

République Algérienne Démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Saad Dahleb-blida
Faculté des Science de la Nature et de la Vie
Département des biologie et physiologie cellulaire



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie

Option : biochimie

Thème :

**Caractérisation physicochimique et pharmacologique de l'huile
essentielle de feuille *cinamomum camphora* (camphrier)**

Présente par :

soutenu le 15 septembre 2022

Mr BENABDESSLAM MAAMAR

Devant le jury :

Mme SAIDI F	professeur	USDB	Présidente
Mme TOUABIA M	MCA	USDB	Examinatrice
Mme HAMZI W	MCA	USDB	promotrice
Mme DROUCHE I	Docteur	USDB	Co-promotrice

Année universitaire 2021/2022

Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir donné la volonté et le courage de mener à bien ce travail.

Nous tenons à remercier les personnes qui ont accepté de juger notre travail :

Nous sommes particulièrement reconnaissantes à Mme SAIDI F. professeur au département de biologie pour l'honneur qu'il nous a fait d'avoir accepté la présidence du jury. Qu'elle soit assurée de notre respectueuse considération.

Nous remercions également Mme TOUBIA M. maître de conférence A au département de biologie qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir examiner ce travail.

Veillez accepter nos plus vifs remerciements pour votre présence dans ce jury

Nous tenons à remercier sincèrement notre promoteur Mme HAMZI W. maître de conférence A au département de biologie pour avoir proposé le thème et encadré ce travail. Nous tenons à vous remercier pour votre disponibilité, votre aide précieuse, vos conseils, et vos précieux conseils qui ont fait progresser ce travail, vos encouragements et son soutien dans les moments difficiles, son aide, sa gentillesse au quotidien, la confiance et la liberté d'action dont nous avons bénéficié tout au long de ce mémoire.

À notre Co-promotrice Mme DROUCHE I. Enseignante au département de biologie, nous adressons notre plus vif remerciement pour son aide, sa gentillesse, et son soutien de votre travail

Un grand merci pour l'équipe des laboratoires microbiologie de groupe SAIDAL
Médéa

Nous voudrions adresser nos remerciements au personnel de laboratoire d'hygiène de la wilaya de BLIDA pour leur aide

Nous tenons aussi à remercier pour l'équipe des laboratoires de centre de recherche en Analyse physico-chimique BOUISMAIL.

Nous tenons également à exprimer notre gratitude aux nombreuses personnes qui nous ont apporté leur aide précieuse avec beaucoup de gentillesse et en particulier : Mr chouman M, Mr Karim, Mr Tafahi, Mme Nekkab, Melle Hadjer, melle hadjer

Nous remercions aussi tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire trouvent ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

Dédicace

Je dédie cet œuvre à :

*M*es très chers parents (ma mère) qui n'avait en ménages aucun effort pour me donner une meilleure éducation, pour me guide avec rigueur mais aussi avec amour, ils ont été toujours présents devant moi par leur amour, leur persévérance, leur soutien et exhortation. Toutes les expressions ne suffisent pas pour exprimes ma gratitude.

Je t'aime maman, je t'aime papa, que dieu vous récompense et vous garde longtemps.

*M*es deux frères Youcef, Mohamed Rostom, leur souhaitant une bonne réussite dans leur vie

*A*mes très cher amis Mohamed et Karim par son aide précieux

*T*out ce qui j'aime et qui se reconnaissent

Maamer

Résumé

Cinnamomum camphora est une plante médicinale utilisée en médecine traditionnelle.

Notre travail porte sur l'extraction d'huiles essentielles de *cinnamomum camphora* et l'étude de leurs activités pharmacologiques et biologiques, notamment anti-inflammatoires, antioxydantes, antimicrobiennes afin de valoriser son utilisation en médecine traditionnelle.

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un Clevenger, suivie d'une analyse physicochimique et de la composition chimique par GC/MS dont les majoritaires sont les sesquiterpènes.

L'étude de l'activité antioxydante par le test du DDPH a révélé que l'huile essentielle de camphrier possède un bon pouvoir antioxydant à 162.5 µg/ml suite à une comparaison avec les antioxydants de synthèse BHT.

En outre, l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *camphrier* évaluée par méthode, chromatogramme a révélé que l'huile essentielle est très active contre les souches fongiques *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* et les souches bactériennes *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

L'effet anti-inflammatoire a révélé que l'huile essentielle à 71.42% a réduit la dénaturation du sérum bovin suite à une comparaison avec le traitement standard (Diclofenac).

Mots clés : *cinnamomum camphora*, activité antimicrobienne, activité antioxydante, activité anti-inflammatoire, physicochimique

Abstract

Cinnamomum camphora known under the vernacular name camphor is a medicinal plant used in traditional medicine.

Our work focuses on the extraction of essential oils of *Cinnamomum camphora* and the study of their pharmacological and biological activities including anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial to enhance its use in traditional medicine.

The extraction of essential oil was carried out by hydrodistillation using a clevenger, followed by a physicochemical analysis and chemical composition by GC/MS whose major are sesquiterpenes

The study of the antioxidant activity by the DDPH test revealed that the essential oil of camphor has a good antioxidant power a 162.5ug/ml following a comparison with the antioxidants of synthesis BHT.

In addition, the study of the antimicrobial activity of camphor essential oil evaluated by method, chromatogram revealed that the essential oil is very active against the fungal strains *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* and bacterial strains *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus aureus*

The anti-inflammatory effect revealed that the essential oil a 71.42% reduced the denaturation of bovine serum when compared to the standard treatment (Diclofenac).

Key words: *Cinnamomum camphora*, antimicrobial activity, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, physicochemical

ملخص

Cinnamomum camphora المعروف باسم الكافور العامي هو نبات طبي يستخدم في الطب التقليدي.

يركز عملنا على استخراج الزيوت الأساسية من كافور القرفة ودراسة أنشطتها الدوائية والبيولوجية بما في ذلك مضادات الالتهاب ومضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات لتعزيز استخدامها في الطب التقليدي.

تم استخراج الزيت العطري عن طريق التقطير المائي باستخدام clevenger، متبوعًا بتحليل فيزيائي-كيميائي وتركيب كيميائي بواسطة GC / MS الذي يتألف من sesquiterpenes.

كشفت دراسة نشاط مضادات الأكسدة عن طريق اختبار DDPH أن زيت الكافور الأساسي له قوة جيدة كمضاد للأكسدة 162.5ug/ml بعد المقارنة بمضادات الأكسدة لتخليق BHT.

بالإضافة إلى ذلك ، فإن دراسة النشاط المضاد للميكروبات لزيت الكافور العطري الذي تم تقييمه بالطريقة ، أظهر الرسم العطري أن الزيت العطري فعال للغاية ضد السلالات الفطرية *candida albicans* ، السلالات البكتيرية *Bacillus subtilis*، *Staphylococcus aureus* ، *saccharomyces cerevisiae* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Escherichia coli*

أظهر التأثير المضاد للالتهابات أن الزيت العطري 71.42% يقلل من تمسخ مصل الأبقار بالمقارنة مع العلاج القياسي (Diclofenac).

الكلمات المفتاحية: *cinnamomum camphora*، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط

مضاد للالتهابات، فيزيائي كيميائي.

Liste des Abréviations

ATCC : American type culture collection

BHT : Butyl-Hydroxy-Toluene

DDPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle

Ug/ml : microgramme par millilitre

IC50 : concentration d'inhibition de 50% de croissance

I% : pourcentage inhibition

GC/SM : chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

HE : huile essentielle

CPG : chromatographie en phase gazeuse

SBA : sérum bovine albumine

DMSO : Diméthylsulfoxyde

OMS : organisation mondiale de la santé

Listes des Figures

Figure 1 : Schéma représentant le camphrier (Trimen et Bentley, 1880).	06
Figure 2 : Photos d'arbre fruits et feuilles du Camphrier (Ritter et Reimer, 2015).	06
Figure 3 : Grands arbre de camphre de longévité et tombeau de shinto Japon.	10
Figure 4 : les principes schématisés de l'extraction par l'entraînement a la vapeur (a) et de l'hydrostillation (b)	13
Figure 5 : Différents facteurs du stress oxydatif (Islam et al., 2019)	14
Figure 6 : Conséquences du stress oxydatif (Favier, 2006)	16
Figure 7 : Déséquilibre entre molécules pro et anti-inflammatoires (Mebirouk 2017).	18
Figure 8 : Lieux d'action des antibiotiques dans la cellule bactérienne (Tortora et al., 2010)	31
Figure 9 : résultat aromatoigramme de souche <i>bacillus aureus</i>	31
Figure 10 : le résultat aromatoigramme de souche <i>candida albicane</i>	32
Figure 11 : le resultat aromatoigramme de souche <i>staphylococcus aureus</i>	32
Figure 12 : le résultat aromatoigramme de souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	33
Figure 13 : le résultat aromatoigramme de souche <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	33
Figure 14 : pourcentage d'inhibition d'extrait camphorier et de BHT	35
Figure 15 : les souches fongiques	Annexes 01
Figure 16 : les souches bacteriennes	Annexes 01
Figure 17 : les suspension bactérienne et fongique	Annexes 01
Figure 18 : Préparation de la solution Méré de DPPH	Annexes 02
Figure 19 : Préparation des différents concentration d'échantillon	Annexes02
Figure 20 : les différents concentration (extrait ethanolique camphrier et BHT) mélange avec DPPH après 30min	Annexes 02

Liste Des Tableaux

Tableau 1: Classification APG III (2009) du genre <i>Cinnamomum</i>	04
Tableau 2: propriétés physicochimiques des HE de camphrier	11
Tableau 3 : les souches microbiennes testées	20
Tableau 4 : analyse chimique huile essentielle (composante majoritaire)	27
Tableau 5 : diamètres des zones d'inhibition (en mm) des souches bactériennes provoquées par les extraits <i>cinnamomum camphora</i>	29
Tableau 6 : IC50 de l'extrait <i>cinnamomum camphora</i> et de BHT (témoin) pour l'inhibition du DPPH Erreur ! Signet non défini.	34

Sommaire	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01
Chapitre I : synthèse bibliographique	
1. Généralité du camphrier	03
2. Etude de la plante	04
2.1 Classification	04
2.2.1 Généralités sur la famille des Lauracées	04
2.2.2 Généralités sur le genre Cinnamomum	05
2.2.3 Cinnamomum camphora	05
2.2 Description botanique	05
2.2.1 L'arbre	05
2.3 Répartition géographique et habitat	07
2.3.1 Répartition géographique, écologie	07
2.3.2 Propagation	07
2.3.3 La culture	07
2.4 Étude chimique du Camphre	08
2.4.1 Chémotypes	08
3. Généralités sur les huiles essentielles	08
3.1 Définition	08
3.2 Origine et lieu de sécrétion	09
3.3 Les Techniques extraction huile essentielle	09

3.3.1 Extraction par Hydro distillation	09
3.3.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	09
3.3.3 Extraction par solvant organique	10
3.4.4 Extraction assistée par micro-ondes	10
3.4 Analyse huile essentielle	11
3.4.1 Analyse physicochimique	11
3.4.2 Analyse par chromatographie	11
3.4.2.1 La chromatographie en phase gazeuse (CPG).	11
3.4.2.2 Le couplage CPG/SM.	12
3.4.2.3 Composition chimique d'huile essentielle	12
4. Activité pharmacologique	12
4.1 Activité antioxydant	12
4.1.1 Espèces réactives de l'oxygène (ERO) et leurs origines	12
4.1.2 Conséquence du stress oxydatif	13
4.1.3. Les systèmes antioxydants de l'organisme	14
4.2 Activité anti inflammatoire :	15
4.2.1 Rappel sur l'inflammation	15
4.2.2 Types d'inflammation	15
4.2. 3 anti-inflammatoires	16
4.3 Activités antibactériennes et antifongiques	17
4.3.1 Les antibiotiques	17
4.3.2 Les principales classes d'antibiotiques	18
5. Toxicité de l'HE du camphrier	18
CHAPITRE 2 : Matériel et Méthodes	
1.Lieu de stage	20

2. Materiel	20
2.1. Matériel végétal	20
2.2. Souches microbiologiques	20
2.3 Materiel non biologique	20
3.Méthodes	21
3.1- extraction des huiles essentielle de camphrier	21
3.2 analyse chimique de huile essentielle par GC/SM	21
3.3- Évaluation des activités biologiques de HE camphrier	21
3.3.1. Activité antioxydant	21
3.3.2 Activité antimicrobienne	22
3.3.3 Activité anti inflammatoire	24
CHAPITRE 3 : Résultats et discussion	
1. Analyse chimique d’huile essentielle par GC/SM	27
2. Evaluation activite antimicrobienne	29
3. Évaluation activité antioxydant	33
4. Évaluation activité anti inflammatoire	35
Conclusion et perspectives	37
Référence bibliographique	
Annexe	

Introduction

Introduction

Introduction

L'usage de la médecine traditionnelle est très répandu en Afrique. Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Selon l'organisation mondiale de la sante, environ 65 à 80% de la population dans les pays en développement, dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins de santé primaire **(OMS,2002)**.

La nature est toujours un exemple en or du la phénomènes exceptionnels de symbiose. Les produits naturels issus des animaux végétaux et des minéraux ont été à la base du traitement des maladies humaines. Aujourd'hui, on estime qu'environ 80 % de la population dans les pays en développement s'appuient encore sur la médecine traditionnelle.

Environ 500 plantes à usage médicinal sont mentionnées dans la littérature ancienne et environ 800 plantes sont utilisées dans les systèmes de médecine indigènes **(Richa Singh, Talha Jawaid ;2012)**.

Les huiles essentielles sont des mélanges chimiques naturels, complexes et volatils d'une odeur aromatique, extraits en tant que métabolites secondaires. Différents types d'huiles essentielles ont leurs applications dans les industries pharmaceutiques et aromatiques. La consommation d'huiles essentielles a augmenté, directement ou indirectement, en raison de la prise de conscience de la santé et de l'hygiène personnelles, et comme médicaments alternatifs **(Irshad, M et al ; 2019)**.

Notre objectif est de déterminer, la composition chimique de cinnamomum camphora. Et d'en connaitre éventuellement les molécules bioactive qui lui confèrent ses propriétés thérapeutiques a étudié des quelques activités biologiques de cette plante

Le présent travail comporte trois parties :

-Extraction des huiles essentielle par hydro distillation

-Evaluation des paramètres physico-chimiques de l'huile essentielle de camphrier, et identification de leur compose chimiques par la méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée a le spectromètre de masse

Introduction

-Etude des quelques propriétés pharmacologiques et biologiques d'huile essentielle de camphrier (antioxydant, antimicrobienne, anti-inflammatoire).

CHAPITRE I : synthèse
Bibliographique

1. Généralité de camphrier :

Le camphrier est l'arbre emblématique de la ville d'Hiroshima car il fut le premier avec le Ginkgo biloba à avoir repoussé après le bombardement atomique de la Seconde Guerre Mondiale. C'est une tradition pour ses utilisations étendues et diverses en Orient : les Chinois utilisaient le camphre comme stimulant circulatoire et analeptique, tandis que les Japonais l'utilisaient dans un matériau à la lumière d'une torche et ajoutaient de petites quantités à des feux d'artifice pour les rendre plus brillants (**Hattori, A, 2001**). Le camphre a été utilisé comme fumigeant pendant la peste noire, une peste qui s'est répandue en Europe au 14^{ème} siècle, ainsi que lors d'épidémies de variole et de choléra. De l'eau de rose et du camphre en tant qu'ingrédient de parfum ont été répandus sur les cadavres avant d'être enveloppés (**Donkin, 1999**). En Inde, le camphre est généralement brûlé dans les temples lors de rituels religieux car, contrairement à toute autre fumée aromatique, les émanations de camphorique ne sont pas irritantes pour les yeux (**Kumar et Ando, 2003**). Le camphre a été largement utilisé comme parfum dans les cosmétiques, comme additif alimentaire aromatisant et comme conservateur dans les produits de confiserie ; à la maison, il est couramment utilisé comme insectifuge, plastifiant et intermédiaire dans la synthèse de produits chimiques aromatiques (**Kumar et Ando, 2003**). Le camphre est l'un des produits chimiques aromatiques les plus connus et les plus répandus sur le marché, avec une valeur marchande annuelle de 80 à 100 millions de dollars US (**Liu, 2005**).

Le camphre présente plusieurs propriétés biologiques telles que des effets antimicrobiens, antiviraux et antitussifs (**Juteau et al., 2002 ; Viljoen et al., 2003**), c'est un ingrédient courant de la médecine moderne dans les analgésiques et les rubéfiants appliqués localement pour le traitement des douleurs musculaires mineures. Il a été appliqué comme anti-infectieux et antiprurigineux et en interne comme stimulant et carminatif (**Van Wyk et al., 2009**).

Cependant, le camphre est toxique lorsqu'il est ingéré et peut provoquer des convulsions, de la confusion, une irritabilité et une hyperactivité neuromusculaire, la dose létale chez l'homme serait de 50 à 500 mg par kg de poids corporel (**Liebelt, 1993**).

2. Étude de la plante

2.1 Classification

Cinnamomum camphora appartient à la famille des Lauraceae, de l'ordre des Laurales, de la sous-classe des Magnoliidaet de la classe des Angiospermes (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Selon la classification APG (Angiosperm Phylogeny Group) de 1998, modifiée en 2009 selon Mark W. Chase and James L. Reveal (APG III), le genre *Cinnamomum* appartient à l'ordre des Laurales, qui appartient au clade des Magniolidées. Ce ne sont donc pas des dicotylédones vraies ou Eudicotylédones (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**), une récente classification a été mentionner par Rohde et collaborateurs (**Rohde, 2017**).

Tableau 1: Classification APG III (2009) du genre Cinammomum.

Clade	Angiospermes
Clade	Magniolidées
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées

2.1.1 Généralités sur la famille des Lauracées

L'ordre des Laurales comporte environ 3000 espèces réparties en neuf familles. L'une des principales est celle des Lauracées qui contient 50 genres et 2500 espèces, répandues dans les régions tropicales et subtropicales, de l'Asie du Sud-Est, aux États-Unis en passant par Madagascar et le Nord de l'Amérique du Sud (**Walter et al., 2002**).

Les Lauracées sont principalement des arbres ou des arbustes à feuilles et écorce odorantes. Plus rarement, il peut s'agir d'une liane parasite, dépourvue de feuilles. Ce caractère est notamment retrouvé dans le genre *Cassytha*. Les branches sont parfois verticillées et ne présentent pas d'exsudat. Les jeunes rameaux ont un caractère anguleux. Les feuilles sont alternes, rarement opposées, simples, entières, et parfois paucinervurées. Elles sont dépourvues de stipules (**Botineau et Pelt, 2010**), de nombreuses espèces produisent des

épices et des huiles essentielles. Entre autres, *Persea americana* (avocatier) est utilisé pour ses fruits comestibles, l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* (cannelier) et les feuilles de *Laurus nobilis* (laurier) sont utilisées comme aromates. Le benjoin (*Lindera benzoin*) et le bois de rose (*Aniba rosaeodora*) sont utilisés en aromathérapie et dans l'industrie cosmétique. Certaines espèces de *Ocotea*, *Listea* et *Beilschmiedia* sont utilisées en menuiserie sur le continent sud-américain. Enfin, diverses huiles essentielles sont extraites de l'écorce et des feuilles, notamment de *Cinnamomum camphora* (camphrier) (Rinaldo, 2012).

2.1.2 Généralités sur le genre *Cinnamomum*

Ce sont des arbres ou arbrisseaux, toujours verts, presque tous remarquables par des feuilles et une écorce aromatique. Le genre *Cinnamomum* contient plus de 300 espèces distribuées dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie, de l'Océanie, de l'Australie, de l'Amérique du Nord, de l'Amérique Centrale et de l'Amérique du Sud. Le genre est très recherché pour ses écorces et son bois (Ravindran et al., 2003).

2.1.3 *Cinnamomum camphora*

La dénomination internationale du camphrier comporte le nom de deux botanistes Carl von Linné (L.) et Jan Svatopluk Presl (J. Presl). Il est convenu, historiquement qu'un botaniste (J. Presl) considère que le genre choisi (*Laurus*) n'est pas le plus judicieux pour une espèce (*Laurus camphora* L.) (figure I.1). Il peut alors décider de transférer l'espèce dans un autre genre (*Cinnamomum*). Ainsi, le nom de l'auteur de la dénomination binomiale initiale (Linné) demeure, mais il est placé entre parenthèses. Ces transferts ont généralement lieu lors de la création de nouveaux genres (Paquereau, 2013).

2.2 Description botanique

2.2.1 L'arbre

L'arbre peut atteindre 15 à 40 mètres de haut, bien qu'il ne dépasse rarement 20 mètres en Europe. Sa longévité est de l'ordre du millier d'années (Botineau et Pelt, 2010). Le tronc est ramifié à la base, et présente une écorce rugueuse et gercée. La couronne de l'arbre est dense, de forme arrondie et étalée chez les sujets âgés. Les jeunes rameaux ont une section

quadrangulaire. Les racines de l'arbre, très sensibles aux perturbations, peuvent s'étendre loin du tronc de l'arbre et sont reconnaissables par leur odeur caractéristique (Conway, 2000). Le camphrier parfumé, *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl (Lauraceae), est naturellement présent dans les pays asiatiques, notamment au Japon, à Taiwan et en Chine, mais a été naturalisé dans d'autres parties du monde, l'arbre est grand avec une écorce brune pâle, des feuilles vertes foncées à jaunâtre (figure I.2) et de petites fleurs blanches suivies de petites baies pourpres. Toutes les parties de la plante dégagent une odeur de camphoracée distinctive et facilement reconnaissable. L'huile essentielle est distillée à partir du bois (figure I.3.b), ce qui donne l'ingrédient actif (1R) - (+) - camphre, c'est-à-dire du camphre naturel (U.S. National Plant Germplasm System, 2013).



Figure 1: Schéma représentant le camphrier (Trimen et Bentley, 1880)



a : Arbre

b : Fruits a maturités fleurs

c : Jeunes feuilles

Figure 2: Photos d'arbre fruits et feuilles du Camphrier (Ritter et Reimer, 2015)

2.3 Répartition géographique et habitat

2.3.1 Répartition géographique, écologie

Il est naturellement distribué dans les régions subtropicales du sud de la Chine ainsi que Taiwan, la Corée, le Vietnam (**Chen et al., 2004**) et le Japon. Il a été introduit dans de nombreux autres pays, notamment en Australie (**Frizzo et al., 2007 ; U.S. National Plant Germplasm System, 2013**), en Californie aux États-Unis, Argentine, Inde (**Huergo et Retamar, 1978**), Malaisie (**Jantan et Goh, 1992**) et Sri Lanka, Égypte, Europe méridionale et îles Canaries (**Schenk, 2009**). *Cinnamomum camphora* pousse sur des sols de préférence sablonneux, de pH variant de 4,3 à 8. Il croît dans des zones en plein soleil ou mi-ombre, il tolère les sols salins et les vents salés. (**Rivière et al., 2005 ; Brickell,, 1997**). Avec une altitude jusqu'à 1350-1800 m, température annuelle moyenne : 14-27 degrés. C, précipitations annuelles moyennes : 640-4030 mm, il supporte la sécheresse mais pas les sols engorgés d'eau. Il peut résister à de courtes périodes de froid en dessous de 0°C (**Conway, 2000**).

2.3.2 Propagation

Un arbre à maturité peut produire environ 100 000 fruits par an. De nombreux oiseaux frugivores indigènes dispersent les graines dures. Les graines sont également dispersées par l'eau, ces graines germent facilement et restent viables jusqu'à trois ans (**Csurhes et Edwards, 1998**).

2.3.3 La culture

La question de la culture du camphrier s'est posée, après la découverte du celluloid (1870), matière plastique composée de camphre. En à peine dix ans et en particulier au début du XXe siècle, l'industrie du celluloid s'est développée. En 1900, 70% de la production était destinée aux usages médicaux et aux pratiques d'embaumement aux Indes. Dans les années 1920, 80% de la production était orientée vers le celluloid (**Kopp, 2012**). Actuellement, le celluloid est utilisé dans la fabrication des balles de tennis de table (**Applebaum et DiSorbo, 2012**). La culture utilise généralement les graines et est aussi envisageable à partir des racines et des tiges. De nombreux pays se sont lancés avec succès

dans la culture : l'Inde, le Sri Lanka (Ceylan), l'Algérie (1892), l'Asie du Sud-Est (1904), les États-Unis (1904) (Schenk, 2009).

2.4. Étude chimique du Camphre

2.4.1 Chémotypes

Les composés aromatiques d'une plante varient en fonction de nombreux facteurs comme l'ensoleillement, la nature et les composants du sol. C'est pourquoi une même espèce peut sécréter des huiles de compositions différentes. Pour différencier les huiles essentielles extraites de chacune de ces plantes, on utilise le terme « chémotype », (Mansard, 2016). WanYang et collaborateurs (Wanyang et al., 1989) ont mené une étude détaillée sur la composition chimique des huiles essentielles de *Cinnamomum camphora* (L.) J.Presl de 164 arbres en provenance de Chine (Patri et al., 2006). Les auteurs ont analysé 363 échantillons d'huiles essentielles issus de différents organes après récolte et entraînement à la vapeur d'eau. Trente-quatre composants ont été identifiés (Mansard, 2016). En fonction de la prédominance de certains composés chimiques présents dans les feuilles, cinq chémotypes ont été déterminés (Mansard, 2016) :

- *Cinnamomum camphora* CT cinéole
- *Cinnamomum camphora* CT linalol
- *Cinnamomum camphora* CT camphre
- *Cinnamomum camphora* CT isonérolidole
- *Cinnamomum camphora* CT bornéole

3 Généralité d'huile essentielle

3.1 Définition :

Les huiles essentielles sont des mélanges chimiques naturels, complexes et volatils d'une odeur aromatique, extraits en tant que métabolites secondaires. Différents types d'huiles essentielles ont leurs applications dans les industries pharmaceutiques et aromatiques (Irshad et al ;2019).

Différentes parties (racines, bois, branches et feuilles) de *cinnamomum camphora*. Sont abondantes en huiles essentielles, qui ont le linalool, le 1,8-cinéole et le camphre comme composants majeurs (Jiang et al ;2014 ;Stubbs et al ;2004).

3.2 Origine et lieu de sécrétion :

Les HE sont des sécrétions naturelles élaborées par le végétal et contenues dans les cellules ou parties de la plante comme celles des fleurs (rose), sommités fleuries (lavande), feuilles (citronnelle), écorces (cannelier), racines (iris), fruits (vanillier), bulbes (ail), rhizomes (gingembre) ou graines (muscade). Pour certaines HE comme celles de lavande ou de sauge, c'est la plante entière qui est utilisée (Serrato-Valenti et al ;1997 ; Parthasarathy et al 2008)

3.3 Les Techniques extraction huile essentielle :

3.3.1 Extraction par Hydro distillation

Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition (Figure 2). Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation. Ce procédé présente des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition (Ferhat ;2010)

3.3.2 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE ((Pharmacopée Européenne ;2007). Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Raaman ;2006)

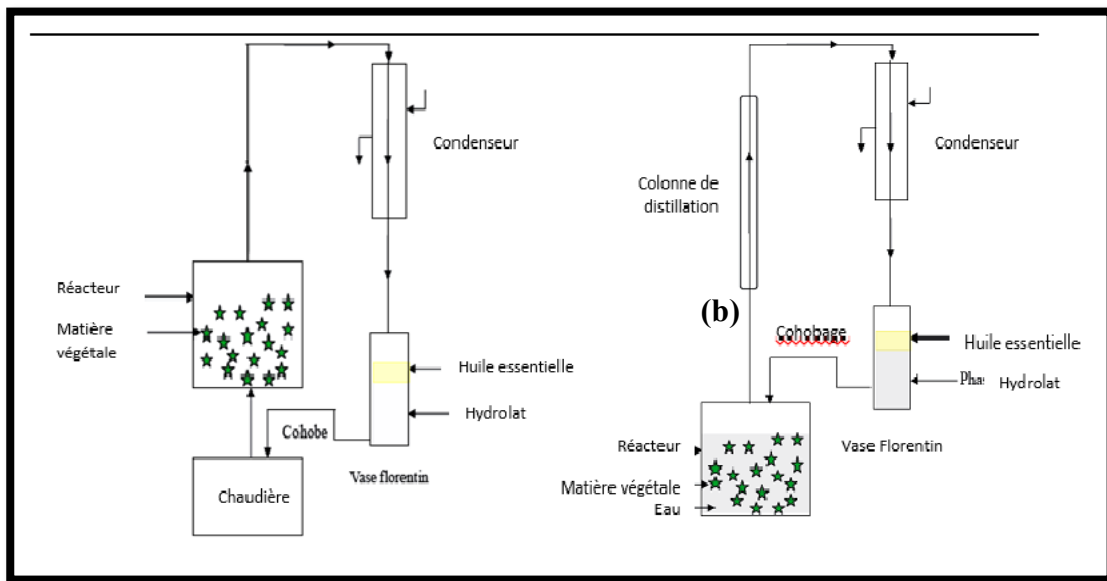


Figure 3 : Principes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur **(a)** et de hydrodistillation **(b)**

3.3.3 Extraction par solvant organique

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Sa température d'ébullition sera de

Figure 3: les principes schématisé de l'extraction par l'entraînement a la vapeur (a) et de l'hydrostillation (b)

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer, dans un extracteur, un solvant volatil et la matière végétale traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique (**Lucchesi, ;2005**)

3.3.4 Extraction assistée par micro-ondes

L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et incrémenter le rendement. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées (**Lucchesi et al ; 2004 , Olivero-Verbel et al 2010**)

3.4 Analyse huile essentielle :

3.4.1 Analyse physicochimique :

Selon les normes (AFNOR, ISO Pharmacopée européenne ou française), d'autres essais peuvent être demandés (**faucon ;2012**)

- **Examen organoleptiques** : aspect, viscosité, couleur, odeur, gout. Les caractères organoleptiques sont très sensibles à l'oxydation que subissent les huiles essentielle en vieillissant
- **Examen physiques** : densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, miscibilité a l'éthanol
- **Examen chimiques** : indice d'acide, détermination d'ester avant et après acétylation, durée de saponification

Tableau 2 : Propriétés physicochimiques des HE de camphrier (**Bhawana srivastava et al, 2009**)

couleur	odeur	Indice de refraction	PH	Indice de saponification	Indice de ester
blanche	sucrée	1.50058	1.1	3.60000	2.50012

3.4.2 Analyse par chromatographie

3.4.2.1 La chromatographie en phase gazeuse (CPG).

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. La CPG est la technique usuelle dans l'analyse des huiles essentielles. Elle permet d'opérer la séparation de Co mélanges très complexes et une analyse quantitative des résultats à partir d'un volume d'injection réduit (**Arpino et al 1995**)

3.4.2.2 Le couplage CPG/SM.

Ainsi le couplage CPG/SM en mode impact électronique (SM-IE) est la technique la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Il permet reconnaître, dans la grande majorité des cas, la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation (). Dans la source d'ionisation (Figure 3) les molécules sont bombardées à l'aide d'électrons, conduisant ainsi à la formation des ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Il existe plusieurs analyseurs de masse mais les plus utilisés pour l'analyse des huiles essentielles sont le « quadripôle » et le « piège à ion » ou « ion trap » (Pongevialle ,1986 ;Constantin ,1996)

3.4.2.3 Composition chimique d'huile essentielle

LHE de *C.camphora* a été soumise à une analyse GC-MS à l'aide d'un GC(clarus 680) équipé d'un détecteur sélectif de masse en mode d'ionisation électronique et du logiciel turbomass Ver 6.1.0.La méthode a été réalisée en utilisant la procédure suivante avec une légère modification (Chen et al 2014,Li et al 2018) camphore (*C. camphora*) possède plusieurs variétés chimiques, chacune avec des compositions d'huile essentielle différentes (Pragadheesh,et al 2013, Shi et al ;2013). Selon les principaux composants de son huile de feuille, *C. camphora* peut être catégorisé en cinq chémotypes : isobornéol, camphre, 1,8-cinéole, linalol et bornéol.types.

4. Activité pharmacologique :

4.1 Activité antioxydant :

4.1.1Espèces réactives de l'oxygène (ERO) et leurs origines :

Lors des processus physiologiques, l'organisme produit en permanence des espèces réactives de l'oxygène (ERO) qui sont capables de jouer un rôle important dans la signalisation cellulaire (Migdal et Serres, 2001 ; Morel *et al.*, 2018) et le système immunitaire (Rathore *et al.*, 2017)Ces ERO sont soit des radicaux libres comme l'anion

superoxyde (O_2^-) (Haleng *et al.*, 2007) et le radical hydroxyle (OH^\bullet), soit des molécules à savoir : le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) l'hydroperoxyde (ROOH) ou l'oxygène singulet (1O_2) (Bakasso, 2009 ; Ighodaro et Akinloye, 2018 ; Islam *et al.*, 2019).

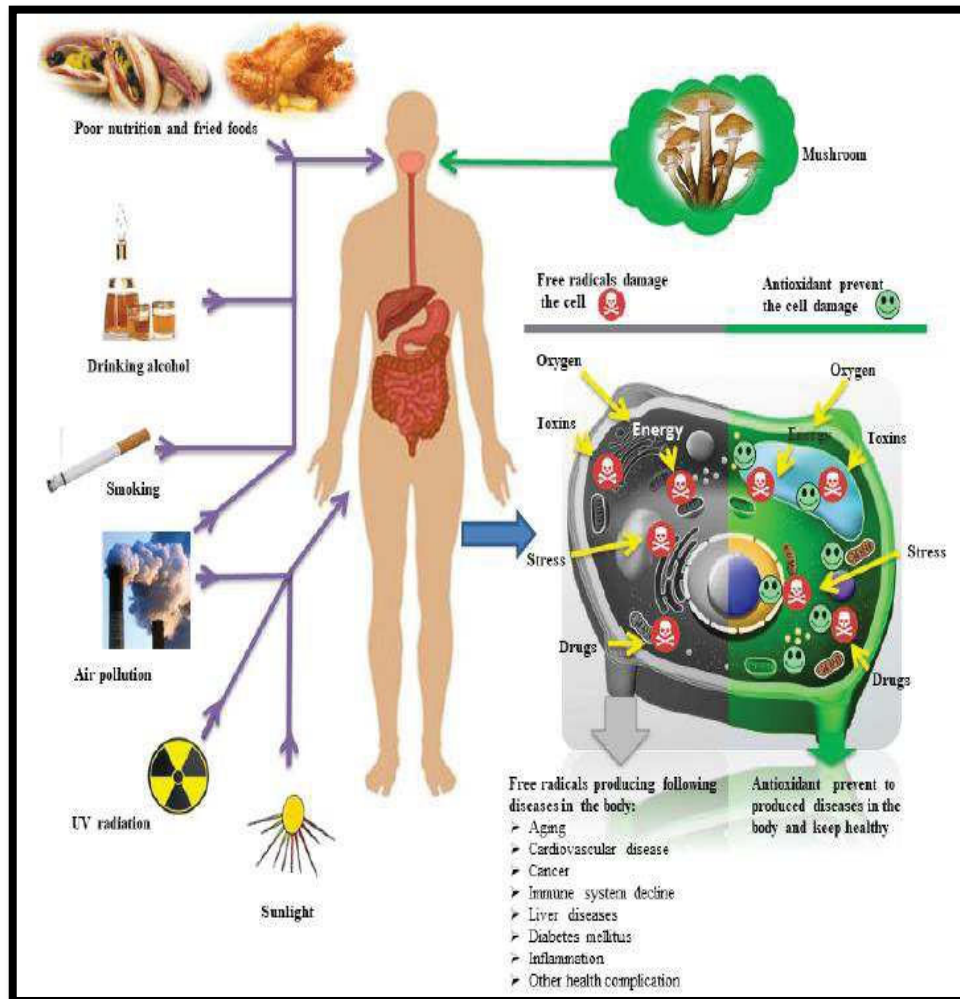


Figure 4 : Différents facteurs du stress oxydatif (Islam et al., 2019)

4.1.2 Conséquence du stress oxydatif

Le déficit en antioxydant et/ou la surproduction et la non maîtrise des ERO n'est pas sans conséquences néfastes dans l'organisme, car elle aboutit souvent à un stress oxydatif qui est défini comme un déséquilibre entre le système antioxydant et la production d'oxydants (ERO) (Gutteridge, 1993 ; Delattre *et al.* 2005). Le principal danger de ces molécules oxygénées vient du fait des dommages qu'elles causent aux différents composants

cellulaires tels que les lipides, les protéines l'ADN etc... , la dégradation des cellules et des tissus (Favier, 2003 ; Sanchez, 2017 ; Ighodaro et Akinloye, 2018).

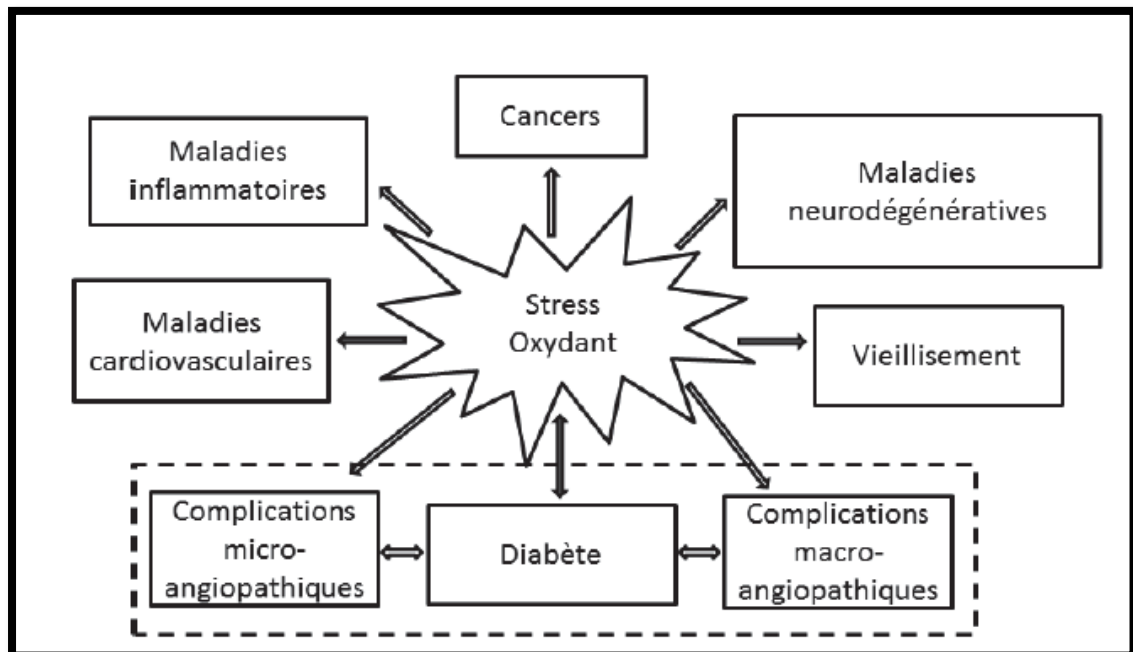


Figure 5 : Conséquences du stress oxydatif (Favier, 2006)

4.1.3 Les systèmes antioxydants de l'organisme

Les antioxydants sont des substances qui sont capables de ralentir ou d'inhiber l'oxydation d'un substrat oxydable en agissant à faible concentration. Alors, pour se protéger des effets délétères des EOR, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défense antioxydant qu'on peut diviser en 2 systèmes.

- **Les systèmes enzymatiques**

Il existe plusieurs molécules enzymatiques endogènes majoritaires dans l'organisme pouvant lutter contre les ERO. Il s'agit de la superoxyde dismutase capable de contribuer à la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire (Ighodaro et Akinloye, 2018)

▪ Les systèmes non enzymatiques

Ils sont généralement apportés par l'alimentation. Ce sont les caroténoïdes, les oligo-éléments (cuivre, zinc, sélénium, magnésium et manganèse), les polyphénols ainsi que les vitamines A, C et E (Favier, 2003 ; Haleng *et al.*, 2007 ; Fofana, 2011 ; Islam *et al.*, 2019).

4.2 Activité anti inflammatoire :

4.2.1 Rappel sur l'inflammation

Les barrières anatomiques et physiologiques à savoir la peau et les muqueuses forment une Barrière physique qui protège efficacement l'organisme des agressions extérieures. Cette Barrière est parfois franchie par des corps étrangers suite à une blessure, une brûlure, une attaque microbienne, virale ou fongique ou un dysfonctionnement des cellules de l'organisme. En se faisant, l'organisme fait recours à des acteurs capables de combattre l'ennemi. En effet, les cellules de l'immunité qui sont en garde détectent automatiquement l'envahisseur et une série des réactions biochimiques est déclenchée pour empêcher l'agent agresseur de se propager en lançant une réparation. C'est l'inflammation ou réaction inflammatoire (Geng *et al.*, 2014 ; Haioun et Zohra, 2015 ; Du *et al.*, 2018).

4.2.2 Types d'inflammation

▪ L'inflammation aigue

C'est une réponse inflammatoire immédiate suite à une agression par un agent pathogène, de courte durée et d'installation brutale. Dans les conditions normales, l'inflammation aigue guérit spontanément ou avec un traitement. Par contre, des séquelles de la réaction peuvent exister si la destruction a été significative (Haioun et Zohra, 2015). Elle évolue en 3 phases qui sont : *La phase vasculaire, cellulaire, de résolution*

▪ L'inflammation chronique

L'inflammation chronique correspond à la persistance de l'agent pathogène à cause de l'échec de la réponse inflammatoire aigue ou d'une réponse inappropriée (Hajjaj, 2017). La balance entre les molécules pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8, et TNF α) et anti-inflammatoires (IL10,IL-4,IL-13et TGF β) est perturbée (figure 10), ce déséquilibre

conduisant à des nombreuses pathologies et à la destruction des tissus enflammés (Mebirouk,2017).

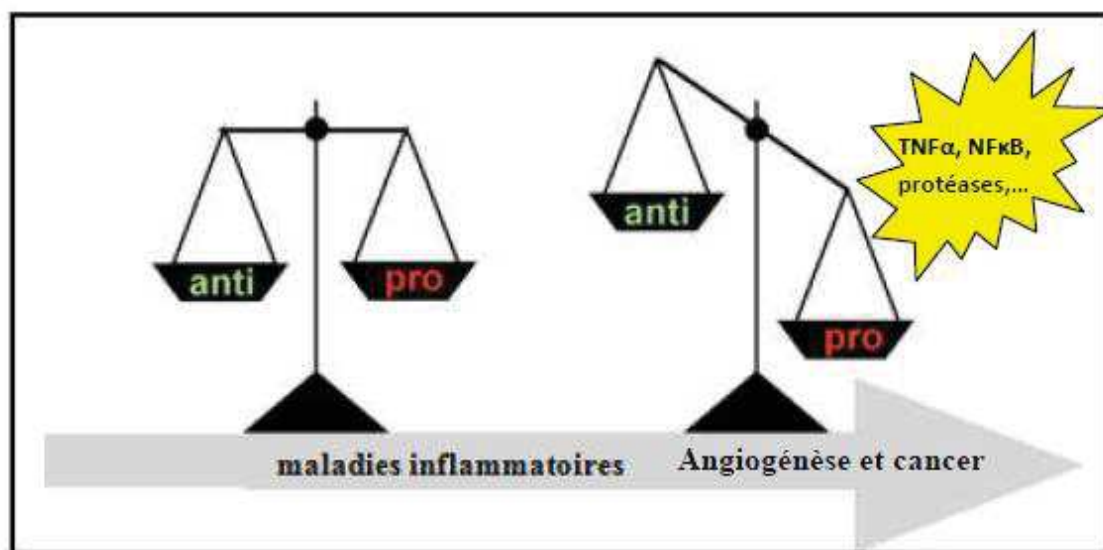


Figure 6 : Déséquilibre entre molécules pro et anti-inflammatoires (Mebirouk 2017).

4.2.3 anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont définis comme étant des substances qui agissent sur la douleur et le gonflement qui apparaissent suite à une agression d'un agent pathogènes. Elles bloquent la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation (comme les prostaglandines) et donc diminuent la sensation de douleur mais aussi l'inflammation (Hajjaj,2017 ; Orliquet *et al.*, 2013). Elles sont utilisées lorsque la réaction inflammatoire se prolonge

▪ Anti-inflammatoires non stéroïdiens

C'est une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antalgique, antipyrétique (contre la fièvre) et antiagrégant plaquettaire pour certains (Haioun et Zohra, 2015). C'est une catégorie de médicaments renfermant des nombreuses molécules telles que le diclofénac, l'ibuprofène, l'aspirine et l'indométacine (Erdogan *et al.*, 2019 ; Hassan *et al.*, 2019 ; Katsinelos *et al.*, 2019).

- **Les anti-inflammatoires stéroïdiens**

Les anti-inflammatoires stéroïdiens constituent une classe des médicaments qui sont des dérivés synthétiques de la cortisone (Coutinho et Chapman, 2011). Parmi eux, on peut citer : le méthylprednisolone, le bêtaméthasone, la prednisone et la prednisolone (Dworski *et al.*, 1994 ; Bourbon *et al.*, 2004 ; Becker, 2013 ; Danielson *et al.*, 2018). Ce sont des puissants anti-inflammatoires très utilisés doués également de propriétés immuno-modulatrices et antiallergiques (Coutinho et Chapman, 2011).

4.3 Activités antibactériennes et antifongiques :

Selon l'organisation Mondiale de la Santé, l'émergence de nouvelles maladies infectieuses ces dernières années dans le monde (Morse, 1995 ; Spicuzza *et al.*, 2007) et le développement de résistances aux médicaments (Zhang & Yew, 2009) constituent aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement durable (OMS, 2018). A cela s'ajoutent l'apparition de virus mortels comme le virus Ebola qui a fait des ravages dans certains pays Africains notamment : la Guinée, le Libéria, la Sierra leonne et le Congo Démocratique et l'augmentation de l'incidence des infections fongiques ainsi que les risques de toxicité associés à l'utilisation excessive des médicaments et des antibiotiques de synthèse (Saluzzo *et al.*, 2004).

4.3.1 Les antibiotiques :

Le terme antibiotique est utilisé pour désigner tout agent antibactérien d'origine naturelle, synthétique ou hémi synthétique, agissant à faibles concentrations. Ce terme est largement réservé aux substances actives sur des bactéries. Celles agissant sur les virus sont désignées souvent comme antivirales (Swingleton et Sainsbury, 2006). Il faut mentionner que le terme antibiotique couvre un large groupe de composés dont l'activité peut s'exercer par deux mécanismes principaux : les antibiotiques qui stoppent la croissance des microbes, appelés bactériostatiques, et ceux qui les tuent sont appelés bactéricides. Certains antibiotiques peuvent être bactériostatiques dans certaines circonstances et concentrations, et bactéricides dans d'autres (Walsh, 2003).

4.3.2 Les principales classes d'antibiotiques :

Pour classer les antibiotiques, le critère le plus utilisé est la cible anatomique ou moléculaire au niveau de la bactérie. On compte quatre classes :

- Antibiotiques agissant sur la synthèse de la paroi bactérienne
- Antibiotiques agissant sur la synthèse des protéines par les bactéries
- Antibiotiques agissant sur la synthèse de l'ADN ou de l'ARN bactérien
- Antibiotiques agissant sur la synthèse des folates (Tortora et al., 2010)

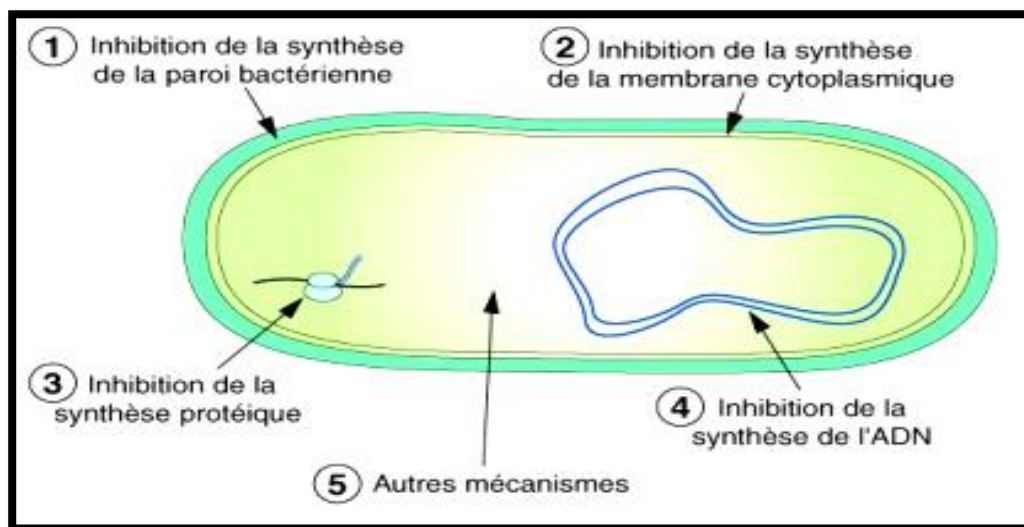


Figure 7 : Lieux d'action des antibiotiques dans la cellule bactérienne (Tortora et al., 2010)

5. Toxicité du camphre

La toxicité du camphre a été bien documentée. L'ingestion de 3,5 g de camphre peut entraîner la mort, tandis que 2,0 g ont des effets toxiques chez les adultes, entraînant une congestion du tractus gastro-intestinal, des reins et du cerveau. L'effondrement immédiat d'un nourrisson a été rapporté après l'application d'une petite dose aux narines (Arena, 1979). Chez l'homme, les symptômes caractéristiques de l'intoxication au camphre après l'ingestion sont les suivants : nausée, vomissements, maux de tête, vertiges, excitabilité musculaire provoquant des tremblements et des contractions musculaires, des convulsions

et du délire, selon la posologie. Dans les cas de surdosage grave, un état de mal épileptique persistant pendant plusieurs heures survient, provoquant finalement le coma et la mort par asphyxie ou épuisement (**Love et *al.*, 2003 ; International program on chemical safety**).

CHAPITRE 2 : Matériels et Méthodes

1.Lieu de stage :

Notre travail a été effectué au sein des laboratoires de centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC), institut de recherche à **bou Ismail, Algerie**, et les tests microbiologique ont été effectués au niveau de laboratoire d'hygiène de wilaya de Blida et laboratoire du groupe SAIDAL BIOTIC usine Médéa, le test antiinflammatoire a été effectué au niveau de Laboratoire pédagogique de la faculté de science de la nature et de la vie de Blida département vétérinaire ,le test antioxydant a été effectué au niveau de laboratoire pédagogique de la département chimie industrielle .

Notre stage pratique s'est étalé sur une période de 4 mois (mai-juillet 2021)

2.Materiel

2.1. Matériel végétal (fait par promotrice Mme Hamzi)

2.2. Souche microbiologique :

Les souches microbiennes sont procurées par le service de microbiologie du laboratoire d'hygiène de la wilaya du Blida, et de laboratoire de groupe SAIDAL BIOTIC usine Médéa, le nombre retenu est de 6 : 4 souche bactérienne et, 2 souche levure

Tableau 3 : les souches microbiennes testées

Souche microbiologique	Références ATCC	Type de souche
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	bactérie
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	bactérie
<i>Bacillus subtilisé</i>	ATCC 6633	bactérie
<i>Candida albicans</i>	ATCC 2601	levure
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 9763	levure
<i>Pseudo aeruginosa</i>	ATCC 9027	bacterie

2.3 Matériel non biologique :

Appareillage, accessoires de palliasse et les instruments biochimiques de laboratoire réactifs et solution (**Annexe 01**)

3.Méthodes**3.1 - extraction des huiles essentielle de camphrier**

L'extraction d'huile essentielle a été faite par la méthode hydrodistillation des feuilles sèches de plante durent 2h, à l'aide d'un appareil de type cleverger. Les vapeur charges d'huile en traversant un réfrigérant se condensent et sont récupérées dans une ampoule à décanter. L'huile récupérée est deshydratées par le sulfate de sodium et conserve a 4°C.

3.2 - Analyse chimique de l'huile essentielle par GC/SM**Principe :**

C'est une méthode d'analyse par chromatographe en phase gazeuse couplée au spectrométrie de masse, GC/SM, qui consiste en la détermination des masses des espèces atomiques ou moléculaires, elle donne des informations sur la nature, la composition et la structure des espèces présentes dans l'échantillon analysé et très utile pour les analyse de molécule.

3.3 - Évaluation des activités biologiques de HE camphrier :**3.3.1. Activité antioxydant (Annexe 02) :**

L'activité antioxydant de l'huile essentielle de camphrier a été évaluée in vitro par méthode d'inhibition du radical DPPH

En générale le pouvoir antioxydant d'une HE testée est estime par comparaison avec un antioxydant de synthèse qui est BHT

Principe :

Cette méthode reste largement utilisée pour évaluer activité antioxydant des extraits des plantes végétales. Elle vise à mesurer la capacité de l'huile à piéger le radical relativement stable, DPPH. Le piégeage des radicaux libres de DPPH provoque un changement de couleur de la solution initiale du violet fonce au jaune suite à la réduction du DPPH en DPPH-H. la mesure de l'activité anti radicalaire des extraits de plantes a été effectuée par le test au DPPH (**Parejo et al 2000**)

Mode opératoire :**• Préparation de la solution Méré de DPPH :**

Le DPPH est solubilise dans éthanol a raison de 4mg/100ml, sous agitation magnétique pendent 30 min a labris de l'oxygène et la lumière

- **Préparation de la différents concentration d'échantillon :**

100ul des extraits éthanolique de camphrier a différentes concentration (25,50,100,200ug/ml) sont ajoutés a 100ul de la solution de DPPH a l'aide d'une micropipette et la solution est bien mélangé Ce mélange a été conserve a température ambiante pendant 30 min dans un endroit sombre, après 20min incubation, absorbance du mélange a été prise a 517nm en utilisant spectrophotomètre UV-visible.

En parallèle, la solution éthanoïque d'un antioxydant de référence BHT a été préparé avec la même procédure et dans les mêmes conditions.

- **Expression des résultats :**

-Calcul des pourcentages inhibition :

-Le pourcentage inhibition du DPPH est calculé par formule suivante :

$$\%DPPH = \frac{Abs\ C - Abs\ E}{Abs\ C} * 100$$

%DPPH : Taux du DPPH piège

Abs C : Absorbance du contrôle (éthanol+ DPPH)

Abs E : Absorbance de l'échantillon

- **Calcul IC50 :**

Ce paramètre est défini comme la concentration antioxydant requise pour diminuer la concentration initiale de 50%

IC50 est calculé graphiquement par équation de la régression linéaire ($Y=ax+b$) du pourcentage inhibition en fonction de la concentration des extraits ou standard

3.3.2 Activité antimicrobienne :

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de camphrier a été évaluée in vitro par méthode aromatogramme (antibiogramme)

En générale le pouvoir antimicrobienne d'une HE testée est estime par comparaison avec un antibiotique de référence qui sont gentamicine pour bacterie et nystatine pour levure

. Principe :

Le principe consiste à estimer l'inhibition de la croissance des microorganisme mise en contact avec diffèrent concentration de l'HE par la méthode de la diffusion sur milieu gélosées disque absorbants de papier imprègnes HE

Les disque diffuse à partir du disque au sein de la gélose et détermine un gradient de concentration qui est la zone d'inhibition, plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible a HE, plus il est petit, plus la bactérie est résistance

. Mode opératoire :

- **Préparation de l'extrait :**

- À partir de solution mère extrait camphrier a 100%, nous préparons des séries de dilution a diffèrent concentration (50%,25%,12.5%) par DMSO

- **Préparation de l'inoculum :**

- **Préparation de la culture jeune :**

L'activité antimicrobienne doit être réalise sur des souches jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage a la surface de la gélose nutritive pré-coule dans des tubes. Ensuite incubée pendant 24h à 37°C pour les bactérie et 48h a 23°C pour les levures.

- **Préparation de la suspension**

À partir d'une culture jeune de 24h pour les bactéries et 48h pour les levures, nous préparons des suspensions, en prélevant 2 à 3 colonies bien isolées et identiques, que nous mettons dans 10ml d'eau physiologique stérile, puis nous agitons aux vortex : nous faisons une première lecture de la transmission avec le spectrophotomètre a une longueur d'onde de 620nm qui doit être entre 22% et 32% pour les bactéries et les levures. Cette valeur correspond à une concentration optimale de 10^7 à 10^8 germes/ml.

- **Écoulement du milieu de culture :**

Nous faisons fondre les milieux Muller Hinton et Sabouraud au bain-marie a 95°C : ensuite nous versons aseptiquement devant le bec bunsen une couche de 15ml des milieux dans des boites de pétri de 90mm de diamètre, nous laissons refroidir sur la pailleasse.

Ensemencement :

Après solidification des milieux, on introduit 15ul de l'inoculum à l'aide d'un écouvillon, on étale toute la suspension sur la gélose en stries serrées

• Dépôt de disque

À l'aide d'une pince stérile, nous prélevons un disque absorbant stérile de 6mm de diamètre et nous l'imbibons avec différentes concentrations d'extrait (100%, 50%, 25%, 12.5%) de camphrier et le témoin (gentamicine, nystatine), puis on dépose les disques imbibés à la surface du milieu gélose

• Incubation

Nous incubons les boîtes de pétrie à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à **23°C pendant 48h** pour les levures.

• Expression des résultats

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques imprégnés de la substance inhibitrice. Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibition.

Les diamètres des zones d'inhibition lorsqu'elles existent ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse.

Ils ont classé le pouvoir antimicrobien en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 04 classes :

- Fortement sensible lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 20mm
- Modérément sensible lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 10mm et 20mm
- Faiblement sensible lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 7mm et 10mm

3.3 Activité anti inflammatoire :

L'activité anti inflammatoire de l'huile essentielle de camphrier a été évaluée in vitro par la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines.

En générale le pouvoir anti inflammatoire d'une HE testée est estime par comparaison avec un témoin de médicament anti inflammatoire qui est la diclofenac sodium

- **Principe :**

Cette méthode reste largement utilisée pour évaluer activité anti inflammatoire des extraits des plantes végétales. Elle vise à mesurer la capacité de l'huile a inhiber la dénaturation de protéine, lorsque sérum bovine albumine (protéine) est chauffée et subit une dénaturation provoque un changement de couleur de la solution initiale du incolore au couleur fumée, elle exprime des antigène associe a une réaction hypersensible de type 3 expliquant qu'ils sont lie des maladie ou bien dénaturation de protéine (william et al 2008 ;sangita et al 2012).

- **Mode opératoire :**

- **Préparation de la réactif 0.5% bovine sérum albumine :**

-dissoudre 500mg de la sérum bovine albumine dans un 100ml d'eau distille

- **Préparation de la solution de l'échantillon testé :**

-0.45ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine ajoute avec 0.05ml d'extrait méthanoïque de camphrier

-0.45ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine ajoute avec 0.05ml de la solution de standard diclofenac sodium

- **Préparation de la solution contrôle**

0.45ml de la solution aqueuse de bovine sérum albumine ajoute avec 0.05ml réactif méthanol

-Tous les solutions préparer au-dessus sont incubes a 37C pendant 20min, ensuite la température est porte à 57C pendant 3min.apres refroidissement,2.5ml de tampon phosphate (ph=6.3), absorbance est mesure en utilisant un spectrophotomètre a 416nm

- **Expression des résultats :**

- Calcul des pourcentages inhibition :**

-Le pourcentage inhibition de la dénaturation de protéine (albumine) est calculé par formule suivante :

$$\%I = \frac{\text{Abs C} - \text{Abs E}}{\text{Abs C}} * 100$$

%I pourcentage inhibition de la dénaturation protéine

Abs C : Absorbance de la solution contrôle

Abs E : Absorbance de la solution essai (extrait)

CHAPITRE 3 : Résultat

Et discussion

1. Analyse chimique :

- **Tableau 4** : analyse chimique de l'huile essentielle (composant majoritaire)

	Camphor %	Linalole %	Cineole %	Borneol %	isonerodilole %
Alpha-thujene	0.14	0.07		0.18	
Alpha-pinene	1.29	0.12	1.65	2.01	0.08
camphene	1.55			1.51	0.25
Beta-pinene	0.77	0.05	6.92	0.81	0.06
sabinene	0.25	0.05	0.25	0.33	0.06
myrcene	0.35	0.08		0.93	0.10
Alpha-phellandrene	0.81	0.05		0.05	0.47
limonene	0.03	0.01		1.62	0.17
1,8 cineole	1.73	0.21	50.00	1.63	0.92
ocimene		0.09		0.07	0.03
Gamma-terpinene	0.19	0.30		0.16	0.04
p-cymene	0.02	0.01	1.12	0.16	0.03
terpinolene	0.03	0.02	0.03	0.08	0.05
camphre	83.87	0.47	0.25	2.95	0.31
linalol	0.53	90.57	2.02	0.92	2.31
Alpha-copaene	0.45	0.11	0.23	0.72	0.14
Borneyl acetate	0.60	0.18	3.14	0.51	0.03
carryophyllene	0.75	1.99	0.20	0.93	1.42

Terpen-4-ol	0.02	0.04	0.11	0.03	1.27
Citronellyl acetate	0.50		0.15	0.03	0.09
Beta-bisabolene	0.13		1.73	0.63	

Nous avons constaté que HE du camphrier est très riche en sesquiterpenes et monoterpenes avec in abondance de 22 compose majoritaire

D'autre chercheur (**Pragadheesh et al, 2013**) ont rapporté sur le type de camphre dans lequel les distillats de feuilles de *C. camphora* contenaient environ 74% de camphre, et moins de 5% dans l'ensemble était moins de 5 % par les autres composants principaux. Dans le type bornéol, (**Shi et al, 2013**) ont identifié 11 sortes de monoterpènes, 5 sortes de sesquiterpènes, et 4 sortes d'oxyterpènes, tels que le (+) -bornéol (66,8%), le 1,8-cinéole (4,1%), le camphre (0,8%) et l'-terpinéol (0,4%).

Les oxyterpènes constituaient le groupe dominant, occupant 72,2 % de l'huile volatile des jeunes feuilles. Les autres composés comprenaient les monoterpènes (24,4 %), principalement le -camphène, -pinène, et -myrcène, et des sesquiterpènes (2,8%), tels que le trans-caryophyllène, l'humulène, et -élemène

(**Xu et al,2020**) ont rapporté que le composant principal de l'EOC était le 1,8-cinéole (53,5%), suivi de l'-terpinène (17,4 %), de l'-terpinéol (9,5 %) et du (1R) --pinène (4,7 %), en plus de constituants mineurs. (**Chen et al, 2020**) ont identifié le linalol (26,6 %), le 1,8-cinéole (16,8 %), l'-terpinéol (8,7 %), isobornéol (8,1 %), -phellandrène (5,1 %) et camphre (5,0 %) comme principaux constituants. Dans l'EOC de la feuille. Satyal et al [10] ont trouvé que l'huile de feuille de *C. camphora* de Makwanpur.

2. Evaluation activité antimicrobienne :

Les résultats de l'activité antimicrobienne d'extrait de camphrier sont exprimés dans le (tableau 5)

Tableau 5 : diamètres des zones d'inhibition (en mm) des souches bactériennes provoquées par les extraits *cinnamomum camphora*.

	Témoin (gentamicine/ Nystatine)	HE a 100%	HE a 50%	HE a 25%	HE a 12.5%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40mm	0	0	0	0
<i>Bacillus subtilis</i>	36mm	12mm	10mm	10mm	10mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	31mm	19mm	19mm	18mm	16mm
<i>Candida albicans</i>	15mm	14mm	11mm	10mm	10mm
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	13mm	20mm	16mm	12mm	11mm

Nous avons étudié in vitro le pouvoir antimicrobienne d'extrait de camphrier par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélose solide Mueller Hinton pour les bactérie et saburraux pour les levures. L'activité antimicrobienne d'extrait de camphrier est estimée en termes de diamètres de la zone inhibition autour des disques contenant l'extrait a testes vis-à-vis des 3 souche bactériennes et 2 levures.

L'HE de camphrier a présente, in vitro une bonne activité inhibitrice sur la croissance de plusieurs souches bactériennes obtenus entre 10mm et 19 mm sauf *Pseudomonas aeruginosa* qui n'obtenue aucune zone inhibitrice pour les disques imbibés dans HE, et on remarque que

tous les souches bactériennes sont apparues sensible face au antibiotique de référence (gentamicine) avec des zones d'inhibition supérieures à celles de HE à différentes concentrations

Les résultats obtenus montrent que HE camphrier a une activité antimicrobienne importante vis-à-vis des souches test parmi les bactéries *Staphylococcus aureus* a été inhibée par HE étudiées avec 19mm

Dans le nôtre cas nous remarquons que HE a inhibé fortement la croissance *Staphylococcus aureus* 19mm à concentration 100% puis *Bacillus* 13mm à concentration 12.5%

Concernant les souches fongiques sont apparues sensibles face aux antibiotiques (nystatine) avec des zones d'inhibition inférieures à celles de HE à différentes concentrations camphrier

Concernant les souches fongiques sont apparues sensibles face aux antibiotiques (nystatine) avec des zones d'inhibition inférieures à celles de HE à concentration 100%, 50% pour *Saccharomyces cerevisiae* et contrairement pour la souche *Candida albicans*

Certains chercheurs ont observé un effet antimicrobien synergique des constituants des HE (Viljoen, A et al 2003, Poudel et al 2021).

Ont suggéré que l'effet antimicrobien de l'HE de bois contre *S. marcescens* pourrait être dû à une synergie entre les principaux constituants de l'HE (camphre, 1,8-cinéol, α -terpinol et safrole) et d'autres composants. Viljoen et al.

Ont montré qu'une combinaison de 1,8-cinéole et de camphre produisait une interaction synergique et améliorait l'effet antimicrobien. L'effet antimicrobien sur *Candida albicans* Chen et al. Ont démontré que l'huile essentielle isolée des feuilles de *C. camphora* par hydrodistillation avait une activité efficace contre *Staphylococcus aureus* (CMI = 8,0 g/mL), *Enterococcus faecalis* (CMI = 3,2 g/mL), *Bacillus subtilis* (CMI = 0,8 g/mL), *Salmonella enterica gallinarum* (CMI = 1,6 g/mL) et *Escherichia coli* (CMI = 0,8 g/mL).

Ces résultats sont confirmés par d'autres travaux dans lesquels l'HE de la feuille a démontré une plus forte capacité d'inhibition contre (*E. coli* et *P. aeruginosa*) que les bactéries Gram-positives (*S. aureus* et *B. subtilis*) (Zhou et al, 2016).

L'activité des extraits aqueux des feuilles de *C. camphorier* a été inhibée par un traitement de 5 % contre les champignons des bois Ph. traitement de 5% pour les champignons des bois

Phanerochaete chrysosporium, Gloeophyllum traveum, Penicillium purpogenum, Trichoderma harzianum et A. fumigatus (Wang ,J et al 2020) .

Un champignon de la teinture du bois (Botryodiplodia theobromae) a également été supprimé lorsque la concentration a été portée à 10 % (Wang ,J et al 2020). Les auteurs ont expliqué que l'effet antimicrobien de l'extrait aqueux pourrait être dû à sa composition, qui comprend 76 % d'eau. Dû à sa composition, qui comprenait 76,2 % de D-camphre et des constituants mineurs, comme le l'acide 3méthyl-2-buténoïque (8,6%), le 1,8-cinéole (4,7%) et le 1,6-octadiène-3-ol (4,5%).



Figure 8 : résultat aromatochrome de souche *Bacillus subtilis*

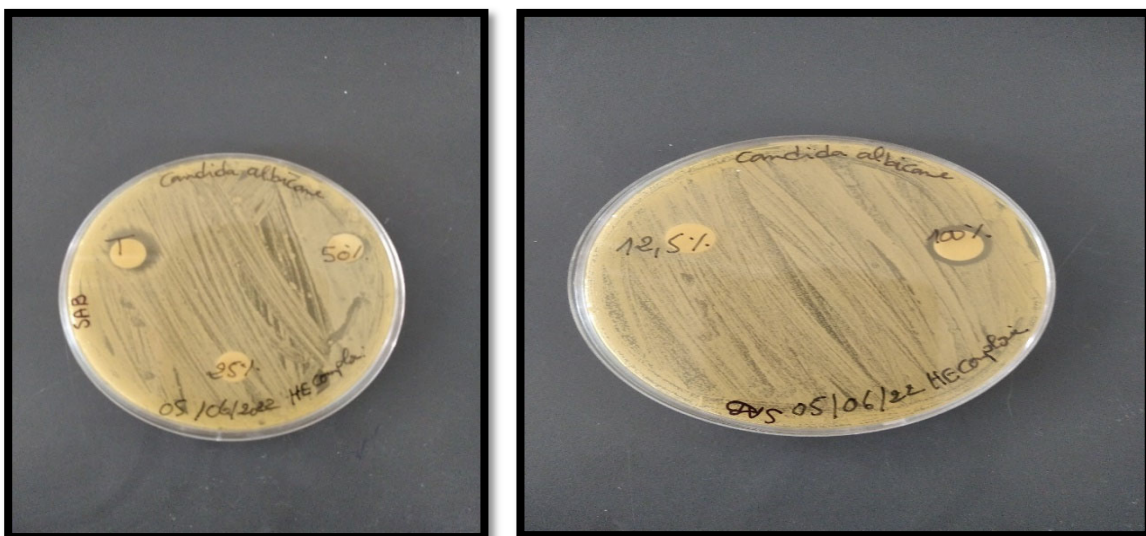


Figure 9 : le résultat aromatochrome de souche *Candida albicans*



Figure 10 : le resultat antibiogramme de souche *staphylococcus aureus*

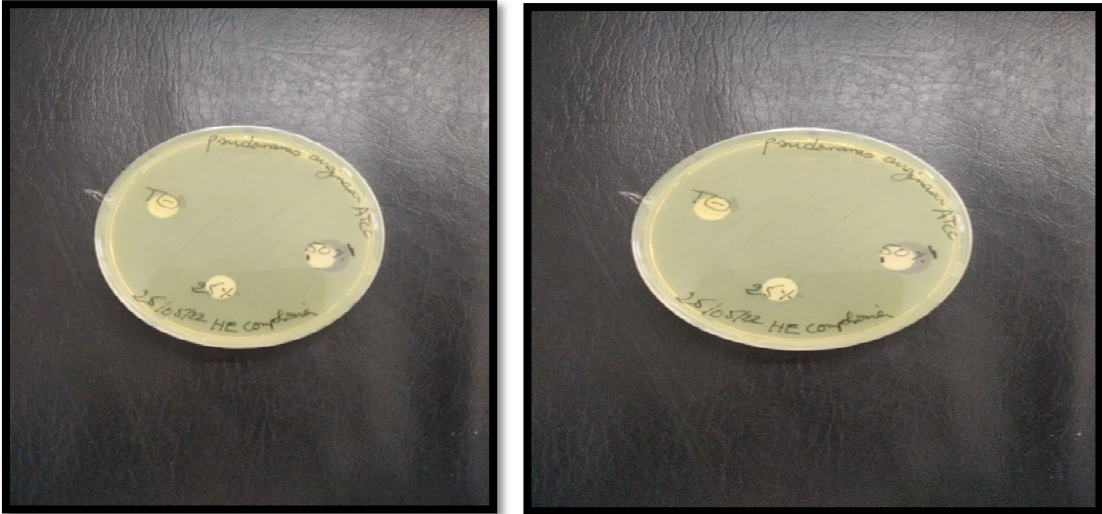


Figure 11 : le résultat antibiogramme de souche *Pseudomonas aeruginosa*

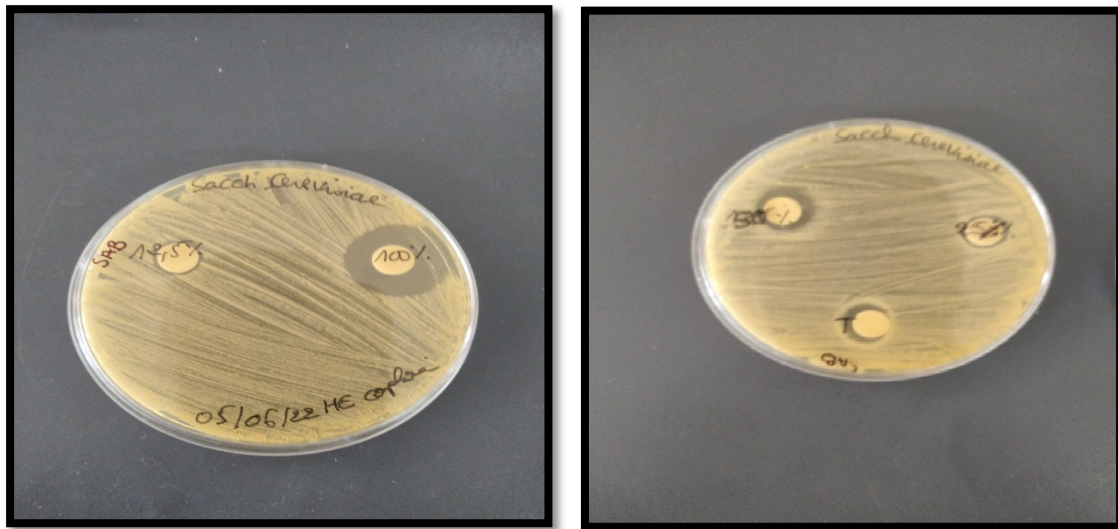


Figure 12 : le résultat aromatogramme de souche *saccharomyces cerevisiae*

3. Évaluation activité antioxydant

L'activité antioxydant est l'une des principales capacités recherche dans les HE pour cela nous avons évalué l'activité antioxydant de notre extrait en utilisant la méthode de DPPH les résultats obtenus sont exprimés dans le graph 2 exprime en pourcentage d'inhibition du DPPH est comparé avec un antioxydant synthèse BHT.

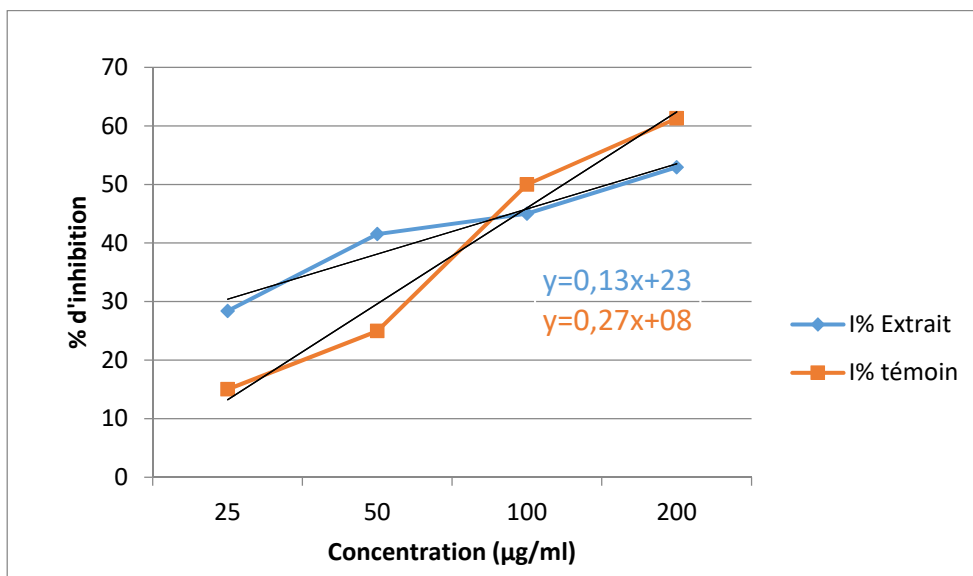


Figure 13 : pourcentage d'inhibition d'extrait camphrier et de BHT

Pour cette étude, activité antioxydant de l'extrait camphrier a été évalué par la mesure le taux de DPPH après ajoute des extraits éthanoïque de camphrier a différent concentration avec BHT

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour BHT ou pour HE camphrier, il est a déduire alors que activité anti radicalaire est proportionnelle à la concentration de extrait éthanoïque du camphrier

La détermination IC50 :

IC50 est inversement lie à la capacité antioxydant d'un compose car il exprime la quantité antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50% plus la valeur IC50 est basse plus l'activité antioxydant d'un compose est grand, les valeurs IC50 détermine graphiquement en ug/ml expriment la concentration efficace de extrait camphrier sont présente dans tableau

Tableau 6 : IC50 d'extrait cinnamomum camphora et de BHT (témoin) pour l'inhibition du DPPH

	IC50
BHT	100 ug/ml
HE camphrier	162.5 ug/ml

HE camphrier ramené le radical libre stable DPPH jaune colore avec un IC50 de 162.5 ug/ml montrent une activité antioxydant inferieur à celle de BHT (témoin) donc l'huile camphrier est antioxydant efficace avec un IC50 de 162.5 ug/ml.

D'autre chercheur Comme il a été mentionné plus haut, l'huile de noyau de graine de C. camphora a augmenté l'activité antioxydant et réduit la concentration de malondialdéhyde (un biomarqueur de la peroxydation lipidique et du stress oxydatif) lipidique et du stress oxydatif chez les rats soumis à un régime alimentaire en augmentant la concentration de la superoxyde dismutase et de catalase (Fu, J. et al 2016) Liu et al. (Liu, Z et al, 2019) ont démontré la propriété antioxydant in vitro de l'extrait de flavonoïdes. Des flavonoïdes extraits des feuilles de C. camphora. Les flavonoïdes ont montré une augmentation dose dépendante de l'activité antioxydant.

L'augmentation de l'activité antioxydant, mesurée par l'analyse des radicaux libres 1,1-diphényle-2-picrylhydrazyl (DPPH) et le test du pouvoir antioxydant réducteur ferrique, avec des résultats remarquables par rapport à ceux obtenus par le test du pouvoir antioxydant.

Avec des résultats remarquables par rapport aux antioxydants commerciaux.

Des findings similaires ont été rapportés par Lee et al. La plus grande partie de l'effet antioxydant/purgeur de radicaux libres a été observé dans l'extrait de butanol (dans l'essai DPPH) et l'extrait d'éthanol (dans l'essai d'activité de xanthine oxydase) de *C. camphora*, avec des CI50 de 14 et 15g/mL, respectivement.

4.Evaluation activité anti inflammatoire :

D'après le figure ci-dessus les résultats ont montré un effet inhibition de la dénaturation de BSA, extrait brut des feuille camphrier légèrement plus important a celui du standard de comparaison le diclofenac sodium

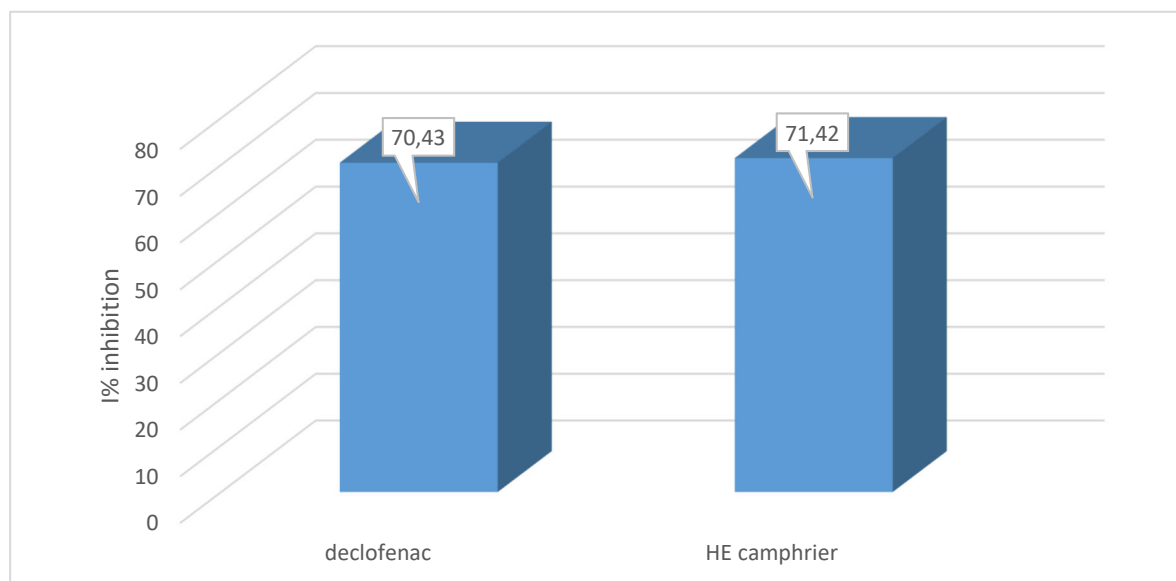


Figure 14 : histogramme de pourcentage d'inhibition d'extrait camphrier et le diclofenac

Le pourcentage inhibition de la dénaturation des protéines par extrait de camphrier est de 71.42% comparant a celui obtenu pour le diclofenac sodium un médicament anti inflammatoire utilise comme standard qui exerce un pourcentage inhibition de 70.43%

On peut conclure que notre plant étudié camphrier possède un effet anti dénaturation maximal observe pour BSA qui a été comparé avec diclofenac sodium lui aussi montre un pourcentage inhibition maximal marque in vitro contre la dénaturation des protéine BSA.

Les HE sont depuis longtemps prescrits par la médecine traditionnelle pour le traitement des maladies liées à l'inflammation, telles que les rhumatismes, les bronches et les douleurs musculaires.

Comme les rhumatismes, les bronchites et les douleurs musculaires. Lee et al.(**Shi,S et al 2013**) ont rapporté que l'extrait éthanolique de *C. camphora* bloquait la production d'interleukine (IL)-1_α, IL-6, et du facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) des cellules RAW264.7 stimulées par le lipopolysaccharide.

Une autre étude a suggéré l'HE comme un traitement naturel de l'inflammation cutanée et la possibilité d'appliquer des plantes médicinales pour traiter diverses autres maladies liées à l'inflammation. Liées à l'inflammation. Xiao et al.(**Xiao,S et al 2021**) ont étudié l'activité anti-inflammatoire du borneoltype EOC in vitro (test de stabilité de la membrane érythrocytaire humaine) et in vivo (modèle murin d'inflame aiguë).

La nano-émulsion d'huile essentielle a inhibé l'hémolyse des érythrocytes induite par la chaleur hémolyse induite par la chaleur (IC₅₀ = 5,29 mg/mL) et l'hémolyse érythrocytaire induite par une solution hypotonique.

(CI₅₀ = 0,26 mg/mL). De plus, l'administration topique unique et répétée du EOC sur les oreillettes des souris a réduit le gonflement des oreillettes induit par le xylène. Cette action anti-inflammatory Cette action anti-inflammatoire de *C.*

camphora est connue pour être due à la sécrétion de cytokines et au contrôle de l'inflammation médiée par les macrophages. Inflammation (IL-1_α, IL-6, et TNF- α).

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Conclusion et perceptives

La thérapie via les plantes médicinales constitue un vrai patrimoine d'être humain dans le domaine de la sante publique ou la diversité en propriétés pharmacologique et biologique sont liaient certainement aux vertus thérapeutiques attribuées à une gamme extraordinaire de molécules bioactives synthétise par la plante

Dans cette travail nous nous sommes intéressés à extraire l'huile essentielle de *cinnamomum camphora* par Hydrodistillation, méthode de choix pour l'extraction des huiles essentielles nous a permis de montrer que la plante camphrier est riche en essence

L'étude des caractéristiques physicochimiques de l'huile essentielle a permis de mettre en évidence sa conformité aux normes établies, elle se distingue par une densité relative, un indice de réfraction, et un indice de peroxyde, indice d'acide globalement comparable a ceux donnes par la pharmacopée française

Nous avons également réalise une CG-SM pour détermine les composants bioactifs qui sont responsables a là cette activité biologique

Les résultats obtenues montrent que *cinnamomum camphora* a eu une activité antioxydante remarquable et proche aux standard BHT via le test DDPH

Par ailleurs, on prend en considération que *cinnamomum camphora* possède une activité antiinflammatoire par le test anti-dénaturation de protéine SBA

En outre, l'étude de l'activité antimicrobienne d'huile essentielle *cinnamomum camphora* évaluée par la méthode aromatoigramme a testes que l'huile essentielle est très active contre les souches fongiques, et les souches bactériennes

Des travaux souhaitables a l'avenir :

- ✓ Etude plus approfondies des composants présents dans *cinnamomum camphora*
- ✓ Etude d'autres propriétés biologiques de la plante

Au final, les résultats obtenus ainsi que les perspectives proposées vont permettre d'ouvrir de nouvelles voies dans le domaine thérapeutique

Références bibliographique

Références bibliographique

Reference bibliographie :

- **Applebaum, B., DiSorbo, D., (2012).** The Book of Beer Pong : The Official Guide to the Sport of Champions. Chronicle Books.
- **Arena, J.M., (1979).** Poisoning: Toxicology, Symptoms, Treatments, 4th ed.; CC. Thomas: Springfield, IL, USA.
- **Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P.,** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Masson, Paris, 1995.
- **Bakasso S.** Etudes phytochimiques et potentialités biologiques de cinq espèces d'indigofera (fabaceae) utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso. thèse de doctorat en sciences biologiques appliquées, Université de Ouagadougou, Burkina Faso, 2009. 154 p
- **Becker DE.** Basic and clinical pharmacology of glucocorticosteroids. *Anesthesia Progress.* 2013;60(1):25—32.
- **Bhawana srivastava , priyanka singh, Anand sagar and NK dubey (2009).** A study to evaluate the physicochemical properties and phytochemical constituents of five Aromatic plants 171005-221005
- **Botineau, M., Pelt, J.M., (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed. Tec & Doc.
- **Bourbon A, Vionnet M, Leprince P, Vaissier E, Copeland J, McDonagh P, Debre P, Gandjbakhch I.** The effect of methylprednisolone treatment on the cardiopulmonary bypass-induced systemic inflammatory response. *European journal of cardio-thoracic surgery.* 2004;26(5):932—938.
- **Brickell, C., Zuk, J., (1997).** American Horticultural Society: The American Horticultural Society A-Z Encyclopedia of Garden Plants. American Horticultural Society Practical Guides. DK Pub
- **Burrow, A., Eccles, R., Jones, A.S., (1983).** *The effects of camphor, eucalyptus and menthol vapour on nasal resistance to airflow and nasal sensation. Acta Otolaryngol,* 96,157–161.
- **Chen, J.; Tang, C.; Zhang, R.; Ye, S.; Zhao, Z.; Huang, Y.; Xu, X.; Lan, W.; Yang, D.** Metabolomics analysis to evaluate the antibacterial activity of

Références bibliographique

- the essential oil from the leaves of *Cinnamomum camphora* (Linn.) Presl. *J. Ethnopharmacol* 2020, 253, 112652.
- **Chen, Z-H., Wu, B., Li, J-Y., Zhao, J-G., Zhou, X-Y. and Zhang, Y-K. (2004).** Germination of the seeds and growth of seedlings of *Cinnamomum camphora* (L.) Presl. *Plant Species Biology*; 19, 55-58.
 - **Constantin E.,** Spectrométrie de masse, Lavoisier Tec & Doc, Paris, 1996, 1-14.
 - **Conway Duever, L., (2000).** Floridata: *Cinnamomum camphora*. URL http://www.floridata.com/ref/c/cinn_cam.cfm.
 - **Coutinho AE, Chapman KE.** The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, récent développements and mechanistic insights. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2011;335(1):2—13.
 - **Csurhes, S., Edwards, R., (1998).** National weeds program, potential environmental weeds in australia, candidate species for preventative control. National Parks and Wildlife Biodiversity Group, Environment Australia, Canberra
 - **Danielson M, Reinsfelt B, Westerlind A, Zetterberg H, Blennow K, Ricksten SE.** Effects of methylprednisolone on blood-brain barrier and cerebral inflammation in cardiac surgery—a randomized trial. *Journal of Neuroinflammation*. 2018;15(1):283.
 - **-Donkin, R.A., (1999).** Dragon’s brain Perfume: An Historical Geography of Camphor; Koninklijke Brill: Leiden, The Netherlands; p. 141.
 - **Du B,Zhu F,Xu B.** An insight into the anti-inflammatory properties of edible and medicinal mushrooms.*Journal of Functional Foods*.2018 ;47 :334-342
 - **Dworski R, Fitzgerald GA, Oates JA, Sheller JR.** Effect of oral prednisone on airwayinflammatory mediators in atopic asthma. *American Journal of Respiratory and Critical CareMedicine*. 1994;149(4):953—959.
 - **Erdogan B,Is M,** Akter FV,Emon ST,Engin T,Akrar EA,Sayman E, somay H. preventative effect of diclofenac sodium and/or diltiazem in rats with epidural fibrosis *Bratislavske Lekarske Listy* .2019 ;120(11) :813-818
 - **Farhat, A. (2010).** Vapo-diffusion assistée parmicro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences

Références bibliographique

- des Procédés, Sciences desAliments), Université d'Avignon et des Pays deVaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieursde Gabès (Tunisie).
- **Faucon M.** traite daromatherapie scientifiques et medicale. Sang de la terre(2012).880p
 - **Favier A.** le stress oxydant : Interet conceptuel et exprimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel therapeutique.Actualite chimique.2003 ;(11-12) :108-115
 - **Favier A.** stress oxydant et pathologie humaines.In Annales pharmaceutiques francaises,Elsevier Masson,France 2006.64(6) :390-396p
 - **Fofana S.**Etude des effets antiradicalaire et anti-lipoxygenases des extraits de Erythrina senegalensis DC(Fabaceae). Diplôme etude approfondis en pharmacologie appliquee ,Universite de Ougadougou,Burkina Faso,2011.107p
 - **Frizzo, C. D., Santos, A. C., Paroul, N., Serafini, L. A., Dellacassa, E., Lorenzo, D., Moyna, P., (2000).** Essential oils of camphor tree (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm) cultivated in southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*; 43 (3), 313-316.
 - **Geng Y,Zhus S,Lu Z,Xu H,Shi JS ,Xu ZH.** Anti inflammatoiry activity of Mycedial Extracts from Medicinal Mushrooms.International Journal of medicinal Mushroom.2014 ;16(4) :319-325
 - **Gutteridge JM.** Free radicals in disease processes :a compilation of cause and consequence free Radic Research Communication.1993 ;19(3) :141-158
 - **Haioun A,Zohra HF.** Activite antioxydante et anti-inflammatoire de la plante medicinale Algerienne Anethium graveolens et leur effet cardioprotectrice contre la toxicite de la Anthume Graveolens.Memoire de master,Universite des Freres Mentouri constantine ,Algerie ,2015.29-36p
 - **Hajjaj G.** screening phytochimique,etude toxicologique et valorisation pharmacologique de matricaria chamomilla l.et de lormenis mixta l.these de doctorat,Universite Mohammed V,Maroc,2017.216p
 - **Haleng J,Pincemail J,Defraigne JO, Charlier C,Chapelle JP.**le stress oxydant.Revue Medicale de Liege.2007 ;62(10) :628-638
 - **Hassan GS,Hegazy GH,Ibrahim NM,Fahim SH.**New ibuprofen derivatives as H2S and NO donors as safer anti inflammatory agents.Future Medicinal chemistry.2019 ;11(23) :3029-3045

Références bibliographique

- **Hattori, A, (2001).** Camphor in the Edo era fireworks. *Yakushigaku Zasshi*, p 36, 27–31.
- **Ighodaro OM, Akinloye OA.** First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX) : Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*. 2018 ;54(4) :287-293
- **Irshad, M ; Subhani, M.A ; Ali, S ; Hussain, 2019.** A biological Importance of Essential oils .In *Essential oils : Oils of Nature ; BoD-Books on Demand : Norderstedt, Germany*
- **Islam S, Moyen Uddin PKM.** Antihyperglycemic activity of edible mushroom, *Lentinus edodes* in alloxan induced diabetic swiss albino mice .*International Journal of Pharmaceutical and clinical Research*. 2014 ;6(2) :121-126
- **Jantan, I., Goh, S. H. (1992).** Essential oils of *Cinnamomum* species from peninsular. Malaysia. *Journal of Essential Oil Research*; 4, 161-171.
- **Jiang, X ; Wu, Y ; Xiao, F ; Xiong, Z ; Xu, H.** transcriptome analysis for leaves of five chemical types in *cinnamomum camphora* .*Yi chuan Hered*. 2014, 36, 35-68.
- **Juteau, F., Masotti, V., Bessièrè, J.M., Dherbomez, M., Viano, J., (2002).** Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fitoterapia*, p 73, 532–535.
- **Katsinelos P, Lazaraki G, Anastasiadis S, Chatzimavroudis G, Katsinelos T, Terzoudis S, Gatopoulou A, Doulberis M, Papaefthymiou A, Kountouras J.** The impact of selective serotonin receptor inhibitors on post-endoscopic sphincterotomy bleeding, alone or with concurrent aspirin or nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Annals of Gastroenterology*. 2019;32(6):614—619.
- **Kopp, A., (2012).** Travaux récents sur la culture du camphrier et la production du camphre. *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, 2(15):636–643, 1922. ISSN 0370-3681.
- **Kumar, M., Ando, Y., (2003).** Single-wall and multi-wall carbon nanotubes from camphor—a botanical hydrocarbon. *Diamond Relat. Mater*, p 12, 1845–1850.

Références bibliographique

- **Li, Y.S., Zou, H.Y., (2001).** Insecticidal activity of extracts from. *Eupatorium adenophorum* against four stored grain insects *Entomol. Knowl*, 38, 214–216.
- **Liebelt, E.L., Shannon, M.W., (1993).** Small doses, big problems: A selected review of highly toxic common medications. *Pediatr. Emerg. Care*, p 19, 292–297.
- **Liu, W., (2005).** Terpenes: The expansion of chiral pool. In *Handbook of Chiral Chemicals*, 2nd ed.; Ager, D.J., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA; p. 65.
- **Love, J.N., Sammon, M., Smereck, J., (2003).** Are one or two dangerous? Camphor exposure in toddlers. *J. Emerg. Med*, p 27, 49–54.
- **Lucchesi, M. E. (2005).** Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, France.
- **Lucchesi, M. E., Chemat, F., & Smadja, J.(2004).** Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2), 323-327.
- **Mansard, (2016).** Le camphrier : étude botanique, chimique et biologique de ses huiles essentielles. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie par Michaël MANSARD.
- **Mebirouk R.** Recherche et evaluation des activites biologiques de trois extraits *Helix aspersa* :Activites anti-inflammatoire,anti tumorale et anti-angiogenique.These de doctorat.Universite des freres Mentouri constantine,Algerie,2017.172p
- **Migdal C,Serres M.** especes reactives de l'oxygène et stress oxydant.*Medecin/science*.2011 ;27(4) :405-412
- **Morse SS.** Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerging Infectious Diseases*. 1995;1(1):7—15.
- **Olivero-Verbel, J., González-Cervera, T.,Güette-Fernandez, J., Jaramillo-Colorado, B., & Stashenko, E. (2010).** Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(4), 568-574.

Références bibliographique

- **OMS. Organisation Mondiale de la Santé** :<http://www.who.int/fr/newsroom/factsheets/detail/r%C3%A9sistance-aux-antibiotiques>(consulté le 07/07/2018).
- OMS202 prespectives politiques de OMS sur les medicament. Medecine traditionnelle : besoins croissants et potentiel Geneve
- **Orliquet G, Gall O, Benabess-Lambert F.** Nouveautés concernant les anti-inflammatoires stéroïdiens et non stéroïdiens. Le praticien en Anesthésie Réanimation. 2013 ;17(5) :228-237
- **Paquereau, J., (2013).** Au jardin des plantes de la Bible : Botanique, symboles et usages. Forêt privée Française.
- **Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., & Zachariah, T. J. (2008).** Chemistry of spices.
- **Patri, G., Silano, V., Anton, R., (2006).** Plantes dans les cosmétiques, volume 3. Council of *Europe*.
- **Pharmacopée Européenne. (2007).** Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM), Strasbourg, France.
- **pongevialle P.,** Spectrométrie de masse des substances organiques, Masson, Paris, 1981, 3-14 et 83-98.
- **Pragadheesh, V.; Saroj, A.; Yadav, A.; Chanotiya, C.; Alam, M.; Samad, A.** Chemical characterization and antifungal activity of Cinnamomum camphora essential oil. Ind. Crops Prod. **2013**, 49, 628–633.
- **Raaman, N. (2006).** Phytochemical techniques. New India Publishing, New Delhi, Inde.
- **Rathore H. Prasad S,** sharma S mushroom nutraceuticals for improved nutrition and better human health : A review. PharmaNutrition 2017 ;5(2) :35-46
- **Ravindran, K. Nirmal-Babu, Shylaja M., (2003).** Cinnamon and cassia : the genus Cinnamomum. CRC press.
- **Rinaldo, R., (2012).** Certification, biocomplexité et valorisation des Lauracées de Guyane française. Thèse de doctorat de chimie, Université des Antilles et de la Guyane.

Références bibliographique

- **Ritter, M., Reimer, J.** Ufei - selectree Cinnamomum camphora tree record, 1995-2015. URL <https://selectree.calpoly.edu/tree-detail/cinnamomum-camphora>.
- **Rivière, C., Nicolas, J.P., Caradec, M.L., Desirea, O., Dinl A.H., Rémy, G., Delelis, A., Dupont, F., (2005).** Importance de l'identification botanique dans la démarche ethnopharmacologique; cas d'une bignoniaceae malgache, *perichlaena richardii* baill. *Acta botanica gallica*, 152(3) : 377–388.
- **Rohde, PD, Gaertner, B., Ward, K., Sørensen, P., Mackay, TFC.,(2017).** Analyse génomique de l'interaction génotype par environnement social pour le comportement agressif de *Drosophila melanogaster*. *Génétique* 206 (4) : 1969-1984.
- **Sanchez C.** Reactive oxygen species and antioxidant properties from mushroom. *synthetic and Systems Biotechnology*. 2017 ;2 :13-22
- **Schenk, JR., (2009).** 'Phytochemistry, allelopathy and the capability attributes of camphor laurel (*Cinnamomum camphora* (L.) Ness & Eberm.)', PhD thesis, Southern Cross University, Lismore, NSW. Copyright JR Schenk.
- Sangita, C et priyanka, C. (2012). Evaluation of in-vitro anti-inflammatory. Vol.2(supp11), pp.1-178-180
- **Schenk, JR., (2009).** 'Phytochemistry, allelopathy and the capability attributes of camphor laurel (*Cinnamomum camphora* (L.) Ness & Eberm.)', PhD thesis, Southern Cross University, Lismore, NSW. Copyright JR Schenk.
- **Serrato-Valenti, G., Bisio, A., Cornara, L., & Ciarallo, G. (1997).** Structural and histochemical investigation of the glandular trichomes of *Salvia aurea* L. leaves, and chemical analysis of the essential oil. *Annals of Botany*, 79(3), 329-336.
- **Seyoum, A., Killeen, G.F., Kabiru, E.W., Knolls, B.G.J., Hassanali, A., (2003).** Field efficacy of thermally expelled or live potted repellent plants against African malaria vectors in western Kenya. *Trop. Med. Int. Health*, p 8, 1005–1011.
- **Shi, S.; Wu, Q.; Su, J.; Li, C.; Zhao, X.; Xie, J.; Gui, S.; Su, Z.; Zeng, H.** Composition analysis of volatile oils from flowers, leaves and branches of *Cinnamomum camphora* chvar. Borneol in china. *J. Essent. Oil Res.* **2013**, 25, 395–401.

Références bibliographique

- **Shi, X., Zhang, C., Liu, Q., Zhang, Z., Zheng, B., Bao, M., 2016.** De novo comparative transcriptome analysis provides new insights into sucrose induced somatic embryogenesis in camphor tree (*Cinnamomum camphora* L.). *BMC Genomics* 17, 26. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2357-2358>
- **Spicuzza L, Spicuzza A, La Rosa M, Polosa R, Di Maria G.** New and emerging infectious diseases. *Allergy and Asthma Proceedings*. 2007;28(1):28—34.
- **Stubbs,B.J ;Specht,A ;Brushett,D.**the essential oil of cinnamomum camphora Nees and Ebern-variation in oil composition throughout the tree in two chemotypes from eastern Australia.*J.Essent.Oil Res*, 2004 ;16,200-205
- **Trimen, H., Bentley, R., (1880).** Medicinal plants. Being descriptions with original figures of the principal plants employed in medicine and an account of the characters, properties,and uses of their parts and products of medicinal value., volume3. J. London & A. Churchill.
- **U.S. National Plant Germplasm System (2013).** *Cinnamomum camphora* information from npgs. URL <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx>.
- **U.S. National Plant Germplasm System, (2013).** U.S. National Plant Germplasm System : *Cinnamomum camphora* information from npgs, 2013. URL <https://npgsweb.arsgrin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx>.
- **Van Wyk, B.E., Van Oudtshoorn, B., Gericke, N., (2009).***Medicinal plants of South Africa, 2nd ed.; Briza Publications: Pretoria, South Africa; p. 92.*
- William, L,, O connar, A., latore, L., Dennis,O et Ringer, S. (2008). ANTI-inflammatory. *West indian Med j.* Vlo.57,pp.327-331.
- **Walter, S., Judd, C. S., Campbell, E.A., Kellogg, Stevens, P., (2002).** Botanique systématique : Une perspective phylogénétique. De Boeck Supérieur.
- **Wanyang, S., Wei, H., Guangyu, W., (1989).** Study on chemical constituents of the
- **Xu, Y.; Qin, J.; Wang, P.; Li, Q.; Yu, S.; Zhang, Y.; Wang, Y.** Chemical composition and larvicidal activities of essential oil of *Cinnamomum camphora* (L.) leaf against *Anopheles stephensi*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*2020, 53, e20190211.

Références bibliographique

- **Zhang Z, Lv G, Pan H, Wu Y, Fan L.** Effects of different drying methods and extraction condition on antioxidant properties of Shiitake (*Lentinus edodes*). Food Science and Technology Research. 2009;15(5):547—552.

Annexe

Annexes

Annexe 01 :

1. Matériel non biologiques

. Réactifs chimique :

Plusieurs réactifs chimique et solvants ont été utilisé dans expérience, parmi ces produits :

-Méthanol

-Ethanol

- Eau distille

-DMSO

-HCL

- DPPH

-BHT (butyle hydroxy toluène)

-diclofenac sodium

-BSA (sérum bovine albumine)

-tampon phosphate

- Eau physiologique

-Milieu culture (test microbiologique)

2. Parmi l'appareillage utilise :

-spectrophotomètre UV-visible

- bain marie,

-Étuve,

-Balance,

Annexes

-PH-mètre,

-vortex

-clevenger

-GC/SM

3- Materiel biologique

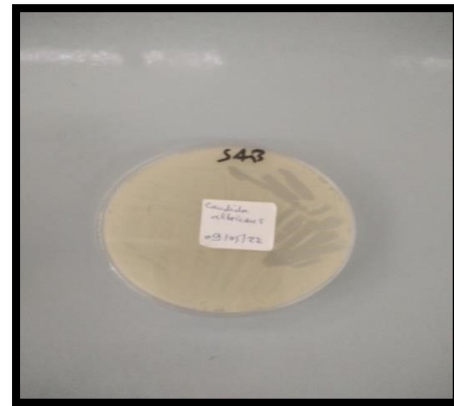


Figure 15 : les souches fongiques

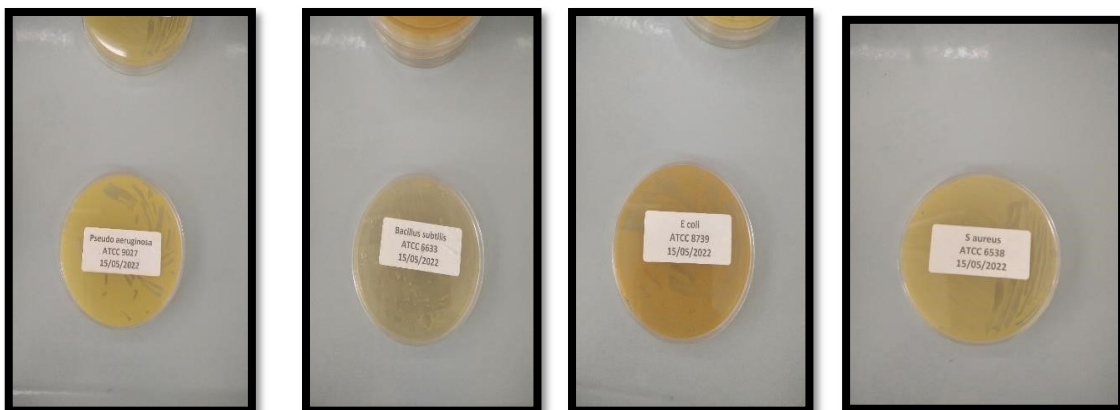


Figure 16 : les souches bacteriennes



Figure 17 : les suspension bactérienne et fungique

Annexes

Annexe 02 :

1- Etude activite antioxydant :

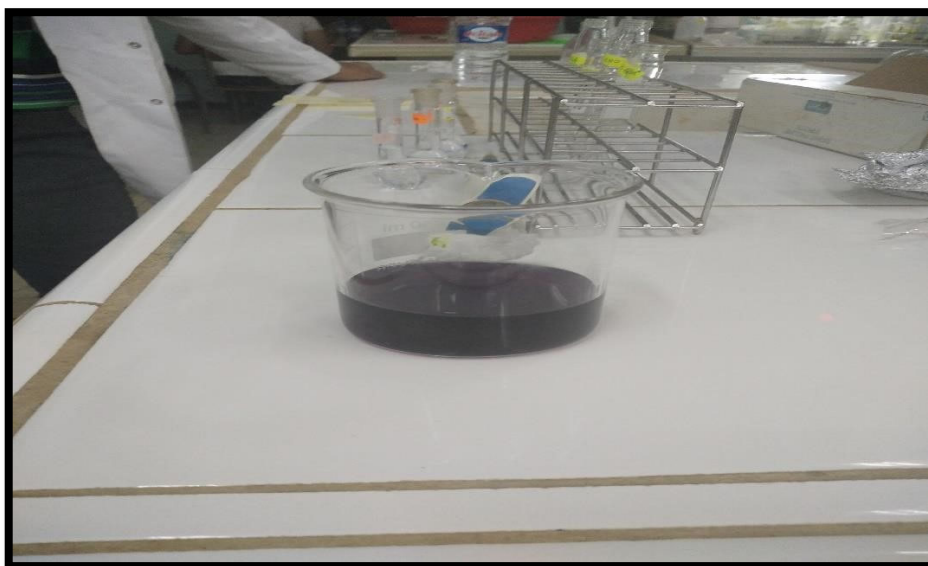


Figure 18 : Préparation de la solution Méré de DPPH

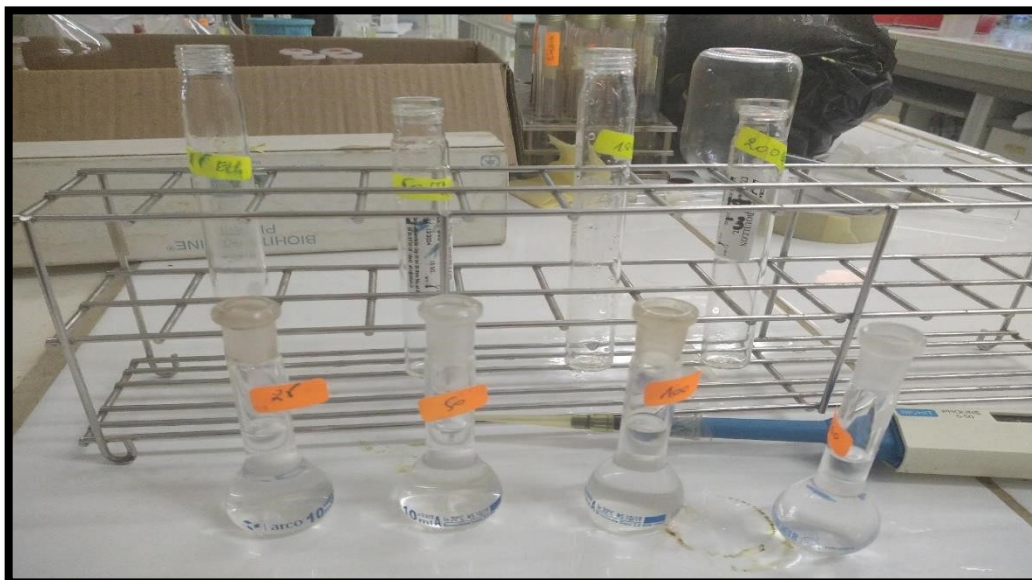


Figure 19 : Préparation des différents concentration d'échantillon

Annexes

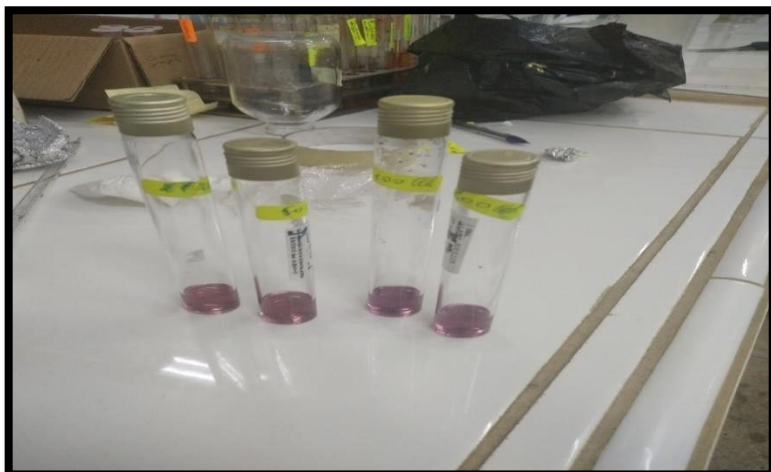


Figure 20 : les différents concentration (extrait ethanologique camphrier et BHT) mélange avec DPPH après 30min