



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

**UNIVERSITE DE LORRAINE**  
**2016**

---

**FACULTE DE PHARMACIE**

**T H E S E**

Présentée et soutenue publiquement

Le 22 novembre 2016, sur un sujet dédié à :

**Le camphrier : étude botanique, chimique  
et biologique de ses huiles essentielles**

pour obtenir

**le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

par Michaël MANSARD

né le 06 juillet 1988, à Cannes (06)

**Membres du Jury**

Président : Mme Dominique LAURAIN-MATTAR, Professeur des Universités, Pharmacognosie

Juges :

Mme Françoise COUIC-MARINIER, Docteur en Pharmacie,

Mme Sylvie SIDOT, Pharmacien,

Mme Marie-Anne THOMAS, Pharmacien.

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE**  
**FACULTÉ DE PHARMACIE**  
**Année universitaire 2016-2017**

**DOYEN**

Francine PAULUS

**Vice-Doyen**

Béatrice FAIVRE

**Directeur des Etudes**

Virginie PICHON

**Conseil de la Pédagogie**

Président, Brigitte LEININGER-MULLER

**Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier**

Président, Béatrice DEMORE

**Commission Prospective Facultaire**

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

**Commission de la Recherche**

Président, Raphaël DUVAL

**Responsable de la filière Officine**

**Responsables de la filière Industrie**

**Responsable de la filière Hôpital**

**Responsable Pharma Plus ENSIC**

**Responsable Pharma Plus ENSAIA**

**Responsable Pharma Plus ENSGSI**

**Responsable de la Communication**

**Responsable de la Cellule de Formation Continue  
et individuelle**

**Responsable de la Commission d'agrément  
des maîtres de stage**

**Responsable ERASMUS**

Béatrice FAIVRE

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Béatrice DEMORE

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Raphaël DUVAL

Igor CLAROT

Marie-Paule SAUDER

Béatrice FAIVRE

Béatrice FAIVRE

Mihayl VARBANOV

**DOYENS HONORAIRES**

Chantal FINANCE

Claude VIGNERON

**PROFESSEURS EMERITES**

Jeffrey ATKINSON

Jean-Claude BLOCK

Max HENRY

Alain MARSURA ✕

Claude VIGNERON

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Roger BONALY

Pierre DIXNEUF

Marie-Madeleine GALTEAU

Thérèse GIRARD

Michel JACQUE

Pierre LABRUDE

Vincent LOPPINET

Janine SCHWARTZBROD

Louis SCHWARTZBROD

**ASSISTANTS HONORAIRES**

Marie-Catherine BERTHE

Annie PAVIS

**MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES**

Monique ALBERT

Mariette BEAUD

Gérald CATAU

Jean-Claude CHEVIN

Jocelyne COLLOMB

Bernard DANGIEN

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Francine KEDZIEREWICZ

Marie-Hélène LIVERTOUX

Bernard MIGNOT

Jean-Louis MONAL

Blandine MOREAU

Dominique NOTTER

Christine PERDICAKIS

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Gabriel TROCKLE

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

Colette ZINUTTI

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	<i>Thérapie cellulaire</i>
Jean-Louis MERLIN	82	<i>Biologie cellulaire</i>
Alain NICOLAS	80	<i>Chimie analytique et Bromatologie</i>
Jean-Michel SIMON	81	<i>Economie de la santé, Législation pharmaceutique</i>
Nathalie THILLY	81	<i>Santé publique et Epidémiologie</i>

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES**

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	<i>Pharmacologie</i>
Igor CLAROT ✕	85	<i>Chimie analytique</i>
Joël DUCOURNEAU	85	<i>Biophysique, Acoustique, Audioprothèse</i>
Raphaël DUVAL	87	<i>Microbiologie clinique</i>
Béatrice FAIVRE	87	<i>Biologie cellulaire, Hématologie</i>
Luc FERRARI	86	<i>Toxicologie</i>
Pascale FRIANT-MICHEL	85	<i>Mathématiques, Physique</i>
Christophe GANTZER	87	<i>Microbiologie</i>
Frédéric JORAND	87	<i>Eau, Santé, Environnement</i>
Isabelle LARTAUD	86	<i>Pharmacologie</i>
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	<i>Pharmacognosie</i>
Brigitte LEININGER-MULLER	87	<i>Biochimie</i>
Pierre LEROY	85	<i>Chimie physique</i>
Philippe MAINCENT	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Patrick MENU	86	<i>Physiologie</i>
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Bertrand RIHN	87	<i>Biochimie, Biologie moléculaire</i>

**MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

Béatrice DEMORE	81	<i>Pharmacie clinique</i>
Alexandre HARLE ✕	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
Julien PERRIN	82	<i>Hématologie biologique</i>
Marie SOCHA	81	<i>Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique</i>

**MAITRES DE CONFÉRENCES**

Sandrine BANAS	87	<i>Parasitologie</i>
Xavier BELLANGER	87	<i>Parasitologie, Mycologie médicale</i>
Emmanuelle BENOIT	86	<i>Communication et Santé</i>
Isabelle BERTRAND	87	<i>Microbiologie</i>
Michel BOISBRUN	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François BONNEAUX	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Ariane BOUDIER	85	<i>Chimie Physique</i>
Cédric BOURA	86	<i>Physiologie</i>
Joël COULON	87	<i>Biochimie</i>
Sébastien DADE	85	<i>Bio-informatique</i>
Dominique DECOLIN	85	<i>Chimie analytique</i>
Roudayna DIAB	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Natacha DREUMONT	87	<i>Biochimie générale, Biochimie clinique</i>
Florence DUMARCAY	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François DUPUIS	86	<i>Pharmacologie</i>
Adil FAIZ	85	<i>Biophysique, Acoustique</i>
Anthony GANDIN	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Caroline GAUCHER	86	<i>Chimie physique, Pharmacologie</i>
Stéphane GIBAUD	86	<i>Pharmacie clinique</i>
Thierry HUMBERT	86	<i>Chimie organique</i>
Olivier JOUBERT	86	<i>Toxicologie, Sécurité sanitaire</i>

Alexandrine LAMBERT	85	Informatique, Biostatistiques
Julie LEONHARD	86/01	Droit en Santé
Christophe MERLIN	87	Microbiologie environnementale
Maxime MOURER	86	Chimie organique
Coumba NDIAYE	86	Epidémiologie et Santé publique
Marianne PARENT ☒	85	Pharmacie galénique
Francine PAULUS	85	Informatique
Caroline PERRIN-SARRADO	86	Pharmacologie
Virginie PICHON	85	Biophysique
Sophie PINEL	85	Informatique en Santé (e-santé)
Anne SAPIN-MINET	85	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER	87	Mycologie, Botanique
Guillaume SAUTREY	85	Chimie analytique
Rosella SPINA	86	Pharmacognosie
Sabrina TOUCHET ☒	86	Pharmacochimie
Mihayl VARBANOV	87	Immuno-Virologie
Marie-Noëlle VAULTIER	87	Mycologie, Botanique
Emilie VELOT	86	Physiologie-Physiopathologie humaines
Mohamed ZAIYOU	87	Biochimie et Biologie moléculaire

**PROFESSEUR ASSOCIE**

Anne MAHEUT-BOSSER	86	Sémiologie
--------------------	----	------------

**PROFESSEUR AGREGÉ**

Christophe COCHAUD	11	Anglais
--------------------	----	---------

☒ En attente de nomination

**\* Disciplines du Conseil National des Universités :**

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

# SERMENT DES APOTHICAIRES



**Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :**

**Ɖ' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.**

**Ɖ'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.**

**Ɖe ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.**

**Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.**

**Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.**



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE  
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES  
DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE  
CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

# Remerciements

**À ma directrice de thèse et présidente de jury,**

***Madame Dominique LAURAIN-MATTAR, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy***

Pour avoir accepté de présider mon jury et pour avoir assuré la co-direction de ma thèse.

Je vous remercie pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail.

**À ma directrice de thèse,**

***Madame Françoise COUIC-MARINIER, Docteur en Pharmacie***

Je vous suis très reconnaissant d'avoir accepté de diriger ma thèse.

Je vous remercie de m'avoir proposé ce sujet de thèse et de m'avoir soutenu tout au long de la rédaction.

Et encore merci pour le temps que vous m'avez consacré, pour vos corrections, la pertinence de vos conseils et votre sympathie.

**À mes juges,**

***Madame Sylvie SIDOT, Pharmacien***

Pour me faire l'honneur de juger ce travail. Je vous remercie chaleureusement pour votre gentillesse et votre bienveillance. Merci également pour les connaissances et les valeurs que vous m'avez transmises lors de mon stage de sixième année ainsi que pour ces sessions de cas de comptoir qui sont toujours mises en pratique dans ma vie professionnelle.

***Madame Marie-Anne THOMAS, Pharmacien***

Pour me faire l'honneur de juger ce travail, pour votre gentillesse et votre disponibilité. Je vous remercie chaleureusement pour les connaissances que vous m'avez transmises au cours de ce stage, votre professionnalisme ainsi que pour ces petits débats autour d'un café portant sur la pratique professionnelle, l'avenir du métier et les vacances.

**À ma mère,**

cette thèse je te la dédie. Merci de ton soutien, de m'avoir encouragé durant les études, de ta présence lors de tous les moments de ma vie, de m'avoir inculqué des valeurs dont je suis fier. Je te dois tout.

**À Paul,**

je te remercie d'avoir passer du temps à relire ma thèse, pour tes conseils, pour ton soutien et pour ton aide dans l'utilisation de Lyx! Merci.

**À Virginie, à Willy et Loïc,**

je ne vous vois pas souvent mais vous êtes toujours là dans mon coeur....Merci d'avoir veillé sur moi, tout au long de ces années. Et merci pour toutes ces photos de pâtisseries qui donnent envie d'être mangées.

**À Arista et François**

qui m'avaient accueilli lors des mes premières années en Lorraine. Merci pour votre soutien et votre accueil.

**À Claire, Mario et Clément,**

merci pour votre accueil chaleureux et de m'avoir soutenu pendant ces dernières années de fac. Merci pour ces belles sorties et ces vacances formidables.

**À Véronique, à Guillaume et à Lucie,**

merci pour votre accueil, pour ces parties sur Wii et DS, la très bonne cuisine et les sorties qui m'ont permis de souffler un peu lors de ses études.

**À toute ma famille de la Réunion**

pour votre soutien et votre affection.

---

**À Madame Sophie WACKOWIEZ-ROUBAUD,**

pour m'avoir donné envie de pratiquer ce métier, et m'a toujours soutenue et suivi lors de mon cursus.

**À Monsieur Jean-Daniel THOMAS, et à toute l'équipe de la pharmacie de la Patrotte à Metz,**

pour leur accueil, leur sympathie et leur conseils lors de mon stage de 6ème année.

**À Madame Marie-Pierre COLLIN-VILMAIN,**

pour m'avoir appris le métier de pharmacien d'officine lors de mes différents stages.

**À mes amis,**

Vivette, on a grandi ensemble comme des frères et sœurs. Merci d'avoir été là pendant toute notre enfance et encore maintenant dans nos vies adultes.

Amandine, ma binôme pendant toutes ces années, pour ces heures passées à rédiger les TP avec toujours un goût à la clé et pour ces moments de rires surtout ceux où j'étais martyrisé en amphi....

Emilie, une longue amitié ponctuée de mangas, de séries japonnaises, avec de très nombreux week end qu'on passait chez l'un ou l'autre.

Océane, j'ai passé des bons moments de rire au lycée. On a pris du retard sur notre rencontre annuelle!

Edouard, mon binôme de révision et co-aventurier avec les tortues au Mexique. Bon courage dans ta longue route pour médecine.

Sophie, Emmeline, Vanessa...avec qui on a partagé de très bons moments de rigolade que ce soit en amphi et en soirées.



# Table des matières

<b>Remerciements</b>	<b>i</b>
<b>Table des matières</b>	<b>v</b>
<b>Table des figures</b>	<b>ix</b>
<b>Liste des tableaux</b>	<b>xi</b>
<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>1 Botanique</b>	<b>3</b>
1.1 Classification botanique . . . . .	3
1.2 Généralités sur la famille des Lauracées . . . . .	4
1.2.1 Appareil végétatif . . . . .	5
1.2.2 Appareil reproducteur . . . . .	5
1.3 Généralités sur le genre Cinnamomum . . . . .	6
1.3.1 Cellules à essence et à mucilage . . . . .	6
1.3.1.1 Cellules à huile essentielle . . . . .	6
1.3.1.2 Cellules à mucilage . . . . .	7
1.4 Cinnamomum camphora . . . . .	7
1.4.1 Description botanique . . . . .	7
1.4.1.1 L'arbre . . . . .	7
1.4.1.2 Les feuilles . . . . .	10
1.4.1.3 L'inflorescence . . . . .	10
1.4.1.4 Les fleurs . . . . .	10
1.4.1.5 Le fruit . . . . .	11
1.4.2 Description anatomique . . . . .	11
1.4.2.1 La feuille . . . . .	11
1.4.2.2 La tige . . . . .	13

1.5	Répartition géographique et habitat . . . . .	15
1.5.1	Répartition géographique . . . . .	15
1.5.2	Écologie . . . . .	17
1.5.3	Propagation . . . . .	18
1.5.4	Culture . . . . .	18
<b>2</b>	<b>Étude chimique</b>	<b>21</b>
2.1	Définition d'une huile essentielle . . . . .	21
2.2	Biosynthèse des huiles essentielles . . . . .	22
2.2.1	Les composés terpéniques . . . . .	22
2.2.1.1	Formation de l'unité de base : IPP et DMAPP . . . . .	23
2.2.1.2	Formation des précurseurs . . . . .	23
2.2.1.3	Modifications . . . . .	27
2.2.2	Les composés aromatiques . . . . .	27
2.3	Méthodes d'extraction des huiles essentielles . . . . .	28
2.3.1	Entrainement à la vapeur d'eau . . . . .	28
2.3.2	Distillation sèche . . . . .	29
2.3.3	Procédé mécanique sans chauffage ou expression à froid . . . . .	30
2.4	Traitement ultérieur des huiles essentielles . . . . .	32
2.5	Techniques d'analyse des huiles essentielles . . . . .	32
2.5.1	La Chromatographie en phase gazeuse (CPG) . . . . .	32
2.5.1.1	Principe . . . . .	32
2.5.1.2	Appareillage . . . . .	33
2.5.2	La chromatographie sur couche mince . . . . .	35
2.5.3	La chromatographie liquide haute performance . . . . .	36
2.6	Qualité des huiles essentielles et de leur matière première . . . . .	37
2.6.1	Critères de qualité de matières premières végétales . . . . .	37
2.6.1.1	Dénomination botanique . . . . .	37
2.6.1.2	Conditions de production de la plante . . . . .	39
2.6.1.3	Partie de la plante utilisée . . . . .	40
2.6.2	Critères de qualité des huiles essentielles . . . . .	42
2.6.2.1	Caractères physico-chimiques . . . . .	42
2.6.2.2	Chémotypes . . . . .	44
2.6.2.3	Identification et analyses chromatographiques . . . . .	45
2.6.2.4	Condition de conservation et de stockage . . . . .	45
2.7	Réglementation . . . . .	46
2.7.1	Vente en l'état . . . . .	46

2.7.2	Spécialités pharmaceutiques à base d'huile essentielle . . . . .	47
2.8	Composition des huiles essentielles issues du camphrier . . . . .	47
2.8.1	Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles . . . . .	48
2.8.1.1	Chémotypes . . . . .	48
2.8.1.2	Saisons . . . . .	53
2.8.2	Molécules remarquables . . . . .	53
2.8.2.1	1,8-Cinéole . . . . .	53
2.8.2.2	Linalol . . . . .	54
2.8.2.3	Camphre . . . . .	55
<b>3</b>	<b>Étude biologique</b>	<b>57</b>
3.1	Composés remarquables . . . . .	57
3.1.1	1,8-cinéole . . . . .	57
3.1.1.1	Action anti-inflammatoire . . . . .	57
3.1.1.2	Action analgésique . . . . .	60
3.1.1.3	Action bronchodilatatrice . . . . .	62
3.1.1.4	Action antibactérienne . . . . .	63
3.1.1.5	Action antivirale . . . . .	66
3.1.1.6	Antitumorale . . . . .	69
3.1.2	Linalol . . . . .	69
3.1.2.1	Action anti-inflammatoire . . . . .	69
3.1.2.2	Action antalgique . . . . .	71
3.1.2.3	Sédatif . . . . .	73
3.1.2.4	Anxiolytique . . . . .	75
3.2	Huile essentielle totale . . . . .	76
3.2.1	Activité antibactérienne . . . . .	76
3.2.2	Antivirale . . . . .	77
3.2.3	Antifongique . . . . .	79
3.3	Utilisation en médecine conventionnelle . . . . .	80
3.3.1	HE ravintsara ( <i>Cinnamomum camphora</i> CT cinéole) . . . . .	80
3.3.1.1	Varicelle . . . . .	81
3.3.1.2	Rhume . . . . .	81
3.3.1.3	Grippe . . . . .	82
3.3.1.4	Herpès . . . . .	83
3.3.2	HE camphrier ( <i>Cinnamomum camphora</i> CT camphre) . . . . .	83
3.3.3	HE bois de Hô ( <i>Cinnamomum camphora</i> CT linalol) . . . . .	84
3.3.3.1	Anxiété . . . . .	84

## TABLE DES MATIÈRES

---

3.3.3.2	Insomnie . . . . .	84
3.3.3.3	Mycoses cutanées . . . . .	85
3.3.3.4	Infections urinaires . . . . .	85
3.3.3.5	Constipation . . . . .	86
3.3.3.6	Vergetures . . . . .	87
3.4	Confusion entre ravensare et ravintsara . . . . .	87
	<b>Conclusion</b>	<b>91</b>
	<b>Annexes</b>	<b>93</b>
	<b>Bibliographie</b>	<b>101</b>

# Table des figures

1.2.1	Distribution des lauracées dans le monde(Stevens, 2001) . . . . .	4
1.3.1	Schéma montrant le développement d'une cellule à huile essentielle présente dans <i>Cinnamomum burmannii</i> (Modifié) (Ravindran <i>et al.</i> , 2003). . . . .	8
1.3.2	Schéma d'une cellule à mucilage à maturité dans <i>Cinnamomum burmannii</i> (Evert, 2006). . . . .	8
1.4.1	Schéma représentant le camphrier(Bentley Robert, 1880). . . . .	9
1.4.2	Diagramme floral de <i>Cinnamomum camphora</i> (Prunac, 1992). . . . .	11
1.4.3	Photos de <i>Cinnamomum camphora</i> . . . . .	12
1.4.4	Coupe transversale au niveau du limbe d'une feuille de <i>Cinnamomum camphora</i> . (Nishida <i>et al.</i> , 2006) . . . . .	13
1.4.5	Représentation schématique des deux systèmes vasculaires chez les végétaux supérieurs, montrant le transport de l'eau (en bleu) et du saccharose (en rouge). . . . .	14
1.4.6	Schéma de la coupe transversale d'une tige jeune (inférieur à 1 an) de <i>Cinnamomum camphora</i> (Prunac, 1992). . . . .	15
1.4.7	Schéma de la coupe transversale de tige âgée de <i>Cinnamomum camphora</i> (plus de 2 ans) (Prunac, 1992). . . . .	15
1.5.1	Carte de Madagascar (Tantely Ramaka). . . . .	16
1.5.2	Répartition mondiale du camphrier. . . . .	17
2.2.1	Isoprène . . . . .	23
2.2.2	Schéma général de la formation des composés terpéniques (Iriti et Faoro, 2009) . . . . .	24
2.2.3	Formation du motif isoprénique (Mann, 1987). . . . .	25
2.2.4	Condensation des unités isopréniques (Mann, 1987) . . . . .	26
2.2.5	Synthèse des composés aromatiques, dérivés du phénylpropane (Mann, 1987). . . . .	27

2.3.1	Alambic dans la région de Haute-Matsiatra à Madagascar (Syndicat des Industries de Madagascar, 2010). . . . .	29
2.3.2	Obtention de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau dans un alambic (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013). . . . .	30
2.3.3	Structure des <i>Citrus</i> (Cazau-Beyret, 2013). . . . .	31
2.3.4	Schéma d'un appareil sfumatrice (Mazollier, 2013). . . . .	31
2.5.1	Les différents modules du chromatophase en phase gazeuse(Fernandez et Chemat, 2012). . . . .	33
2.5.2	Schéma représentant l'appareil d'un chromatographe pour CLHP . . . . .	37
2.6.1	Dénomination botanique du camphier. . . . .	38
2.8.1	Structure du 1,8-cinéole . . . . .	54
2.8.2	Structure du linalol. . . . .	54
2.8.3	Structure du camphre. . . . .	56
3.1.1	Représentation schématique des thermoTRPs ainsi que de leur zone d'activation selon la température et divers composés (Modifié)(Dhaka <i>et al.</i> , 2006) . . . . .	62
3.1.2	Observation au microscope électronique de l'effet du 1,8 cinéole sur <i>E. coli</i> . . . . .	65
3.1.3	Observation au microscope électronique de l'effet du 1,8 cinéole sur <i>S. aureus</i> . . . . .	66
3.1.4	Activité du 1,8-cinéole et de la ribavine sur l'inhibition de l'IBV à différents stades de l'infection. . . . .	67
3.1.5	Activité antivirale des huiles essentielles et des monoterpènes contre l'herpès simplex virus de type 1 au cours la réplication virale. . . . .	68
3.1.6	Activité anti-inflammatoire du (-)-linalol 1h, 3h et 5h après administration de la carraghénine. . . . .	70
3.1.7	Activité anti-inflammatoire de l'aspirine 1h, 3h et 5h après administration de la carraghénine. . . . .	70
3.1.8	Effet du (-)-linalol administré par voie intrapéritonéale (A), par voie orale (B), intraplantaire (C) ou intrathécale (D) sur le temps léchage induite par l'injection intraplantaire de glutamate chez la souris. . . . .	72
3.1.9	Effet du linalol administré en intrapéritonéale sur la réponse induite par l'injection des AAE chez la souris. . . . .	73
3.1.10	Effet du linalol sur le test Rotarod. . . . .	75
3.1.11	Effets du linalol sur le temps passé par les souris dans la chambre éclairée lors du test de la chambre claire/obscur. . . . .	76
3.1.12	Effets du linalol sur le nombre de passages de la chambre claire et sombre chez la souris lors du test de la chambre claire/obscur. . . . .	76

# Liste des tableaux

1.1	Classification de Cronquist (1981) du camphrier. . . . .	3
1.2	Classification APG III (2009) du genre <i>Cinammomum</i> . . . . .	4
2.1	Les différentes classes des composés terpéniques et leurs précurseurs. . . . .	23
2.2	Extrait issus de la norme ISO 4720 : 2009 concernant la dénomination du camphier (ISO, 2009). . . . .	39
2.3	Organes végétaux accumulateurs d'huile essentielle et quelques exemples de plantes à huile essentielle ANSM (2008). . . . .	41
2.4	Dénomination et action des différentes huiles essentielles issues du bigaradier Bureau (2012). . . . .	41
2.5	Procédure d'enregistrement et de demande d'AMM pour les médicaments à base de plantes . . . . .	48
2.6	Identification des composants dans l'huile essentielle de feuille de <i>Cinnamomum camphora</i> . (Wanyang <i>et al.</i> , 1989) . . . . .	49
2.7	Composants identifiés par ordre d'éluion issus de l'HE de <i>Cinnamomum camphora</i> (L) Sieb var <i>linaloolifera</i> . (Dung <i>et al.</i> , 1993) . . . . .	50
2.8	Composition chimique de feuilles de <i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J. Presl en provenance de Madagascar (Mollenbeck <i>et al.</i> , 1997). . . . .	51
2.9	Composition chimique moyenne de cinq échantillons de feuilles de <i>Cinnamomum camphora</i> L. (Chalchat et Valade, 2000) . . . . .	52
3.1	Effet d'un traitement oral par 1,8-cinéole et indométacine sur un œdème induit par la carraghénine , localisé sur la patte postérieure des rats (mL $\pm$ SEM) . . . . .	58
3.2	Effet d'un traitement oral par 1,8-cinéole et indométacine sur la formation d'un granulome induit par une boule de coton chez le rat (mg $\pm$ SEM). . . . .	58
3.3	Effet du 1,8-cinéole sur les paramètres inflammatoires mesurés dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire obtenu par provocation à l'OVA chez les cobayes. . . . .	60

3.4	CMI et CMB de l'HE de <i>Cinnamomum longepaniculatum</i> et de ses cinq composants les plus importants contre trois espèces bactériennes. . . . .	64
3.5	Effet du linalol sur le temps de sommeil et la température corporelle . . .	74
3.6	Mode d'action des antiviraux directs de seconde génération (Dalibon, 2016b). . . . .	78
3.7	Efficacité de six huiles essentielles et de deux antifongiques sur <i>C. albicans</i> (Singh <i>et al.</i> , 2008). . . . .	80
3.8	Cinq lots distribués en Europe ayant un étiquetage confus entre le Ravintsara et le Ravensare. . . . .	89
3.9	Résumé des dénominations, chémotypes et organes producteurs retrouvés dans les huiles essentielles issues du camphrier et du ravensare aromatique.	90

# Introduction

Ces dernières années, divers scandales sanitaires ont préoccupé la population française : en 2009, le cas du médiateur ; fin 2012, les pilules de 3e et 4e génération présentant des risques thromboemboliques ; 2013, le cas de Diane 35 prescrit comme contraceptif oral et enfin 2016 avec la Dépakine et ses risques liés à la grossesse. Le 4ème observatoire sociétal du médicament montre qu'en 2014, 75 % des français faisaient confiance aux médicaments contre 87% en 2013 (IPSOS, 2014). En revanche, la confiance envers les professions médicales ne dément pas. Le pharmacien reste un des acteurs majeurs dans lesquels les Français ont le plus confiance pour les informer sur les médicaments (90%) (IPSOS, 2015).

Depuis quelques années, une demande de plus en plus importante des patients se fait à l'égard des médecines dites « douces » ou « naturelles ». C'est donc à côté de la thérapie conventionnelle, ayant recours aux molécules de synthèse, que l'on retrouve d'autres thérapies comme par exemple l'homéopathie, la phytothérapie, la gemmothérapie ou encore l'aromathérapie.

L'aromathérapie, qui vient du grec « arôma » : arôme et « therapeia » : soin, cure, est l'utilisation médicale des extraits aromatiques de plantes que ce soit les essences ou encore les huiles essentielles. Le pharmacien a une place importante dans le conseil de cette thérapie. En effet, comme on l'entend de façon abusive, l'aromathérapie n'est pas une médecine douce, bien au contraire. Les huiles essentielles et les essences sont des produits concentrés contenant des molécules pouvant être toxiques chez certaines populations et à certaines doses.

Cette thèse se concentre sur une espèce de plantes, le camphrier (*Cinnamomum camphora*). A partir de cet arbre, on retrouve diverses huiles essentielles avec pour chacune leur utilisation propre. Une des huiles essentielles la plus connue est l'HE de Ravintsara provenant du camphrier originaire de Madagascar. Cet arbre côtoie d'autres espèces comme le *Ravensara aromatica* qui donne lieu de nombreuses confusions.

La première partie sera consacrée à la description botanique et à la répartition géographique du genre *Cinnamomum* et surtout de l'espèce *Cinnamomum camphora* .

La deuxième partie traitera des généralités sur les huiles essentielles depuis la cueillette des plantes jusqu'à leur synthèse. La qualité des huiles essentielles sera également traitée afin de bien les conseiller à ses patients et de comprendre que toutes les huiles essentielles ne se valent pas. La fin de cette partie se concentrera sur la chimie avec les différents chémotypes que l'on retrouve dans le camphrier et de leurs principaux composés retrouvés dans ses huiles.

Enfin, la troisième partie décrira les effets biologiques des composés retrouvés dans les différents chémotypes de *Cinnamomum camphora*, de leurs propriétés générales et de leurs utilisations en médecine conventionnelle. Et pour terminer cette partie, la mise en avant de la confusion entre *Cinnamomum camphora* et *Rasensara aromatica* sera décrite.

# Chapitre 1

## Botanique

### 1.1 Classification botanique

D'après la classification de Cronquist, l'embranchement des Spermatophytes se divise en deux sous-embranchements : les gymnospermes qui sont des plantes à ovules nus et les angiospermes (*Magnoliophyta*) qui au contraire sont des plantes dont l'ovule, fécondé par l'intermédiaire d'un tube pollinique, se transforme en un fruit clos. Parmi ces derniers, on distingue la classe des Dicotylédones (*Magnoliopsida*) et des Monocotylédones (*Liliopsida*).

*Cinnamomum camphora* appartient à la famille des *Lauraceae*, de l'ordre des *Laurales*, de la sous-classe des *Magnoliidae* et de la classe des Angiospermes (tableau 1.1).

TABLE 1.1 – Classification de Cronquist (1981) du camphrier.

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Magnoliidae</i>
Ordre	<i>Laurales</i>
Famille	<i>Lauraceae</i>

Selon la classification APG (Angiosperm Phylogeny Group) de 1998, modifiée en 2009 selon Mark W. Chase and James L. Reveal (APG III), le genre *Cinnamomum* appartient à l'ordre des Laurales, qui appartient au clade des Magnoliidées. Ce ne sont donc pas des dicotylédones vraies ou Eudicotylédones (tableau 1.2).

TABLE 1.2 – Classification APG III (2009) du genre *Cinammomum*.

Clade	Angiospermes
Clade	Magniolidées
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées

## 1.2 Généralités sur la famille des Lauracées

L'ordre des Laurales comporte environ 3000 espèces réparties en neuf familles. L'une des principales est celle des Lauracées qui contient 50 genres et 2500 espèces, répandues dans les régions tropicales et subtropicales, de l'Asie du Sud-Est, aux Etat-Unis en passant par Madagascar et le Nord de l'Amérique du Sud (figure 1.2.1) (Judd *et al.*, 2002).



FIGURE 1.2.1 – Distribution des lauracées dans le monde(Stevens, 2001)

Les Lauracées forment un groupe de grande importance économique au niveau mondial. De nombreuses espèces produisent des épices et des huiles essentielles. Entre autres, *Persea americana* (avocatier) est utilisé pour ses fruits comestibles, l'écorce de *Cinnamomum zeylanicum* (cannelier) et les feuilles de *Laurus nobilis* (laurier) sont utilisées comme aromates. Le benjoin (*Lindera benzoin*) et le bois de rose (*Aniba rosaeodora*) sont utilisés en aromathérapie et dans l'industrie cosmétique. Certaines espèces de *Ocotea*, *Listea* et *Beilschmiedia* sont utilisées en menuiserie sur le continent sud-américain. Enfin, diverses huiles essentielles sont extraites de l'écorce et des feuilles, notamment de *Cinnamomum camphora* (camphrier) (Rinaldo, 2012; Judd *et al.*, 2002).

### 1.2.1 Appareil végétatif

Les Lauracées sont principalement des arbres ou des arbustes à feuilles et écorce odorantes. Plus rarement, il peut s'agir d'une liane parasite, dépourvue de feuilles. Ce caractère est notamment retrouvé dans le genre *Cassytha*. Les branches sont parfois verticillées et ne présentent pas d'exsudat. Les jeunes rameaux ont un caractère anguleux. Les feuilles sont alternes, rarement opposées, simples, entières, et parfois paucinervurées. Elles sont dépourvues de stipules (Botineau et Pelt, 2010; Judd *et al.*, 2002; Spichiger, 2002).

### 1.2.2 Appareil reproducteur

Les fleurs sont cycliques, actinomorphes et souvent tubulaires, hermaphrodites ou unisexuées.

Les pièces florales sont verticillées et trimères, sauf chez le genre *Laurus* où elles sont dimères. La formule florale générale des Lauracées est la suivante (Perrot, 1891) :

$$3S + 3P + 3E + 3E' + 3E'' + 3E''' + 1C$$

Le périanthe est composé de deux verticilles, parfois soudés avec la base du filet des étamines. Ceci constitue alors un hypanthium ou tube floral.

L'androcée est généralement formée de trois verticilles, elles-mêmes constituées de trois étamines. A ceux-ci s'ajoute un verticille interne réduit à des staminodes. Les anthères possèdent deux ou quatre clapets. Ces derniers s'ouvrent de bas en haut. Les filets sont souvent munis à leur base d'appendices nectarifères.

Le gynécée à ovaire supère est formé d'un seul carpelle, uniloculaire à la placentation marginale. L'unique ovule est anatrope et bitégumenté, et présente un caractère hermaphrodite ou unisexué (Judd *et al.*, 2002; Spichiger, 2002).

Le fruit est une baie monosperme, nue ou enveloppée. L'enveloppe est constituée soit par la partie inférieure du tube du périanthe, soit par le périanthe entier accru et qui est devenu charnu.

## 1.3 Généralités sur le genre *Cinnamomum*

Ce sont des arbres ou arbrisseaux , toujours verts, presque tous remarquables par des feuilles et une écorce aromatiques. Le genre *Cinnamomum* contient plus de 300 espèces distribuées dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie, de l'Océanie, de l'Australie, de l'Amérique du Nord, de l'Amérique Centrale et de l'Amérique du Sud. Le genre est très recherché pour ses écorces et son bois (Lambert, 1888; Botineau et Pelt, 2010; Ravindran *et al.*, 2003).

Entre autres, *Cinnamomum verum* J. Pesl. (= *C. zeylanicum* Nees.) fournit, par son écorce, la cannelle de Ceylan. Le principal pays producteur est le Sri-Lanka, anciennement nommé Ceylan. Cette cannelle est très utilisée comme épice, dans le monde et depuis les temps anciens. La cannelle de Ceylan trouve aussi son utilité en médecine, notamment en aromathérapie à partir de son écorce et ses feuilles. Elle est inscrite à la Pharmacopée française.

*Cinnamomum cassia* Blum (= *C. aromaticum* Nees.) quant à elle fournit la cannelle de Chine. Son écorce n'est pas considérée comme officinale. Elle est surtout utilisée pour couper la cannelle de Ceylan en tant qu'épice, qui est beaucoup plus onéreuse (Botineau et Pelt, 2010).

### 1.3.1 Cellules à essence et à mucilage

Le jeune idioblaste possède une grande vacuole centrale et est reconnaissable par l'absence de dépôts dans celle-ci (figure 1.3.1 : étape 1). Par la suite, une paroi de cellules subérisées se forme. Cette couche contient de deux à trois couches discontinues de lamelles, ceci pouvant aller jusqu'à six couches. Le cytoplasme contient beaucoup de mitochondries et de petits plastides (étape 2).

A partir de la prochaine étape, on distingue la formation des cellules à huile et les cellules à mucilage.

#### 1.3.1.1 Cellules à huile essentielle

En ce qui concerne les cellules à huile essentielle, une couche distincte de la paroi subérisée se forme (figure 1.3.1 : étape 3a). Elle est appelée couche interne tertiaire. Au

cours du développement de la cellule, l'épaisseur de la paroi va augmenter significativement de 44 nm à 162 nm.

La cellule contient donc une paroi primaire externe, une couche subérisée et la paroi tertiaire interne. La grande vacuole centrale disparaît pour laisser place à plusieurs petites vacuoles. Le cytoplasme devient plus compact et contient une petite cavité à huile essentielle. Cette cavité va progressivement augmenter de taille et d'épaisseur. Elle est maintenue à la paroi tertiaire par une protubérance en forme de coupelle, appelée cupule. L'huile essentielle est synthétisée par les plastides et relâchée dans le cytosol, formant des petites gouttelettes d'huiles essentielles qui vont fusionner avec la cavité à HE (étape 3b). Au terme de son développement, le cytoplasme dégénère complètement et l'huile essentielle remplit la totalité de la vacuole (étape 3c). La paroi subérisée permet donc d'éviter que l'huile essentielle cytotoxique ne se répande sur les cellules voisines (Evert, 2006; Ravindran *et al.*, 2003).

#### 1.3.1.2 Cellules à mucilage

La synthèse du mucilage se fait par les dictyosomes de l'appareil de Golgi. Le cytoplasme contient de nombreux dictyosomes bourgeonnant des vésicules contenant du mucilage. Le mucilage se dépose entre la couche subérisée et le cytoplasme. Et par l'accumulation de celui-ci, le cytoplasme est poussé vers l'intérieur de la cellule et se réduit tandis que la vacuole interne se collapse. Au terme du développement, la cellule à mucilage est ronde, remplie de mucilage, le cytoplasme dégénère et la vacuole centrale disparaît complètement (figure 1.3.2). Il reste uniquement deux parois : la paroi primaire et la paroi subérisée (Ravindran *et al.*, 2003).

## 1.4 *Cinnamomum camphora*

### 1.4.1 Description botanique

#### 1.4.1.1 L'arbre

L'arbre peut atteindre 15 à 40 mètres de haut, bien qu'il ne dépasse rarement 20 mètres en Europe. Sa longévité est de l'ordre du millier d'années (Botineau et Pelt,

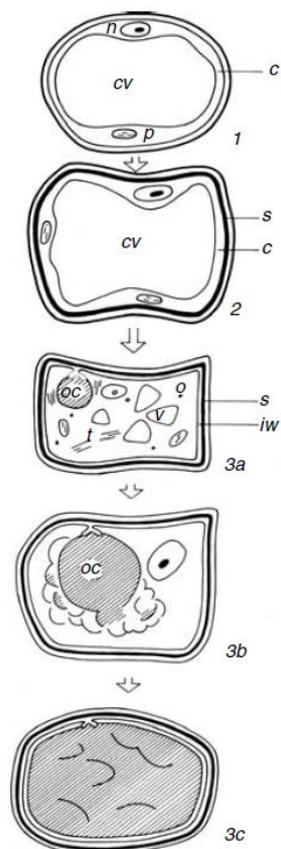


FIGURE 1.3.1 – Schéma montrant le développement d'une cellule à huile essentielle présente dans *Cinnamomum burmannii* (Modifié) (Ravindran *et al.*, 2003).  
 c : cytoplasme, cb : cupule, cv : vacuole centrale, iw : paroi interne, n : noyau, o : gouttelette d'huile essentielle, oc : cavité à huile, p : plastide, s : paroi subérisée, t : réticulum endoplasmique, v : vacuole,

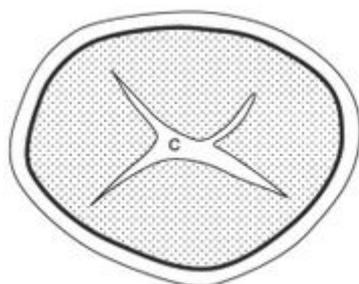


FIGURE 1.3.2 – Schéma d'une cellule à mucilage à maturité dans *Cinnamomum burmanii* (Evert, 2006).



FIGURE 1.4.1 – Schéma représentant le camphrier (Bentley Robert, 1880).

2010). Le tronc est ramifié à la base, et présente une écorce rugueuse et gercée (figures 1.4.3b et 1.4.3a). La couronne de l'arbre est dense, de forme arrondie à étalée chez les sujets âgés. Les jeunes rameaux ont une section quadrangulaire. Les racines de l'arbre, très sensibles aux perturbations, peuvent s'étendre loin du tronc de l'arbre et sont reconnaissables par leur odeur caractéristique (Conway Duever, 2000).

#### 1.4.1.2 Les feuilles

Les feuilles sont simples, alternes, aromatiques de 3 à 10 cm de long, avec un mince pétiole mesurant de 1,5 à 3 cm. Le limbe est ovale ou elliptique, lancéolé, à marge légèrement ondulée et possède un sommet aigu ou acuminé. Il présente trois nervures longitudinales caractéristiques et une surface de couleur vert foncé, brillante, glabre sur la face supérieure. La face inférieure est de couleur vert bleu, glabre ou légèrement poilue (figure 1.4.1). Les jeunes feuilles présentent une coloration rose (figure 1.4.3c) (Rivière *et al.*, 2005; Institut Malgache de Recherches Appliquées, 2013; Ravindran *et al.*, 2003; Ducatillion, 2013).

#### 1.4.1.3 L'inflorescence

L'inflorescence est axillaire, glabre, mesurant jusqu'à 7 cm de long. Le pédicelle quant à lui possède une taille de 1 à 1,5 mm.

La formule florale est la suivante :

$$3S + 3P + (3 + 3 + 3 + 3)E + 1C$$

#### 1.4.1.4 Les fleurs

Les fleurs sont petites, leur taille étant de l'ordre du centimètre. Elles présentent un caractère hermaphrodite et une coloration blanc jaunâtre (figure 1.4.3d).

Le périanthe tubulaire comprend deux verticilles trimères ( $3S + 3P$ ), membraneux et partiellement persistants chez le fruit, formant la cupule. Ce sont des lobes ovales, de 2,5 à 3 mm × 1 mm, glabres à l'extérieur et pubescents à l'intérieur.

L'androcée comprend neuf étamines fertiles, réparties en trois verticilles auxquels s'ajoute un quatrième verticille composé de trois staminodes. Les deux premiers possèdent

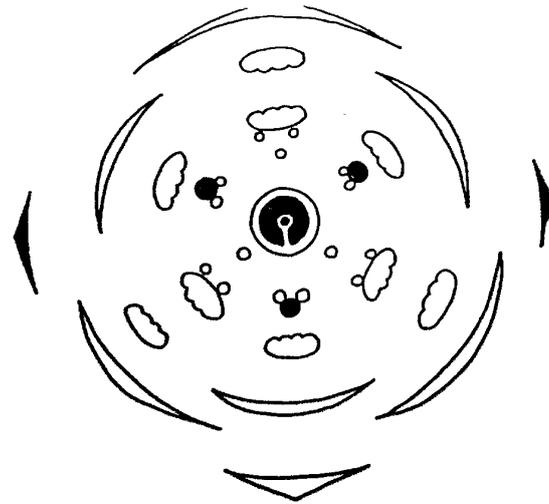


FIGURE 1.4.2 – Diagramme floral de *Cinnamomum camphora* (Prunac, 1992).

des anthères introrses, oblongues de 0,5 mm de long. Le troisième verticille est subsessile avec des glandes à la base et des anthères extrorses. Le dernier verticille comprend des staminodes glandulaires, ovoïdes à filaments courts. Les anthères s'ouvrent vers le haut par un clapet (figure 1.4.1).

Le gynécée est unicarpellé. L'ovaire est ovoïde, subsessile, glabre. Le style peut mesurer jusqu'à 2 mm de long (Ravindran *et al.*, 2003) (figure 1.4.2).

#### 1.4.1.5 Le fruit

Le fruit est une drupe globuleuse, de 7 à 10 mm de diamètre et de couleur violet noir à maturité. La graine mesure 6 à 7 mm de diamètre (figure 1.4.3e).

## 1.4.2 Description anatomique

### 1.4.2.1 La feuille

La feuille est constituée de plusieurs couches successives (figure 1.4.4). Tout d'abord, la couche épidermique supérieure est constituée de cellules polyédriques, avec une cuticule plus ou moins épaisse, donnant un aspect dentelé. Ensuite, une à deux couches de cellules palissadiques sont retrouvées. Celles-ci ont un rôle clé dans la photosynthèse par la présence de nombreux chloroplastes, en quantité très supérieure par rapport aux cellules spongieuses.



(a) Arbre (Ritter et Reimer, 1995-2015) (b) Tronc (Ritter et Reimer, 1995-2015) (c) Jeunes et anciennes feuilles (Ritter et Reimer, 1995-2015)



(d) Fleurs (Ritter et Reimer, 1995-2015)



(e) Fruits à maturité (Woodard, 2010)

FIGURE 1.4.3 – Photos de *Cinnamomum camphora*

En-dessous, un parenchyme lacuneux contient des cellules à essence. Enfin, la couche inférieure est formée par un épiderme stomatifère.

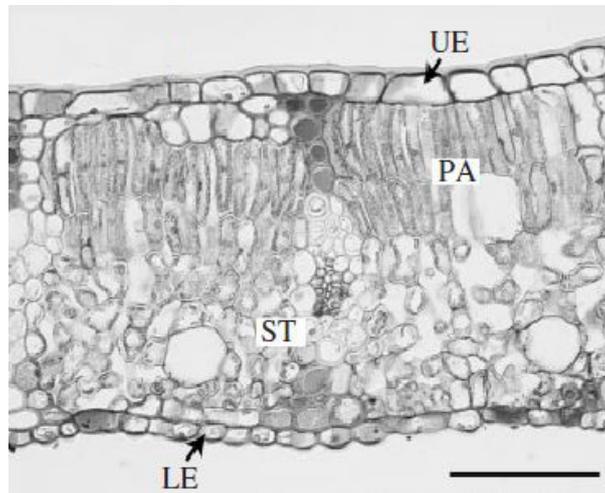


FIGURE 1.4.4 – Coupe transversale au niveau du limbe d'une feuille de *Cinnamomum camphora*. (Nishida *et al.*, 2006)

UE : épiderme supérieur, PA : parenchyme palissadique, ST : parenchyme lacuneux, LE : épiderme inférieur. Barre d'échelle = 100  $\mu\text{m}$

### 1.4.2.2 La tige

On distingue la tige jeune (figure 1.4.6) et la tige âgée (figure 1.4.7).

#### La tige jeune

L'épiderme se compose d'une assise de cellules régulières, de nature cellulosique et étroitement jointives ainsi que de quelques poils tecteurs unicellulaires.

Sous l'épiderme se trouve le parenchyme cortical qui est constitué de cellules parenchymateuses plus ou moins arrondies. Dispersées dans le parenchyme, on retrouve des cellules à essence, des cellules scléreuses ou sclérites, des fibres sclérifiées, et un collenchyme régulier en bordure. Les cellules parenchymateuses ont un rôle dans la photosynthèse, la mise en réserve des nutriments et dans la cicatrisation des blessures. Les sclérites et les fibres sclérifiées sont les deux types de sclérenchyme. Ce dernier ainsi que le collenchyme sont des tissus de renforcement ou de soutien.

Le système conducteur est constitué par le phloème, le liber ou phloème secondaire, le bois ou xylème secondaire et le xylème. Le xylème et le phloème sont superposés,

disposés sur un même cercle. Le xylème conduit la sève brute composée d'eau et de sels minéraux des racines vers les feuilles. Le phloème, quant à lui, permet la distribution des molécules organiques vers les tissus photosynthétiques ou de réserve, ainsi que vers les zones à forte croissance ou au métabolisme actif, comme les bourgeons (figure 1.4.5).

Le parenchyme médullaire, relativement développé, est constitué par des cellules polyédriques à paroi fine (Prunac, 1992; Hopkins, 2003).

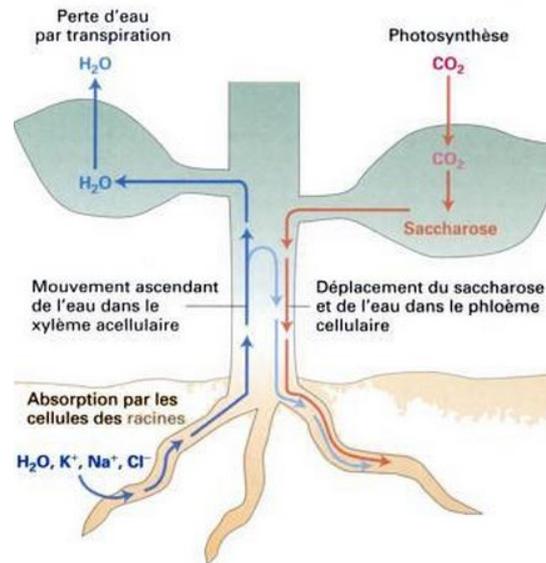


FIGURE 1.4.5 – Représentation schématique des deux systèmes vasculaires chez les végétaux supérieurs, montrant le transport de l'eau (en bleu) et du saccharose (en rouge).

L'eau et les sels entrent dans le xylème par les racines. De l'eau est éliminée par évaporation, principalement au niveau des feuilles, ce qui crée une pression d'aspiration qui attire l'eau et les sels dissouts vers le haut dans le xylème. Le phloème transporte le saccharose dissout produit dans les feuilles vers les autres parties de la plante.

### La tige âgée

L'épiderme est remplacé par du suber très épais constitué de cellules superposées à paroi fine et imprégnées de subérine.

Le parenchyme cortical est bordé de collenchyme. Il est constitué de cellules de nature cellullosique dans lesquelles sont dispersées des cellules à essence et des cellules scléreuses formant des îlots de sclérenchyme. A la limite du système conducteur, on observe un anneau discontinu de fibres sclérifiées formant un péricycle. Le système conducteur, dont la proportion augmente avec l'âge, est plus développé que chez la tige jeune. On y retrouve les mêmes éléments que chez cette dernière.

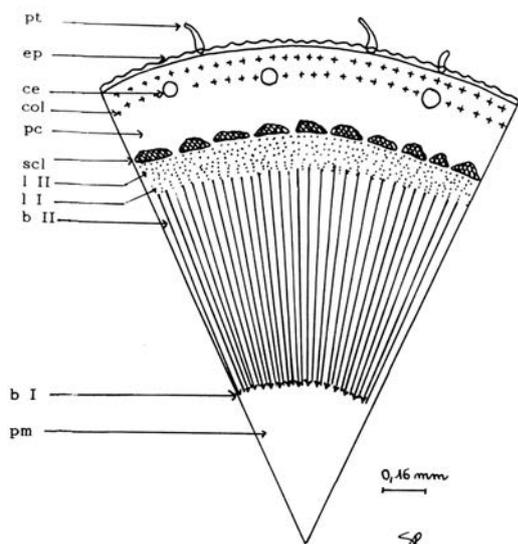


Figure 1.4.6 – Schéma de la coupe transversale d'une tige jeune (inférieure à 1 an) de *Cinnamomum camphora* (Prunac, 1992).

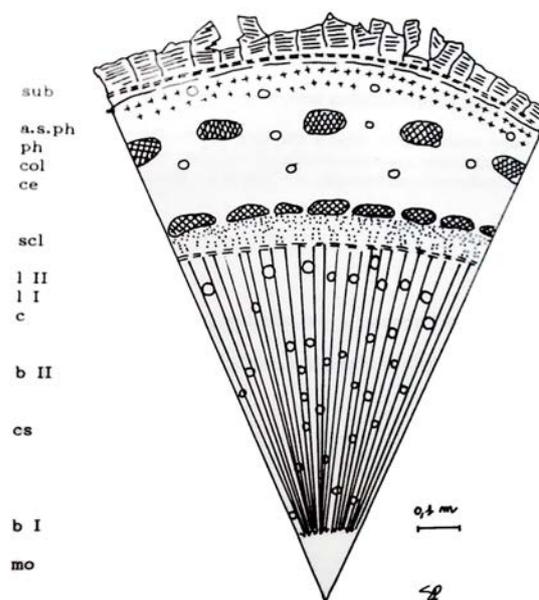


Figure 1.4.7 – Schéma de la coupe transversale de tige âgée de *Cinnamomum camphora* (plus de 2 ans) (Prunac, 1992).

a.s.ph : Assise subéro-phellodermique ; b I : xylème ; b II : bois (ou xylème secondaire) ; c : cambium ; ce : cellule à essence ; col : collenchyme ; cs : cellule scléreuse ; ep : épiderme ; l I : phloème ; l II : liber (ou phloème secondaire) ; mo : moelle ; pc : parenchyme cortical ; ph : phelloderme ; pm : parenchyme médullaire ; pt : poil tecteur ; scl : sclérenchyme.

## 1.5 Répartition géographique et habitat

### 1.5.1 Répartition géographique

Le camphrier est originaire d'Asie, et plus particulièrement du Japon, de Taïwan (anciennement, île de Formose), de la Chine et du nord Viet-Nam (U.S. National Plant Germplasm System, 2013).

Le camphrier a été introduit au milieu du XIX<sup>ème</sup> siècle sur l'île de Madagascar (Rivière *et al.*, 2005). Il pousse dans les Hautes Terres au centre de l'île, et à l'état sauvage dans le centre-est (Anjiro et Moramanga) et le sud de Madagascar (Ambositra et Ambohisamosa) (figure 1.5.1) (Halpern, 2002).



FIGURE 1.5.1 – Carte de Madagascar (Tantely Ramaka).

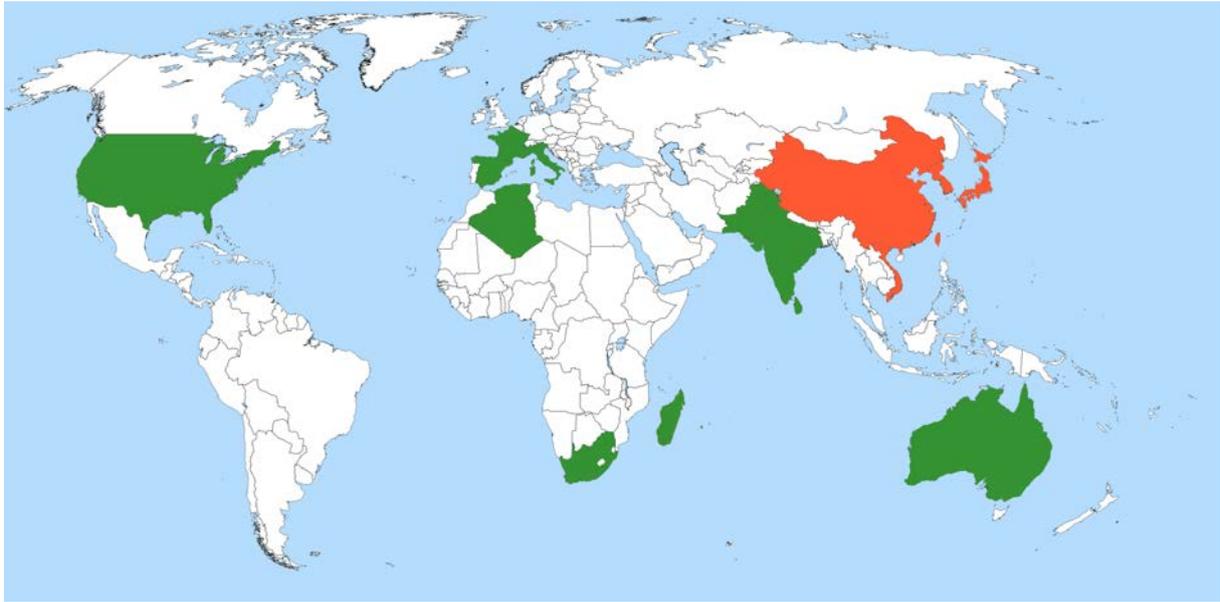


FIGURE 1.5.2 – Répartition mondiale du camphrier.

En orange : pays où le camphrier est originaire. En vert : pays où le camphrier s'est acclimaté.

Il a été introduit en Australie, au début de la période coloniale, comme arbre d'ornement ; il s'est très vite acclimaté. De même, aux États-Unis, il est rencontré le long de la Côte du Golfe et en Californie. On le retrouve aussi en Afrique du Sud et en Europe (figure 1.5.2).

## 1.5.2 Écologie

*Cinnamomum camphora* se développe naturellement dans les forêts primaires mais aussi sur les terrains dégagés, jusqu'à 3000 mètres d'altitude. Il s'acclimata dans les régions subtropicales entre le 10° et le 45° degré de latitude (Tissot, 1935). La croissance de l'arbre est privilégiée dans les zones à forte pluviométrie : dans son habitat naturel, les précipitations varient de 1000 à 3500 millimètres par an. Une pluviométrie supérieure peut être tolérée à condition que l'arbre soit sur un sol drainant bien l'eau (Windadri et Rahayu, 1999). Celui-ci ne tolère pas l'asphyxie racinaire. Il supporte la sécheresse mais pas les sols engorgés d'eau. Il peut résister à de courtes périodes de froid en dessous de 0°C (Brickell *et al.*, 1997). *Cinnamomum camphora* pousse donc sur des sols de préférence sablonneux, de pH variant de 4,3 à 8. Il croît dans des zones en plein soleil ou mi-ombre (Conway Duever, 2000).

La floraison a lieu, à Madagascar, entre les mois d'octobre et novembre, tandis que

le mûrissement se déroule entre les mois d'avril et mai. En Asie, il fleurit d'avril à juin et les fruits sont mûrs au mois de septembre (Institut Malgache de Recherches Appliquées, 2013).

### 1.5.3 Propagation

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

### 1.5.4 Culture

La question de la culture du camphrier s'est posée, après la découverte du celluloid (1870), matière plastique composée de camphre. En à peine dix ans et en particulier au début du XXe siècle, l'industrie du celluloid s'est développée. En 1900, 70% de la production était destinée aux usages médicaux et aux pratiques d'embaumement aux Indes. Dans les années 1920, 80% de la production était orientée vers le celluloid (Kopp, 1922). Cette industrie, originaire de l'Europe et des États-Unis, nécessita une quantité importante de camphre. Le celluloid était utilisé dans l'industrie cinématographique pour les pellicules de films, mais aussi pour la confection de touches de piano ou des plumes d'écriture. Le Japon monopolisait à cette époque la production et le commerce ; ainsi les pays occidentaux décidèrent par tous les moyens de cultiver le camphrier, dans leurs colonies ou dans leurs propres pays. Cette culture avait comme finalité l'obtention de camphre en quelques années, à partir des feuilles et des branches (Hirota, 1953). Actuellement, le celluloid est toujours utilisé dans la fabrication des balles de tennis de table (Applebaum et DiSorbo, 2012).

La culture utilise généralement les graines et est aussi envisageable à partir des racines et des tiges. Après la récolte, les fruits subissent une maturité complémentaire à l'ombre pendant deux à trois jours (Jøker, 2000). Les graines sont dépulpées et mises à tremper pendant 24 à 48 heures dans l'eau à 25°C pour faciliter la germination. Il est important de procéder à un séchage à l'ombre afin d'éviter les dommages causés par le soleil sur les graines. Ces dernières commencent à germer au bout de trois à quatre semaines. En Chine, où les hivers sont froids, les graines sont gardées jusqu'au printemps

prochain (Windadri et Rahayu, 1999). Après 12 à 24 mois, les plantules sont réduites à une taille de 5 à 10 cm, puis sont prêtes à être repiquées dans le sol, préférentiellement sablonneux et bien drainé.

La densité de plantation est de 2000 à 2500 arbres par hectare. De nombreux pays se sont lancés avec succès dans la culture : l'Inde, le Sri Lanka (Ceylan), l'Algérie (1892), l'Asie du Sud-Est (1904), les États-Unis (1904) (Tissot, 1935).



# Chapitre 2

## Étude chimique

### 2.1 Définition d'une huile essentielle

Selon la Pharmacopée Européenne 7ème édition, une huile essentielle est un « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est la plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. La matière première végétale peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, contusée ou pulvérisée, à l'exception des fruits du genre *Citrus* qui sont toujours à l'état frais. » (EDQM, 2011)

Selon la 8ème édition de la Pharmacopée française de 1965, les huiles essentielles, nommées également « essences » ou « huiles volatiles », étaient « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales : par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leur organes, et par expression ». La pharmacopée française indique que le second procédé est recommandé pour obtenir les essences de fruit du genre *Citrus* (ANSM, 1965).

Selon la norme ISO 9235 :2014, une huile essentielle est définie comme « le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la

vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (ISO, 2014b).

## 2.2 Biosynthèse des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes dont les constituants appartiennent à deux grandes familles : les composés terpéniques qui sont majoritaires et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

Les végétaux par leur pouvoir autotrophe sont capables de synthétiser leur propres matières organiques à partir de l'énergie lumineuse, de l'eau et des minéraux présents dans le sol.

Les photons lumineux sont captés par la chlorophylle puis emmagasinés, par la transformation d'ADP en ATP, au sein de liaisons phosphores riches en énergie. Le reste de l'énergie lumineuse permet la dissociation de l'eau en hydrogène et oxygène. L'oxygène est libéré dans l'atmosphère ; en échange, la plante capte le dioxyde de carbone. Ce dernier, couplé à l'hydrogène, sous forme de protons réactifs, permet la formation de sucres simples, trioses puis hexoses (Courtial, 2005; Franchomme *et al.*, 1990). La biosynthèse des huiles essentielles intervient à ce moment là, par la différenciation de deux types de synthèse : celles des composés terpéniques et celles des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

### 2.2.1 Les composés terpéniques

Les composés de la famille des terpènes ont des structures très variées, allant d'une simple chaîne linéaire d'hydrocarbures jusqu'à des agencements complexes de cycles carbonés (Connolly et Hill, 1991). Ces terpènes ont tous en commun d'être constitués de multiples sous unités d'isoprène ( $C_5H_8$ ).

Ces composés terpéniques, aussi nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes (figure 2.2.1) (Tisserand et Young, 1995). Ils sont issus de l'addition successive d'une unité en  $C_5$ , le diphosphate d'isopentényle (IPP) sur une molécule *starter* : le diphosphate de diméthylallyle (DMAPP) (Bruneton, 1999). C'est à partir de ces deux molécules que se formeront les différents précurseurs des composés terpéniques (figure 2.2.2).

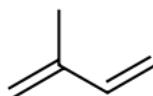


FIGURE 2.2.1 – Isoprène

TABLE 2.1 – Les différentes classes des composés terpéniques et leurs précurseurs.

Nombre d'unité isopréniques (n)	Classe	Molécules précurseurs
2	Monoterpènes	GPP
3	Sesquiterpènes	FPP
4	Diterpènes	GGPP
6	Triterpènes	2 x FPP
8	Tétraterpène ou Carotènes	2 x GGPP

Les divers squelettes terpéniques sont classés par le nombre de chaînons isopréniques (n) qui les composent (tableau 2.1). La formation des terpènes se fait en trois temps : la formation de l'unité de base en C5, la formation des précurseurs par des couplage "tête-queue" et des modification diverses sur ces précurseurs pour obtenir les composés terpéniques.

### 2.2.1.1 Formation de l'unité de base : IPP et DMAPP

Cette formation consiste en la condensation de deux molécules d'acétyl CoA pour former de l'acétoacétyl CoA. Puis l'HMG CoA synthétase catalyse la fixation d'une troisième molécule d'acétyl CoA qui donne le 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A (HMG CoA). L'hydroxyméthylglutaryl-coenzyme A réductase réduit spécifiquement la fonction acide du 3-hydroxy-3- méthylglutarylcoenzyme A (HMG-CoA) formé en en alcool du 3R-mévalonique (MVA), via une réaction NADPH-dépendante. Seule la forme (3R-CH<sub>3</sub>) de l'acide mévalonique (MVA) est active. Un groupement diphosphate va ensuite être fixé sur la fonction alcool primaire de l'acide mévalonique. Le mévalonate 5-diphosphate ainsi formé réagit avec une troisième molécule d'ATP pour donner le diphosphate d'isopentényle (IPP). L'IPP est isomérisé par l'isopentényldiphosphate delta-isomérase en diméthylallyldiphosphate (DMAPP) (figure 2.2.3) (Bruneton, 1999) .

### 2.2.1.2 Formation des précurseurs

A partir des unités de base que sont l'IPP et le DMPP, une condensation dite « tête-queue » produit les composés suivants :

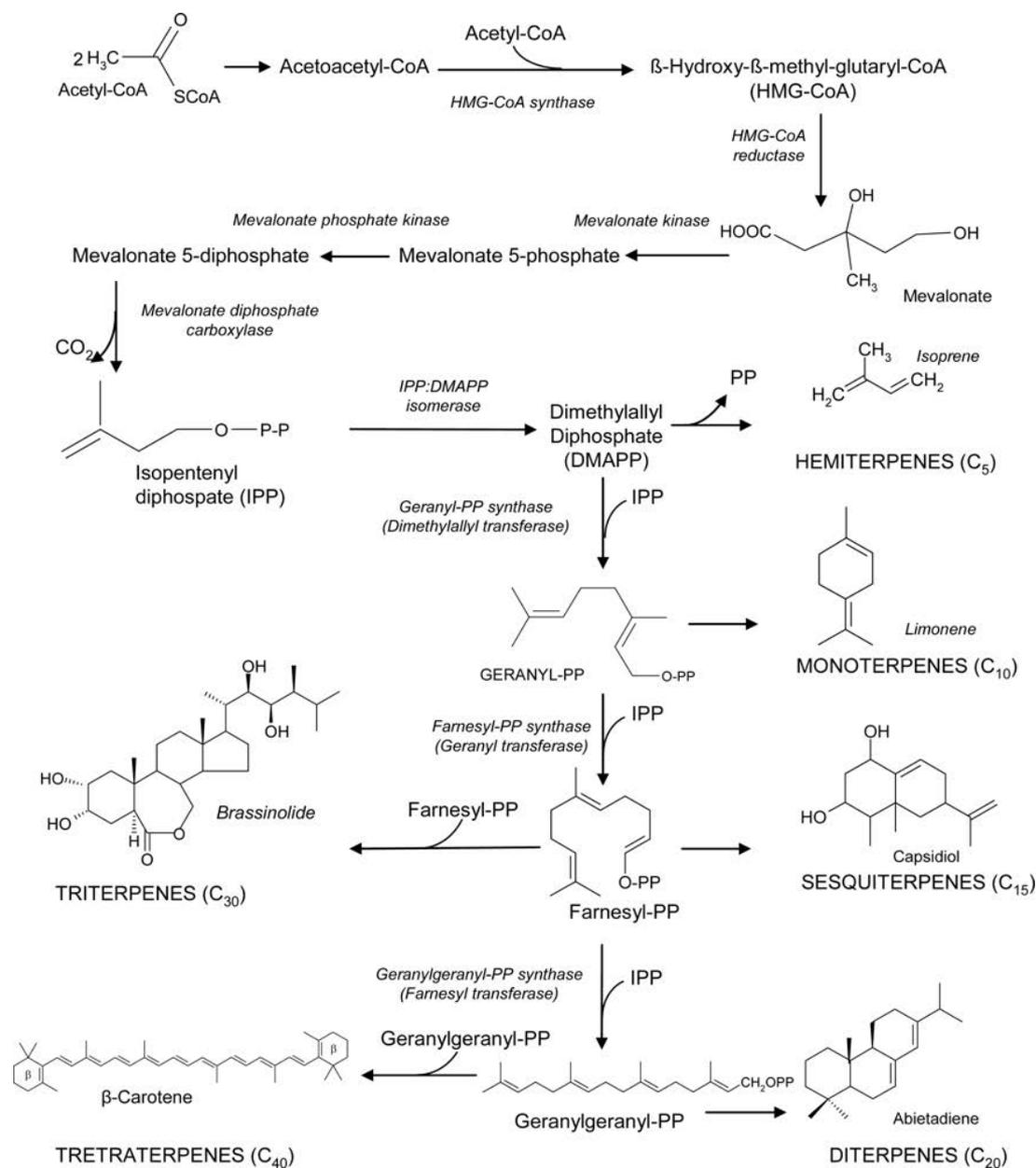


FIGURE 2.2.2 – Schéma général de la formation des composés terpéniques (Iriti et Faoro, 2009)

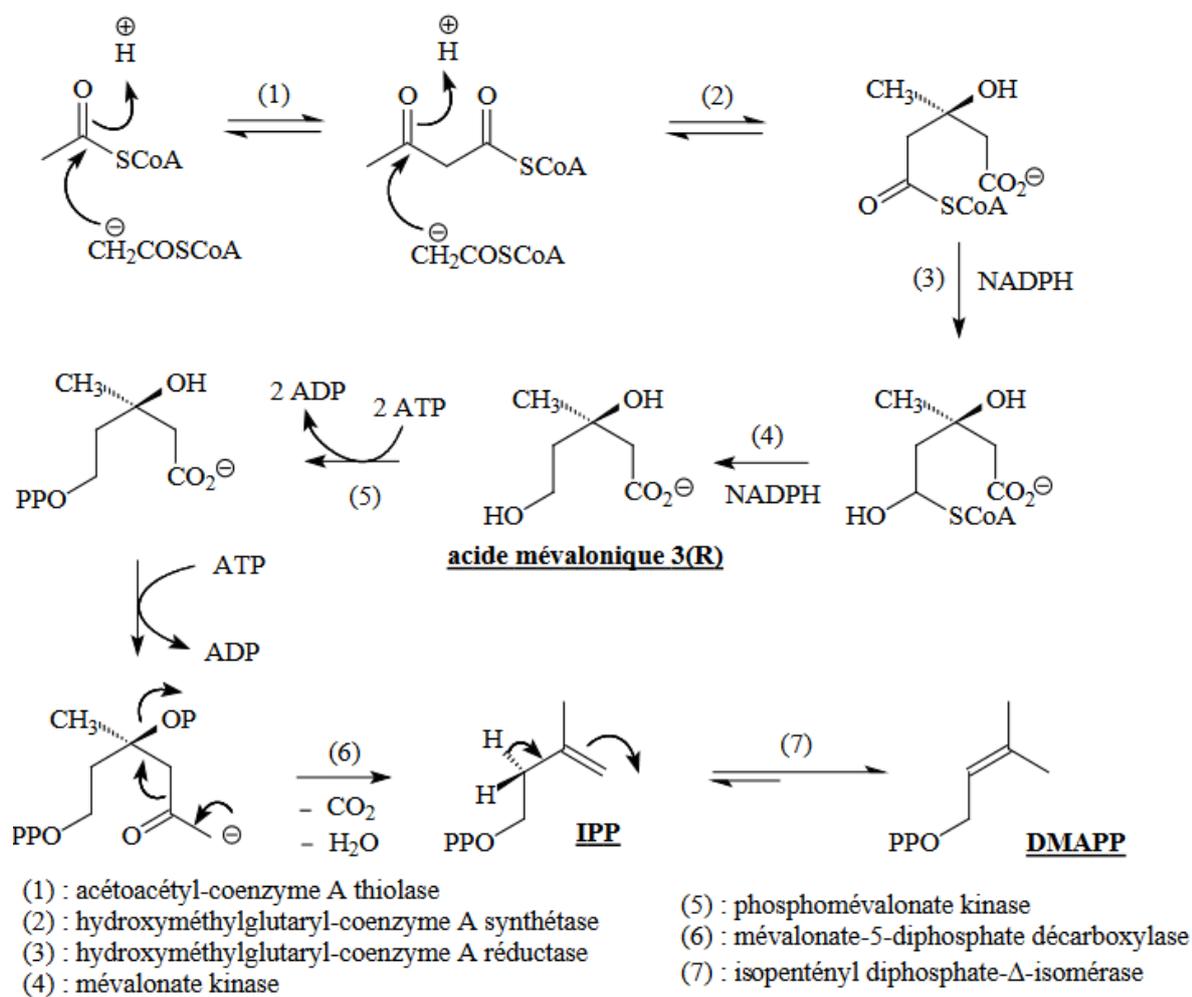


FIGURE 2.2.3 – Formation du motif isoprénique (Mann, 1987).

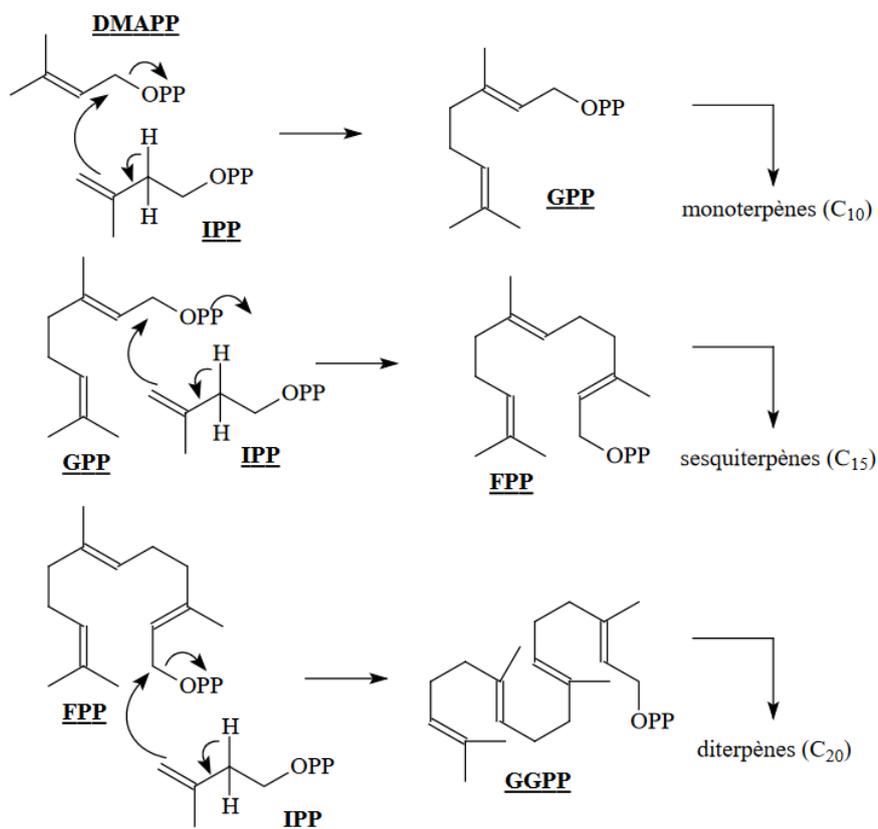


FIGURE 2.2.4 – Condensation des unités isopréniques (Mann, 1987) .

- le géranyl diphosphate (GPP) : précurseurs des monoterpènes en C<sub>10</sub>,
- le farnésyl diphosphate (FPP) : précurseurs des sesquiterpènes en C<sub>15</sub>,
- le géranyl géranyl diphosphate (GGPP), précurseurs des diterpènes en C<sub>20</sub>.

Ces réactions sont catalysées par des prényltransférases (PT) : la GPP synthase, la FPP synthase et la GGPP synthase .

La GPP synthétase permet l'addition du DMAPP et de l'IPP et conduit au pyrophosphate de géranyle (GPP). Cette réaction implique l'attaque de la double liaison de l'IPP sur la position allylique du DMAPP avec départ du groupe diphosphate. Le processus s'accompagne de l'élimination d'un proton H 2-pro-(R) de l'IPP, conduisant à la formation d'une double liaison trans, dans la biosynthèse du GPP (figure 2.2.4) (Bruneton, 1999).

La FPP synthase permet l'addition du GPP sur un IPP pour former le FPP, précurseur diphosphate C<sub>15</sub> des sesquiterpènes et des triterpènes. Finalement, la GGPP synthase condense trois molécules d'IPP au DMAPP pour former le précurseur diphosphate C<sub>20</sub> des diterpènes et tétraterpènes.

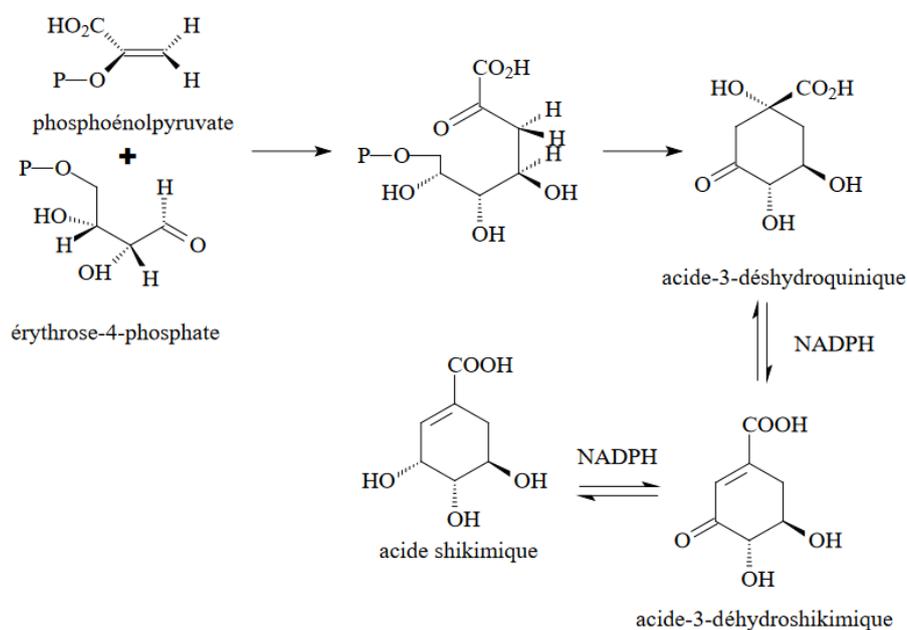


FIGURE 2.2.5 – Synthèse des composés aromatiques, dérivés du phénylpropane (Mann, 1987).

### 2.2.1.3 Modifications

Les précurseurs subissent différentes transformations secondaires qui conduisent à différents types de noyaux qui eux-mêmes sont à l'origine des différentes classes de terpènes.

## 2.2.2 Les composés aromatiques

Les composés aromatiques sont issus d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique.

L'acide shikimique se forme par une série de réactions : tout d'abord, il y a condensation aldolique stéréospécifique, entre le phosphoenolpyruvate et l'érythrose-4-phosphate pour former un composé en C<sub>7</sub>, dont la cyclisation conduit à l'acide déhydroquinique. Ce dernier se déshydrate pour donner l'acide déhydroshikimique qui, à son tour conduit à l'acide shikimique par une réaction de réduction (figure 2.2.5). A partir de cet important précurseur se forment les dérivés aromatiques, notamment par des réactions d'élimination et de réarrangements intramoléculaires (Bruneton, 1999; Figueredo, 2007).

## 2.3 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les descriptions des modes d'obtention des huiles essentielles ci-dessous se limiteront à celles définies par la Pharmacopée Européenne.

### 2.3.1 Entraînement à la vapeur d'eau

L'huile essentielle est obtenue par passage de la vapeur d'eau à travers la matière première végétale. La vapeur d'eau peut être générée de trois façons différentes :

- soit par une source externe, la vapeur est donc envoyée directement en dessous de la matière végétale,
- soit l'eau est portée à ébullition en dessous de la matière première dans la même enceinte. L'eau n'est donc pas en contact direct avec les plantes.
- soit la matière première est immergée dans l'eau, et l'ensemble est porté à ébullition.

La vapeur entraîne donc les molécules aromatiques volatiles. L'ensemble se condense et par décantation, l'huile essentielle et l'hydrolat sont séparés.

Afin d'illustrer ce propos, le cas du camphrier est décrit ci-dessous.

A Madagascar, l'huile essentielle est obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles en saison sèche principalement. La récolte des organes végétaux se fait dans des sacs en jute ou en coton pour éviter toute macération. L'approvisionnement en feuilles fraîches pétiolées se fait manuellement par cueillette et collecte auprès des paysans riverains des sites d'exploitation. L'extraction est effectuée le jour même ou le lendemain, dans des alambics (figure 2.3.1). Un séchage partiel est nécessaire en cas de pluie afin de diminuer la quantité d'eau contenue dans la plante. Pour éviter toute contamination ou altération des propriétés chimiques, un seul type de plante est mis à sécher à la fois. L'entraînement à la vapeur générée par une chaudière ayant une capacité de 2 000 litres nécessite un équivalent de 250 à 400 kg de matériel végétal (Navorozaly, 2010).

L'alambic, qu'il soit artisanal ou industriel, se composera des mêmes éléments de base :

- le cucurbite ou cuve qui contient les feuilles à distiller. L'eau peut être soit chauffée dans le cucurbite avec un feu de bois, soit séparément dans une chaudière.
- le condenseur
- l'essensier ou "vase florentin".



FIGURE 2.3.1 – Alambic dans la région de Haute-Matsiatra à Madagascar (Syndicat des Industries de Madagascar, 2010).

Les feuilles sont placées dans le cucurbite. Sous l'effet de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur d'eau qui traverse la cuve contenant les feuilles de *C. camphora*. Cette vapeur, entraîne les composés volatils, peu solubles dans l'eau pour ensuite se condenser dans le serpentin du condenseur. A la sortie de l'alambic, l'essencier permet de séparer l'eau de l'huile essentielle par différence de densité. Dans le cas du camphrier, ses huiles essentielles sont moins denses que l'eau.

La distillation doit être complète afin de récupérer tous les constituants de l'huile essentielle (Catier, 2007; Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013; Roux, 2008).

### 2.3.2 Distillation sèche

Contrairement à l'entraînement à la vapeur d'eau, la distillation est obtenue par chauffage de bois ou d'écorces à température élevée. Elle n'utilise pas d'eau liquide ou sous forme vapeur.

Le bois est placé dans une cuve de distillation. Le four est situé autour de la cuve de distillation. La chaleur produite par le four dans le couloir de chauffe permet la combustion du bois. Le distillat est récupéré dans une cuve de condensation. Le liquide condensé passe ensuite dans une cuve de décantation afin de séparer l'eau et l'huile essentielle (Belliot, 2007).

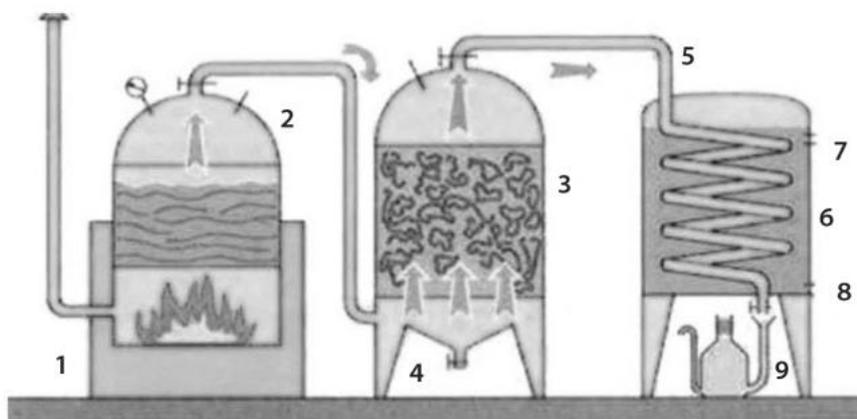


FIGURE 2.3.2 – Obtention de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau dans un alambic (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013).

1 : Chauffage, 2 : Chaudière produisant de la vapeur, 3 : Cuve contenant les plantes à distiller, 4 : Vidange, 5 : Col de cygne permettant le passage de la vapeur chargée en huiles essentielles, 6 : Réfrigérant (ou serpentín), 7 : Sortie de l'eau chaude, 8 : Entrée de l'eau froide, 9 : Essencier (ou vase florentin) permettant la séparation de l'huile essentielle et de l'hydrolat.

Cette méthode se limite donc à un très petit nombre de plantes comme par exemple l'HE de cade ou d'écorce de bouleau utilisées en dermopharmacie.

### 2.3.3 Procédé mécanique sans chauffage ou expression à froid

La méthode d'extraction par expression à froid est la plus simple mais aussi la plus limitée. Ce procédé est réservé à la famille des *Rutaceae* et plus particulièrement au genre *Citrus*. Cette extraction consiste à une expression à froid du péricarpe des fruits qui fait éclater les glandes à essences (figure 2.3.3). Ces dernières libèrent l'huile essentielle contenue dans le zeste. Il existe plusieurs procédés pour extraire les essences : l'appareil pélatrice, sfumatrice ou l'extracteur « F.MC. in line ».

L'appareil sfumatrice (figure 2.3.4) provoque par simple compression la sortie de l'huile essentielle, sans abrasion de l'écore. Les fruits sont préalablement coupés et leur jus extrait avant de passer par la machine. Cette dernière se compose d'un cylindre avec paroi fixe et une partie rotative. Le fruit est entraîné par la partie rotative et est pressé contre la paroi fixe du cylindre. Cette pression permet de faire éclater les cellules contenant l'essence qui est ensuite récupérée par un jet d'eau. La séparation entre l'eau et l'essence se fait par centrifugation.

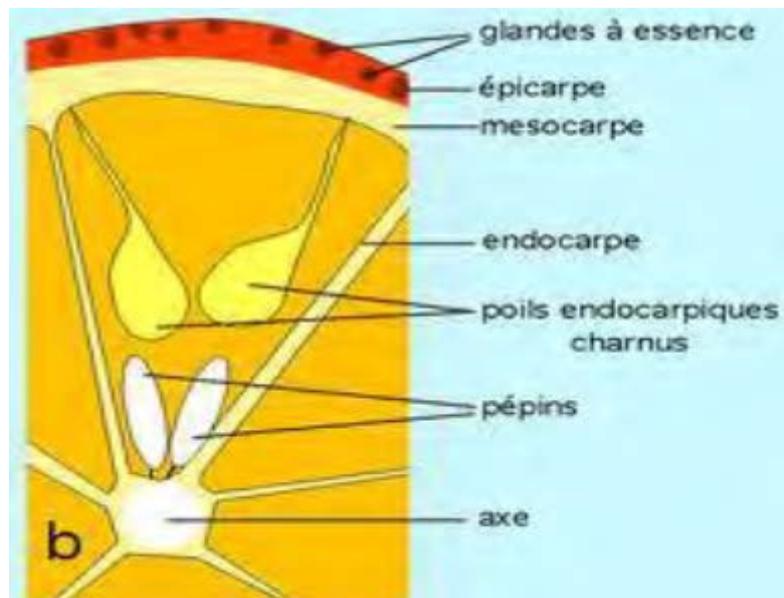


FIGURE 2.3.3 – Structure des *Citrus* (Cazau-Beyret, 2013).

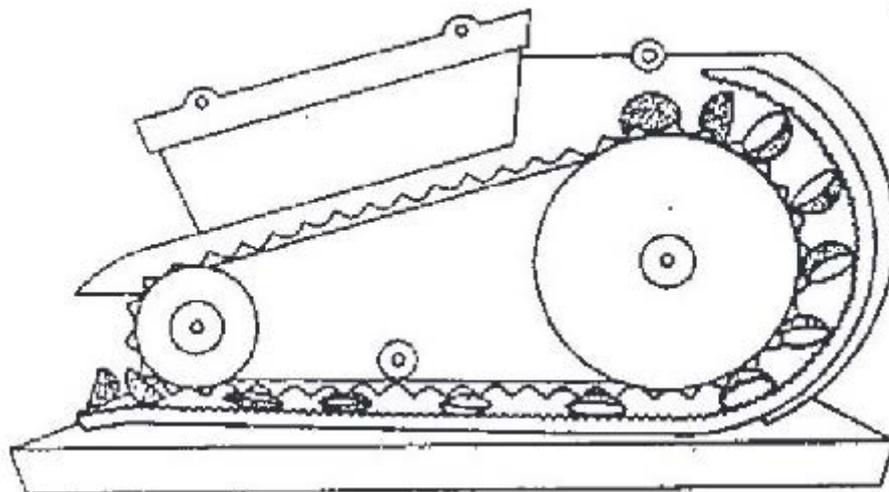


FIGURE 2.3.4 – Schéma d'un appareil sfumatrice (Mazollier, 2013).

Plus récemment, l'extracteur « F.M.C. in line », fabriqué aux Etats-Unis permet de faire simultanément la phase d'extraction du jus et de l'huile essentielle (Bousbia, 2011; Mazollier, 2013).

## 2.4 Traitement ultérieur des huiles essentielles

Les huiles essentielles, suite à leur extraction, peuvent subir un traitement ultérieur tel que la déterpénation, la rectification, ou l'élimination partielle ou totale d'un ou plusieurs constituants. Afin d'être commercialisées, le traitement ultérieurs des huiles essentielles doit être mentionné et nommé comme ci-dessous.

La déterpénation consiste à éliminer totalement ou partiellement les hydrocarbures monoterpéniques ; l'huile essentielle est alors dénommée « huile essentielle de « x » déterpénée. La rectification est une distillation fractionnée qui permet de supprimer certains constituants ou d'en modifier la teneur ; ces huiles sont alors appelées « huile essentielle rectifiée ». Enfin si une huile essentielle voit une partie de ses constituants éliminés, elle est alors dénommée « huile essentielle privée de « x » » (ANSM, 2008).

## 2.5 Techniques d'analyse des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de plusieurs dizaines voire centaines de composés, principalement volatils. Afin d'identifier ces différents composés, plusieurs méthodes sont utilisées comme la chromatographie en phase gazeuse, la chromatographie sur couche mince ou encore la chromatographie liquide haute performante.

### 2.5.1 La Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

#### 2.5.1.1 Principe

La CPG est l'une des techniques les plus utilisées en analyse quantitative et qualitative. Elle s'est répandue de part son coût relativement modéré ou encore ses possibilités d'automatisation....Son principe est basé sur la séparation de composés gazeux selon leur affinité pour la phase stationnaire (colonne). L'appareil est un assemblage de plusieurs éléments (figure 2.5.1) :

- le gaz vecteur ;
- le four ;
- l'injecteur ;
- la colonne ;
- le détecteur.

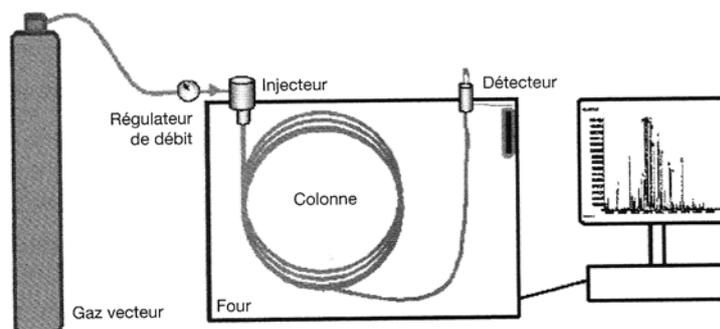


FIGURE 2.5.1 – Les différents modules du chromatographe en phase gazeuse (Fernandez et Chemat, 2012).

L'échantillon est donc vaporisé et injecté au sommet de la colonne chromatographique. La phase mobile est un gaz inerte, appelé "gaz vecteur", qui permet d'entraîner l'échantillon dans la colonne (Fernandez et Chemat, 2012; Skoog *et al.*, 2012).

### 2.5.1.2 Appareillage

#### Le gaz vecteur

Le gaz vecteur doit être inerte chimiquement. Pour cela, de l'hydrogène, de l'azote, de l'argon ou de l'hélium sont utilisés.

Ces différents gaz proviennent soit d'un récipient sous pression, soit d'un générateur qui permet d'obtenir un gaz plus pur. Son débit varie de 25 à 40 ml/min pour les colonnes remplies et entre 0,2 et 2 ml/min pour les colonnes capillaires. Le gaz vecteur ne doit pas contenir de traces d'hydrocarbures, d'oxygène ou de vapeur d'eau, qui sont considérés comme des impuretés pouvant interagir avec la phase stationnaire et/ou l'échantillon. C'est pourquoi à l'entrée du chromatographe, il est placé un double filtre desséchant et réducteur.

Le choix du gaz vecteur dépend du détecteur utilisé (Skoog *et al.*, 2003; Burgot et Burgot, 2001; Rouessac et Rouessac, 2004).

## Le four

Le four est rempli d'air chauffé à l'aide de résistance et d'un système de ventilation et de brassage permettant l'homogénéisation de la température à l'intérieur. Cette température est contrôlée par un régulateur thermique garantissant une variation de  $\pm 0,2$  degré Celsius pour des températures de fonctionnement allant jusqu'à 500 °C. Pour des températures inférieures à la température ambiante, une vanne cryogénique alimentée par du dioxyde d'azote ou du dioxyde de carbone liquide est nécessaire.

Lors des analyses, il est possible d'utiliser soit une température constante, soit un ou plusieurs phases de chauffe entrecoupées de paliers.

Les parois du four sont traversées de part et d'autre, par les tubulures d'entrée et de sortie du gaz vecteur (figure 2.5.1) (Tranchant, 2015; Rouessac et Rouessac, 2004).

## L'injecteur

L'injecteur permet de vaporiser l'échantillon et de l'entraîner avec le gaz vecteur dans la colonne. Suivant les colonnes, différents injecteurs peuvent être utilisés :

— l'injecteur à vaporisation directe : pour les colonnes remplies

— l'injecteur avec ou sans division « split-splitless » : pour les colonnes capillaires.

L'injecteur à vaporisation directe est un tube métallique chemisé de verre (insert) et relié à la colonne. Il est composé d'un septum permettant l'étanchéité du système, d'un bloc chauffant et d'une entrée pour le gaz vecteur. L'échantillon est introduit dans le flux du gaz vecteur à l'aide d'une microsiringue à travers une membrane d'élastomère siliconé (septum). La température à l'intérieur du bloc d'injection est supérieure à celle du four afin de vaporiser immédiatement l'échantillon. Le volume injecté varie de 1 à 10  $\mu\text{L}$ , et la totalité de l'échantillon injecté passe dans la colonne.

L'injecteur avec ou sans division est utilisé pour les colonnes capillaires car elles nécessitent des volumes plus faibles d'échantillon (0,1 à 1  $\mu\text{L}$ ). Cependant, même avec des très petits volumes prélevés à la microsiringue (0,1  $\mu\text{L}$ ), des risques de saturation existent sur certaines colonnes capillaires. Ce type d'injecteur fonctionne selon deux modes : avec division (split) ou sans division (splitless). En mode « split », l'échantillon mélangé au gaz vecteur est divisé en deux fractions : la plus grande partie est évacuée par une vanne de fuite, et seulement l'exédent entre dans la colonne afin de ne pas la saturer. Le mode « splitless », la vanne de fuite est fermée, est généralement utilisé pour l'analyse de traces et nécessite une injection très lente de l'échantillon (Rouessac et Rouessac, 2004; Burgot et Burgot, 2001; Tranchant, 2015).

## La colonne

Il existe deux types de colonnes, les colonnes remplies et les colonnes capillaires.

Les colonnes remplies mesurent généralement entre 1 et 3 m de long et ont un diamètre de l'ordre de 4 mm. Elles sont enroulées en spirales de 15 cm afin de limiter la place occupée dans le four.

Les colonnes sont garnies par un matériau poreux et inerte présent sous forme de grains sphériques d'une surface de 2 à 8 m<sup>2</sup>/g. Ces grains sont recouverts d'une fine couche de phase stationnaire, l'épaisseur de cette dernière atteignant 0,05 à 1 µm (Burgot et Burgot, 2001; Rouessac et Rouessac, 2004; Skoog *et al.*, 2003).

## Le détecteur

Les différents composants de l'échantillon couplés à la phase mobile sortent progressivement de la colonne et sont ensuite décelés par le détecteur. Directement situé à la sortie de la colonne, le détecteur doit posséder une réponse linéaire ce qui signifie qu'il y a proportionnalité entre le signal et la concentration en analytes ( $[analytes] = d \times signal$ , où  $d$  représente le coefficient de proportionnalité dépendant de l'appareil et des substances injectées).

Il existe deux types de détecteurs, les destructifs et les non destructifs.

Les détecteurs non destructifs permettent de récupérer les solutés séparés et de les caractériser avec une autre méthode d'analyse. Cependant, ils sont un peu moins sensibles que leurs homologues non destructifs. Les plus utilisés sont les détecteurs à capture d'électron (ECD) ou encore les détecteurs à conductibilité thermique (TCD).

Les détecteurs destructifs détruisent les solutés mais sont plus sensibles. Sont retrouvés dans cette catégorie les détecteurs à ionisation de flamme (FID), thermoioniques (NPD) ou encore les détecteurs à photométrie de flamme (Tranchant, 2015; Rouessac et Rouessac, 2004; Burgot et Burgot, 2001).

### 2.5.2 La chromatographie sur couche mince

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM, ou *Thin layer Chromatography* TLC en anglais) est une technique de séparation des composés organiques. La phase

stationnaire est étalée sur une plaque tandis que la phase mobile, sous forme liquide, va migrer le long de la phase stationnaire et entraîner les composés de l'échantillon.

La plaque de la CCM est un support inerte et rigide qui peut être en verre, en aluminium ou en plastique. La phase stationnaire est le plus souvent constituée de gel de silice, d'alumine ou de poudre de cellulose (phase normale). Depuis quelques années, des phases dites greffées (alkyle, amino-, cyano-...phase inverse) se sont développées.

La phase stationnaire est déposée en couche fine de 250  $\mu\text{m}$  sur la plaque de CCM auquel est souvent ajouté un pigment fluorescent permettant la détection des dépôts d'échantillon sous lumière UV (254 ou 366 nm) (Mendham, 2005; Fernandez et Chemat, 2012).

### 2.5.3 La chromatographie liquide haute performance

La chromatographie liquide haute performance (CLHP) est également une technique d'analyse qualitative et quantitative des composés organiques. Les composés à analyser (comme par exemple une HE) sont entraînés dans l'appareil par un liquide vecteur (phase mobile) à travers un solide divisé (phase stationnaire). La phase stationnaire est placée dans un tube, appelé colonne chromatographique.

Le chromatographe (figure 2.5.2) est donc composé de différents modules que sont :

- le réservoir de phase mobile : il peut y avoir plusieurs réservoirs dans le but de constituer des mélanges différents de phase mobile ;
- les pompes : elles permettent d'envoyer dans le chromatographe la phase mobile sous haute pression ;
- l'injecteur : il est conçu autour d'une vanne à boucle pour permettre l'introduction de l'échantillon sous forte pression ;
- la colonne remplie : la phase stationnaire la plus couramment utilisée est le gel de silice. La composition de la phase stationnaire dépend de la nature et du nombre de composés que l'on veut séparer et amène à différents types de chromatographie que sont la chromatographie en phase normale, en phase inverse, d'adsorption, de partage ou d'échanges d'ions.
- le détecteur : il s'agit d'un réfractomètre différentiel, d'un spectromètre de type UV, IR ou fluorimètre, ou encore d'un spectromètre de masse.

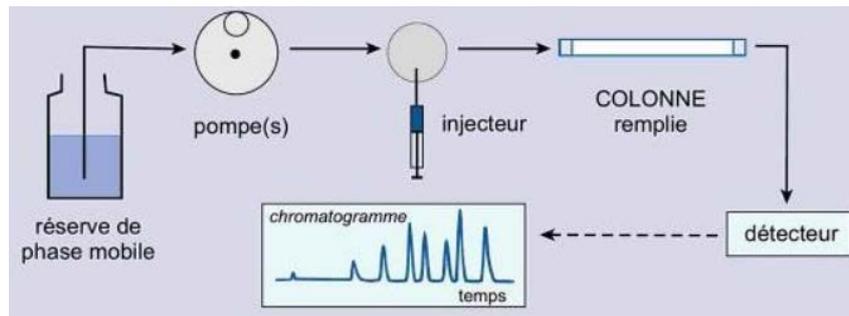


FIGURE 2.5.2 – Schéma représentant l'appareil d'un chromatographe pour CLHP

En fonction du type de chromatographie, les différents composés contenus dans l'échantillon vont mettre plus ou moins de temps à traverser la colonne et ainsi être élués à des moments distincts. Le résultat d'une analyse CLHP, appelé chromatogramme, se présente sous la forme d'une courbe du signal détecté en fonction du temps. Il comporte plusieurs pics d'allure gaussienne représentant le temps de rétention de chaque composé (qualitatif). La hauteur du pic permet de déterminer la quantité de chacun des composés présents dans l'échantillon. Il s'agit d'une méthode quantitative (Rouessac et Rouessac, 2011).

## 2.6 Qualité des huiles essentielles et de leur matière première

### 2.6.1 Critères de qualité de matières premières végétales

#### 2.6.1.1 Dénomination botanique

La dénomination botanique est primordiale en aromathérapie. Comme pour les médicaments avec la dénomination commune internationale (DCI), les plantes ont une dénomination scientifique botanique rédigée selon les règles linéennes.

Cette dénomination est exprimée en latin. Elle comprend le nom de genre (première lettre majuscule et en italique), suivi du nom d'espèce (en minuscule et en italique), ainsi que de l'initiale ou de l'abréviation du botaniste qui le premier a décrit la plante. Elle peut enfin être complétée par le nom de la sous-espèce ou de la variété (ANSM, 2008).

La dénomination internationale du camphrier comporte le nom de deux botanistes (figure 2.6.1) : Carl von Linné (L.) et Jan Svatopluk Presl (J. Presl). Il est convenu,

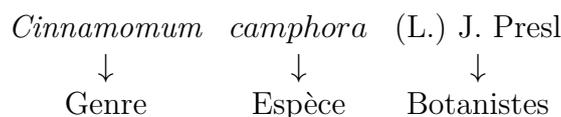


FIGURE 2.6.1 – Dénomination botanique du camphrier.

historiquement qu'un botaniste (J. Presl) considère que le genre choisi (*Laurus*) n'est pas le plus judicieux pour une espèce (*Laurus camphora* L.). Il peut alors décider de transférer l'espèce dans un autre genre (*Cinnamomum*). Ainsi, le nom de l'auteur de la dénomination binomiale initiale (Linné) demeure, mais il est placé entre parenthèses. Ces transferts ont généralement lieu lors de la création de nouveaux genres. (Paquereau, 2013).

La présence d'un « × » dans la dénomination signifie que la plante a été obtenue par hybridation. Par exemple, l'HE de lavandin grosso à la dénomination suivante :

*Lavandula angustifolia* Mill. × *Lavandula latifolia* Medik.

Il est essentiel d'avoir des règles de dénomination des huiles essentielles pour éviter les confusions entre une plante et ses différents noms botaniques et/ou vernaculaires. De plus, l'étiquetage doit être le plus précis possible, c'est pourquoi différentes normes ont été créées afin de les harmoniser :

**Norme NF T 75-002 : 1996** l'étiquetage doit comporter « la dénomination commerciale de l'huile essentielle, le nom botanique (latin) de la plante et la partie de plante dont elle est extraite » mais aussi « la technique de production ou tout traitement spécifique qu'elle a subi : distillation, fractionnement, expression etc » (AFNOR, 1996).

**Norme ISO 3218 : 2014** elle définit les règles de dénomination à respecter dans les différents cas qui peuvent se présenter : hybrides, clones, variétés, méthodes d'obtention, origines géographique variée... (ISO, 2014a)

**Norme ISO 4720 : 2009** elle liste la nomenclature botanique de plantes utilisées pour la production des huiles essentielles, avec les noms communs des huiles essentielles en anglais et en français. Elle comprend aussi un index alphabétique des noms communs des huiles essentielles en anglais et en français (ISO, 2009).

Selon la norme ISO 4720, on trouvera le camphrier sous la dénomination internationale *Cinammomum camphora* (L.) J. Presl et son synonyme *Laurus camphora* L. (tableau 2.2).

TABLE 2.2 – Extrait issus de la norme ISO 4720 : 2009 concernant la dénomination du camphrier (ISO, 2009).

N°	Nom botanique de la plante	Famille	Nom commun en français / anglais	Partie de plante utilisée
36	<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J. Presl syn. <i>Laurus camphora</i> L.	Lauraceae / Lauracées	fr : camphrier / en : camphor laurel, camphor tree	Feuille, rameau

### 2.6.1.2 Conditions de production de la plante

Les conditions de culture, de récolte, de séchage et de stockage va déterminer la qualité de la matière première, qui influencera celle de l'huile essentielle.

#### Mode de culture

##### **Sauvage**

Les plantes sont récoltées dans leur environnement. Ces plantes sont les plus riches en composés aromatiques, de part leur adaptation à l'environnement. Cependant, ces plantes ne sont pas certifiées biologiques. De plus, il convient de préférer une plante issue d'une culture biologique afin de respecter une consommation durable dans le temps, et ainsi ne pas mettre en péril une espèce.

##### **Culture biologique**

La culture biologique est soumise à un cahier des charges strict interdisant l'utilisation de pesticides et d'OGM. Cette culture est la plus appropriée pour les plantes utilisées dans les huiles essentielles. Ces plantes sont également riches en composés aromatiques, de part leur adaptation à l'environnement et la non utilisation de pesticides.

##### **Culture non biologique**

Cette culture, appelée aussi culture traditionnelle ou conventionnelle, utilise des engrais ou pesticides et n'est pas soumise au cahier des charges de l'agriculture biologique.

Lors de la distillation, certains de ces composés indésirables peuvent se retrouver dans l'huile essentielle car ils ne sont pas solubles dans l'eau. Il convient donc de les éliminer.

Lors de la culture des agrumes des pesticides sont pulvérisés sur l'arbuste mais aussi les fruits; l'extraction de leur zeste entraîne ces composés indésirables qui se retrouvent intacts dans l'huile essentielle en fin de process (Couic-Marinier, 2016).

## Récolte

La période de la récolte est importante. La composition des plantes varie en effet en fonction des saisons et des agressions qu'elles peuvent subir. Par exemple, la sarriette des montagnes *Satureja montana* L. spp *montana crvacrolifera* (Lamiaceae) produit plus d'hydrocarbures terpéniques en hiver qu'en été, saison où elle sera riche en carvacrol (Faucon, 2012).

La plante doit contenir le moins d'impuretés possible. Lors de la récolte, les poussières, la terre, les pesticides et les herbicides (dans le cadre d'un mode de culture non biologique) doivent être éliminés. Les contaminations animales, issues de leur déjections, ainsi que les infections fongiques, doivent être évitées. Concernant les agrumes, la surface doit être parfaitement nettoyée car l'expression à froid peut entraîner avec l'huile essentielle (essence) les divers pesticides (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013).

## Stockage

Lors du stockage, il faut éviter la contamination microbienne ou fongique qui pourrait induire des réactions enzymatiques non souhaitées au sein de la matière végétale et diminuerait ainsi sa qualité.

Généralement, la distillation de la plante fraîche se fait dès la cueillette. Cependant certaines espèces comme la lavande ou la menthe nécessitent une période de séchage à l'air libre de quelques jours afin d'augmenter le rendement (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013).

### 2.6.1.3 Partie de la plante utilisée

Les huiles essentielles peuvent être accumulées dans pratiquement tous les types d'organes végétaux (tableau 2.3).

TABLE 2.3 – Organes végétaux accumulateurs d’huile essentielle et quelques exemples de plantes à huile essentielle ANSM (2008).

Partie de plante	Nom vernaculaire
fleurs	oranger, rose, lavande
feuilles	citronnelle, eucalyptus
écorces	cannelier
bois	bois de rose, santal
racines	vétiver
rhizomes	curcuma, gingembre
fruits secs	anis, badiane, persil
graines	muscade

La composition chimique, tant quantitative que qualitative d’une huile essentielle provenant d’une même plante diffère en fonction de sa localisation dans cette dernière . Il est donc possible d’extraire différentes huiles essentielles issues d’une même plante qui produisent des actions différentes sur l’organisme. Par exemple le bigaradier ou orange amère, *Citrus aurantium* L. var. *amara* (Rutaceae) produit trois huiles essentielles différentes : l’HE d’orange amère, l’HE de petit grain bigarade et l’HE de néroli (tableau 2.4).

TABLE 2.4 – Dénomination et action des différentes huiles essentielles issues du bigaradier Bureau (2012).

Partie de plante	Nom de l’huile essentielle	Composant majoritaire	Action
Zeste	HE d’orange amère	Limonène	Calmante
Feuille	HE de petit grain bigarade	Acétate de linalyle	Antispasmodique
Fleur	HE de Néroli	Nérolidol	Neurotonique

Il est donc primordial de connaître la partie de plante utilisée pour avoir une utilisation adéquate de ses huiles essentielles.

## 2.6.2 Critères de qualité des huiles essentielles

### 2.6.2.1 Caractères physico-chimiques

#### Caractère organoleptiques

##### *Couleur*

Les huiles essentielles sont généralement incolores à jaune pâle. Certaines huiles essentielles sont colorées comme par exemple l'HE de matricaire (bleu), l'HE d'inule (vert émeraude), l'HE de gaultherie (rouge foncé) (Scimeca *et al.*, 2015).

##### *Aspect*

La plupart des huiles essentielles sont liquides à température ambiante. Elles sont volatiles ce qui les différencie des huiles dites « fixes » comme par exemple les huiles végétales d'amande douce ou d'olive (Bruneton, 1999).

##### *Odeur et saveur*

Le test odeur et saveur consiste à s'assurer que l'odeur et la saveur de l'huile essentielle, en présence d'alcool et de saccharose, correspond bien à la plante ou à la partie de la plante dont elle est issue (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013).

#### Caractères physiques

##### *Détermination de l'indice de réfraction à 20 °C*

La réfraction est la déviation que subit un rayon lumineux en passant d'un milieu optique (par exemple l'air) à un autre (représenté ici par l'HE). Chaque huile essentielle possède son propre indice de réfraction «  $n$  ». Cette mesure est relayée par un réfractomètre, le plus couramment utilisé étant le réfractomètre d'Abbe.

Chaque huile essentielle ayant un indice de réfraction propre, cette mesure permet de vérifier si l'huile essentielle est conforme aux normes. Cependant, ce n'est en aucun cas une méthode d'identification des huiles essentielles inconnues (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013).

### **Détermination de la densité à 20 °C**

La densité relative d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un volume donné de l'huile essentielle sur la masse d'un même volume d'eau distillée. Elle est mesurée à l'aide d'un densimètre ou par pesée. La majorité des huiles essentielles sont moins denses que l'eau. Leur densité est donc inférieure à 1. Quant aux huiles essentielles contenant des phénols, leur densité est supérieure à 1 (Boukhobza et Goetz, 2014).

### **Détermination du pouvoir rotatoire**

Le pouvoir rotatoire est la capacité de certaines molécules de provoquer une rotation du plan de polarisation lorsqu'elles sont traversées par un faisceau de lumière polarisée plan. Cette rotation peut être orientée vers la droite (dextrogyre (+)) ou vers la gauche (lévogyre (-)). Cette activité optique est quantifiée à l'aide d'un polarimètre et sa mesure est exprimée en degrés (°) (Depovere, 2005; Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013).

### **Détermination de la solubilité**

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther, et les huiles à des degrés différents. Elles sont insolubles dans l'eau. Cependant les huiles essentielles communiquent leur odeur à l'eau.

## **Caractères chimiques**

### **Indice d'acide (ISO 1242 :1999)**

L'indice d'acide  $I_A$  est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle.

$$I_A = V.c. \frac{56,11}{m}$$

où  $V$  est le volume, en millilitres, de solution d'hydroxyde de potassium utilisée pour le titrage;

$c$  est la concentration exacte, en mole par litre, de la solution d'hydroxyde de potassium;

$m$  est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

Cependant pour des huiles essentielles présentant des concentrations importantes en lactones, cette mesure n'est pas applicable.

### **Indice de peroxyde**

L'indice de peroxyde IP exprime, en milliéquivalents d'oxygène actif, la quantité de peroxyde contenue dans 1 000 g de substance.

Cet indice reflète le degré d'oxydation d'une huile essentielle. Plus celui-ci est élevé, plus l'oxydation est importante.

### **Teneur en eau (ISO 11021 :1999)**

La teneur en eau détermine la quantité d'eau présente dans une huile essentielle considérée. Elle est exprimée comme la fraction massique  $W_w$ , représentant le rapport de la masse d'eau  $m_e$  à la masse totale de l'échantillon d'huile essentielle  $m_{HE}$ .

$$W_w = \frac{m_e}{m_{HE}}$$

La teneur en eau est déterminée selon la méthode de Karl Fischer.

#### **2.6.2.2 Chémotypes**

Les composés aromatiques d'une plante varient en fonction de nombreux facteurs comme l'ensoleillement, la nature et les composants du sol . C'est pourquoi une même espèce peut sécréter des huiles de compositions différentes. Pour différencier les huiles essentielles extraites de chacune de ces plantes, on utilise le terme "chémotype" (Franchomme *et al.*, 1990). En particulier, les différents chémotypes du camphrier sont détaillés dans la partie (section §2.8).

### 2.6.2.3 Identification et analyses chromatographiques

Les huiles essentielles sont analysées via les méthodes décrites précédemment : CPG, CLHP, CCM... Ces analyses permettent d'obtenir un profil chromatographique qui fournit une estimation des teneurs en différents composés caractéristiques contenus dans l'huile essentielle (ANSM, 2008).

### 2.6.2.4 Condition de conservation et de stockage

Les composés des huiles essentielles sont relativement instables ; le conditionnement doit permettre de les protéger. Les différents types de dégradation sont multiples comme par exemple photo-isomérisation, photocyclisation, coupure oxydative, peroxydation et décomposition en cétones et alcools, thermo-isomérisation, hydrolyse et transestérification. Ces dégradations peuvent modifier les propriétés et/ou mettre en cause l'innocuité de l'huile essentielle. Il convient de les éviter par l'utilisation de flacons propres et secs en aluminium vernissé, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique. Ces contenants sont presque entièrement remplis et fermés de façon étanche puis stockés à l'abri de la chaleur et de la lumière.

Dans certains cas, un antioxydant approprié peut être ajouté à l'huile essentielle. Cet additif est alors à mentionner lors de la vente. Par ailleurs, des incompatibilités sérieuses peuvent exister avec certains conditionnements en matières plastiques. Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (norme AFNOR NF T 75-001, 1996) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des huiles essentielles (norme NF 75-002, 1996)(ANSM, 2008).

Un pharmacien d'officine, lorsqu'il reçoit une huile essentielle, doit pouvoir contrôler la qualité de l'huile essentielle. Pour cela, il peut demander un bulletin d'analyse auprès de son fournisseur, qui décrit l'huile essentielle avec les différents critères vus précédemment comme

- le nom complet,
- l'organe producteur,
- le type de culture,
- le mode d'extraction,
- la technique d'analyse,
- les caractéristiques physique et organoleptique (Annexe 2).

## 2.7 Réglementation

### 2.7.1 Vente en l'état

Certaines huiles essentielles font l'objet de restrictions de délivrance et autorisation de vente. L'article L4211-1 du Code de la Santé Publique (CSP) stipule que :

« sont réservées aux pharmaciens, sauf les dérogations prévues aux articles du présent code : [...] 6° La vente au détail et toute dispensation au public des huiles essentielles dont la liste est fixée par décret ainsi que de leurs dilutions et préparations ne constituant ni de s produits cosmétiques, ni des produits à usage ménager, ni des denrées ou boissons alimentaires . »

L'article D4211-13 du CSP, modifié par le décret n°2007-1198 du 3 août 2007, fixe cette liste :

- grande absinthe (*Artemisia absinthium* L.) ;
- petite absinthe (*Artemisia pontica* L.) ;
- armoise commune (*Artemisia vulgaris* L.) ;
- armoise blanche (*Artemisia herba alba* Asso) ;
- armoise arborescente (*Artemisia arborescens* L.) ;
- thuya du Canada ou cèdre blanc (*Thuja occidentalis* L.) et cèdre de Corée (*Thuja Koraenensis* Nakai), dits "cèdre feuille ;
- hysope (*Hyssopus officinalis* L.) ;
- sauge officinale (*Salvia officinalis* L.) ;
- tanaïsie (*Tanacetum vulgare* L.) ;
- thuya (*Thuja plicata* Donn ex D. Don.) ;
- sassafras (*Sassafras albidum* [Nutt.] Nees) ;
- sabine (*Juniperus sabina* L.) ;
- rue (*Ruta graveolens* L.) ;
- chénopode vermifuge (*Chenopodium ambrosioides* L. et *Chenopodium anthelminticum* L.) ;
- moutarde jonciforme (*Brassica juncea* [L.] Czernj. et Cosson).

Ce sont des huiles essentielles riches en thuyone et pinocamphone présentant un risque de neurotoxicité. Elles sont donc contre-indiquées chez les personnes épileptiques, les enfants et les femmes enceintes ou allaitantes.

### 2.7.2 Spécialités pharmaceutiques à base d'huile essentielle

Les médicaments à base d'huiles essentielles n'ont pas de réglementation spécifique concernant leur utilisation mais doivent être conformes à la réglementation des médicaments à base de plantes. Les médicaments à base de plantes sont définis comme « tout médicament dont les substances actives sont exclusivement une ou plusieurs substances végétales ou préparations à base de plantes ou une association de plusieurs substances végétales ou préparations à base de plantes », selon l'article L. 5121-1, 16° du CSP (Code de la Santé Publique).

Afin d'être dispensé en pharmacie, le médicament à base de plantes doit obtenir une autorisation de mise sur le marché (AMM). La directive 2001/83/CE prévoyait une procédure d'AMM allégée (tableau 2.5) pour les médicaments à base de plantes à usage médical bien établi (CE, 2001). Cela ne concernait pas les médicaments à base de plantes à usage médical traditionnels impliquant le dépôt d'un dossier AMM classique, aussi contraignant que les médicaments allopathiques. C'est pourquoi la directive 2004/24/CE complète la directive 2001/83/CE.

La directive 2004/24/CE du 31 mars 2004 instaure donc une procédure d'enregistrement simplifiée pour les médicaments à base de plante à usage médical traditionnel. Elle dispense le demandeur de fournir des résultats d'études cliniques et toxicologiques, mais nécessite des éléments bibliographiques ou des rapports d'experts établissant que l'usage médical traditionnel du médicament date d'au moins 30 ans, dont au moins 15 ans dans la Communauté européenne (CE), ainsi qu'une étude bibliographique des données de sécurité (tableau 2.5) (CE, 2004).

Un délai de sept ans a été laissé aux États membres afin de leur permettre de transposer la directive en droit national. Ainsi, à partir du 30 avril 2011, la directive 2004/24/CE est entrée en vigueur et tous les médicaments traditionnels à base de plantes commercialisés avant le 27 avril 2007 et pour lesquels le dépôt de demande d'enregistrement n'a pas eu lieu en date du 30 avril 2011 ne sont plus commercialisables en tant que médicaments.

## 2.8 Composition des huiles essentielles issues du camphrier

---

1. Module 1 : Données administratives et propositions relatives à l'information sur le produit. Module

TABLE 2.5 – Procédure d’enregistrement et de demande d’AMM pour les médicaments à base de plantes .

Médicament à base de plantes	Procédure	Dossier
d’usage médical traditionnel	enregistrement simplifié	éléments bibliographiques / rapport d’expert (30 ans d’utilisation dont 15 ans dans la CE)
d’usage médical bien établi	AMM allégée	élément bibliographique / rapport d’expert / données toxicologiques (10 ans d’utilisation)
autres	AMM classique	5 modules <sup>1</sup>

Dans cette partie, il sera détaillé, d’une part, la variation de la composition chimique des huiles essentielles en fonction des chémotypes et des saisons et, d’autre part, les composés remarquables représentés dans ses huiles essentielles.

## 2.8.1 Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles

### 2.8.1.1 Chémotypes

Wan-Yang *et al.* (1989) ont mené une étude détaillée sur la composition chimique des huiles essentielles de *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl de 164 arbres en provenance de Chine. Les auteurs ont analysé 363 échantillons d’huiles essentielles issus de différents organes après récolte et entraînement à la vapeur d’eau. 34 composants ont été identifiés. En fonction de la prédominance de certains composés chimiques présents dans les feuilles, cinq chémotypes ont été déterminés :

- type camphre,
- type linalol,
- type cinéole,
- type isonérolidole
- type bornéole (tableau 2.6) (Wanyang *et al.*, 1989).

Dung *et al.* (1993) ont analysé les feuilles de *Cinnamomum camphora* (L.) Sieb var *linaloolifera* originaire du Vietnam par une combinaison CPG capillaire et CPG/SM. L’huile essentielle a été obtenu par entraînement à la vapeur d’eau avec un rendement

<sup>1</sup> 2 : Synthèses des données qualité, précliniques et cliniques. Module 3 : Données chimiques, pharmaceutiques et biologiques relatives au(x) principe(s) actif(s) et au produit fini. Module 4 : Données non cliniques. Module 5 : Données cliniques d’efficacité et de sécurité.

TABLE 2.6 – Identification des composants dans l’huile essentielle de feuille de *Cinnamomum camphora*. (Wanyang *et al.*, 1989)

Pic n°	Composants	Pourcentage				
		I	II	III	IV	V
1	alpha-thujene	0,14	0,07		0,18	
2	alpha-pinene	1,29	0,12	1,65	2,01	0,08
3	Camphene	1,55			1,51	0,25
4	Beta-pinene	0,77	0,05	6,92	0,81	0,06
5	Sabinene	0,25	0,05	0,25	0,33	0,06
6	Myrcene	0,35	0,08		0,93	0,10
7	Alpha-Phellandrene	0,81	0,05		0,05	0,47
8	Limonene	0,03	0,01		1,62	0,17
9	1,8 cineole	1,73	0,21	50,00	1,63	0,92
10	Ocimene		0,09		0,07	0,03
11	gamma-terpinene	0,19	0,30		0,16	0,04
12	p-Cymene	0,02	0,01	1,12	0,16	0,03
13	Terpinolene	0,03	0,02	0,03	0,08	0,05
14	Camphre	83,87	0,47	0,25	2,95	0,31
15	Linalol	0,53	90,57	2,02	0,92	2,31
16	Alpha-Copaene	0,45	0,11	0,23	0,72	0,14
17	Borneyl acetate	0,60	0,18	3,14	0,51	0,03
18	carryophyllene	0,75	1,99	0,20	0,93	1,42
19	Terpen-4-ol	0,02	0,04	0,11	0,03	1,27
20	Citronellyl acetate	0,50		0,15	0,03	0,09
21	béta-Bisabolene	0,13		1,73	0,63	
22	Borneol	1,10	0,16	0,31	81,78	1,14
23	Alpha-Terpineol	1,29	0,53	14,35	0,27	3,58
24	Humulene	0,16	0,17	0,13	0,12	0,39
25	Terpinyl acétate	0,11	0,18	0,22	0,06	0,12
26	Béta-citronellol	0,11	0,25	0,12		
27	Géranyl acétate	0,04	0,03	0,08		0,47
28	Iso-géranol	0,05	0,19	0,17		0,04
29	Safrole	0,16	0,88	0,20	0,20	0,48
30	Methyl-eugenol	0,50	0,11	0,12	0,03	0,29
31	Iso-nérolidol	0,51	0,46	0,65	0,11	57,67
32	Méthyl iso-eugénol	0,03	0,05	0,33	0,38	0,98
33	béta-Eudesmol	0,14	0,11	0,31	0,14	0,23
34	Guaiol	0,03	0,02	1,46	0,17	0,15

I : Type camphre, II : type linalole, III : type cinéole, IV : type bornéole, V : type isonérodilole

de 2,3% sur des feuilles cultivées dans la province de Ha Tay (Vietnam). Ils ont identifié 17 composants dont le linalol comme composé majeur (91,1%) (tableau 2.7). Les autres composés retrouvés sont le camphre (2,3%), et l' $\alpha$ -terpinéol (1,8%).

TABLE 2.7 – Composants identifiés par ordre d'élution issus de l'HE de *Cinnamomum camphora* (L) Sieb var *linaloolifera*. (Dung *et al.*, 1993)

Composant	Poucentage (%)
4-methyl-2-pentanol	traces
$\beta$ -pinène	traces
myrcène	traces
1,8-cinéole	0,3%
limonène	traces
ocimène	traces
cis-linalol oxyde	0,2%
trans-linalol oxyde	0,5%
linalol	91,1%
camphre	2,3%
$\alpha$ -terpinéol	1,8%
safrole	traces
cis-thujénol	0,1%
$\alpha$ -copaène	traces
$\beta$ -caryophyllène	0,2%
$\alpha$ -humulène	0,1%
(Z)-nérolidol	0,6%
non identifiés	2,5%

(trace = < 0,1%)

Pino et Fuentes (1998) ont analysé la composition de l'HE de feuille de camphrier poussant à Cuba par CPG-SM. Ils ont identifié 39 composants, dont majoritairement le camphre (71.2%) (Pino et Fuentes, 1998).

## Madagascar

Mollenbeck *et al.* (1997) ont mené une étude sur des échantillons de feuilles de *C. camphora* provenant de Madagascar fournies par le Centre National d'Application des Recherches Pharmaceutiques (CNARP). L'identification et la quantification des huiles essentielles ont été réalisées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) à haute résolution couplée à un spectromètre de masse (SM). Au niveau de la composition chimique, les composants majoritaires sont le 1,8 cinéole (62.5%), le sabinène (11.9%) et l' $\alpha$ -terpinéole (9.2%) (tableau 2.8). On notera l'absence de camphre.

TABLE 2.8 – Composition chimique de feuilles de *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl en provenance de Madagascar (Mollenbeck *et al.*, 1997).

Composant	%
$\alpha$ -Pinène	2.8
Camphène	< 0.1
$\beta$ -Pinène	2.8
Sabinène	11.9
$\beta$ -Myrcène	1.2
$\alpha$ -Phellandrène	< 0.1
1,8-Cinéole	62.4
$\gamma$ -Terpinène	0.7
<i>p</i> -Cymène	< 0.1
$\beta$ -Caryophyllène	< 0.1
Terpinène-4-ol	2.7
( <i>Z</i> )-Ociménol	< 0.1
$\alpha$ -Terpinéol	9.2
Néral	< 0.1
Inconnu (> 1%)	1.7
Total	96

D'autres études ont été menées sur des arbres acclimatés à l'île de Madagascar. Par exemple, Chalchat et Valade (2000) ont identifié une vingtaine de composants sur cinq échantillons de feuilles de *Cinnamomum camphora* (L.) J. Presl., identifiés et quantifiés par CPG-SM, avec une formule similaire à celle de Mollenbeck *et al.* (1997) : 56.7 à 63.7% de 1,8-cinéole, 11.4 à 14.0% de sabinène et 6.9 à 8.3% de  $\alpha$ -terpinéol (tableau 2.9). Il convient de noter que le type cinéole décrit par Wan-Yang *et al.* (1989) est différent de ceux décrits par Chalchat et Valade (2000) et Mollenbeck *et al.* (1997). Par exemple, le sabinène est plus présent dans ces derniers (environ 12%) que dans les échantillons des arbres originaires d'Asie (0.25%).

Ainsi on peut représenter les différents chémotypes de *Cinnamomum camphora* selon le modèle suivant :

- Cinéole : *Cinnamomum camphora* CT cinéole issu de la distillation des feuilles de *Cinnamomum camphora* en provenance de Madagascar. Son huile essentielle est dénommée HE ravintsara
- Linalol : *Cinnamomum camphora* CT linalol issu de la distillation des feuilles et du bois de *Cinnamomum camphora* en provenance de Chine. Son huile essentielle est dénommée HE bois de Hô ou encore HE bois de rose d'Asie
- Camphre : *Cinnamomum camphora* CT camphre issu de la distillation des feuilles et du bois de *Cinnamomum camphora* en provenance du Vietnam et du Japon. Son

TABLE 2.9 – Composition chimique moyenne de cinq échantillons de feuilles de *Cinnamomum camphora* L. (Chalchat et Valade, 2000)

Composé	Poucentage
$\alpha$ -Pinène	3,7-4,6
$\alpha$ -Thuyène	0,6-0,9
Camphène	0,1-0,3
$\beta$ -Pinène	2,7-3,3
Sabinène	11,4-14,0
$\alpha$ -Phellandrène	t
$\beta$ -Myrcène	0,6-1,2
$\alpha$ -Terpinène	t-0,5
Limonène	0,6-,09
1,8-Cinéole	56,7-63,7
$\gamma$ -Terpinène	t-0,8
(E)- $\beta$ -ocimène	t-0,4
<i>p</i> -Cymène	0,9-,18
Terpinolène	t-0,3
<i>trans</i> - <i>p</i> -Menth-2-ène-1-ol	0,3-0,6
Linalol	t
<i>cis</i> - <i>p</i> -Menth-2-ène-1-ol	0,1-0,3
$\beta$ -Caryophyllène	0,1-1,3
Terpinène-4-ol	1,6-2,4
$\alpha$ -Humulène	0,4-1,7
$\delta$ -Terpinéol	t-0,7
$\alpha$ -Terpinéol	6,9-8,3
Bicyclogermacrène	t

t = trace ( $\leq 0,05\%$ )

huile essentielle est dénommée HE camphrier.

### 2.8.1.2 Saisons

Le type de sol influe sur la teneur en huile essentielle et sur sa composition. Les camphriers cultivés sur des sols plus légers ont des teneurs en huiles essentielles plus élevées. Les sols neutres ou légèrement alcalins, de pH 6,5 à 8, sont préférés pour l'ornementation (Windadri et Rahayu, 1999).

Il a été montré que les arbres poussant au soleil ont une teneur en huile essentielle plus élevée. Les arbres qui poussent à l'ombre ou mi-ombragé ont généralement une quantité de camphre et une teneur en huile essentielle inférieure (Ravindran *et al.*, 2003). Dans les zones à très fortes précipitations, ou après de longues périodes de fortes pluies, la teneur en camphre de l'huile essentielle est plus faible (Windadri et Rahayu, 1999). Cette teneur en 1-8 cinéole varie de 65 % pour l'huile essentielle provenant des arbres des hauts plateaux à 55 % pour la côte Est de Madagascar (Michat, 2012).

Une étude sur la composition des feuilles de *Cinnamomum camphora*, cultivées dans les serres du jardin botanique de l'Académie nationale des sciences de Biélorussie, a été réalisée en été (juin) et en hiver (décembre). Les températures de culture sont de l'ordre de 15 à 20°C au mois de décembre et de 20 à 30 °C au mois de juin. La proportion de camphre en tant que composant de base reste fixe, de l'ordre de 93-94% en été comme en hiver. Dans le même temps, il a été montré que les compositions qualitatives des composés mineurs des feuilles aromatiques représentées par le 3-cyclohexen-1-ol,  $\beta$ -caryophyllène,  $\beta$ -pinène, 2-carène dépendent de la période de l'année. En été, les feuilles de camphrier renferment plutôt du 3-cyclohexen-1-ol (2,7 %),  $\beta$ -caryophyllène (1,6 %). En hiver, le  $\beta$ -pinène (1,8 %) ainsi que le 2-carène (4,9 %) sont les composants mineurs les plus importants (Hetka et Rogovoy, 2010).

## 2.8.2 Molécules remarquables

### 2.8.2.1 1,8-Cinéole

Le 1,8 cinéole est un éther monoterpénique bicyclique. Il est également connu sous les noms d'eucalyptol, de cajeputol de 1,8-Epoxy-*p*-menthane, ou encore de 1,3,3-triméthyl-2-oxabicyclo[2,2,2]octane dans la nomenclature IUPAC (Tisserand et Young,

1995). Sa formule chimique est la suivante :  $C_{10}H_{18}O$  (figure 2.8.1). Le 1,8-cinéole a une masse moléculaire de 154,25 g/mol et un point d'ébullition de 176,4°C (Bicchi *et al.*, 2005; Malecky *et al.*, 2009). Il est pratiquement insoluble dans l'eau, est miscible dans l'alcool, dans l'éther et dans la plupart des solvants organiques. C'est un liquide transparent incolore ou jaunâtre ayant une odeur camphrée (Burdock, 1997).

L'eucalyptol est le constituant majeur des HE d'eucalyptus globuleux (*Eucalyptus globulus*) et d'eucalyptus radié (*Eucalyptus radiata*). Il est présent dans certaines huiles essentielles de la famille des Lamiacées comme le romarin à cinéole, le lavandin et la lavande aspic, mais aussi dans les HE de niaouli ou de Ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole)(Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

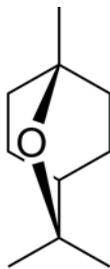


FIGURE 2.8.1 – Structure du 1,8-cinéole

### 2.8.2.2 Linalol

Le linalol est un alcool monoterpénique acyclique chimiquement connu sous le nom de 7-diméthyl-1,6-octadiène-3-ol. Sa formule chimique est la suivante :  $C_{10}H_{18}O$  (figure 2.8.2). C'est un liquide transparent de couleur jaune clair, présentant une masse moléculaire de 154,25 g/mol et un point d'ébullition de 198°C (Bicchi *et al.*, 2005; Letizia *et al.*, 2003).

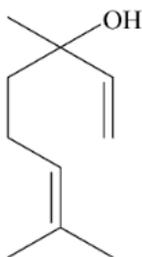


FIGURE 2.8.2 – Structure du linalol.

Le linalol possède un centre chiral en C3 et il existe, par conséquent, deux stéréoisomères : le (R)-(-)-linalol et le (S)-(+)-linalol. Ces deux formes sont retrouvées dans

plus de 200 huiles essentielles issues de feuilles, de fleurs ou encore d'écorces de plantes. Par exemple, le stéréoisomère (S)-linalol est présent dans l'huile essentielle de coriandre (*Coriandrum sativum* L.) tandis que la forme R-linalol est notamment retrouvé dans l'huile essentielle de bois de Hô (*Cinnamomum camphora* CT linalol) ou dans celle du bois de rose (*Aniba rosaedora*) (Caputi et Aprea, 2011).

Le linalol possède une odeur agréable et chaque isomère présente un parfum distinct : la forme S a une odeur douce et florale tandis que la forme R a une odeur plus boisée. C'est pourquoi il est utilisé dans le domaine de la parfumerie comme fragrance dans les produits cosmétiques comme les shampoings, les crèmes, les lotions, les savons mais aussi dans les produits non cosmétiques comme les détergents ou les produits ménagers (Caputi et Aprea, 2011; Letizia *et al.*, 2003).

### 2.8.2.3 Camphre

Le camphre est une cétone terpénique bicyclique. Sa dénomination selon la norme IUPAC est 1,7,7-triméthylbicyclo[2,2,1]heptan-2-one et sa formule chimique est la suivante :  $C_{10}H_{16}O$  (figure 2.8.3). Cette cétone a une masse moléculaire de 152,23 g/mol, une température de fusion de 178,8°C et se sublime à 204°C. Sa densité varie de 0,986 à 0,996. Le camphre est insoluble dans l'eau et est soluble dans l'éthanol à 95°, dans l'acétone, dans l'éther, dans le benzène et dans une majeure partie des solvants organiques (Patri *et al.*, 2006; Patnaik, 2007). Il se présente comme un solide blanc cristallin, semi transparent, onctueux au toucher, cassant, avec une saveur amère et âcre, et possède une forte odeur aromatique caractéristique (Patnaik, 2007; Herpin, 1824).

Le camphre présente deux isomères optiques : le (+)-camphre, dextrogyre et le (-)-camphre, lévogyre. Ces deux formes sont retrouvées dans les plantes avec une prédominance de la forme dextrogyre. Le (+)-camphre est notamment retrouvé dans le camphrier (*Cinnamomum camphora*), les HE de lavande aspic (*Lavandula latifolia*) et de romarin à camphre (*Rosmarinus officinalis* CT camphre). La forme (-)-camphre est quant à elle présente dans l'HE de grande camomille (*Tanacetum parthenium*) (Burdock, 2004; Patri *et al.*, 2006).

Le camphre est utilisé dans la production de celluloides et d'explosif, et comme insecticide contre les mites par exemple. En France et en Suisse, le camphre est ajouté à l'alcool à 70° (appelé alcool modifié) afin d'éviter une utilisation détournée dans la préparation de spiritueux.

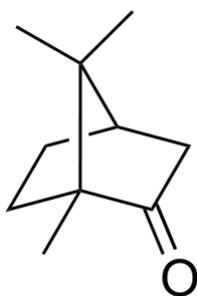


FIGURE 2.8.3 – Structure du camphre.

# Chapitre 3

## Étude biologique

### 3.1 Composés remarquables

#### 3.1.1 1,8-cinéole

##### 3.1.1.1 Action anti-inflammatoire

Ces dernières années, un intérêt croissant s'est développé envers les effets bénéfiques du 1,8-cinéole, en particulier dans le traitement de l'asthme, maladie bronchoconstrictive inflammatoire caractérisée par une infiltration d'éosinophile, lymphocytes et des mastocytes dans les voies respiratoires (Bastos *et al.*, 2011).

Santos et Rao (2000) ont mené une étude sur les effets anti-inflammatoire du 1,8-cinéole en effectuant plusieurs tests sur des rats : le test de l'œdème, induit par la carraghénine et le test du granulome, provoqué par une boule de coton.

Le test de l'œdème est réalisé selon la méthode décrite par Winter selon laquelle l'inflammation est induite par l'injection de la carraghénine au niveau l'aponévrose plantaire de la patte postérieure du rat. Certaines souris ont reçu par voie orale une dose de 1,8-cinéole (100, 200 ou 400 mg/kg), d'autres une dose d'indométacine (5 mg/kg), et les dernières un véhicule, avant l'injection de carraghénine.

L'œdème causé par cet agent phlogogène est mesuré juste avant l'injection puis après 3 h. L'activité anti-inflammatoire est évaluée selon le pourcentage de réduction

de l'œdème chez des rats traités par rapport aux témoins (tableau 3.1). Des doses de 100, 200 et 400 mg/kg de cinéole causent une diminution significative de l'œdème dû à l'injection de carraghénine . Cette réduction de l'œdème est de 26% pour des doses de 100 et 200mg/kg, et de 46% pour une dose de 400mg/kg. Cependant, l'indométacine par voie orale à 5 mg/kg présente une meilleure inhibition que le cinéole à 62%.

TABLE 3.1 – Effet d'un traitement oral par 1,8-cinéole et indométacine sur un œdème induit par la carraghénine , localisé sur la patte postérieure des rats (mL ± SEM) .

Experimental group	Dose (mg/kg)	<i>n</i>	Paw oedema at 3 h	Percentage inhibition (%)
Control (vehicle)	–	12	0.73 ± 0.02	–
1,8-Cineole	100	8	0.55 ± 0.08 <sup>a</sup>	26
	200	8	0.55 ± 0.04 <sup>a</sup>	26
	400	8	0.39 ± 0.07 <sup>b</sup>	46
Indomethacin	5	8	0.27 ± 0.04 <sup>b</sup>	62

<sup>a</sup>  $p < 0.01$ .

<sup>b</sup>  $p < 0.001$  with respect to control group.

L'autre test présenté par l'étude est celui du granulome provoqué par une boule de coton. Une petite boule de coton est insérée dans le tissu cellulaire sous-cutané, contre la cage thoracique. Le 1,8-cinéole (400mg/kg) ou l'indométacine (5mg/kg) sont administrés par voie orale pendant la durée de l'essai. Au bout de 7 jours, le tissu de prolifération granulomateux qui englobe le coton est prélevé et pesé (tableau 3.2).

Au terme de l'essai, la formation du granulome est significativement réduite chez les rats traités au 1,8-cinéole que chez les rats témoins, comme le montre la baisse de poids sec et humide des boulettes de coton. La mesure de l'inhibition induite par le 1,8-cinéole est de l'ordre de 37 à 40% et est comparable avec le groupe traité à l'indométacine, de l'ordre de 25 à 55%.

Ainsi, l'administration de 1,8-cinéole ou d'indométacine pendant 7 jours, chez le rat, a démontré une activité anti-inflammatoire significative des deux molécules.

TABLE 3.2 – Effet d'un traitement oral par 1,8-cinéole et indométacine sur la formation d'un granulome induit par une boule de coton chez le rat (mg ± SEM).

Experimental group	Dose (mg/kg)	<i>n</i>	Granuloma weight	
			Wet	Dry
Control (vehicle)	–	8	1228 ± 46	711 ± 39
1,8-Cineole	400	8	772 ± 72 <sup>a</sup> (37)	394 ± 43 <sup>a</sup> (40)
Indomethacin	5	6	919 ± 63 <sup>a</sup> (25)	322 ± 30 <sup>a</sup> (55)

<sup>a</sup>  $p < 0.001$  with respect to control group.

Figures in parenthesis indicate percentage inhibition.

D'après les auteurs, les résultats de l'étude démontrent que le cinéole produit des

effets anti-inflammatoire en inhibant non seulement l'œdème provoqué par la carraghénine mais aussi en inhibant la formation du granulome chez le rat. Le mécanisme d'action du 1,8-cinéole n'est cependant pas expliqué.

Bastos *et al.* (2011) se sont intéressés à l'évolution de l'activité des marqueurs inflammatoires des voies respiratoires lors d'une provocation à l'ovalbumine, avec ou sans pré-traitement par inhalation de 1,8-cinéole. Pendant une durée minimale de 21 jours, les cobayes ont été activement sensibilisés à l'ovalbumine (OVA) par des injections intrapéritonéales. Par la suite, une partie des cobayes a reçu une dose unique de 1,8-cinéole par inhalation ; les autres ont reçu une solution saline (sans pré-traitement).

Enfin, les cobayes sensibilisés sont stimulés avec des aérosols d'OVA pendant 30 minutes, afin d'induire une inflammation allergique des voies respiratoires. Les marqueurs mesurés sont l'activité de la myéloperoxydase (MPO), les leucocytes, ainsi que les cytokines  $TNF\alpha$ , interleukine- $1\beta$  (IL- $1\beta$ ) et l'interleukine-10 (IL-10). Les mesures sont effectuées 24h après inhalation d'OVA, sur le liquide de lavage broncho-alvéolaire des cobayes (tableau 3.3).

Ainsi, le pré-traitement au 1,8-cinéole a réduit les niveaux de cytokines inflammatoires telles que  $TNF\alpha$  et IL- $1\beta$  dans les échantillons recueillis 24 heures après la présentation de l'antigène chez les cobayes sensibilisés (groupe IV). La production d'immunomodulateur IL-10, un marqueur anti-inflammatoire, a été partiellement récupérée avec le pré-traitement au 1,8-cinéole.

Cette production avait été réduite chez les animaux stimulés par l'OVA (groupe II). Les cobayes pré-traités avec le 1,8-cinéole (groupe IV) montrent une augmentation moindre des cellules inflammatoires dans leurs échantillons de liquide de lavage broncho-alvéolaire par rapport aux animaux non pré-traités (groupe II). Enfin, le pré-traitement avec le 1,8-cinéole a également réduit l'augmentation de l'activité de la MPO, une enzyme considérée comme un indice de l'infiltration des neutrophiles.

Pour les auteurs, la réponse inflammatoire des voies respiratoires induite par un antigène sensibilisant peut être inhibée par une dose unique de 1,8-cinéole administrée par inhalation à des cobayes sensibilisés à l'antigène. De plus, les effets anti-inflammatoires du 1,8-cinéole seraient dus à un équilibre entre la réduction de la libération de cytokines pro-inflammatoires et le maintien de la production physiologique d'immunomodulateurs (Bastos *et al.*, 2011). Lima *et al.* (2013) ont montré le rôle anti-inflammatoire du cinéole par diminution des cytokines pro-inflammatoires.

TABLE 3.3 – Effet du 1,8-cinéole sur les paramètres inflammatoires mesurés dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire obtenu par provocation à l'OVA chez les cobayes.

	Group			
	I	II	III	IV
<b>Cell counts (<math>\times 10^3/\text{mm}^3</math>)</b>				
Leukocytes	3.23 $\pm$ 0.34 (12)	10.94 $\pm$ 1.45 <sup>a</sup> (8)	4.11 $\pm$ 0.29 (6)	6.82 $\pm$ 0.65 <sup>b,c</sup> (8)
Eosinophils	0.70 $\pm$ 0.18 (12)	4.35 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup> (8)	1.00 $\pm$ 0.29 (6)	2.30 $\pm$ 0.31 <sup>b,c</sup> (8)
Neutrophils	0.20 $\pm$ 0.05 (12)	1.85 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup> (8)	0.58 $\pm$ 0.11 (6)	0.91 $\pm$ 0.14 <sup>b,c</sup> (8)
Lymphocytes	0.82 $\pm$ 0.12 (12)	1.37 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup> (8)	0.91 $\pm$ 0.09 (6)	1.18 $\pm$ 0.15 (8)
Macrophages	1.53 $\pm$ 0.17 (12)	3.38 $\pm$ 0.69 <sup>a</sup> (8)	1.63 $\pm$ 0.08 (6)	2.42 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup> (8)
<b>Cytokine levels (pg/mL)</b>				
IL-1	280.30 $\pm$ 50.31 (6)	540.73 $\pm$ 55.07 <sup>a</sup> (6)	322.70 $\pm$ 60.20 (8)	338.64 $\pm$ 46.69 (10)
TNF $\alpha$	188.06 $\pm$ 19.69 (6)	324.13 $\pm$ 11.75 <sup>a</sup> (6)	206.05 $\pm$ 35.12 (8)	223.27 $\pm$ 17.61 (10)
IL-10	1976.87 $\pm$ 20.91 (4)	665.07 $\pm$ 189.51 <sup>a</sup> (7)	1507.66 $\pm$ 70.45 (5)	1314.04 $\pm$ 59.54 (11)
<b>Enzyme activity (U/mL)</b>				
MPO	0.55 $\pm$ 0.22 (4)	6.27 $\pm$ 0.97 <sup>a</sup> (3)	1.38 $\pm$ 0.51 (5)	3.38 $\pm$ 0.55 <sup>c</sup> (8)

Values are mean  $\pm$  S.E.M. with the number of experiments in parenthesis;

<sup>a</sup> $p < 0.05$  compared with group I, Holm-Sidak test;

<sup>b</sup> $p < 0.05$  compared with group III, Holm-Sidak test;

<sup>c</sup> $p < 0.05$  compared with group II, Holm-Sidak test.

Groupe I : cobayes non pré-traités au 1,8-cinéole, non stimulés à l'OVA (solution saline) ;  
 Groupe II : cobayes non pré-traités au 1,8-cinéole, stimulés à l'OVA ;  
 Groupe III : cobayes pré-traités au 1,8-cinéole, non stimulés à l'OVA (solution saline) ;  
 Groupe IV : cobayes pré-traités au 1,8-cinéole, stimulés à l'OVA.

Le 1,8-cinéole aurait donc une activité anti-inflammatoire par une inhibition des cytokines impliquées dans l'inflammation des voies respiratoires. Ces cytokines sont issues de la voie métabolique de l'acide arachidonique et des TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , LTB4 et TXB2 .

### 3.1.1.2 Action analgésique

Le test à la formaline chez la souris est un modèle valide et fiable de la nociception. Une injection de formaline diluée (1% dans une solution saline) sous la peau de la patte arrière droite de la souris joue le rôle de stimulus nocif. La réponse à ce test est mesurée par la durée passée l'animal à se lécher la patte.

Il y a deux périodes distinctes de forte activité de léchage qui peuvent être identifiées : une première phase d'une durée de 5 minutes, décrivant une réponse périphérique, et

une deuxième phase tardive d'une durée de 20 à 30 minutes après l'injection de formaline, qui représente la réponse centrale (Hunskaar et Hole, 1987).

Santos et Rao (2000) ont montré, à travers ce test, que le 1,8-cinéole (400 mg/kg) présente un effet analgésique sur les souris par une inhibition de la réponse à la douleur dans les deux phases du test, de façon similaire à la morphine. Cependant, contrairement à cette dernière molécule, la naloxone ne présente aucun effet sur le cinéole, indiquant l'existence d'un mécanisme de type non opioïdes pour l'activité analgésique du 1,8-cinéole (Santos et Rao, 2000).

Takaishi *et al.* ont apporté une explication à ce mécanisme : ils ont montré que le 1,8-cinéole inhibe les canaux TRPA1 humains (*ankyrine-repeat TRP*), exerçant ainsi un effet analgésique sur la douleur provoquée par les agonistes de TRPA1 chez les sujets humains. Le cinéole active aussi les canaux TRPM8 (*Transient Receptor Potential Melastatin* sous-type 8) (Takaishi *et al.*, 2012, 2011).

Les TRP (*Transient Receptor Potential*) sont des canaux ioniques impliqués dans la transmission d'informations provenant de l'extérieur du corps (figure 3.1.1)...

Parmi ces TRP, la sous-famille des thermo-TRP est représentée par les six canaux suivants : TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM8 et TRPA1. Ils sont activés ou sensibilisés par des médiateurs chimiques ou physiques et participent ainsi à la thermosensation et à la thermorégulation. Mais ils jouent aussi un rôle dans le phénomène de la douleur et du prurit. Les récepteurs TRPA1 et TRPM8 sont localisés au niveau du système nerveux périphérique et respectivement au niveau des poils et de la prostate (Dhaka *et al.*, 2006; Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2013).

TRPA1 est un canal ciblé par des irritants piquants tels que l'allicine de l'ail et les isothiocyanates du wasabi, et joue un rôle dans les processus sensoriels tels que la nociception par le froid ( $\leq 17^{\circ}\text{C}$ ) et la douleur inflammatoire (Takaishi *et al.*, 2012; Dhaka *et al.*, 2006). Le récepteur TRPM8 est activé pour des températures inférieures à  $25^{\circ}\text{C}$ , mais aussi par des composés tels que le menthol et le 1,8-cinéole, à un degré moindre (figure 3.1.1) (Dhaka *et al.*, 2006; Takaishi *et al.*, 2012). Il a été démontré que l'activation périphérique et centrale de TRPM8 pourrait produire un effet analgésique dans les états de douleurs chroniques (Proudfoot *et al.*, 2006).

Ainsi pour Takaishi *et al.*, le 1,8-cinéole semble être un analgésique naturel idéal qui active TRPM8 et inhibe TRPA1 (Takaishi *et al.*, 2012).

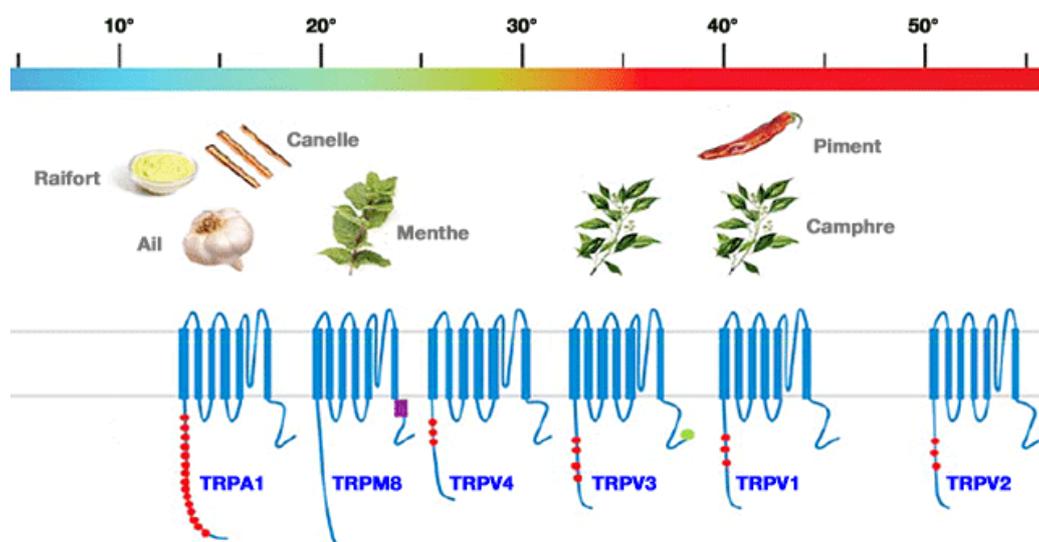


FIGURE 3.1.1 – Représentation schématique des thermoTRPs ainsi que de leur zone d'activation selon la température et divers composés (Modifié)(Dhaka *et al.*, 2006)

Divers composés botaniques activent les thermoTRPs. TRPV1 est activé par la capsaïcine, l'ingrédient piquant des piments ; TRPM8 est activé par le menthol, un composé de la menthe ; TRPA1 est activé par divers composés comme l'allicine, l'ingrédient actif de l'ail, le cinnamaldéhyde, un composant de la cannelle, et les isothiocyanates, retrouvé dans le wasabi.

### 3.1.1.3 Action bronchodilatatrice

La bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) est une maladie pulmonaire chronique caractérisée par l'obstruction bronchique et par une atteinte pulmonaire lente et irréversible. L'exposition prolongée au tabac (actif ou passif), à des gaz toxiques pour la fonction pulmonaire ou à d'autres particules provenant de la pollution atmosphérique sont à l'origine des lésions de la BPCO. Les lésions retrouvées sont, d'une part, une inflammation qui diminue le diamètre bronchique par obstruction, et, d'autre part, une modification de la composition du mucus ne permettant plus aux cils de l'évacuer correctement (Roudergues *et al.*, 2010).

La BPCO est caractérisée par des symptômes non spécifiques comme une toux chronique, des expectorations et une dyspnée (essoufflement). Ces symptômes apparaissent progressivement et s'aggravent avec le temps, entraînant une augmentation de la dyspnée. Au quotidien, l'activité physique du patient décroît et certaines tâches quotidiennes lui sont de plus en plus difficiles. A côté de cette dégradation progressive, la BCPO est

ponctuée par des exacerbations, c'est à dire par des périodes où la toux, les expectorations et la dyspnée augmentent, nécessitant une consultation prématurée ou bien une hospitalisation (Hayot, 2015).

La prise en charge de la BPCO repose essentiellement sur l'utilisation de bronchodilatateurs par voie inhalée (B2 agoniste et anticholinergique) et de corticostéroïdes.

L'étude (Worth *et al.*, 2009) a été réalisée en double-aveugle sur 242 patients présentant une BPCO stabilisée. Les patients ont reçu pendant 6 mois à raison de 3 fois par jour une dose de placebo ou 200 mg de cinéole. Les paramètres mesurés ont été la fréquence, la durée et la gravité des exacerbations ; les critères secondaires mesurés ont été la qualité de vie et les changements de l'activité pulmonaire.

Avant le début de l'étude, les données démographiques, la fonction pulmonaire et les médicaments pris par les deux groupes étaient comparables. Au cours de la période de 6 mois de traitement les multiples critères étudiés que sont la fréquence, la gravité et la durée des exacerbations étaient significativement inférieurs dans le groupe traité par le cinéole que dans le groupe ayant reçu un placebo. Les critères secondaires confirment ces résultats : l'amélioration de la fonction pulmonaire et la qualité de vie, notamment par une diminution de la dyspnée, étaient statistiquement significatives par rapport au placebo.

Ainsi, selon cette étude, un traitement au cinéole réduit les exacerbations ainsi que la dyspnée et améliore la fonction pulmonaire et l'état de santé général. Cette étude indique en outre que le cinéole possède une action anti-inflammatoire sur les voies respiratoires, bénéfique dans le traitement de la BPCO.

#### 3.1.1.4 Action antibactérienne

Plusieurs études regroupées par Bakkali *et al.* (2008) montrent un effet bactériostatique sur diverses souches bactériennes, notamment sur *Escherichia coli* (CMI 1,8 – 7,2 mg/mL), et sur *Bacillus subtilis* (CMI 0,9 – 7,2 mg/mL) (Bakkali *et al.*, 2008).

Li *et al.* (2014) ont testé l'effet bactéricide et bactériostatique de l'HE issus des feuilles de *Cinnamomum longepaniculatum* ainsi que des cinq constituants les plus importants dans cette HE que sont le 1,8-cinéole, le  $\alpha$ -terpineol, le terpinène-4-ol, le safrole et le

$\gamma$ -terpinene. Les bactéries utilisées sont *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Salmonella enteritidis* CMCC (B) 50041.

Les échantillons d'essai sont dissouts dans 2% de polysorbate 80 pour une concentration finale allant de  $50\mu\text{l}/\text{ml}$  à  $0,195\mu\text{l}/\text{ml}$ . Une solution de 2% de polysorbate 80 est utilisée comme témoin négatif. Les activités antibactériennes sont examinées après 24 heures d'incubation à  $37^{\circ}\text{C}$ . La concentration minimale inhibitrice (CMI ou MIC en anglais) est définie comme étant la concentration minimale d'échantillon qui entraîne une inhibition de la croissance bactérienne. La concentration minimale bactéricide (CMB ou MBC en anglais) est quant à elle définie comme étant la plus faible concentration pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible.

Les résultats présentés dans le tableau 3.4 montrent que l'HE a des propriétés antibactériennes et que les cinq constituants testés, présents dans l'HE, ont également montré des taux variables d'inhibition. Le 1,8-cinéole a une activité comparable à celle de l'HE (CMI et CMB  $3,125\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Cependant, l'effet inhibiteur de l'HE est inférieure à celle de l' $\alpha$ -terpineol, le terpinène-4-ol, contre *S. aureus*, *E. coli* et *S. enteritidis*. Le  $\gamma$ -terpinène a quant à lui une action bactériostatique et bactéricide spécifique à *S. enteritidis*. Enfin, l'étude montre que le 1,8 cinéole a une activité antibactérienne, mais que cette propriété est plutôt marginale en comparaison avec les autres composés terpéniques testés (Wang *et al.*, 2012; Kotan *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2014).

TABLE 3.4 – CMI et CMB de l'HE de *Cinnamomum longepaniculatum* et de ses cinq composants les plus importants contre trois espèces bactériennes.

Constituents	<i>E. coli</i> ATCC 25922		<i>S. enteritidis</i> CMCC (B) 50041		<i>S. aureus</i> ATCC 25923	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
essential oil	3.125	3.125	6.25	6.25	6.25	6.25
1, 8-cineole	3.125	3.125	6.25	6.25	6.25	6.25
$\alpha$ -terpineol	0.781	0.781	3.125	3.125	1.562	3.125
terpinene-4-alcohol	1.562	1.562	3.125	3.125	1.562	1.562
Safrole	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5	12.5
$\gamma$ -terpinene	>50	>50	3.125	3.125	>50	>50

MIC and MBC,  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

Kotan *et al.* (2007) ont testé l'action de vingt-deux monoterpènes oxygénés, par la méthode de la diffusion en disque, sur 63 souches bactériennes d'origine alimentaire, végétale et clinique. La mesure des disques d'inhibition a montré que le 1,8-cinéole ne présentait aucun effet sur les souches bactériennes tandis que d'autres composés terpéniques comme le terpinène-4-ol, l' $\alpha$ -terpinéol ou encore le linalol étaient plus efficaces .

La différence de résultat entre les études décrites ci-dessus peut s'expliquer par l'utilisation de bactéries issues de souches différentes.

Ainsi, malgré la faible activité antibactérienne intrinsèque du 1,8-cinéole, ce dernier est efficace dans la destruction des membranes cellulaires bactériennes. Il peut en effet permettre l'entrée de composants plus actifs, par perméabilisation membranaire (Baser et Buchbauer, 2009). Li *et al.* ont montré, par observation sous microscope électronique à transmission, l'effet du 1,8 cinéole sur les souches de *S. aureus* et *E. coli*. La taille des cellules de *E. coli* traitées a diminué, la paroi et la membrane cellulaire ont été rompues et le nucléoplasme réduit (figure 3.1.2). De même, sur les souches de *S. aureus* (figure 3.1.3), les cellules ont été endommagées et le cytoplasme réduit de taille après traitement (Li *et al.*, 2014).

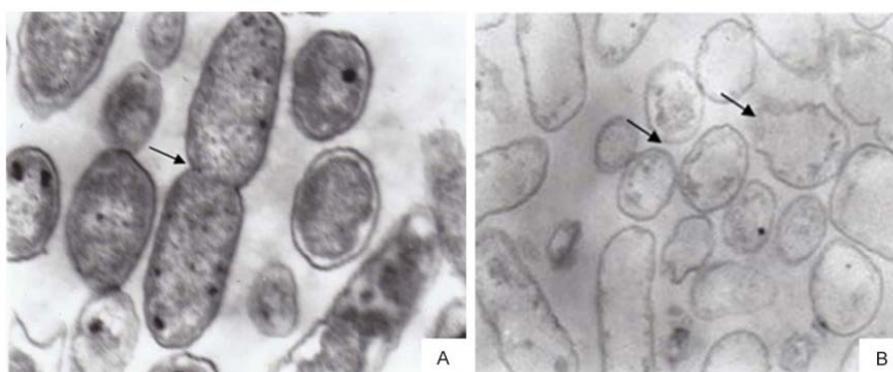


FIGURE 3.1.2 – Observation au microscope électronique de l'effet du 1,8 cinéole sur *E. coli*.

(A) : Bactéries non traitées présentant des bacilles sains en croissance avec une division cellulaire (flèches) ( $\times 25000$ ).

(B) : Bactéries exposées au 1,8-cinéole. Ici, une déformation de la cellule avec rupture de la paroi cellulaire (flèches) ( $\times 20000$ ).

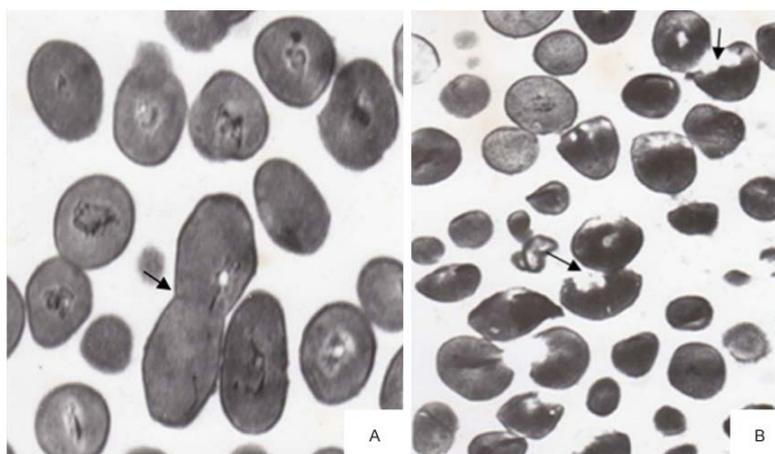


FIGURE 3.1.3 – Observation au microscope électronique de l'effet du 1,8 cinéole sur *S. aureus*.

(A) : Bactéries non traitées présentant une membrane cellulaire mince, lisse et continue. Une division cellulaire est présente au niveau de la flèche ( $\times 30000$ ).

(B) : Bactéries exposées au 1,8-cinéole. Les bactéries sont devenues irrégulières, petites avec déchirures de la membrane laissant fuir le contenu cellulaire. ( $\times 20000$ ).

### 3.1.1.5 Action antivirale

Yang *et al.* (2010) ont étudié l'activité du 1,8-cinéole vis-à-vis du virus de la bronchite infectieuse (IBV) à l'aide d'un test au MTT. Le test au MTT est un test colorimétrique permettant d'évaluer l'activité métabolique cellulaire et ainsi de refléter le nombre de cellules viables dans un milieu.

L'étude montre une faible toxicité du 1,8-cinéole envers les cellules hôtes (cellules Vero-E6). En effet, la concentration cytotoxique à 50 % (CC50) est supérieure à 10 mM et la concentration maximale non cytotoxique est de  $3,90 \pm 0,22$  mM. Cette concentration est beaucoup plus élevée que celle de la ribavirine ( $0,78 \pm 0,15$  mM) qui est la molécule antivirale de référence de cette étude.

Le 1,8-cinéole pourrait inhiber le virus de la bronchite infectieuse avec une CI 50 de 0,61 mM.

Pour étudier l'effet antiviral du 1,8-cinéole (3,9 mM) et de la ribavirine (0,78 mM) contre IBV, les cellules et le virus ont été mis en incubation avec ces deux molécules à différents stades au cours du cycle de l'infection virale (figure 3.1.4) :

- les cellules ont été prétraitées avec le 1,8 cinéole (ou la ribavirine) avant l'infection virale,

- les virus ont incubé avec du 1,8 cinéole (ou la ribavirine) avant l'infection,
- les cellules et les virus ont été incubés ensemble avec le 1,8-cinéole (ou la ribavirine), pendant l'adsorption du virus,
- les cellules et les virus ont été incubés ensemble avec le 1,8-cinéole (ou la ribavirine), après pénétration du virus *i.e.* pendant la réplication.

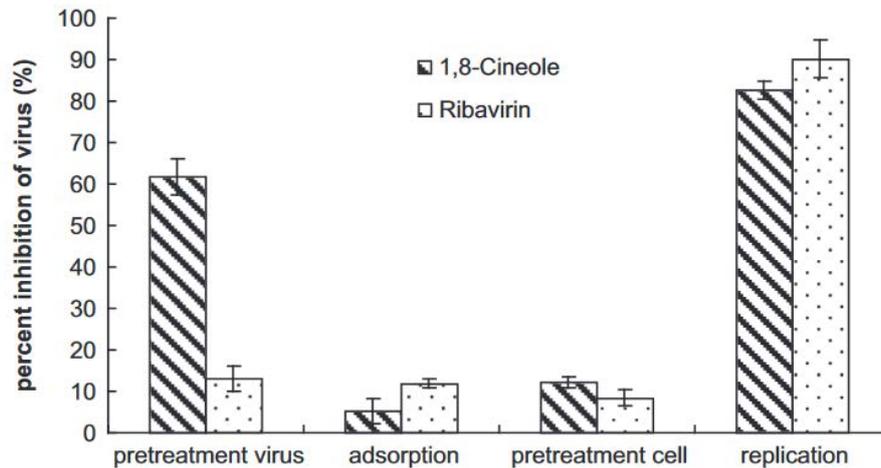


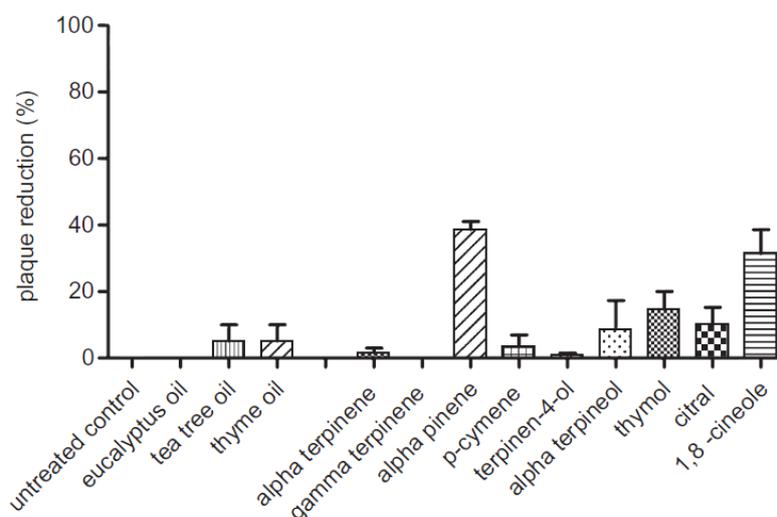
FIGURE 3.1.4 – Activité du 1,8-cinéole et de la ribavirine sur l'inhibition de l'IBV à différents stades de l'infection.

Le 1,8-cinéole a montré un effet antiviral maximal non cytotoxique pendant la période de réplication du virus avec une inhibition du virus est de  $82,63 \pm 2,11\%$ . L'inhibition de l'IBV au cours de la phase de prétraitement du virus est de  $61,68 \pm 4,32\%$ . Lors de la phase d'adsorption, la réplication virale est inhibée de seulement  $5,31 \pm 3,14\%$ . Enfin, lors de la phase de pré-traitement des cellules, l'inhibition de  $12,13 \pm 1,40\%$ . La ribavirine a seulement montré une activité antivirale à une concentration de  $0,78\text{mM}$ , pendant la période de réplication avec une inhibition de la réplication virale de  $90,10 \pm 4,39\%$ .

En conclusion, le 1,8- cinéole possède des propriétés anti-IBV ; son mode d'action passant par un mécanisme d'interférence sur la liaison entre l'ARN et le nucléocapside N du virus (Yang *et al.*, 2010).

Une étude, menée par Astani *et al.* (2009), a étudié les huiles essentielles issues de l'eucalyptus, de l'arbre à thé et du thym, ainsi que les principaux monoterpènes composant ces huiles essentielles. Il s'agit du  $\alpha$ -terpinène, g-terpinène,  $\alpha$ -pinène, le p-cymène, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpinéol, le thymol, le citral et le 1,8-cinéole. L'objectif est de déterminer l'activité antivirale *in vitro* de ces substances contre l'HSV de type 1 (HSV-1).

Cette étude met en évidence que tous les composés étudiés présentent une activité antivirale mais ne sont pas tous actifs au même stade du cycle viral. Les huiles essentielles d'eucalyptus et d'arbre à thé ainsi que l' $\alpha$ -pinène sont les plus actifs lorsque les cellules ont été prétraitées avant infection du virus ; ces substances présentent une réduction de la plaque virale de l'ordre de 30 à 40%. Lorsque le virus est incubé avec les substances testées avant infection, seul le 1,8-cinéole présente une faible activité antivirale de l'ordre de 25% de réduction de la plaque virale ; tous les autres composés ont une réduction de l'ordre de 80 à 90%.



Les substances testées ont été administrées aux cellules infectées par le virus HSV-1 lors de la phase de réplication du virus. Le nombre de plaques virales est déterminé trois jours après l'infection, et comparé avec un témoin non traité. Les résultats sont exprimés en pourcentage de réduction de la plaque. Ces expériences ont été répétées indépendamment et les données présentées sont la moyenne de trois expériences. La plaque virale représente une zone de destruction cellulaire dû au développement du virus sur une boîte de Pétri.

FIGURE 3.1.5 – Activité antivirale des huiles essentielles et des monoterpènes contre l'herpès simplex virus de type 1 au cours la réplication virale.

La figure 3.1.5 montre que lorsque les huiles essentielles ou les composés sont ajoutés au milieu après la pénétration des virus dans les cellules hôtes, la formation de la plaque n'est réduite significativement qu'avec l' $\alpha$ -pinène et le 1,8-cinéole (Astani *et al.*, 2009). Le pourcentage de réduction est de 40 % pour l' $\alpha$ -pinène et de 35% pour le 1,8-cinéole.

L'étude conclue donc que le 1,8 cinéole possède une activité antivirale par inhibition de la réplication cellulaire.

### 3.1.1.6 Antitumorale

Asanova *et al.* (2003) ont étudié l'activité antitumorale de l'huile essentielle d'*Artemisia cina* (EOLW) et du 1,8-cinéole *in vitro* par la technique de dosage de la sulforhodamine B à l'aide de cultures cellulaires murines de mélanome de type H157 et de carcinome de type HT144.

Cette étude montre que l'EOLW, à une concentration de  $1 \times 10^{-2} mg/kg$ , inhibe la croissance des cellules du mélanome H157 et du carcinome HT144 à hauteur respective de 81 et 93,5%. La même dose de 1,8-cinéole a inhibé la croissance de H157 et HT144 à 95 et 96% respectivement. Le médicament de référence « arglabine » a également montré un effet antitumoral sur les souches du modèle murin, comparable à l'action de l'EOLW et du 1,8-cinéole (Asanova *et al.*, 2003).

## 3.1.2 Linalol

### 3.1.2.1 Action anti-inflammatoire

Peana *et al.* (2002) ont évalué les propriétés anti-inflammatoires du (-)-linalol, énantiomère d'origine naturelle, retrouvé notamment dans l'HE de Bois de Hô. Cette propriété est comparée avec celle l'aspirine (ASA).

Pour étudier cette activité, le test de l'œdème induit par la carraghénine selon Winter a été utilisé. Une injection à différentes concentrations a été effectuée 30 minutes avant l'innoculation intraplantaire d'une solution à 1% de carraghénine chez le rat. La carraghénine provoque une réaction inflammatoire se traduisant par une augmentation du volume de la patte arrière chez le rat.

La mesure se fait immédiatement (obtention de la valeur basale) puis à 1h, 3h et 5h après l'injection de la carraghénine. Les résultats sont exprimés selon la différence des volumes de pattes entre la valeur basale ( $V_0$ ) et les différentes mesures qui ont suivi ( $V_t$ ). L'activité est donc mesurée en fonction de l'inhibition de l'œdème à la 1ère, 3ème et 5ème heure, en utilisant le rapport suivant :

$$r = \frac{(V_t - V_0)_{\text{contrôle}} - (V_t - V_0)_{\text{traité}}}{(V_t - V_0)_{\text{contrôle}}} \times 100$$

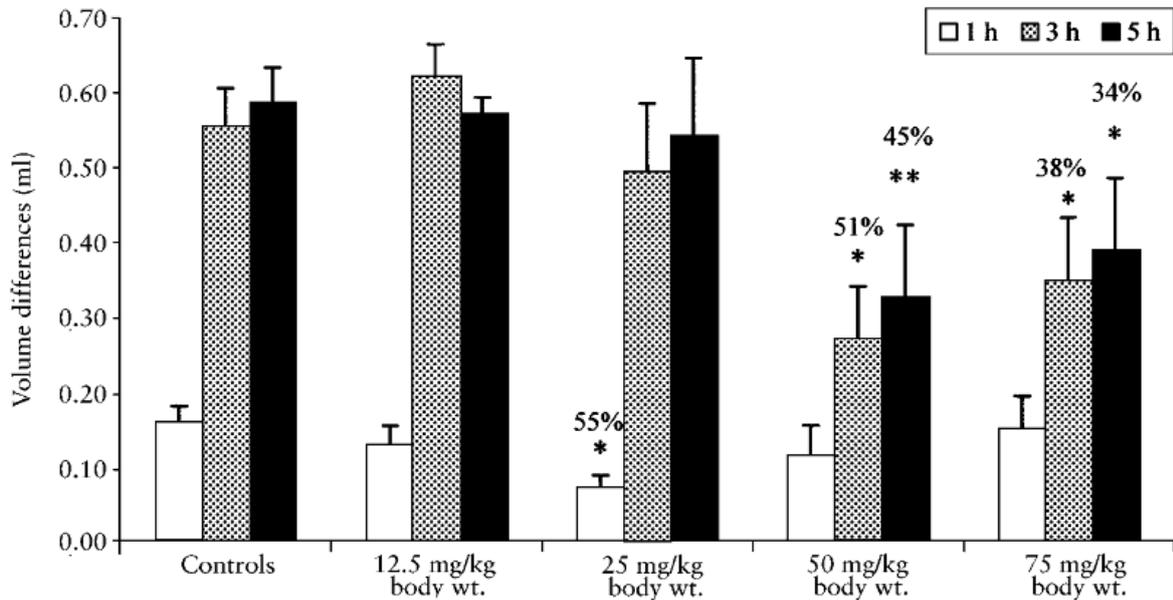


FIGURE 3.1.6 – Activité anti-inflammatoire du (-)-linalol 1h, 3h et 5h après administration de la carraghénine.

Le (-)-linalol (figure 3.1.6), administré à une dose de  $25\text{mg/kg}$  de poids corporel, ne présente aucune activité anti-inflammatoire une heure après l'administration de la carraghénine. Après 3 et 5 heures, une inhibition significative de l'oedème, respectivement de 28% et 25%, est observée. L'administration de doses plus élevées (50 et  $75\text{mg/kg}$  de poids corporel) donne lieu à l'effet maximal d'inhibition contre l'oedème, respectivement de 58% et 60%. Cet optimum est apparu une heure après l'injection de carraghénine.

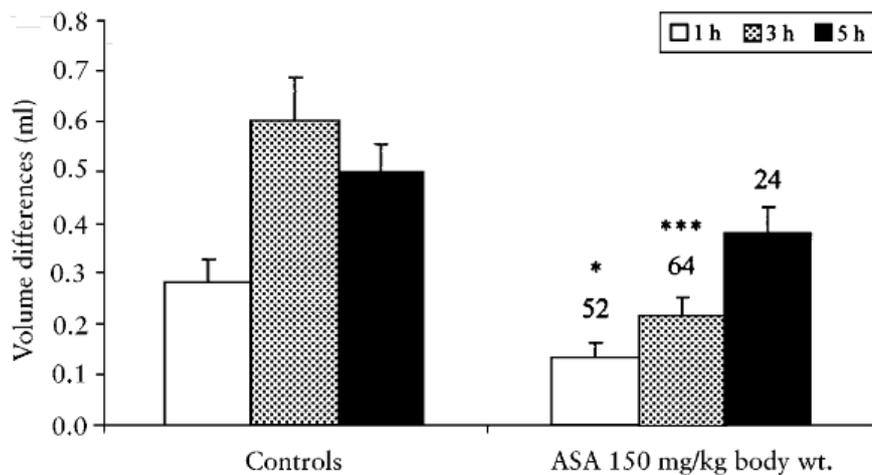


FIGURE 3.1.7 – Activité anti-inflammatoire de l'aspirine 1h, 3h et 5h après administration de la carraghénine.

La figure 3.1.7 montre que l'ASA, à une dose de  $150\text{mg/kg}$  de poids corporel à 1 heure et à 3 heures après l'administration de la carraghénine, produit une inhibition significative de l'oedème (52% à 1h et 64% à 3h). Cependant, 5h après l'injection, l'aspirine ne présente plus aucune activité.

Ainsi, la corrélation entre l'effet anti-inflammatoire et les doses administrées de (-)-linalol peut suggérer un effet non dose-dépendant avec l'apparition possible d'une saturation des récepteurs impliqués dans la réaction inflammatoire. De plus, cette étude montre que le linalol joue un rôle important dans l'activité anti-inflammatoire produite par certaines huiles essentielles, notamment celle du Bois de Hô (Peana *et al.*, 2002).

### 3.1.2.2 Action antalgique

Batista *et al.* (2008) ont étudié la contribution du système glutamatergique dans l'effet d'inhibition de la douleur provoquée par le (-)-linalol chez la souris.

Pour mesurer l'effet antinociceptif du (-)-linalol, un volume de  $20\ \mu\text{L}$  de glutamate ( $20\ \mu\text{mol/patte}$ ) est injecté en intraplantaire (i.pl.) dans la surface ventrale de la patte arrière droite. Les souris sont observées individuellement pendant 15 minutes après l'injection du glutamate. Le temps passé par les animaux à se lécher ou se mordre la patte injectée est mesuré et est considéré comme une indication de la nociception. Les souris ont été pré-traitées avec le (-)-linalol par voie intrapéritonéale (i.p.  $10\text{-}200\ \text{mg/kg}$ , 30 min avant l'injection du glutamate), par voie orale (p.o.,  $5\text{-}100\ \text{mg/kg}$ , 60 min à l'avance), intrathécale (i.t.,  $0,1\text{-}3\ \mu\text{g/site}$ , 15 min au préalable) ou intraplantaire ( $10\text{-}300\ \text{ng/patte}$ , co-administré avec le glutamate). Les animaux témoins ont reçu un volume similaire de solution saline par voie systémique (i.p. ou p.o.,  $10\ \text{ml/kg}$ ), centrale (i.t.,  $5\ \mu\text{L/site}$ ) ou périphérique ( $20\ \mu\text{L/patte}$ , co-administré avec le glutamate), avant l'injection de glutamate.

Les résultats présentés dans la figure 3.1.8 (A, B et D) montrent que le (-)-linalol administré par voie systémique (ip ou po) ou centrale diminue le temps de léchage de la souris c'est à dire une diminution de la nociception. Les valeurs moyennes calculées de l'ID<sub>50</sub> obtenues par voie i.p., p.o. et i.t. sont de  $139,1\ \text{mg/kg}$ ;  $34,6\ \text{mg/kg}$  et  $0,9\ \mu\text{g/site}$ , avec respectivement une inhibition de  $70 \pm 4\%$ ,  $72 \pm 7\%$  et  $74 \pm 8\%$ . Cette inhibition ( $49 \pm 9\%$ ) n'est que partielle par voie intraplantaire (figure 3.1.8 C). Ainsi le (-)-linalol a un effet inhibiteur dose-dépendant sur la nociception induit par le glutamate chez la souris.

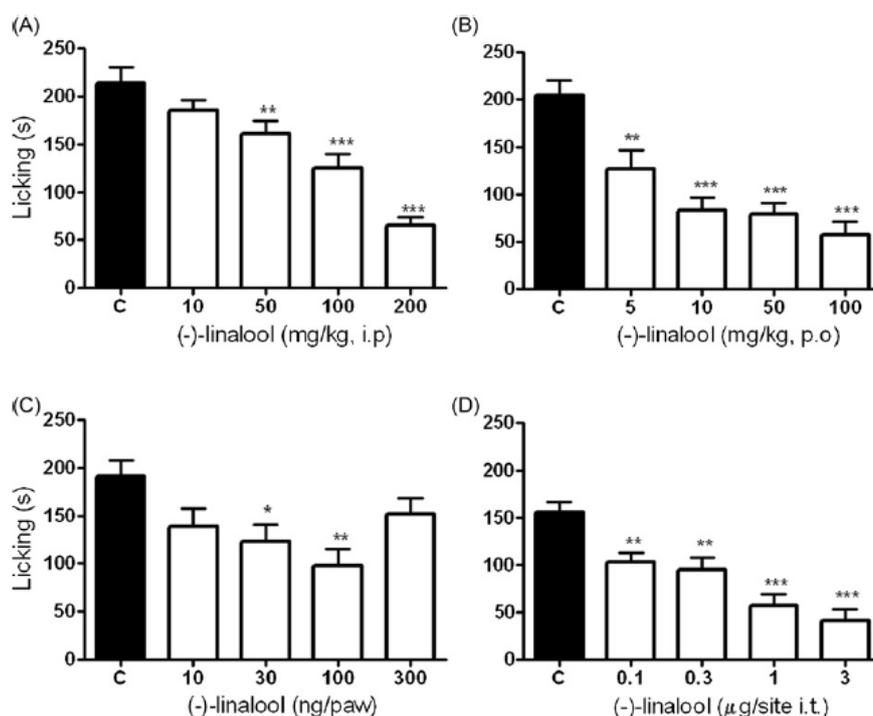


FIGURE 3.1.8 – Effet du (-)-linalol administré par voie intrapéritonéale (A), par voie orale (B), intraplantaire (C) ou intrathécale (D) sur le temps léchage induite par l’injection intraplantaire de glutamate chez la souris.

Une autre partie de l’étude a pour but de déterminer l’interaction du linalol avec le système glutaminergique en utilisant des acides aminés excitateurs (AAE) des récepteurs iniotropiques et métabotropiques.

Les AAE utilisés au cours de cette étude sont :

- le glutamate, agoniste des récepteurs AMPA, NMDA, kainate et récepteurs métabotrope du glutamate,
- l’AMPA, agoniste sélectif du récepteur ionotrope glutamatergique AMPA,
- le NMDA, agoniste sélectif du récepteur ionotropique glutamatergique NMDA,
- le kainate, agoniste sélectif du récepteur ionotropique glutamatergique kainate,
- *le trans*-ACPD, agoniste des récepteurs métabotropiques du glutamate,
- la substance P, agoniste sélectif du récepteur NK1.

Ces AAE ont été administrés par voie intrathécale (it), provoquant un réflexe de morsure de la zone douloureuse chez la souris. Les animaux ont reçu du (-)-linalol (200 mg/kg, i.p.) 30 min avant l’injection de 5µl de médicaments. La réponse nociceptive a été provoquée par le glutamate (30µg), AMPA (25ng), NMDA (25ng), kainate (23,5ng), trans-ACPD (8,6µg) ou de la substance P (135ng). Le groupe témoin a reçu une solution saline par voie i.t..

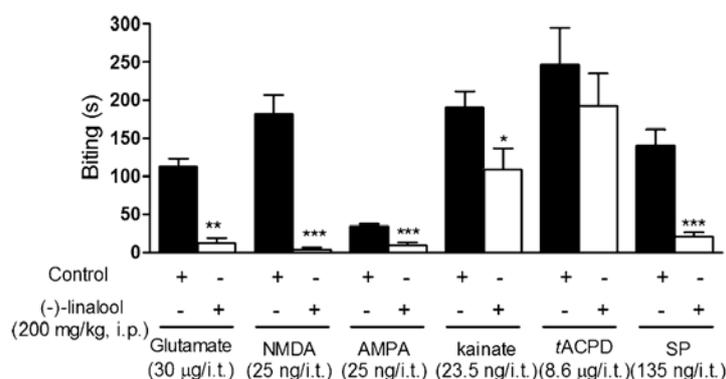


FIGURE 3.1.9 – Effet du linalol administré en intrapéritonéale sur la réponse induite par l’injection des AAE chez la souris.

La figure 3.1.9 montre que le (-)-linalol provoque une inhibition de la réponse douloureuse induite par le glutamate, le NMDA, l’AMPA, le kainate et la substance P, avec des inhibitions respectives de  $89 \pm 6\%$ ,  $98 \pm 2\%$ ,  $73 \pm 11\%$ ,  $52 \pm 15\%$  et  $85 \pm 4\%$ . Cependant, le même traitement ne provoque pas la même inhibition avec l’injection de *trans*-ACPD.

Ainsi, le (-)-linalol a une action marquée dans l’inhibition de la douleur induite par le glutamate chez la souris. Cette propriété étant due à l’inhibition des récepteurs ionotropiques du glutamate, à savoir les récepteurs NMDA, AMPA et kainate (Batista *et al.*, 2008).

### 3.1.2.3 Sédatif

De Moura Linck *et al.* (2009) ont réalisé une étude dans le but d’examiner les effets sédatifs du linalol par voie inhalée chez la souris. Les souris sont placées dans une chambre d’inhalation pendant 60 minutes avec une atmosphère saturée à 1 et 3% en linalol. Après inhalation, les souris ont été évaluées par analyse de leur locomotion, leur temps de sommeil induit par le pentobarbital de sodium, de leur température corporelle et de leur coordination motrice (De Moura Linck *et al.*, 2009).

Le temps de sommeil est déterminé par le temps entre la perte et la récupération du réflexe de redressement après injection de pentobarbital. La coordination motrice est mesurée à l’aide du Rotarod : la souris est placée sur un cylindre qui tourne à 18 tours par minute pendant 60 secondes ; le moment auquel la souris tombe de ce cylindre est

relevé. Dans l'étude, ce test est réalisé immédiatement puis à 15, 30, 45 et 60 minutes après l'inhalation.

D'après les résultats obtenus (figure 3.5), le temps de sommeil induit par le phénobarbital est augmenté par l'inhalation de linalol à 1% (143,3 secondes) et 3 % (160,2 secondes). Cette augmentation est du même ordre que celle provoquée par le diazépam (149.1 secondes) à une concentration de  $1\text{mg}/\text{kg}$ . La température corporelle de la souris en présence de diazépam ou de linalol 1% est réduite par rapport au contrôle ( $-1^{\circ}\text{C}$ ). Cette diminution est plus importante en présence de linalol 3% ( $-2^{\circ}\text{C}$ ). Enfin, concernant l'étude de la coordination motrice effectuée par l'intermédiaire du test Rotarod, le linalol et le diazépam ne montrent pas de différence par rapport au témoin négatif (60 secondes) (figure 3.1.10).

Ainsi, d'après cette étude, le linalol 1% et 3% inhalé pendant 60 minutes chez la souris a un effet sédatif, hypothermisant et diminue la locomotion. Cependant, la coordination motrice n'est pas affectée. Ces effets sont partagés par le diazépam, molécule sédatrice et anxiolytique.

TABLE 3.5 – Effet du linalol sur le temps de sommeil et la température corporelle .

Treatment	Sleeping time (s)	Body temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )
Control	47.6 (5.3)	34.8 (0.1)
1% Tween	41.9 (4.9)	34.3 (0.1)
Diazepam 1.0 mg/kg	149.1 (21.26)**	–
1% Linalool	143.3 (27.1)**	33.8 (0.2)**
3% Linalool	160.2 (23.5)**	31.2 (0.2)**#

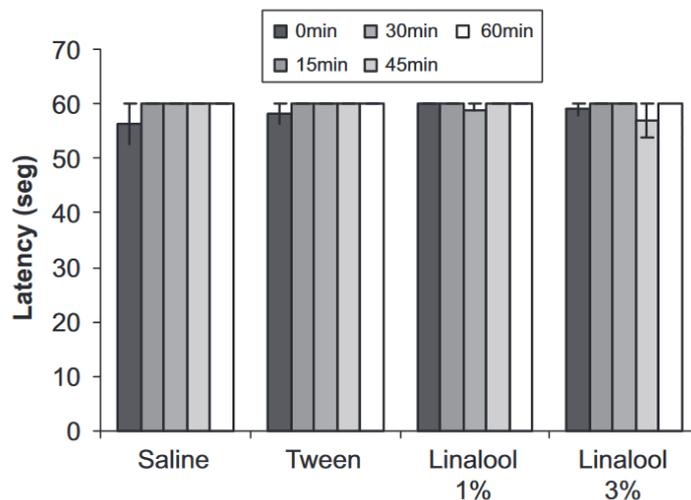


FIGURE 3.1.10 – Effet du linalol sur le test Rotarod.

### 3.1.2.4 Anxiolytique

Le but de l'étude réalisée par De Moura Linck *et al.* (2010) est de montrer l'effet du linalol sur l'état d'anxiété des souris. Le test de chambre claire/obscur (light/dark box test) est un test basé, d'une part, sur l'hostilité naturelle des souris aux zones fortement éclairées et, d'autre part, sur leur comportement d'exploration spontanée de nouveaux environnements (Takao et Miyakawa, 2006). Le matériel utilisé pour ce test se compose d'une chambre noire et d'une chambre blanche éclairée. Ces deux chambres sont placées côte à côte et reliées entre elles par une ouverture, permettant le passage de la souris.

Les souris sont réparties en plusieurs groupes selon la voie d'administration des produits :

- par voie intrapéritonéale : une injection de diazépam (contrôle positif) ou solution saline (contrôle négatif) est réalisée 30 minutes avant le test.
- par voie inhalée : avant le test, les souris sont placées dans une chambre d'inhalation pendant une période de 60 minutes dans une atmosphère contenant du linalol 1%, du linalol 3% ou du polysorbate 80 (contrôle négatif).

Les mesures effectuées lors de ce test sont le temps passé par la souris dans la chambre éclairée et le nombre de passage entre les deux chambres, d'une durée de 5 minutes.

Les résultats (figure 3.1.11) montrent que le diazépam par voie intrapéritonéale et le linalol à 3% par voie inhalée ont un effet significatif sur l'augmentation du temps passé par la souris dans la chambre éclairée. Ce temps est de 140 secondes pour le linalol

à 3 % et de 125 secondes pour le diazépam, alors qu'il est de l'ordre de 75 secondes pour les témoins négatifs. Par contre, les différentes drogues n'ont pas d'effet significatif sur le nombre de passages d'une chambre à l'autre (figure 3.1.12).

Ainsi d'après cette étude, le linalol aurait un effet anxiolytique de même ordre que le diazépam chez la souris (De Moura Linck *et al.*, 2010).

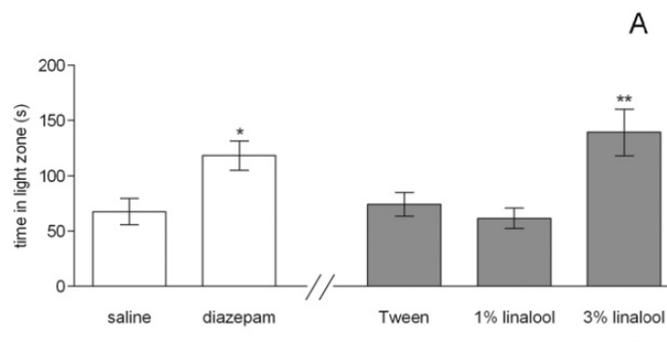


FIGURE 3.1.11 – Effets du linalol sur le temps passé par les souris dans la chambre éclairée lors du test de la chambre claire/obscur.

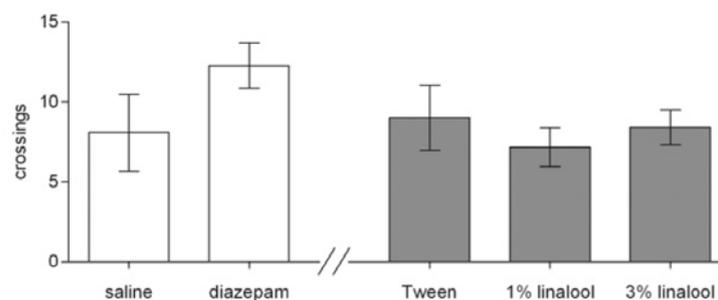


FIGURE 3.1.12 – Effets du linalol sur le nombre de passages de la chambre claire et sombre chez la souris lors du test de la chambre claire/obscur .

## 3.2 Huile essentielle totale

### 3.2.1 Activité antibactérienne

Une étude de De Billerbeck (2007) a passé en vue 40 HE pour déterminer l'activité antibactérienne de celles-ci sur deux souches bactériennes, que sont *Staphylococcus aureus*

et *Pseudomonas aeruginosa*, résistantes aux antibiotiques et souvent responsables de nombreuses infections nosocomiales. A terme, l'objectif de cette étude est de déterminer une formulation à partir de ses HE pour l'assainissement de l'air en milieu hospitalier.

Une infection nosocomiale est une infection associée aux soins, contractée au cours d'une hospitalisation, c'est-à-dire absente au moment de l'admission du patient dans l'établissement et se déclare au minimum 48 heures après l'admission. Ce délai est porté à 30 jours pour des interventions chirurgicales et à un an pour la mise en place de matériel étranger (Collège des Universitaires des Maladies Infectieuses et Tropicales, 2016).

*Staphylococcus aureus* est une coque à Gram positif, d'un diamètre de 1µm, responsable d'infections suppuratives (production de pus) ou d'infections avec production de toxines. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif qui provoque des infections localisées dans l'urine, le sang, les plaies et l'appareil respiratoire.

L'aromatogramme a été la méthode employée pour déterminer l'activité inhibitrice de croissance des HE. Cette méthode est inspirée par celle de l'antibiogramme, c'est à dire que la souche bactérienne à hauteur de  $10^9$  bactéries/ml est incluse dans la gélose, puis l'HE est déposée sur un disque de cellulose et mise à l'étuve pendant 48 h. L'activité inhibitrice de croissance est évaluée par la mesure du diamètre d'inhibition autour du disque imprégné d'HE. Les résultats sont exprimés en trois niveaux d'activité : « résistant » ( $D < 6\text{mm}$ ), « intermédiaire » ( $6 \leq D \leq 13\text{ mm}$ ) et « sensible » ( $D > 13\text{mm}$ )

Les résultats montrent que *S. aureus* est sensible ( $D > 20\text{mm}$ ) au camphrier (*Cinnamomum camphora*) mais que *P. aeruginosa* est résistante ( $D < 6\text{ mm}$ ). L'étude met en avant que seules 10 huiles essentielles sont actives sur cette dernière souche : cataire, cannelle de Chine, eucalyptus citronné, eucalyptus mentholé, géranium bourbon, girofle, mandrivasarotra, niaouli, sauge à petites feuilles et sarriette.

#### 3.2.2 Antivirale

Certaines huiles essentielles, utilisées en association, ont démontré leur rôle dans le traitement des hépatites virales.

Les hépatites représentent un problème important de santé publique. En 2011, en France, la prévalence de l'hépatite C est estimée à 0,75% de la population générale, soit 344 500 personnes, ayant été infecté par le VHC et 0,42%, soit 192 700 personnes, ayant une infection chronique (Pioche *et al.*, 2016). Concernant l'hépatite B, la prévalence en

France, en 2004 est de 0.65% de la population générale soit 280 000 personnes porteuses chroniques de l'antigène HBs (Meffre, 2006).

Le traitement actuel de l'hépatite C repose sur des associations de :

- un antiviral direct de seconde génération à de la ribavirine ;
- deux, trois, voire quatre antiviraux directs de seconde génération mais dont les sites d'action diffèrent (tableau 3.6), avec ou sans ribavirine ;
- un antiviral direct de seconde génération à l'interféron pégylé et à la ribavirine (Dalibon, 2016a).

TABLE 3.6 – Mode d'action des antiviraux directs de seconde génération (Dalibon, 2016b).

Mode d'action	Suffixe	Principes actifs
inhibiteurs de protéase NS3/4A	-prévir	siméprévir, paritaprévir
inhibiteurs de NS5A	-asvir	daclatasvir, lédipasvir, ombitasvir
inhibiteurs de NS5B	-buvir	sofosbuvir, dasabuvir

Pour le VHB, les traitements allopathiques reposent sur l'IFN- $\alpha$  et des analogues nucléosidiques tels que la lamivudine et l'adéfovir.

Une étude menée entre 1999 et 2005 sur 60 patients qui étaient porteurs chroniques de l'hépatite B (50) ou C (10), illustre l'efficacité de l'utilisation des HE en synergie avec les traitements allopathiques (Giraud-Robert, 2005). Le traitement utilisé ici pour l'hépatite C est basé sur les anciens protocoles *i.e* ribavirine + interféron alpha pégylée.

Cette étude a porté sur l'utilisation en monothérapie ou en complément du traitement allopathique de différentes formes d'origines végétales, administrées par voie orale :

- huiles essentielles : ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole), laurier (*Laurus nobilis*), niaouli (*Melaleuca quinquinervia*), thym à thujanol (*Thymus vulgaris*), et héliochryse (*Helichrysum italicum*) ;
- thé du labrador (*Ledum groenlandicum*)
- graines de carotte (*Daucus carota* var *sativa*).

Le but de l'utilisation d'huiles essentielles en complément de l'allopathie est, d'une part, d'augmenter l'efficacité du traitement et, d'autre part, d'optimiser la tolérance du traitement et ainsi faciliter l'observance. Pour rappel les effets indésirables majeurs de ces traitements sont le syndrome pseudo-grippal, l'altération de l'état général (diminution de l'appétit, asthénie), mais aussi une atteinte psychiatrique avec des troubles dépressifs et anxieux.

Les résultats de l'étude montrent que chez les patients traités pour le VHC par une bithérapie accompagnée d'un traitement aromatique, on retrouve 80% de bonne tolérance et 100% de réponse complète au traitement. Pour les patients en monothérapie par les huiles essentielles, une amélioration de l'hépatite a été notée dans 64 % des cas (activité antivirale, antifibrosante et une négativation de la PCR du VHC pour deux patients).

Dans le cas du VHB, deux traitements ont donné une amélioration des symptômes avec des huiles essentielles en monothérapie (négativation de l'Ag HBs et séroconversion de l'Ac HBs).

Dans certains milieux hospitaliers, l'usage des huiles essentielles peut être un traitement alternatif, lorsque l'allopathie ne peut être mise en place : contre indication temporaire ou définitive au traitement allopathique, refus de traitement allopathique par le patient... Mais la meilleure solution reste la synergie des huiles essentielles avec l'allopathie qui peut être une voie à développer pour augmenter l'efficacité des traitements et améliorer l'observance (Giraud-Robert, 2005).

### 3.2.3 Antifongique

*C. albicans* est le principal agent des candidoses. Les candidoses sont des affections responsables d'atteintes superficielles comme les intertrigos des plis, mycoses vaginales ou oropharyngées ou d'atteintes plus profondes généralement dues à un déficit immunitaire (Clere, 2009).

Une étude réalisée en 2008 a voulu déterminer l'activité antifongique de certaines huiles essentielles contre *Candida albicans* (Singh *et al.*, 2008). Ces huiles essentielles, dont *C. camphora*, sont comparées à deux antifongiques standards : le miconazole et le clotrimazole.

L'activité antimycosique est déterminée par la méthode des disques de diffusion sur milieu gélosé. Les huiles essentielles et les deux antifongiques ont été absorbés par un disque puis placés au centre d'une boîte de Pétri contenant chacun *C. albicans* en gélose. Ces boîtes sont mises en incubation pendant 24h à  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ . La mesure s'effectue par la mesure du diamètre d'inhibition.

TABLE 3.7 – Efficacité de six huiles essentielles et de deux antifongiques sur *C. albicans* (Singh *et al.*, 2008).

HE et antibiotiques	Zone d'inhibition à 24 h incubation (mm)
<i>Eucalyptus citriodora</i> (feuille)	21,33
<i>Cymbopogon citratus</i> (feuille)	21,17
<i>Callistemon lanceolatus</i> (feuille)	13,67
<i>Cinnamomum camphora</i> (feuille)	10,67
<i>Citrus limon</i> (écorce)	9,67
<i>Tagetes petula</i> (feuille)	7,67
Miconazole 1000 µg/mL	10
Clotrimazole 1000 µg/mL	9,33

La zone d'inhibition (ZI) à 24h de *C. camphora* (10,67 mm) est équivalente à celle du miconazole (10 mm) et du clotrimazole (9,33 mm) (tableau 3.7). De plus, la ZI de l'HE *Eucalyptus citriodora* (21,33 mm) est la plus élevée.

Après obtention des ZI, la CMI a été déterminée : *C. camphora* à une CMI de (3180 µg/ml) contre *C. albicans*. La concentration la plus faible est obtenue pour l'HE de *Eucalyptus citriodora* (318 µg/mL). Cependant, aucune CMI n'a été réalisée sur les antifongiques standard (Singh *et al.*, 2008).

D'après cette étude, *C. camphora* aurait une activité antifongique contre *C. albicans in vitro*. Des études plus approfondies pourraient être mises en oeuvre *in vivo* afin de confirmer cette propriété.

### 3.3 Utilisation en médecine conventionnelle

#### 3.3.1 HE ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole)

L'HE de ravintsara est une des huiles essentielles indispensables pour les maux de l'hiver ou plus généralement pour les infections virales. C'est pourquoi elle est indiquée dans les affections ORL et bronchique mais aussi dans les affections virales comme la varicelle, l'herpès ou encore la grippe.

L'HE de ravinstara est déconseillée chez la femme enceinte avant 3 mois de grossesse.

### 3.3.1.1 Varicelle

La varicelle est définie comme la primo-infection par le Virus Varicelle-Zona. Elle est très contagieuse et se manifeste par des éruptions successives prurigineuses de macules érythémateuses évoluant en vésicules (Blin, 2013). Ces vésicules sèchent et deviennent croûteuses au bout de 4 jours après le début des éruptions et cicatrisent en une dizaine de jours sans laisser de traces en l'absence de grattage (Blin, 2013; Collège des Universitaires des Maladies Infectieuses et Tropicales, 2016).

L'utilisation des huiles essentielles intervient dans la diminution de la charge virale et des démangeaisons. La formule suivante peut être appliquée cinq fois par jour en massage sur le corps de l'enfant jusqu'à amélioration :

- HE de ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole) : 30 gouttes,
- HE de niaouli (*Melaleuca quinquinervia*) : 30 gouttes,
- HE de camomille matricaire (*Matricaria recutita*) : 30 gouttes,
- HE de lavande officinale (*Lavandula officinalis*) : 60 gouttes,
- huile végétale (HV) de Calendula : 50 mL.

Une autre formule peut être utilisée pour éviter la réplication et la prolifération du virus : une goutte d'HE de Ravintsara sur la plante des pieds cinq fois par jour (Couic-Marinier et Pillon, 2016).

### 3.3.1.2 Rhume

Le rhume, aussi appelé coryza, est une infection aigüe épidémique des voies aériennes supérieures (cavité nasale, pharynx), généralement bénigne, due à des virus appartenant au groupe des rhinovirus, adénovirus ou myxovirus.

La contamination se fait par voie aérienne à travers les gouttelettes émises lors de la toux et les éternuements, soit par contact via la salive et les sécrétions nasales contaminées. La période d'incubation est de 1 à 3 jours.

Les principaux signes cliniques sont l'écoulement nasal (rhinorrhée), l'éternuement, des larmoiements, une légère altération de l'état général qui peut être accompagné de fièvre et de céphalées. La rhinorrhée est claire mais peut devenir épaisse en cas de surinfection ou de co-infection bactérienne.

L'aromathérapie peut être utilisée par voie cutanée, par voie nasale ou orale (Lamassiaude-Peyramaure, 2009a; Berthélémy, 2013).

### **Voie cutanée**

La formule suivante est appliquée en massage sur le dos et le thorax, 6 fois par jour pendant 3 jours (Lamassiaude-Peyramaure, 2009a) :

- HE laurier (*Laurus nobilis*) : 2 gouttes,
- HE eucalyptus radié (*Eucalyptus radiata*) : 2 gouttes,
- HE ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole) : 2 gouttes,
- HV de calophylle : 6 gouttes.

### **Voie nasale**

Les inhalations permettent d'humidifier les fosses nasales. Elles sont à réaliser 1 à 2 fois par jour et par période de 10 minutes. Les huiles essentielles doivent être mises dans de l'eau chaude, non bouillante (Lamassiaude-Peyramaure, 2009a).

- HE menthe poivrée (*Mentha piperita*) : 3 gouttes,
- HE eucalyptus radié (*Eucalyptus radiata*) : 3 gouttes,
- HE niaouli (*Melaleuca quinquinervia*) : 3 gouttes.

### **Voie orale**

La formule suivante, administrée 3 à 4 fois par jour pendant 5 jours, est à mettre sur un comprimé neutre ou bien additionnée dans du miel (Berthélémy, 2013) :

- HE ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole) : 2 gouttes,
- HE niaouli (*Melaleuca quinquinervia*) : 2 gouttes,
- HE eucalyptus radié (*Eucalyptus radiata*) : 2 gouttes.

#### **3.3.1.3 Grippe**

A la différence du rhume, la grippe est une pathologie qui peut présenter des complications chez les personnes âgées et les enfants. La grippe se caractérise par un syndrome grippal, non pathognomonique à cette pathologie : frissons, fièvre irrégulière 40°C, céphalées, toux sèche, rhinite et altération de l'état général avec courbatures.

En période épidémique, l'HE ravintsara est recommandée par inhalation quotidienne de deux gouttes posées dans la tabatière anatomique (entre le pouce et l'index). En cas de grippe déclarée, le complexe HE ravintsara et HE de girofle (40 gouttes de chaque) par voie orale peut être utilisé à raison de 3 gouttes trois fois par jour (Michat, 2012).

#### 3.3.1.4 Herpès

L'herpès labial ou bouton de fièvre est une pathologie due au virus Herpes simplex de type 1 (HSV-1) et plus rarement au virus Herpes simplex de type 2 (HSV-2). L'étude HERPIMAX met en évidence qu'à l'âge de 50 ans, environ 60 % de la population française était séropositive à HSV-1 (Malvy *et al.*, 2007).

Le bouton de fièvre apparaît de façon plus ou moins récurrente chez l'adulte en fonction de certains facteurs déclenchants tels que le soleil, le stress, la fatigue et les fluctuations hormonales. Les signes préliminaires du bouton de fièvre sont des démangeaisons, brûlures ou encore des picotements sur la région où se localise le virus. Il s'ensuit une apparition de bouquets de papules qui deviennent des cloques et enfin des vésicules contenant un liquide clair. Ces dernières éclatent, libérant leur contenu et laissant place à une plaie qui sèche et forme une croûte avant de cicatriser sans laisser de traces. Ces accès durent entre 8 et 15 jours (Allaert et Guy, 2012).

Le traitement aromatique se fait par l'application cinq fois par jour sur les lésions jusqu'à amélioration de la formule suivante :

- HE ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole) : 2 gouttes,
- HE niaouli (*Melaleuca quinquinervia*) : 2 gouttes,
- HE lavande aspic (*Lavandula latifolia*) : 2 gouttes,
- HE hélicryse italienne (*Helichrysum italicum*) : 2 gouttes,
- crème labial qsp 10 g (Couic-Marinier, 2016).

Après application de la crème, il est indispensable de se laver les mains afin d'éviter toute contamination secondaire.

#### 3.3.2 HE camphrier (*Cinnamomum camphora* CT camphre)

L'HE de camphrier est une huile essentielle qui a subi une déterpénation, par élimination d'une partie du camphre et du safrole, afin de limiter sa toxicité. Comme vu précédemment, l'HE camphrier contient plus de 80% de camphre. Ce taux est diminué à 50 % dans l'HE commercialisé. Le camphre est excitant, neurotoxique et abortif à forte doses. L'intoxication se manifeste par des nausées, des vomissements, des céphalées, des vertiges, des délires et des convulsions (CHU de Grenoble, 2015). Cette toxicité s'explique par le fait que le camphre passe facilement la peau et les muqueuses ainsi que la barrière hémato-encéphalique.

L'HE de camphrier est donc contre-indiquée chez la femme enceinte, allaitante et chez les enfants de moins de 30 mois et est déconseillée chez les enfants de moins de 6 ans.

L'HE de camphrier possède des actions anti-inflammatoire et antalgique dues au camphre. Cette HE est utilisée lors de douleurs musculaires, rhumatismales et traumatiques (Zahalka, 2014).

### 3.3.3 HE bois de Hô (*Cinnamomum camphora* CT linalol)

L'HE bois de Hô tend à remplacer l'HE de bois de rose. En effet, le bois de rose (*Aniba rosaeodora*) est inscrit dans l'Annexe II de la Convention sur le commerce international des espèces de faune et flore sauvages menacées d'extinction (CITES). L'exploitation commerciale de l'espèce est intense, tant par l'extraction de son huile essentielle utilisée dans la parfumerie et l'aromathérapie, que par son utilisation en ébénisterie. La croissance de l'arbre est lente et ses graines sont appréciées par les oiseaux, ainsi sa régénération naturelle est très faible.

L'HE de bois de Hô est utilisée dans les troubles nerveux comme l'anxiété, la dépression légère ou les insomnies. A partir du 3ème mois de grossesse, cette huile essentielle peut être utilisée lors des candidoses vaginales ou contre la constipation. Les différentes formules sont détaillées seules ou en synergie avec d'autres huiles essentielles.

#### 3.3.3.1 Anxiété

En diffusion dans la maison, la formule suivante est à utiliser à hauteur de 10 gouttes dans l'eau d'un diffuseur ultrasonique pendant 30 minutes en continu ou 2 heures en discontinu (Baudoux, 2013) :

- HE néroli (*Citrus aurantium spp amara* (fleur)) : 10 gouttes,
- HE bois de Hô (*Cinnamomum camphora* CT linalol) : 20 gouttes,
- HE petit grand bigarade (*Citrus aurantium spp amara* (feuille)) : 30 gouttes,
- HE mandarine (*Citrus reticulata* (zeste)) : 40 gouttes.

#### 3.3.3.2 Insomnie

L'insomnie peut se présenter sous différentes formes ; le patient peut avoir du mal à s'endormir ou se réveille dans la nuit et présente des difficultés pour se rendormir. Dans

tous les cas, le sommeil est insuffisant et/ou non réparateur.

La formule est à diffuser dans la chambre une heure avant le coucher. Les huiles essentielles suivantes sont en quantités dans un flacon de 10 mL (Lamassiaude-Peyramaure, 2009b) :

- HE de mandarine (*Citrus reticulata*),
- HE de bois de Hô (*Cinnamomum camphora* CT linalol),
- HE de petit grain bigarade (*Citrus aurantium spp amara* (feuille)) .

En cas de fatigue nerveuse, la réalisation de massage est indiqué le long de la colonne vertébrale et la face interne des poignets 3 fois par jour pendant 20 jours avec (Lamassiaude-Peyramaure, 2009b) :

- HE bois de Hô (*Cinnamomum camphora* CT linalol) ou bois de rose (*Aniba rosaeodora*) : 1 goutte,
- HE néroli (*Citrus aurantium spp amara* (fleur)) : 1 goutte,
- HE petit grain bigaradier (*Citrus aurantium spp amara* (feuille)) : 1 goutte,
- HV arnica (*Arnica montana*) : 3 gouttes.

#### 3.3.3.3 Mycoses cutanées

Les mycoses sont dues à des champignons microscopiques. Les facteurs favorisants sont locaux (soins de manucure, transpiration, hygiène corporelle) et généraux (grossesse, diabète, traitements antibiotiques, immunosuppression. . .).

Pour traiter les mycoses de la peau, la formule suivante est à appliquer en externe deux fois par jour pendant vingt jours, jusqu'à disparition de la mycose (Folliard, 2016) :

- HE bois de Hô (*Cinnamomum camphora* CT linalol) : 2 mL,
- HE palmarosa (*Cymbopogon martinii*) : 1 mL,
- HE géranium (*Pelargonium X asperum*) : 1 mL,
- HV de calophylle (*Calophyllum inophyllum*) qsp 15 mL .

#### 3.3.3.4 Infections urinaires

L'infection urinaire est définie comme la présence dans les urines de bactéries à hauteur de  $10^6$  germes/mL associé à une présence anormale de leucocytes et/ou d'hématies. L'aromathérapie intervient dans le cas de cystite non compliquée. Cette forme d'infection urinaire se traduit par une pollakiurie (miction fréquente et peu abondante), une dysurie

(douleur mictionnelle), avec des douleurs au niveau du bas-ventre mais sans fièvre, ni douleurs lombaire (Berthélémy, 2014).

La formule suivante est appliquée 4 fois par jour sur le bas ventre pendant 5 jours (Zhiri et Baudoux, 2005) :

- HE palmarosa (*Cymbopogon martinii*) : 2 gouttes,
- HE bois de Hô (*Cinnamomum camphora* CT linalol) : 2 gouttes,
- HE arbre à thé : (*Melaleuca alternifolia*) : 2 gouttes.

### 3.3.3.5 Constipation

La constipation se traduit par une évacuation difficile et rare des matières fécales. L'utilisation d'huiles essentielles permet donc d'avoir une action tonique et stimulante au niveau digestif. La formule suivante est utilisée par voie orale, par administration de 3 gouttes 2 à 3 fois par jour pendant 7 jours. Elle peut être aussi utilisée par voie cutanée, en massage, à raison de 6 gouttes matin et soir dans le bas du dos selon le besoin (Baudoux, 2006; Minker, 2015).

- HE bois de Hô (*Cinnamomum camphora* CT linalol) : 1 mL,
- HE coriandre (*Coriandrum sativum*) : 0,5 mL,
- HE gingembre (*Zingiber officinale*) : 1 mL,
- HE pin sylvestre (*Pinus sylvestrus*) : 1 mL,
- HV noisette (*Corylus avellana*) : QSP 15 mL.

Cette formule peut être aussi utilisée lors de la grossesse. Dans ce cas, ce symptôme est dû à plusieurs facteurs :

- hormonal : la progestérone ralentit les contractions de l'utérus mais aussi celles des autres muscles lisses de l'organisme comme l'intestin ;
- physiologique : au cours de la grossesse le fœtus se développe et exerce une pression sur l'intestin entravant le transit ;
- hygiéno-diététique : l'activité physique diminue au cours de la grossesse et diminue ainsi la stimulation de l'intestin ;
- iatrogène : en cas d'anémie, la supplémentation en fer chez la femme enceinte induit une constipation (Minker, 2015; Baudoux, 2006).

### 3.3.3.6 Vergetures

L'aromathérapie est utilisée après la grossesse afin d'atténuer les vergetures. En massage, on réalisera une dilution de 10 mL d'HE Bois de Hô dans 100 mL HV amande douce (Festy, 2012).

## 3.4 Confusion entre ravensare et ravintsara

Une confusion existe entre le Ravensare et le Ravintsara. Cette confusion est due à deux raisons : d'une part, la proche homonymie entre ravensare et ravintsara, et, d'autre part, une séparation entre *Ravensara aromatica* et *Ravensare anisata* au niveau botanique mais aussi en aromathérapie entre l'HE de ravensare aromatique et l'HE de ravensare anisé.

En 1661, Etienne de Flacourt décrit l'arbre dénommé Ravensara comme étant « aussi grand que le Laurier en France » et son fruit comme « une noix verte dont l'écorce a le goût du girofle ». Ce fruit, dénommé Voaravendsara, est utilisé par les habitants de l'île de Madagascar comme épice afin d'agrémenter les plats et poissons (De Flacourt, 1661). C'est en 1742 que Pierre Sonnerat décrit précisément cet arbre qu'il nommera *Ravensara aromatica*, Sonnerat ; cette dénomination est reprise dans la plupart des publications (Sonnerat, 1782). En 1830, lors d'une escale à Madagascar, l'explorateur Dumont d'Urville fait l'éloge du « ravensara » qu'il nomme aussi cannelle-giroffier dont la « noix et la feuille ont un parfum exquis » (Urville *et al.*, 1848).

En 1920, le botaniste Paul Auguste Danguy décrit une nouvelle plante aperçue dans les forêts d'Analamazaotra à Madagascar et la nomme *Ravensara anisata*. Cette plante, appelé aussi « Havoso », possède un bois de « mauvaise qualité », atteint les 18 à 20 mètres de haut et est « remarquable par l'odeur d'anis qui s'en dégage » (Danguy, 1920).

C'est à partir de 1950 que Kostermans considère que *Ravensara aromatica*, Sonnerat « ne peut être séparé » de *Ravensara anisata*, Danguy. Selon lui, ces deux plantes décrites précédemment sont identiques et portent le nom *Ravensara aromatica*. Dans sa description, il indique que l'arbre possède une odeur très aromatique « ressemblant au girofle ou rappelant l'anis ». Cependant malgré l'éclaircissement de cette distinction entre l'espèce *anisata* et *aromatica*, une autre confusion est mise en valeur : celle de ravintsara

et ravensare. En effet Kostermans énumère les différents noms vernaculaires de *Ravensara aromatica* où l'on retrouve les noms de « Havoza ou Avozo », « Ravensare » mais aussi « Ravintsara » (Kostermans, 1950)! Le botaniste donne donc à la fois le nom de « Ravensare » et de « Ravintsara » au même arbre.

L'autre source de confusion est donc la différence entre le ravintsara (*Cinnamomum camphora*) et le ravensare (*Ravensara aromatica*). En effet, le nom botanique du genre *Ravensara* est dû à la latinisation du nom malgache « ravintsara » qui signifie « bonne feuille » désignant à la base le camphrier importé à Madagascar (*i.e* *Cinnamomum camphora*) (Behra *et al.*, 2001). Cette homologie phonétique et cette latinisation ont donc provoquées une source de confusion supplémentaire; *Cinnamomum camphora* est parfois nommé à tort *Ravensara aromatica* par certains auteurs mais aussi dans le commerce.

Dans le livre de Pierre Franchomme, « l'aromathérapie exactement », l'HE de *Ravensara aromatica* (feuille) est composée majoritairement de 1,8-cinéole et d'alpha-terpinéol, et possède des propriétés expectorantes et antivirales. Cette confusion est aussi retrouvée dans le livre « Le préparateur en pharmacie - Guide théorique et pratique » où l'HE ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole) est confondu avec le chémotype camphre issu du Japon; de plus le 1,8-cinéole (eucalyptol) serait majoritaire dans *Ravensara aromatica*. On remarque qu'à chaque fois, la composition donnée correspond à l'HE ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole) et non à l'HE issues de *Ravensara aromatica*.

Dans le commerce aussi cette erreur est rencontrée; une étude réalisée en 2012 (Andrianoelisoa *et al.*, 2012) a analysé, par CPG/SM, 34 lots commerciaux dont l'étiquetage fait référence soit à Ravensare ou Ravintsara. Sur ces 34 lots, cinq lots présentent un étiquetage confus (figure 3.8). Les résultats des analyses montrent qu'à Madagascar les huiles essentielles vendues sont conformes à leur dénomination. Cependant sur les lots distribués en Europe et en Amérique du Nord, les étiquetages sont globalement conformes, mais sur les 14 lots étiquetés *Ravensara aromatica* / anisata seulement cinq sont des huiles essentielles authentiques (Annexe 3); les neuf autres sont en fait de l'HE ravintsara. Il existe donc encore aujourd'hui une source d'erreur entre ravintsara et ravensare, d'autant plus qu'aucune norme n'existe pour ces huiles essentielles. Une norme ou monographie pour chaque huiles essentielles pourrait donc mettre un terme sur les erreurs d'étiquetage ou de composition.

TABLE 3.8 – Cinq lots distribués en Europe ayant un étiquetage confus entre le Ravintsara et le Ravensare.

Code échantillon	Pays vendeur	Information sur étiquette	Origine	Partie de l'arbre	Prix (€/ml)
<b>Groupe 3 : Lots d'huiles essentielles confusément appelés Ravintsara–Ravensara</b>					
S30	France	Ravintsara-feuilles sauvages, <i>Cinnamomum camphora</i> , HE de Ravensara	–	Feuilles	–
S31	France	HE Ravintsara, <i>Ravensara aromatica</i> ( <i>Cinnamomum camphora</i> Sieb)	–	Rameaux	0,95
S32	France	<i>Ravensara aromatica</i> , <i>Ravintsara aromatica</i>	–	–	1,77
S33	Belgique	HE chémotypée, <i>Cinnamomum camphora</i> , ex. <i>Ravensara aromatica</i>	Madagascar	Feuilles	0,72
S34	Suisse	Ravintsara– <i>Ravensara aromatica</i>	–	Rameaux	0,56

Afin d'éviter toutes ces confusions, la dénomination botanique du Ravensare tend à devenir *Agatophyllum aromaticum*, Willd et celle du ravinstara restant la même *i.e.* *Cinnamomum camphora*. Les huiles essentielles, quant à elles, sont nommées « HE Havozo » pour celles provenant de l'écorce de *Ravensare aromatica* (ou *Agatophyllum aromaticum*) et « HE Ravensare » pour celles issues des feuilles (tableau 3.9).

Enfin, concernant les camphriers, la distinction entre les cinq chémotypes différents a été étudiée (tableau 3.9) :

- *Cinnamomum camphora* CT cinéole qui produit l'« HE Ravintsara » : camphrier acclimaté à Madagascar. Il est composé de 1,8-cinéole (60%) , sabinène (12%),  $\alpha$ -terpinéol (9%).
- *Cinnamomum camphora* CT linalol qui produit l'« HE Bois de Hô », « HE bois de rose d'Asie » ou « HE Bois de Shiu » : camphrier de Chine avec distillation du bois et des feuilles. Il est presque exclusivement composé de linalol (>90%) et un faible pourcentage de camphre (2%).
- *Cinnamomum camphora* CT camphre qui produit l'« HE camphrier » : camphrier du Vietnam et du Japon avec distillation du bois et des feuilles. Ce chémotype contient essentiellement du camphre (>80%), mais aussi du bornéol (1%) et de l' $\alpha$ -terpinéol (1%).
- *Cinnamomum camphora* CT isonérolidole composé d'isonérolidole (50-60%),  $\alpha$ -terpinéol (3-4%), et de linalol (2%).
- *Cinnamomum camphora* CT bornéole composé majoritairement de bornéol (80%), camphre (2%) et  $\alpha$ -pinène (2%) (Wanyang *et al.*, 1989; Dung *et al.*, 1993; Mollenbeck *et al.*, 1997).

TABLE 3.9 – Résumé des dénominations, chémotypes et organes producteurs retrouvés dans les huiles essentielles issues du camphrier et du ravensare aromatique.

Démonimation	Chémotypes	Nom de l'HE	Organes producteurs	Provenance
Camphrier ( <i>Cinnamomum camphora</i> )	CT cinéole	HE Ravintsara	Feuilles	Madagascar
	CT linalol	HE Bois de Hô	Bois + feuilles	Chine
	CT camphre	HE Camphrier	Bois + feuilles	Japon
Ravensare aromatique ( <i>Ravensara aromatica</i> ou <i>Agatophyllum aromaticum</i> )		HE Havoza	Écorce	Madagascar
		HE Ravensare aromatique	Feuilles	Madagascar

# Conclusion

Le camphrier est un arbre qui s'est acclimaté sur tous les continents depuis le Japon et l'Asie plus généralement jusqu'à Madagascar. C'est sur cette île qu'une des huiles essentielles issues du camphrier, l'HE de Ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole), s'est le plus développée, grâce à une huile essentielle riche en 1,8 cinéole et dépourvue de camphre.

De part son adaptation géographique, le camphrier présente des compositions chimiques différentes en fonction de sa location. On énumère donc cinq grands chémotypes :

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

Le Bois de Hô (*Cinnamomum camphora* CT linalol) tend à remplacer le Bois de Rose qui est menacé d'extinction, on devrait donc voir cette huile essentielle se développer de plus en plus au cours de ces prochaines années afin de répondre à la demande croissante du Bois de Rose. Grâce à une huile essentielle riche en linalol, le Bois de Hô possède des propriétés antalgique, anxiolytique, sédative et antifongique ; son utilisation concerne l'insomnie et les mycoses en autres.

Le ravintsara, riche en 1,8 cinéole présente des propriétés anti-inflammatoire, analgésique, anti-infectieuse, bronchodilatatrice. C'est pourquoi, l'HE de Ravintsara est utilisée en cas d'affections virales notamment.

Enfin la confusion entre le Ravintsara et Ravensare qui sont deux espèces bien distinctes provient d'une part de l'homophonie des deux espèces, mais aussi d'une erreur de dénomination présente sur les flacons vendus dans le commerce. Cependant, cette confusion a tendance à être corrigée. Pour qu'il n'y ait plus de confusions, il faudrait des

monographies distinctes comme on peut le retrouver pour d'autres huiles essentielles. C'est pourquoi, des analyses chromatographiques doivent être réalisées afin de déterminer de quelle espèce il s'agit.

Le rôle du pharmacien est prépondérant car il permet de répondre à un besoin de qualité qui est indispensable dans ce type de thérapie. Car rappelons-le l'aromathérapie n'est pas une médecine douce, les huiles essentielles étant des concentrés de principes actifs.

# **Annexes**



## BULLETIN D'ANALYSE

HEBBD, Huile Essentielle Botaniquement et Biochimiquement Définie, 100 % pure et naturelle

## Bois de rose d'Asie

Nom botanique : *Cinnamomum camphora linaloliferum*

Nom INCI : Cinnamomum Camphora Linalooliferum Leaf Oil

Origine : Chine

Type de culture : conventionnelle

Organe producteur : Bois et feuillage

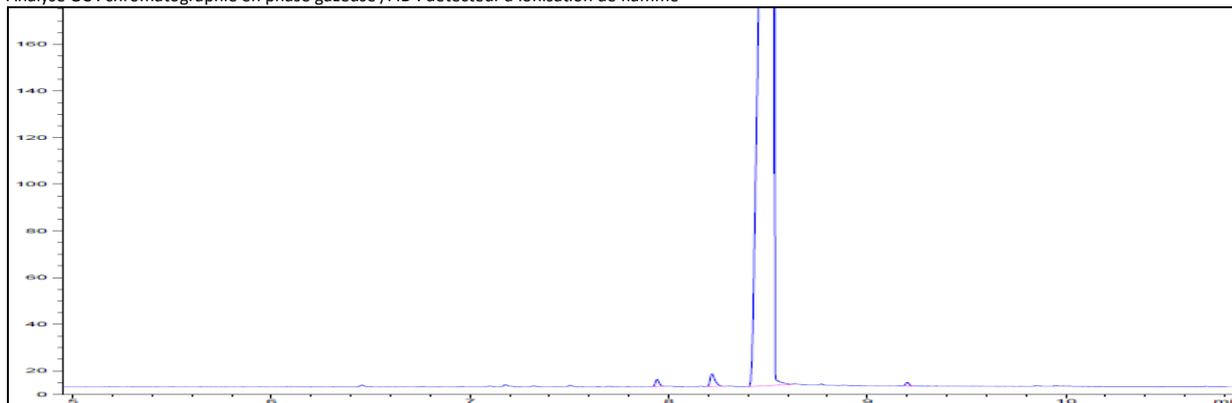
Mode d'extraction : obtenue par distillation à la vapeur d'eau

Lot : F504051 DLUO : 01/2020

Conserver à l'abri de la lumière et de la chaleur dans son flacon bien bouché

	Spécifications Etablies selon la pharmacopée, les normes AFNOR/ISO et les monographies internes	Résultats
<b>Caractéristiques organoleptiques</b>		
Aspect	Liquide mobile limpide	Liquide mobile
Couleur	Incolore à jaune clair	Incolore
Odeur	Fleurie, boisée	Caractéristique
<b>Caractéristiques physiques</b>		
Densité à 20°C	0,860 à 0,872	0,863
Indice de réfraction à 20 °C	1,458 à 1,470	1,462
Pouvoir rotatoire à 20 °C	-20° à -14°	-18,2°
<b>Profil chromatographique</b>		
Trans Linalol Oxyde		0,385%
Cis Linalol Oxyde		0,182%
Linalol	>97%	98,84%

Analyse GC : chromatographie en phase gazeuse /FID : détecteur à ionisation de flamme



LOT CONFORME A NOS SPECIFICATIONS

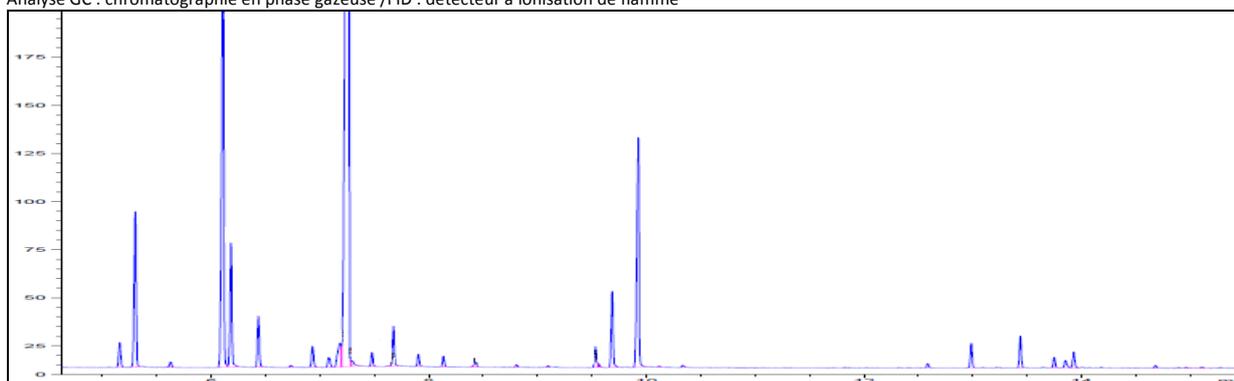
Corinne Cazeneuve, Ingénieur chimiste des substances naturelles  
Responsable du département analyse qualité huiles essentielles

**BULLETIN D'ANALYSE**
*HEBBD, Huile Essentielle Botanique et Biochimiquement Définie, 100 % pure et naturelle*
**Ravintsara Bio**

Nom botanique : *Cinnamomum camphora*  
 Nom INCI : Cinnamomum Camphora Leaf Oil  
 Origine : Madagascar  
 Type de culture : Biologique  
 Organe producteur : feuilles  
 Mode d'extraction : obtenue par distillation à la vapeur d'eau  
 Lot : F604042 DLUO : 10/2019  
 Conserver à l'abri de la lumière et de la chaleur dans son flacon bien bouché

	Spécifications Établies selon la pharmacopée, les normes AFNOR/ISO et les monographies internes	Résultats
<b>Caractéristiques organoleptiques</b>		
Aspect	Liquide mobile limpide	Liquide mobile
Couleur	Incolore à jaune	Incolore
Odeur	Fraîche, cinéolée, aromatique	Fraiche, balsamique
<b>Caractéristiques physiques</b>		
Densité à 20°C	0,900 à 0,915	0,904
Indice de réfraction à 20 °C	1,460 à 1,470	1,463
Pouvoir rotatoire à 20 °C	-10° à -25°	-17°
<b>Profil chromatographique</b>		
α-pinène + alpha-thujène	3 à 6%	6,09%
camphène		0,18%
β-pinène	Environ 3%	3,69%
sabinène	7 à 18%	14,77%
myrcène		1,62%
limonène		0,84%
1,8-cinéole	50 à 60%	56,63%
γ-terpinène		1,30%
para-cymène		0,37%
terpinolène		0,34%
camphre	Max 4%	<0,05%
linalol		<0,05%
terpinène-4-ol	1 à 3%	2,20%
α-terpineol	5 à 10%	6,82%
germacrène-D		0,27%

Analyse GC : chromatographie en phase gazeuse /FID : détecteur à ionisation de flamme



LOT CONFORME A NOS SPECIFICATIONS

Corinne Cazeneuve, Ingénieur chimiste des substances naturelles  
 Responsable du département analyse qualité huiles essentielles



Table I (continued).

Bacterial species	Citronellal <sup>a</sup>	$\beta$ -Citronello <sup>a</sup>	Linalool <sup>a</sup>	Linalool acetate <sup>a</sup>	Nerol <sup>a</sup>	Nerol acetate <sup>a</sup>	Geraniol acetate <sup>a</sup>	Terpinen-4-ol <sup>b</sup>	$\alpha$ -Terpineol <sup>b</sup>	Isomenthol <sup>b</sup>	Menthol <sup>b</sup>	Menthone <sup>b</sup>	1,8-Cineole <sup>b</sup>	Limonene oxide <sup>b</sup>	Carvone <sup>b</sup>	Dihydrocarvone <sup>b</sup>	Borneol <sup>c</sup>	Borneol acetate <sup>c</sup>	Camphor <sup>c</sup>	Fenchol <sup>c</sup>	Fenchone <sup>c</sup>	Penicillin
Clinic and food origins																						
Gram-positive																						
<i>Arthrobacter</i> spp.	8	8	8	-	9	-	-	7	8	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	41
<i>Bacillus coagulans</i>	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50
<i>Bacillus mycoides</i>	7	7	11	-	8	-	-	7	8	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	12
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29122	7	-	-	-	7	-	-	7	8	-	-	-	-	-	7	-	-	7	-	-	-	-
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	7	-	7	-	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	59
<i>Micrococcus lylae</i>	-	-	-	-	10	-	-	-	8	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	56
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	7	7	-	-	-	-	-	7	7	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	36
<i>Staphylococcus hominis</i>	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 176	-	7	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	27
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	7	9	-	10	-	-	9	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	34
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	-	9	-	-	8	-	-	-	7	8	-	-	-	-	7	-	-	-	-	9	-	25
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	-	-	-	-	8	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	30
<i>Acinetobacter radioresistens</i>	7	8	8	-	10	-	-	9	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	7	-	32
<i>Enterobacter cloacae</i>	8	7	7	-	7	-	-	7	8	-	-	-	-	7	-	-	7	-	-	9	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	8	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-
<i>Hafnia alvei</i>	-	-	8	-	7	-	-	7	7	-	8	-	-	8	-	-	-	-	-	8	-	18
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	8	8	-	9	-	-	7	9	-	9	-	-	-	-	7	-	-	-	8	-	16
<i>Klebsiella trevisanii</i>	-	-	10	-	8	8	8	8	8	-	-	8	-	-	-	-	-	-	-	7	-	15
<i>Klebsiella planticola</i>	7	7	7	-	7	-	-	7	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	8	-	-	10	-	-	7	-	7	-	-	-	-	7	-	-	-	-	8	-	21
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	7	-	-	-	-	-	-	7	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27859	-	7	-	-	7	-	-	-	7	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	29
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	-	-	7	-	8	-	-	-	8	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	8
<i>Salmonella typhimurium</i>	7	9	10	-	11	-	-	7	8	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	7	-	-	7	-	-	-	7	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	32
<i>Vibrio alginolyticus</i>	-	8	10	-	-	-	-	9	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	-	19
<i>Vibrio hollisae</i>	-	-	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-	-	16

<sup>a</sup> Acyclic oxygenated monoterpenes. <sup>b</sup> Monocyclic oxygenated monoterpenes. <sup>c</sup> Bicyclic oxygenated monoterpenes. - Not active. \* HR (hypersensitivity reactions) test results were positive on *Nicotiana tabacum* L. var. Samsun.

from this table, the growth of *E. coli*, which is a penicillin-resistant bacterium was inhibited by fenchol, terpinen-4-ol and linalool.

Based on the present data, it can be also concluded that alcohol derivatives of oxygenated monoterpenes had greater antibacterial activities than those of ketone derivatives. For instance, menthol had inhibitory effects on the growth of 24 bacterial strains, whereas menthone showed activ-

ity only against four bacteria. Similar results were also found for fenchol and fenchone (Table I). The present results also showed that nerol, linalool and borneol were more active than their acetate derivatives (nerol acetate, linalool acetate and borneol acetate). According to these results, it can be concluded that alcohol derivatives of oxygenated monoterpenes were more active than their acetate derivatives.

# ANNEXE 3

**Tableau 7.** Composition chimique (pourcentages relatifs) des huiles essentielles des feuilles de Ravintsara (*Cinnamomum camphora*) (R°), des différents chémotypes de feuilles de *Ravensara aromatica* (R<sup>1</sup> à R<sup>5</sup>) et des huiles essentielles d'écorces de *Ravensara aromatica* (R<sup>6</sup>)

Composés	IR	<i>Cinnamomum camphora</i>			<i>Ravensara aromatica</i>			
		Feuilles R°	Feuilles R <sup>1</sup>	Feuilles R <sup>2</sup>	Feuilles R <sup>3</sup>	Feuilles R <sup>4</sup>	Feuilles R <sup>5</sup>	Écorces R <sup>6</sup>
α-thujène	107	0,3-0,6	0-0,5	0-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5
α-pinène	107	3,7-4,0	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5
Camphène	95	tr-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5
<b>Sabinène</b>	<b>97</b>	<b>12,7-13,7</b>	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5
β-pinène	107	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5
Myrcène	107	1,5	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5	0-2,5
α-phellandrène	107	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5
<b>α-terpinène</b>	107	<b>0,8-0,9</b>	<b>0-0,8</b>	<b>3,1-7,8</b>	<b>18,2-58,1</b>	0-0,5	0-0,5	<b>0-0,7</b>
p-cymène	107	tr-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5
<b>Limonène</b>	107	-	0,7-5,0	0,7-5,0	1,8	7,2-8,5	19,8-62,8	0-0,5
<b>1,8-cinéole</b>	107	<b>56,9-58,3</b>	-	-	-	-	-	-
(E)-β-ocimène	107	tr	0-0,5	0-0,5	0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5
γ-terpinène	107	1,3-1,5	0-0,5	0-0,5	5,7-5,8	0-0,5	0-0,5	0-0,7
cis-hydrate de sabinène	107	0,7-0,9	-	-	-	0,4-1,5	-	-
trans-oxyde de linalol	107	-	-	-	-	-	-	-
Terpinolène	1087	0-0,5	-	-	-	-	-	-
cis-oxyde de linalol	1087	-	0-0,5	-	0,7-0,8	0-0,5	-	-
Linalol	1095	-	0-7-1,6	0,1-0,5	3,3-4,5	6,5-2,1	2,3-11,7	1,3-6,7
cis-p-menth-1-én-2-ol	1095	tr	-	-	0-0,5	0-0,5	-	-
trans-p-menth-1-én-2-ol	1095	tr	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	-	0-0,5
δ-terpinéol	1095	0,6-0,7	-	-	-	1,8-5,0	-	-
Bornéol	1095	tr	0-0,5	0-0,5	0-0,5	-	tr-0,5	0-0,5
Terpinène-2-ol	1095	2,7-2,9	0-0,5	0-0,5	0,1-0,5	2,4-11,7	0,5-1,0	0-0,5
<b>α-terpinéol</b>	<b>1187</b>	<b>9,8-10,3</b>	-	-	-	<b>0-0,5</b>	-	-
<b>Méthyl chavicol</b>	<b>1188</b>	<b>tr</b>	<b>85,6-98,3</b>	0,1-0,5	0,1-0,5	0,1-0,5	<b>0,1-8,1</b>	<b>82,7-97,8</b>
cis-pipéritol	1188	-	-	-	0-0,5	0-0,5	-	-
trans-pipéritol	1188	-	-	-	-	0-0,7	-	-
Pipéritone	125	-	-	-	0-0,5	0-0,5	tr-0,5	-
(E)-anéthole	1275	-	0-0,5	-	-	0-0,5	-	-
Acétate de bornyle	1279	-	-	-	-	0,1-0,7	-	-
δ-élémane	5	-	0-0,5	-	-	-	-	-
Pipériténone	5	-	0-0,5	-	-	0-0,5	-	-
Acétate d'α-terpinyle	-	-	-	-	-	-	-	-
Eugénol	-	-	0-0,5	0-0,5	0-0,5	0,1-0,5	-	-
α-copaène	137	-	0-0,5	-	-	0,3-0-5	-	-
Méthyl eugénol	137	-	0-0,5	72,2-95,4	0-0,5	0-0,5	0,1-0,5	0-0,5
(E)-β-caryophyllène	-	0,1-0,5	0,1-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	tr-5,8	0-0,5
α-humulène	145	0,1-0,5	0-0,5	0-0,5	0-0,5	1,5-2,2	tr-0,5	-
(E)-méthyl isœugénol	1453	-	0-0,5	-	-	-	-	-
allo-aromadendrène	1455	-	-	-	-	-	0-0,5	-
Germacrène-D	1455	0,1-0,5	0-0,5	0-0,5	0,5-1,1	0-0,5	tr-7,1	0-0,5
Bicyclogermacrène	15	0,1-0,5	-	-	-	-	-	-
Élémicine	1531	-	0,1-0,5	0,5-1,6	-	-	tr-0,5	0-0,5
Élémol	155	-	0-0,5	-	0-0,5	-	-	0-0,5
Nérolidol	157	-	0-0,5	-	-	-	-	0-0,5
Spathuléol	157	-	-	-	-	-	-	-
Oxyde de caryophyllène	158	-	0-0,5	0-0,5	-	0,1-0,5	tr-0,5	0-0,5

IR : indice de rétention.

Tableau 1. Liste des échantillons commerciaux étudiés et analyse des informations portées sur le flacon ou son emballage					
Code échantillon	Pays vendeur	Information sur étiquette	Origine	Partie de l'arbre	Prix (€/ml)
<b>Groupe 1 : lots d'huiles essentielles clairement appelés Ravintsara–<i>Cinnamomum camphora</i></b>					
S°°	Madagascar	Ravintsara– <i>Cinnamomum camphora</i>	Madagascar	Feuilles	,
S°°	Madagascar	Ravintsara– <i>Cinnamomum camphora</i>	Madagascar	Feuilles	,
S°°	Madagascar	Ravintsara	–	–	0,55
S°°	France	Ravintsara– <i>Cinnamomum camphora</i>	Madagascar	Feuilles	,^
S05	France	HE de Ravintsara– <i>Cinnamomum camphora</i> –Ravintsara	Madagascar	–	,^
S°°	Royaume-Uni	Ravintsara	Madagascar	–	–
S07	Italie	Ravintsara– <i>Cinnamomum camphora</i>	Madagascar	–	,
S°°	Italie	Ravintsara– <i>Cinnamomum camphora</i>	Madagascar	–	–
S°	Canada	Ravintsara– <i>Cinnamomum camphora</i>	Madagascar	Feuilles	,5
S°°	Canada	Ravintsara– <i>Cinnamomum camphora</i>	Madagascar	Feuilles	,5
<b>Groupe 2 : lots d'huiles essentielles clairement appelés Ravensara–<i>Ravensara aromatica/anisata</i></b>					
S°°	Madagascar	<i>Ravensara anisata</i>	Madagascar	Écorce de tige	,^
S°°	Madagascar	Ravensara, <i>Ravensara aromatica</i>	Madagascar	Feuilles	,^
S°°	Madagascar	Ravensara– <i>Ravensara aromatica</i>	Madagascar	Écorces	,
S°°	Madagascar	<i>Ravensara aromatica</i>	Madagascar	Feuilles	,
S15	Madagascar	<i>Ravensara anisata, Ravensara aromatica</i>	Madagascar	Écorces	,
S°°	France	<i>Ravensara aromatica</i> Sonnerat	Madagascar	–	,^
S°7	France	HE Ravensara aromatique, <i>Ravensara aromatica</i>	Madagascar	Feuilles	,^
S°^	France	HE Ravensara aromatique, <i>Ravensara aromatica</i>	Madagascar	Feuilles	,
S°	France	HE Ravensara aromatique, <i>Ravensara aromatica</i>	–	Feuilles	,
S°°	France	<i>Ravensara anisata, Ravensara aromatica</i>	Madagascar	Écorces	,^
S°°	France	Ravensara aromatique, <i>Ravensara aromatica</i>	Madagascar	Feuilles	,^
S°°	Allemagne	Ravensara ( <i>Ravensara aromatica</i> )	–	–	,^
S°°	Allemagne	Ravensara ( <i>Ravensara aromatica</i> )	–	–	–
S°°	Allemagne	Ravensara ( <i>Ravensara aromatica</i> )	–	–	,^
S25	Royaume-Uni	Ravensara ( <i>Ravensara aromatica</i> )	–	–	0,57
S°°	Royaume-Uni	Ravensara ( <i>Ravensara aromatica</i> )	Madagascar	–	–
S27	États-Unis	Ravensara ( <i>Ravensara aromatica</i> )	–	Rameaux	–
S°^	Canada	Ravensara ( <i>Ravensara aromatica</i> )	Madagascar	Feuilles	,^
S°	Canada	Ravensara ( <i>Ravensara aromatica</i> )	Madagascar	Feuilles	,^
<b>Groupe 3 : Lots d'huiles essentielles confusément appelés Ravintsara–Ravensara</b>					
S°°	France	Ravintsara-feuilles sauvages, <i>Cinnamomum camphora</i> , HE de <i>Ravensara</i>	–	Feuilles	–
S°°	France	HE Ravintsara, <i>Ravensara aromatica</i> ( <i>Cinnamomum camphora</i> Sieb)	–	Rameaux	0,95
S°°	France	<i>Ravensara aromatica, Ravensara aromatica</i>	–	–	1,77
S°°	Belgique	HE chémotypée, <i>Cinnamomum camphora</i> , ex. <i>Ravensara aromatica</i>	Madagascar	Feuilles	0,72
S°°	Suisse	Ravintsara– <i>Ravensara aromatica</i>	–	Rameaux	0,5

L'évaluation de ces lots s'est faite sur deux critères principaux :

– une analyse des informations portées sur le flacon et l'emballage afin d'estimer la cohérence des informations fournies ;

– une analyse de la composition chimique des échantillons afin d'identifier l'huile contenue dans le flacon.

Les échantillons de référence appelés R° à R° ont été constitués respectivement par des huiles essentielles de feuilles représentatives de *Cinnamomum camphora* (R°),

# Bibliographie

- AFNOR : Huiles essentielles –règles générales d’étiquetage et de marquage des récipients. NF T-75-002, Association française de normalisation, France, 1996.
- François-André ALLAERT et Martine GUY : La place et l’intérêt d’un filmogel® dans le traitement de l’herpès labial. *Actualités pharmaceutiques*, 51(521):45–48, décembre 2012.
- H. ANDRIANOELISOA, C. MENUT et P. DANTHU : Ravensara aromatica ou ravintsara : une confusion qui perdure parmi les distributeurs d’huiles essentielles en europe et en amérique du nord. *Phytothérapie*, 10(3):161–169, juin 2012.
- ANSM : *Pharmacopée française*. 8 édition, 1965.
- ANSM : Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Rapport technique, ANSM, mai 2008.
- Ben APPLEBAUM et Dan DiSORBO : *The Book of Beer Pong : The Official Guide to the Sport of Champions*. Chronicle Books, 2012.
- Zh. K. ASANOVA, E. M. SULEIMENOV, G. A. ATAZHANOVA, A. D. DEMBITSKII, R. N. PAK, A. DAR et S. M. ADEKENOV : Biological activity of 1,8-cineole from levant wormwood. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 37(1):28–30, 2003.
- Akram ASTANI, Jürgen REICHLING et Paul SCHNITZLER : Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytother. Res.*, pages 673–679, 2009.
- F. BAKKALI, S. AVERBECK, D. AVERBECK et M. IDAOMAR : Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2):446–475, février 2008.
- K Husnu Can BASER et Gerhard BUCHBAUER : *Handbook of essential oils : science, technology, and applications*. CRC Press, 2009.

- Vasco PD BASTOS, Antoniella S GOMES, Francisco JB LIMA, Teresinha S BRITO, Pedro MG SOARES, João PM PINHO, Claudijane S SILVA, Armênio A SANTOS, Marcus HLP SOUZA et Pedro JC MAGALHÃES : Inhaled 1, 8-cineole reduces inflammatory parameters in airways of ovalbumin-challenged guinea pigs. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 108(1):34–39, 2011.
- Patricia Aparecida BATISTA, Maria Fernanda DE PAULA WERNER, Erica CARVALHO OLIVEIRA, Leonel BURGOS, Patricia PEREIRA, Lucimar Filot da SILVA BRUM et Adair Roberto Soares dos SANTOS : Evidence for the involvement of ionotropic glutamatergic receptors on the antinociceptive effect of (-)-linalool in mice. *Neuroscience Letters*, 440(3):299–303, août 2008.
- Dominique BAUDOUX : Grossesse. In *Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française*, volume 5 de *L'aromathérapie professionnellement*. Amyris, 2006.
- Dominique BAUDOUX : *Guide pratique de l'aromathérapie : la diffusion*. J.O.M, 2013.
- Olivier BEHRA, Chantal RAKOTOARISON et Rhiannon HARRIS : Ravintsara vs ravensara a taxonomic clarification. *International Journal of Aromatherapy*, 11(1):4–7, 2001.
- Anouck BELLLOT : *Huile de cade, goudron de houille, ichthyol : utilisations dermatologiques et cosmétiques*. Thèse d'exercice, Université de Nantes, 2007.
- Trimen Henry BENTLEY ROBERT : *Medicinal plants. Being descriptions with original figures of the principal plants employed in medicine and an account of the characters, properties, and uses of their parts and products of medicinal value.*, volume 3. J. London & A. Churchill, 1880.
- Stéphane BERTHÉLÉMY : Conseils à un patient se plaignant d'un rhume. *Actualités pharmaceutiques*, 52(524):45–48, mars 2013.
- Stéphane BERTHÉLÉMY : Une patiente souffrant d'une infection urinaire. *Actualités Pharmaceutiques*, 53(536):41–44, mai 2014.
- Carlo BICCHI, Chiara CORDERO, Erica LIBERTO, Patrizia RUBIOLO, Barbara SGORBINI et Pat SANDRA : Impact of phase ratio, polydimethylsiloxane volume and size, and sampling temperature and time on headspace sorptive extraction recovery of some volatile compounds in the essential oil field. *J Chromatogr A*, 1071(1-2):111–118, avril 2005.
- Ségolène BLIN : La varicelle. *Le Moniteur des Pharmacies*, 2987, juin 2013.

- Michel BOTINEAU et Jean-Marie PELT : *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Ed. Tec & Doc, 2010.
- Florine BOUKHOBZA et Paul GOETZ : *Phytothérapie en odontologie*. Editions CdP, 2014.
- Nabil BOUSBIA : *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires*. Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique - Université d'Avignon et des pays de Vaucluse, 2011.
- C. BRICKELL, J. ZUK et American Horticultural SOCIETY : *The American Horticultural Society A-Z Encyclopedia of Garden Plants*. American Horticultural Society Practical Guides. DK Pub., 1997.
- Jean BRUNETON : *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Tec & Doc Paris, 4 édition, 1999.
- George A BURDOCK : *Encyclopedia of food and color additives*, volume 1. CRC Press, 1997.
- George A BURDOCK : *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*. CRC Press, 5 édition, 2004.
- Loïc BUREAU : *La phytothérapie pertinente*. ALTAL Éditions, 2012.
- Gwenola BURGOT et Jean-Louis BURGOT : *Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications*. Lavoisier, 3 édition, 2001.
- Lorenzo CAPUTI et Eugenio APREA : Use of terpenoids as natural flavouring compounds in food industry. *Recent Pat Food Nutr Agric*, 3(1):9–16, Jan 2011.
- O. CATIER : *Botanique, pharmacognosie, phytothérapie*. Cahiers du préparateur en pharmacie. Groupe Liaisons, 2007.
- Nelly CAZAU-BEYRET : *Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie*. Thèse de doctorat, Faculté des sciences pharmaceutiques - Université Toulouse III, 2013.
- CE : Directive 2001/83/ce du parlement européen et du conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain. (jo l 311 du 28.11.2001, p. 67), nov 2001.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- CE : Directive 2004/24/ce du parlement européen et du conseil du 31 mars 2004 modifiant, en ce qui concerne les médicaments traditionnels à base de plantes, la directive 2001/83/ce instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain. (joue n°42 du 30 avril 2004 p85 ), 2004.
- Jean-Claude CHALCHAT et Isabelle VALADE : Chemical composition of leaf oils of cinnamomum from madagascar : *C. zeylanicum* blume, *c. camphora* l., *c. fragrans* baillon and *c. angustifolium*. *Journal of Essential Oil Research*, 12(5):537–540, 2000.
- CHU DE GRENOBLE : Tox'in : huiles essentielles, novembre 2015. URL <http://evidal.fr/>. [en ligne], consulté le 01/02/2016.
- Nicolas CLERE : Quelle prise en charge pour les mycoses? *Actualités Pharmaceutiques*, 48(488):35–37, septembre 2009.
- CODE DE LA SANTÉ PUBLIQUE : article l. 5121-1, 16°.
- COLLÈGE DES UNIVERSITAIRES DES MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES : *E. Pilly 2016 : Maladies infectieuses et tropicales*. Alinéa Plus, 2016.
- J. D. CONNOLLY et R. A. HILL : *Dictionary of terpenoids*. Chapman & Hall, 1991.
- Linda CONWAY DUEVER : Floridata : *Cinnamomum camphora*, octobre 2000. URL [http://www.floridata.com/ref/c/cinn\\_cam.cfm](http://www.floridata.com/ref/c/cinn_cam.cfm). [en ligne], consulté le 03/02/2014.
- Françoise COUIC-MARINIER : *Se soigner avec les huiles essentielles*. Solar, 2016.
- Françoise COUIC-MARINIER et Annelise LOBSTEIN : Mode d'utilisation des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(525):26–30, avril 2013.
- Françoise COUIC-MARINIER et François PILLON : Un enfant de 4 ans ayant contracté la varicelle. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(556):14–16, mai 2016.
- Sophie COURTIAL : *Précis d'aromathérapie vétérinaire à l'usage des pharmaciens d'officine*. Thèse d'exercice, Université de Nantes. UFR de Sciences Pharmaceutiques et Biologiques., 2005.
- S CSURHES et R EDWARDS : National weeds program, potential environmental weeds in australia, candidate species for preventative control. *National Parks and Wildlife Biodiversity Group, Environment Australia, Canberra*, 1998.
- Pierre DALIBON : Stratégies thérapeutiques dans l'hépatite c. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(552):30–32, janvier 2016a.

- Pierre DALIBON : Traitements médicamenteux de l'hépatite c. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(552):25–29, janvier 2016b.
- Paul Auguste DANGUY : Lauracees de la foret d'analamaoatra (madagascar). *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*, 26:547–653, 1920.
- V. G. DE BILLERBECK : Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 5(5):249–253, décembre 2007.
- Etienne DE FLACOURT : *Histoire de la grande isle Madagascar*. Bibliothèque nationale de France, 1661.
- Viviane DE MOURA LINCK, Adriana Lourenco da SILVA, Micheli FIGUEIRO, Elina Bastos CARAMAO, Paulo Roberto H. MORENO et Elaine ELISABETSKY : Effects of inhaled linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice. *Phytomedicine*, 17(8-9):679–683, juillet 2010.
- Viviane DE MOURA LINCK, Adriana Lourenço da SILVA, Micheli FIGUEIRO, Angelo Luis PIATO, Ana Paula HERRMANN, Franciele DUPONT BIRCK, Elina Bastos CARAMAO, Domingos Sávio NUNES, Paulo Roberto H. MORENO et Elaine ELISABETSKY : Inhaled linalool-induced sedation in mice. *Phytomedicine*, 16(4):303–307, 2009.
- Paul DEPOVERE : *Chimie organique*. De Boeck Supérieur, 2005.
- Ajay DHAKA, Veena VISWANATH et Ardem PATAPOUTIAN : Trp ion channels and temperature sensation. *Annu Rev Neurosci*, 29:135–161, 2006.
- C. DUCATILLION : Le jardin botanique de la villa thuret d'antibes - cinnamomum camphora, juillet 2013. URL [http://www6.sophia.inra.fr/jardin\\_thuret/Visite-virtuelle/Parcours-Arbres-urbains/Cinnamomum-camphora](http://www6.sophia.inra.fr/jardin_thuret/Visite-virtuelle/Parcours-Arbres-urbains/Cinnamomum-camphora). [en ligne], consulté le 01/03/2014.
- Nguyen Xuan DUNG, Pham VAN KHIEN, Ho Trung CHIEN et Piet A. LECLERCQ : The essential oil of cinnamomum camphora (l.) sieb. var. linaloolifera from vietnam. *Journal of Essential Oil Research*, 5(4):451–453, juillet 1993.
- EDQM : *Pharmacopée Européenne*. 7 édition, 2011.
- S.E. EVERT, R.F. and Eichhorn : *Esau's Plant Anatomy : Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body : Their Structure, Function, and Development*. Wiley, 2006. ISBN 9780470047378.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- Michel FAUCON : *Traité d'aromathérapie scientifique et médicale*. Editions Sang de la Terre et Médical, 2012.
- X FERNANDEZ et F CHEMAT : *La chimie des huiles essentielles–Tradition et innovation*. Vuibert, 2012.
- Danièle FESTY : *Je ne sais pas utiliser les huiles essentielles : Découvrir l'aromathérapie : Le guide pour se soigner facilement et sans risque*. Leduc.s Editions, septembre 2012.
- Gilles FIGUEREDO : *Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne*. Thèse de doctorat en chimie organique, Université Blaise Pascal - Clermont Ferrand II, 2007.
- Thierry FOLLIARD : *La bible Larousse des huiles essentielles*. Larousse, 2016.
- Pierre FRANCHOMME, Roger JOLLOIS et Daniel PÉNOËL : *L'Aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles : fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle*. Roger Jollois Editeur, 1990.
- A.-M. GIRAUD-ROBERT : Intérêt de l'aromathérapie dans la prise en charge des hépatites virales. *Phytothérapie*, 3(6):235–247, décembre 2005.
- Georges M. HALPERN : *The Healing Trail : Essential Oils of Madagascar*. Basic Health Publications, Inc., décembre 2002.
- Maurice HAYOT : Bronchopneumopathie chronique obstructive (bpc), mai 2015. URL <http://www.inserm.fr>. [en ligne], consulté le 12/08/2016.
- J.C. HERPIN : *Récréations chimiques, ou, Recueil d'expériences curieuses et instructives : auxquelles on a joint, un précis élémentaire de chimie, l'explication raisonnée des phénomènes produits dans les diverses expériences ...*, volume 1. Audot, 1824.
- Nelly HETKA et Pavel ROGOVOY : Seasonal variations of cinnamomum camphora leaf aroma volatiles in greenhouse conditions of belarus. *Scripta Horti Botanici Universitatis Vitauti Magni*, 13:55–59, 2010.
- Naonori HIROTA : Observations sur des camphriers asiatiques. *Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale*, 33(365):158–165, 1953.
- William G. HOPKINS : *Physiologie végétale*. De Boeck Supérieur, 2003.

- S. HUNSKAAR et K. HOLE : The formalin test in mice : dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, 30(1):103–114, juillet 1987.
- INSTITUT MALGACHE DE RECHERCHES APPLIQUÉES : Cinnamomum camphora, décembre 2013. URL <http://www.imra-ratsimamanga.org/cinnamomumcamphora.htm>. [en ligne], consulté le 03/02/2014.
- IPSOS : Observatoire sociétal du médicament 2014. Rapport technique, Les entreprises du médicament (LEEM), 2014.
- IPSOS : Observatoire sociétal du médicament 2015. Rapport technique, Les entreprises du médicament (LEEM), 2015.
- Marcello IRITI et Franco FAORO : Chemical diversity and defence metabolism : How plants cope with pathogens and ozone pollution. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(8):3371–3399, 2009.
- ISO : Huiles essentielles – nomenclature. ISO 4720, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2009.
- ISO : Huiles essentielles – principes de nomenclature. ISO 3218, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2014a.
- ISO : Matières premières aromatiques naturelles - vocabulaire - matières premières aromatiques d'origine naturelle. ISO 9235, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 2014b.
- Dorthe JØKER : Cinnamomum camphora (L.) J. Presl. *Seed Leaflet-Danida Forest Seed Centre*, (23), septembre 2000.
- Walter S. JUDD, Christopher S. CAMPBELL, Elizabeth A. KELLOGG et Peter STEVENS : *Botanique systématique : Une perspective phylogénétique*. De Boeck Supérieur, 2002.
- J. KALOUSTIAN et F. HADJI-MINAGLOU : *La connaissance des huiles essentielles : qualité et aromathérapie : Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*. Collection Phytothérapie pratique. Springer, 2013.
- André KOPP : Travaux récents sur la culture du camphrier et la production du camphre. *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, 2(15):636–643, 1922. ISSN 0370-3681.

- André Joseph Guillaume Henri KOSTERMANS : 81ème famille – lauracées. *In* Henri HUMBERT, éditeur : *Flore de Madagascar et des Comores – Plantes vernaculaires*, volume 81. Muséum national d'histoire naturelle, Laboratoire de phanérogamie, 1950.
- Recep KOTAN, Saban KORDALI et Ahmet CAKIR : Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes. *Z Naturforsch C*, 62(7-8):507–513, 2007.
- Sandra LAMASSIAUDE-PEYRAMAURE : Comment soigner naturellement le rhume. *Actualités pharmaceutiques*, 48(481):27–29, janvier 2009a.
- Sandra LAMASSIAUDE-PEYRAMAURE : Fatigue et insomnie. *Actualités Pharmaceutiques*, 48(482):37–39, février 2009b.
- Etienne LAMBERT : *Des cannelles*. Thèse d'exercice, Ecole supérieure de pharmacie de Paris, 1888.
- C.S LETIZIA, J COCCHIARA, J LALKO et A.M API : Fragrance material review on linalool. *Food and Chemical Toxicology*, 41(7):943 – 964, 2003.
- Li LI, Zheng-Wen LI, Zhong-Qiong YIN, Qin WEI, Ren-Yong JIA, Li-Jun ZHOU, Jiao XU, Xu SONG, Yi ZHOU, Yong-Hua DU, Lian-Ci PENG, Shuai KANG et Wang YU : Antibacterial activity of leaf essential oil and its constituents from cinnamomum longepaniculatum. *Int J Clin Exp Med*, 7(7):1721–1727, 2014.
- Patricia Rodrigues LIMA, Tiago Sousa de MELO, Karine Maria MARTINS BEZERRA CARVALHO, Italo Bonfim de OLIVEIRA, Bruno RODRIGUES ARRUDA, Gerly Anne de CASTRO BRITO, Vietla SATYANARAYANA RAO et Flavia Almeida SANTOS : 1,8-cineole (eucalyptol) ameliorates cerulein-induced acute pancreatitis via modulation of cytokines, oxidative stress and nf-kb activity in mice. *Life Sciences*, 92(24-26):1195–1201, jul 2013. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.lfs.2013.05.009>.
- Mostafa MALECKY, Vincenzo FEDELE et Laurent P BROUDISCOU : In vitro degradation by mixed rumen bacteria of 17 mono-and sesquiterpenes typical of winter and spring diets of goats on basilitica rangelands (southern italy). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(3):531–536, 2009.
- D MALVY, K EZZEDINE, F LANCON, B HALIOUA, A REZVANI, S BERTRAIS, B CHANZY, J-E MALKIN, P MORAND, C DE LABAREYRE, S HERCBERG et A EL HASNAOUI : Epidemiology of orofacial herpes simplex virus infections in the general population in france : results of the herpimax study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 21(10):1398–1403, novembre 2007.

- J. MANN : *Secondary Metabolism*. Clarendon Press, 2<sup>e</sup> édition, 1987.
- Aude MAZOLLIER : *Développement de méthodologies analytiques et statistiques pour le contrôle de la naturalité de matières premières pour la cosmétiques et la parfumerie*. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard - Lyon I, 2013.
- C MEFFRE : *Prévalence des hépatites B et C en France en 2004*. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire, décembre 2006.
- J MENDHAM : *Analyse chimique quantitative de Vogel*. De Boeck Supérieur, 2005.
- Lionnel MICHAT : *Les huiles essentielles de Madagascar : De l'or en bouteille*. Éd. Médicis, 2012.
- Carole MINKER : *Se soigner sainement pendant la grossesse et l'allaitement*. Larousse, 2015.
- S MOLLENBECK, T KOHLER, F. E.nig, P SCHREIER, W SCHWAB, J RAJAONARIVONY et L RANARIVELO : Chemical composition and analyses of enantiomers of essential oils from madagascar. *Flavour and fragrance journal*, 12(2):63–69, 1997.
- Choël NAVOROZALY : *Le ravintsara et son huile essentielle*. Thèse d'exercice, Université Paris Descartes. Faculté des sciences pharmaceutiques et biologiques, 2010.
- Sachiko NISHIDA, Hirokazu TSUKAYA, Hidetoshi NAGAMASU et Masumi NOZAKI : A comparative study on the anatomy and development of different shapes of domatia in cinnamomum camphora (lauraceae). *Annals of botany*, 97(4):601–610, 2006.
- Jean PAQUEREAU : *Au jardin des plantes de la Bible : Botanique, symboles et usages*. Forêt privée Française, mai 2013.
- Pradyot PATNAIK : *A comprehensive guide to the hazardous properties of chemical substances*. John Wiley & Sons, 2007.
- Gianfranco PATRI, Vittorio SILANO et Robert ANTON : *Plantes dans les cosmétiques*, volume 3. Council of Europe, 2006.
- A. T. PEANA, P. S. D'AQUILA, F. PANIN, G. SERRA, P. PIPPIA et M D L. MORETTI : Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 9(8):721–726, décembre 2002.
- Emile PERROT : *Contribution à l'étude histologique des Lauracées*. Thèse d'exercice, Ecole supérieure de Pharmacie de Paris, 1891.

- Jorge A PINO et Victor FUENTES : Leaf oil of cinnamomum camphora (l.) j. presl. from cuba. *Journal of Essential Oil Research*, 10(5):531–532, 1998.
- Corinne PIOCHE, Camille PELAT, Christine LARSEN, Jean-Claude DESENCLOS, Marie JAUFFRET-ROUSTIDE, Florence LOT, Josiane PILLONEL et Cécile BROUAR : Estimation de la prévalence de l'hépatite c en population générale, france métropolitaine, 2011. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, (13–14):224–229, mai 2016.
- Clare J. PROUDFOOT, Emer M. GARRY, David F. COTTRELL, Roberta ROSIE, Heather ANDERSON, Darren C. ROBERTSON, Susan M. FLEETWOOD-WALKER et Rory MITCHELL : Analgesia mediated by the trpm8 cold receptor in chronic neuropathic pain. *Curr Biol*, 16(16):1591–1605, août 2006.
- Stéphanie PRUNAC : *Contribution à l'étude botanique et chimique d'une lauracée : Cinnamomum camphora Nees et Ebermaier*. Thèse d'exercice, Université de Montpellier I. UFR des sciences pharmaceutiques et biologiques, 1992.
- PN. RAVINDRAN, K. NIRMAL-BABU et M. SHYLAJA : *Cinnamon and cassia : the genus Cinnamomum*. CRC press, 2003.
- Raphaëlle RINALDO : *Certification, biocomplexité et valorisation des Lauracées de Guyane française*. Thèse de doctorat de chimie, Université des Antilles et de la Guyane, 2012.
- M. RITTER et J. REIMER : Ufei - selectree : Cinnamomum camphora tree record, 1995-2015. URL <https://selectree.calpoly.edu/tree-detail/cinnamomum-camphora>. [en ligne], consulté le 16/01/2014.
- Céline RIVIÈRE, Jean-Pierre NICOLAS, Marie-Laure CARADEC, Odile DESIREA, Diny Ahmed HASSAN, Georges RÉMY, Annick DELELIS et Frédéric DUPONT : Importance de l'identification botanique dans la démarche ethnopharmacologique ; cas d'une bignoniaceae malgache, perichlaena richardii baill. *Acta botanica gallica*, 152(3):377–388, 2005.
- Lucie ROUDERGUES, Catherine RUBAT et Pascal COUDERT : La bpco, en passe de devenir la troisième cause de mortalité en 2020. 49(496):36–39, 2010.
- Annick ROUESSAC et Francis ROUESSAC : *Techniques instrumentales d'analyse chimique en 23 fiches*. Dunod, 2011.
- Francis ROUESSAC et Annick ROUESSAC : *Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes*. Dunod, 6 édition, 2004.

- D. ROUX : *Conseil en aromathérapie*. Groupe Liaisons, 2008.
- FA SANTOS et VSN RAO : Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1, 8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils. *Phytotherapy Research*, 14(4):240–244, 2000.
- Daniel SCIMECA, Elske MILES et Alessandra MORO BURONZO : *Le Grand livre de la santé au naturel pour les Nuls*. EDI8, 2015.
- Priyanka SINGH, Bhawana SRIVASTAVA, Ashok KUMAR et N. K. DUBEY : Fungal contamination of raw materials of some herbal drugs and recommendation of cinnamomum camphora oil as herbal fungitoxicant. *Microbial Ecology*, 56(3):555–560, mars 2008.
- SKOOG, WEST, HOLLER et CROUCH : *Chimie analytique*. De Boeck, Bruxelles, 8 édition, 2012.
- Douglas A. SKOOG, F. James HOLLER et Timothy A. NIEMAN : *Principes d'analyse instrumentale*. De Boeck, 5 édition, 2003.
- Pierre SONNERAT : *Voyage aux Indes orientales et à la Chine*, volume 3. Chez l'Auteur, Froulé, Nyon, Barrois, 1782.
- Rodolphe-Edouard SPICHIGER : *Botanique systématique des plantes à fleurs : une approche phylogénétique nouvelle des angiospermes des régions tempérées et tropicales*. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, 2002.
- P.F STEVENS : Angiosperm phylogeny website, 2001. URL <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. [en ligne], consulté le 16/10/2014.
- SYNDICAT DES INDUSTRIES DE MADAGASCAR : Le ravintsara est plein d'avenir. *Expansion Madagascar*, 4:21–24, juillet 2010.
- Masayuki TAKAISHI, Fumitaka FUJITA, Kunitoshi UCHIDA, Satoshi YAMAMOTO, Maki SAWADA SHIMIZU, Chihiro HATAI UOTSU, Mayumi SHIMIZU et Makoto TOMINAGA : 1,8-cineole, a trpm8 agonist, is a novel natural antagonist of human trpa1. *Mol Pain*, 8:86, 2012.
- Masayuki TAKAISHI, Fumitaka FUJITA, Satoshi YAMAMOTO, Maki SAWADA, Chihiro HATAI, Mayumi SHIMIZU, Kunitosi UCHIDA et Makoto TOMINAGA : Inhibitory effect of 1, 8-cineole on htrpa1 activation by several agonists. *Neuroscience Research*, 71:313, 2011.

## BIBLIOGRAPHIE

---

- Keizo TAKAO et Tsuyoshi MIYAKAWA : Light/dark transition test for mice. *Journal of Visualized Experiments*, (1), novembre 2006.
- TANTELY RAMAKA : Train pas comme les autres : Le "diasoa" antananarivo - toamasina - blog randonnée madagascar. URL <http://www.tantely-ramaka.com>. [en ligne], consulté le 12/07/2014.
- Robert TISSERAND et Rodney YOUNG : *Essential oil safety : a guide for health care professionals*. Churchill Livingstone, 1995.
- P TISSOT : La culture du camphrier et la production du camphre. *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale*, 15(165):340–350, 1935.
- Jean TRANCHANT : Chromatographie en phase gazeuse. *Techniques de l'ingénieur Chromatographie et techniques séparatives*, 2015.
- Dumont URVILLE, Jules SÉBASTIEN et Marie Roch Louis REYBAUD : *Voyage autour du monde*. Furnes et compagnie, 1848.
- U.S. NATIONAL PLANT GERMPLASM SYSTEM : Cinnamomum camphora information from npgs, 2013. URL <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?10578>. [en ligne], consulté le 20/01/2014.
- Wei WANG, Nan LI, Meng LUO, Yuangang ZU et Thomas EFFERTH : Antibacterial activity and anticancer activity of rosmarinus officinalis l. essential oil compared to that of its main components. *Molecules*, 17(3):2704–2713, 2012.
- Shi WANYANG, He WEI et Wen GUANGYU : Study on chemical constituents of the essential oil and classification of types from cinnamomum camphora. *Acta Botanica Sinica (China)*, 31(3):209–214, 1989.
- F.I. WINDADRI et S.S.B. RAHAYU : *Plant resources of South-East Asia No. 19. Essential-oil plants*. Backhuys Publishers, 1999.
- Peter WOODARD : Cinnamomum camphora at turrumurra railway station, australia, 2010. URL [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cinnamomum\\_camphora\\_Turrumurra\\_railway.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Cinnamomum_camphora_Turrumurra_railway.jpg). [en ligne], consulté le 29/09/2014.
- Heinrich WORTH, Christian SCHACHER et Uwe DETHLEFSEN : Concomitant therapy with cineole (eucalyptole) reduces exacerbations in COPD : A placebo-controlled double-blind trial. *Respiratory Research*, 10(1):69, 2009.

Zhiwei YANG, Nan WU, Yujie FU, Gang YANG, Wei WANG, Yuangang ZU et Thomas EFFERTH : Anti-infectious bronchitis virus (ibv) activity of 1,8-cineole : Effect on nucleocapsid (n) protein. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 28(3):323–330, décembre 2010.

Jean-Philippe ZAHALKA : *Dictionnaire complet d'aromathérapie*. Dauphin, 2014.

Abdesselam ZHIRI et Dominique BAUDOIX : *Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies*. Inspir, 2005.

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 22.11.2016

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR  
EN PHARMACIE

présenté par : Michaël MANSARD

Sujet : Le camphrier : étude botanique, chimique et biologique de ses huiles essentielles.

Jury :

Président : Mme Dominique LAURAIN-MATTAR, Professeur des Universités  
 Directeur : Mme Françoise COUIC-MARINIER, Pharmacien  
 Juges : Mme Sylvie SIDOT, Pharmacien  
 Mme Marie-Anne THOMAS, Pharmacien

Vu,

Nancy, le 20/10/2016

Le Président du Jury      Directeur de Thèse

M.  M.   
**D. LAURAIN-MATTAR**

Vu et approuvé,

Nancy, le 4 11 - 2016

Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine,

  
**Francine PALLUS**  


Vu,

Nancy, le 18 NOV. 2016

Le Président de l'Université de Lorraine.

  
**Pierre MUTZENHARDT**

N° d'enregistrement : 9361

N° d'identification :

**TITRE**

# Le camphrier : étude botanique, chimique et biologique de ses huiles essentielles

Thèse soutenue le 22 novembre 2016

Par Michaël MANSARD

**RESUME :**

Le camphrier (*Cinnamomum camphora*) est un grand arbre, originaire d'Asie, qui est implanté partout dans le monde et notamment à Madagascar depuis le milieu du XIXème siècle. En Asie, le camphrier était exploité pour extraire le camphre naturel. Mais c'est à Madagascar avec son huile essentielle, le Ravintsara, que le camphrier connaît un nouvel essor dans l'aromathérapie.

Les feuilles et l'écorce de cet arbre sont très riches en huiles essentielles, ce qui lui confère de nombreuses propriétés thérapeutiques. En fonction de sa localisation dans le monde, la composition de son huile essentielle diffère et portera donc des noms d'huiles essentielles différentes.

Cette thèse se focalise sur trois huiles essentielles de chémotypes différents issus du camphrier : le Ravintsara (*Cinnamomum camphora* CT cinéole), le Bois de Hô (*Cinnamomum camphora* CT linalol) et l'HE de camphre (*Cinnamomum camphora* CT camphre).

La première partie s'intéresse à la botanique du genre *Cinnamomum*, à la description de l'espèce *Cinnamomum camphora* ainsi qu'à la répartition géographique du camphrier. La seconde partie traite des généralités sur les huiles essentielles et de l'importance de leur qualité. La fin de cette deuxième partie est axée les différents chémotypes du camphrier. Enfin, la thèse aborde, d'une part, les différentes propriétés biologiques des huiles essentielles issues du camphrier ; d'autre part, la confusion qu'il existe entre le Ravintsara et le Ravensare.

**MOTS CLES :** aromathérapie, *Cinnamomum camphora*, ravintsara, bois de hô, camphrier, chémotypes, Madagascar, Asie, normes, ravensare

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Mme Françoise COUIC-MARINIER	Laboratoire de Pharmacognosie	Expérimentale <input type="checkbox"/>
Mme Dominique LAURAIN-MATTAR		Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/>
		Thème <b>3</b>

**Thèmes**

1 – Sciences fondamentales  
3 – Médicament  
5 - Biologie

2 – Hygiène/Environnement  
4 – Alimentation – Nutrition  
6 – Pratique professionnelle