	1153	1455	1,0	1,0	1,1	0,3	0,2	0,1	0,2±0,05	0,5±0,15	0,7±0,10	-	0,5±0,05	0,1±0,00	-	-
40	Albène	1154	1154	1286	0,4	t	1,1	0,3	0,2	0,1	0,1±0,05	0,2±0,00	-	9,0±1,50	-	-	-	10,7±2,20
41	Terpinéol-4	1164	1168	1577	2,5	2,6	2,3	0,3	0,3	0,3	0,2±0,05	0,8±0,10	0,3±0,00	-	-	-	-	-
42	$\alpha$ -Terpinéol	1176	1177	1650	0,3	0,2	0,6	0,1	-	0,1	-	-	-	-	0,1±0,00	-	-	-
43	Myrténol	1178	1182	1789	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44	<i>trans</i> -Carvéol	1200	1202	1882	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	t	-	t	-
45	Acétate de <i>trans</i> -chrysanthényle	1238	1230	1522	t	t	2,7	61,2	65,8	47,7	t	-	9,5±0,70	0,2±0,00	36,8±2,00	40,4±1,20	24,5±0,30	-
46	( <i>E</i> )-2-Décènal	1238	1238	1652	0,1	t	-	-	-	-	-	-	-	-	t	-	t	-
47	Acétate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1253	1250	1542	0,4	0,4	0,6	t	-	t	0,7±0,20	0,5±0,10	0,3±0,00	-	-	0,5±0,05	-	-
48	Acide nonanoïque	1263	1258	2127	-	-	-	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-
49	Acétate de Bornyle	1270	1269	1575	-	-	-	0,5	0,9	0,8	-	-	-	t	-	-	-	2,2±0,40
50	Thymol	1274'	1273	2143	0,4	0,3	1,0	0,1	t	t	0,4±0,10	t	0,2±0,10	-	-	-	-	-
51	Carvacrol	1278	1281	2000	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
52	( <i>E,E</i> )-2,4-Décadiènal	1291	1289	1820	0,1	t	t	t	t	t	t	0,1±0,00	0,1±0,00	-	-	-	-	-
53	Propionate de <i>trans</i> -chrysanthényle	-	1314	1583	-	-	-	0,8	1,2	0,5	-	-	-	-	1,6±0,15	1,4±0,20	1,3±0,60	-
54	7- $\alpha$ -Silphiperfol-5-ène	1329	1329	1396	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	0,1±0,00	-	0,1±0,00	-
55	Eugénol	1331	1332	2171	0,1	t	0,8	t	t	t	1,1±0,25	0,7±0,05	0,1±0,00	-	0,3±0,05	0,4±0,00	0,3±0,15	-
55'	<b>Bicycloélémente</b>	1338	1339	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,2±0,45	-	-	-	6,5±0,70

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles						Fractions volatiles captées par MEPS							
					Corse			Sardaigne			Corse				Sardaigne			
					Pa	Ram	F	PA	Ram	F	Pa	Ram	F	Rac	PA	Ram	F	Rac
56	Propionate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1334	1341	1627	1,2	1,2	1,3	t	t	t	2,6±0,45	1,7±0,35	1,2±0,00	-	0,1±0,00	1,0±0,15	0,2±0,05	-
57	Silphin-1-ène	1350	1349	1438	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
58	7-β-Silphiperfol-5-ène	1352	1349	1422	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	-	0,2±0,00	-	-
59	α-Cubébène	1355	1351	1452	t	t	-	t	t	t	0,7±0,20	0,3±0,00	0,1±0,00	-	-	-	-	-
60	α-Longipinène	1360	1355	1526	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
61	Isobutyrate de <i>trans</i> -chrysanthényle	--	1360	1592	0,1	0,1	t	0,7	0,6	0,7	t	t	0,1±0,00	-	1,7±0,05	0,6±0,10	3,0±0,15	-
62	( <i>E</i> )-β-Damascènone	1364	1362	1810	t	t	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
63	Cyclosativène	1371	1369	1483	0,1	0,2	-	0,1	0,1	0,1	0,6±0,05	0,3±0,05	0,1±0,00	-	1,3±0,30	0,9±0,20	0,1±0,00	-
64	Méthyleugénol	1380'	1374	1980	0,8	0,8	0,6	0,1	0,1	0,3	0,2±0,00	0,2±0,00	-	-	0,7±0,05	0,5±0,05	0,4±0,15	-
65	Modéph-2-ène	1384	1378	1518	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
66	α-Copaène	1384'	1380	1463	2,3	2,3	1,2	0,1	t	t	5,5±0,80	3,3±0,80	0,9±0,00	0,3±0,05	0,1±0,00	-	0,9±0,65	0,3±0,00
67	β-Bourbonène	1386	1383	1515	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1±0,00	0,9±0,15	0,5±0,25	-
68	Isobutyrate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1390	1387	1636	0,1	-	2,3	0,1	t	0,1	5,9±0,65	4,8±0,50	3,0±0,10	-	0,1±0,00	0,3±0,05	0,2±0,00	-
69	Modéphène	1383	1388	1500	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
70	β-Elémène	1389	1392	1555	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
71	α-Isocomène	1389	1393	1510	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
72	Butyrate de <i>trans</i> -chrysanthényle	-	1394	1657	0,1	0,1	t	t	t	t	0,2±0,00	0,2±0,00	-	-	0,3±0,10	0,1±0,00	0,1±0,00	-
73	β-Isocomène	1411	1407	1571	t	t	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
74	Ylanga-2-4-diène	1411	1411	1572	0,6	0,7	-	t	t	t	2,4±0,	t	0,2±0,10	-	-	-	-	-
74'	<b>iso-Sativène</b>	1407	1417	1573	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,1±0,50	-	-	-	2,3±0,65
75	α-Cédrène	1418	1420	1537	-	-	-	0,3	0,2	1,9	1,9±0,35	0,2±0,00	1,7±0,10	-	1,2±0,10	0,7±0,05	5,0±0,55	-
75'	<b>α-Santalène</b>	1421	1421	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,4±0,95	-	-	-	2,8±0,40
76	( <i>E</i> )-β-Caryophyllène	1421	1424	1564	4,0	3,9	5,0	t	t	t	0,9±0,00	1±0,5	1,3±0,50	-	0,2±0,00	7,5±0,60	0,4±0,15	-
77	β-Copaène	1430	1425	1581	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
78	Butyrate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1440	1427	1704	0,7	0,5	1,0	t	t	0,1	3,2±0,55	3,0±0,60	0,7±0,00	-	-	-	-	-
79	Géranylacétone	1430	1429	1851	0,3	0,3	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles						Fractions volatiles captées par MEPS							
					Corse			Sardaigne			Corse				Sardaigne			
					Pa	Ram	F	PA	Ram	F	Pa	Ram	F	Rac	PA	Ram	F	Rac
80	<i>épi</i> - $\beta$ -Santalène	1446	1445	1629	0,6	0,3	4,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
81	2-Méthylbutyrate de <i>trans</i> -chrysanthényle	-	1450	1662	-	-	-	0,7	0,5	0,6	-	-	-	-	22,8±0,55 coélué	12,6±1,25 coélué	4,4±0,10 coélué	-
82	Isovalérate de <i>trans</i> -chrysanthényle	-	1452	1592	-	-	-	0,7	1,0	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-
83	( <i>E</i> )- $\beta$ -Farnésène	1446	1452	1642	0,4	0,3	1,5	t	t	t	4,1±0,75	3,9±0,70	0,3±0,10	22,6±3,25	-	-	-	31,4±2,10
84	$\alpha$ -Humulène	1455	1455	1665	t	t	-	-	-	-	0,6±0,10	0,9±0,05	0,2±0,10	-	-	-	-	-
85	Prezizaène	1452	1456	1598	-	-	-	0,1	t	0,5	-	-	-	-	0,2±0,10	0,3±0,00	1,4±0,60	-
86	Muurola-4,11-diène	1458	1461	1623	t	t	-	t	t	t	0,9±0,05	0,8±0,05	0,1±0,00	-	-	-	-	-
87	$\gamma$ -Gurgujène	1472	1470	1654	0,3	0,3	t	t	t	t	0,1±0,00	0,3±0,00	-	-	-	-	-	-
88	2-Méthylbutyrate de <i>cis</i> -chrysanthényle	-	1477	1696	10,4	11,0	6,4	0,3	0,2	0,4	13,6±2,10	18,2±1,90	6,6±0,50	-	2,1±0,05	6,5±0,30	0,8±0,55	-
89	Isovalérate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1485	1479	1710	12,4	12,9	10,0	0,8	0,7	1,5	9,1±1,10	6,2±0,70	1,5±0,00	-	1,7±0,00	4,2±0,60	1,8±0,90	-
90	Germacrène D	1474'	1484	1673	0,2	0,2	t	t	t	t	2,6±0,45	1,7±0,55	0,9±0,80	11,9±0,95	1,5±0,55	1,3±1,05	0,1±0,00	-
91	Zingiberène	1489	1488	1676	0,1	0,1	-	t	t	t	0,9±0,10	0,4±0,15	0,2±0,10	4,0±1,00	0,2±0,10	0,5±0,05	0,2±0,05	-
92	Bicyclogermacrène	1494	1495	1690	3,0	3,0	2,9	0,7	0,7	1,1	4,1±1,00	2,7±0,30	1,0±0,50	3,9±0,45	3,4±0,15	1,2±0,15	2,0±0,65	7,0±0,40
93	Valérate de <i>trans</i> -chrysanthényle	1500	1496	1749	-	-	-	0,2	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-
94	( <i>E,E</i> )- $\alpha$ -Farnésène	1498	1498	1747	0,2	-	1,0	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
95	$\beta$ -Bisabolène	1503	1501	1720	0,1	0,1	t	-	-	-	-	-	-	9,9±0,75	0,3±0,10	0,2±0,00	-	12,9±1,15
96	$\beta$ -Curcumène	1503	1506	1691	0,9	1,0	1,0	0,2	0,1	0,7	0,5±0,05	0,2±0,00	0,2±0,00	-	0,5±0,00	0,7±0,00	-	-
96*	<b><math>\gamma</math>-Bisabolène</b>	1505	1509	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9±0,10	-	-	-	2,3±0,05
97	$\gamma$ -Cadinène	1507	1512	1721	0,6	0,5	0,9	t	t	t	1,9±0,35	1,7±0,50	0,5±0,30	-	-	-	-	-
98	1- $\alpha$ -H-Présilhiperfolane-9- $\alpha$ -ol	1519	1518	1980	-	-	-	0,1	t	0,6	-	-	-	-	-	1,2±0,20	0,6±0,25	-
99	$\beta$ -Sesquiphellandrène	1516	1520	1716	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	0,8±0,40	0,8±0,10	0,6±0,35	-
100	$\delta$ -Cadinène	1520	1521	1736	-	-	-	t	t	t	-	-	-	-	0,4±0,15	0,5±0,20	0,3±0,10	-
101	Angélate de <i>cis</i> -chrysanthényle	-	1525	1820	2,6	2,5	2,2	t	t	t	2,5±0,45	2,3±1,00	1,2±0,10	-	0,1±0,10	0,3±0,00	0,3±0,05	-
102	Valérate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1525	1525	1800	0,5	0,5	0,5	t	t	t	1,5±0,15	2,1±0,70	2,5±1,70	-	-	-	-	-
103	( <i>E</i> )- $\alpha$ -Bisabolène	1530	1526	1753	0,1	0,1	-	-	-	-	0,2±0,00	-	1,2±0,40	1,8±0,20	0,1±0,00	0,1±0,00	0,2±0,10	0,9±0,00
104	$\alpha$ -Calacorène	1527	1532	1895	t	t	-	-	-	-	0,6±0,00	0,2±0,00	0,3±0,05	-	-	-	-	-
105	( <i>E</i> )-Nérolidol	1553	1549	2037	t	t	-	-	-	-	t	-	-	-	-	-	-	-

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles						Fractions volatiles captées par MEPS							
					Corse			Sardaigne			Corse				Sardaigne			
					Pa	Ram	F	PA	Ram	F	Pa	Ram	F	Rac	PA	Ram	F	Rac
106	Palustrol	1569	1564	1920	1,2	1,2	1,3	0,3	0,1	0,4	1,2±0,45	-	4,8±0,30	-	0,1±0,00	0,1±0,00	0,1±0,00	-
107	Spathuléol	1572	1568	2092	1,3	1,3	0,9	0,4	0,3	0,4	0,2±0,00	0,2±0,00	1,1±0,20	t	0,2±0,05	-	0,1±0,00	0,1±0,00
108	Oxyde de caryophyllène	1578	1575	1970	1,4	1,3	1,8	0,1	t	0,2	0,1±0,00	0,1±0,00	0,5±0,00	-	0,2±0,05	0,4±0,05	-	-
109	Tiglate de <i>cis</i> -chrysanthényle	1578	1579	1934	0,4	0,4	0,4	0,1	0,1	0,1	8,4±1,55	2,9±0,80	12,6±1,10	-	0,1±0,00	0,2±0,05	-	-
110	Copabornéol	1595	1592	2140	0,4	0,2	1,4	0,1	0,1	0,7	t	0,1±0,05	0,3±0,00	-	0,1±0,00	0,1±0,00	0,1±0,00	-
111	Cadin-4-èn-7-ol	1637	1631	2096	0,7	0,5	2,8	t	t	t	0,5±0,10	0,4±0,10	2,2±0,10	-	-	-	-	-
112	τ-Cadinol	1642	1633	2132	0,1	0,1	t	0,6	0,2	5,3	-	-	-	-	0,1±0,00	0,1±0,00	1,0±0,40	-
113	τ-Muurolol	1636	1634	2143	0,7	0,8	0,5	-	-	-	t	t	0,2±0,10	-	0,3±0,00	0,2±0,05	0,2±0,05	-
114	α-Cadinol	1643	1640	2231	0,3	0,2	1,1	0,2	0,1	1,4	-	-	-	-	-	-	-	-
115	Géranyle para-cymène	1985	1977	2298	t	t	0,6	t	0,1	t	-	-	-	-	-	-	-	-
116	Géranyle-α-terpinène	2005	1995	2213	0,2	0,1	0,9	0,1	t	0,3	t	t	-	-	-	-	-	-
117	Décosane	2000'	2001	2000	0,2	0,2	0,8	-	-	-	t	t	-	-	-	-	-	-
118	Undécosane	2100	2100	2099	0,3	0,3	0,6	0,1	t	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-
119	Phytol	2114	2109	2581	t	t	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
120	Docosane	2200	2201	2203	0,1	0,1	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
121	Tricosane	2300	2299	2300	0,1	0,1	-	0,1	t	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
122	Tetracosane	2400	2402	2402	0,1	0,1	-	t	t	t	-	-	-	-	-	-	-	-
123	Pentacosane	2500	2504	2499	-	-	-	0,1	t	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-
124	Heptacosane	2700	2697	2701	-	-	-	1,2	0,8	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-
	Total identifié				91,3	89,5	96,1	90,5	89,3	81,6	94,5	87,9	89,1	78,2	94,1	92,6	87,4	86,9
	Composés hydrocarbonés				30,5	29,1	29,1	7,3	5,5	8,7	39,7	41,5	19,0	77,9	17,0	19,4	41,5	84,5
	Composés oxygénés				60,8	60,4	68,0	83,2	83,8	72,9	54,8	46,4	70,1	0,3	77,1	73,2	45,9	2,4
	Monoterpènes hydrocarbonés				16,0	15,2	9,7	4,2	3,5	0,5	10,6	22,7	8,7	14,9	6,3	2,3	28,3	18,1
	Monoterpènes oxygénés				38,1	37,5	51,5	74,7	75,3	63,0	51,2	45,4	50,0	0,2	75,1	71,8	42,7	2,2
	Sesquiterpènes hydrocarbonés				13,5	13,0	16,5	1,5	1,1	4,3	28,5	17,9	9,0	63,0	10,4	16,8	12,3	66,4
	Sesquiterpènes oxygénés				6,1	5,6	9,8	1,8	0,8	9,0	2,0	0,8	9,1	-	0,9	0,8	1,5	0,1
	Autres hydrocarbonés				1,0	0,9	2,9	1,6	0,9	3,9	0,6	0,9	1,3	-	0,3	0,3	0,9	-
	Autres oxygénés				16,6	17,3	6,7	6,7	7,7	0,9	1,6	0,2	11,0	0,1	1,1	0,6	1,7	0,1

	Huiles essentielles						Fractions volatiles captées par MEPS							
	Corse			Sardaigne			Corse				Sardaigne			
	Pa	Ram	F	Pa	Ram	F	Pa	Ram	F	Rac	Pa	Ram	F	Rac
Rendements (% m/m vs. matériel végétal frais)	0,01	0,01	0,002	0,08	0,08	0,01								
Aire totale (10 <sup>6</sup> unités d'aire)							37,5±4,9	24,3±3,1	36,3±5,4	27,0±1,3	76,0±5,2	64,9±3,8	26,4±3,7	78,6±6,6

Irl=Indices de rétention littérature issu de la bibliothèque Joulain<sup>38</sup>, Irl' : si issu de la bibliothèque NIST<sup>117</sup>; Ira=Indices de rétention apolaire ; Irp=Indices de rétention polaire ; Pa=Parties aériennes ; Ram=Rameaux ; F=Fleurs ; Rac=Racines. L'ordre d'éluion est donné sur colonne apolaire. La teneur d'un composé est exprimée en pourcentage relatif de la fraction correspondante. Les pourcentages exprimés pour la MEPS sont la moyenne des résultats de 3 expériences, assortis de l'écart type.

**Tableau III.6 :** Compositions chimiques des huiles essentielles et des fractions volatiles captées par MEPS, des parties aériennes et des organes d'*A. maritima* de Corse et de Sardaigne.

### 3-Composés volatils des organes d'*Eryngium maritimum*.

Nous nous sommes intéressés aux compositions chimiques des huiles essentielles puis des fractions volatiles captées par MEPS des rameaux, des fleurs, des tiges et des racines de *E. maritimum* pris séparément ; nous les avons comparées entre elles d'une part, et à la composition chimique des parties aériennes totales de la plante, d'autre part. Nous avons observé les différences et points communs entre les huiles essentielles et les fractions volatiles des diverses parties. Pour cela, nous avons sélectionné du matériel végétal récolté en Corse sur la plage de l'Ostriconi où la plante est abondante. Les résultats des analyses sont consignés dans le **tableau III.7** à la fin de la partie C.

#### 3.1-Compositions chimiques des huiles essentielles des organes.

Aucun nouveau composé n'a été identifié dans les huiles essentielles par rapport à l'étude de variabilité inter stations. Les huiles essentielles de parties aériennes et de tiges sont à dominante « composés hydrocarbonés » (52,6 %) tandis que les huiles essentielles de feuilles, de fleurs et de racines sont à dominante « composés oxygénés » (47,4 %, 47,5 % et 67,6 % respectivement). Nous remarquons que le rendement en huile essentielle des racines est élevé (0,09 %) et du même ordre que le rendement des parties aériennes (0,09 %) ; ce qui est peu courant.

Les sesquiterpènes hydrocarbonés (41,1-52,6 %) et oxygénés (38,0-46,8 %) sont les familles les plus représentées dans les parties aériennes, les fleurs, les feuilles et les tiges, avec le germacrène D **34** (34,1-43,5 %), le 4 $\beta$ H-cadin-9- $\epsilon$ -15-al **56** (18,4-26,3 %), le 4 $\beta$ H-cadin-9- $\epsilon$ -15-ol **58** (4,2-10,7 %) et le 4 $\beta$ H-muurool-9- $\epsilon$ -15-al **55** (3,3-8,3 %) comme composés majoritaires. Nous avons analysé plus en détails les compositions chimiques de chaque organe et constaté que les organes des parties aériennes présentent surtout des différences quantitatives :

- L'huile essentielle de feuilles comporte la plus importante quantité de sesquiterpènes oxygénés (46,8 %), plus particulièrement de 4 $\beta$ H-cadin-9- $\epsilon$ -15-al **56** (24,6 %), 4 $\beta$ H-cadin-9- $\epsilon$ -15-ol **58** (10,7 %) et 4 $\beta$ H-muurool-9- $\epsilon$ -15-al **55** (7,3%). Elle ne contient que peu d'aldéhydes benzyliques (0,4 % contre 4,1 % pour les parties aériennes) et moins de germacrène D **34** que l'huile des parties aériennes (35,5 % contre 43,5 %).

- L'huile essentielle de tiges est celle qui est la plus riche en sesquiterpènes hydrocarbonés (52,0 %), notamment en germacrène D **34** (43,5%). Elle a également la plus forte teneur en 4βH-cadin-9-èn-15-al **56** (26,3 %).

- L'huile essentielle de fleurs se rapproche davantage de l'huile essentielle de tiges, bien qu'elle comporte des isomères du triméthylbenzaldéhyde **13-15** en quantité non négligeable (3,4 %) comparé aux huiles essentielles de tiges et de feuilles où ces composés représentent moins d'un pourcent de la composition chimique.

- L'huile essentielle de racines a un profil chromatographique totalement différent de celui de l'huile essentielle des parties aériennes et des organes correspondants. Elle ne renferme que peu de composés (une dizaine), elle est riche en sesquiterpènes hydrocarbonés (23,8 %) et surtout en aldéhydes aromatiques (64,8 %). Elle est dominée par le 2,4,5-triméthylbenzaldéhyde **14** (38,8 %), le 2,3,6-triméthylbenzaldéhyde **15** (26,0 %) et l'α-murolène **38** (21,5 %).

Les voies de biosynthèse privilégiées dans les parties aériennes de la plante conduisent à deux types de squelettes sesquiterpéniques : (i) le squelette germacrane issu du (*E,E*)-pyrophosphate de farnésyle avec le (*E,E*)-germacrane pour intermédiaire<sup>157,202,203</sup>, (ii) Les squelettes cadinane et muurolane dont la voie de biosynthèse est probablement liée au (*E,Z*)-pyrophosphate de farnésyle via le cation germacryl. Les composés phénoliques prépondérants dans l'huile de racines sont couramment retrouvés dans les huiles essentielles d'Apiacées.<sup>169-171,173-176,181</sup> Ce sont d'un point de vue métabolique, des dérivés volatils de l'acide shikimique.<sup>202</sup>

### 3.2-Compositions chimiques des fractions volatiles captées par MEPS.

Nous avons identifié 30 composés émis par les diverses parties de la plante et parmi eux, deux composés non présents dans les huiles essentielles étudiées précédemment : le 3-hexèn-1-ol **1'** et l'acétate de (*E*)-hex-3-èn-1-yle **5'** ont été identifiés sur la base des spectres de masse de notre bibliothèque propre et sont reportés en caractères gras dans le **tableau III.7**. Au vu des aires totales des fractions volatiles captées par MEPS, on remarque, que les tiges contribuent le plus à la composition chimique des fractions volatiles de parties aériennes. Le calcul des CV des aires totales et de ceux des composés majoritaires fournit des valeurs comprises entre 0,2 % et 12,2 %, ces valeurs attestent la répétabilité des analyses.

Les profils chromatographiques des fractions volatiles des fleurs, tiges, feuilles et parties aériennes ne comportent que quelques variations quantitatives. En effet, pour ces 4 fractions volatiles, les composés hydrocarbonés sont majoritaires (62,7-89,1 %) tout particulièrement les sesquiterpènes hydrogénés (57,1-86,4 %) tels que le germacrène D **34** (18,0-50,6 %), le  $\beta$ -copaène **28** (2,5-16,7 %), l' $\alpha$ -copaène **18** (0,2-7,3 %), le  $\gamma$ -cadinène **40** (0,9-5,3 %), le  $\beta$ -ylangène **26** (3,3-5,1 %), l' $\alpha$ -humulène **31** (1,3-4,2 %) et le  $\delta$ -cadinène **42** (2,1-4,0 %). Les seules variations quantitatives notables concernent les compositions des fractions volatiles des fleurs et des tiges où le mélange 4 $\beta$ H-muurool-9-èn-15-al **55** et 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-al **56** représente respectivement à 5,7 % et 16,7 %, ce qui porte la quantité de composés oxygénés à 9,4 % et 19,9 % respectivement.

Nous remarquons que les compositions de ces fractions volatiles se distinguent des huiles essentielles des organes correspondant par un taux bien plus important de sesquiterpènes hydrogénés (57,5-86,4 % contre 41,2-52,6 % pour les huiles essentielles), mais également par une abondance plus faible en sesquiterpènes oxygénés (1,6-17,4 % contre 38,0-46,8 % pour les huiles essentielles).

La fraction volatile des racines est totalement différente de celle des parties aériennes. Le profil chromatographique est simple (une dizaine de composés) et dominé par l' $\alpha$ -muuroolène ultra-majoritaire **38** (84,5%) alors qu'il est peu présent dans les fractions volatiles des autres organes (0,8-3,2 %). Nous observons également la présence de deux des trois triméthylbenzaldéhydes (**14** : 2,7% et **15** : 3,3%) et du germacrène D **34** (2,5 %). On constate par rapport à l'huile essentielle correspondante, qu'il y a une inversion des proportions sesquiterpènes hydrocarbonés-aldéhydes benzyliques.

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles					Fractions volatiles captées par MEPS				
					parties aériennes	fleurs	tiges	feuilles	racines	parties aériennes	fleurs	tiges	feuilles	racines
1'	<b>3-Hexèn-1-ol</b>	831	830	-	-	-	-	-	-	1,0±0,05	0,3±0,20	-	2,6±0,55	-
1	$\alpha$ -Pinène	936	930	994	t	0,1	0,6	t	-	0,7±0,25	0,7±0,25	2,8±0,30	0,7±0,40	-
2	6-Méthylhept-5-ène-2-one	972	967	1570	t	t	t	t	-	-	-	-	-	-
3	2-Pentyl-furane	981	975	1201	t	t	t	t	-	-	-	-	-	-
4	Octanal	981	977	1290	0,1	t	t	t	-	-	-	-	-	-
5	Myrcène	987	983	1130	t	0,2	t	0,1	-	1,7±0,05	1,5±0,05	1,9±0,05	3,1±0,15	-
5'	<b>Acétate de (E)-hex-3-èn-1-yle</b>	988'	988	-	-	-	-	-	-	0,9±0,10	0,5±0,30	-	-	-
6	1,2,3-Triméthylbenzène	1011'	1006	1294	t	t	0,1	t	-	0,1±0,05	0,8±0,35	0,4±0,00	0,2±0,10	-
7	Limonène	1025	1019	1166	t	0,1	t	t	-	0,2±0,00	0,5±0,30	0,5±0,05	0,4±0,25	-
8	<i>cis</i> -Verbenol	1132	1126	1618	t	t	-	t	-	-	-	-	-	-
9	<i>trans</i> -Verbenol	1132	1130	1637	t	t	-	0,1	-	0,1±0,00	0,1±0,00	0,6±0,00	0,1±0,00	-
10	(E)-Non-2-ène	1139	1144	1394	0,1	t	0,1	t	-	-	-	-	-	-
11	Méthyl-4-acétophenone	1156	1153	1731	0,1	t	t	0,1	-	t	0,1±0,05	0,8±0,20	0,1±0,00	-
12	Décanal	1180	1182	1498	t	0,5	0,1	t	-	t	0,4±0,00	0,2±0,05	0,1±0,00	-
13	2,4,6-Triméthylbenzaldéhyde	1280'	1281	1827	t	-	t	0,4	-	-	-	-	-	-
14	2,4,5-Triméthylbenzaldéhyde	1305'	1297	1846	0,5	0,6	0,1	-	38,8	0,1±0,00	0,5±0,30	0,3±0,05	0,2±0,10	2,7±0,20
15	2,3,6-Triméthylbenzaldéhyde	1314'	1318	1935	3,6	2,8	0,9	t	26,0	1,2±0,00	1,3±0,60	0,6±0,10	1,2±0,15	3,3±0,50
16	$\alpha$ -Cubébène	1355	1346	1452	t	0,1	t	t	t	0,5±0,10	0,8±0,10	1,1±0,20	0,4±0,10	-
17	(Z)- $\beta$ -Damascène	1343	1349	1820	0,1	0,1	0,1	t	-	-	-	-	-	-
18	$\alpha$ -Copaène	1371'	1373	1447	0,6	0,1	0,7	0,5	-	1,9±0,20	0,2±0,00	7,3±0,70	2,8±0,30	-
19	$\alpha$ -Ylangène	1372'	1374	1476	t	0,1	-	t	-	-	-	-	-	-
20	$\beta$ -Bourbonène	1374'	1375	1474	0,1	0,6	t	t	-	0,2±0,00	2,6±0,25	0,5±0,05	0,5±0,20	-
21	$\beta$ -Elémène	1384	1385	1555	1,0	0,9	1,0	0,7	0,3	0,4±0,05	1,2±0,45	3,2±0,60	2,1±0,50	0,9±0,00
22	$\beta$ -Patchoulène	1388	1394	1475	t	t	-	t	-	0,2±0,00	1,7±1,40	0,4±0,15	0,3±0,15	-
24	$\alpha$ -Gurjunène	1413	1411	1524	0,7	1,2	0,5	t	-	-	-	-	-	-
25	(Z)- $\alpha$ -Bergamotène	1414'	1416	1480	0,7	1	1,8	0,7	-	-	-	-	-	-
26	$\beta$ -Ylangène	1420	1420	1562	0,2	0,2	0,3	0,2	-	3,3±0,50	4,5±0,70	3,4±0,45	5,1±1,00	-
27	$\alpha$ -Sesquiphellandrène	1428'	1430	1765	0,8	0,8	0,1	0,2	-	-	-	-	-	-

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles					Fractions volatiles captées par MEPS				
					parties aériennes	fleurs	tiges	feuilles	racines	parties aériennes	fleurs	tiges	feuilles	racines
28	β-Copaène	1430	1431	1581	t	0,1	t	t	-	10,6±1,10	11,7±1,25	16,7±0,05	2,5±0,75	-
29	(E)-α-Bergamotène	1434'	1435	1580	t	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-
30	Aromadendrène	1443	1440	1611	0,2	0,1	-	0,1	-	0,8±0,20	1,0±0,20	0,3±0,10	1,0±0,35	-
31	α-Humulène	1455	1449	1665	0,2	0,6	t	0,3	-	2,1±0,35	4,2±0,05	1,3±0,20	1,6±0,55	-
32	γ-Muuroolène	1474	1468	1681	0,1	0,2	t	t	-	-	-	-	-	-
33	α-Curcumène	1474	1471	1682	t	0,2	-	t	-	-	-	-	-	-
34	Germacrène D	1479	1478	1659	43,5	34,1	43,5	35,5	2,0	50,6±1,55	30,7±2,05	18,0±2,70	47,7±6,05	2,5±0,30
35	β-Sélinène	1486	1483	1712	t	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-
36	4-Epicubébol	1490	1487	1870	0,3	0,6	t	0,1	-	-	-	-	-	-
37	Bicyclogermacrène	1494	1491	1979	2,3	3,0	2,2	2,0	-	1,8±0,40	2,3±0,05	0,7±0,20	2,2±0,30	-
38	α-Muuroolène	1496	1494	1719	0,1	-	t	-	21,5	2,8±0,25	1,9±0,45	0,8±0,10	3,2±0,40	84,5±5,20
39	β-Bisabolène	1503	1498	1720	0,1	0,2	0,6	0,1	-	1,5±0,10	1,7±0,45	0,1±0,05	0,8±0,25	-
40	γ-Cadinène	1507	1505	1720	0,4	0,4	0,1	0,1	-	5,3±0,15	1,1±0,20	0,9±0,25	2,3±0,95	-
42	δ-Cadinène	1520	1513	1700	1,6	2,5	0,9	0,6	-	3,5±1,00	3,6±0,05	2,1±0,45	4,0±1,45	-
43	Cadina-1,4-diène	1523	1526	1763	t	0,1	-	t	-	0,9±0,05	0,3±0,05	0,3±0,10	0,4±0,20	-
44	(E)-Nérolidol	1553	1549	2037	0,5	2,1	0,4	0,2	-	-	-	-	-	-
45	Spathulénol	1569	1561	2119	0,1	0,7	1,1	0,7	-	-	-	-	-	-
46	4α-Hydroxygermacra-1,5-diène	1571	1565	2296	0,6	0,1	0,2	0,7	-	-	-	-	-	-
47	Oxyde de caryophyllène	1578	1570	1950	0,1	0,1	0,2	0,2	-	-	-	-	-	-
48	4β-Hydroxygermacra 1,5-diène	1580	1571	2042	t	0,2	t	t	-	-	-	-	-	-
49	Muurola-4,10-dièn-8α-ol	1594	1597	2165	0,4	0,7	0,2	0,3	-	-	-	-	-	-
50	Oxyde d'aromadendrène	1623	1618	2002	0,2	1,3	0,5	0,4	-	-	-	-	-	-
51	τ-Muurolol	1933	1634	2143	0,8	0,6	0,4	0,3	-	-	-	-	-	-
52	τ-Cadinol	1933	1638	2163	2,3	1,8	0,5	0,8	-	-	-	-	-	-
53	α-Cadinol	1943	1645	2227	0,2	1,5	0,3	0,3	-	-	-	-	-	-
54	Eudesma-4,7-diène-1β-ol	1671	1669	2354	t	t	t	t	1,6	-	-	-	-	-
55	4βH-Muurool-9-èn-15-al	-	1684	2163	8,3	5,2	3,3	7,3	-	1,5±0,05	5,7±1,00	16,7±2,05	-	t
56	4βH-Cadin-9-èn-15-al	-	1684	2173	19,4	18,4	26,3	24,6	-	coélus	coélus	coélus	-	coélus
57	4βH-Muurool-9-èn-15-ol	-	1734	2422	0,3	0,2	0,3	0,2	-	-	-	-	-	-

N°	Composés	Irl	Ira	Irp	Huiles essentielles					Fractions volatiles captées par MEPS				
					parties aériennes	fleurs	tiges	feuilles	racines	parties aériennes	fleurs	tiges	feuilles	racines
58	4βH-Cadin-9-èn-15-ol	-	1742	2452	5,2	4,5	4,2	10,7	1,2	0,1±0,00	0,5±0,00	0,7±0,10	-	t
	Total identifié				95,8	94,4	91,9	88,6	91,4	94,0	82,4	82,6	85,5	93,9
	Composés hydrocarbonés				52,6	46,9	52,6	41,2	23,8	89,1	73,0	62,7	81,3	87,9
	Composés oxygénés				43,2	47,5	39,3	47,4	67,6	4,9	9,4	19,9	4,2	6,0
	Monoterpènes hydrocarbonés				t	0,4	0,6	0,1	-	2,6	2,7	5,2	4,2	-
	Monoterpènes oxygénés				t	t	-	0,1	-	0,1	0,1	0,6	0,1	-
	Sesquiterpènes hydrocarbonés				52,6	46,6	52,0	41,1	23,8	86,4	69,5	57,1	76,9	87,9
	Sesquiterpènes oxygénés				38,8	38,1	38,0	46,8	2,8	1,6	6,2	17,4	-	-
	Autres hydrocarbonés				t	t	0,1	-	-	0,1	0,8	0,4	0,2	-
	Autres oxygénés				4,4	9,3	1,2	0,5	64,8	3,2	3,1	1,9	4,1	6,0
	Rendements ( % m/m vs. materiel végétal frais)				0,08	0,09	0,08	0,06	0,09					
	Aire totale (10 <sup>6</sup> unités d'aire)									40,7±0,9	33,2±1,4	52,1±2,5	15,5±1,7	26,1±2,0
Irl=Indices de rétention littérature issu de la bibliothèque Joulain <sup>38</sup> , Irl' : si issu de la bibliothèque NIST <sup>117</sup> ; Ira=Indices de rétention apolaire ; Irp=Indices de rétention polaire ; L'ordre d'éluion est donné sur colonne apolaire. La teneur d'un composé est exprimée en pourcentage relatif de la fraction correspondante. Les pourcentages exprimés pour la MEPS sont la moyenne des résultats des 3 expériences, assortis de l'écart type.														

**Tableau III.7:** Compositions chimiques des huiles essentielles et des fractions volatiles captées par MEPS, des parties aériennes et des organes d'*E. maritimum* de Corse.

#### D-Bilan de l'étude des volatils des organes des trois plantes.

Les disparités de composition chimique des huiles essentielles issues de différents organes d'une même plante provenant d'une même station sont significatives notamment entre les parties aériennes et les racines, mais aussi dans une moindre mesure entre organes des parties aériennes comme pour *C. mixtum* et *E. maritimum* respectivement. Ces différences sont à prendre en compte dans le cadre de la valorisation d'un produit.

S'agissant des compositions chimiques des fractions volatiles captées par MEPS, les trois exemples de plantes abordés dans cette partie nous ont permis d'avoir une meilleure connaissance des métabolites secondaires de ces plantes, notamment en identifiant six composés non détectés dans les huiles essentielles correspondantes. Nous avons également pu connaître la composition chimique de la fraction volatile des racines d'*A. maritima* qui ne produisent pas d'huile essentielle. Enfin, parmi les composés volatils captés par MEPS, nous avons mis en évidence certaines molécules ayant un rôle écologique comme les monoterpènes oxygénés irréguliers (yomogi alcool, santolina alcool et artémisia alcool) connu pour leur rôle attractif sur les insectes pollinisateurs.<sup>123</sup>

D'une manière générale, nous avons constaté que la MEPS en tant que méthode alternative pour la connaissance des composés volatils d'une plante est un outil viable du point de vue de l'analyse qualitative. En effet les profils chromatographiques des fractions volatiles captées par MEPS présentent des similitudes qualitatives avec les huiles essentielles de la matrice correspondante. La limite de la méthode se situe dans l'analyse quantitative, la MEPS n'étant pas une technique d'épuisement on ne peut la comparer à une méthode totalement préparative comme l'hydrodistillation.

La composition chimique d'une fraction volatile captée par MEPS n'est qu'un instantané des volatils exhalés par la matrice à une température d'extraction donnée. Aussi les profils chromatographiques varieront quantitativement en fonction de la température d'extraction. Le second facteur essentiel qui conditionne

le profil chromatographique est le choix de la fibre, plus son affinité avec un type de composé est marquée plus elle sera sélective. A contrario, une fibre à large spectre comme les fibres à triples revêtements que nous utilisons, captera un maximum de composés différents, mais induira un accroissement de l'effet de compétition entre les composés.

Enfin, la MEPS apparait comme une technique d'échantillonnage des composés volatils très performante pour la détermination de l'empreinte volatile (fringerprint) d'une plante aromatique, et ce à partir d'une quantité de végétale extrêmement faible et en un temps d'expérience limité.



## CONCLUSION

La richesse de la flore de Corse et de Sardaigne n'est plus à démontrer. Le bassin méditerranéen est l'un des « points chauds » ou hotspot dans lesquels se trouve concentrée la biodiversité. A l'instar des autres zones rouges régionales, les îles Tyrrhéniennes sont caractérisées par une richesse spécifique, un taux d'endémisme élevé mais aussi par des menaces anthropiques fortes et en augmentation rapide.

Ce travail de thèse repose sur l'étude des huiles essentielles et des fractions volatiles de trois plantes du continuum corso-sarde : *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum*. De fait, son objectif est de fournir des informations scientifiques objectives permettant :

- Au niveau fondamental : de contribuer à la connaissance des ressources naturelles issues de la biomasse végétale, en d'autres termes, d'enrichir les bases de données et les bibliothèques scientifiques en molécules et compositions chimiques d'huiles essentielles,
- Au niveau appliqué : de permettre la diversification des sources de produits naturels susceptibles d'être valorisés afin d'élargir les gammes commerciales à travers l'étude de leur spécificité et de la biodiversité.

Dans le **chapitre I**, nous avons tout d'abord présenté les diverses techniques d'extractions des huiles essentielles, et détaillé les avantages et la mise en œuvre de l'EdT-MEPS pour l'échantillonnage des fractions volatiles émises par les végétaux. Ensuite, nous avons passé en revue les principales techniques utilisées pour l'analyse des mélanges naturels complexes (fractions volatiles, huiles essentielles,...) et pour l'étude structurale des molécules. Après l'exposé de notre méthodologie d'analyse, nous avons explicité les outils statistiques à notre disposition pour le traitement des données chimiques complexes d'interprétation, de même que les procédés mis en œuvre pour l'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles. Enfin, nous avons terminé par une synthèse bibliographique des composés chimiques présents dans

les huiles essentielles et extraits des espèces des genres *Chamaemelum*, *Anthemis* et *Eryngium*.

Le **chapitre II** a été consacré à l'étude des compositions, à l'élaboration de stratégies d'identification et à l'optimisation de la méthodologie d'analyse du laboratoire.

Dans l'huile essentielle de *Chamaemelum mixtum* de Corse, nous avons identifié un nouveau composé naturel, la (Z)-heptadéc-9,16-adièn-7-one. Cette huile essentielle présente un profil chromatographique qualitativement et quantitativement différent de celui observé pour les huiles essentielles provenant du Maroc décrites dans la littérature.

S'agissant des huiles essentielles d'*Anthemis maritima* de Corse et de Sardaigne. Chacune de ces matrices comportait une série de composés analogues absents de nos bibliothèques et à priori non séparables en chromatographie sur colonne ouverte. Pour les identifier, nous avons établi une stratégie d'analyse basée sur la CPG/SM-IC et l'hémisynthèse tirant parti des spécificités des deux huiles essentielles. Les CPG/SM-IE et CPG/SM-IC de l'huile essentielle de Corse ont permis d'identifier la nature de ces composés. L'huile essentielle de Sardaigne a servi de source pour la synthèse de tous ces composés. Les structures ont été validées à l'aide de la RMN. Ainsi, nous avons décrit une série de 14 esters des *cis*- et *trans*- chrysanthénol. Un grand nombre d'entre eux étaient déjà cités dans la littérature mais n'avaient encore jamais été décrits en RMN. Signalons, enfin, que la composition chimique de l'huile essentielle d'*A. maritima* riche en ester de chrysanthénol est ici rapportée pour la première fois.

L'huile essentielle d'*Eryngium maritimum* est, également, décrite pour la première fois de façon aussi exhaustive. Elle s'est avérée particulièrement intéressante d'un point de vue analytique par la présence de quatre sesquiterpènes oxygénés de type muurolane et cadinane inconnus de nos banques. L'isolement de ces composés coélus sur colonne apolaire a été rendu possible grâce aux hémisynthèses dérivatives permettant de changer la polarité de ces composés et faciliter leur séparation. L'analyse menée par RMN mono et bidimensionnelle a permis d'identifier : le 4 $\beta$ H-

muurol-9-èn-15-ol, le 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-ol, et le 4 $\beta$ H-cadin-9-èn-15-al composés naturels jamais décrits auparavant, ainsi que le 4 $\beta$ H-muurol-9-èn-15-al déjà cité dans la littérature mais dont les données RMN sont rapportées ici pour la première fois.

Le **chapitre III** commence par une étude de l'activité biologique des huiles essentielles de ces trois plantes testée sur 9 souches : trois bactéries Gram +, 5 bactéries Gram – et une levure représentant un panel de micro-organismes impliqués dans des infections nosocomiales et alimentaires. Les huiles essentielles d'*A. maritima* et *E. maritimum* ont révélé une activité modérée, tandis que l'huile essentielle de *C. mixtum* et plus particulièrement sa fraction oxygénée s'est avérée active sur la plupart des bactéries testées.

L'étude de la variabilité chimique inter stations montre, pour chaque plante, l'existence de différents groupes statistiques. La différenciation des groupes est particulièrement marquée pour *A. maritima*, avec une composition chimique voisine pour les échantillons de Corse et de la Costa Smeralda en Sardaigne et une composition différente pour les autres huiles essentielles de Sardaigne.

Enfin, nous avons mis en évidence les variations chimiques pour les huiles essentielles issues des divers organes d'une même plante. Nous avons également étudié la composition chimique des fractions volatiles de ces organes par le biais d'une séquence MEPS – CPG. Les variations les plus fortes ont été observées entre les parties aériennes et les racines pour *C. mixtum* et *E. maritimum*. Les résultats des analyses par MEPS-CPG et par HD-CPG pour un même organe présentent des similitudes qualitatives mais de notables divergences quantitatives. Ils confortent la MEPS comme outil rapide d'acquisition du profil chimique d'une fraction volatile à une température donnée, sans pour autant se substituer à l'étude de l'huile essentielle lorsqu'une plante en renferme.

En bref, l'étude de ces trois plantes, nous a permis de remplir nos objectifs :

- en termes de recherche fondamentale, nous avons apporté 4 nouveaux produits naturels, rapporté les données RMN d'une quinzaine de composés pour la première fois et mené à bien la description de 3 huiles essentielles,

dont une n'avait encore jamais été décrite. Nos travaux ont contribué à l'enrichissement de la bibliothèque « arômes » du laboratoire par l'introduction des données spectrales de 20 composés.

-d'un point de vue plus appliqué, nos travaux ont contribué à la mise en valeur de la richesse de la flore de Corse et de Sardaigne. Ces trois plantes du littoral ont des compositions chimiques originales et présentent des spécificités micro régionales. Enfin, elles manifestent une activité antibactérienne plus ou moins forte.

# PARTIE EXPERIMENTALE

## ECHANTILLONNAGE DU MATERIEL VEGETAL

### Chamaemelum mixtum

- **Etude initiale** : Récolte en Mai 2008.

Corse : Plage de l'Arinella (42° 39' 47" N ; 9° 26' 54" E).

- **Etude des fractions volatiles par MEPS et des huiles essentielles des organes** : Récolte en Juin 2009.

Corse : Plage de Folleli (42° 31' 5" N ; 9° 31' 59" E).

- **Etude de la variabilité géographique** : Récolte entre Mai et Juillet 2008.

Corse : Marana **C1** (42° 39' 14" N ; 9° 27' 10" E) - Embouchure du Golo **C2** (42° 31' 18" N ; 9° 32' 3" E) - Arinella **C3** (42° 39' 47" N ; 9° 26' 54" E) - Quercioni **C4** (Entre les deux points suivants : 41° 56' 46" N ; 9° 24' 41" E et 41° 58' 14" N ; 9° 25' 22" E) - Calvi **C5** (42° 33' 19" N ; 8° 45' 58" E) - Ostriconi **C6** (42° 39' 36" N ; 9° 3' 34" E) - RN 197 près de Lama **C7** (42° 34' 35" N ; 9° 9' 6" E) - Ajaccio route des Sanguinaires **C8** (41° 54' 37" N ; 8° 38' 50" E) - Etang de Diane **C9** (42° 7' 10" N ; 9° 32' 44" E) - Cap sud près de Folleli **C10** (42° 31' 5" N ; 9° 31' 59" E).

Sardaigne : Praxis près de Villasimius **S1** (39° 7' 0" N ; 9° 31' 12" E) - La Caletta **S2** (40° 35' 36" N ; 9° 45' 21" E) - Golfe de s'Ena près d'Oristano **S3** (39° 48' 54" N ; 8° 33' 0" E).

## *Anthemis maritima*

- **Etude initiale** : Récolte entre Juin et Juillet 2006.

Corse : La Marana (42° 39' 14" N ; 9° 27' 10" E) – Quercioni (Entre les deux points suivants: 41° 56' 46" N ; 9° 24' 41" E et 41° 58' 14" N ; 9° 25' 22" E) – Cap sud près de Folleli (42° 31' 5" N ; 9° 31' 59" E). Cumul pour former l'huile essentielle collective de Corse.

Sardaigne : Sud de Cagliari (39° 10' 17" N ; 9° 2' 13" E).

- **Etude des fractions volatiles par MEPS et des huiles essentielles des organes** : Récolte en Juin 2009.

Corse : Pinia (42° 1' 21" N ; 9° 28' 30" E).

Sardaigne : Sud de Cagliari (39° 12' 31" N ; 9° 5' 14" E).

- **Etude de la variabilité géographique** : Récolte entre Juin et Juillet 2007.

Corse : Fautea **C1** (41° 42' 43" N ; 9° 24' 10" E) - Pinia **C2** (42° 1' 21" N ; 9° 28' 30" E) - Quercioni **C3** (entre les deux points suivants: 41° 56' 46" N ; 9° 24' 41" E et 41° 58' 14" N ; 9° 25' 22" E) - La Marana **C4** (42° 39' 14" N ; 9° 27' 10" E) - Campoloro **C5** (42° 18' 57" N ; 9° 32' 56" E) - Bonifacio **C6** (41° 23' 10" N ; 9° 8' 56" E).

Sardaigne : La Caletta **S1** (40° 35' 36" N ; 9° 45' 21" E) et **S2** (40° 37' 37" N ; 9° 44' 30" E) - Golfe de s'Ena près d'Oristano **S3** (39° 49' 31" N ; 8° 33' 9" E) et **S4** (39° 48' 54" N ; 8° 33' 0" E) - Alghero **S5** (40° 35' 24" N ; 8° 18' 2" E) et **S8** (40° 35' 2" N ; 8° 18' 30" E) - Marina di Sorso **S6** (40° 49' 48" N ; 8° 33' 24" E) et **S7**(40° 50' 6" N ; 8° 34' 23" E) – Sud de Cagliari **S9** (39° 12' 31" N ; 9° 5' 14" E), **S10** (39° 10' 17" N ; 9° 2' 13" E) et **S11** (39° 13' 39" N ; 9° 13' 1" E).

## *Eryngium maritimum*

- **Etude initiale** : Récolte entre Juin et Juillet 2007.

Corse : Quercioni (Entre les deux points suivants: 41° 56' 46" N ; 9° 24' 41" E et 41° 58' 14" N ; 9° 25' 22" E).

- **Etude de la fraction volatile par MEPS et des huiles essentielles des organes** : Récolte en Juin 2009.

Corse : Ostriconi (Balagne 42° 39' 36 " N ; 9° 3' 34 " E).

- **Etude de la variabilité géographique** : Récolte entre Juin et Juillet 2008.

Corse : Quercioni **C1** (entre les deux points suivants : 41° 56' 46" N ; 9° 24' 41" E et 41° 58' 14" N ; 9° 25' 22" E) - Pinia **C2** (42° 1' 21" N ; 9° 28' 30" E) - Marana **C3** (42° 39' 14" N ; 9° 27' 10" E) - Ostriconi **C4** (42° 39' 36 " N ; 9° 3' 34 " E) - Golfe Ventilegne près de Figari **C5** (41° 28' 32" N ; 9° 4' 44" E) - Calzarello **C6** (41° 59' 1" N ; 9° 26' 9" E).

Sardaigne : La Caletta **S1** (40° 35' 36" N ; 9° 45' 21" E) – Sud de l'île de Caprera **S2** (41° 10' 59" N ; 9° 27' 52" E) - Marina di Sorso **S3** (40° 49' 48" N ; 8° 33' 24" E) - Golfe de s'Ena près d'Oristano **S4** (39° 48' 54" N ; 8° 33' 0" E) - Praxis près de Villasimius **S5** (39° 7' 0" N ; 9° 31' 12" E) - Sud Cagliari **S6** (39° 12' 31" N ; 9° 5' 14" E).

## **HYDRODISTILLATION**

Les hydrodistillations ont été réalisées avec un appareil de type Clevenger (bouilleurs de 10 l), pendant une durée de 5 h. Les huiles essentielles sont conservées dans des flacons de verre ambré à une température de 4°C. Les rendements sont calculés par rapport à la masse de végétal frais.

## **PARAMETRES DE L'EdT-MEPS**

- **Mise en œuvre de l'EdT-MEPS**

Le processus d'extraction se déroule en trois étapes. L'échantillon est placé dans un pilulier équipé ou non d'un barreau aimanté. Le flacon est bouché et serti. Après un temps d'équilibre déterminé, l'aiguille contenant la fibre perce le septum. La fibre est exposée dans l'espace de tête, par pression sur le piston, pendant un temps d'extraction défini. Enfin, la fibre est rétractée dans l'aiguille, laquelle est ensuite retirée du flacon et introduite dans l'injecteur du chromatographe.

- **Protocole d'optimisation**

Pour chacune des analyses, les paramètres suivants ont été fixés :

- (i) La fibre exposée dans l'espace de tête est une fibre triple de marque Supelco, Bellefonte, PA, USA, recouverte de divinylbenzène/carboxen/polydiméthylsiloxane (DVB/CAR/PDMS).
- (ii) Température et temps de désorption dans l'injecteur de la CPG : 260°C ; 5 mn.

L'optimisation a été menée en combinant diverses valeurs des quatre paramètres ci-dessous.:

- (i) Quantité de broyat végétal : 1 g ; 2g ; 3g
- (ii) Température d'équilibre et d'extraction : 50°C ; 70°C ; 90°C
- (iii) Temps d'extraction : 5 mn ; 15 mn ; 30 mn ; 60 mn.
- (iv) Temps d'équilibre : 30 mn ; 60 mn ; 120 mn ; 240 mn.

Pour chaque partie aérienne, pour chaque racine et pour chacune des quantités de végétal indiquées, l'extraction a été réalisée à chacune des températures pendant chacune des quatre durées indiquées. Les conditions ont été considérées comme les meilleures lorsque le signal réponse en CPG-DIF est le plus intense sans qu'il y ait saturation et que l'on obtient le plus grand nombre de pics sur le chromatogramme.

Enfin, compte tenu des valeurs optimales trouvées ci-dessus, un essai a été conduit pour chacun des temps d'équilibre indiqués. Comme précédemment, sur la

base de la qualité du signal réponse, nous avons ainsi déduit les conditions optimales d'analyse. Pour cela nous avons effectué, au total 256 essais réalisés en triple exemplaires.

Le **tableau E.1** reprend les conditions optimales ainsi déterminées.

Partie du végétal	Masse de végétal	Température d'extraction et d'équilibre	Durées: Temps d'équilibre / Temps d'extraction
<b><i>Chamaemelum mixtum</i></b>			
Parties aériennes, organes aériens et racines	3 g	70°C	1 h / 15 mn
<b><i>Anthemis maritima</i> de Corse</b>			
Parties aériennes et organes aériens	2 g	70°C	2h / 15 mn
Racines	3 g	90°C	4h / 1h
<b><i>Anthemis maritima</i> de Sardaigne</b>			
Parties aériennes et organes aériens	1 g	70°C	1h / 30 mn
Racines	3 g	90°C	4h / 1h
<b><i>Eryngium maritimum</i></b>			
Parties aériennes, organes aériens et racines	1 g	70°C	1h / 5 mn

**Tableau E.1** : Conditions optimales d'analyse des composés volatils de *C. mixtum*, d'*A. maritima* et d'*E. maritimum*.

## APPAREILLAGE

- ***Analyses par CPG-DIF***

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe *Perkin Elmer Clarus 600*, équipé de deux colonnes capillaires Rtx-1 (polydiméthyl-siloxane, 60 m x 0,22 mm d.i) et Rtx-WAX (polyéthylène glycol, 60 m x 0,22 mm d.i) couplées chacune à un détecteur à ionisation de flamme.

Le gaz vecteur utilisé est l'hélium, la pression en tête de colonne est de 20 psis avec débit d'1 ml/mn, la température de l'injecteur et des détecteurs est de 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C à 2°C/mn puis en un palier de 30 mn à 230°C. L'injection se fait en mode split 1/80. La quantité d'huile essentielle injectée est de 0,2 µl.

Pour chacun des composés, les indices de rétention polaires et apolaires sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcanes.

Pour ce qui est des fractions volatiles captées par MEPS, les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe *Perkin Elmer Autosystem XL* équipé de la colonne capillaire Rtx-1 et disposant des mêmes spécifications techniques que le *Perkin Elmer Clarus 600* décrit supra et dans les mêmes conditions opératoires. Les composés volatils ont été désorbés durant 5 mn en mode splitless avec un liner SPME Intel (0,75 mm Id : Supelco).

- ***Analyses par CPG/SM***

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL, doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm d.i. ; épaisseur du film : 0,25 µm) polaire (Rtx-Wax) et apolaire (Rtx-1), couplé à un détecteur de masse Perkin Elmer TurboMass.

Le gaz vecteur utilisé est l'hélium (1ml/min) avec une pression en tête de colonne de 25 psi. La température de l'injecteur est de 250°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C, à 2°C/mm, puis en un palier de

35 mm à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/80. La quantité d'huile essentielle injectée est de 0,2 µl. 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 150°C.

Pour ce qui est des fractions volatiles captées par MEPS, les analyses ont été réalisées avec le même appareil et les mêmes paramètres.

➤ *CPG/SM en mode impact électronique*

Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70eV, 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 150°C. Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 35-350 Da.

➤ *CPG/SM en mode ionisation chimique*

Les gaz réactifs utilisés sont le méthane et l'ammoniac en ionisation chimique positive, et l'ammoniac en ionisation chimique négative. Ils sont ionisés par un faisceau électronique de 70 eV. La température de la source est de 150°C et la pression de 0,2 mbar. Les spectres de masse obtenus par ionisation chimique ont été acquis sur la gamme de masse 60-350 Da.

• *Résonance magnétique nucléaire*

Bruker 400 AVANCE, 9,4 Tesla, opérant à 400,132 MHz pour le proton et à 100,623 MHz pour le carbone-13

➤ *RMN du proton*

Les spectres de RMN du proton ont été enregistrés avec les paramètres suivants : sonde de 5 mm : angle d'impulsion 30°; temps d'acquisition = 2,56 s correspondant à une acquisition de 32 K avec une largeur spectrale (SW) de 7000 Hz (17,5 ppm). Afin

d'améliorer la résolution, la multiplication de la FID par une exponentielle de type Lorentz-Gauss est utilisée.

➤ *RMN du carbone-13*

Les spectres du carbone-13 ont été enregistrés avec les paramètres suivants :

Sonde de 5 mm : angle d'impulsion 45°; temps d'acquisition = 2,73 s correspondant à une acquisition de 128 K avec une largeur spectrale (SW) de 25000 Hz (250 ppm) ; résolution digitale de 0,183 Hz/pt. Le nombre d'accumulations est compris entre 2000 et 10000 pour chaque enregistrement. Les données du signal de précession libre (FID) sont multipliées avant la transformée de Fourier par une fonction exponentielle (LB = 1,0 Hz).

Préparation des échantillons d'huiles essentielles : une masse de 40 à 70 mg d'huile essentielle est dissoute dans 0,5ml de CDCl<sub>3</sub> additionné de tétraméthylsilane (TMS). Les déplacements chimiques sont donnés en ppm ( $\delta$ ) par rapport au TMS pris comme référence interne.

➤ *RMN 2D*

Pour enregistrer les spectres de RMN 2D mettant en jeu les corrélations hétéronucléaires (HSQC, HMBC) ou homonucléaires (COSY, NOESY), nous avons utilisé les séquences impulsionnelles définies par les programmes Bruker.

A titre d'exemple, les paramètres suivants ont été utilisés pour la corrélation proton-proton (COSY) La matrice d'acquisition des données a pour dimension 1 K x 256 points mémoire. Les données sont ensuite complétées par une mise à zéro sur le domaine F1 (1H) et traitées par une fonction gaussienne avant la transformée de Fourier.

## HEMISYNTHESES

- Réduction des composés carbonylés et carboxylés

- *Procédure générale*

Une fraction contenant des composés carbonylés et/ou carboxylés (4 équivalents) est mise en solution dans 20 ml de Et<sub>2</sub>O anhydre, est additionnée goutte à goutte à une suspension de LiAlH<sub>4</sub> (1,5 équivalents) dans 30 ml de Et<sub>2</sub>O anhydre refroidie par un mélange eau-glace. Le mélange réactionnel, sous agitation magnétique, est porté à reflux durant 3 h puis hydrolysé par addition d'une solution de NaOH 15% (2 ml) suivie d'eau glacée (2 ml). La solution est lavée dans une ampoule à décanter jusqu'à neutralité puis séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Le solvant est évaporé à l'évaporateur rotatif.

- *Réduction de la (Z)-heptadéc-9,16-adièn-7-one 76 (fraction **FO1** ; C. mixtum).*

Fraction **FO1** (76, 69 %) : 0,920 g ; LiAlH<sub>4</sub> : 0,150 g. Après purification sur gel de silice, on obtient la fraction **FO1red** (76red, 94,5 %) de masse 0,850 g (rendement : 92 %).

- *Réduction des esters de chrysanthényle (fraction **SO1** ; A. maritima).*

Fraction **SO1** (esters de chrysanthényle, 93 %) : 3,301 g ; LiAlH<sub>4</sub> : 0,304 g. Après purification sur gel de silice, on obtient la fraction **SO1red** (82 % de *trans*-chrysanthénol et 12 % de *cis*-chrysanthénol) de masse 3,015 g (rendement : 91 %).

- *Réduction du 4βH-muurool-9-èn-15-al 55 et du 4βH-cadin-9-èn-15-al 56 (fraction **EO1** ; E. maritimum).*

Fraction **EO1** (55: 30,9 % + 56: 59,1 %) : 3,620 g ; LiAlH<sub>4</sub> : 0,398 g. Après purification sur gel de silice, on obtient la fraction **EO1red** (57 : 30,2 % + 58 : 64,3 %) de masse 3,450 g (rendement : 95 %).

- **Estérification**

- *Procédure générale.*

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant et équipé d'une ampoule à brome, on mélange la fraction **SO1red** (82% de *trans*-chrysanthénol et 12% de *cis*-chrysanthénol) (1 équivalent) et de la triéthylamine Et<sub>3</sub>N (1,5 équivalents) dans 30 ml de dichlorométhane, sous agitation magnétique. La solution est refroidie dans un bain de glace. On additionne le chlorure d'acyle (2,5 équivalents dans 30 ml de dichlorométhane) goutte à goutte. Le mélange réactionnel sous agitation, est porté à reflux doux pendant 3 h. Le mélange est lavé à l'eau jusqu'à pH neutre. Après extraction au diéthyloxyde, la phase organique est séchée sur MgSO<sub>4</sub> et le solvant est éliminé à l'évaporateur rotatif. L'ester est alors purifié par CC sur gel de silice. Les rendements n'ont pas été optimisés.

- *Propionate de cis et trans-chrysanthényle (A. maritima).*

Fraction **SO1red** : 504 mg ; Et<sub>3</sub>N : 602 mg ; chlorure d'acide propanoïque : 0,749 g. Après purification sur gel de silice, on obtient 0,451 g de mélange de *cis* et *trans* propionate de chrysanthényle (rendement : 89 %). Après séparation sur colonne ouverte, on obtient deux fractions contenant du propionate de *cis*-chrysanthényle **56** (78 %) et du propionate de *trans*-chrysanthényle **53** (82 %) respectivement

- *Butyrate de cis et trans-chrysanthényle (A. maritima).*

Fraction **SO1red** : 498 mg ; Et<sub>3</sub>N : 607 mg ; chlorure d'acide butyrique : 0,852 g. Après purification sur gel de silice on obtient 0,465 g de mélange de *cis* et *trans* butyrate de chrysanthényle (rendement : 95 %). Après séparation sur colonne ouverte, on obtient deux fractions contenant du butyrate de *cis*-chrysanthényle **78** (80%) et du butyrate de *trans*-chrysanthényle **72** (93 %) respectivement.

➤ *Isobutyrate de cis et trans-chrysanthényle (A. maritima).*

Fraction **SO1red** : 505 mg ; Et<sub>3</sub>N : 598 mg ; chlorure d'acide isobutyrique : 0,864 g. Après purification sur gel de silice on obtient 0,322 g de mélange de *cis* et *trans* d'isovalérate de chrysanthényle (rendement : 63 %). Après séparation sur colonne ouverte, on obtient deux fractions contenant de l'isobutyrate de *cis*-chrysanthényle **68** (70 %) et de l'isobutyrate de *trans*-chrysanthényle **61** (88 %) respectivement.

➤ *valérate de cis et trans-chrysanthényle (A. maritima).*

Fraction **SO1red** : 501 mg ; Et<sub>3</sub>N : 602 mg ; chlorure d'acide valérique: 0,984 g. Après purification sur gel de silice on obtient 0,389 g de mélange de de *cis* et *trans* valérate de chrysanthényle (rendement : 77 %). Après séparation sur colonne ouverte, on obtient deux fractions contenant du valérate de *cis*-chrysanthényle **101** (78 %) et du valérate de *trans*-chrysanthényle **93** (82 %) respectivement.

➤ *isovalérate de cis et trans-chrysanthényle (A. maritima).*

Fraction **SO1red** : 509 mg ; Et<sub>3</sub>N : 609 mg; chlorure d'acide isovalérique: 0,979 g. Après purification sur gel de silice on obtient 0,353 g de mélange d'isovalérate de *cis* et *trans* chrysanthényle (rendement : 69 %). Après séparation sur colonne ouverte, on obtient deux fractions contenant de l'isovalérate de *cis*-chrysanthényle **89** (68 %) et de l'isovalérate de *trans*-chrysanthényle **82** (83 %) respectivement.

➤ *2-méthylbutyrate de cis et trans-chrysanthényle (A. maritima).*

Fraction **SO1red** : 501 mg ; Et<sub>3</sub>N : 603 mg ; chlorure d'acide 2-méthylbutyrique: 0,986 g. Après purification sur gel de silice on obtient 0,290 g de mélange de *cis* et *trans* 2-méthylbutyrate de chrysanthényle (rendement : 58 %). Après séparation sur colonne ouverte, on obtient deux fractions contenant du 2-méthylbutyrate de *cis*-chrysanthényle **88** (69 %) et du 2-méthylbutyrate de *trans*-chrysanthényle **81** (83 %) respectivement.

- **Oxydation des alcools**

- *Procédure générale*

Dans un ballon bicol surmonté d'un réfrigérant et équipé d'une ampoule à brome, l'alcool (1 équivalent) est mis en solution dans 10 ml de dichlorométhane, sous agitation magnétique. Le chlorochromate de pyridinium (1,5 équivalents) est mis en solution dans 15 ml de dichlorométhane et ajouté par petites fractions. La solution est agitée pendant 3h dans un bain de glace, puis à température ambiante pendant 3 h. Après filtration sur silice, le solvant est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Les produits sont alors séparés par CC sur gel de silice.

- *Oxydation de la (Z)-heptadéc-9,16-adiène-7-ol **76red** (fraction **FO1red** ; *C. mixtum*).*

Fraction **FO1red** (**76red** : 95,5 %) : 0,150 g ; la; pyridium chlorochromate : 0,130 g. Après purification sur gel de silice, on obtient 0,067 g de fraction **FI** ((Z)-heptadéc-9,16-adiène-7-one **76** : 96,1 %) : (rendement : 45 %).

- *Oxydation du 4βH-muurol-9-ène-15-ol **57** (fraction **EA** ; *E. maritimum*).*

La fraction **EA** est obtenue par fractionnement de la fraction **EO1red**.

Fraction **EA** (**57** : 93,1 %) : 0,247 g ; pyridium chlorochromate : 0,236 g. Après purification sur gel de silice, on obtient 0,123 g de fraction **EAox** (4βH-muurol-9-ène-15-al **55** : 84,1 %) : (rendement : 52 %).

- *Oxydation du 4βH-cadin-9-ène-15-ol **58** (fraction **EB** ; *E. maritimum*).*

La fraction **EB** obtenue par fractionnement de la fraction **EO1red**.

Fraction **EB** (**58** : 97,1 %) : 0,42 g ; pyridium chlorochromate : 0,390 g. Après purification sur gel de silice, on obtient 0,018g de fraction **EBox** (4βH-cadin-9-ène-15-al **56** : 93,8 %) : (rendement : 43 %).

## CHROMATOGRAPHIE SUR COLONNE OUVERTE

La silice est activée pendant 24 h dans une étuve à 80°C.

- **Chromatographie « flash »**

Type de chromatographie utilisé pour tous les fractionnements préliminaires visant à séparer les composés hydrocarbonés des composés oxygénés. Elle peut, selon les circonstances, séparer certaines classes de composés oxygénés (alcools et esters par exemple) de polarités éloignées.

Silice : ICN 200-500  $\mu\text{m}$ , masse de silice = 15 X masse de l'huile à séparer.

Eluant : gradient pentane/diéthoxyde adapté selon les cas.

- **Chromatographie « fine »**

Type de chromatographie utilisé pour tous les fractionnements visant à séparer les différentes familles de composés oxygénés.

Silice : ICN 63-200  $\mu\text{m}$ , masse de silice = 50 X masse de la fraction à séparer.

Eluant : gradient pentane/diéthoxyde adapté selon les cas.

- **Chromatographie « fine » avec imbibition de nitrate d'argent**

Type de chromatographie utilisé pour tous les fractionnements visant à séparer les composés en fonction de leur capacité à faire des chélation avec les ions métalliques, capacité souvent associée au nombre de double liaison. Elle est souvent utilisée pour la séparation des différents types de composés hydrocarbonés.

Mélange : Silice ICN 63-200  $\mu\text{m}$  85 % +  $\text{AgNO}_3$  15 % = 50 X masse de la fraction à séparer.

Eluant : pentane

## ETUDES STATISTIQUES

Les études statistiques ont été menées avec XLSTAT Version 2009.4.06. Les ACP ont été réalisées avec des matrices de type Pearson (ref). Les CHA et dendrogrammes ont été réalisés avec des matrices de dissimilarités calculées en distance euclidienne et la méthode d'agrégation choisie systématiquement est le lien moyen. Les composés dont le pourcentage relatif était au moins égal à 2 % dans l'un des échantillons étudiés ont été inclus dans les matrices de CHA et ACP.

## ACTIVITES BIOLOGIQUES

Les huiles ont été testées sur 8 bactéries, trois grams plus : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes* et 5 grams moins : *Echerichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Enterococcus faecalis* et *Klebsiella pneumoniae*, ainsi que sur une levure : *Candida albicans* (Ca 444). Toutes les bactéries proviennent de cathéters et sondes vésiculaires du service chirurgical du CHU de Tlemcen. L'identification des bactéries a été effectuée avec des bandes test APU 20 (Biomerieux). Le champignon provient de l'institut Pasteur d'Algérie (IPA). Toutes les souches ont été cultivées sur gélose Mueller-Hinton (MHA) pour les bactéries et Saboureaud Dextrose Agar (SDA) au moyen du chloramphénicol pour la levure.

- **Diamètre d'inhibition**

La méthode du diamètre d'inhibition a été mise en œuvre avec la diffusion par le biais d'un disque de papier (Belaiche, 1979). L'agar contenant le milieu approprié a étéensemencé avec les inoculums contenant 10<sup>8</sup> CFU/mL. Les disques de papier (6 mm de diamètre) ont été imprégnés avec 3 µL d'huile et placés dans l'agar. Des disques témoins et des disques d'antibiotiques (Gentamicin 15µg Amphotericin B 100µg) ont également été disposés sur l'agar à titre de comparaison. Après incubation à 37°C ± 1°C pendant 18 à 24 h pour les bactéries et à 30°±1°C pendant 24 à 48 heures pour la levure, les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés avec un compas.

- **Concentration Minimale Inhibitrice (MIC)**

Les MICs ont été déterminées en utilisant la méthode de dilution sur agar (Benjilali et al., 2003). Les dilutions en cascade des huiles essentielles ont été effectuées via un agar Mueller Hinton. Un volume approprié a été ajouté à l'agar Mueller Hinton pour obtenir chaque dilution (v/v). Deux témoins ont été inclus dans ce test, chaque test d'activité possède un échantillon sans ajout et un avec ajout de Tween 80. Après incubation à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant 18 à 24 h pour les bactéries et à  $30^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48 h pour la levure, les MICs retenues sont celles correspondant à la plus basse concentration d'huile essentielle.



## REFERENCES

- 1- Meyer-Warnod B., Natural essential oils: extraction processes and applications to some major oils, *Perfumer & Flavorist*, 1984, **9**, 93-103.
- 2- Pharmacopée Européenne, Conseil de l'Europe, Maisonneuve S.A. Editions, Sainte Ruffine, 1996.
- 3- Clevenger J.F., Apparatus for volatile oil determination, Description of New Type, *American Perfumer & Essential Oil Review*, 1928, 467-503.
- 4- Kapetanovic S., Djugumovic S., Ramic R., Isolement de l'huile essentielle de rose par distillation sèche, *Parfums, Cosmétiques et Arômes*, 1984, **56**, 77-78.
- 5- Dugo G., Di Giacomo A., The genus *Citrus*, Taylor & Francis Publishing, London, 2002, 642 pages.
- 6- Mukhopadhyay M., Natural extracts using supercritical carbon dioxide, USA: CRC Press, 2000, 339 pages.
- 7- Ganzler K., Salgo A., Valko K., A novel sample preparation method for chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1986, **371**, 299-306.
- 8- Lane D., Jenkins S.W.D., Microwave extraction : a novel sample preparation method for chromatography. Polynuclear Aromatic Hydrocarbons, *Chemical Characterisation Carcinogenic 9th International Symposium*, 1986, 437-449.
- 9- Lucchesi M.E., Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes, Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, Thèse de doctorat, Université de la réunion, 2005.
- 10- Paré J.R.J., Sigouin M., Lapointe J., Extraction de produits naturels assistée par micro-ondes, *Brevet européen*, EP 398798, 1990.
- 11- Mengal P., Mompon B., Procédé et installation d'extraction sans solvant de produits naturels par micro-ondes, *Brevet Européen*, EP 698 076 B1, 1996.
- 12- Chemat F., Lucchesi M.E., Smadja J., Solvent-free microwave extraction of volatile natural substances, *Brevet Américain*, US 2004/0187340 A1, 2004.
- 13- Lucchesi M.E., Chemat F., Smadja J., An original solvent free microwave extraction of essential oil from spices, *Flavour and Fragrance Journal*, 2004, **19**, 134-138.
- 14- Mitra S., Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry, Wiley-Interscience, 2003, 488 pages.

- 15-** Cannac-Arteaga D., Contribution à l'amélioration de l'analyse de la fraction volatile de produits riches en eau par espace de tête dynamique couplé à la chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse, Thèse de troisième cycle, Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, 2001.
- 16-** Bianchi F., Careri M., Musci M., Volatile norisoprenoids as markers of botanical origin of Sardinian strawberry-tree (*Arbutus unedo* L.) honey: characterisation of aroma compounds by dynamic headspace extraction and gas chromatography-mass spectrometry, *Food Chemistry*, 2005, **89**, 527-532.
- 17-** Paolini J., Leandri C., Desjobert J-M., Barboni T., Costa J., Comparison of liquid-liquid extraction with headspace methods for the characterization of volatile fractions of commercial hydrolats from typically Mediterranean species, *Journal of Chromatography A*, 2008, **1193**, 37-49.
- 18-** Bicchi C., Cordero C., Liberto E., Sgorbini B., Rubiolo P., Headspace sampling of the volatile fraction of vegetable matrices, *Journal of Chromatography A*, 2008, **1184**, 220-233.
- 19-** Arthur C.L., Pawliszyn J., Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers, *Analytical Chemistry*, 1990, **62**, 2145-2146.
- 20-** Zhang Z., Pawliszyn J., Headspace solid-phase microextraction, *Analytical Chemistry*, 1993, **65**, 1843-1852.
- 21-** Pawliszyn J., Solid Phase Microextraction : Theory and Practice, Wiley Interscience, 1997, 209 pages.
- 22-** Stashenko E.E., Martinez J.R., Sampling volatile compounds from natural products with headspace/solid-phase micro-extraction, *Journal of Biochemistry and Biophysical Methods*, 2007, **70**, 235-242.
- 23-** Bicchi C., Cordero C., Liberto E., Rubiolo P., Reliability of fibres in solid-phase microextraction for routine analysis of the headspace of aromatic and medicinal plants, *Journal of Chromatography A*, 2007, **1152**, 138-149.
- 24-** Tholl D., Boland W., Hansel A., Loreto F., Röse U.S.R., Schnitzler J-P., Practical approaches to plant volatile analysis, *Plant Journal*, 2006, **45**, 540-560.
- 25-** Paolini J., Nasica E., Desjobert J-M., Muselli A., Bernardini A-F, Costa J., Analysis of volatile constituents isolated by hydrodistillation and headspace solid-phase microextraction from *Adenostyles briquetii* Gamisans, *Phytochemical Analysis*, 2008, **19**, 266-76.
- 26-** Paolini J., Falchi A., Quilichini Y., Desjobert J-M., De Cian M-C., Varesi L., Costa J., Morphological, chemical and genetic differentiation of two subspecies of *Cistus creticus* L. (*C. creticus* subsp. *eriocephalus* and *C. creticus* subsp. *corsicus*), *Phytochemistry*, 2009, **70**, 1146-1160.
- 27-** Muselli A., Pau M., Desjobert J-M., Foddai M., Usai M., Costa J., Volatile constituents of *Achillea ligustica* All. by HS-SPME/GC/GC-MS: comparison with essential oils obtained by hydrodistillation from Corsica and Sardinia, *Chromatographia*, 2009, **69**, 575-585

- 28- Bicchi C., Rubiolo P., Marshall H., Weyerstahl P., Laurent R., Constituents of *Artemisia roxburghiana* Besser Essential Oil, *Flavour and Fragrance Journal*, 1998, **13**, 40-46.
- 29- Weyerstahl P., Marschall H., Schroder M., Wahlburg H-C., Kaul V.K., The sesquiterpene fraction of the essential oil of *Artemisia laciniata* Willd, *Flavour and Fragrance Journal*, 1997, **12**, 315-325.
- 30- Weyerstahl P., Marschall H., Wahlburg H-C., Christiansen C., Rustaiyan A. Mirdjalili F., Constituents of essential oil of *Pulicaria gnaphalodes* (Vent.) Boiss. from Iran, *Flavour and Fragrance Journal*, 1999, **14**, 121-130.
- 31- Weyerstahl P., Schneider S., Marschall H., Rustaiyan A., The essential oil of *Artemisia sieberi* Bess., *Flavour and Fragrance Journal*, 1993, **8**, 139-145.
- 32- Weyerstahl P., Marschall H., Eckhardt A., Christiansen C., Constituents of commercial Brazilian lantana oil, *Flavour and Fragrance Journal*, 1999, **14**, 15-28.
- 33- Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P., Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Masson, Paris, 1995, 720 pages.
- 34- Ma tovská K.I., Lehotay S.J., Practical approaches to fast gas chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 2004, **1000**, 153-180.
- 35- Kováts E., Gas Chromatographic characterization of organic substances in the retention index system, *Advances in Chromatography*, 1965, **7**, 229-247.
- 36- Van Den Dool H., Kratz P.D., A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography, *Journal of Chromatography*, 1963, **11**, 463-471.
- 37- Joulain D., König W.A., The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons, Ed. E.B.-Verlag, Hambourg, 1998.
- 38- König W.A., Hochmuth D.H., Joulain D., Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils: *Library of Mass Finder*, Institute of Organic Chemistry, Hamburg, Germany, 2008.
- 39- Federation of European Chemical Societies, The identification of individual components in flavouring and flavoured foods, *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 1991, **192**, 530-534.
- 40- Joulain D., Modern methodologies applied to the analysis of essential oil and other complex natural mixture : use and abuse, *Perfumer & Flavorist*, 1994, **19**, 5-17.
- 41- Mondello L., Casilli A., Tranchida P.Q., Dugo G., Dugo P., Comprehensive two-dimensional gas chromatography in combination with rapid scanning quadrupole mass spectrometry in perfume analysis, *Journal of Chromatography A*, 2005, **1067**, 235-243.
- 42- Mondello L., Lewis A.C., Bartle K.D., *Multidimensional chromatography*, Wiley Intersciences, 2002, 436 pages.

- 43- Shellie R., Mondello L., Marriotta P., Dugo G., Characterisation of lavender essential oils by using gas chromatography–mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography, *Journal of Chromatography A*, 2002, **970**, 225–234.
- 44- Mateus E., Barata R.C., Zrostlíková J., Gomes da Silva M.D.R., Paiva M.R., Characterization of the volatile fraction emitted by *Pinus* spp. by one- and two-dimensional chromatographic techniques with mass spectrometric detection, *Journal of Chromatography A*, 2010, **1217**, 1845–1855.
- 45- Mondello L., Casilli A., Tranchida P.Q., Furukawa M., Komori K., Miseki K., Dugo P., Dugo G., Fast enantiomeric analysis of a complex essential oil with an innovative multidimensional gas chromatographic system, *Journal of Chromatography A*, 2006, **1105**, 11–16.
- 46- McLafferty F.W., Michnowicz J.A., State-of-the-art GC-MS, *Chemtechnology*, 1992, 182-189.
- 47- Longevialle P., Principes de la spectrométrie de masse des substances organiques, Masson, Paris, 1981, 208 pages.
- 48- Constantin E., Spectrométrie de masse, Lavoisier Tec & Doc, Paris, 1996, 279 pages.
- 49- De Hoffmann E., Charette J., Stroobant V., Spectrométrie de Masse, 2e édition, Librairie Dunod, Paris, 1999, 399 pages.
- 50- McLafferty F.W., Tureček F., Interpretation of mass spectra, Fourth edition, University Science Books, Sausalito, California, 1993, 371 pages.
- 51- Karasek F.W., Clement R.E., *Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Principles and Techniques*, Elsevier Science, 1991, 210 pages.
- 52- National Institute of Standards and Technology, *PC Version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library*, 2008.
- 53- Mc Lafferty F.W., Stauffer D.B., *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data* 8 th edition, Wiley-Interscience Publication.
- 54- Adams R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas chromatography/Mass Spectrometry, 4th edition, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL, 2007.
- 55- Masada Y., Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry Ed. John Wiley & Sons, New-York, 1976, 340 pages.
- 56- Coleman W.M., Gordon B.M., Lawrence B.M., Examinations of the matrix isolation fourier transform infrared spectra of organic compounds: part XII, *Applied Spectroscopy*, 1989, **43**, 298-304.
- 57- Schultze W., Lange G., Schmaus G., Isobutane and ammonia chemical ionization mass spectrometry of sesquiterpene hydrocarbons, *Flavour and Fragrance Journal*, 1992, **7**, 55-64.

- 58- Joulain D., Laurent R., Two closely related sesquiterpenols : 1-endobourbonanol and 1,6-germacradien-5-ol, *Journal of Essential Oil Research*, 1989, **1**, 197-200.
- 59- Munson B., Field F.H., Chemical ionization mass spectrometry. I. General introduction, *Journal of American Chemical Society*, 1966, **88**, 2621-2630.
- 60- Paolini J., Costa J., Bernardini A-F., Analysis of the essential oil from aerial parts of *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* (L.) by gas chromatography with electron impact and chemical ionization mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 2005, **1076**, 170-178.
- 61- Paolini J., Muselli A., Bernardini A-F., Bighelli A., Casanova J., Costa J., Thymol derivatives from essential oil of *Doronicum corsicum* L., *Flavour and Fragrance Journal*, 2007, **22**, 479-487.
- 62- Paolini J., Costa J., Bernardini A-F., Analysis of the essential oil from the roots of *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* (L.) by GC, GC-MS and <sup>13</sup>C-NMR, *Phytochemical Analysis*, 2007, **18**, 235-244.
- 63- Harrison A.G., Chemical ionization mass spectrometry, 2nd Ed, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1992, 208 pages.
- 64- Arpino P.J., L'ionisation chimique une façon de modéliser les réactions de chimie organique dans un spectromètre de masse, *L'actualité chimique*, 1982, **4**, 19-28.
- 65- Milne G.W.A., Lacey M., Modern ionization techniques in mass spectrometry, *Review Analytical Chemistry*, 1974, 45-104.
- 66- Richter W.J., Schwarz H., Chemical ionization : a mass spectrometry analytical procedure of rapidly increasing importance, *Angewandte Chemie International*, 1978, **17**, 424-439.
- 67- Smith A.L.C., Field F.H., Negative chemical ionization, *Journal of American Chemical Society*, 1977, **99**, 6471.
- 68- Budzikiewick H., Negative chemical ionization mass spectrometry, *Angewandte Chemie International*, 1981, **20**, 624.
- 69- Field F.H., Munson B., Becker D.A., Chemical ionization mass spectrometry, *Advance in Chemistry series*, 1966, **58**, 167-192.
- 70- Field F.H., Chemical ionization mass spectrometry. VIII. Alkènes and alkynes, *Journal of American Chemical Society*, 1968, **90**, 5649-5656.
- 71- Munson M.S.B., Field F.H., Chemical ionization mass spectrometry. V. Cycloparaffins, *Journal of American Chemical Society*, 1968, **89**, 4272.
- 72- Brevard H., Spectrométrie de masse et modes d'ionisations appliqués à l'étude de l'huile essentielle de *Ruscus acuelatus*, Thèse de doctorat, Université de Nice, 1985.

- 73- Sarris J., Etievant P.X., Le Querre J.L., Adda J., The chemical ionization mass spectra of alcohols, *Progress in Flavour Research* 1984, Ed. Elsevier, Amsterdam, 1985.
- 74- Vernin G., Metzger J., Etude des huiles essentielles par GC-SM-Banque SPECMA : Essences de Géranium, *Parfums, Cosmétiques, Arômes*, 1983, **52**, 51-61.
- 75- Hadjieva P., Sandra P., Stoinova-Ivanova B., Verzele M., Open tubular gas chromatography-mass spectral «electron impact and chemical ionization» - analysis of Bulgarian rose oil (*Rosa damascena* mill.), *Riv. Ital. EPPOS.*, 1980, **62**, 367-372.
- 76- Weiss M., Crombie R.A., Harrison A.G., Structure and fragmentation of  $[C_6H_{13}O]^+$  ions formed by chemical ionization, *Organic Mass Spectrometry*, 1987, **22**, 216-223.
- 77- Knight D.W., Knight M.E., Jones E., Games D.E., Mass spectral methods in structural studies of naturally-occurring volatiles, *Advance in Mass Spectrometry*, 1980, **8**, 1116-1126.
- 78- Lange G., Schulze W., Applications of isobutane and ammoniac chemical ionization for the analysis of volatile terpene alcohols and esters, *Flavour and Fragrance Journal*, 1987, **2**, 63-73.
- 79- Hendriks H., Bruins A.P., Study of three type of essential oil of *Valeriana officinalis* L. by combined gas chromatography-negative ion chemical ionization mass spectrometry, *Journal of Chromatography*, 1980, **190**, 321-330.
- 80- Hendriks H., Bruins A.P., A Tentative identification of components in the essential oil of *Cannabis sativa* L. by a combination of gas chromatography negative ion chemical ionization mass spectrometry and retention indices, *Biochemical Mass Spectrometry*, 1983, **10**, 377-381.
- 81- Bruins A.P., Bicchi C., Sandra P., Heidelberg S., Verlag H., Gas Chromatography-Mass Spectrometry of essential oils. Part II. Positive ion and negative ion chemical ionization techniques, *Capillary Gaz Chromatography in Essential Oils Analysis*, 1987, 329-356.
- 82- Vernin G., Lageot C., Couplage CG/SM pour l'analyse des arômes et des huiles essentielles, *Analysis*, 1992, **20**, 34-39.
- 83- Cambon A., La spectrométrie de masse multidimensionnelle et ses applications à l'analyse des mélanges complexes, *Science, Technique, Technologie*, 1989, **11**, 4-10.
- 84- Yost R.A., Enke C.G., Triple quadrupole mass spectrometry for direct mixture analysis and structure elucidation, *Analytic Chemistry*, 1979, **51**, 1251-1264.
- 85- Decouzon M., Géribaldi S., Rouillard M., Sturla J.M., A new look at the spectrometric properties of dihydrocarveol stereoisomers, *Flavour and Fragrance Journal*, 1990, **5**, 147-152.
- 86- Kubeczka K.H., Schultze W., Formáček V., Herres W., New developments in essential oils analysis by Fourier-Transform spectroscopy. Ed. Elsevier Science, 1988, 931-950.

- 87-** Coleman W.M., Gordon B.M., Lawrence B.M., Examinations of the matrix isolation Fourier transforms infrared spectra of organic compounds: part XII, *Applied Spectroscopy*, 1989, **43**, 298-304.
- 88-** Coleman III W.M., Gordon B.M., Gas chromatography-matrix isolation-Fourier transform-infrared spectrometry of natural products, *Journal of Chromatographic Sciences*, 1991, **29**, 371-376.
- 89-** Le Quéré J-L., Le couplage CPG/IRFT dans l'analyse des arômes, *Analysis*, 1992, **20**, 46-49.
- 90-** Morin P., Caude M., Richard H., Rosset R., Semipreparative separation of terpenoids from essential oils by high-performance liquid chromatography and their subsequent identification by gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography*, 1986, **363**, 57-69.
- 91-** Mondello L., Dugo P., Dugo G., Lewis A.C., Bartle K.D., High-performance liquid chromatography coupled on-line with high resolution gas chromatography. State of the art, *Journal of Chromatography A*, 1999, **842**, 373-390
- 92-** Careri M., Mangia A., Multidimensional detection methods for separations and their application in food analysis, *Trends Analytic Chemistry*, 1996, **15**, 538-550.
- 93-** Mondello L., Dugo G., Dugo P., Bartle K.D., On line HPLC-HRGC in the analytical chemistry of *Citrus* essential oils, *Perfumer & Flavorist*, 1996, **21**, 25-49.
- 94-** Korhammer S.A., Bernreuther A., Hyphenation of high-performance liquid chromatography (HPLC) and other chromatographic techniques (SFC, GPC, GC, CE) with nuclear magnetic resonance (NMR): A review, *Journal of Analytical Chemistry*, 1996, **354**, 131-135.
- 95-** Sidelmann U.G., Lenz E.M., Spraul M., Hofmann M., Troke J., Sanderson P.N., Lindon J.C., Wilson I.D., Nicholson J.K., 750 MHz HPLC-NMR spectroscopy studies on the separation and characterization of the positional isomers of the glucuronides of 6,11-dihydro-11-oxodiben[b,e]oxepin-2-acetic acid, *Analytical Chemistry*, 1996, **68**, 106-110.
- 96-** Spring O., Buschmann H., Vogler B., Schilling E.E., Spraul M., Hofmann M., Sesquiterpene lactone chemistry of *Zaluzania grayana* from on-line LC-NMR Measurement, *Phytochemistry*, 1995, **39**, 609-612.
- 97-** Formáček V., Kubeczka K.H., Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy, Ed. John Wiley & Sons, Chichester, 1982, 460 pages.
- 98-** Tomi F., Bradesi P., Bighelli A., Casanova J., Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy, *Journal of Magnetic Resonance Analysis*, 1995, **1**, 25-34.
- 99-** Bradesi P., Bighelli A., Tomi F., Casanova J., L'analyse des mélanges complexes par RMN du carbone-13 – Partie 1, *Canadian Journal of Applied Spectroscopy*, 1996, **41**, 15-24.
- 100-** Bradesi P., Bighelli A., Tomi F., Casanova J., L'analyse des mélanges complexes par RMN du carbone-13 – Partie 2, *Canadian Journal of Applied Spectroscopy*, 1996, **41**, 41-50.

- 101-** Muselli A., Contribution de la RMN du carbone-13 à l'analyse d'huiles essentielles de Corse et du Viêt-Nam, Thèse de doctorat, Université de Corse, 22 janvier 1999.
- 102-** Bradesi P., Apport de la RMN du carbone-13 à l'analyse des mélanges naturels dans le domaine de l'agroalimentaire : huiles essentielles et autres productions végétales, Thèse de doctorat, Université de Corse, 1995.
- 103-** Tomi F., Bighelli A., Casanova J., Carbon-13 chemical shift assignment of  $\beta$ -cedrene and some derivatives, *Spectroscopy Letters*, 1993, **26**, 1661-1671.
- 104-** Thanh L., Dũng N.X., Bighelli A., Casanova J., Leclercq P.A., Combination of capillary GC, GC/MS and  $^{13}\text{C}$ -NMR for the characterization of the rhizome oil of *Piper betle* L. (Piperaceae) from Vietnam, *Spectroscopy*, 1996/1997, **13**, 131-136.
- 105-** Baldovini N., Tomi F., Casanova J., Identification and quantitative determination of furanodiene, a heat-sensitive compound, in essential oil by  $^{13}\text{C}$ -NMR, *Phytochemical Analysis*, 2001, **12**, 58-63.
- 106-** Cozzani S., Muselli A., Desjobert J.M., Bernardini A.F., Tomi F., Casanova J., Chemical composition of essential oil of *Teucrium polium* subsp. *capitatum* (L.) from Corsica, *Flavour and Fragrance Journal*, 2005, **20**, 436-441.
- 107-** Corticchiato M., Tomi F., Bernardini A.F., Casanova J., Composition and intraspecific variability of essential oil from *Thymus herba barona* Lois., *Biochemical systematics and ecology*, 1998, **26**, 915-932.
- 108-** Mariotti J.P., Costa J., Bianchini A., Bernardini A.F., Casanova J., Composition of essential oil of *Stachys glutinosa* from Corsica (France), *Flavour and Fragrance Journal*, 1997, **12**, 205-209.
- 109-** Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Chessa M., Cerri R., Casanova J., Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica, *Flavour and Fragrance Journal*, 1997, **12**, 205-209.
- 110-** Bradesi P., Tomi F., Casanova J., Costa J., Bernardini A.F., Chemical composition of myrtle leaf essential oil from Corsica (France), *Journal of Essential Oil Research*, 1997, **9**, 283-288.
- 111-** Lota M.L., Les huiles essentielles d'agrumes : caractérisation par RMN du carbone-13, CPG-IK et CPG/SM, These de Doctorat, Université de Corse, 1999.
- 112-** Silverstein R.M., Bassler G.C., Morill T.C., Spectroscopic identification of organic compounds, 5th edition, John Wiley & Sons, New York, 1991, 520 pages.
- 113-** Derome A.E., Modern NMR techniques for chemistry research, Pergamon Press, Oxford, 1987, 295 pages.
- 114-** Günther H., 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, 1994, 557 pages.

- 115-** Freeman R., Molecular structure by two-dimensional NMR spectroscopy, *Journal Molecular Structure*, 1998, **173**, 17-30.
- 116-** Wüthrich K., Two-dimensional NMR spectroscopy: a powerful tool for the investigation of molecular structure and dynamics, *Chimia*, 1987, **41**, 323-340.
- 117-** *NIST WebBook*. Available at <http://webbook.nist.gov/chemistry/>, National Institute of Standards and Technology, 2011.
- 118-** Brereton R.G., Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant, Wiley Interscience, New York, 2003, 504 pages.
- 119-** Belaiche P., Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, *L'Aromatogramme*. Ed. Maloine, Paris, 1979.
- 120-** Benjilali B., Tantaoui-Elaraki E.A., Ismaili Alaoui N., Ayadi A., Méthode d'études des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé, *Planta Medica Phytotherapia*, 1986, **20**, 155–167.
- 121-** Coste H., Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse et des contrées limitrophes II, Librairie scientifique et technique Albert Blanchart, Paris, 1980, 627 pages.
- 122-** Gamisans J., Jeanmonod D., Compléments au prodrome de la flore corse : Asteraceae-II, Editions des Conservatoires et Jardins botaniques de la Ville de Genève, 1998, Genève, 340 pages.
- 123-** Zrira S., Menut C., Bessiere J.M., Benjilalii B., Chemical Composition of the Essential Oils of Moroccan *Ormenis mixta* (L.) Dumort. ssp. *Multicaulis*, *Journal of essential oil bearing plants*, 2007, **10**, 378-285.
- 124-** Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Fougrach H., Bourkhiss B., Bousta D., Talbi M., Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*, *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 2007, **146**, 85-89.
- 125-** Toulemonde B., Beauverd D., Contribution à l'étude d'une camomille sauvage du Maroc: L'huile essentielle d'*Ormenis mixta* L., 1er Colloque international sur les plantes aromatiques et médicinales du Maroc, Editeur: Centre National de Coordination et de Planification de la Recherche Scientifique et Technique, Rabat, 1984, 169-173.
- 126-** Abdel-Gaber A.M., Abd-El-Nabey B.A., Sidahmed I.M., El-Zayady A.M., Saadawy M., Inhibitive action of some plant extracts on the corrosion of steel in acidic media, *Corrosive Sciences*, 2006, **48**, 2765-2779.
- 127-** Engelmeier D., Hadacek F., Hofer O., Lutz-Kutschera G., Nagl M., Wurz G., Greger H., Antifungal 3-butylicoumarins from *Asteraceae-Anthemideae*, *Journal of Natural Products*, 2004, **67**, 19-25.
- 128-** De Pascual Teresa J., Caballero E., Caballero M.C., Anaya J., Gonzalez M.S., Four aliphatic esters of *Chamaemelum fuscatum* essential oil, *Phytochemistry*, 1983, **22**, 1757-1759.

- 129-** De Pascual Teresa J., Caballero E., Anaya J., Caballero C., Gonzalez M.S., Eudesmanolides from *Chamaemelum fuscatum*, *Phytochemistry*, 1986, **25**, 1365-1369.
- 130-** De Pascual Teresa J., Anaya J., Caballero E., Caballero C., Sesquiterpenes lactones and aliphatic ester from *Chamaemelum fuscatum*, *Phytochemistry*, 1988, **27**, 855-860.
- 131-** Bohlmann F., Kap-Herr W.V., Fanghänel L., Arndt C., Polyacetylenverbindungen, LXXVI. Über einige neue Inhaltsstoffe aus dem Tribus *Anthemideae*, *Chemische Berichte*, 1965, **98**, 1411-1415.
- 132-** Bohlmann F., Kleine K.H., Arndt C., Köhn S., Polyacetylenverbindungen, LXXVIII. Neue Inhaltsstoffe der Gattung *Anthemis* L., *Chemische Berichte*, 1965, **98**, 1616-1622.
- 133-** Bohlmann F., Zdero C., Polyacetylenverbindungen, 184. Die Inhaltsstoffe aus *Anthemis fuscata* Brot., *Chemische Berichte*, 1970, **103**, 2856-2859.
- 134-** Bohlmann F., Zdero C., Polyacetylenverbindungen, 197. Über zwei neue Phenylpolyine aus *Anthemis fuscata* Brot., *Chemische Berichte*, 1971, **104**, 1375-1378.
- 135-** Teixeira Da Silva J-A., Mining the essential oils of the *Anthemideae*, *African Journal of biotechnology*, 2004, **3**, 706-720.
- 136-** Fayet S., La camomille romaine (*Chamaemelum nobile* L.), Thèse de doctorat, Université de Clermont I, 2002, 107 pages.
- 137-** Uzel A., Guvesen A., Cetin E., Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Anthemis xylopoda* O.Schwarz from Turkey, *Journal of Ethnopharmacology*, 2004, **95**, 151-154.
- 138-** Grace M-H., Chemical composition and biological activity of the volatiles of *Anthemis melampodina* and *Pluchea dioscoridis*, *Phytotherapy Research*, 2002, **16**, 183-185.
- 139-** Bulatovic V-M., Menkovic N-R., Vajs V-E., Milosavljevic S-M., Djokovic D-D., Essential oil of *Anthemis carpatica*, *Journal of Essential Oil Research*, 1997, **9**, 397-400.
- 140-** Bulatovic V-M., Menkovic N-R., Vajs V-E., Milosavljevic S-M., Djokovic D-D., Essential oil of *Anthemis Montana*, *Journal of Essential Oil Research*, 1998, **10**, 223-226.
- 141-** Saroglou V., Dorizas N., Kypriotakis Z., Skaltsa H-D., Analysis of the essential oil composition of eight *Anthemis* species from Greece, *Journal of Chromatography A*, 2005, **1104**, 313-322.
- 142-** Holla M., Svajdenka E., Vaverkova S., Zibrunova B., Tekel J., Havranek E., Composition of the oil from flowerheads of *Anthemis tinctoria* L. cultivated in Slovak republic, *Journal of Essential Oil Research*, 2002, **12**, 714-716.
- 143-** Aghajani Z., Masoudi S., Rustaiyan A., Volative oils of *Anthemis talyshensis* A. Fedor and *Sclerorhachis platyrachis* (Boiss.) Podlech ex Rech.f from Iran, *Journal of Essential Oil Research*, 2005, **17**, 355-357.

- 144-**Tognolini M., Barocelli E., Ballabeni V., Bruni R., Bianchi A., Hiavarini M., Impicciatore M., Comparative screening of plant essential oils: Phenylpropanoid moiety as basic core for antiplatelet activity, *Life sciences*, 2005, **78**, 1429-1432.
- 145-**Javidnia K., Miri R., Kamalinejad M., Sarkarzadeh H., Jamalian A., Chemical composition of the essential oils of *Anthemis altissima* L. grown in Iran, *Flavour and Fragrance Journal*, 2004, **10**, 213-216.
- 146-**Rustaiyan A., Azar P-A., Moradalizadeh M., Masoudi S., Ameri N., Volatile constituents of three Compositae herbs: *Anthemis altissima* L. var. *Altissima*, *Conyza canadensis* (L.) Cronq. and *Grantina aicheri* Boiss. growing wild in Iran, *Journal of Essential Oil Research*, 2004, **16**, 579-581.
- 147-**Vujisic L., Vuckovic L., Tesevic V., Dokovic D., Tistic M.S., Janackovic P., Milosavljevic S., Comparative examination of the essential oils of *Anthemis ruthenica* and *A. arvensis* wild-growing in Serbia, *Flavour and Fragrance Journal*, 2006, **21**, 458-461.
- 148-**Teixeira Duarte M-C., Figueira G-M., Saetoratto A., Garcia Rehder V-L., Delarmelina C., Anti-*candida* activity of Brazilian medical plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 2005, **97**, 305-311.
- 149-**Stamasis G., Kyriazopoulos P., Golegou S., Basayiannis A., Skaltsas S., Skaltsa H., In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of Greek herbal medicines, *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, **88**, 175-179.
- 150-**Gilligan N-P., The palliation of nausea in hospice and palliative care patients with essential oils of *Pimpinella anisum* (aniseed), *Foeniculum vulgare* var. *Dulce* (sweet fennel), *Anthemis nobilis* (Roman chamomile) and *Mentha x piperita* (peppermint), *International Journal of Aromatherapy*, 2005, **15**, 163-167.
- 151-**Collu F., Bonsignore L., Casu M., Floris C., Gertsch J., Cottiglia F., New cytotoxic saturated and unsaturated cyclohexanones from *Anthemis maritima*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008, **18**, 1559-1562.
- 152-**Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A-A., Capasso F., Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs, *Life sciences*, 1999, **65**, 337-353.
- 153-**Williams C-A., Greenham J., Harborne J-B., The role of lipolitic and polar flavonoids in the classification of temperate members of the *Anthemideae*, *Biochemical Systematic and Ecology*, 2001, **29**, 923-945.
- 154-**Harborne J-B., Baxter H., Moss G-P., *Phytochemical Dictionary*, Taylor and Francis, 1999, London, 976 pages.
- 155-**Havsteen B-T., The biochemistry and medical significance of the flavonoids, *Pharmacology and therapeutics*, 2002, **96**, 67-202.
- 156-**Quarenghi M-V., Tereschuk M-L., Baigori B-D., Abdala L-R., Antimicrobial activity of flowers from *Anthemis cotula*, *Fitoterapia*, 2000, **71**, 710-712.

- 157-**Teisseire P.-J., Chimie des substances odorantes, Technique et Documentation Lavoisier, 1991, Paris, 480 pages.
- 158-**Staneva J.D., Todorova M.N., Evstatieva L.N., Sesquiterpene lactones as chemotaxonomic markers in genus *Anthemis*, *Phytochemistry*, 2008, **69**, 607-618.
- 159-**Neerman M.-F., Sesquiterpenes lactones: a diverse class of compounds found in essential oils possessing antibacterial and antifungal properties, *International Journal of Aromatherapy*, 2003, **13**, 114-120.
- 160-**Karioti A., Skaltsa H., Kaiser M., Tasdemir D., Trypanocidal, leishmanicidal and cytotoxic effects of anthecotulide-type linear sesquiterpene lactones from *Anthemis auriculata*, *Phytomedicine*, 2009, **16**, 783-787.
- 161-**Rama C.P.P., Sudhakar R.C., Raza S.H., Dutt C.B.S., Folklore medicinal plants of North Andaman Islands, India, *Fitoterapia*, 2008, **79**, 458-464.
- 162-**Küpelı E., Kartal M., Aslan S., Yesilada E., Comparative evaluation of the anti-inflammatory and antinociceptive activity of Turkish *Eryngium* species, *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, **107**, 32-37.
- 163-**Strzelecka M., Bzowska M., Koziel J., Szuba B., Dubiel O., Rivera Nunez D., Heinrich M., Bereta J., Anti-inflammatory effects of extracts from some traditional Mediterranean diet plants, *Journal of physiology and pharmacology*, 2005, **56**, 139-156.
- 164-**Yaniv Z., Dafni A., Friedman J., Palevitch D., Plants used for the treatment of diabetes in Israel, *Journal of Ethnopharmacology*, 1987, **19**, 145-151.
- 165-**Lisciani R., Fattorusso E., Surano V., Cozzolino S., Giannattasio M., Sorrentino L., Anti-inflammatory activity of *Eryngium maritimum* L. rhizome extracts in intact rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 1984, **12**, 263-270.
- 166-**Duffaud M. H., Vegetation of Atlantic coast dunes from the Adour to Noirmoutier, *Revue Forestiere Francaise*, 1998, **50**, 328-348.
- 167-**Kubeczka K.-H., Ayoub N., Grande M. Torres P., Composition of the essential oils from different parts of *Eryngium maritimum* L. (Apiaceae), *poster at the 29<sup>th</sup> ISEO Frankfurt*, 1998.
- 168-**Garcia M.D., Saenz M.T., Gomez M.A., Fernandez M.A., Topical anti-inflammatory activity of phytosterols isolated from *Eryngium foetidum* on chronic and acute inflammation models, *Phytotherapy Research*, 1999, **13**, 78-80.
- 169-**Cardozo M., Rubio M., Rojas L.B., Usubillaga A., Composition of the essential oil from the leaves of *Eryngium foetidum* L. from the Venezuelan Andes, *Journal of Essential Oil Research*, 2004, **16**, 33-34.
- 170-**Leclercq P.A., Dung N.X., Lo V.N., Toanh N.V., Composition of the essential oil of *Eryngium foetidum* L. from Vietnam, *Journal of Essential Oil Research*, 1992, **4**, 423-424.

- 171-**Wong K.C., Feng M.C., Sam T.W., Tan G.L., Composition of the leaf and roots oils of *Eryngium foetidum* L., *Journal of Essential Oil Research*, 1994, **6**, 369-374.
- 172-**Pino J.A., Rosado A., Fuentes V., Chemical composition of the leaf oil of *Eryngium foetidum* L. from Cuba, *Journal of Essential Oil Research*, 1997, **9**, 467-468.
- 173-**Martins A.P., Salgueiro L.R., Cunha A.P., Vila R., Canigueral S., Tomi F., Casanova J., Essential oil composition of *Eryngium foetidum* from S.Tomé e principe Boiss., *Journal of Essential Oil Research*, 2004, **15**, 93-95.
- 174-**Pino J.A., Rosado A., Fuentes V., Chemical composition of the seed oil of *Eryngium foetidum* L. from Cuba, *Journal of Essential Oil Research*, 1997, **9**, 123-124.
- 175-**Pala-Paul J., Brophy J.J., Pérez-Alonso M.J., Ursano J., Cristina S., Essential oil composition of the different parts of *Eryngium corniculatum* Lam. (Apiaceae) from Spain, *Journal of Chromatography A*, 2007, **1175**, 289-293.
- 176-**Brophy J.J., Goldsack R.J., Copeland L.M., Pala-Paul J., Essential oil of *Eryngium* L. species from New South Wales (Australia), *Journal of Essential Oil Research*, 2004, **15**, 392-397.
- 177-**Pala-Paul J., Pérez-Alonso M.J., Velasco-Negueruela A., Vadaré J., Villa A.M., Sanz J., Brophy J.J., Analysis of the essential oil composition from the different parts of *Eryngium glaciale* Boiss. from Spain, *Journal of Chromatography A*, 2005, **1094**, 179-182.
- 178-**Pala-Paul J., Pérez-Alonso M.J., Velasco-Negueruela A., Vadaré J., Villa A.M., Sanz J., Brophy J.J., Essential oil composition of the different parts of *Eryngium bourgatii* Gouan. from Spain, *Journal of Chromatography A*, 2005, **1074**, 235-239.
- 179-**Pala-Paul J., Brophy J.J., Goldsack R.J., Copeland L.M., Perez-Alonso M.J., Velasco-Negueruela A., Essential oil composition of the seasonal heterophyllous leaves of *Eryngium vesiculosum* from Australia, *Australian Journal of Botany*, 2003, **51**, 497-501.
- 180-**Pala-Paul J., Copeland L.M., Brophy J.J., Goldsack R.J., Essential oil composition of *Eryngium rosulatum* P.W. Michael ined.: A new undescribed species from eastern Australia, *Biochemical Systematic and Ecology*, 2006, **34**, 796-801.
- 181-**Ayoub N., Al-Azizi M., König W., Kubeczka K-H., Essential oils and a novel polyacetylene from *Eryngium yuccifolium* Michaux. (Apiaceae), *Flavour and Fragrance Journal*, 2006, **21**, 864-868.
- 182-**Flamini G., Tebano M., Cioni P.L., Composition of the essential oils from leafy parts of the shoots, flowers and fruits of *Eryngium amethystinum* from Amiata Mount (Tuscan, Italy), *Food Chemistry*, 2007, **107**, 671-67.
- 183-**Cobos M.I., Rodriguez J.L., De Petre A., Spahn E., Casermeiro J., Lopez A.G., Zygadlo J.A., Composition of the essential oil of *Eryngium paniculatum* Cav., *Journal of Essential Oil Research*, 2004, **14**, 82-83.
- 184-**Morteza-Semnani K., Essential oil composition of *Eryngium bungei* Boiss., *Journal of Essential Oil Research*, 2005, **17**, 485-486.

- 185-**Sefidkon F., Dabiri M., Alamshahi A., Chemical composition of the essential oil of *Eryngium billardieri* F. Delaroche from Iran, *Journal of Essential Oil Research*, 2004, **16**, 42-43.
- 186-**Assadian F., Masoudi S., Nematollahi F., Rustaiyan A., Larijani K., Mazloomifar H., Volatile constituents of *Xanthogalum purpurascens* Ave-Lall., *Eryngium caeruleum* M.B. and *Pimpinella aurea* DC. Three Umbelliferae Herbs growing in Iran, *Journal of Essential Oil Research*, 2005, **17**, 243-245.
- 187-**Abou-Jawdah Y., Sobh H., Salameh A., Antimycotic activities of selected plant flora, growing wild in Lebanon, against phytopathogenic fungi, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, **50**, 3208-3213.
- 188-**Hiller K., Friedrich E., Zur antimykotischen wirkung von Astringia-, *Eryngium*- und Saniculasaponinen, *Pharmazie*, 1974, **29**, 787.
- 189-**Jacker H.-J., Hiller K., Zur antiexsudativen wirksamkeit der saponine aus *Eryngium planum* L. und *Sanicula europaea* L., *Pharmazie*, 1976, **31**, 747.
- 190-**Bogucha-kocha A., Smolarz H.D., Kochi J., Apoptotic activities of ethanol extracts from some *Apiaceae* on human leukaemia cell lines, *Fitoterapia*, 2008, **79**, 487-497.
- 191-**Hiller K., Keipert M., Pferifer S., Neue estersapogenine aus *Eryngium planum* L., *Pharmazie*, 1968, **23**, 119.
- 192-**Kartal M., Mitaine-Offer A.-C., Abu-Asaker M., Miyamoto Y., Calis I., Wagner H., Lacaille-Dubois M.-A., Two new triterpene saponins from *Eryngium campestre*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 2005, **53**, 1318-1320.
- 193-**Ayes D.C., Dictionary of Natural Products, Volume 5, Chapman & hall Chemical Database, London, 1994, 1171 pages.
- 194-**Ayes D.C., Dictionary of Natural Products, Volume 2, Chapman & hall Chemical Database, London, 1994, 1171 pages.
- 195-**Le Claire E., Schwaiger S., Banaigs B., Stuppner H., Gafner F., Distribution of a new rosmarinic acid derivative in *Eryngium alpinum* L. and other *Apiaceae*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, **53**, 4367-4372.
- 196-**Ayes D.C., Dictionary of Natural Products, Volume 3, Chapman & hall Chemical Database, London, 1994, 1171 pages.
- 197-**Drake D., Lam J., Seleli acetylene from *Eryngium bourgatti*, *Phytochemistry*, 1972, **11**, 2651-2652.
- 198-**Lam J., Christensen L.P., Thomasen T., Acetylenes from roots of *Eryngium bourgatii*. *Phytochemistry*, 1992, **31**, 2881-2882.
- 199-**Erdelmeier C.A.J., Sticher O., A cyclohexenone and a cyclohexadienone glycoside from *Eryngium campestre*, *Phytochemistry*, 1986, **25**, 741-743.

- 200**-Ayoub N.A., Kubeczka K-H., Nawwar M.A.M., An unique n-propyl sesquiterpene from *Eryngium creticum* L. (Apiaceae), *Pharmazie*, 2003, **58**, 674-676.
- 201**-National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. (2008). *Spectral Database for Organic Compounds*. SDBS Web: <http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/>.
- 202**-Husnu can Baser K., Buchbauer B., Handbook of essential oils.CRC press, 2010, 975 pages.
- 203**-Darriet F., Desjobert J-M., Costa J., Muselli A., Identification of chrysanthenyl esters from the essential oil of *Anthemis maritima* L. investigated by GC/RI, GC-MS (EI and CI) and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy: chemical composition and variability, *Phytochemical analysis*, 2009, **20**, 279-292.
- 204**-Vernin G., Merdad L.O., Mass spectra and Kovats indices of some new *cis*-chrysanthenyl esters found in the essential oil of *Artemisia herba alba* from Algeria, *Journal of Essential Oil Research*, 1994, **6**, 437-448.
- 205**-Weyerstahl P., Marschall-Weyerstahl H., Schröder M., Kaul V.K., The monoterpene Region of the Essential Oil of *Artemisia laciniata*, *Journal of Essential Oil Research*, 1992, **4**, 107-112.
- 206**-Coxon J.M., Hydes G.J., Steel P.J., Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectra of pinane monoterpenoids, *Journal of Chemical Society Perkin Trans*, 1984, **2**, 1981-1984.
- 207**-Neszmelui A., Milne G.W.A., Podanyi B., Koszka I., Hethelyi E., Composition of the essential oil of clone 409 of *Tanacetum vulgare* and 2D NMR investigation of *trans*-chrysanthenyl acetate, *Journal of Essential Oil Research*, 1992, **4**, 243-250.
- 208**-Breitmaier E., Terpenes. Wiley-interscience, 2008, 214 pages.
- 209**-Javidnia K., Miri R., Soltani M., Khosravi A.R., Composition of the essential oil of *Tanacetum polycephalum* Schultz Bip. subsp. *farsicum* Podl. from Iran, *Journal of Essential Oil Research*, 2008, **20**, 209-211.
- 210**-Nano G.M., Bicchi C., Frattini C., Gallino M., Wild Piedmontese Plants II. A Rare Chemotype of *Tanacetum vulgare* L., Abundant in Piedmont (Italy), *Planta Medica*, 1979, **35**, 270-274.
- 211**-Basta A., Pavlović M., Couladis M., Tzakou O., Essential oil composition of the flowerheads of *Chrysanthemum coronarium* L. from Greece, *Flavour and Fragrance Journal*, 2007, **22**, 197-200.
- 212**-Whitesell J.K., Minton M.A., Stereochemical analysis of alicyclic compounds by C-13 NMR spectroscopy, Ed Chapman and Hall, London & New York, 1987, 231 pages.
- 213**-Filippi J.J., Lanfranchi D.A., Prado S., Baldovini N., Meierhenrich U.J. Composition, enantiomeric distribution and antibacterial activity of the essential oil of *Achillea ligustica* All. from Corsica, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, **54**, 6308-6313.

- 214**-Muselli A., Rossi P-G., Desjobert J-M., Bernardini A-F., Berti L., Costa J., Chemical composition and antibacterial activity of *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns & Link essential oils from Corsica, *Flavour and Fragrance Journal*, 2007, **22**, 217–222.
- 215**-Wood F.W., Topical antimicrobial agent, *United state patent*, N° 5,604,262, 1997.
- 216**-Picaud S., Olsson M.E., Brodelius M., Brodelius P.E., Cloning, expression, purification and characterization of recombinant (+)-germacrene D synthase from *Zingiber officinale*, *archives of biochemistry and biophysics*, 2006, **452**, 17-28.
- 217**-Duarte A.R., Santos S.C., Seraphin J.C., Ferri P.H., Environmental Influence on Phenols and Essential Oils of *Myrciaria cauliflora* Leaves, *Journal of Brazilian Chemical Society*, 2010, **21**, 1672-1680.

# ANNEXES

## 1-Spectres de CPG/SM-IC.

- *Chamaemelum mixtum*

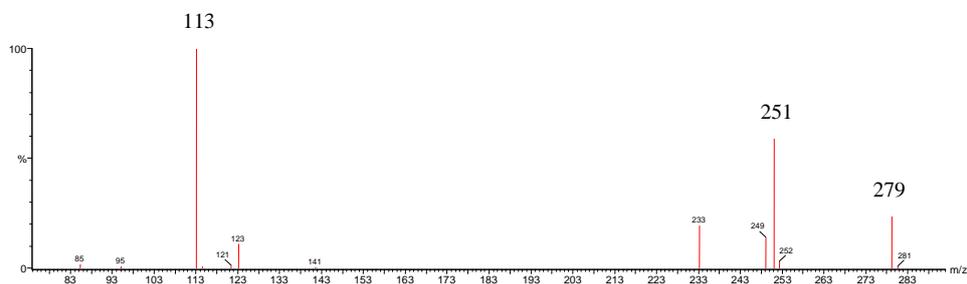


Figure A.1 : Spectre de masse en mode ICP-CH<sub>4</sub> du composé 76.

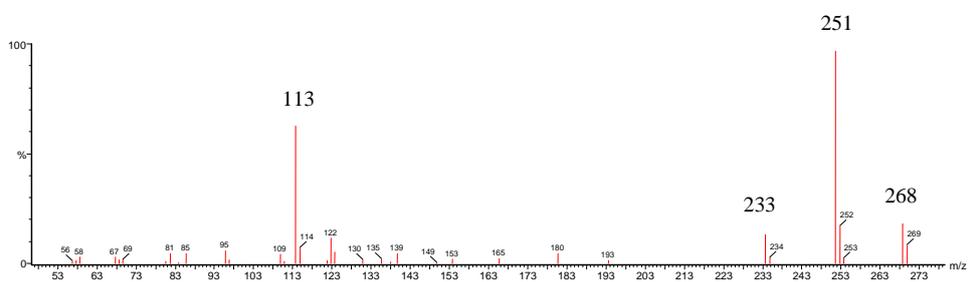


Figure A.2 : Spectre de masse en mode ICP-NH<sub>3</sub> du composé 76.

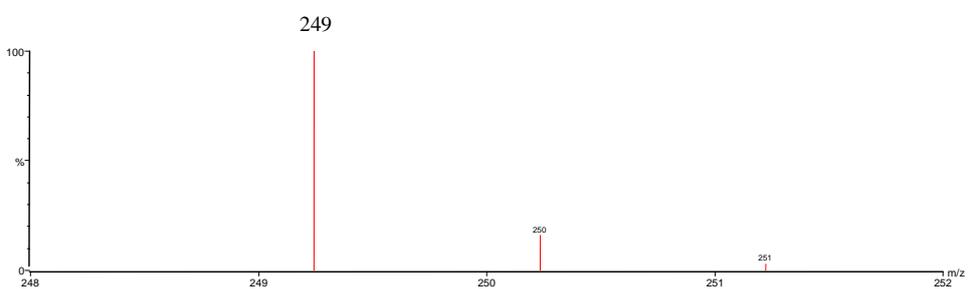
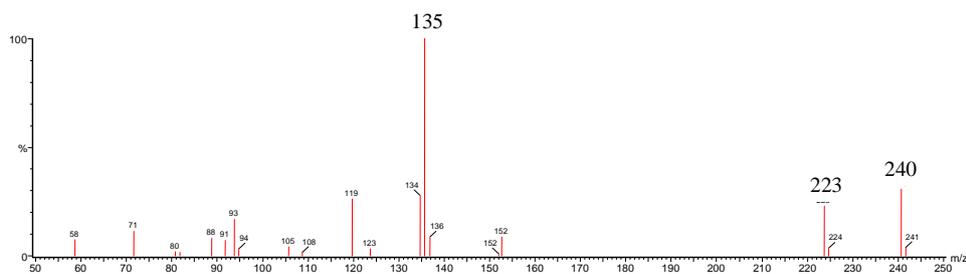
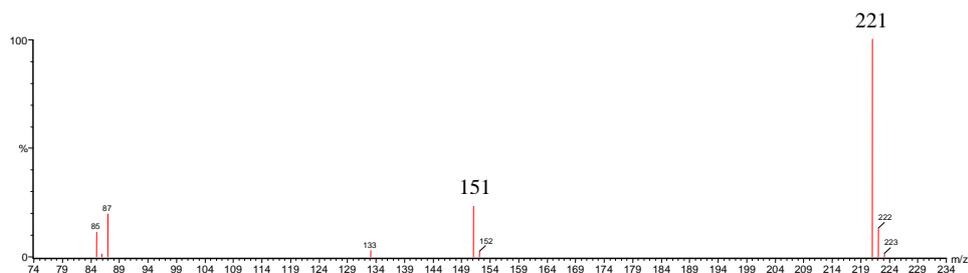


Figure A.3 : Spectre de masse en mode ICN-NH<sub>3</sub> du composé 76.

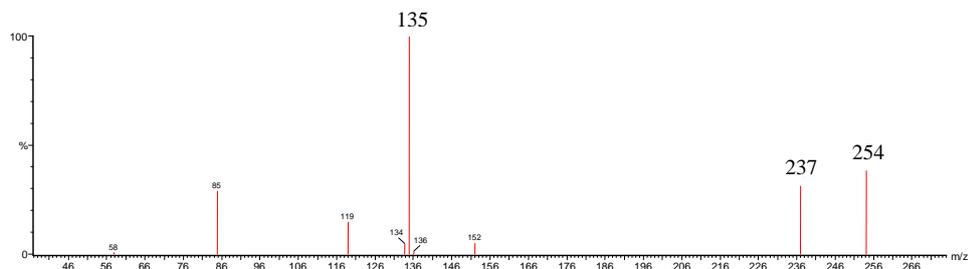
- *Anthemis maritima*



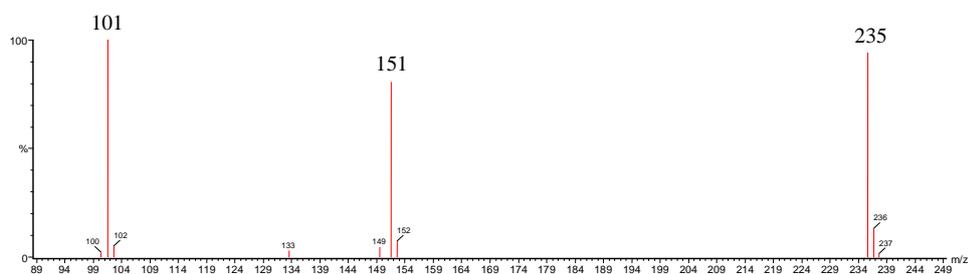
**Figure A.4 :** Spectre de masse en mode ICP-NH<sub>3</sub> des composés 61, 68, 72 et 78.



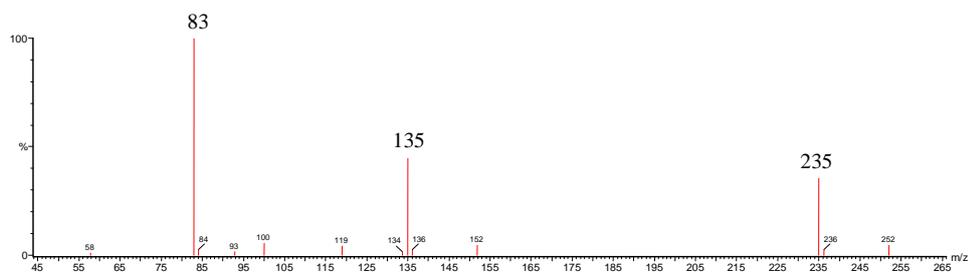
**Figure A.5 :** Spectre de masse en mode ICN-NH<sub>3</sub> des composés 61, 68, 72 et 78.



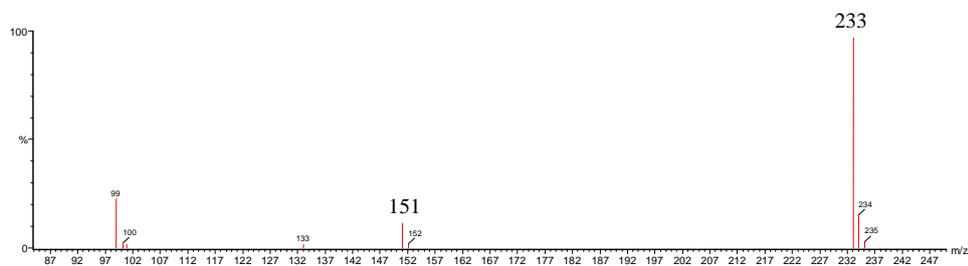
**Figure A.6 :** Spectre de masse en mode ICP-NH<sub>3</sub> des composés 81, 82, 88, 89, 93 et 101.



**Figure A.7 :** Spectre de masse en mode ICP-NH<sub>3</sub> des composés 81, 82, 88, 89, 93 et 101.

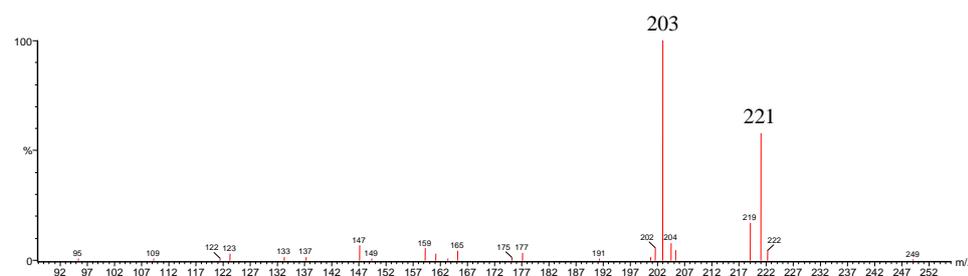


**Figure A.8** : Spectre de masse en mode ICP-NH<sub>3</sub> des composés **102** et **109**.

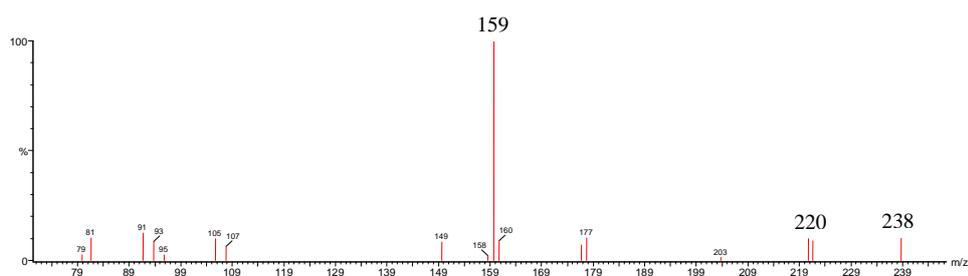


**Figure A.9** : Spectre de masse en mode ICN-NH<sub>3</sub> des composés **102** et **109**.

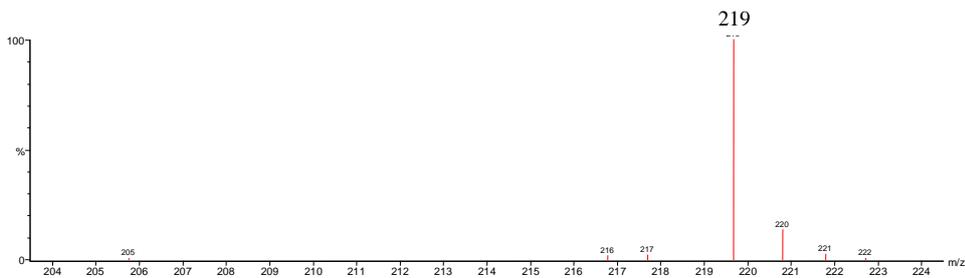
- *Eryngium maritimum*



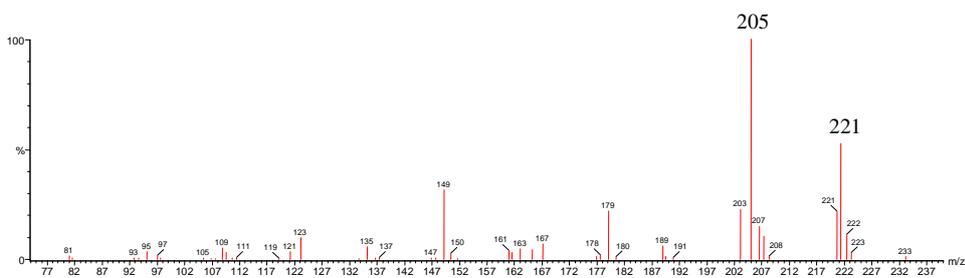
**Figure A.10** : Spectre de masse en mode ICP-CH<sub>4</sub> des composés **55** et **56**.



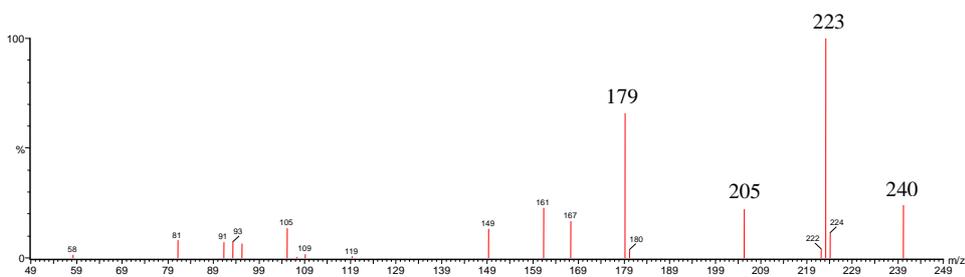
**Figure A.11** : Spectre de masse en mode ICP-NH<sub>3</sub> des composés **55** et **56**.



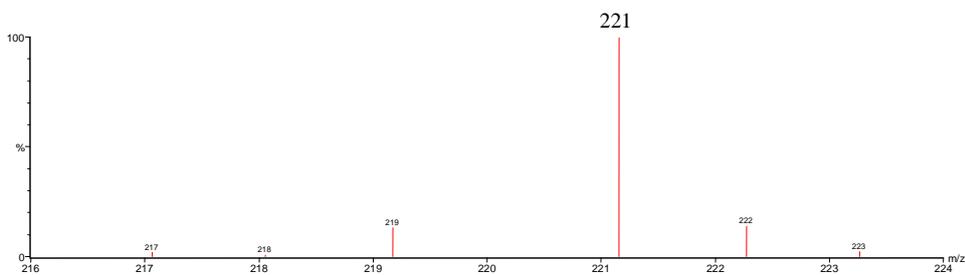
**Figure A.12** : Spectre de masse en mode ICN-NH<sub>3</sub> des composés **55** et **56**.



**Figure A.13** : Spectre de masse en mode ICP-CH<sub>4</sub> des composés **57** et **58**.



**Figure A.14** : Spectre de masse en mode ICP-NH<sub>3</sub> des composés **57** et **58**.



**Figure A.15** : Spectre de masse en mode ICN-NH<sub>3</sub> des composés **57** et **58**.



- *Eryngium maritimum*

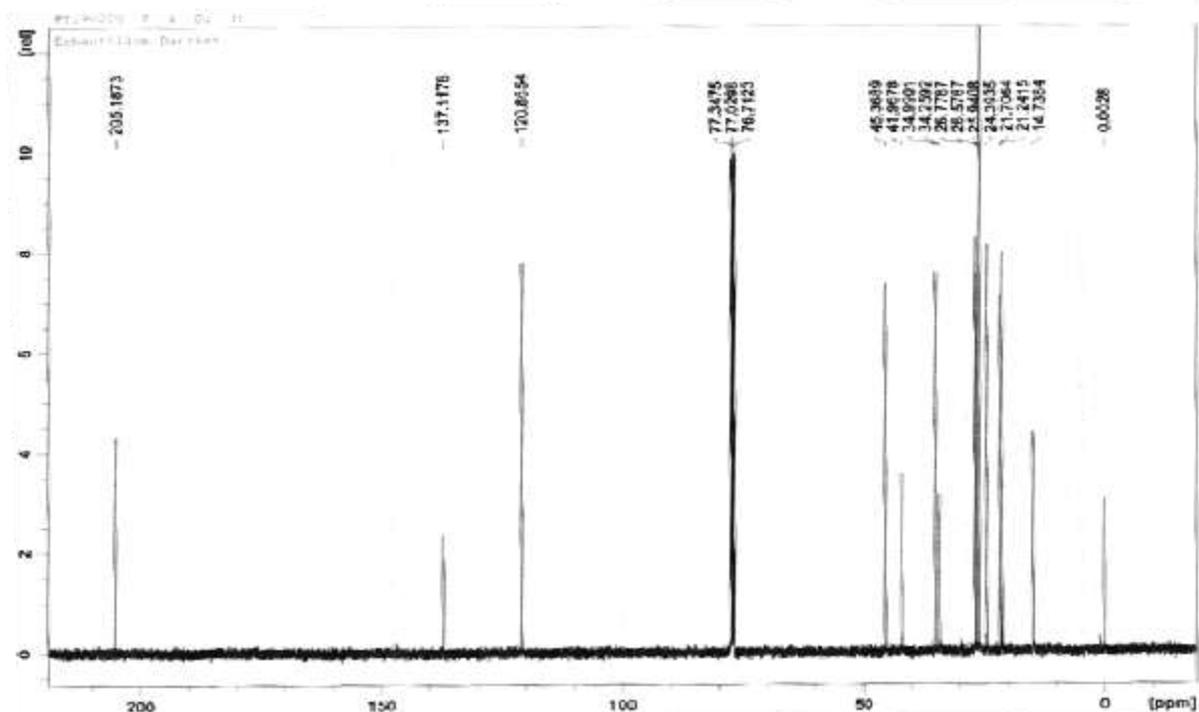


Figure A.18 : Spectre RMN du carbone-13 du composé 56.

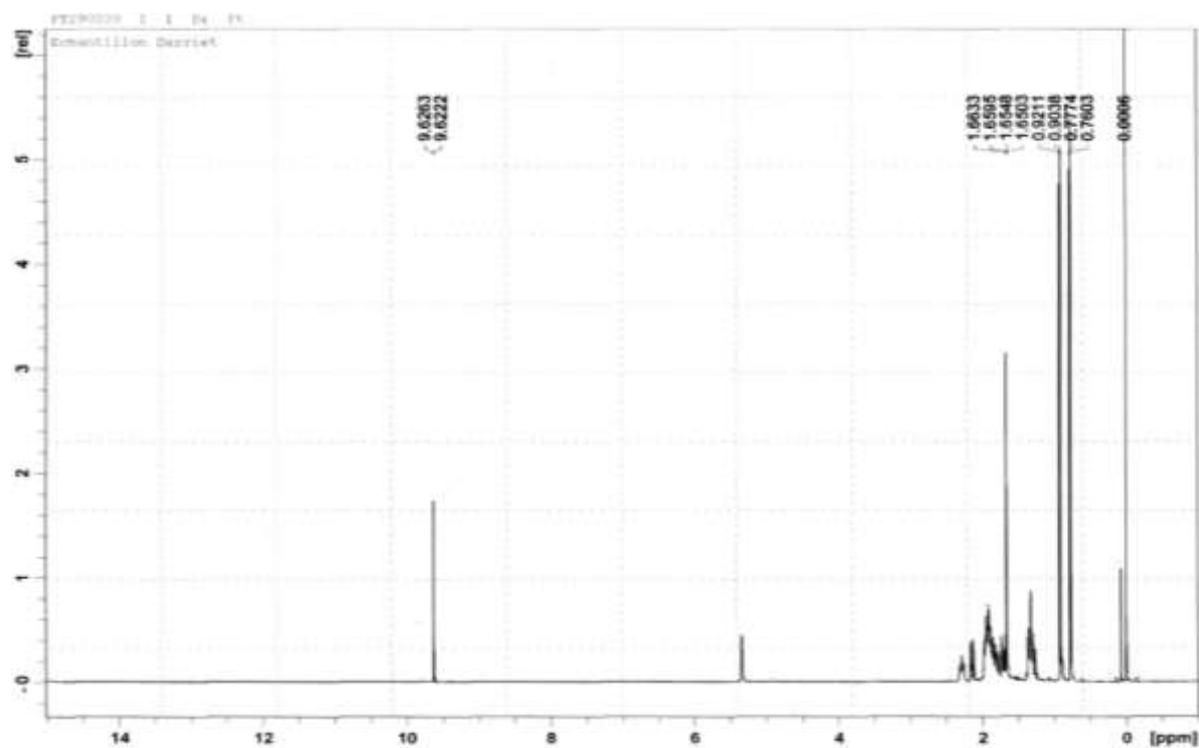


Figure A.19 : Spectre RMN du proton du composé 56.

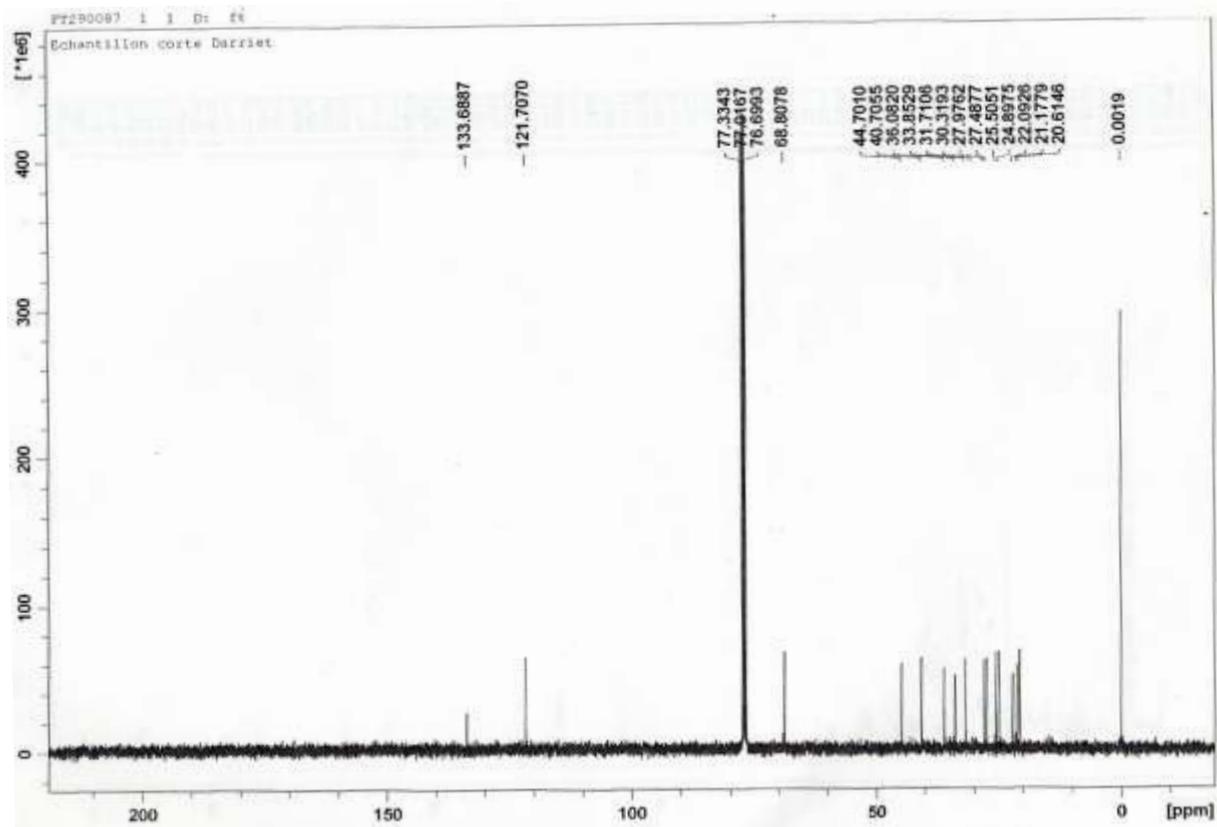


Figure A.20 : Spectre RMN du carbone-13 du composé 57.

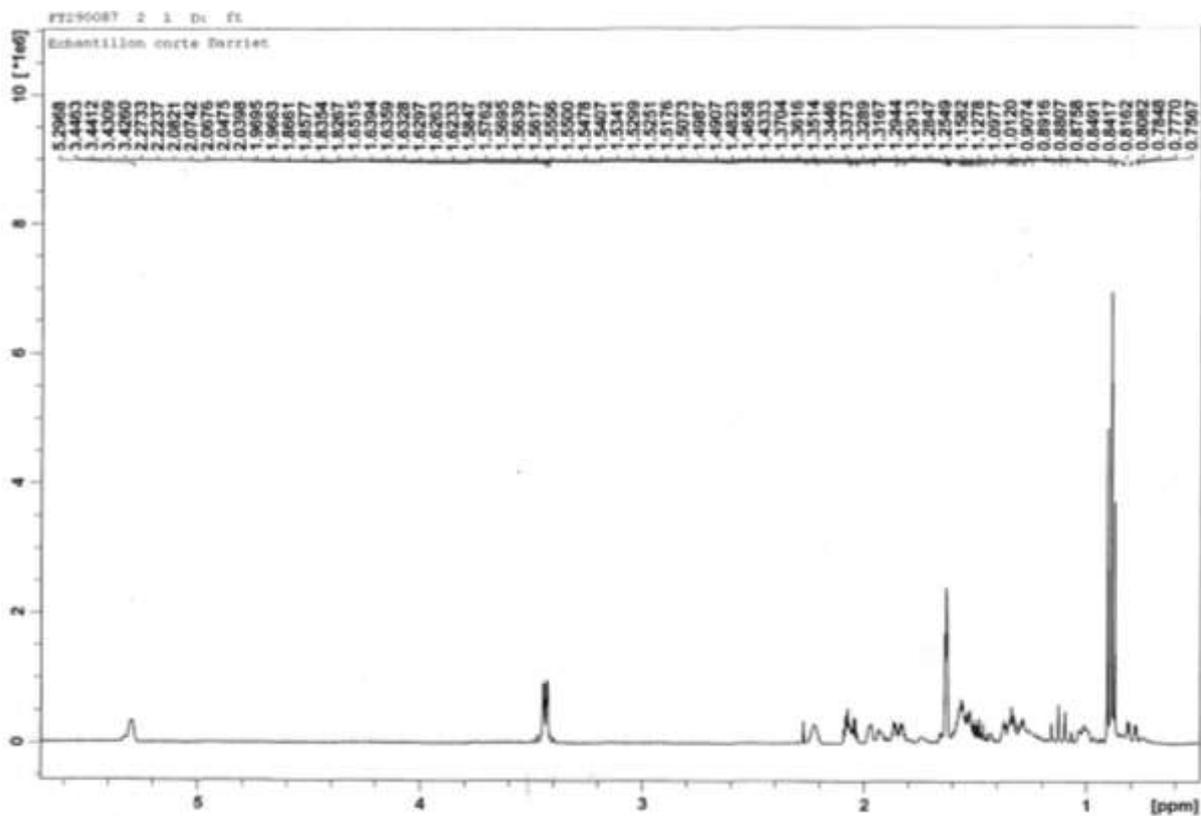


Figure A.21 : Spectre RMN du proton du composé 57.

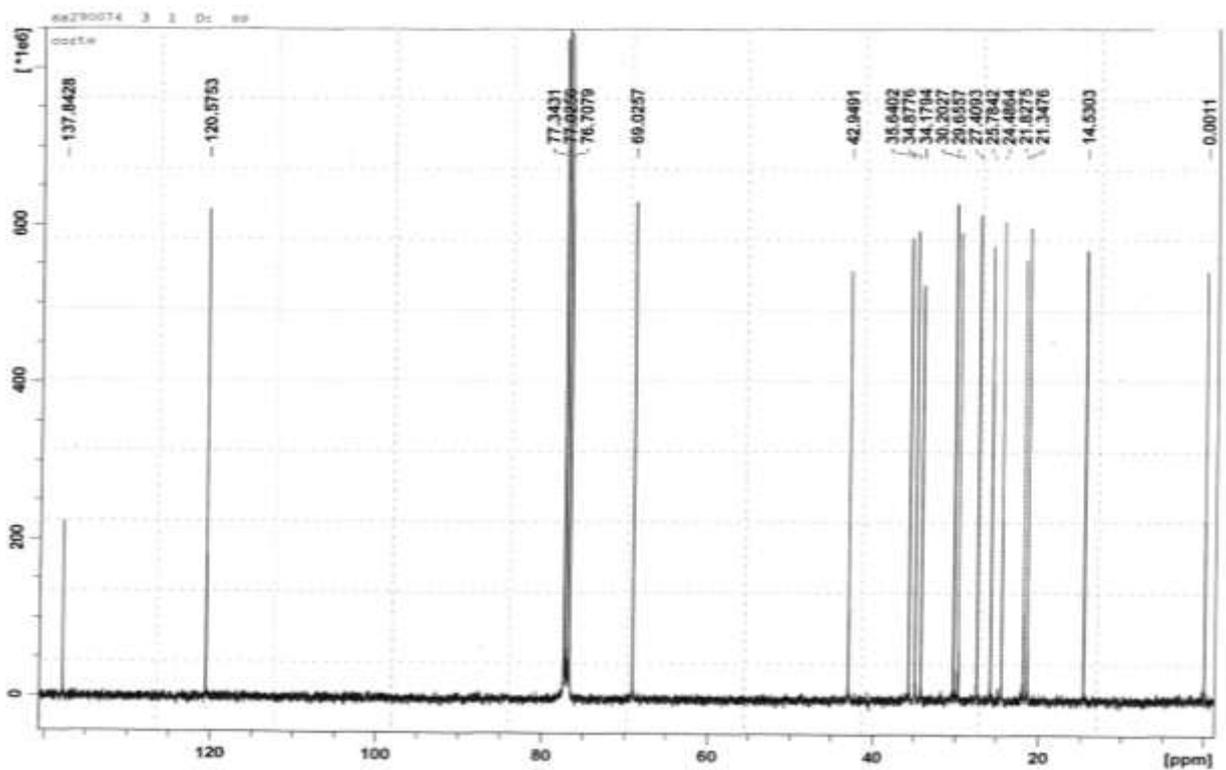


Figure A.22 : Spectre RMN du carbone-13 du composé 58.

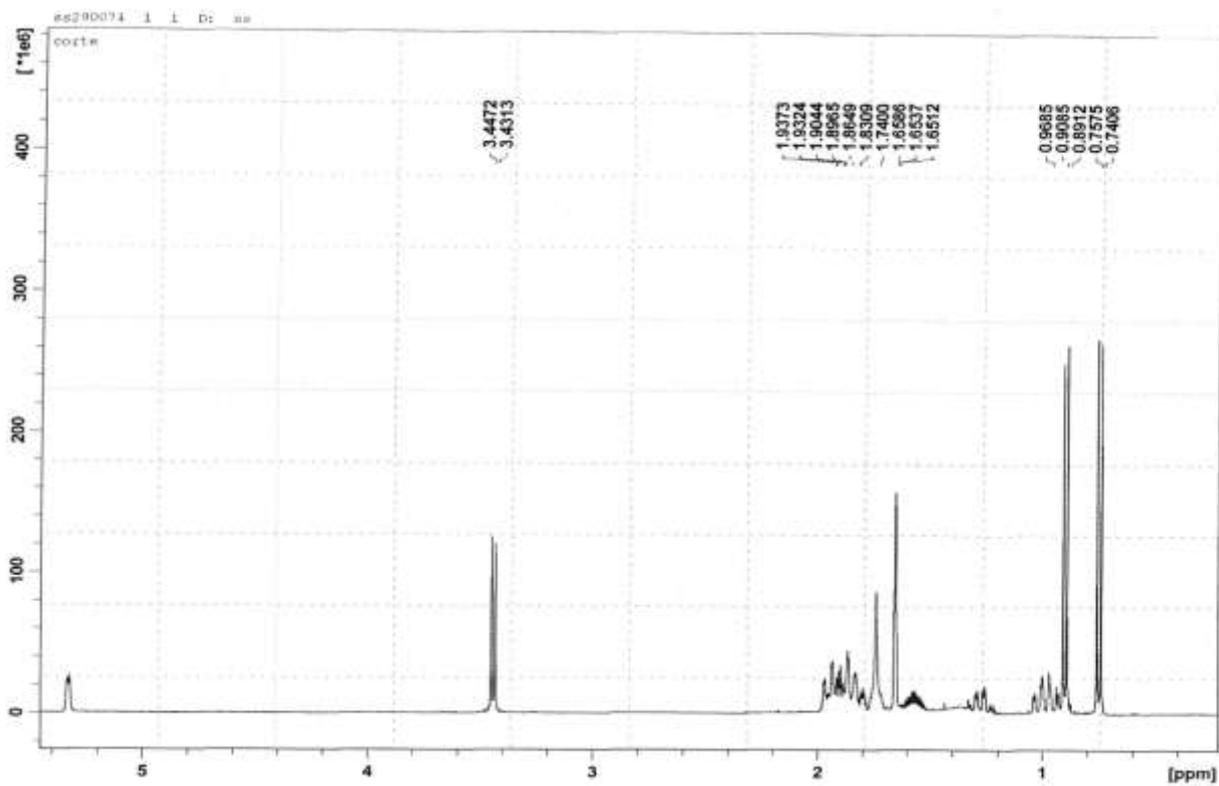


Figure A.23 : Spectre RMN du proton du composé 58.

### 3-Fractionnement sur colonne de la fraction EH d'*Eryngium maritimum*.

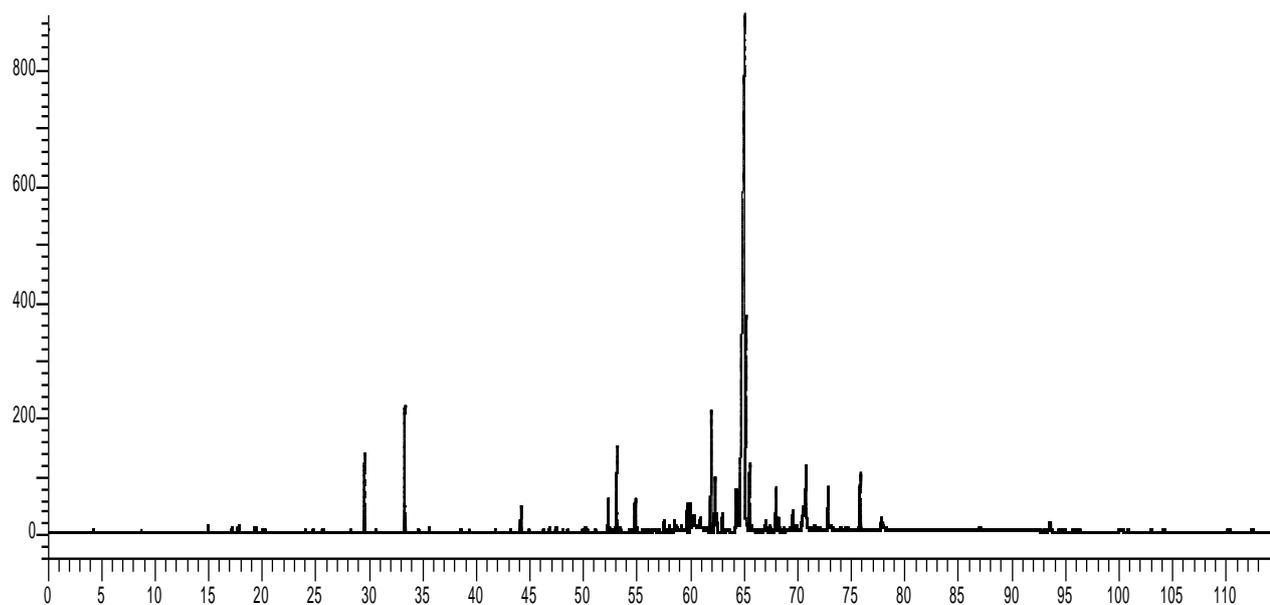
N°	Composés	Irl	Ira	Irp	EH (3000 mg)	EH1 (140 mg)	EH2 (110 mg)	EH3 (220 mg)	EH4 (330 mg)	EH5 (340 mg)	EH6 (270 mg)	EH7 (220 mg)	EH8 (140 mg)	EH9 (100 mg)	EH10 (120 mg)	EH11 (60 mg)	EH12 (50 mg)			
1	$\alpha$ -Pinène	936	930	994	0,6	5,3	2,1	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
5	Myrcène	987	983	1130	0,4	-	-	1,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
6	1,2,3 triméthylbenzène	1011'	1006	1294	t	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-		
7	Limonène	1025	1019	1166	0,1	-	-	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-	-	-		
16	$\alpha$ -Cubébène	1355	1346	1452	0,2	2,2	2,4	0,6	0,2	0,1	0,1	-	-	-	-	-	-	-		
18	$\alpha$ -Copaène	1371'	1373	1447	2,5	28,5	15,6	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
19	$\alpha$ -Ylangène	1372'	1374	1476	0,1	2,9	0,4	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
20	$\beta$ -Bourbonène	1374'	1375	1474	1,5	12,0	6,7	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
21	$\beta$ -Elémène	1384	1385	1555	0,9	-	-	-	1,5	2,1	2,3	2,3	1,9	2,3	1,5	1,6	0,7	-		
22	$\beta$ -Patchoulène	1388	1394	1475	0,1	1,0	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
23	$\beta$ -Gurjunène	1404	1405	1591	t	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-		
24	$\alpha$ -Gurjunène	1413	1411	1524	0,2	1,0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	-	0,1	0,1	0,1	0,1	-	-		
25	<i>cis</i> - $\alpha$ -Bergamotène	1414'	1416	1480	4,3	-	-	7,1	8	6,2	5,7	4,0	3,9	2,1	2,4	1,3	0,8	-		
26	$\beta$ -Ylangène	1420	1420	1562	2,1	7,1	3,6	2,1	0,8	0,3	0,2	0,3	0,6	0,1	-	-	-	-		
27	$\alpha$ -Sesquiphellandrène	1428'	1430	1765	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
28	$\beta$ -Copaène	1430	1431	1581	2,5	11,1	5,4	1,3	1,6	1,8	2,1	2	0,8	0,5	0,8	0,7	-	-		
29	<i>trans</i> - $\alpha$ -Bergamotène	1434'	1435	1580	t	0,5	0,6	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
30	Aromadendrène	1443	1440	1611	1,1	6	7,5	1,6	0,3	0,2	0,3	0,4	0,5	0,8	0,9	1,0	-	-		
31	$\alpha$ -Humulène	1455	1449	1665	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,9	1,3	13,8	-		
32	$\gamma$ -Muuroène	1473	1468	1681	2,6	2,8	19,5	17,5	11,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
33	$\alpha$ -Curcumène	1474	1471	1682	t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,6		
34	Germacrène D	1479	1478	1659	47,7	-	0,9	14,5	34,8	65,7	66,7	67,5	68,5	74,3	75,7	75,0	32,5	-		
35	$\beta$ -Sélinène	1486	1483	1712	0,4	-	0,8	1,8	1,4	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-		
37	Bicyclogermacrène	1494	1491	1979	1,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22,4		
38	$\alpha$ -Muuroène	1496	1494	1719	2,6	-	5,3	6,2	4	2,4	1,7	2,8	1,6	1,1	1,4	0,9	-	-		
39	$\beta$ -Bisabolène	1503	1498	1720	1,7	-	-	1,2	0,2	0,7	0,5	0,1	0,5	0,3	0,3	0,3	-	-		
40	$\gamma$ -Cadinène	1507	1505	1720	3,2	-	1,7	7,8	8,7	6	3,5	2,6	2,4	2,1	1,2	1,4	0,6	-		
42	$\delta$ -Cadinène	1520	1513	1700	13,4	-	11,6	25,9	17,6	12	6,5	5,1	4,4	2,1	2,8	2,8	2,5	-		
43	cadina-1,4-diène	1523	1526	1763	0,5	-	0,7	1,2	0,4	0,3	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	-	-		
47	Oxyde de caryophyllène	1578	1570	1950	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10,2	7,5	-		
50	Oxyde d'aromadendrène	1623	1618	2002	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13,2	4,2	-		
total identifié					94,6	80,4	85,5	92,6	91	98,7	90	87,5	86	86	89,1	96,7	87,6	-		
monoterpènes hydrocarbonés					1,1	5,3	2,1	1,8	0,2	0,1	0,1	0,1	0,6	0,1	-	-	-	-	-	
sesquiterpènes hydrocarbonés					91,2	75,1	83,4	90,8	90,8	98,6	89,9	87,4	85,4	85,9	89,1	86,5	75,9	-	-	
oxydes sesquiterpéniques					2,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10,2	11,7	-	-	
autres composés hydrogénés					92,3	80,4	85,5	92,6	91	98,7	90	87,5	86	86	89,1	86,5	75,9	-	-	-

Irl=Indices de rétention littérature issu de la bibliothèque Joulain Ira=Indices de rétention apolaire ; Irp=Indices de rétention polaire ; L'ordre d'éluion est donné sur colonne apolaire. La teneur d'un composé est exprimée en pourcentage relatif de la fraction correspondante. Les composés ont été identifiés à partir de la bibliothèque « Arômes » du laboratoire.

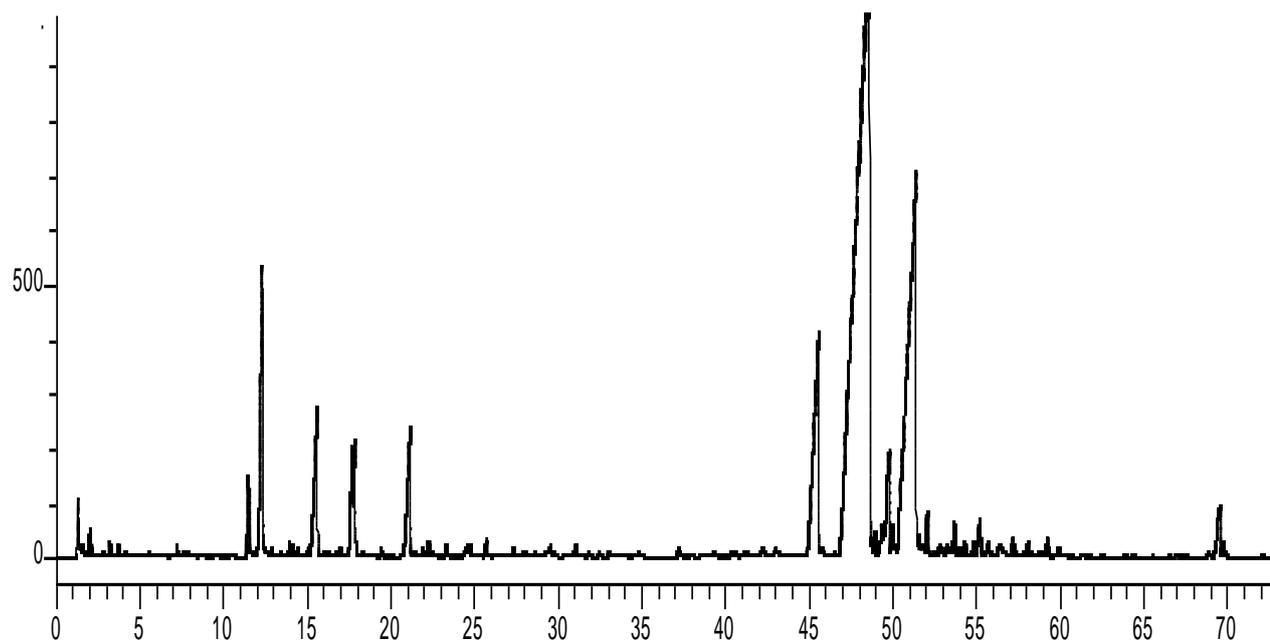
**Tableau A.1 :** Compositions chimiques des fractions issues de la fraction EH (*E. maritimum*).

#### 4-Chromatogrammes obtenus par CPG-DIF.

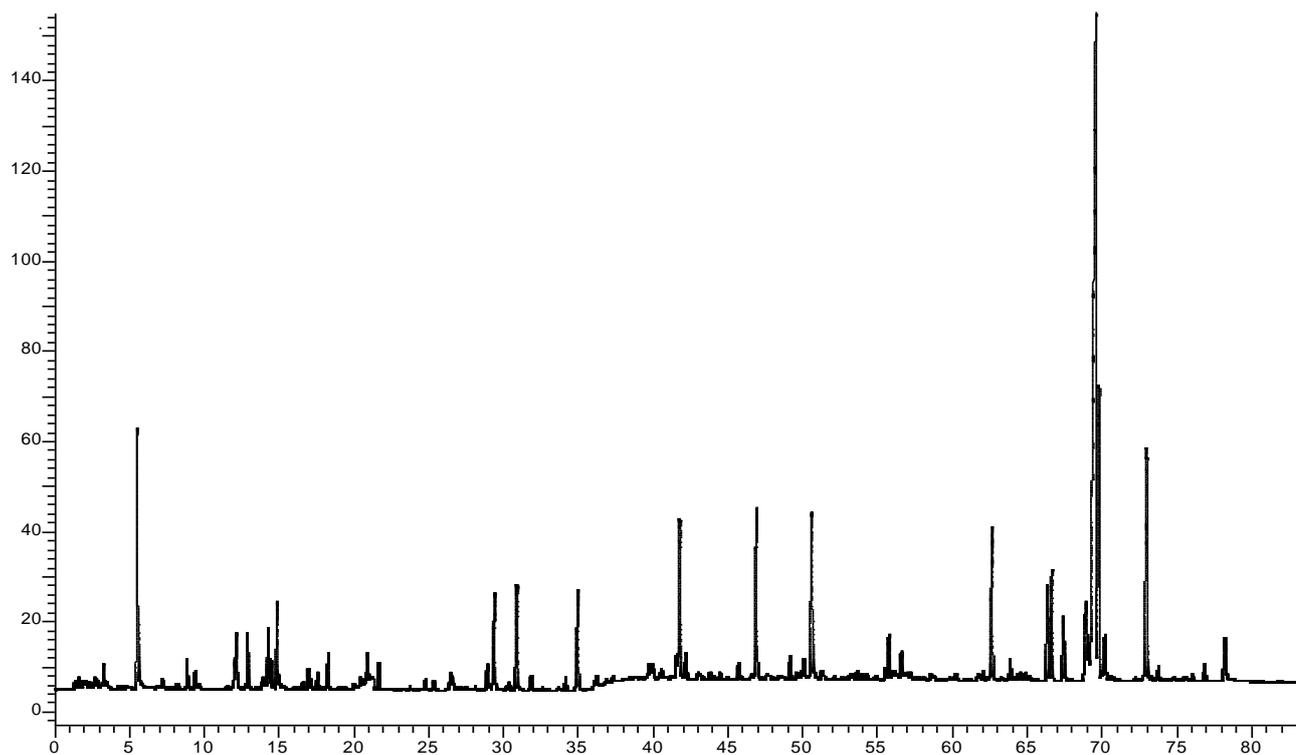
- *Chamaemelum mixtum*



**Figure A.24 :** Chromatogramme de l'huile essentielle de racines de *C. mixtum*.

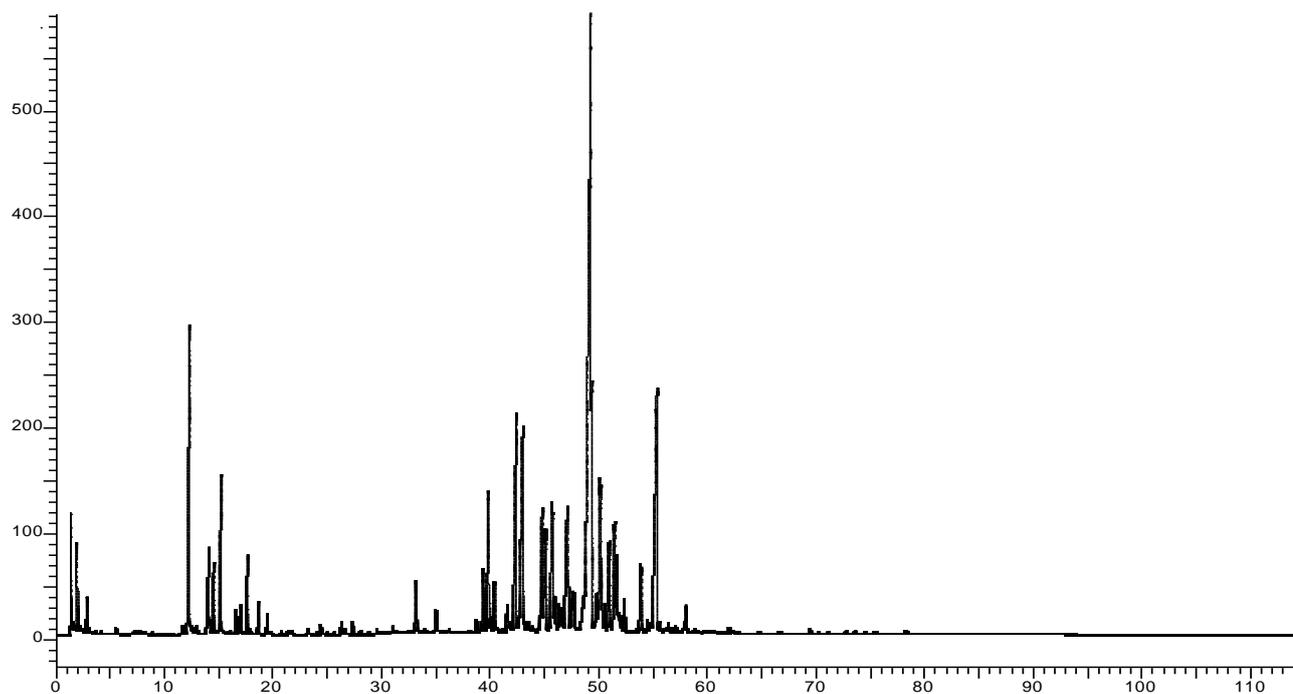


**Figure A.25 :** Chromatogramme de la fraction volatile captée par MEPS des parties aériennes de *C. mixtum*.

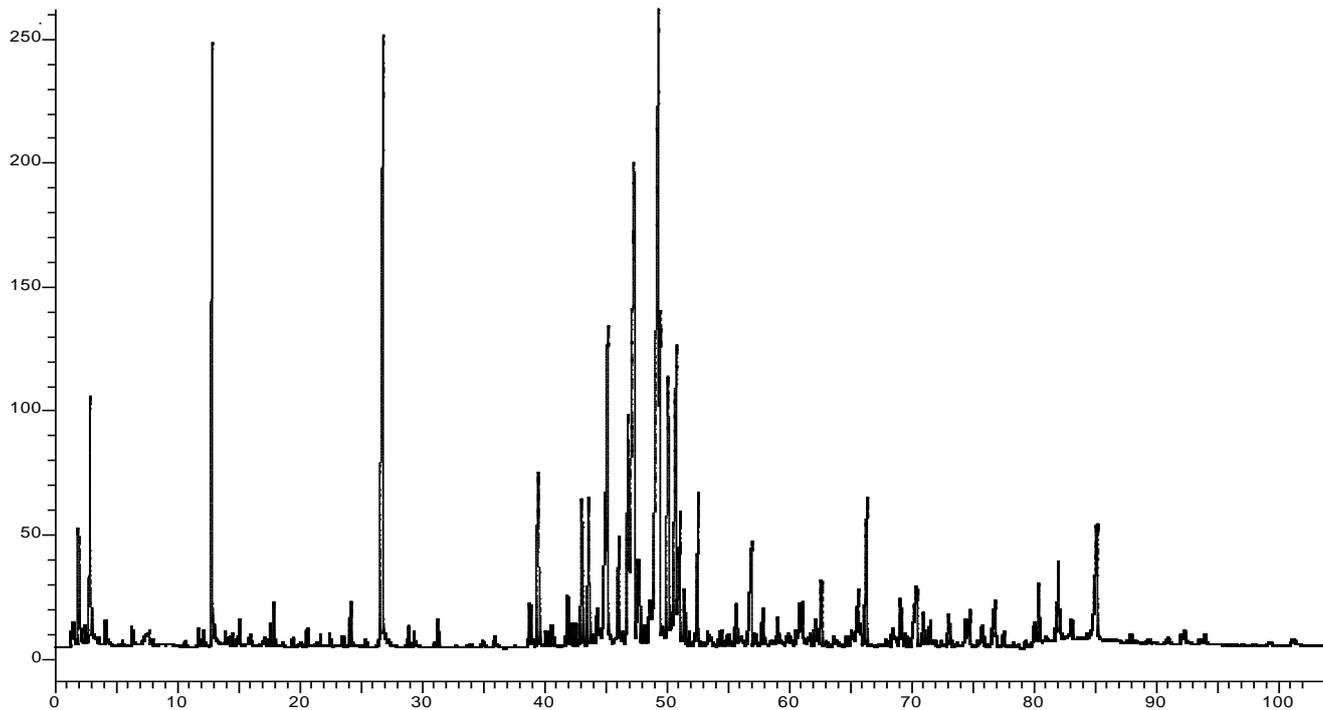


**Figure A.26 :** Chromatogramme de la fraction volatile captée par MEPS des racines de *C. mixtum*.

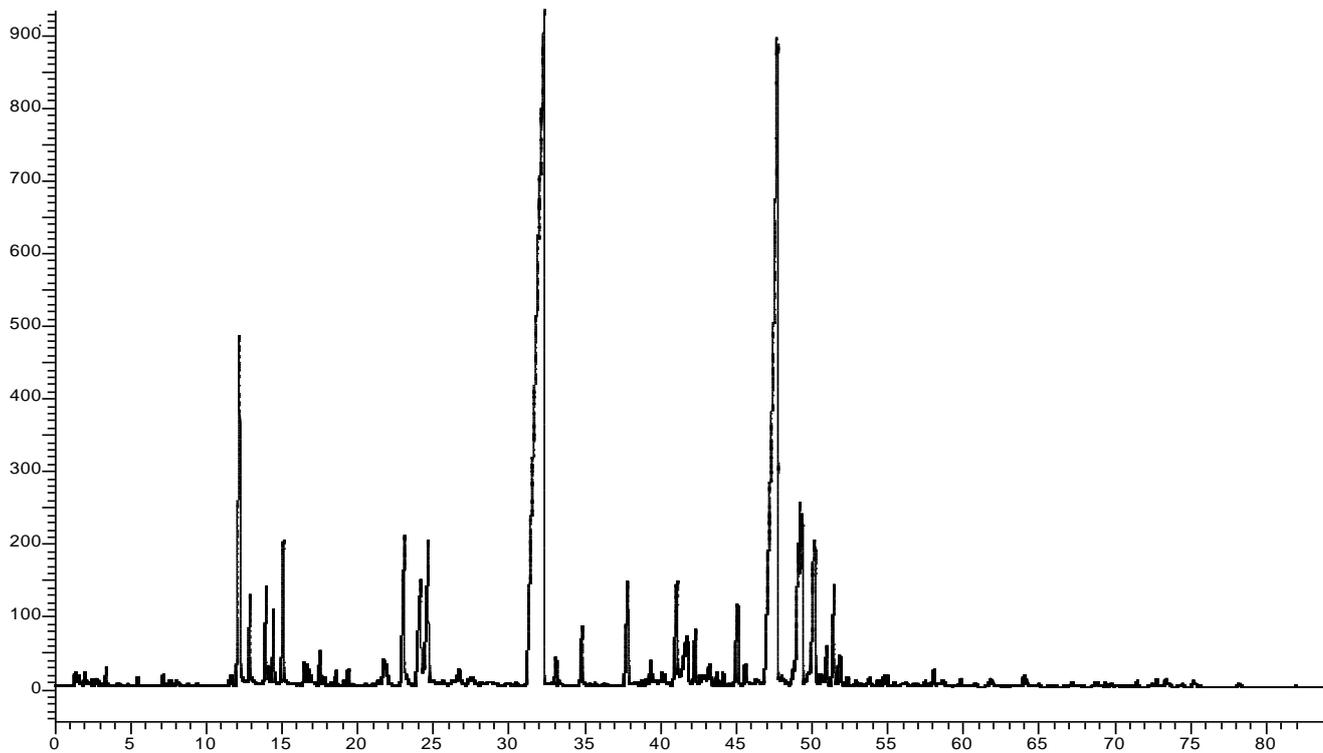
- *Anthemis maritima*



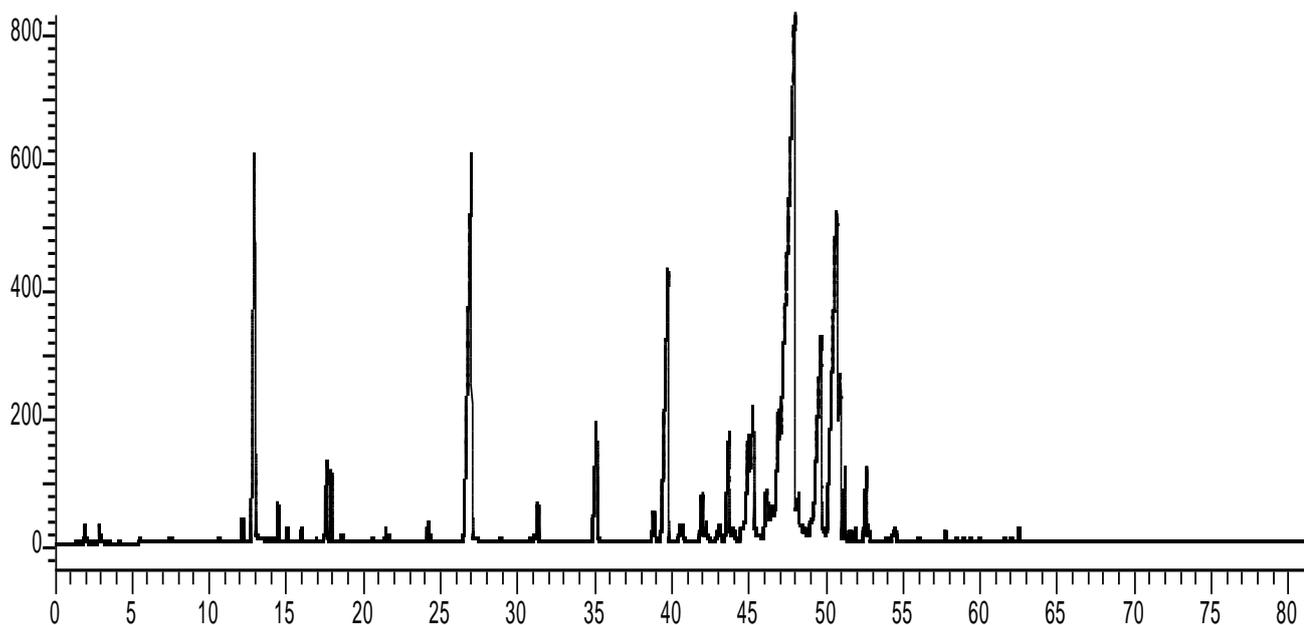
**Figure A.27 :** Chromatogramme de la fraction volatile captée par MEPS des parties aériennes d'*A. maritima* de Corse.



**Figure A.28 :** Chromatogramme de la fraction volatile captée par MEPS des racines d'*A. maritima* de Corse.

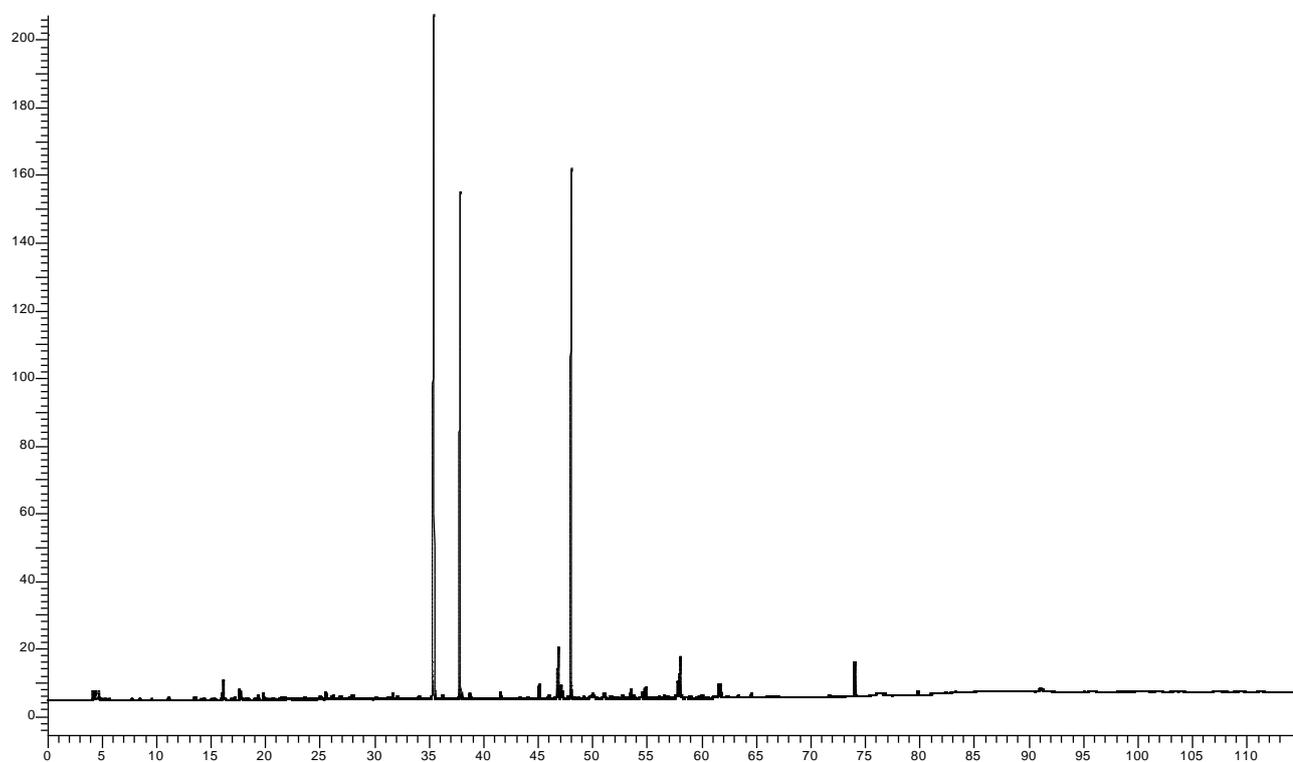


**Figure A.29 :** Chromatogramme de la fraction volatile captée par MEPS des parties aériennes d'*A. maritima* de Sardaigne.

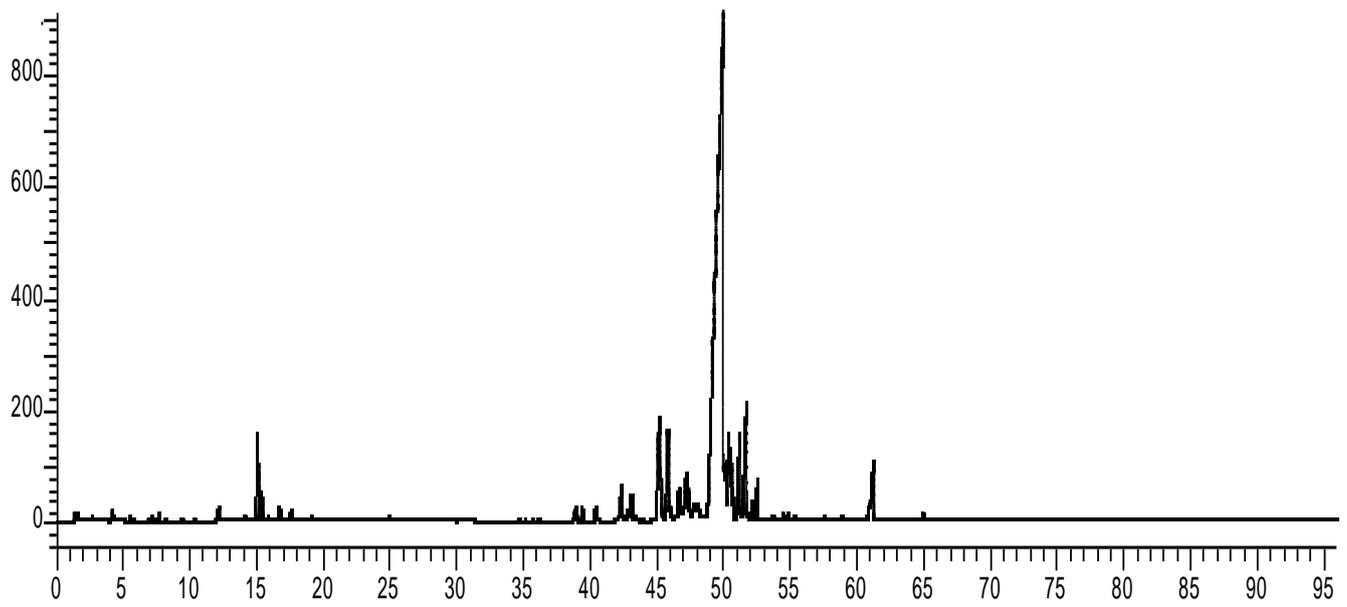


**Figure A.30 :** Chromatogramme de la fraction volatile captée par MEPS des racines d'*A. maritima* de Sardaigne.

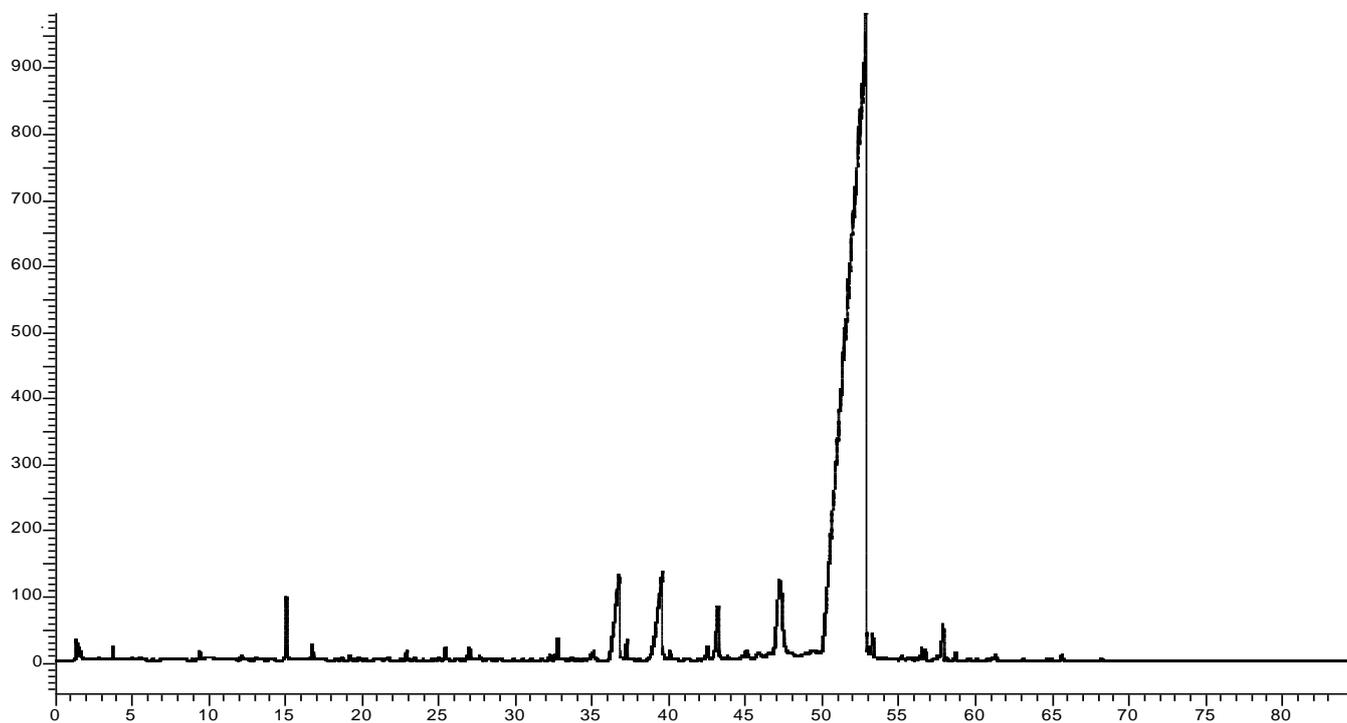
- *Eryngium maritimum*



**Figure A.31 :** Chromatogramme de l'huile essentielle de racines d'*E. maritimum*.



**Figure A.32 :** Chromatogramme de la fraction volatile captée par MEPS des parties aériennes d'*E. maritimum*.



**Figure A.33 :** Chromatogramme de la fraction volatile captée par MEPS des racines d'*E. maritimum*.





## **ABSTRACT**

Corsica is a Mediterranean mountain island which displays many aromatic and medicinal plants liable to produce essential oils potentially used in different domains. For their valorization, the knowledge of the oil chemical compositions is an essential challenge.

This thesis deals with the chemical compositions of the essential oils and the volatile fractions of three coastal plants from Corsica and Sardinia: *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* and *Eryngium maritimum*. There are two aims:

- (i) The fundamental aim consists in characterizing the chemical compositions of essential oils and volatile fractions of the three species evaluated, using and improving our laboratory analytical methodology which involves integrated techniques, such as CC, GC/FID, GC/MS-EI, GC/MS-CI, NMR 1D and NMR 2D.
- (ii) The applied aim consists in assessing the commercial potential of these essential oils studying their chemical variability and their biological activities.

The study of *Chamaemelum mixtum* essential oil allowed us to describe a Corsican original chemical oil composition (relative to those from Morocco previously reported in the literature) and a new linear ketone: (Z)-9,16-heptadecadien-7-one, never reported in the literature.

The chemical composition of *Anthemis maritima* essential oils rich in chrysanthenyl esters was reported here for the first time. The use of an original analytic strategy allowed us to describe 14 esters of *cis*- and *trans*-chrysanthenol. A lot of them were never been described by NMR.

*Eryngium maritimum* essential oil was described completely for the first time. We reported here for the first time, the isolation and the identification of three new natural compounds: 4 $\beta$ H-muurol-9-en-15-ol, 4 $\beta$ H-cadin-9-en-15-ol and 4 $\beta$ H-cadin-9-en-15-al. Moreover <sup>13</sup>C-NMR shifts of 4 $\beta$ H-muurol-9-en-15-al were reported for the first time.

The antibacterial potential of the three essential oils was investigated and *Chamaemelum mixtum* oil showed a good activity against germs involved in nosocomial and food borne illness.

The study of the oil chemical variability showed some statistic groups for each plant linked to their geographic origin. More precisely, *Anthemis maritima* essential oil exhibits two chemical profiles clearly different.

Chemical compositions of essential oils and volatile fractions sampled by SPME of the different parts of the plant have been investigated. Our results, confirms the SPME as an analytical tool, fast and reliable for the acquisition of the chemical profile of a volatile fraction.

---

### **DISCIPLINE:**

**Organic and analytic chemistry**

---

### **KEY WORDS:**

*Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima*, *Eryngium maritimum*, New natural products, Essential oil, SPME, GC-FID, GC/MS-EI, GC/MS-CI, NMR 1D, NMR 2D, Linear ketone, Chrysanthenyl esters, Sesquiterpenes, Chemical variability, Biological activities, Corsica, Sardinia.

---

# **RESUME**

La Corse est riche en Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales (PPAM) dont les huiles essentielles sont susceptibles d'être utilisées dans différents domaines. La composition de ces dernières permet de les caractériser, d'en évaluer la qualité, de mettre en évidence une éventuelle spécificité locale et, ce faisant, de les valoriser.

Deux objectifs majeurs ont été fixés à ce travail de thèse portant sur les huiles essentielles et les fractions volatiles de trois plantes des littoraux de Corse et de Sardaigne : *Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima* et *Eryngium maritimum* :

(i) Un objectif fondamental : accroître notre connaissance des constitutions chimiques des huiles essentielles et fractions volatiles des trois espèces, en adaptant en tant que de besoin, la méthodologie d'analyse adoptée au laboratoire ; méthodologie basée sur la complémentarité de diverses techniques (CC, CPG-DIF, CPG/SM-IE, CPG/SM-IC et RMN 1D et 2D).

(ii) Un objectif plus appliqué : évaluer le potentiel de valorisation à travers l'étude des variabilités des huiles essentielles, mais également, à travers la recherche d'activités antibactériennes et antifongiques.

Dans l'huile essentielle de *Chamaemelum mixtum* qui présente une composition chimique différente des huiles essentielles du Maroc décrites dans la littérature, nous avons isolé et identifié une nouvelle cétone linéaire la (Z)-heptadéc-9,16-adiène-7-one.

La composition chimique de l'huile essentielle d'*Anthemis maritima* riche en esters de chrysanthényle est ici rapportée pour la première fois. Après avoir élaboré une stratégie d'analyse originale, nous avons décrit une série de 14 esters des *cis*- et *trans*-chrysanthénol. Un grand nombre d'entre eux n'avaient encore jamais été décrits en RMN.

L'huile essentielle d'*Eryngium maritimum* est, également, décrite pour la première fois de façon aussi exhaustive. Nous avons identifié : le 4 $\beta$ H-muurool-9-ène-15-ol, le 4 $\beta$ H-cadin-9-ène-15-ol et le 4 $\beta$ H-cadin-9-ène-15-al, composés naturels jamais décrits jusque là, ainsi que le 4 $\beta$ H-muurool-9-ène-15-al dont les données RMN sont rapportées ici pour la première fois.

Les trois huiles essentielles et plus particulièrement celle de *Chamaemelum mixtum* se sont avérées actives contre un panel de micro-organismes impliqués dans les infections nosocomiales et alimentaires.

L'étude de variabilité liée à la géographie, montre la présence de plusieurs groupes statistiques pour chacune des trois plantes et plus spécifiquement pour *Anthemis maritima* qui admet deux types de compositions chimiques tranchés.

Les compositions chimiques des huiles essentielles et fractions volatiles captées par MEPS des divers organes de chaque plante ont également été décrites. Nos résultats confortent la MEPS comme outil analytique rapide et fiable d'acquisition du profil chimique d'une fraction volatile.

---

## **DISCIPLINE :**

**Chimie Organique et Analytique**

---

## **MOTS CLES**

*Chamaemelum mixtum*, *Anthemis maritima*, *Eryngium maritimum*, Nouveaux composés naturels, Huiles essentielles, MEPS, CPG-FID, CPG/SM-IE, CPG/SM-IC, RMN 1D, RMN 2D, Cétone linéaire, Esters de chrysanthényle, Sesquiterpènes, Variabilité chimique, Activités biologiques, Corse, Sardaigne.

---