



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique  
جامعة البليدة 1  
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologies

### *Mémoire*

*En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique*

### *Option*

*Biotechnologie et Pathologie Moléculaire*

### *Thème*

**Potentielles Applications de l'Essence Aromatique de Menthe  
Poivrée en Aromathérapie : Evaluation des Propriétés  
Antimicrobienne, Anti-Inflammatoire et Analgésique**

*Présenté par BOUALBANI Marwa & BOUMENDIL Ismahane*

*Devant le Jury :*

|                          |                            |                      |                      |
|--------------------------|----------------------------|----------------------|----------------------|
| <i>Mme LOUNACI L.</i>    | <i>MCB</i>                 | <i>SNV, Blida 1</i>  | <i>Présidente</i>    |
| <i>Mme CHELGHOUM H.</i>  | <i>MCB</i>                 | <i>SNV, Blida 1</i>  | <i>Examinatrice</i>  |
| <i>M. BOUKHATEM M.N.</i> | <i>MCA</i>                 | <i>SNV, Blida 1</i>  | <i>Promoteur</i>     |
| <i>Mme BELKADI A.</i>    | <i>Docteur Vétérinaire</i> | <i>SAIDAL, Alger</i> | <i>Co-Promotrice</i> |

*Session 2019 / 2020*

# REMERCIEMENTS

Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH source de toute connaissance qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

Nous remercions vivement les membres de ce respectable jury :

- Madame LOUNACI L. (Maître de Conférences à l'Université Blida 1): nous sommes très honorées que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Veuillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements.
- Madame CHELGHOUM H. (Maître de Conférences à l'Université Blida 1): Vous nous avez honoré d'avoir examiné notre mémoire de fin d'études ; nous vous sommes très reconnaissantes et nous vous adressons nos sincères remerciements et soyez assurée de notre profonde gratitude.
- Monsieur BOUKHATEM M.N. (Maître de Conférences à l'Université Blida 1): Nous tenons à vous remercier chaleureusement et vivement pour nous avoir encadré et guider, en tant que promoteur, tout au long de notre travail de fin d'études.
- Madame BELKADI A. (Docteur vétérinaire au laboratoire Pharmacotoxicologie, CRD Saida d'Alger) : Nous tenons à vous remercier chaleureusement et vivement pour nous avoir accepté dans votre laboratoire et guider, en tant que co-promotrice.

Nous adressons nos vifs remerciements et reconnaissance à tous le corps enseignant du Département de Biotechnologies ainsi que ceux de la Faculté SNV et particulièrement toutes celles et tous ceux qui nous ont enseigné durant notre cursus universitaire.

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes chères parents **Belkacem** et **Hamida**, pour leur patience et sacrifice, qui n'ont cessé à m'encourager et me donner le meilleur pour me voir réussir et qui ont souffert jour et nuit pour nous couvrir de leur amour, qui m'ont soutenu tout au long de mon cursus scolaire et universitaire. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous, que Dieu vous protège et vous garde a nos côtés.

Je dédie aussi ce modeste travail :

A Ma très chère sœur : **Naziha** pour ton soutien et encouragements

A mes chères sœurs : **Fathia** , **Nassima**, **Zhour** et **Imane**

A mes beau frères: **Sidali**, **Mahfoudh**, **Ahmed** et **Khiredine**

A mes neveux et mes nièces

Sans votre soutien, ce mémoire n'aurais jamais vu le jour

A ma chère amie d'enfance : **Nafissa**

A ma chère copine : **Rania**

A mes chère cousine : ma jumelle d'enfance **Zola** et **Wahiba**

A mon binôme, ma très chère copine et ma moitié: **Ismahane** que j'adore, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de réussite et que Dieu le tout puissant vous protège et vous garde

A tous mes amies

Merci d'être toujours la pour moi

**Marwa**

# Dédicaces

## **À MES CHERS PARENTS**

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant Formulés.

## **A MON CHER ONCLE ALI**

Mon conseiller, et ami fidèle, qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles....

## **A MES CHERS ET ADORABLES FRER ET SŒUR ANIS, CÉRINE**

Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

## **A LA MEMOIRE DE MON GRAND-PERE AISSA « DADDA »**

J'aurais tant aimé que vous soyez présents.

## **A MA CHERE MERWA**

Ma copine et ma confidente

UNE SPECIALE DEDICACE A CETTE PERSONNE QUI COMPTE  
DEJA ENORMEMENT POUR MOI, ET POUR QUI JE PORTE BCP  
DE TENDRESSE ET DE RESPECT ET D'AMOUR . A toi « chouchou »

## **A toutes ma famille**

**Ismahane**

# SOMMAIRE

---

|                               |      |
|-------------------------------|------|
| <b>Liste des Figures</b>      | vii  |
| <b>Liste des Tableaux</b>     | viii |
| <b>Liste des Abréviations</b> | ix   |
| <b>Résumé</b>                 | x    |
| <b>Abstract</b>               | xi   |
| <b>ملخص</b>                   | xii  |
| <b>Introduction</b>           | 1    |

## Chapitre I: DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

---

|   |    |
|---|----|
| 1.1. Plantes aromatiques et aromathérapie   | 4  |
| 1.1.1. Aromathérapie  | 4  |
| 1.1.2. Plantes aromatiques  | 4  |
| 1.1.3. Historique   | 5  |
| 1.2. Huiles essentielles  | 6  |
| 1.2.1. Quelques définitions   | 6  |
| 1.2.2. Composition chimique   | 7  |
| 1.2.3. Marché mondial des huiles essentielles   | 8  |
| 1.2.4. Domaines d'utilisation des huiles essentielles                                 | 9  |
| 1.2.5. Toxicité des huiles essentielles   | 10 |
| 1.3. Présentation de la plante étudiée : la menthe poivrée ( <i>Mentha piperita</i> ) | 11 |
| 1.3.1. Origine et culture   | 11 |
| 1.3.2. Huile essentielle de la menthe poivrée   | 13 |
| 1.3.3. Composition chimique   | 14 |
| 1.3.4. Utilisations thérapeutiques  | 14 |
| 1.3.4.1. Pouvoir antimicrobien  | 15 |
| 1.3.4.2. Propriétés anti-inflammatoires   | 18 |
| 1.3.4.3. Propriétés analgésiques  | 19 |

## Chapitre II: METHODES

---

|   |    |
|---|----|
| 2. Méthodes   | 21 |
| 2.1. Analyse chromatographique de l'huile essentielle                           | 22 |
| 2.2. Evaluation du pouvoir antibactérien et antifongique de l'huile essentielle | 22 |
| 2.2.1. Aromatogrammes   | 22 |
| 2.2.2. Microatmosphère  | 23 |
| 2.2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice                   | 23 |
| 2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire topique <i>in vivo</i>         | 24 |
| 2.4. Etude anatomopathologique au niveau des oreilles                           | 24 |
| 2.5. Evaluation du pouvoir analgésique périphérique                             | 25 |
| 2.6. Etude statistique  | 25 |

## Chapitre III: RESULTATS ET DISCUSSION

---

|   |    |
|---|----|
| 3.1. Composition chimique de l'huile essentielle                  | 27 |
| 3.2. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle <i>in vitro</i> | 30 |
| 3.3. Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>                   | 34 |
| 3.4. Activité analgésique périphérique <i>in vivo</i>             | 36 |
| <b>CONCLUSION</b>   | 39 |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>                                | 41 |
| <b>ANNEXE 1 : Abstracts</b>                                       | 52 |

# Liste des Figures

---

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 1.</b> Structure chimique de certains composés caractéristiques des huiles essentielles.                                   | 7  |
| <b>Figure 2.</b> Répartition géographique d'origine de certaines plantes aromatiques.  | 8  |
| <b>Figure 3.</b> Illustration de la partie aérienne de la menthe poivrée ( <i>Mentha piperita</i> L.)                                | 13 |
| <b>Figure 4.</b> Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.  | 16 |
| <b>Figure 5.</b> Différentes étapes de l'aromatogramme.  | 22 |
| <b>Figure 6.</b> Illustration de la méthode de microatmosphère.  | 23 |
| <b>Figure 7.</b> Illustration de la méthode de détermination des concentrations minimales inhibitrice par dilution en milieu gélosé. | 24 |
| <b>Figure 8.</b> Structure chimique de quelques composés détectés dans l'essence de <i>Mentha piperita</i> .                         | 29 |

# Liste des Tableaux

---

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau 1:</b> Huiles essentielles les plus demandées sur le marché mondial.  | 9  |
| <b>Tableau 2.</b> Classification botanique de <i>Mentha piperita</i> .   | 12 |
| <b>Tableau 3.</b> Etudes comparatives des constituants chimiques détectés dans l'huile de menthe poivrée provenant d'écosystèmes différents.   | 27 |
| <b>Tableau 4.</b> Principaux travaux réalisés pour valoriser la fragrance de la menthe poivrée comme ingrédient antibactérien.   | 31 |
| <b>Tableau 5.</b> Principaux travaux réalisés pour valider le bien-fondé des propriétés anti-inflammatoires de l'essence aromatique de la menthe poivrée <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> . | 35 |
| <b>Tableau 6.</b> Quelques travaux réalisés pour valoriser la fragrance de la menthe poivrée en analgésique.   | 37 |



# Liste des Abréviations

---

ADN = Acide Désoxribonucléique  
AFNOR = Association Française de Normalisation  
ANOVA = Analyse de Variances  
ARN = Acide Ribonucléique  
ATCC = American Type Culture Collection  
CG-SM = Chromatographie Gazeuse – Spectrométrie de Masse  
CMB = Concentration Minimale Bactéricide  
CMI = Concentration Minimale Inhibitrice  
CML = Concentration Minimale Letale  
CO<sub>2</sub> = Dioxide de Carbone  
CONV= Composition Organique Non Volatile  
COV = Composition Organique Volatile  
CRD = Centre de Recherche et de Développement  
DL<sub>50</sub> = Dose Letale médiane  
DOAJ = Directory of Open Access Journals  
DZI = Diamètre de zone d'inhibition  
EPH = Etablissement Public Hospitalier  
ESCOP= European Scientific Cooperative on Phytotherapy  
HE = Huile Essentielle  
IK = Indices de Kovats  
IR = Indice de Rétention  
OMS = Organisation Mondiale de la Santé  
PAM = Plantes Aromatique et Médicinale  
TEL = Thèses en Ligne.

# RESUME

---

La thérapeutique des infections humaines et des pathologies inflammatoires se base, principalement, sur l'usage des médicaments de synthèse. Cependant, les anti-inflammatoires peuvent être responsables d'effets indésirables digestifs plus ou moins graves, de réactions allergiques et, dans certaines circonstances rares, d'insuffisance rénale. De même, les antibiotiques comportent, eux aussi, des effets indésirables, variables selon les molécules. Et face au problème soulevé, depuis plusieurs années, par l'antibiorésistance ou encore les effets indésirables des anti-inflammatoires et analgésiques conventionnels, l'une des alternatives prometteuses à l'usage de ces médicaments synthétiques semble être celle des molécules naturelles bioactives, à l'exemple des huiles essentielles (HEs).

Le règne végétal est une source présumée inépuisable d'une immense variété de médicaments potentiels, tout en étant accessible, y compris dans les pays en voie de développement. De nombreux végétaux sont connus pour leur activité thérapeutique, c'est le cas en particulier de la menthe poivrée (*Mentha piperita* L.). De nombreuses études traitent des propriétés pharmacologiques de l'essence aromatique de cette plante à parfum, qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des revues spécialisées ou encore présentées lors des congrès scientifiques.

A cet effet, notre travail se veut une revue de littérature actualisée concernant le pouvoir antimicrobien, anti-inflammatoire et analgésique de l'essence végétale de la menthe poivrée, et ce en se basant sur différents moteurs de recherche et bases de données, généralistes ou spécialisés, ainsi que d'autres outils de recherches scientifiques. En outre, différentes ressources ont été exploitées pour mettre en exergue le pouvoir pharmacologique de l'essence de cette herbe aromatique afin de cerner ainsi ses potentielles applications, comme ingrédient actif, pour une éventuelle intégration dans l'arsenal préventif-thérapeutique des pathologies infectieuse, inflammatoire et/ou nociceptive.

**Mots-clés:** Menthe poivrée, Huiles essentielles, Antimicrobien Naturel, Inflammation topique, Menthol.

# ABSTRACT

---

The therapy of human infections, inflammation and nociceptive diseases is mainly based on the use of synthetic drugs. However, most of these medications such as anti-inflammatory drugs can be responsible for headaches, severe digestive side effects, allergic reactions and kidney failure in rare circumstances. Similarly, antibiotics also have undesirable effects, which vary depending on the molecule.

Faced with the problem raised for several years by the multidrug resistant bacteria and the undesirable effects of anti-inflammatory and analgesic drugs, the only reliable alternative seems to be that of bioactive natural products such as essential oils (EOs).

The plant kingdom is a presumably inexhaustible source of a huge variety of potential drugs, while being accessible, including in developing countries. Many aromatic herbs and medicinal plants are known for their therapeutic activity. This is the case in particular with peppermint (*Mentha piperita* L.). Numerous studies and investigations deal with the pharmacological properties of this aromatic herb and its EO, whether cited either in edited books, in specialized international journals or presented at scientific conferences.

To this end, our work focused on an updated literature review relating to the antimicrobial, anti-inflammatory and analgesic properties of the EO extracted from peppermint, based on various search engines and databases, as well as other scientific research tools. In addition, various resources were used to highlight the pharmacological effect of peppermint EO and its potential application as an active ingredient for possible integration into the preventive-therapeutic arsenal of infectious, inflammatory and/or nociceptive diseases.

**Keywords:** Peppermint, Essential oils, Natural antimicrobial, Topical inflammation, Menthol.

يعتمد علاج الأمراض البشرية المعدية و الإلتهابات المسببة للآلام بشكل أساسي على إستخدام العقاقير الإصطناعية. حيث يمكن أن تكون الأدوية المضادة للإلتهابات مسؤولة عن آثار جانبية على مستوى الجهاز الهضمي و ظهور حساسية مع فشل كلوي في حالات نادرة. كذلك، فيمكن للمضادات الحيوية أن تتسبب أيضًا في تأثيرات جانبية غير مرغوبة، والتي تختلف باختلاف نوعية الدواء. و بغية إيجاد حل للمشكلة التي أثرت لعدة سنوات بسبب مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية أو الآثار الجانبية الناجمة عن مضادات الإلتهاب أو مسكنات الآلام، يمكن إعتبار المركبات الطبيعية الفعالة مثل الزيوت الأساسية العطرية المستخلصة من النباتات الطبية كبديل مهم في معالجة تلك الأمراض.

كذلك فيمكن إعتبار التنوع النباتي مصدرًا مهمًا في إكتشاف مجموعة كبيرة من الأدوية المحتملة. كما تبين أن العديد من النباتات الطبية مثل حشيشة النعناع الحار (*Mentha piperita L.*) تتمتع بخصائص علاجية معتبرة، حيث تناولت العديد من الدراسات و البحوث العلمية الخصائص الدوائية و الوقائية للزيوت الأساسية المستخلصة من النعناع الحار. و من خلال ما تم ذكره، فقد ركزنا في عملنا هذا على مراجعة الأدبيات و المراجع الحديثة المتعلقة بفعالية الزيوت الأساسية العطرية لنبته النعناع الحار في تثبيط نمو الجراثيم و الميكروبات المعدية و كذا فعاليتها في التخفيف من حدة الإلتهابات و الآلام و ذلك بناءً على نتائج البحوث المقدمة من طرف محركات البحث وقواعد البيانات المختلفة. بالإضافة إلى ذلك، فقد تم استخدام موارد مختلفة لتسليط الضوء على الفعالية العلاجية لزيوت النعناع الحار و تطبيقاتها المحتملة كمادة فعالة يمكن إستخدامها في ترسانة العلاج الوقائي للأمراض المعدية والإلتهابية.

**الكلمات المفتاحية:** النعناع الحار، الزيوت العطرية الأساسية، مضادات الميكروبات الطبيعية، الإلتهابات الموضعية، المنتول.

# INTRODUCTION

---

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies ; ces plantes représentent un très large éventail d'activités biologiques (**Moro-Buronzo, 2008**). L'homme a, depuis longtemps, fait appel à certaines plantes pour se soigner. Ces herbes que l'on qualifie de médicinales sont utilisées, empiriquement, comme remèdes contre plusieurs maladies (**Mouhi, 2017**).

Bien que, de nos jours, la médecine moderne soit bien développée presque partout dans le monde, une proportion non négligeable de populations, dans les pays en développement, compte encore sur la médecine traditionnelle et les remèdes à base de plantes pour leurs soins de base. De même, l'intérêt du grand public dans les pays industrialisés pour les thérapies naturelles, notamment la phytothérapie et l'aromathérapie, a considérablement augmenté (**Iserin, 2001**).

L'Algérie est connue pour sa diversité en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané, ainsi que par l'utilisation populaire dans l'ensemble des territoires du pays (**Bruneton, 1999**). Un grand nombre des plantes aromatiques et médicinales (PAM), des herbes, des épices et autres, possèdent des propriétés biologiques et pharmacologiques très intéressantes, qui trouvent une application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et en agriculture (**Belkhiri, 2018**).

Actuellement, les PAM possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles (HEs) dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux (**Moro-Buronzo, 2008**).

Il existe un grand nombre d'HEs connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisés. Cependant, de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique de ces huiles, les différentes utilisations possibles et leur coût de production. Les HEs ont, à toutes les époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture et même se soigner (**Burt, 2004**).

A titre d'exemple, l'HE de la menthe poivrée (*Mentha piperita* L.) occupe, à elle seule, la 6<sup>ème</sup> place avec une production mondiale estimée à 2092 tonnes/an. Cette place est appelée à se promouvoir davantage, vu l'évolution positive de la demande mondiale de produits naturels, au détriment de ceux de synthèse et vu aussi la diversité de leurs domaines d'applications (**Abadlia and Chebbour, 2014**).

De nombreuses études traitent des propriétés pharmacologiques de l'essence aromatique de cette plante à parfum, qu'elles soient citées dans des ouvrages, dans des journaux spécialisés ou encore présentées lors des congrès d'aromathérapie scientifique (**İşcan et al., 2002 ; McKay et Blumberg, 2006**). Utilisée pour ses vertus médicinales, notamment antispasmodique et analgésique, l'essence de cette plante n'en a pas moins des propriétés antitussives et expectorantes, vasodilatatrices et anti-inflammatoires (en application externe), tonique (et neurotonique psychique), astringentes, immuno-stimulante et vermifuges (**Giraud-Robert et al., 2004 ; Singh et al., 2015 ; Husain et al., 2015 ; Ardakani et al., 2016**).

Notre travail se veut une revue de la littérature des propriétés thérapeutiques, préventive et/ou curative, de cette plante à parfum afin de bien cerner les potentielles utilisations de son HE en phyto-aromathérapie anti-infectieuse ou encore comme ingrédient actif à visée anti-inflammatoire et analgésique dans les préparations pharmaceutiques.

# **Chapitre I**

## **Données Bibliographiques**

# Chapitre I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

---

## 1.1. Plantes aromatiques et aromathérapie

### 1.1.1. Aromathérapie

Terme venant de la latin *aroma* (odeur agréable de certain essence naturelles) et du grec *thérapie* (soin, cure), « ce qui signifie : se soigne par les odeurs » (**Couic-Marinier et al., 2014**). L'aromathérapie est un thérapeutique utilisant les essences, les huiles essentielles et les hydrolats aromatiques extrais des parties aromatiques des plantes médicinales (**Faucon, 2017**). L'aromathérapie utilisant les extraits de plantes aromatiques pour soigner ou prévenir les maladies ; elle s'intègre dans le cadre de la phytothérapie qui, elle, fait appel à toutes les plantes dotées de vertus médicinales (**Pénoël and Jollois, 1991**).

### 1.1.2. Plantes aromatiques

C'est une plante qui contient des molécules aromatiques volatiles ou odorantes dans un ou plusieurs organes producteurs que sont les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce, les racines. Pour être distillée, la plante aromatique doit renfermer une quantité suffisante de molécules aromatiques. Celles-ci sont contenues dans des systèmes sécréteurs :

- Les poils sécréteurs (ex : lavande)
- Les cellules sécrétrices (ex : boldo)
- Les poches schizophrènes (ex : millepertuis)
- Les poches schizolysigènes (ex : oranger)
- Les canaux sécréteurs (ex : carotte)

Les plantes aromatiques capables de synthétiser une essence sont peu nombreuses. Parmi les 800 000 espèces végétales, seules 10 % en sont capables. Parmi les familles aromatiques, les plus représentatives sont :

- Les Abiétacées représentées par les Conifères (sapins, cèdres, pins).
- Les Apiacées dont les fruits sont particulièrement riches en essence (aneth, angélique, coriandre, cumins, anis vert).
- Les Astéracées (20 000 espèces) qui constituent les herbes pour la plupart (tanaisie, mule, armoise).
- Les Cupressacées (cyprés, genévrier, thuya).
- Les Ericacées (gaulthérie, ledon).
- Les Lamiacées (lavandes, thyms, romarins, menthes, marjolaines, sarriettes, mélisses, sauges).



- Les Lauracées (cannelles, lauriers, ravensares, bois de rose, camphriers).
  - Les Myrtacées (eucalyptus, giroflier, myrte, niaouli, tea tree, cajepout).
  - Les Poacées (citronnelles, palma rosa, vétiver, verveines, lemon-grass).
  - Les Rutacées qui forment tous les citrus (citron, pamplemousse, mandarine, oranger bigarade)
- (Zahalka, 2014)**

### 1.1.3. Historique

L'Histoire de l'aromathérapie se confond avec celle de la phytothérapie jusqu'au XX<sup>ème</sup> siècle. En réalité le terme « aromathérapie », issu du latin « aroma = odeur » et du grec « therapein = soin », fut créé en 1928 par un chercheur lyonnais, Gattefossé René-Maurice. La petite Histoire dit qu'il aurait découvert les propriétés de l'huile essentielle de lavande lors d'une explosion dans son laboratoire de parfumerie qui le brûla gravement. Il aurait trempé sa main dans un vase plein d'HE de lavande. La brûlure régressa rapidement sans laisser de cicatrice ni d'infection **(Baudoux, 2013)**.

Ce chimiste continua les recherches et les expériences dans ce domaine puis publia en 1931 un ouvrage « Aromathérapie » dans lequel il décrivait ses expériences et étudiait les relations structures-activités. Il découvrit les propriétés des principales molécules aromatiques. Au milieu du XX<sup>ème</sup> siècle, le docteur Valnet vulgarisa la médecine par les plantes et les HEs. Ancien médecin et chirurgien des armées, il fut le premier à utiliser les plantes. Ceci du fait de la pénurie des médicaments dits classiques et assurément de sa certitude envers les propriétés médicinales des plantes. Il contribua à une étude scientifique des traitements d'aromathérapie et de phytothérapie. En 1971, il fonda l'association de recherche en phytothérapie et aromathérapie car selon lui : « Unissant les recherches modernes aux enseignements du passé, la phytothérapie et l'aromathérapie n'ont jamais cessé d'être des médecines millénaires et d'avenir » **(Lacoste and Menant, 2010)**.

En 1971, Jean Passet, fit la découverte des chémotypes du thym dans le service du Docteur J. Pellecuer à Montpellier. Pierre Franchomme, aromatalogue reconnu, vulgarisa cette notion. Grâce à ses qualités de biochimiste, il établit la relation structure-activité des plantes. Les chémotypes sont des sous groupes dans une seule et même espèce de plante. Ces plantes ne se différencient ni par l'aspect macroscopique ni par l'aspect microscopique mais seulement par les composants aromatiques qu'elles produisent. **(Franchomme et al., 2001)**

Le thym à thymol (*Thymus vulgaris* thymoliferum) majoritairement composé d'un phénol est dermocaustique alors que son chémotype le thym à linalol, un monoterpénol, entraîne des irritations cutanées légères. Cette notion est primordiale pour faire bon usage des HEs.

## 1.2. Huiles essentielles

### 1.2.1. Quelques définitions

Les huiles essentielles des plantes sont très recherchées, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes. Certaines ont des propriétés pharmaceutiques reconnues, d'autres sont utilisées comme bases de parfums ou comme additifs alimentaires. La qualité des HEs dépend d'un grand nombre de paramètres d'origines différentes tels que : l'origine botanique, le cycle végétatif, le site producteur et les conditions géographiques et climatiques (**Beniston, 1984**).

Les HEs sont des mélanges de nombreux composés qui sont des molécules peu complexes comme les terpènes, les phénols, les méthyl-éthers, les oxydes, les esters, les cétones. Elles sont produites par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. L'extraction de ces huiles peut s'effectuer par expression à froid, ce qui préserve l'intégrité de l'essence mais ne peut s'appliquer qu'aux plantes appartenant à la famille des Rutacées (**Masango, 2005**).

L'extraction par distillation se fait en exploitant la volatilité des composés aromatiques pour les séparer. Il existe deux formes de distillation : l'hydrodistillation où l'eau et le végétal sont chauffés ensemble dans un ballon et l'hydrodistillation par entraînement à la vapeur d'eau, où la vapeur est d'abord produite dans un ballon puis acheminée dans un second ballon, dans lequel elle va remonter en passant à travers le matériel végétal et en entraînant les composants aromatiques (**El Haib, 2011**). D'autres méthodes d'extraction ont également été mises au point comme l'hydrodiffusion pulsée et l'extraction aux fluides comme le CO<sub>2</sub> supercritique (**Da Silva, 1995**).

Actuellement, près de 3000 HEs sont décrites, parmi lesquelles environ 300 présentent une importance commerciale dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques ou dans le domaine de la parfumerie (**Bakkali et al., 2008 ; Tajkarimi et al., 2010**).

Il est important de distinguer entre les HEs, les huiles fixes (huile d'olive) et les graisses contenues dans les végétaux. En effet :

- Seules les HEs sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes et des graisses.
- Elles se distinguent des huiles fixes par leurs compositions chimiques et leurs caractéristiques physiques.
- Elles sont fréquemment associées à d'autres substances comme les gommés et les résines.

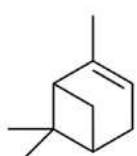
D'ailleurs elles tendent elles-mêmes à se résinifier par exposition à l'air (**Gonny et al., 2004; Santoyo et al., 2005**).

## 1.2.2. Composition chimique

La composition chimique des plantes aromatiques est complexe. Le nombre des molécules chimiquement différentes qui constituent une HE est variable (**Fig. 1**), d'une grande diversité de composés (jusqu'à 500 molécules différentes dans l'HE de Rose). A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces. De masse moléculaire relativement faible, ce qui leur confère un caractère volatil et est à la base de leurs propriétés olfactives. L'HE est constituée de deux fractions. La première fraction dite volatile (COV) est présente dans différents organes de la plante selon la famille ; cette fraction est composée de métabolites secondaires qui constituent l'HE.

### Terpenes

#### Monoterpenes



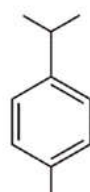
$\alpha$ -Pinene



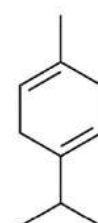
Limonene



Sabinene

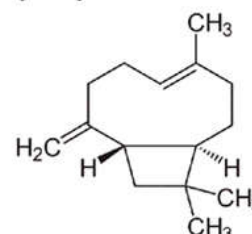


p-Cymene



$\gamma$ -Terpinene

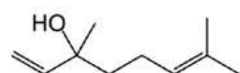
#### Sesquiterpenes



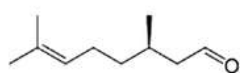
$\beta$ -Caryophyllene

### Terpenoids

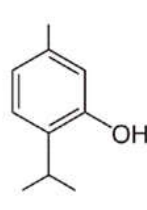
#### Monoterpenoids



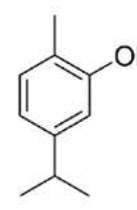
Linalool



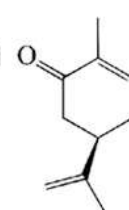
Citronellal



Thymol



Carvacrol

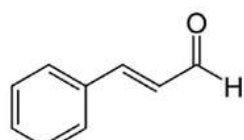


Carvone

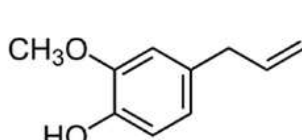


Borneol

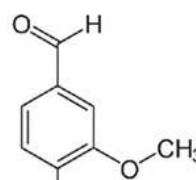
### Phenylpropanoids



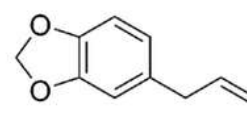
Cinnamaldehyde



Eugenol

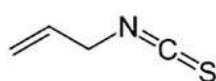


Vanillin

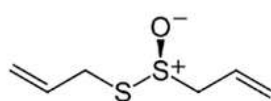


Safrole

### Others



Allyl-isothiocyanate



Allicin

**Figure 1.** Structure chimique de certains composés caractéristiques des huiles essentielles.

La deuxième fraction dite non volatile de la plante, composés organiques non volatils (CONV), est composée essentiellement de coumarines, flavonoïdes, composés acétyléniques ainsi de lactones sesquiterpéniques phénols ou polyphénols jouant un rôle fondamental dans l'activité biologique de la plante (**Kubeczka, 1982**). L'ensemble de ces produits sont accumulés dans des cellules sécrétrices offrant à la plante une odeur caractéristique (**Taleb-Toudert, 2015**).

### 1.2.3. Marché mondial des huiles essentielles

Ces dernières années, le marché mondial des HE est en nette évolution. Les principaux leaders de ce marché sont sans cesse à l'affût de nouvelles fragrances et molécules afin de diversifier leur gamme (**Fig. 2**). Quelque 3000 HEs sont connues, dont environ 300 sont d'une importance commerciale (**Bessah and Benyoussef, 2015**). Les quantités d'HEs produites dans le monde sont très variables. La production annuelle de certaines huiles dépasse 35.000 tonnes, alors que celle des autres peut atteindre quelques kilogrammes. En 2008, la production mondiale des HEs est dominée par le Brésil et l'Inde avec des productions respectives de 28.6 % et 25.6 %. Suivent ensuite pour un tiers du marché les Etats-Unis, la Chine et l'Argentine avec des productions atteignant respectivement 16.8 %, 9.0 % et 4.9 %. Neuf pays avec des productions internes entre 0.1 et 2 % (France: 1 %) pèsent pour 10 % dans le marché mondial. Enfin, les derniers 10 % se répartissent entre les autres pays du monde avec une production inférieure à 0.1 % (**Iqbal, 1993**).



**Figure 2.** Répartition géographique d'origine de certaines plantes aromatiques.

(Source : [www.doterra.com](http://www.doterra.com))

L'analyse des tendances du marché international indique que les exportations mondiales des huiles essentielles pour les années 1998-2002 ont dépassé un milliard de dollars annuellement. Les Etats-Unis est le plus grand fournisseur des huiles essentielles. Le flux des importations mondiales d'huiles essentielles de 1998 à 2001 est resté stable autour d'une valeur de 1.300 millions de dollars. Les cinq premiers pays importateurs d'huiles essentielles représentent 62 % des importations mondiales. On retrouve les Etats-Unis, la France, la Grande-Bretagne, le Japon et l'Allemagne (**Baser and Buchbauer, 2015**).

Les prix des huiles essentielles atteignent parfois des niveaux très élevés qui dépassent les 50.000 US\$ le litre et notamment pour les essences des plantes très prisées sur le marché international. Le **Tableau 1** donne, selon les données de 2008, les huiles essentielles les plus demandées sur le marché international (**Iqbal ,1993; Lawrence, 2009**). Pour certaines huiles, la demande dépasse largement l'offre.

**Tableau 1.** Huiles essentielles les plus demandées sur le marché mondial (**Bessah and Benyoussef, 2015**).

| Huiles essentielles           | Volume (tonne) | Pays producteurs             |
|-------------------------------|----------------|------------------------------|
| Citronnelle                   | 1 800          | Chine, Sri Lanka             |
| Menthe des bois               | 32 000         | Inde, Chine, Argentine       |
| Eucalyptus type cinéole       | 4 000          | Inde, Chine, Argentine       |
| Orange                        | 51 000         | USA, Brésil, Argentine       |
| Menthe poivrée                | 2 367          | Inde, USA, Chine             |
| Citron                        | 9 200          | Argentine, Italie, Espagne   |
| Eucalyptus (type citronellal) | 1 000          | Chine, Brésil, Inde, Vietnam |
| Feuille de clou de girofle    | 1 800          | Indonésie, Madagascar        |
| Verveine exotique             | 1 200          | Chine                        |
| Menthe verte                  | 1 800          | USA, Chine                   |
| Bois de cèdre (Chine)         | 1 650          | USA, Chine                   |
| Lavandin                      | 1 100          | France                       |
| Patchouli                     | 1 200          | Indonésie, Inde              |

#### 1.2.4. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les plantes aromatiques et leurs HEs, peuvent avoir d'intéressantes applications dans différents secteurs:

- **En pharmacie:** L'importance des plantes aromatiques est indiscutable. Leur contenu en essence et la nature chimique des constituants de celle-ci leur confèrent de grandes perspectives

d'application. Ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médical et pharmaceutique **(Valnet, 1984)**.

Dans leur grande majorité, les plantes médicinales sont utilisées en nature, en particulier pour la préparation d'infusions et sous la forme de préparations galéniques simples. Elles sont également utilisées pour l'obtention des HEs dont certaines peuvent avoir un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes) mais qui, majoritairement, sont surtout destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale. En effet, les HEs ont un champ d'action très large, elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des levures et des moisissures. L'effet biologique a souvent été trouvé supérieur à celui de plusieurs fongicides du commerce. De plus, ces huiles sont très efficaces sur les germes résistants aux antibiotiques ; ce qui leur donne une place parmi les moyens thérapeutiques de désinfection **(Valnet, 1984)**. Les perspectives d'application peuvent s'étendre à d'autres domaines comme, par exemple, la stomatologie, le traitement des affections bactériennes et fongiques de la cavité Buccale, les soins dentaires ou simplement pour l'hygiène dentaire sous forme de pâte dentifrice ou de pâte à mâcher **(Wegrzyn and Lamendinh, 2005)**.

- **En Cosmétologie** : L'industrie des cosmétiques et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier, pour les formulations de grande diffusion, les produits synthétiques. A la limite de la pharmacie et des produits d'hygiène, on notera la présence des HEs dans les préparations pour bains (bains « calmants » ou « relaxants »). On notera qu'il y a là une possibilité d'absorption percutanée des constituants terpéniques **(Bruneton, 1999)**.

- **Dans les industries agroalimentaires** : L'activité antimicrobienne des extraits de plantes utilisés dans l'assaisonnement des aliments a été reconnue depuis longtemps. C'est pour cela que l'on pense, de plus en plus, à les utiliser dans la conservation des denrées alimentaires, sans pour autant en dénaturer le goût puisque ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires. C'est ainsi que l'on trouve le laurier dans certaines conserves et dans le miso qui est un met japonais traditionnel **(Kurita and Koike, 1982)**.

### **1.2.5. Toxicité des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont présentées généralement comme « sans danger » mais sont aussi des composés puissants **(Degryse et al., 2008)**. Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie **(Piochon, 2008)**. Par leur

composition chimique complexe, les huiles essentielles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation abusive ou aléatoire autonome qui est souvent favorisée par le fait que bon nombre de ces produits sont distribués en dehors du secteur pharmaceutique **(Bruneton, 1999)**.

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) ou photo-toxique (huiles de *Citrus* contenant des furocoumarines) **(Naganuma et al., 1985)**. D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique (les cétones comme l' $\alpha$ -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux) **(Pénoel and Franchomme, 1990)**. Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers. C'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzènes ou de propénylbenzènes comme le saffrole (*Sassafras*), l'estragole (*Artemisia dracuncululus*), la  $\beta$ -asarone (*Acorus calamus*) et le méthyl-eugénol. En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë faible ou très faible par voie orale. Tandis que la toxicité chronique est assez mal connue **(Bruneton, 1999)**, reste à savoir si dans leur emploi externe, les risques de toxicité sont fortement réduits **(Bernadet, 2000)**. Il est cependant capital d'intégrer la notion de la dualité "Efficacité - Toxicité". En effet, toute substance thérapeutiquement active est potentiellement toxique. Tout dépendra de la dose unitaire, journalière, de la voie d'administration, de l'état du patient.

Alors que de nombreux ouvrages font référence à la toxicité de nombreux produits sur le marché, la toxicité des huiles essentielles est moins investiguée. La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi. Les interactions de ces produits avec les médicaments sont aussi peu mentionnées **(Pibiri, 2006)**. Cependant quelques informations sur certaines toxicités sont décrites par la littérature : En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des  $DL_{50}$  supérieures à 5 g/kg. En ce qui concerne la lavande la toxicité est faible autour des 5 g/kg (donnée observée chez l'animal) **(Bruneton, 1999)**. Chez l'homme des intoxications aiguës sont possibles.

### **1.3. Présentation de la plante étudiée : la menthe poivrée (*Mentha piperita*)**

#### **1.3.1. Origine et culture**

Le nom mentha vient du grec « Minthe » et du latin « *menta* ». Piperita signifie poivrée. La menthe poivrée est originaire de l'Inde. Elle est cultivée en Europe centrale et du Sud, Amérique du Nord et du Sud, Asie, Afrique du Nord, presque dans le monde entier. Elle se trouve à l'état sauvage dans toute l'Australie, l'Amérique du Nord et en Europe **(Charles, 2012)**.

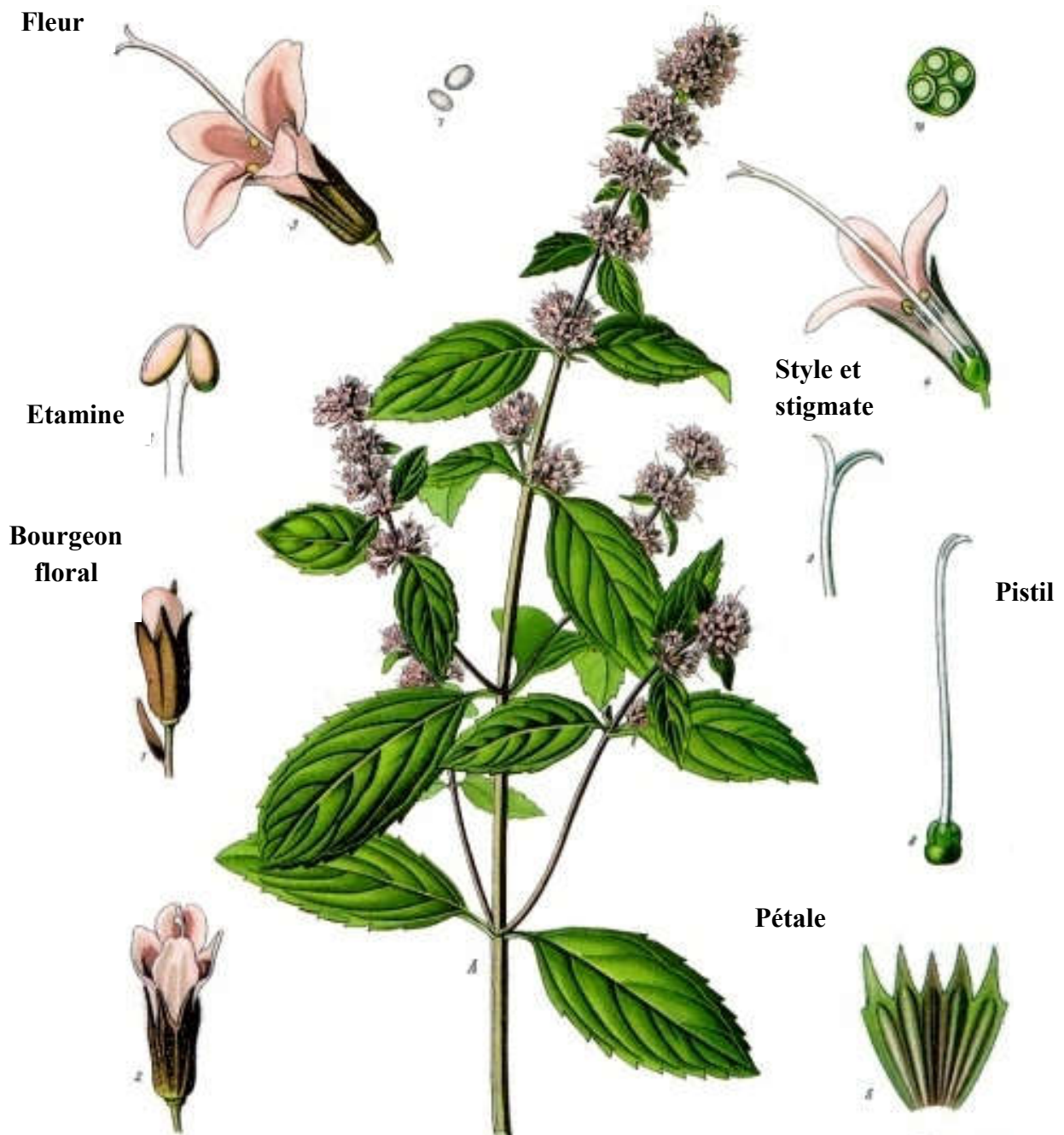
Selon les différentes sources, cette plante vivace mesurerait de 10 à 60 cm de haut. Ses tiges sont velues et violacées et ses feuilles ovales et dentelées prennent des teintes vertes foncées à bleu ou rouge. Ses fleurs sont roses, un peu violacées et regroupées en épis au sommet de la plante (**Fig. 3**). La menthe poivrée est une plante hybride issue du croisement de la menthe aquatique (*Mentha aquatica*) et la menthe verte (*Mentha spicata*), d'où le "X" présent dans sa dénomination latine (**Tab. 2**). Elle est appelée également menthe sauvage ou encore menthe Anglaise (**Sens-Olive, 1979**).

Il s'agit d'une plante vivace à rhizome long, rampant, traçant. La tige, de 50 à 80 centimètres, dressée ou ascendante, se divise en rameaux opposés. Ses feuilles mesurent de 4 à 10 cm de long, elles sont ovales, opposées, courtement pétiolées, lancéolées, aiguës, dentées, sont d'un très beau vert et se teignent de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre, elles sont recouvertes de gros poils sécréteurs arrondis dans lesquels s'accumulent les substances volatiles odorantes. Les fleurs, violacées, forment des épis très courts, ovoïdes, à l'extrémité des rameaux. Le fruit, divisé en quatre parties, est entouré d'un calice persistant. Son odeur est puissante, sa saveur piquante et rafraîchissante (**Benayad, 2008**).

**Tableau 2.** Classification botanique de *Mentha piperita* (**Hana, 2017**).

|                    |                          |
|--------------------|--------------------------|
| Règne              | Plantae                  |
| Embranchement      | Spermaphytes             |
| Sous embranchement | Angiospermes             |
| Classe             | Dicotylédones            |
| Sous Classe        | Gamopétales              |
| Ordre              | Sympetales               |
| Famille            | Lamiaceae                |
| Genre              | <i>Mentha</i>            |
| Espèce             | <i>Mentha x piperita</i> |





**Figure 3.** Illustration de la partie aérienne de la menthe poivrée (*Mentha piperita* L.)

(From Jackson: Experimental Pharmacology and Materia Medica).

### 1.3.2. Huile essentielle de la menthe poivrée

L'obtention d'un litre d'huile essentielle de menthe poivrée nécessite l'utilisation de 400 kg de feuilles de cette plante. Cependant, les feuilles de menthe de bonne qualité destinées à un usage pharmaceutique contiennent plus de 9 ml d'huile essentielle par Kg de feuilles sèches (**Lorrain, 2013**). L'huile essentielle de la menthe poivrée est extraite des parties aériennes récoltées en Juin juste avant la floraison. La méthode la plus utilisée pour l'extraire est l'hydrodistillation.

Le procédé a pour but de porter à ébullition un mélange de menthe poivrée et d'eau distillée. Sous l'action de la chaleur, les cellules de la menthe éclatent et libèrent des composés organiques odorants et volatils, la vapeur d'eau formée entraîne les composés organiques à l'état gazeux vers le réfrigérant. La condensation de ce mélange gazeux provoque sa séparation en deux phases liquides:

- La phase organique : est huileuse et très odorante, elle correspond donc à l'huile essentielle de la menthe poivrée qui contient de nombreuses substances odorantes.
- La phase aqueuse : appelée eau aromatique, ne contient que très peu de composés odorants

L'eau et l'huile essentielle de cette plante sont de même couleur, par conséquent il est impossible de les distinguer à l'œil nu. Il faut alors mélanger le distillat avec de l'éther qui permet la séparation des deux solutions par une ligne pour pouvoir procéder à la décantation. A l'aide d'une ampoule à décanter, la séparation des deux phases peut avoir lieu.

### 1.3.3. Composition chimique

L'huile de menthe poivrée est composée principalement de menthol (37,4%), l'acétate de menthyle (17,4%) et de menthone (12,7%) (Sokovic et al., 2009). Les autres constituants comprennent pulegone, menthofuranne et limonène (Nair, 2001), les glucosides et flavonoïdes à savoir narirutin, hespéridine, lutéoline-7-o-rutinoside, isorhoifolin, diosmine (Inoue et al., 2002 ; Sroka et al., 2005) ; 5,7-dihydroxycromone-7-o-rutinoside (Inoue et al., 2002) ; les polyphénols comme eriocitrin, acide rosmarinique, acide cinnamique, acide caféique et naringenin-7-o-glucoside (Dorman et al., 2009). Outre cela, l'herbe aussi contenir Le 1,8-cinéole,  $\alpha$ -amorphène,  $\alpha$ -cadinène, carotène,  $\alpha$ -copaène,  $\alpha$ -gurjunène,  $\alpha$ -pinène,  $\alpha$ -terpinène,  $\alpha$ -terpinéol,  $\alpha$ -thuyone,  $\alpha$ -tocophérol, amyle-valérate, anéthol, azulène,  $\beta$ -betulenol,  $\beta$ -carotène,  $\beta$ -caryophyllène,  $\beta$ -copaène,  $\beta$ -ionone,  $\beta$ -pinène, bicycloelemène, bisabolène, cadinène, camphène, carvacrol, carvone, cédrol (Rita and Animesh, 2011).

### 1.3.4. Utilisations thérapeutiques

La menthe occupe une place privilégiée dans la phytothérapie, elle était cultivée depuis l'Antiquité pour ses propriétés médicinales. La tradition lui attribue des propriétés aromatiques (toniques, fortifiantes) et des propriétés digestives, utilisée pour soulager, les coliques, nausées, diarrhée. La Menthe par leur odeur et leur activité et richesse en composées bioactives, ont une place particulière dans l'ensemble des produits aromatiques.

La menthe poivrée est utilisé pour traiter la toux, la bronchite et l'inflammation de la muqueuse buccale et de la gorge. L'huile essentielle peut être utilisé chez les patients atteints de tuberculose pulmonaire (Shkurupii et al., 2006). Traditionnellement, l'espèce est utilisée pour traiter une

variété de troubles digestifs tels que des coliques chez les nourrissons, flatulence, diarrhée, indigestion, nausées et vomissements, les nausées matinales et l'anorexie et de réduire les gaz et les crampes. La menthe poivrée est utilisée pour traiter le syndrome du côlon irritable; la maladie de Crohn, la colite ulcéreuse, les troubles des voies biliaires et la vésicule biliaire et les plaintes du foie (**Grigoleit and Grigoleit, 2005**).

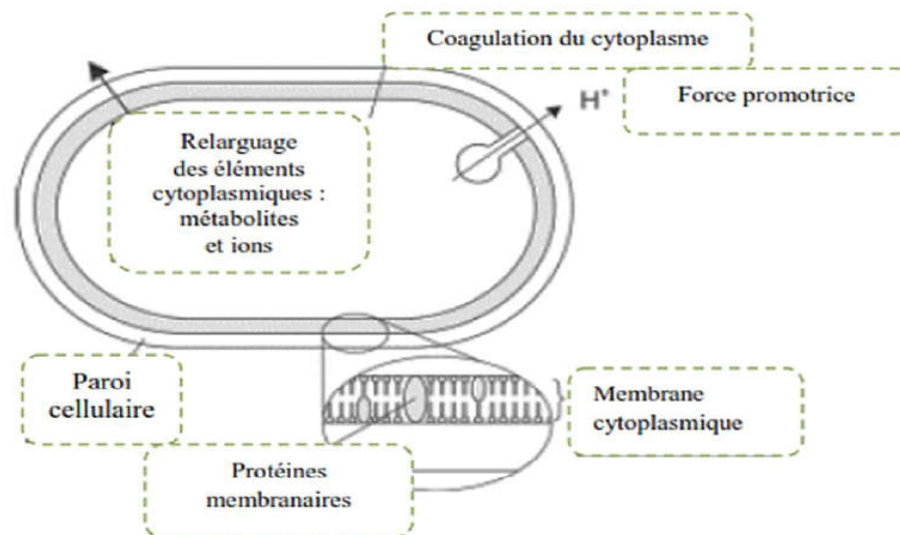
Grâce à certaines propriétés spécifiques, les besoins en produits extraits des menthes sont multiples. En usage local, les médicaments à base de menthe sont utilisés comme adoucissant et comme protecteur (contre les crevasses et les piqûres d'insectes); utilisé également pour l'hygiène buccale et comme antalgique (**Laghouiter et al., 2015**).

#### **1.3.4.1. Pouvoir antimicrobien**

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles sont bien connues et bien documentées. En effet, de nombreux travaux de recherche ont mis en évidence leur puissante activité antiseptique agissant aussi bien sur les bactéries, les champignons pathogènes que les virus Et ainsi leur donner diverses indications thérapeutiques (**Safaei-Ghomi and Ahd, 2010; Belletti et al., 2008**)

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces microorganismes : effet bactéricide (bactéricidie) exerçant une activité mortelle, et effet bactériostatique (bactériostase) entraînant une inhibition de la croissance. Ces actions des huiles essentielles sur la cellule bactérienne demeure encore insuffisamment élucidée (**Lakhdar et al., 2012**). Plusieurs mécanismes (**Fig. 4**) seraient mis en jeu (**Bakkali et al., 2008**) :

- Précipitation des protéines et des acides nucléiques.
- Inhibition de la synthèse des macromolécules (ADN, ARN, protéines et peptido-glycanes).
- Inhibition de la perméabilité membranaire sélective et détérioration membranaire.
- Inhibition de la glycolyse et déplétion potassique.
- Modification de la morphologie de la cellule bactérienne.
- Absorption et formation d'un film autour de la cellule bactérienne avec inhibition des processus de respiration, d'absorption et d'excrétion.



**Figure 4.** Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne (**Burt, 2004**).

#### - Propriétés antibactériennes

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (**Carson et al., 2002**). De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules.

Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane. (**Cox et al., 2000; Carson et al., 2002**). Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman and Deans, 2000**).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la nature de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**). Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries à Gram négatif comme *Aeromonas hydrophila* et *Campylobacter jejuni* (**Wannissorn et al., 2005**) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles.

La bactérie reconnue comme la moins sensible à leur effet reste néanmoins les bactéries à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa* (**Dorman and Deans, 2000**). En fait, cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. En présence d'agents perméabilisant de la membrane externe, des substances inactives contre *Pseudomonas aeruginosa* deviennent actives (**Mann et al., 2000**). Il semble que cette souche se révèle résistante à un très grand nombre d'huiles essentielles (**Hammer et al., 1999; Deans et Ritchie, 1987**).

#### - Propriétés antifongiques

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Borges et al., 2018**).

Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques. Ils concluent que les phénols sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (**Ultee et al., 2002**)

L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique : Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures.

L'HE de menthe poivrée a été testée pour ses propriétés antimicrobiennes sur 21 micro-organismes pathogènes pour l'Homme, elle s'est avérée une fortement inhibitrice face aux micro-organismes pathogènes pour les plantes, tandis que les agents pathogènes humains ont été que modérément inhibés. Le menthol, le principal constituant de l'huile essentielle de menthe poivrée, a été jugé responsable de la propriété antimicrobienne des huiles (**Iscan et al., 2002**).

#### 1.3.4.2. Propriétés anti-inflammatoires

Le processus de défense de l'organisme peut parfois évoluer de façon anormale et déclencher des maladies auxquelles on oppose des médicaments dits anti-inflammatoires pouvant être conventionnels ou traditionnels. L'incorporation et l'utilisation des plantes médicinales dans le traitement de plusieurs réactions inflammatoires, en particulier le rhumatisme, sont des pratiques communes dans la médecine traditionnelle. Aujourd'hui c'est un fait remarquable que les substances anti-inflammatoires d'origine végétale présentent un intérêt grandissant car elles offrent des avantages par rapport aux anti-inflammatoires classiques, comme par exemple l'inexistence des effets secondaires. Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est

très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti-inflammatoires. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclooxygénase et la lipooxygénase ainsi que par d'autres mécanismes (**Goetz, 2011**).

#### **1.3.4.3. Propriétés analgésiques**

Les antalgiques ou analgésiques sont des médicaments à action symptomatique qui atténuent ou abolissent les sensations douloureuses sans provoquer une perte de conscience ou une dépression des autres sensations contrairement aux anesthésiques. Dans le domaine des analgésiques, les plantes et leurs extraits continueront d'être la source de nouveaux médicaments. Elles sont composées de plusieurs molécules actives agissant souvent en synergie. Chaque famille chimique de principes actifs peut avoir un effet pharmacologique différent. La classification par propriété médicinale n'est pas exclusive. Les plantes médicinales qui ont la propriété d'être antalgique ont pour fonction de soulager la douleur. La morphine fait partie des médicaments antalgiques, qui ont été isolée depuis des sources naturelles (**Bounihi, 2016**).

## **Chapitre II**

# **Méthodes**

# Chapitre II : METHODES

---

## 2. Méthodes

Eu égard de la situation sanitaire actuelle liée à l'émergence d'une nouvelle souche de Coronavirus SARS-CoV2 et la pandémie COVID19, prévalant dans le monde et en Algérie, et suite aux mesures de confinement et de restriction des déplacements, il nous a été impossible d'effectuer notre stage pratique au niveau du Laboratoire Pharmaco-Toxicologie du Centre de Recherche et de Développement (CRD) Saidal d'Alger afin de mener, *in vivo*, le screening anti-inflammatoire et analgésique de l'essence aromatique de menthe poivrée. En outre, l'autre objectif assigné à notre étude concernant l'évaluation des propriétés antibactérienne et antifongique, *in vitro* de cette huile, n'a pu être réalisé au niveau du Laboratoire de Microbiologie de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Boufarik (Blida).

Par conséquent, notre travail s'est axé uniquement sur une revue de littérature actualisée concernant le pouvoir antimicrobien, anti-inflammatoire et analgésique de l'essence végétale distillée de la menthe poivrée, et ce en utilisant différents moteurs de recherche et bases de données, généralistes ou spécialisés, ainsi que d'autres outils de recherches scientifiques à l'instar de Google Scholar, PubMed Central, Directory of Open Access Journals (DOAJ), Google Patents, Semantic scholar, TEL (Thèses en Ligne), Microsoft Aademicms, Pharmacopée Européenne et AFNOR (Association Française de Normalisation). En outre, différentes ressources (articles scientifiques publiés, livres et chapitres de livre édités, brevets déposés, rapports scientifiques émanant des sociétés savantes ou d'organismes internationaux, thèses de doctorat soutenus) ont été utilisées pour mettre en exergue le degré d'efficacité pharmacologique de la menthe poivrée et cerner ainsi ses potentielles applications comme ingrédient actif contre les infections humaines ou pouvant intégrer l'arsenal préventif-thérapeutique des pathologies inflammatoire et nociceptive.



## 2.1. Analyse chromatographique de l'huile essentielle

La détermination de la composition chimique de l'HE de menthe poivrée pourra être faite par chromatographe en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (CG-SM). L'identification des composés terpéniques doit être faite sur la base de la comparaison des spectres de masse de chaque composé avec ceux des bibliothèques informatisées et de la bibliographie et sur la base de calcul des Indices de Kovats (IK) (Indice de Rétention : IR).

## 2.2. Evaluation du pouvoir antibactérien et antifongique de l'huile essentielle

### 2.2.1. Aromatogrammes

Dans cette méthode (Fig. 5), nous pouvons utiliser des disques de 9 mm de diamètre imprégnés d'une quantité d'HE (10, 20 et 30  $\mu$ L par exemple). Le disque sera déposé au centre d'une boîte contenant un milieu gélosé préalablementensemencé. L'évaluation du pouvoir antibactérien et antifongique est identique à celui de l'antibiogramme.

Plusieurs volumes en HE doivent être utilisés dans le but d'apprécier l'action "dose-dépendante" de l'essence sur la croissance des germes microbiens. La boîte Pétri sera fermée par la suite, puis incubée dans l'étuve à température adéquate (37 °C/24h pour les bactéries et 30 °C pendant 3 ou 5 jours pour les levures et les moisissures, respectivement).

L'huile aromatique diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries et les champignons croissent sur toute la surface gélosée sauf là où elles rencontrent une concentration d'essence suffisante qui inhibe leur croissance. A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque et dont le diamètre de la zone d'inhibition (DZI) est mesuré et exprimé en millimètres (mm).

Pour chaque souche, des contrôles positifs (disques d'antibiotique ou d'antifongique) doivent être réalisés en appliquant, dans les mêmes conditions citées précédemment, des disques imbibés de solution qui vont servir de référence pour pouvoir comparer leur pouvoir antimicrobien avec l'HE.

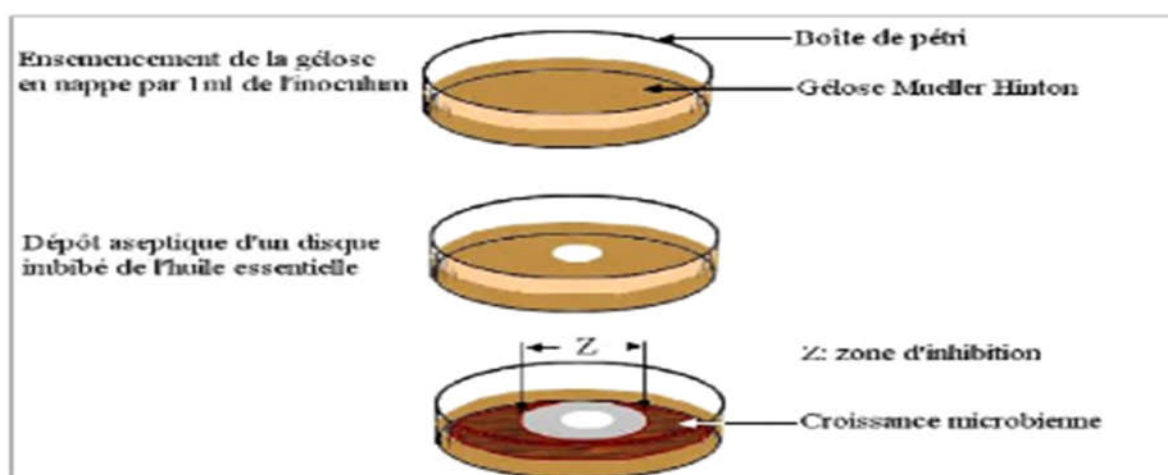


Figure 5. Différentes étapes de l'aromatogramme. (images.google.fr)

### 2.2.2. Microatmosphère

Cette méthode (diffusion en phase vapeur) doit être utilisée dans le but d'apprécier les propriétés inhibitrices de la phase volatile de l'huile aromatique (Tyagi et al., 2013). La différence entre cette technique et la méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme) réside dans la position du disque imprégné en HE (Fig. 6). Cette méthode permet de mettre en évidence la diffusion des composants volatils des HE à l'intérieur d'une boîte de Pétri.

Le disque imprégné en HE doit être déposé sur couvercle de la boîte de Pétri et donc il n'est plus en contact avec le milieu gélosé. Aussi, il est impératif d'utiliser différentes quantités croissantes en HE au disque pour cerner son action « dose-dépendante ». L'incubation des boîtes sera faite dans les mêmes conditions citées précédemment. Par la suite, l'évaporation des substances volatiles qui, en contact avec les germes ensemençés sur le milieu de culture gélosé, va inhiber leur croissance. A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par une zone translucide sur la gélose de contour plus ou moins nette, à tendance circulaire.

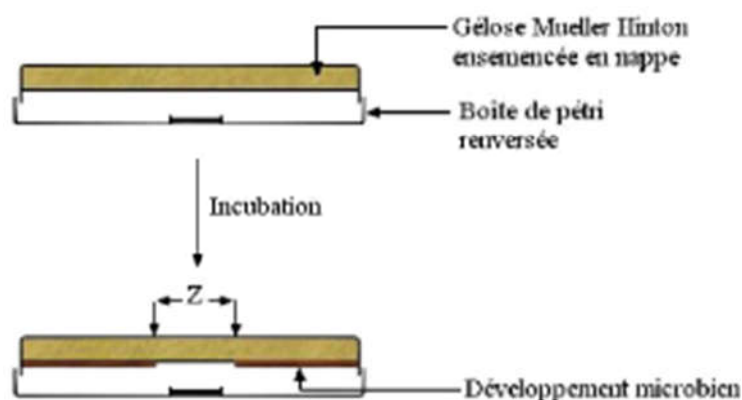
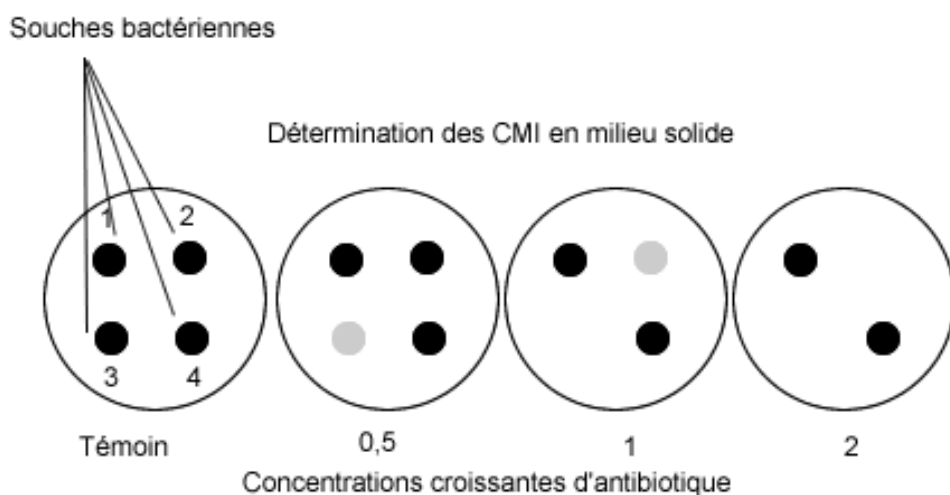


Figure 6. Illustration de la méthode de microatmosphère (Bousbia, 2009).

### 2.2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La technique de dilution en milieu solide est recommandée par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (Tyagi et al., 2013) pour évaluer la sensibilité des micro-organismes aux agents antimicrobiens. Elle consiste à ensemençer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en HE dispersée de façon homogène et stable dans le milieu de culture. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la CMI, qui correspond à la plus faible concentration en HE capable d'inhiber la croissance fongique (Fig. 7).

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte. La lecture des résultats se fait visuellement en observant s'il y a l'apparition d'une éventuelle colonie microbienne. La CMI se définit comme étant la plus petite concentration du produit pour laquelle aucune croissance n'est visible à l'œil nu. Le résultat sera exprimé en % (v/v).



CMI Souche 1 et 4 est > 2µg/ml, Souche 2 est de 2µg/ml, Souche 3 est de 1 µg/ml

**Figure 7.** Illustration de la méthode de détermination des concentrations minimales inhibitrice par dilution en milieu gélosé. (<http://lesantibiotiques.e-monsite.com/>)

### 2.3. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire topique *in vivo*

Le pouvoir anti-inflammatoire locale de l'huile de menthe poivrée pourra être évalué *in vivo* sur des souris de souche. L'œdème sera provoqué au niveau de l'oreille droite de chaque souris, par application d'une solution de xylène à 10% comme agent irritant. L'oreille gauche servait de témoin négatif. La méthodologie suivie est celle décrite par **Al-Reza et al. (2010)**.

Les différents traitements doivent être administrés par voie topique aux souris. Après 30 minutes, l'inflammation sera provoquée par application locale du xylène à 10% (solution irritante) sur l'oreille droite de toutes les souris. Les oreilles gauches serviront de témoin. Après l'écoulement d'une période estimée à 4 heures, tous les animaux seront été sacrifiés par une forte dose de l'éther et des pièces circulaires, de 5 mm de diamètre, seront coupées et retirées des oreilles traitées (droites) et non traitées (gauches). Ces pièces seront pesées et conservées immédiatement dans du formol à 10% pour l'étude histopathologique. L'activité anti-inflammatoire sera exprimée par le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport au contrôle négatif, selon la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \left[ \frac{(\Delta T -) - \Delta E}{(\Delta T -)} \right] \times 100$$

$\Delta T -$  : Différence entre les moyennes du poids des oreilles (D-G) pour le lot Contrôle - ;

$\Delta E$  : Différence entre les moyenne du poids des oreilles (D-G) pour le lot essai (HE ou Contrôles +).

### 2.4. Etude anatomopathologique au niveau des oreilles

Afin de confirmer l'activité anti-inflammatoire topique de menthe poivrée à l'échelle cellulaire, des coupes histologiques doivent être réalisées sur des pièces circulaires des oreilles droites et gauches coupées précédemment. La coloration effectuée pourra être celle de Hématoxyline-Eosine (H-E) selon la procédure de **Martoja et Martoja-Pierson (1967)**.

## 2.5. Evaluation du pouvoir analgésique périphérique

Le test de torsion sera utilisé dans le but de confirmer le pouvoir analgésique périphérique de l'HE de menthe poivrée et à travers son efficacité dans la réduction des contractions abdominales chez les souris (Soro et al., 2009). Ce test consiste à réduire, par des substances antalgiques, la douleur provoquée chez les souris par l'injection d'une substance irritante capable d'entraîner des mouvements de torsion.

Après un temps de 30 minutes de l'administration des différents traitements, une injection par voie intra-péritonéale de 0.2 ml d'une solution à 3% d'acide acétique sera réalisée pour chaque souris ce qui est à l'origine de spasmes abdominaux. La douleur se caractérise par des mouvements de torsion de la musculature dorso-abdominale. Après l'injection de la solution d'acide acétique et un temps de latence de 5 minutes, nous devrions compter, pour chaque souris, le nombre de torsions pour les dix minutes suivantes. L'activité antispasmodique sera alors exprimée par le pourcentage de réduction des spasmes chez les souris traitées par rapport aux témoins selon la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de la douleur} = \frac{(T-) - E}{(T-)} \times 100$$

T- : Moyenne des spasmes dans le Contrôle - ; E : Moyenne des spasmes dans les autres lots.

## 2.6. Etude statistique

La signification statistique sera déterminée au moyen du test d'ANOVA suivie par le test de Fisher pour comparaison par paires. Une  $p < 0.05$  sera considérée comme différence significative. L'étude statistique pourra être réalisée à l'aide du logiciel XLStat 2014 (Addinsoft, Paris, France).

## **Chapitre III**

# **RESULTATS et DISCUSSION**

# Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

## 3.1. Composition chimique de l'huile essentielle

Du lieu où poussent les menthes dépendra la composition biochimique de leurs essences et déterminera donc le chémotype, la spécificité de l'huile et les propriétés thérapeutiques. Tous ces paramètres étant influencés par les conditions édaphiques et climatiques ainsi que les pratiques culturales. Des variations dans la composition chimique (**Tab. 3**) de l'HE de menthe poivrée peuvent parfois être dues à des différences climatiques, géographiques ou saisonnières ou simplement à la quantité d'arrosage ou la fertilisation utilisée. Elles peuvent également avoir une origine génétique ; ceci a été observé quand des plantes d'origines géographiques différentes sont cultivées à proximité l'une de l'autre. Finalement, ces variations peuvent être également attribuées aux méthodes d'extraction des HE et, dans le cas des essences commerciales, au degré de mélange et de falsification (**Kaloustian and Hadji-Minaglou, 2012; Gupta et al., 2017 ; Prasad et al., 2020**).

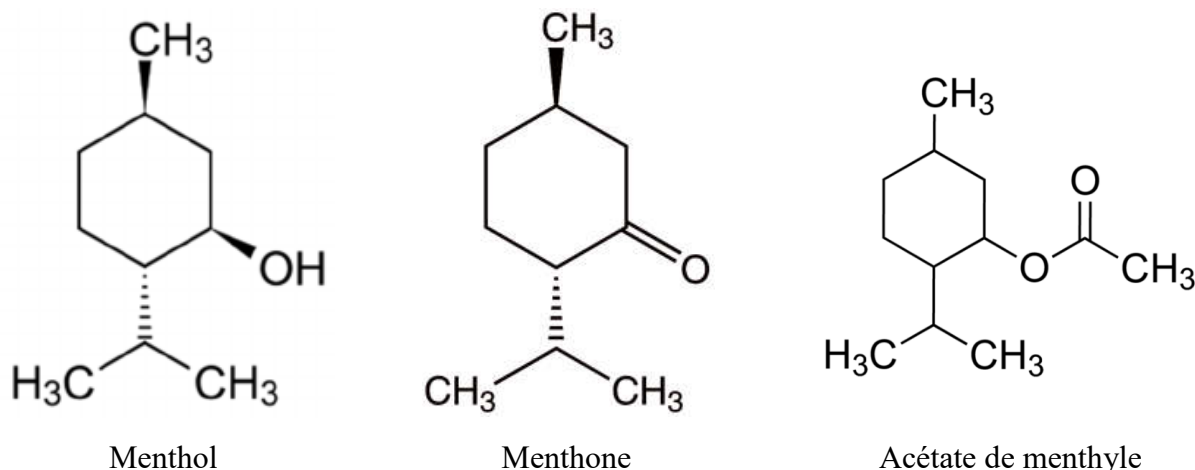
**Tableau 3.** Etudes comparatives des constituants chimiques détectés dans l'huile de menthe poivrée provenant d'écosystèmes différents.

| Equipes                 | Samber<br>et al. | De Sousa<br>Barros | De Oliveira<br>Hashimoto | Kang<br>et al. | Degnon<br>et al. | Sun<br>et al. | Bellassoued<br>et al. | Kehili<br>et al. (a) | Kehili<br>et al. (b) |
|-------------------------|------------------|--------------------|--------------------------|----------------|------------------|---------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| Année                   | 2015             | 2015               | 2016                     | 2019           | 2016             | 2014          | 2018                  | 2020                 | 2020                 |
| Pays                    | Inde             | Brésil             | Brésil                   | Chine          | Bénin            | Chine         | Tunisie               | Algérie              | Algérie              |
| <b>Composés %</b>       |                  |                    |                          |                |                  |               |                       |                      |                      |
| $\alpha$ -pinène        | 0.2              | —                  | 0.8                      | 4.09           | 0,8              | 0,20          | 1.80                  | 0.59                 | 0.61                 |
| Sabinène                | —                | —                  | 0.4                      | 0.57           | —                | 0.20          | 0.25                  | 0.39                 | 0.4                  |
| $\beta$ -Pinène         | 0.1              | —                  | 1.3                      | 3.56           | 1.2              | 0.46          | 0.14                  | 0.76                 | 0.76                 |
| 1,8-Cinéole             | —                | —                  | —                        | —              | 6.5              | 2.91          | 2.80                  | —                    | —                    |
| Camphène                | —                | —                  | —                        | 0.37           | —                | —             | —                     | —                    | —                    |
| Myrcène                 | —                | —                  | —                        | 0.42           | —                | —             | 1.30                  | —                    | —                    |
| $\beta$ -Myrcène        | —                | —                  | —                        | —              | —                | 0.52          | —                     | —                    | 0.07                 |
| 3-Octanol               | —                | —                  | —                        | 0.44           | —                | —             | 0.53                  | —                    | 0.22                 |
| $\alpha$ -Terpinène     | —                | —                  | —                        | —              | 0.3              | —             | —                     | 0.14                 | 0.15                 |
| p-Cymène                | —                | —                  | 0.1                      | —              | —                | 0.22          | —                     | 0.26                 | 0.28                 |
| <b>Limonène</b>         | <b>3.3</b>       | <b>—</b>           | <b>3.5</b>               | <b>7.14</b>    | <b>2.8</b>       | <b>1.76</b>   | <b>8.0</b>            | <b>1.48</b>          | <b>1.44</b>          |
| Eucalyptol              | 5.2              | —                  | 2.1                      | 0.51           | —                | —             | —                     | 4.74                 | 4.9                  |
| trans- $\beta$ -Ocimène | —                | —                  | —                        | —              | —                | 0.07          | —                     | —                    | 0.05                 |
| $\gamma$ -Terpinène     | —                | —                  | 0.1                      | —              | —                | —             | —                     | 0.26                 | 0.27                 |

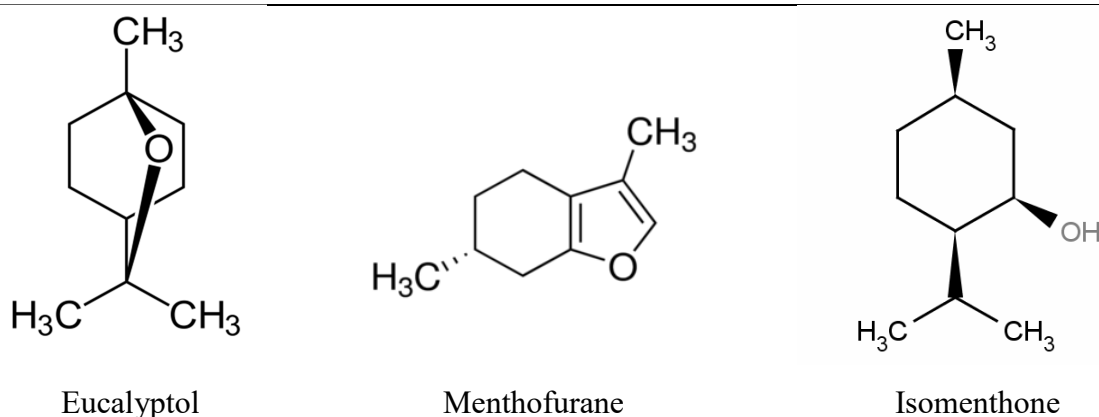
|                            |             |            |             |              |             |              |              |              |              |
|----------------------------|-------------|------------|-------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Isopulégol                 | —           | —          | —           | 1.73         | —           | 0.15         | 2.40         | —            | 0.09         |
| Pulégone                   | —           | —          | —           | 1.20         | 3.6         | —            | 1.6          | —            | 1.2          |
| Terpinolène                | —           | —          | 0.1         | —            | —           | —            | —            | 0.08         | —            |
| Linalool                   | 0.1         | —          | 25.4        | —            | —           | 0.42         | 2.64         | 0.28         | 0.29         |
| <b>Menthone</b>            | <b>9.1</b>  | <b>3.7</b> | <b>11</b>   | <b>18.90</b> | <b>7.4</b>  | <b>14.51</b> | <b>—</b>     | <b>16.41</b> | <b>16.75</b> |
| Menthofurane               | —           | 4.0        | —           | —            | 1.6         | —            | —            | 3.85         | 3.91         |
| <b>Isomenthone</b>         | <b>5.3</b>  | <b>—</b>   | <b>22,5</b> | <b>9.06</b>  | <b>4.8</b>  | <b>—</b>     | <b>33.00</b> | <b>2.17</b>  | <b>2.53</b>  |
| iso-menthol                | —           | —          | —           | —            | 0.8         | —            | 0.28         | —            | —            |
| neo-isomenthol             | 5.4         | —          | 0.2         | 5.66         | —           | —            | 0.45         | 3.39         | —            |
| neo-menthol                | —           | —          | —           | —            | 8.28        | 9.26         | —            | —            | —            |
| <b>Menthol</b>             | <b>34.8</b> | <b>2.7</b> | <b>27.5</b> | <b>40.39</b> | <b>46.7</b> | <b>30.69</b> | <b>33.59</b> | <b>53.29</b> | <b>54.47</b> |
| $\alpha$ -Terpinéol        | 0.2         | 0.9        | —           | 0.26         | —           | —            | 0.37         | 0.19         | —            |
| cis-Isopulégone            | 0.9         | —          | 12.8        | —            | —           | —            | —            | 1.16         | —            |
| Pipéritone                 | 0.2         | —          | 0.6         | —            | 1.7         | 2.31         | 3.2          | 0.45         | 0.46         |
| Myrténol                   | —           | —          | —           | —            | —           | —            | 0.55         | —            | —            |
| <b>Acétate de menthyle</b> | <b>1.7</b>  | <b>1.2</b> | <b>12.5</b> | <b>4.24</b>  | <b>6.7</b>  | <b>12.86</b> | <b>0.68</b>  | <b>6.82</b>  | <b>6.93</b>  |
| $\beta$ -Bourbonène        | —           | —          | —           | —            | —           | —            | —            | 0.31         | —            |
| $\beta$ -Caryophyllène     | —           | 1.0        | 0.5         | —            | 2.1         | —            | —            | 1.73         | —            |
| trans-Caryophyllène        | —           | —          | —           | 0.48         | —           | 2.52         | 1.95         | —            | 1.75         |
| Germacrène D               | —           | 1.5        | —           | —            | —           | 1.13         | 0.11         | 0.99         | 1.02         |
| $\gamma$ -Elemène          | —           | —          | —           | —            | —           | —            | —            | 0.26         | —            |
| $\beta$ -Elemène           | —           | —          | —           | —            | —           | 0.29         | —            | —            | 0.28         |
| Carvone                    | 19.5        | —          | —           | —            | —           | —            | —            | —            | —            |
| Carvéol                    | —           | —          | —           | —            | —           | —            | 0.31         | —            | —            |
| Acétate de linalyle        | —           | 51.3       | —           | —            | —           | —            | —            | —            | —            |
| Acétate de néryl           | —           | —          | —           | —            | —           | —            | 0.8          | —            | —            |
| $\Delta$ -Cadinène         | —           | —          | —           | —            | —           | 0.18         | 0.27         | —            | —            |

Ainsi, il existe de nombreux exemples de plantes dont la sensibilité à la lumière du jour a été étudiée. Chez la menthe poivrée, des jours longs et des nuits tempérées augmentent le rendement en HE, celle-ci étant alors plus riche en menthofurane. Dans des conditions inverses, l'essence s'enrichit en menthol (Bruneton, 1999).

La connaissance des variations au cours du cycle végétatif de la plante permet de sélectionner le moment le plus opportun pour la récolter. En effet, le pourcentage de cétones (menthone et isomenthone, toxiques) (Fig. 8) présentes dans l'HE de menthe poivrée augmente au moment de la floraison (Faucon, 2017).



**Composés majoritaires**



**Composés minoritaires**

**Figure 8.** Structure chimique de quelques composés détectés dans l'essence de *Mentha piperita*.  
 (www.chemspider.com)

Les pratiques culturales peuvent également jouer sur l'HE. Sans pouvoir dégager de tendances générales, on sait par exemple que le régime hydrique appliqué à la plante ou l'apport d'engrais vont modifier les caractéristiques de l'HE. Par exemple, la menthe poivrée synthétise normalement du (-) menthol, énantiomère qui possède l'odeur mentholée bien connue. Cependant, lorsqu'elle est cultivée avec certains engrais, celui-ci est remplacé par le (+) menthol dans l'HE (**Franchomme et al., 2001**), celui-ci a une odeur considérée inexistante, voire désagréable. Toujours pour la menthe poivrée, il a été montré que la supplémentation en azote augmente la biomasse et retarde le développement de la floraison. L'HE est alors plus abondante et contient moins de menthol et plus de menthone. Par contre, l'apport de potassium force la maturité de la plante et diminue son rendement en HE ; celle-ci contenant plus de menthol et d'acétate de menthyle (**Baser and Buchbauer, 2009**).



### 3.2. Pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle *in vitro*

Cette revue de littérature fait apparaître que l'essence végétale de menthe poivrée est un bactéricide efficace contre plusieurs micro-organismes tels que le staphylocoque doré, le streptocoque responsable de maladies pulmonaires, le colibacille responsable de maladies digestives et urinaires. Les résultats d'essais *in vitro* tendent à confirmer ces usages traditionnels (**Tab. 4**). L'HE de menthe aurait en effet une action antibactérienne marquée sur plusieurs souches de micro-organismes infectieux, dont *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (**Mimica-Dukic et al., 2003**).

Sur le plan clinique, l'intérêt d'un produit phyto-thérapeutique associant des extraits de sauge et de sureau, de l'HE de menthe poivrée, du miel et du zinc dans la prise en charge du mal de gorge a été évalué *in vitro* en mesurant son activité sur les principaux pathogènes impliqués dans les angines (microméthode en milieu liquide) et au cours d'une enquête observationnelle prospective conduite en pharmacie d'officine (**Deyra et al., 2017**). Une activité bactéricide a été observée à la fois sur les bactéries à Gram - (*Branhamella catarrhalis*, *Fusobacterium nucleatum* et *Haemophilus influenzae*) et à Gram + (*Streptococcus pyogenes*) étudiées ainsi qu'une activité antivirale vis-à-vis du virus para-influenzae de type 3. Cette activité a été maintenue après dilution du produit au 1/64. Les données recueillies au cours de l'étude observationnelle suggèrent que le produit phyto-thérapeutique peut soulager le mal de gorge et les symptômes associés en particulier la sensation de gorge sèche et l'érythème dans un délai de 17 minutes en moyenne après pulvérisation du produit. Tout en éliminant les éventuels pathogènes impliqués, ce phyto-médicament pourrait donc soulager la douleur et les symptômes associés au mal de gorge. Ces résultats devront être confirmés au cours d'une étude clinique.

**Tableau 4.** Principaux travaux réalisés pour valoriser la fragrance de la menthe poivrée comme ingrédient antibactérien.

| Equipes                                | Pays<br>(Année) | Objectifs de l'étude   | Principaux résultats obtenus  |
|--|-----------------|--|---|
| Mahboubi<br>and<br>Kazempour<br>(2014) | Iran            | Détermination des valeurs de CMI et CML de l'HE de menthe poivrée sur plusieurs souches bactériennes.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les valeurs CMI et CML pour les bactéries Gram + étaient de 0,25 - 1 et 0,5 - &gt; 64 µl/ml.</li> <li>• L'HE a un effet inhibiteur contre <i>B. cereus</i> (CMI et CML = 0,25 et &gt; 64 µl/ml, respectivement).</li> <li>• Les CMI contre <i>E. faecalis</i> et <i>E. faecium</i> plus élevés que ceux des autres bactéries à Gram + (CML = 4 µl/ml, CMI = 2 µl/ml).</li> <li>• CMI et CML de <i>P. aeruginosa</i> plus élevés que ceux des autres de gram - (CMI et CML = 16 µl/ml).</li> <li>• <i>K. pneumoniae</i> et <i>E. aerogenes</i> plus sensibles avec des CMI et CML 0,25 et 0,5 µl/ml.</li> </ul> |
| Barchan<br>et al. (2015)               | Maroc           | Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de Menthe : <i>Mentha spicata</i> , <i>Mentha pulegium</i> et <i>Mentha piperita</i><br>Détermination des DZI, CMI et CMB de l'HE sur 6 souches bactériennes de référence: 3 bactéries Gram - : <i>Escherichia coli</i> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• La plupart des souches Gram + se sont montrées sensibles vis-à-vis des différents extraits avec des diamètres supérieures à 12 mm.</li> <li>• les 3 souches Gram - se sont montrées résistantes contre la majorité des extraits sauf ceux hexaniques.</li> <li>• <i>Y. enterocolitica</i> s'est montré la plus résistante de toutes les souches avec des zones d'inhibition inférieures à 8 mm.</li> <li>• les extraits hexaniques se sont révélés les plus actifs</li> <li>• les extraits apolaires (dichlorométhane et d'éther de pétrole) ont produits des zones</li> </ul>                                 |

|                                       |         |  |  |
|---------------------------------------|---------|--|--|
|                                       |         | 405, <i>E. coli</i> 471, <i>Yersinia enterocolitica</i> 4315; et 3 bactéries Gram + : <i>Listeria monocytogenes</i> 4031, <i>Enterococcus hirae</i> 4081, <i>Staphylococcus aureus</i> 976.  | d'inhibitions plus grandes que celles obtenues avec les extraits polaires (méthanolique et aqueux).<br><ul style="list-style-type: none"> <li>• Les souches Gram + ont montré des valeurs de CMI plus faibles que celles enregistrées par les souches Gram -.</li> <li>• la sensibilité des souches Gram + testées par rapport à ceux Gram -.</li> </ul>   |
| <b>Oukhenniche and Zouakou (2018)</b> | Algérie | Détermination des DZI de la menthe poivrée sur 6 souches bactériennes : 3 Gram - ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pantoea</i> sp. et <i>Proteus penneri</i> ) et 3 souches Gram + ( <i>S. aureus</i> ) isolées des ulcères du pied diabétique, des infections urinaires ou encore de toxico-infections alimentaires. | <ul style="list-style-type: none"> <li>• les souches à Gram+ sont les plus sensibles à l'action inhibitrice de la phase liquide de l'HE.</li> <li>• DZI variant entre 13 et 37.5 mm pour les espèces pathogènes du genre <i>Staphylococcus</i> à la dose de 10 µl d'HE par disque.</li> <li>• Cette inhibition est « dose-dépendante » pour certains isolats (bactéries Gram -) avec des DZI oscillant entre 14.5 et 16 mm pour une quantité en HE de 10 µL/ disque et entre 17 et 19.5 mm pour 20 µL/disque.</li> <li>• la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> demeure l'espèce la plus résistante et ce pour toutes les quantités utilisées en HE.</li> </ul> |
| <b>Chalal and Salmi (2018)</b>        | Algérie | Détermination des valeurs de DZI et CMI de l'HE de la menthe poivrée sur 4 souches bactériennes.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les souches à Gram -, <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sont les plus sensibles avec des DZI de 16,4 mm et 14,46 mm respectivement,</li> <li>• les souches Gram + : <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Bacillus cereus</i> moins sensibles avec des DZI de 10,07 mm et 10,48 mm respectivement.</li> <li>• CMI de l'HE sur <i>E. coli</i> = 31,69 µl/ml</li> <li>• CMI de l'HE sur <i>P. aeruginosa</i> = 63,38</li> </ul>   |

DZI : Diamètre de zone d'inhibition ; CMI : Concentration Minimale Inhibitrice ; CMB : Concentration Minimale Bactéricide ; CML : Concentration Minimale Létale ; HE : Huile essentielle ; ATCC : American Type Culture Collection.

Beaucoup de chercheurs ont confirmé la présence de l'activité antifongique des métabolites terpéniques des menthes poivrées. Le mécanisme d'action des extraits aromatiques sur les souches fongiques n'a pas été totalement élucidé. Cependant, certaines études soulignent que l'action antifongique de ces substances terpéniques est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (Tyagi et al., 2013).

### 3.3. Activité anti-inflammatoire *in vivo*

On recherche depuis de nombreuses années, dans l'industrie pharmaceutique, des substances permettant de traiter les algies et les pathologies inflammatoires. Il demeure intéressant de disposer de nouveaux produits à visée thérapeutique, notamment pour des affections modérées de ce type. Une revue de littérature fait apparaître que les HE contiennent des composés actifs dont certains sont anti-inflammatoires (Tab. 5). Elles peuvent donc être utilisées dans de nombreux cas comme les douleurs musculaires ou articulaires, l'arthrite, l'arthrose ou encore les rhumatismes (Miguel, 2010).

Des chercheurs au département d'oto-rhino-laryngologie de l'université d'Ulm en Allemagne ont mené une étude pour déterminer l'impact qu'avait l'inhalation de menthol provenant de la menthe poivrée sur la température et l'obstruction nasale inflammatoire. Il convient de noter que, bien que l'inhalation de menthol procure une sensation de fraîcheur, les chercheurs n'ont enregistré aucun changement dans la température nasale après l'inhalation du menthol. Le menthol stimule les récepteurs du froid et n'en donne que la sensation. Cependant, 16 des 18 participants à l'étude ont rapporté une amélioration de la respiration nasale après l'inhalation de menthol (Lindemann et al., 2008).

**Tableau 5.** Principaux travaux réalisés pour valider le bien-fondé des propriétés anti-inflammatoires de l'essence aromatique de la menthe poivrée *in vitro* et *in vivo*.

| Auteurs                | Pays         | Objectifs de l'étude   | Résultats obtenus  |
|------------------------|--------------|--|--|
| Belemkar et al. (2013) | Inde         | <ul style="list-style-type: none"> <li>Évaluation des activités anti-inflammatoire et analgésique de l'extrait méthanolique de <i>Adhatoda vasica</i> et <i>Mentha piperita</i>.</li> <li>Utilisation du test d'oedème des pattes induit par le carraghénane chez le rat avec détermination du taux d'inhibition.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>A la dose de 200 mg/kg = 34,49% ; 400 mg / kg = 32,08% ; 600 mg / kg = 38,23% ; Diclofénac sodique (20 mg/kg) = 57,75%.</li> <li>L'extrait méthanolique combiné avec le diclofénac sodique (20 mg/kg) a produit une dose-dépendante inhibition de inflammation induite par le carraghénane par rapport au témoin (<math>p &lt; 0,05</math>).</li> <li>Toutes les doses ont montré une inhibition significative (<math>p &lt; 0,01</math>) de l'inflammation et de la douleur par rapport au contrôle.</li> </ul>                                |
| Kehili et al. (2020a)  | Algérie      | <p>Evaluation des propriétés anti-inflammatoire, analgésique et cicatrisante de l'essence aromatique de <i>Mentha piperita in vitro</i> (test d'irritation du modèle cellulaire des globules rouges) et <i>in vivo</i> (test d'oedème des pattes).</p>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Protection de la membrane érythrocytaire similaire à celle du témoin positif (diclofénac de sodium). Une concentration plus faible (0,4 mg / mL) d'HE a montré une protection membranaire (<math>92,253 \pm 0,203\%</math>) comparable au diclofénac (<math>92,913 \pm 0,221\%</math>).</li> <li>L'HE a démontré une activité de stabilisation de la membrane des globules rouges en inhibant la lyse induite par l'hypotonicité de la membrane érythrocytaire, ce qui est impératif dans la prévention de la réponse inflammatoire.</li> </ul> |
| Kehili et al. (2020a)  | Algérie 2020 | <ul style="list-style-type: none"> <li>Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> en utilisant le test de l'oedème des oreilles induit par le xylène et détermination du taux d'inhibition de l'oedème.</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>L'application topique de l'HE était capable de réduire l'inflammation dans l'oedème aigu de l'oreille induit par le xylène, en comparaison avec le contrôle positif (gel topique de kétoprofène).</li> <li>L'HE a réduit la réponse inflammatoire de 38,09% pour 200 mg/kg, et de 36,50% pour</li> </ul>  |

---

20 mg/kg et 33,33% pour 2 mg/kg.

- L'application topique de l'HE a montré des propriétés anti-inflammatoires dans le modèle de souris en raison de son effet inhibiteur sur la production d'oxyde nitrique et de prostaglandine E2
- 

En usage local (application topique ou cutanée) mais également en inhalation, l'HE de menthe poivrée ou les médicaments à base de cette plante sont utilisés en cas de prurit, comme adoucissant et comme protecteur, mais aussi en cas de nez bouché et de rhume. Ils sont également utilisés pour améliorer l'hygiène buccale. En outre, antalgique, la menthe poivrée aide beaucoup à alléger les affections buccales ou pharyngées, comme l'aphte et soulager les maux de tête, les migraines et la sinusite. On l'utilise également pour réduire les démangeaisons cutanées (**Shah et Mello, 2004**).

### **3.4. Activité analgésique périphérique *in vivo***

La menthe poivrée est un antidouleur et un anti-inflammatoire efficace contre toutes douleurs notamment articulaires comme l'arthrite, l'arthrose, l'entorse, la sciatique, la hernie discale ou la tendinite. Elle est aussi efficace contre les douleurs rhumatismales, les douleurs musculaires type déchirure musculaire et courbature mais également contre la céphalée ou la névralgie qui se déclarent après ou pendant un effort ou alors en fin de journée (**Shah and Mello, 2004**).

L'activité analgésique périphérique de l'HE de menthe poivrée a été évaluée par le dénombrement des spasmes ou des contractions abdominales induites chez les souris par injection intrapéritonéale de l'acide acétique (3%) (**Oukhenniche and Zouakou, 2018**). Le test de torsion a été utilisé dans le but de confirmer le pouvoir analgésique périphérique de l'HE de menthe poivrée et à travers son efficacité dans la réduction des contractions abdominales chez les souris (**Tab. 6**). Ce test consiste à réduire, par des substances antalgiques, la douleur provoquée chez les souris par l'injection d'une substance irritante capable d'entraîner des mouvements de torsion (**Soro et al., 2009**).

Un certain nombre d'études ont aussi montré l'efficacité de la menthe poivrée pour être un remède important du syndrome du côlon irritable (**Pittler and Ernst, 1998**) qui affecte des millions de personnes chaque année. Il se caractérise par une douleur ou un inconfort abdominal sans qu'une autre maladie n'ait été diagnostiquée. Des recherches plus approfondies doivent toujours être faites pour savoir comment l'huile agit, mais plusieurs études ont bien validé ses effets.

**Tableau 6.** Quelques travaux réalisés pour valoriser la fragrance de la menthe poivrée en analgésique.

| Equipes                       | Pays  | Objectifs de l'étude  | Résultats obtenus   |
|-------------------------------|-------|---|---|
| <b>Taher (2012)</b>           | Libye | Activité anti-nociceptive de l'extrait aqueux des feuilles <i>Mentha piperita</i> extrait <i>in vivo</i> sur des souris en utilisant le test de contractions abdominales induites par l'acide acétique. | <ul style="list-style-type: none"> <li>• L'administration intra-péritonéale de l'extrait de menthe (200 et 400 mg/kg) a montré une inhibition significative des contractions abdominales induites par l'acide acétique chez la souris (protection de 46,67% et 51,79%, respectivement).</li> <li>• l'acide acétylsalicylique, (100 mg/kg) a produit un effet protecteur significatif de 94,87% contre la douleur induite par l'acide acétique dans ce modèle de nociception.</li> </ul> |
| <b>Prasanna et al. (2018)</b> | Inde  | Évaluation de l'activité analgésique de l'extrait aqueux de menthe poivrée chez un modèle animal via la détermination du temps de réaction (test de la plaque chauffante).                              | <ul style="list-style-type: none"> <li>• La dose de 600 mg/kg de menthe poivrée a un effet analgésique comparable à celui de l'aspirine (100 mg/kg).</li> </ul>   |
| <b>Saleh (2010)</b>           | Irak  | Détermination des propriétés anti-nociceptives de l'extrait aqueux de menthe poivrée via la méthode de la plaque chauffante.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Extrait de menthe (300 mg/kg) a montré une augmentation significative du temps de latence au stimulus thermique par rapport au groupe témoin, (15,16 ± 0,48 secondes).</li> <li>• la morphine (5 mg/kg) a également produit une analgésie et induit une augmentation du temps de latence de la douleur (36,66 ± 0,88 secondes).</li> </ul>   |

Les chercheurs ont mené 5 essais cliniques auprès de 484 patients souffrant de dyspepsie fonctionnelle (non ulcéreuse) afin de tester l'efficacité de l'essence aromatique de menthe poivrée associée à celle du carvi. Dans l'ensemble, les résultats indiquent qu'une telle préparation peut soulager les douleurs abdominales chez environ 95 % des patients traités et qu'elle procure des effets comparables à la Cisapride, un médicament classique utilisé pour traiter ces troubles digestifs (Barnick and Cardozo, 1990 ; May et al., 1996 ; Madisch and Heydenreich, 1999 ; Freise and Kohler, 1999).

# CONCLUSION

---

La thérapeutique des pathologies humaines se base principalement sur l'usage des médicaments de synthèse. La prescription, à grande échelle et parfois inappropriée, de ces agents a entraîné un certain nombre d'effets indésirables ou encore la sélection des souches résistantes, d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments.

Produites comme métabolites secondaires par les plantes aromatiques, les huiles essentielles sont toujours utilisées comme substances aromatisantes en parfumeries, en industrie cosmétique et comme agents antimicrobiens en médecine alternative. En aromathérapie scientifique, il s'agit de mettre en valeur les propriétés pharmacologiques des PAM en s'appuyant sur leurs profils chromatographiques.

Eu égard de l'importance des huiles aromatiques de la menthe poivrée en phytothérapie, il nous a semblé nécessaire de leur consacrer cette étude pour vérifier les activités antibactérienne, antifongique, anti-inflammatoire et analgésique, pour éventuelle intégration dans l'arsenal thérapeutique. En aromathérapie scientifique, il s'agit de mettre en valeur les propriétés biologiques en s'appuyant sur leur composition chimique. C'est dans ce contexte que s'est inscrite cette revue de synthèse afin de mieux cerner le pouvoir thérapeutique de la fraction aromatique de cette plante à parfum, au demeurant largement répandue dans le bassin méditerranéen.

Le premier objectif de notre étude était de faire une étude comparative de la composition chimique de l'huile par analyse chromatographique. Cet examen a permis d'identifier les différents constituants chimiques de l'huile où le menthol et ses cétone et ester (menthone et acétate de menthyle) étaient décelés comme les composés majoritaires et caractéristiques.

L'autre objectif assigné à ce travail était de mettre en exergue le pouvoir antimicrobien de l'essence sur des souches bactérienne et mycéliennes. En aromatogramme, l'huile est reconnue pour son pouvoir fongistatique intéressant. Cette activité inhibitrice est « dose-dépendante » et paraît plus supérieure à celle des antibiotiques. L'autre volet abordé, lors de cette revue de synthèse, était de cerner l'efficacité anti-inflammatoire topique de l'essence *in vivo*. Les résultats



de la recherche bibliographique ont établi l'efficacité de l'huile dans la réduction de l'inflammation et la résorption de l'œdème, en comparaison avec les médicaments de synthèse.

Comme perspectives, il serait intéressant d'aborder, *in silico*, les propriétés pharmacologiques des composés caractéristiques de l'huile de menthe poivrée, seules ou en combinaisons avec des drogues de synthèse. La cytotoxicité des molécules terpéniques de la menthe poivrée devra être également explorée *in vivo* et dans des cultures cellulaires. Après ces nombreux tests toxicologiques, les molécules à activité thérapeutiques pourront servir de base au développement de nouveaux médicaments.

En définitive, l'objectif premier de notre travail a été atteint puisque nous avons cerné le bien-fondé de l'utilisation de la fraction aromatique de la menthe poivrée en aromathérapie anti-infectieuse ou comme ingrédient actif dans l'arsenal thérapeutique contre les pathologies inflammatoire et douloureuse et ce à travers une étude bibliographique comparative.

# Références Bibliographiques

---

1. Abadlia, M., Chebbour, A. (2014). Etude des huiles essentielles de la plante *Mentha piperita* et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Mémoire de Master en Sciences Biologiques, Spécialité : Métabolisme Secondaire. Université de Constantine, Algérie.
2. Agarwal, V., Lal, P., & Pruthi, V. (2008). Prevention of *Candida albicans* biofilm by plant oils. *Mycopathologia*, 165(1), 13-19.
3. Agence Européenne du Médicament (EMA). Community herbal monograph on *Mentha x piperita* L.
4. Agence Nationale du Médicament (ANSM). Menthe poivrée. Liste A des plantes médicinales utilisées traditionnellement. [Consulté le 20/04/2015]. <http://bit.ly/liste-a-plantes-anism>
5. Al-Reza, S. M., Yoon, J. I., Kim, H. J., Kim, J. S., & Kang, S. C. (2010). Anti-inflammatory activity of seed essential oil from *Zizyphus jujuba*. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 639-643.
6. Ardakani, M. T., Ghassemi, S., Mehdizadeh, M., Mojab, F., Salamzadeh, J., Ghassemi, S., & Hajifathali, A. (2016). Evaluating the effect of *Matricaria recutita* and *Mentha piperita* herbal mouthwash on management of oral mucositis in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: A randomized, double blind, placebo controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 29, 29-34.
7. Atta, A. H., & Alkofahi, A. (1998). Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 60(2), 117-124.
8. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446-475.
9. Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A., & Laglaoui, A. (2016). Antibacterial and anti-biofilm Effects of three species of *Mentha*: *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* and *Mentha piperita*. *Phytothérapie*, 14(2), 88-96
10. Barnick, C. G. W., & Cardozo, L. D. (1990). The treatment of abdominal distension and dyspepsia with enteric coated peppermint oil following routine gynaecological intraperitoneal surgery. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 10(5), 423-424.
11. Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (Eds.). (2015). Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC press, Taylor and Francis group, Floride, USA.

12. Baudoux, D. (2013). Guide pratique d'aromathérapie: la diffusion: mes 32 huiles essentielles préférées dans 62 formules à diffuser et respirer. Edition Amyris, France.
13. Belemkar, S., Thakre, S. A., & Pata, M. K. (2013). Evaluation of anti-inflammatory and analgesic activities of methanolic extract of *Adhatoda vasica* Nees and *Mentha piperita* Linn. *Inventi Rapid Ethnopharmacol*, 2, 1-6.
14. Belkhiri, F. (2018). Activité antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales: *Salvia verbenaca* et *Lepidium sativum*. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques, Spécialité: Microbiologie, Université Ferhat Abbas de Sétif 1, Algérie.
15. Bellassoued, K., Hsouna, A. B., Athmouni, K., van Pelt, J., Ayadi, F. M., Rebai, T., & Elfeki, A. (2018). Protective effects of *Mentha piperita* L. leaf essential oil against CCl<sub>4</sub> induced hepatic oxidative damage and renal failure in rats. *Lipids in Health and Disease*, 17(1), 9.
16. Belletti, N., Lanciotti, R., Patrignani, F., & Gardini, F. (2008). Antimicrobial efficacy of citron essential oil on spoilage and pathogenic microorganisms in fruit-based salads. *Journal of Food Science*, 73(7), M331-M338.
17. Ben-Arye, E., Dudai, N., Eini, A., Torem, M., Schiff, E., & Rakover, Y. (2011). Treatment of upper respiratory tract infections in primary care: a randomized study using aromatic herbs. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
18. Benayad, N. (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Rapport d'étude, 61.
19. Beniston, N. T. (1984). La flore d'Algérie. Edition Entreprise Nationale du Livre, Algérie.
20. Benomari, F.Z. (2018). Variabilité chimique et activités biologiques des volatils des espèces aromatiques a intérêt économique des genres *Mentha*, *Inula*, *Thymus*, *Astericus* et *Chrysanthemum* de l'ouest Algérien. Thèse de Doctorat en Chimie des Produits Naturels, Analyses et Applications. Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen, Algérie.
21. Bernadet, M. (2000). Phytoaromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Editions Dangles, Collection Médicale et Paramédicale, France.
22. Bessah, R., & Benyoussef, E. H. (2015). La filière des huiles essentielles Etat de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *Revue des Energies Renouvelables*, 18(3), 513-528.
23. Blamey, M., & Grey-Wilson, C. (1991). Famille des Amaranthacées. La flore d'Europe occidentale. Paris: Les Editions Arthaud, 80-81.
24. Borges, D. F., Lopes, E. A., Moraes, A. R. F., Soares, M. S., Visôto, L. E., Oliveira, C. R., & Valente, V. M. M. (2018). Formulation of botanicals for the control of plant-pathogens: A review. *Crop Protection*, 110, 135-140.

25. Boukhobza, F. (2020). Intérêt de l'huile essentielle de Menthe poivrée dans les soins bucco-dentaires. *Actualités Pharmaceutiques*, 59(597), 52-53.
26. Bounihi, A. (2016). Criblage phytochimique, Étude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées). Thèse de Doctorat, Université Mohammed V, Rabat, Maroc.
27. Bousbia, N. (2009). Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agro-alimentaires. Thèse de Doctorat en cotutelle entre l'Université d'Avignon et des pays de Vaucluse (France) et l'École Nationale Supérieure Agronomique d'Alger (Algérie).
28. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. Edition Tec-Doc, Paris, France.
29. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
30. Carson, C. F., Mee, B. J., & Riley, T. V. (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6), 1914-1920.
31. Chalal C. & Salmi O. (2018). Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Mentha x piperita* L. en combinaison avec les antibiotiques. Mémoire de Master en Biotechnologies, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie.
32. Charles, D. J. (2012). Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. Springer Science & Business Media.
33. Couic-Marinier, F., Harnist, F., & Lobstein, A. (2014). En savoir plus sur l'huile essentielle de Lavande officinale. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(535), 37-40.
34. Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 170-175.
35. de Oliveira Hashimoto, G. S., Neto, F. M., Ruiz, M. L., Acchile, M., Chagas, E. C., Chaves, F. C. M., & Martins, M. L. (2016). Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. *Aquaculture*, 450, 182-186.
36. De Silva, T. (Ed.). (1995). A manual on the essential oil industry. United Nations Industrial Development Organization.
37. De Sousa Barros, A., de Morais, S. M., Ferreira, P. A. T., Vieira, Í. G. P., Craveiro, A. A., dos Santos Fontenelle, R. O., & de Sousa, H. A. (2015). Chemical composition and

- functional properties of essential oils from *Mentha* species. *Industrial Crops and Products*, 76, 557-564.
38. Deans, S. G., & Ritchie, G. (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5(2), 165-180.
  39. Degnon, G. R., Adjou, E. S., Metome, G., & Dahouenon-Ahoussi, E. (2016). Efficacité des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et de *Mentha piperita* dans la stabilisation du lait frais de vache au Sud du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 10(4), 1894-1902.
  40. Degryse, A. C., Delpla, I., & Voinier, M. A. (2008). Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Rapport de stage en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur du génie sanitaire.
  41. Derbré, S., & Leclerc, M. V. (2014). Prise en charge des vomissements, diarrhées et constipation par les thérapeutiques complémentaires et alternatives. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(534), 47-52.
  42. Deyra, B., Guinobert, I., Feuillolay, C., Haddioui, L., Roques, C., & Brochot, A. (2017). Effet antimicrobien et sur le mal de gorge d'un spray à base d'extraits de sauge et de sureau, d'huile essentielle de menthe poivrée, de miel et de zinc. *Phytothérapie*, 15(4), 203-210.
  43. Djenane, D., Yangüela, J., Amrouche, T., Boubrit, S., Boussad, N., & Roncalés, P. (2011). Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. *Food Science and Technology International*, 17(6), 505-515.
  44. Dorman, H. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88(2), 308-316.
  45. Dorman, H. D., Koşar, M., Baser, K. H. C., & Hiltunen, R. (2009). Phenolic profile and antioxidant evaluation of *Mentha x piperita* L. (peppermint) extracts. *Natural Product Communications*, 4(4), 1934578X0900400419.
  46. Eccles, R. (1994). Menthol and related cooling compounds. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 46(8), 618-630.
  47. El Haib, A. (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse de Doctorat, Université Toulouse III-Paul Sabatier, France.
  48. Faucon, M. (2017). *Traité d'aromathérapie scientifique et médicale, les huiles essentielles: fondements et aide à la prescription*. Éditions Sang de la terre, France.

49. Ford, A. C., Talley, N. J., Spiegel, B. M., Foxx-Orenstein, A. E., Schiller, L., Quigley, E. M., & Moayyedi, P. (2008). Effect of fibre, antispasmodics, and peppermint oil in the treatment of irritable bowel syndrome: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 337, a2313.
50. Franchomme, P., Jollois, R., & Penoel, D. (2001). L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. Édition Roger Jollois.
51. Freise, J., & Köhler, S. (1999). Peppermint oil-caraway oil fixed combination in non-ulcer dyspepsia--comparison of the effects of enteric preparations. *Die Pharmazie*, 54(3), 210-215.
52. Giraud-Robert, A. M., Myon, E., Chenaie, P., Albano, P. O., Martin, N., & Taïeb, C. (2004). Efficience du traitement des affections bronchiques aiguës par des Gouttes aux essences®. *Phytothérapie*, 2(6), 175-179.
53. Goetz, P. (2011). Phytothérapie de l'inflammation (partie I). *Phytothérapie*, 9(5), 310-317.
54. Gonny, M., Bradesi, P., & Casanova, J. (2004). Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(5), 424-433.
55. Grigoleit, H. G., & Grigoleit, P. (2005). Gastrointestinal clinical pharmacology of peppermint oil. *Phytomedicine*, 12(8), 607-611.
56. Gupta, A. K., Mishra, R., Singh, A. K., Srivastava, A., & Lal, R. K. (2017). Genetic variability and correlations of essential oil yield with agro-economic traits in *Mentha* species and identification of promising cultivars. *Industrial Crops and Products*, 95, 726-732.
57. Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86(6), 985-990.
58. Hana, C. A. (2017). Etude des huiles essentielles de la plante *Mentha piperita* et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques, Option: Ecophysiologie et Biotechnologie Végétale, Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri de Constantine 1, Algérie.
59. Husain, F. M., Ahmad, I., Khan, M. S., Ahmad, E., Tahseen, Q., Khan, M. S., & Alshabib, N. A. (2015). Sub-MICs of *Mentha piperita* essential oil and menthol inhibits AHL mediated quorum sensing and biofilm of Gram-negative bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 6, 420.
60. Inoue, T., Sugimoto, Y., Masuda, H., & Kamei, C. (2002). Antiallergic effect of flavonoid glycosides obtained from *Mentha piperita* L. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 25(2), 256-259.

61. Iqbal, M. (1993). International trade in non-wood forest products: an overview. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
62. İşcan, G., Kirimer, N., Kürkcüoğlu, M., Baser, H. C., & DEMİrci, F. (2002). Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(14), 3943-3946.
63. Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., & Deesalle-Féat, T. (2001). Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. Editions Larousse, Paris, France.
64. Jeyakumar, E., Lawrence, R., & Pal, T. (2011). Comparative evaluation in the efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) oil with standards antibiotics against selected bacterial pathogens. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 1(2), S253-S257.
65. Kačániová, M., Vukovič, N., Horská, E., šalamon, I., Bobková, A., Hleba, L., & Bobko, M. (2014). Antibacterial activity against *Clostridium* genus and antiradical activity of the essential oils from different origin. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 49(7), 505-512.
66. Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012). La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Edition Springer.
67. Kamatou, G. P., Vermaak, I., Viljoen, A. M., & Lawrence, B. M. (2013). Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties. Phytochemistry, 96, 15-25.
68. Kang, J., Jin, W., Wang, J., Sun, Y., Wu, X., & Liu, L. (2019). Antibacterial and anti-biofilm activities of peppermint essential oil against *Staphylococcus aureus*. Lwt, 101, 639-645.
69. Katayama, K., Takahashi, O., Matsui, R., Morigaki, S., Aiba, T., Kakemi, M., & Koizumi, T. (1992). Effect of l-menthol on the permeation of indomethacin, mannitol and cortisone through excised hairless mouse skin. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 40(11), 3097-3099.
70. Kehili, S., Boukhatem, M. N., Belkadi, A., Ferhat, M. A., & Setzer, W. N. (2020a). Peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil as a potent anti-inflammatory, wound healing and anti-nociceptive drug. European Journal of Biological Research, 10(2), 132-149.
71. Kehili, S., Boukhatem, M. N., Hussein, E. Z., Kellou, D., Benelmouffok, A. B., Ferhat, M. A., & Setzer, W. N. (2020b). *In vitro* growth inhibition of pathogenic and food spoilage yeasts and fungi by peppermint (*Mentha piperita*) essential oil and survival of *Saccharomyces cerevisiae* in fruit juices. Food and Environment Safety Journal, 19(2).

72. Kubeczka, K. H. (1982). Chemical investigations of essential oils of umbellifers. In *Aromatic Plants* (pp. 165-173). Springer, Dordrecht.
73. Kurita, N., & Koike, S. (1982). Synergistic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oil components. *Agricultural and Biological Chemistry*, 46(1), 159-165.
74. Lacoste, S., & Menant, M. (2010). *Les plantes qui guérissent*. Mosaique Santé.
75. Laghouiter, O. K., Gherib, A., & Laghouiter, H. (2015). Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles de certaines menthes cultivées dans la région de Ghardaïa. *Revue El Wahat pour les Recherches et les Etudes* Vol, 8(1), 84-93.
76. Lakhdar, L., Hmamouchi, M., Rida, S., & Ennibi, O. (2012). Antibacterial activity of essential oils against periodontal pathogens: a qualitative systematic review. *Odontostomatol Trop*, 35(140), 38-46.
77. Lawrence, B. M. (2009). A preliminary report on the world production of some selected essential oils and countries. *Perfumer & Flavorist*, 34(1), 38-44.
78. Lindemann, J., Tsakiropoulou, E., Scheithauer, M. O., Konstantinidis, I., & Wiesmiller, K. M. (2008). Impact of menthol inhalation on nasal mucosal temperature and nasal patency. *American Journal of Rhinology*, 22(4), 402-405.
79. Liu, B., Fan, L., Balakrishna, S., Sui, A., Morris, J. B., & Jordt, S. E. (2013). TRPM8 is the principal mediator of menthol-induced analgesia of acute and inflammatory pain. *Pain*, 154(10), 2169-2177.
80. Lorrain E. (2013). *100 questions sur la phytothérapie* (La boétie, Italie ed.).
81. Lucida, G. M., & Wallace, J. M. (1998). *Herbal medicines. A clinicians guide*. Pharmaceutical Products Press, New York, London, UK, 85-86.
82. Madisch, A., Heydenreich, C. J., Wieland, V., Hufnagel, R., & Hotz, J. (1999). Treatment of functional dyspepsia with a fixed peppermint oil and caraway oil combination preparation as compared to cisapride. *Arzneimittelforschung*, 49(11), 925-932.
83. Mahboubi, M., & Kazempour, N. (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential oil. *Songklanakarin Journal of Sciences and Technology*, 36(1), 83-87.
84. Mann, C. M., Cox, S. D., & Markham, J. L. (2000). The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, 30(4), 294-297.
85. Martoja, R., Martoja-Pierson, M., & Grassé, P. P. (1967). *Initiation aux techniques de l'histologie animale* (Vol. 345). Masson, Paris, France.
86. Masango, P. (2005). Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*, 13(8), 833-839.



87. May, B., Kuntz, H. D., Kieser, M., & Köhler, S. (1996). Efficacy of a fixed peppermint oil/caraway oil combination in non-ulcer dyspepsia. *Arzneimittel-Forschung*, 46(12), 1149-1153.
88. McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(8), 619-633.
89. Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: a short review. *Molecules*, 15(12), 9252-9287.
90. Mimica-Dukić, N., Božin, B., Soković, M., Mihajlović, B., & Matavulj, M. (2003). Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Medica*, 69(05), 413-419.
91. Morimoto, Y., Sugibayashi, K., Kobayashi, D., Shoji, H., Yamazaki, J. I., & Kimura, M. (1993). A new enhancer-coenhancer system to increase skin permeation of morphine hydrochloride *in vitro*. *International Journal of Pharmaceutics*, 91(1), 9-14.
92. Moro-Buronzio, A. (2008). *Grand guide des huiles essentielles: santé, beauté, bien-être*. Hachette pratique, France.
93. Mouhi, L. (2017). *Etude des activités biologiques de l'association des huiles essentielles de plantes de la flore Algérienne. Elaboration d'une forme pharmaceutique*. Thèse de Doctorat en Génie des Procédés Pharmaceutiques, Faculté de Génie Mécanique & Génie des Procédés, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Alger, Algérie.
94. Naganuma, M., Hirose, S., Nakayama, Y., Nakajima, K., & Someya, T. (1985). A study of the phototoxicity of lemon oil. *Archives of Dermatological Research*, 278(1), 31-36.
95. Nair, B. (2001). Final report on the safety assessment of *Mentha Piperita* (Peppermint) Oil, *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf Extract, *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf, and *Mentha Piperita* (Peppermint) Leaf Water. *International Journal of Toxicology*, 20, 61.
96. Oukhenniche, Y., Zouakou, S. (2018). *Composition chimique et activités pharmacologiques de l'huile essentielle de la menthe poivrée (Mentha piperita L.)*. Mémoire de Master en Sciences Biologiques, Université – Saad Dahlab – Blida 1, Blida, Algérie.
97. Penoel, D., & Franchomme, P. (1990). *L'aromathérapie Exactement*. Roger Jollois Editeur, 446.
98. Pénoël, D., & Jollois, R. (1991). *Médecine aromatique, médecine planétaire: vers la fin d'une survie artificielle*. R. Jollois.

99. Pibiri, M. C. (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat ès Sciences, Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Suisse.
100. Piochon, M. (2008). Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Thèse de Doctorat, Université du Québec à Chicoutimi, Canada.
101. Pittler, M. H., & Ernst, E. (1998). Peppermint oil for irritable bowel syndrome: a critical review and meta-analysis. *The American Journal of Gastroenterology*, 93(7), 1131-1135.
102. Prasad, P., Kishor, R., Gupta, A., Saxena, V., Zaidi, S., Kushwaha, H., & Kumar, B. (2020). Genetic variability and character association among morpho-metric traits and essential oil constituents in eight half-sib seed progenies of peppermint (*Mentha piperita* L.). *Trends in Phytochemical Research*, 4(3), 143-152.
103. Prasanna. X.A., Sarojini. R., Gowri Thilagam .T., Susila, K. M. S. (2018). Evaluation of analgesic activity of *Mentha piperita* (aqueous extract) in Swiss male albino mice. *International Journal of Scientific Research*, 7(10), 68-69.
104. Rita, P., & Animesh, D. K. (2011). An updated overview on peppermint (*Mentha piperita* L.). *International Research Journal of Pharmacy*, 2(8), 1-10.
105. Roux, D., & Catier, O. (2007). *Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie*, 3e éd. Rueil-Malmaison: Wolters Kluwer France.
106. Safaei-Ghomi, J., & Ahd, A. A. (2010). Antimicrobial and antifungal properties of the essential oil and methanol extracts of *Eucalyptus largiflorens* and *Eucalyptus intertexta*. *Pharmacognosy Magazine*, 6(23), 172.
107. Saleh, A. N. A. (2010). The analgesic activity of *Mentha piperita* (MP) leaves extract. *Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 34, 73-78.
108. Samber, N., Khan, A., Varma, A., & Manzoor, N. (2015). Synergistic anti-candidal activity and mode of action of *Mentha piperita* essential oil and its major components. *Pharmaceutical Biology*, 53(10), 1496-1504.
109. Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F. J., & Reglero, G. (2005). Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection*, 68(4), 790-795.
110. Sens-Olive, G. (1979). Les huiles essentielles-généralités et définitions. *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*, éd. Maloine.
111. Shah, P. P., & Mello, P. M. D. (2004). A review of medicinal uses and pharmacological effects of *Mentha piperita*. *Natural Product Radiance*, 3(4), 214-221.

112. Shavakhi, A., Ardestani, S. K., Taki, M., Goli, M., & Keshteli, A. H. (2012). Premedication with peppermint oil capsules in colonoscopy: a double blind placebo-controlled randomized trial study. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*, 75(3), 349-353.
113. Shkurupiĭ, V. A., Odintsova, O. A., Kazarinova, N. V., & Tkrachenko, K. G. (2006). Use of essential oil of peppermint (*Mentha piperita*) in the complex treatment of patients with infiltrative pulmonary tuberculosis. *Problemy Tuberkuleza i Boleznei Legkikh*, (9), 43-45.
114. Singh, R., Shushni, M. A., & Belkheir, A. (2015). Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(3), 322-328.
115. Soković, M. D., Vukojević, J., Marin, P. D., Brkić, D. D., Vajs, V., & Van Griensven, L. J. (2009). Chemical composition of essential oils of *Thymus* and *Mentha* species and their antifungal activities. *Molecules*, 14(1), 238-249.
116. Soro, T. Y., Traore, F., & Sakande, J. (2009). Activité analgésique de l'extrait aqueux de *Ximenia americana* (Linné)(Olacaceae). *Comptes Rendus en Biologie*, 332(4), 371-377.
117. Sroka, Z., Fecka, I., & Cisowski, W. (2005). Antiradical and anti-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> properties of polyphenolic compounds from an aqueous peppermint extract. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 60(11-12), 826-832.
118. Sun, Z., Wang, H., Wang, J., Zhou, L., & Yang, P. (2014). Chemical composition and anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of essential oil from leaves of *Mentha piperita* grown in China. *PloS one*, 9(12), e114767.
119. Taher, Y. A. (2012). Antinociceptive activity of *Mentha piperita* leaf aqueous extract in mice. *Libyan Journal of Medicine*, 7(1), 16205.
120. Tajkarimi, M. M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. O. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21(9), 1199-1218.
121. Taleb-Toudert, K. (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien): évaluation de leurs effets sur la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Algérie.
122. Tyagi, A. K., Gottardi, D., Malik, A., & Guerzoni, M. E. (2013). Anti-yeast activity of mentha oil and vapours through *in vitro* and *in vivo* (real fruit juices) assays. *Food Chemistry*, 37, 108-114.
123. Ultee, A., Bennik, M. H. J., & Moezelaar, R. J. A. E. M. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(4), 1561-1568.
124. Valnet, J. (1984). *Aromathérapie: traitement de maladie par les plantes*. Maloine SA Editeur Paris, France.

125. Wannissorn, B., Jarikasem, S., Siriwangchai, T., & Thubthimthed, S. (2005). Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*, 76(2), 233-236.
126. Wegrzyn, R., & Lamendinh, H. (2005). Huiles essentielles et aromathérapie bucco-dentaire. *Chir. Dent. Fr*, 1225, 62-66.
127. Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2006). Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67(12), 1249-1255.
128. Zahalka, J. P. (2014). Les huiles essentielles: dictionnaire complet d'aromathérapie: 255 huiles essentielles, 32 hydrolats, 34 huiles végétales, 309 pathologies traitées. Edition du Dauphin, France.

# Annexe 1 = ABSTRACTS

**Pharmaceutical  
Biology**

ISSN 1388-0209 print/ISSN 1744-5116 online  
Editor-in-Chief: John M. Pezzuto  
Pharm Biol, 2015; 53(10): 1496–1504  
© 2015 Informa Healthcare USA, Inc. DOI: 10.3109/13880209.2014.989623

**informa**  
healthcare

ORIGINAL ARTICLE

## Synergistic anti-candidal activity and mode of action of *Mentha piperita* essential oil and its major components

Neha Samber<sup>1,2</sup>, Amber Khan<sup>1\*</sup>, Ajit Varma<sup>2</sup>, and Nikhat Manzoor<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical Mycology Lab, Department of Biosciences, Jamia Millia Islamia, New Delhi, India and <sup>2</sup>Amity Institute of Microbial Technology, Amity University, Noida, India

### Abstract

**Context:** *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) has been used in folk medicine since antiquity. Its essential oil (mint EO) and major bioactive components have antimicrobial properties but their mechanism of action is still not clear.

**Objective:** The present work aims to elucidate *M. piperita*'s anti-*Candida* activity and mode of action.

**Materials and methods:** Chemical constituents of mint EO were identified by GC-MS by injecting 0.1 ml sample in a splitless mode. MIC was determined by the broth dilution method. Synergy with fluconazole (FLC) was evaluated by checkerboard assay and FICI. Mid log phase cells harvested from YPD media were used for proton extrusion measurement and the rate of glucose-induced H<sup>+</sup> efflux gives PM-ATPase activity. Cell membrane integrity was estimated by total ergosterol content and scanning microscopy at respective MIC and sub-MIC values. *In vitro* hemolytic activity was performed to rule out possible cytotoxicity of the test compounds.

**Results:** The MIC value of mint EO, carvone, menthol, and menthone was 225, 248, 500, and 4200 µg/ml, respectively. At their respective MICs, these compounds showed 47, 42, 35, and 29% decrease in PM-ATPase activity besides showing synergy with FLC. In case of FLC-resistant strains, the decrease in H<sup>+</sup> efflux was by 52, 48, 32, and 30%, a trend similar to the susceptible cases. Exposed *Candida* cells showed a 100% decrease in the ergosterol content, cell membrane breakage, and alterations in morphology.

**Discussion and conclusion:** Our studies suggest that mint EO and its lead compounds exert antifungal activity by reducing ergosterol levels, inhibiting PM-ATPase leading to intracellular acidification, and ultimately cell death. Our results suggest that mint EO and its constituents are potential antifungal agents and need to be further investigated.

### Keywords

Antifungal activity, *Candida*, carvone, menthol, menthone, plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase, synergy, virulence

### History

Received 19 December 2013  
Revised 26 September 2014  
Accepted 15 November 2014  
Published online 8 April 2015



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

**LWT - Food Science and Technology**

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/lwt](http://www.elsevier.com/locate/lwt)



## Antibacterial and anti-biofilm activities of peppermint essential oil against *Staphylococcus aureus*

Jiamu Kang, Wenyuan Jin, Jingfan Wang, Yuyang Sun, Xiaoxia Wu, Liu Liu\*

College of Food Engineering and Nutrition Science, Shaanxi Normal University, Xi'an, Shaanxi, 710119, China

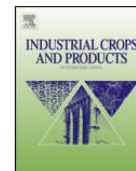


### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Biofilm  
Cell membrane  
Peppermint essential oil  
*Staphylococcus aureus*

### ABSTRACT

Peppermint essential oil (PEO) has been reported to prevent microbial growth and prolong the shelf-life of food, but there are few studies about its possible antibacterial mechanism and anti-biofilm activity against *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). In this study, the antibacterial mechanism of PEO on planktonic *S. aureus* was investigated by determining electrical conductivity, cell membrane integrity, cell viability, and bacterial morphology. Moreover, a crystal violet quantification assay and plate colony counts were used to evaluate the effects of PEO on inhibiting and inactivating *S. aureus* biofilms. The results show that PEO affected the permeability and integrity of the *S. aureus* cell membrane, as evidenced by the increase in relative electrical conductivity and leakage of nucleic acids, proteins, and ATP. Decreased cell viability and changes in cell morphology further confirmed the cell membrane damage to *S. aureus* by PEO. In addition, PEO significantly inhibited the formation of biofilm, and inactivated mature biofilm formed by *S. aureus*. These findings suggest that PEO has the potential to control planktonic *S. aureus* and its biofilm in food processing environments.



## Chemical composition and functional properties of essential oils from *Mentha* species



Alexandre de Sousa Barros<sup>a</sup>, Selene Maia de Moraes<sup>a,b,\*</sup>,  
 Pablito Augusto Travassos Ferreira<sup>a</sup>, Ícaro Gusmão Pinto Vieira<sup>b,c</sup>,  
 Afrânio Aragão Craveiro<sup>c</sup>, Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle<sup>d</sup>,  
 Jane Eire Silva Alencar de Menezes<sup>a,b</sup>, Francisco Walber Ferreira da Silva<sup>a</sup>,  
 Halisson Araújo de Sousa<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Academic Masters in Natural Resources, State University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil

<sup>b</sup> Course of Chemistry, State University of Ceará, Fortaleza, Ceará, Brazil

<sup>c</sup> Park of Technology Development, Fortaleza, Ceará, Brazil

<sup>d</sup> Acaraú Valley University, Sobral, Ceará, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 27 November 2014

Received in revised form 8 May 2015

Accepted 1 July 2015

#### Keywords:

Essential oil

*Mentha*

Antioxidant

Biological properties

### ABSTRACT

The plants of the genus *Mentha* are widely used in cooking, cosmetics and popular medicine. The present work analyzes the chemical composition of the essential oils of several *Mentha* species, and evaluates some functional properties such as antioxidant, anticholinesterase and antifungal, to corroborate their medicinal use. The oils obtained by hydrodistillation showed higher levels of the monoterpenes limonene, isomenthone, menthol, menthofuran, D-neoisomenthol, 1,8-cineole (eucalyptol), D-carvone, linalool, linalyl acetate, piperitenone oxide and pulegone. The essential oil of *Mentha longifolia* (Himalayan silver mint) stood out for its antioxidant activity with IC<sub>50</sub> of 0.86 ± 0.01 mg/mL by the DPPH method and 0.64 ± 0.02 mg/mL by the method of β-carotene/linoleic acid system. *Mentha piperita* oils (chocolate mint) and *Mentha spicata* (menthol mint) showed good inhibition of acetylcholinesterase, with enzyme inhibition zones of 1.0 cm and 0.9 cm, respectively. The antifungal activity of *Mentha* essential oils showed moderate activity against *Trichophyton rubrum* and *Microsporum canis*, and the oil of *M. spicata* (Ciudad del Leste mint) showed MIC and MFC near to the control. The major components of the essential oils could be responsible for evaluated activities, which are associated with the medicinal properties reported for *Mentha* species.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.



## Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia



Gabriela Sayuri de Oliveira Hashimoto<sup>a</sup>, Fausto Marinho Neto<sup>b</sup>, Maria Luiza Ruiz<sup>a</sup>, Monyele Acchile<sup>a</sup>, Edsandra Campos Chagas<sup>c</sup>, Francisco Célio Maia Chaves<sup>c</sup>, Maurício Laterça Martins<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> AQUOS – Aquatic Organisms Health Laboratory, Aquaculture Department, Federal University of Santa Catarina (UFSC), Rod. Admar Gonzaga 1346, 88040-900 Florianópolis, SC, Brazil

<sup>b</sup> Department of Veterinary Pathology, State University of São Paulo (UNESP), Via Prof. Paulo Donato Castellane, km 05, 14884-900 Jaboticabal, SP, Brazil

<sup>c</sup> EMBRAPA Western Amazon, Rod. AM 010, km 29, Zona Rural, 69010-970 Manaus, AM, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 10 July 2015

Received in revised form 27 July 2015

Accepted 28 July 2015

Available online 1 August 2015

#### Keywords:

Fish

Phytotherapy

Rosemary pepper

Peppermint

Anti-parasitic

Blood

### ABSTRACT

This study evaluated the use of therapeutic baths containing essential oils of *Lippia sidoides* (pepper rosemary) and *Mentha piperita* (peppermint) on the hematological parameters of Nile tilapia parasitized by the monogeneans *Cichlidogyrus tilapiae*, *Cichlidogyrus thurstonae*, *Cichlidogyrus halli*, and *Scutogyrus longicornis*. A total of 320 juvenile fish were distributed into 16 tanks of capacity 100 L (20 fish per tank), divided into 4 treatments in quadruplicates: fish exposed to a bath of *L. sidoides* at 20 mg L<sup>-1</sup>; fish exposed to *M. piperita* at 40 mg L<sup>-1</sup>; fish exposed only to a water bath; and fish exposed to water + DMSO (dimethyl sulfoxide) bath. The fish were subjected to 3 baths for 10 min, at intervals of 24 h between treatments. After the third bath, parasitological and hematological analyses were performed. The parasite prevalence in fish treated with essential oils was seen to have decreased by 70%. The efficacy attained among fish treated with *L. sidoides*, in comparison with control water and water + DMSO, was 1.96% and 14.16%, respectively; and among fish treated with *M. piperita*, it was 33.33% and 41.63%, respectively. The total numbers of red blood cells (RBC) and thrombocytes were lower in fish treated with *L. sidoides*. Glucose concentration and neutrophil count were significantly higher in fish treated with *L. sidoides*. Because of the efficacy and positive hematological results, we suggest that baths of *M. piperita* at 40 mg L<sup>-1</sup> should be used as anthelmintic action.

**Statement of relevance:** Authors believe on the use of essential oils to treat ectoparasites of cultured fish and consequently no damages for hematological profile of Nile tilapia were found.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.



RESEARCH ARTICLE

# Chemical Composition and Anti-Inflammatory, Cytotoxic and Antioxidant Activities of Essential Oil from Leaves of *Mentha piperita* Grown in China

Zhenliang Sun<sup>1</sup>\*, Huiyan Wang<sup>2</sup>\*, Jing Wang<sup>3</sup>, Lianming Zhou<sup>3\*</sup>, Peiming Yang<sup>1\*</sup>

1. State Key Laboratory of New Drug & Pharmaceutical Process, Shanghai Institute of Pharmaceutical Industry, China State Institute of Pharmaceutical Industry, Shanghai, 200040, China, 2. Ji Lin Medical College, Ji Lin, 132013, China, 3. Department of General Surgery, Fengxian Hospital affiliated to Southern Medical University, Shanghai, 201499, China

\*[lianmingzhou@163.com](mailto:lianmingzhou@163.com) (LZ); [qqsou@163.com](mailto:qqsou@163.com) (PY)

† These authors contributed equally to this work.



click for updates

 OPEN ACCESS

**Citation:** Sun Z, Wang H, Wang J, Zhou L, Yang P (2014) Chemical Composition and Anti-Inflammatory, Cytotoxic and Antioxidant Activities of Essential Oil from Leaves of *Mentha piperita* Grown in China. PLoS ONE 9(12): e114767. doi:10.1371/journal.pone.0114767

**Editor:** Salvatore V. Pizzo, Duke University Medical Center, United States of America

**Received:** July 16, 2014

**Accepted:** November 13, 2014

**Published:** December 10, 2014

**Copyright:** © 2014 Sun et al. This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

## Abstract

The chemical composition, anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of essential oil from leaves of *Mentha piperita* (MEO) grown in China were investigated. Using GC-MS analysis, the chemical composition of MEO was characterized, showing that it was mainly composed of menthol, menthone and menthyl acetate. MEO exhibited potent anti-inflammatory activities in a croton oil-induced mouse ear edema model. It could also effectively inhibit nitric oxide (NO) and prostaglandin E2 (PGE2) production in lipopolysaccharide (LPS)-activated RAW 264.7 macrophages. The cytotoxic effect was assessed against four human cancer cells. MEO was found to be significantly active against human lung carcinoma SPC-A1, human leukemia K562 and human gastric cancer SGC-7901 cells, with an IC<sub>50</sub> value of 10.89, 16.16 and 38.76 µg/ml, respectively. In addition, MEO had moderate antioxidant activity. The results of this study may provide an experimental basis for further systematic research, rational development and clinical utilization of peppermint resources.





Available online at <http://www.ifgdg.org>

Int. J. Biol. Chem. Sci. 10(4): 1894-1902, August 2016

ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print)

International Journal  
of Biological and  
Chemical Sciences

**Original Paper**

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

## **Efficacité des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et de *Mentha piperita* dans la stabilisation du lait frais de vache au Sud du Bénin**

G. René DEGNON, Euloge S. ADJOU\*, Grâce METOME et  
Edwige DAHOUENON-AHOUSI

*Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée. Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi,  
Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 01 BP : 2009 Cotonou, Bénin.*

*\* Auteur correspondance ; E-mail : [gnimabou2000@yahoo.fr](mailto:gnimabou2000@yahoo.fr)*

---

### **RESUME**

Malgré son importance nutritionnelle et socio-économique, la conservation du lait frais de vache demeure toujours un problème crucial dans les grands systèmes post-collecte du lait. La présente étude vise donc à évaluer les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles extraites des feuilles de *Cymbopogon citratus* et de *Mentha piperita* dans la conservation du lait frais de vache au Sud du Bénin. La détermination de la composition chimique des huiles essentielles par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/CPG-SM) a indiqué que l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* a pour composés majoritaires le gèranial (41,3%), le néral (33%) et le myrcène (10,4%), et celle de *Mentha piperita*, est majoritairement composée de menthol (46,7%) et de néomenthol (8,28%), avec une teneur en monoterpènes hydrogénés de 5,1%, en monoterpènes oxygénés de 87,0% et en sesquiterpènes hydrogénés 2,1%. Les résultats obtenus lors des essais de conservation du lait par adjonction des huiles essentielles ont montré que les huiles essentielles de *Mentha piperita* possèdent une forte activité antimicrobienne sur la flore d'altération du lait frais, comparativement à l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus*.

© 2016 International Formulae Group. All rights reserved.

**Mots clés:** Lait, *Cymbopogon citratus*, *Mentha piperita*, huiles essentielles, conservation.

# Protective effects of *Mentha piperita* L. leaf essential oil against CCl<sub>4</sub> induced hepatic oxidative damage and renal failure in rats

Khaled Bellassoued<sup>1\*</sup>, Anis Ben Hsouna<sup>2</sup>, Khaled Athmouni<sup>3</sup>, Jos van Pelt<sup>4</sup>, Fatma Makni Ayadi<sup>5</sup>, Tarek Rebai<sup>6</sup> and Abdelfattah Elfeki<sup>1</sup>

## Abstract

**Background:** *Mentha piperita* L. is a flowering plant belonging to the Lamiaceae family. *Mentha* plants constitute one of the main valuable sources of essential oil used in foods and for medicinal purposes.

**Methods:** The present study aimed to investigate the composition and in vitro antioxidant activity of *Mentha piperita* leaf essential oil (MpEO). A single dose of CCl<sub>4</sub> was used to induce oxidative stress in rats, which was demonstrated by a significant rise of serum enzyme markers. MpEO was administrated for 7 consecutive days (5, 15, 40 mg/kg body weight) to *Wistar* rats prior to CCl<sub>4</sub> treatment and the effects on serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), and  $\gamma$ -glutamyl transpeptidase ( $\gamma$ -GT) levels, as well as the liver and kidney superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) activity and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels were evaluated. In addition, histopathological examinations of livers and kidneys was performed.

**Results:** The in vitro antioxidant activity of MpEO was lower than that of silymarin. Pretreatment of animals with MpEO at a dose of 5 mg/kg did not have a significant effect on ALT, AST, ALP, LDH,  $\gamma$ GT, urea or creatinine levels in CCl<sub>4</sub>-induced stress. Whereas pretreatment with MpEO at doses of 15 and 40 mg/kg prior to CCl<sub>4</sub>, significantly reduced stress parameters (ALT, AST, ALP, LDH,  $\gamma$ GT, urea and creatinine) compared to the CCl<sub>4</sub>-only group. Moreover, a significant reduction in hepatic and kidney lipid peroxidation (TBARS) and an increase in antioxidant enzymes SOD, CAT and GPx was also observed after treatment with MpEO (40 mg/kg) compared to CCl<sub>4</sub>-treated rats. Furthermore, pretreatment with MpEO at 40 mg/kg can also markedly ameliorate the histopathological hepatic and kidney lesions induced by administration of CCl<sub>4</sub>.

**Conclusions:** We could demonstrate with this study that MpEO protects liver and kidney from CCl<sub>4</sub>-induced oxidative stress and thus substantiate the beneficial effects attributed traditionally to this plant.

**Keywords:** *M. piperita*, Essential oil, Liver, Kidney, Oxidative stress, Histopathological

## INTERNATIONAL JOURNAL OF SCIENTIFIC RESEARCH

### EVALUATION OF ANALGESIC ACTIVITY OF *MENTHA PIPERITA* (AQUEOUS EXTRACT) IN SWISS MALE ALBINO MICE



#### Pharmacology

**Dr. Prasanna. X. A.\*** Post graduate, Institute of Pharmacology, Madurai Medical College, Madurai.  
\*Corresponding Author

**Dr. Sarojini. R** Professor, Institute of Pharmacology, Madurai Medical College, Madurai.

**Dr. Gowri Thilagam .T.** Assistant Professor, Institute of Pharmacology, Madurai Medical College, Madurai

**Dr. K. M. S. Susila** Director and Professor, Institute of Pharmacology, Madurai Medical College, Madurai

#### ABSTRACT

**Background** Analgesic drugs used to alleviate pain are laden with adverse effects. *Mentha piperita* is a herbaceous plant used in traditional medicine. The leaves contain ethereal oil, tannins, flavonoids and they possess diverse medicinal properties.

**Aim and Objective:** To evaluate the analgesic effect of aqueous extract of leaves of *Mentha piperita* in adult swiss male albino mice in comparison with aspirin.

**Materials and Methods:** Analgesic effect was evaluated using Eddy's hot plate method and tail-clip method in 30 inbred male albino mice procured from central animal house, Madurai Medical college and divided into five groups, with six rats in each group. Group I served as control. Group II received T.Aspirin- 100 mg/kg (oral). Group III, IV and V received graded doses of 200,400 ,600 mg /kg of aqueous extract of *Mentha piperita* (oral).

**Results:** *Mentha piperita* at all 3 doses had significant dose dependant analgesic activity when compared to the control group and the 600 mg/kg dose had analgesic activity comparable to that of aspirin.

**Conclusion:** The aqueous extract of leaves of *Mentha piperita* at the dose of 600 mg/kg had analgesic activity comparable to that of aspirin. The analgesic effects may be mediated both centrally and peripherally.

#### KEYWORDS

*Mentha piperita* , Aspirin , Analgesic activity, Eddy's hotplate, Tailclip



# Peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil as a potent anti-inflammatory, wound healing and anti-nociceptive drug

Sarah Kehili<sup>1</sup>, Mohamed Nadjib Boukhatem<sup>2,3\*</sup>, Asma Belkadi<sup>4</sup>, Mohamed Amine Ferhat<sup>1</sup>, William N. Setzer<sup>5,6</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Research on Bio-Active Products and Valorization of Biomass, Department of Chemistry, Ecole Normale Supérieure, B.P. 92, Kouba, Algiers, Algeria

<sup>2</sup> Department of Biology and Cell Physiology, Faculty of Life and Natural Sciences, University - Saad Dahab - Blida 1, B.P. 270, Blida, Algeria

<sup>3</sup> Research Laboratory of "Ethnobotany and Natural Products", Ecole Normale Supérieure, B.P. 92, Kouba, Algiers, Algeria

<sup>4</sup> Laboratory of Pharmacology and Toxicology, Research and Development Center, SAIDAL Pharmaceutical, Gué de Constantine, Algiers, Algeria

<sup>5</sup> Department of Chemistry, University of Alabama in Huntsville, Huntsville, AL 35899, USA

<sup>6</sup> Aromatic Plant Research Center, 230 N 1200 E, Suite 100, Lehi, UT 84043, USA

\*Correspondence: Phone: +213664983174; E-mail: mn.boukhatem@yahoo.fr

---

Received: 07 April 2020; Revised submission: 02 May 2020; Accepted: 16 May 2020

<http://www.journals.tmkarpinski.com/index.php/ejbr>



Copyright: © The Author(s) 2020. Licensee Joanna Bródka, Poland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

---

**ABSTRACT:** The present investigation was designed to study the chemical composition of Algerian peppermint essential oil (PEO) as well as the *in vitro* and *in vivo* anti-inflammatory, wound-healing and anti-nociceptive properties. Twenty-three compounds were identified in the PEO with the main chemical component as menthol (53.29%). Also, PEO showed a high content of oxygenated monoterpene compounds (92.75%). Topical application of PEO at doses of 200 and 20  $\mu\text{L}/\text{kg}$  significantly reduced the acute ear edema in 38.09% and 36.50, respectively. Histological observation confirmed that PEO inhibited the skin inflammatory response. In-vivo wound healing activity of the cream prepared from PEO (0.5% w/w) was assessed by circular excision wound model followed by histological examination. The topical administration of PEO cream showed a significant decrease of unhealed wound area rate between the 6th ( $1.67 \pm 0.14 \text{ mm}^2$ ) and the 9th ( $0.49 \pm 0.22 \text{ mm}^2$ ) days of treatment when compared with the vehicle ( $2.32 \pm 0.77 \text{ mm}^2$ ;  $p < 0.05$ ) and Madecassol® 0.1% creams ( $2.23 \pm 0.35 \text{ mm}^2$ ;  $p < 0.05$ ). The PEO reduced nociceptive behavior at all doses tested in the acetic acid-induced nociception test ( $p < 0.05$ ). These findings support the anti-inflammatory, wound-healing and analgesic properties of PEO. We suggest that PEO is a promising candidate for use in skin care products with anti-inflammatory and wound-healing properties.

**Keywords:** Topical anti-inflammatory; Peppermint essential oil; Menthol; Anti-nociceptive activity; Wound healing.



**IN VITRO GROWTH INHIBITION OF PATHOGENIC AND FOOD SPOILAGE  
YEASTS AND FUNGI BY PEPPERMINT (*MENTHA PIPERITA*) ESSENTIAL OIL  
AND SURVIVAL OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* IN FRUIT JUICES**

**Sarah KEHILI<sup>1</sup>, Mohamed Nadjib BOUKHATEM<sup>2,3\*</sup>, Hussein EL-ZAEDDI<sup>4</sup>, Dahbia KELLOU<sup>5</sup>,  
Amina-Bouchra BENELMOUFFOK<sup>5</sup>, Mohamed Amine FERHAT<sup>1</sup>,  
Angel A. CARBONELL-BARRACHINA<sup>4</sup>, William N. SETZER<sup>6,7</sup>**

<sup>1</sup> Laboratoire de Recherche sur les Produits Bioactifs et Valorisation de la Biomasse, Département de Chimie, Ecole Normale Supérieure, Kouba, Alger, Algeria.

<sup>2</sup> Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université – Saad Dahlab – Blida 1, Blida, Algeria. Mail: [mm.boukhatem@yahoo.fr](mailto:mm.boukhatem@yahoo.fr)

<sup>3</sup> Laboratoire Ethnobotanique et Substances Naturelles, Ecole Normale Supérieure, Kouba, Alger, Algeria.

<sup>4</sup> Research Group « Food Quality and Safety », Department of Agro-Food Technology, Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche, Carretera de Beniel, km 3.2, 03312-Orihuela, Alicante, Spain.

<sup>5</sup> Laboratoire de Mycologie, Institut Pasteur d'Algérie, Route du petit Staouéli, Dely-Brahim, Alger, Algeria.

<sup>6</sup> Department of Chemistry, University of Alabama in Huntsville, Huntsville, AL 35899, USA.

<sup>7</sup> Aromatic Plant Research Center, 230 N 1200 E, Suite 100, Lehi, UT 84043, USA.

\*Corresponding author

Received 26<sup>th</sup> March 2020, accepted 28<sup>th</sup> June 2020

**Abstract:** In the present research, the antifungal and antioxidant activities of *Mentha piperita* essential oil (MPEO) were investigated, and its potential as a natural food preservative in *Orangina* juices was evaluated. The major component was menthol (54.47%). The percentage inhibitions of MPEO were dose dependent with  $IC_{50}$  values of  $2.53 \pm 1.77$  mg/mL in DPPH test and  $8.24 \pm 1.16$  mg/mL in metal complexing ability. The microbial inhibition of MPEO was assessed against different food spoiling strains. The MPEO strongly inhibited the growth of *Rhodotorula* sp. and *Saccharomyces cerevisiae* with a diameter of the inhibitory zone (DIZ) ranging from 17–85 mm at the lower dose (20  $\mu$ L), and from 35–85 mm at the higher quantity (60  $\mu$ L). The minimum inhibitory concentration varied from 0.0078 to 0.5% (v/v) for yeasts. In addition, the anti-yeast effectiveness of MPEO alone and in association with moderate heat treatment was investigated in *Orangina* juices. The juices treated with association of MPEO at different doses (1, 2 and 6  $\mu$ L/mL) and medium heat treatment (80 °C for 2 min) improved the reduction of *Saccharomyces cerevisiae* viability cells. Present data confirmed the superior performance of integrated thermal treatment over individual use of peppermint oil for *Orangina* juices preservation.

**Keywords:** *Mentha piperita* essential oil, Natural food preservative, Antimicrobial activity, *Saccharomyces cerevisiae*, Menthol, Antioxidant activity, *Orangina* juices.



## Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*

Antibacterial and anti-biofilm Effects of three species of *Mentha*: *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* and *Mentha piperita*

A. Barchan · M. Bakkali · A. Arakrak · A. Laglaoui

© Lavoisier SAS 2015

**Résumé** Dans la première partie de la présente étude, on procédé à l'évaluation de l'effet antibactérien des extraits organiques bruts de trois espèces de *Mentha* vis-à-vis de six souches bactériennes pathogènes incluant trois bactéries Gram (-) et trois bactéries Gram (+). L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide et celle de micro-dilution en milieu liquide. Les extraits hexaniques et dichlorométhaniques (extraits non-polaires) sont beaucoup plus actifs contre les bactéries testées que les extraits méthanoliques et aqueux (extraits polaires). Les bactéries Gram (+) se sont montrées plus sensibles que les bactéries Gram (-). La bactérie *S. aureus* est la plus sensible de toutes les bactéries testées dans cette étude, elle était sensible vis-à-vis tous les extraits même ceux aqueux. Ces derniers sont montrés inactifs à la plus grande concentration utilisée (12 mg/ml) vis-à-vis des cinq autres souches.

Dans la seconde partie, les extraits apolaires ont été testés pour leur effet anti-biofilm vis-à-vis des biofilms de 48 heures formés par *S. aureus* et *E. coli*. Tous les extraits ont montré une efficacité anti-biofilm spectaculaire dans l'élimination de la totalité des biofilms formés après 30 min de traitement.

**Mots clés** Effet antibactérien · Effet anti-biofilm · *Mentha pulegium* · *Mentha spicata* · *Mentha piperita* · Extraits apolaires · Extraits polaires

### RESEARCH ARTICLE

inventi | Spreading Knowledge

## Evaluation of Anti-inflammatory and Analgesic Activities of Methanolic Extract of *Adhatoda vasica* Nees and *Mentha piperita* Linn.

Sateesh Belemkar<sup>1\*</sup>, Sanket A Thakre<sup>1</sup>, Muslim Khurshid Pata<sup>1</sup>

**Abstract:** To evaluate the anti-inflammatory and analgesic activities of methanolic extract of Leaves of *Adhatoda vasica* Nees. (*Acanthaceae*) and *Mentha piperita* (*Lamiaceae*). Anti-inflammatory and analgesic activity of methanolic extract of *Adhatoda vasica* N and *Mentha piperita* L were evaluated individual & in combination. The anti-inflammatory potential of methanolic extract has been studied by using carrageenan-induced paw edema. The analgesic activity was tested by using hot plate and tail immersion method in albino rats. The phytochemical investigation was performed for the presence of vasicine, vasicinone in *Adhatoda vasica* N. and menthol in *Mentha piperita* L. The administration of methanolic extract of *Adhatoda vasica* Nees. and *Mentha piperita* at doses of 200, 400 and 600 mg/kg (p.o) significantly ( $P < 0.01$ ) inhibited carrageenan induced inflammation. Also treatment of extracts produced a significant ( $P < 0.01$ ) analgesic activity in tail immersion-induced pain and hot-plate-induced pain. Similarly, anti-inflammatory and analgesic activity were evaluated by combination of half quantity of effective doses (200+300 mg/kg) of *Adhatoda vasica* Nees and *Mentha piperita* which significantly ( $P < 0.05$ ) inhibit the inflammation and pain in experimental animals. The experimental results demonstrated that methanolic extract of *Adhatoda vasica* Nees and *Mentha piperita* Linn in individual and combination doses possess significant anti-inflammatory and analgesic activities.

ORIGINAL ARTICLE

# Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L.



Rajinder Singh \*, Muftah A.M. Shushni, Asma Belkheir

Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Garyounis University, Benghazi, Libya

Received 3 December 2010; accepted 18 January 2011  
Available online 22 January 2011

## KEYWORDS

Antibacterial;  
Antioxidant;  
*Mentha piperita* L.;  
Peppermint oil;  
MICs

**Abstract** The antibacterial activity of peppermint oil and different extracts of *Mentha piperita* against some Gram-positive and Gram-negative bacterial strains was evaluated in the present research work by agar well diffusion method. It was found that the distilled concentrations of essential oil inhibited the growth of microorganisms and the results were comparable with those of antibiotic gentamycin. Essential oils showed a wider spectrum of activity but less strong inhibition as compared to the investigated commercial antibiotic. Minimum inhibitory concentrations (MICs) for the bacterial species ranged from 0.4% to 0.7% v/v. The oil and extracts also exhibited significant antioxidant activity and the oil showed about half potency when compared to the standard BHT. These results indicated the strong antibacterial and antioxidant activities of peppermint oil but additional investigations need to be performed in order to confirm the safety of these concentrations (MIC) for human consumption. Peppermint oil could be used as a good conservation agent by inhibiting some food borne pathogens.

Iraqi J. Vet. Med. 34 ( 2 ): 73 – 78; ( 2010 ).

## The analgesic activity of *Mentha piperita* (MP) leaves extract

Ahmed Najim abed saleh

Physiology and Pharmacology Dep. College of Veterinary Medicine, Baghdad University  
Baghdad- Iraq

Accepted – December – 2010

### Summary

In the present work, the antinociceptive action was assayed in several experiment models in mice, Hot plate, writhing and formalin test. The alcoholic extract of MP leaves at a dose of 150mg/kg B.W and 300 mg/kgB.W showed antinociceptive effects in different methods, where the dose of 300 mg/kg B.W showed significant reduction of the nociception by acetic acid. In the formalin test, the extract (300mg/kg B.W) also significantly reduced painful stimulus in both phases of the test. Treatment with extract (300mg/kg B.W) when given orally produced significant increase of the reaction time in hot plate test. These results showed that the leaves extract of MP contain active analgesic principles acting both centrally and peripherally.

**Key words:**analgesic, menthe piperita,leaveextract.





Original Article

## Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential oil

Mohaddese Mahboubi\* and Nastaran Kazempour

Department of Microbiology, Medicinal Plants Research Center of Barij,  
Kashan, 1187-87135 Iran.

Received 31 July 2013; Accepted 27 October 2013

### Abstract

Peppermint with antiseptic and known healing properties is a plant from the *Labiatae* family. In this study, we analyzed the chemical composition of essential oil from the flowering aerial part of peppermint by GC and GC/MS. Its antimicrobial activity was evaluated against bacteria, fungi and yeast by micro broth dilution assay. The fractional inhibitory concentration (FIC) and FIC Index (FICI) and related isobologram curve were determined by check board micro titer assay. The results exhibited that the MIC, MLC value of peppermint oil against different kinds of microorganisms were in the range of 0.125-2 and 0.125- >64  $\mu$ l/ml, respectively. *Candida albicans* was the most sensitive microorganism and *Pseudomonas aeruginosa* was the less sensitive ones. The oil showed synergistic activities with vancomycin, gentamycin, and amphotericin B with the FICI less of 0.5. This oil could be used as natural antibiotics and may decrease the effective dose of antibiotics.

## Antinociceptive activity of *Mentha piperita* leaf aqueous extract in mice

Yousef A. Taher\*

Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Tripoli University, Tripoli, Libya

**Background:** *Mentha piperita* L. (Labiatae) is an herbaceous plant, used in folk medicine for the treatment of several medical disorders.

**Methods and Results:** In the present study, the aqueous extract of *Mentha piperita* leaf, at the i.p doses 200 and 400 mg/kg, showed significant analgesic effects against both acetic acid-induced writhing and hot plate-induced thermal stimulation in mice, with protection values of 51.79% and 20.21% respectively. On the contrary, the *Mentha piperita* leaf aqueous extract did not exhibit anti-inflammatory activity against carrageenan induced paw oedema.

**Conclusion:** These findings indicate that *Mentha piperita* has a potential analgesic effect that may possibly have mediated centrally and peripherally, as well as providing a pharmacological evidence for its traditional use as a pain reliever.

Keywords: *Mentha piperita*; traditional medicine; analgesic activity; mice