

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ LARBI TEBESSI -TEBASSA-  
FACULTÉ DES SCIENCES EXACTES ET DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUÉE



**Mémoire en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master L.M.D.**

**Domaine** : Science de la nature et de la vie  
**Filière** : Sciences biologiques  
**Option** : Biochimie appliquée

## **Thème**

**Etat des connaissances portant sur Les activités biologiques de l'huile  
essentielle de *Syzygium aromaticum***

**Présenté par**

**KHEMAISSIA Oumaima**

**BENCHIKH Asma**

**Devant le jury**

**M<sup>me</sup> Amamra Rima**

**MCB** Université Larbi Tebesi -Tebessa- **Présidente**

**M<sup>me</sup> Hamiri Manel**

**MAA** Université Larbi Tebesi -Tebessa- **Examinatrice**

**M<sup>me</sup> Messaadia Amira**

**MCB** Université Larbi Tebesi -Tebessa- **Promotrice**

**Date de soutenance : 07.06.2022**



## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*A ma grand-mère*

*Que dieu le tout puissant te garde dans son vaste paradis*

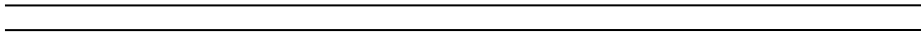
*A ma très chère mère*

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit  
ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes cotes a  
toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles*

*Ma cousine Manel*

*A tous mes amis Imen.D ,ImenH, ,Achwak, Douaa, Wissal, chaima .*

*A Asma Benchikh*



*Je dédie ce modeste travail*

*A l'homme de ma vie , mon exemple éternel, mon soutien moral, ma source de joie  
et de bonheur , celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon*

*père*

*laadi Benchikh*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, maman*

*Hassina Ziouche*

*A mon frère Abd razak et ma sœur Nouara*

*A celui qui ma soutenue tout au long de ce projet : mon fiancé*

*Chiheb eddine Chaib*

*A Oumaima Khemaissia*

## *Remerciement*

*Nous tenons à remercier tout d'abord, Dieu qui nous a donné la force et le courage pour réaliser ce travail.*

*Notre première pensée va tout naturellement à notre encadreur **Dr. Messaadia Amira** qui nous a apporté aides et conseils pour la réalisation de ce travail.*

*Nos sincères remerciements vont également aux membres de jury de thèse pour avoir accepté de nous assister et évaluer.*

*A tous nos amis spécialement les biochimistes et les biologistes de Université  
Tébessa*

## ***Résumé***

Ces dernières années, les thérapeutiques à base de plantes ont reçu une attention considérable car ils renferment une source incontournable de substances biologiquement actives. Dans notre étude, nous nous sommes intéressées au clou de girofle, une épice originaire de l'Indonésie, très appréciée pour ses vertus culinaires et médicinales.

L'huile essentielle de giroflier est surtout connue en médecine dentaire pour ces propriétés antalgiques. Depuis, plusieurs investigations chimiques ont permis d'identifier les composants majeurs impliqués dans son pouvoir thérapeutique, parmi lesquels on peut citer l'eugénol, d'acétyl-eugénol et le  $\beta$ -caryophyllène.

A la lumière de ces études, l'huile essentielle de *Syzygium Aromaticum* est qualifiée comme anti-inflammatoire et antioxydante, antimicrobienne à large spectre.

**Mots clés :** *Syzygium Aromaticum* ; clou de girofle ; activités biologiques ; eugénol ; huile essentielle.

## ملخص

في السنوات الأخيرة ، حظيت العلاجات العشبية باهتمام كبير لأنها تحتوي على مصدر أساسي للمواد الفعالة بيولوجيًا. ركزنا في دراستنا على القرنفل ، وهو أحد التوابل الأصلية في إندونيسيا ، وهو ذو قيمة عالية لخصائصه الغذائية والطبية.

يشتهر زيت القرنفل الأساسي في طب الأسنان بخصائصه المسكنة. منذ ذلك الحين ، حددت العديد من التحقيقات الكيميائية المكونات الرئيسية التي تدخل في قوتها العلاجية ، بما في ذلك الأوجينول والأسيتيلوجينول وبيتا-كاريوفيلين.

على ضوء هذه الدراسات، تم تصنيف الزيت العطري لـ *Syzygium Aromaticum* كمضاد للالتهابات ومضاد للأكسدة ومضاد للميكروبات واسع الطيف.

الكلمات المفتاحية: *Syzygium Aromaticum* ؛ القرنفل ؛ الأنشطة البيولوجية؛ الأوجينول؛ زيت أساسي.

## ***Abstract***

In recent years, herbal remedies have received a lot of attention because they contain a primary source of biologically active substances. In our study we focused on cloves, one of the spices indigenous to Indonesia, which is highly valued for its culinary and medicinal properties.

Clove essential oil is known in dentistry for its analgesic properties. Since then, numerous chemical investigations have been made to determine its major constituents responsible for its therapeutic power, including eugenol, acetylogenol, and beta-caryophyllene.

In light of these studies, *Syzygium Aromaticum* essential oil has been classified as anti-inflammatory, antioxidant, and antimicrobial broad spectrum.

**Keywords :** *Syzygium Aromaticum*; clove ; biological activities; eugenol; essential oil.

# Table des matières

Remerciement et dédicace

Résumé (français- arabe -anglais)

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des abréviations

## Introduction

### Revue bibliographique

#### 1. Matériel végétal

<b>1.1.</b>	<b>Giroflier d’hier a aujourd’hui.....</b>	<b>03</b>
<b>1.2.</b>	<b>Aires de répartition et production mondiale.....</b>	<b>03</b>
<b>1.3.</b>	<b>Description botanique et Position systématique.....</b>	<b>04</b>
1.3.1.	Classification de l’espèce.....	04
1.3.2.	Description morphologique de clou de girofle (syzygium aromaticum).....	05
1.3.3.	Culture et récolte.....	06
1.3.4.	Arome et saveur.....	07
<b>1.4.</b>	<b>Composition chimique de girofle.....</b>	<b>07</b>
<b>1.5.</b>	<b>Utilisation de clou de girofle.....</b>	<b>08</b>

#### 2. Les huiles essentielles

<b>2.1.</b>	<b>Historique.....</b>	<b>10</b>
<b>2.2.</b>	<b>Définition.....</b>	<b>10</b>
<b>2.3.</b>	<b>Préparation systématique et localisation dans les plantes.....</b>	<b>10</b>
<b>2.4.</b>	<b>Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....</b>	<b>11</b>
<b>2.5.</b>	<b>Composition chimique de l’huile essentielle.....</b>	<b>12</b>
<b>2.6.</b>	<b>Les techniques d’extraction des huiles essentielles.....</b>	<b>14</b>
2.6.1.	Hydro-distillation simple.....	14
2.6.2.	Entrainement à la vapeur d’eau.....	14
2.6.3.	Extraction à froid.....	14
2.6.4.	Extraction par les solvants.....	14
2.6.5.	Extraction au fluide supercritique.....	14
2.6.6.	Extraction par micro-ondes.....	15



<b>2.6.7.</b>	<b>Enfleurage.....</b>	<b>15</b>
	<b>Analyse des articles scientifiques</b>	
<b>3.</b>	<b>Activités biologiques de l'huile essentielle des clous de girofle.....</b>	<b>16</b>
<b>3.1.</b>	<b>Activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i>...</b>	<b>16</b>
<b>3.2.</b>	<b>Pouvoir antifongique de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i>.....</b>	<b>19</b>
<b>3.3.</b>	<b>Pouvoir antiviral de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i>.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4.</b>	<b>Pouvoir anti-inflammatoire de l'huile essentielle de <i>S. aromaticum</i>.....</b>	<b>22</b>
<b>3.5.</b>	<b>Pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i>.....</b>	<b>24</b>
<b>3.6.</b>	<b>Pouvoir cytotoxique et anticancer de HE de <i>S. aromaticum</i>.....</b>	<b>26</b>
<b>3.7.</b>	<b>Autres activités pharmacologiques liée à l'eugénol.....</b>	<b>27</b>
	<b>Conclusion et perspectives</b>	
	<b>Références bibliographiques</b>	

## Liste des tableaux

N	Titre	Page
1	Dénomination internationales de <i>Syzygium Aromaticum</i>	04
2	Les principaux composants chimiques de <i>Syzygium Aromaticum</i>	08

## Liste des figures

<b>N</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Les principales payes productrices de clou de girofle au monde	<b>03</b>
<b>2</b>	Allure d'un Giroflier de Madagascar	<b>05</b>
<b>3</b>	Branche de giroflier portant les clous en inflorescence terminale	<b>06</b>
<b>4</b>	Boutons floraux et fleurs de giroflier	<b>06</b>
<b>5</b>	<i>Syzygium Aromaticum</i>	<b>06</b>
<b>6</b>	Structure de l'eugénol	<b>07</b>
<b>7</b>	Quelques composés de l'huile essentielle des clous de girofle	<b>13</b>

## Liste des abréviations

CMI : Concentration minimale inhibitrice

Cox : cyclo-oxygénase

HE : huile essentielle

HSV : virus herpès simplex

HCV : hépatite C virus

Ic : intervalle de confiance

Inos : inducible nitric oxide synthase

μL : micro litre

MDA : méthylènedioxyamphétamine

Nf-kb : nuclear factor kappa B

Qs : quorum sensing



# *Introduction générale*

### Introduction

Depuis la nuit des temps, l'homme s'est toujours servi des plantes pour calmer ses douleurs, il y a 200 ans encore, les moyens thérapeutiques naturels étaient les seules remèdes dont disposait l'humanité (**Atmani et Baira, 2015**).

Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE) connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et thérapeutique (**Atmani et Baira, 2015**). La composition chimique des HE est assez complexe, les composés terpéniques et aromatiques représentant les principaux constituants. On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles. La nature de la fonction chimique du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques (**Atmani et Baira, 2015**).

Les domaines d'application des huiles essentielles sont très variés, à savoir, dans l'industrie alimentaire comme additifs, dans les cosmétiques, les parfumeries, les industries de savon et de détergents. Elles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments, sous forme de crèmes, gélules et suppositoires. Leur utilisation s'appelle "*l'aromathérapie*", qui consiste à utiliser les huiles essentielles pour le traitement de diverses manifestations pathologiques. De ce fait, un immense gisement de molécules actives d'origine végétale se retrouve dans la nature, on continue aujourd'hui à rechercher ces plantes susceptibles d'être utilisées comme base de nouveaux traitements ouvrant des perspectives extrêmement prometteuses pour l'industrie du médicament (**Davet et Rouxel, 1997**).

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés au giroflier (*Syzygium aromaticum*). Cette plante médicinale est utilisée traditionnellement pour soigner les affections respiratoires et digestives (**Aggarwal et Shishodia, 2006 ; Menghani et al., 2014**). La richesse en métabolites secondaires et plus spécifiquement en huile essentielle, confère plusieurs effets biologiques dont les activités anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anticancéreuses et antioxydantes (**Atmani et Baira, 2015**).

Cependant, peu de personnes connaissent ses véritables propriétés. Les recherches sur l'histoire de cette plante montrent que les clous de girofle avaient autrefois beaucoup plus de valeur, dès leur essor durant les grandes découvertes qui ont engendré le commerce des épices, ce qui a su motiver plusieurs nations à partir à sa conquête et cela pendant plusieurs siècles (**Kacemi, 2017**). La plante renferme 15 à 20% d'HE extraite à partir des boutons floraux du giroflier. L'essence renferme 85 à 93 % en volume d'eugénol libre et combinés (**Atmani et Baira, 2015**). Selon plusieurs études, l'eugénol a été associé à un certain nombre d'actions pharmacologiques, telles qu'antipyrétique (**Taher et al., 2015**), anticancéreux (**Dervis et al., 2017**) anesthésique (**Tsuchiya, 2017**), anti-inflammatoire (**Kim, 2003**), analgésique (**Baldisserotto et al., 2018**) et antimicrobien (**Dai et al., 2013 ; Hamed et al., 2013**). L'eugénol est un analgésique et un anesthésique couramment utilisé en dentisterie. Diverses études ont observé qu'il entrave les canaux  $\text{Na}^+$  régulant la tension dans les neurones principaux des dents (**Park et al., 2006 ; Hwang et al., 2020**).

A la lumière de ces données, notre étude vise à évaluer théoriquement les activités biologiques de l'huile essentielle extraite à partir de clou de girofle.



# *Revue bibliographique*

*Matériel végétal*

## 1. Matériel végétale

### 1.1. Giroflier d'hier à aujourd'hui

Le girofle est une épice connue depuis des lustres, il est d'abord enregistré à la période des Han chinois (220 ans avant J-C) (**Danthu *et al.*, 2014**). Le nom clou de girofle est dérivé du mot français clou et clavo espagnol, les deux signifiant «clou», en raison de sa ressemblance avec la forme d'un clou (**Kumar *et al.*, 2011**). Depuis des décennies, le clou de girofle est utilisé pour des vertus culinaires et médicinales. Il est beaucoup utilisé en médecine dentaire pour sa propriété anesthésique local (**Kozam, 1977 ; Ohkubo et Shibata, 1997**).

Aujourd'hui, l'eugénol est mélangé avec de l'oxyde de zinc pour produire un ciment utilisé en tant que matériau de restauration temporaire permettant à la fois un excellent scellement et une anesthésie de la pulpe dentaire (**Adli, 2015**). L'eugénol est aussi utilisé pour soulager la douleur associée à la pose de prothèses dentaires (**Garibaldi *et al.*, 2015**).

### 1.2. Aires de répartition de girofle

Les clous de girofle sont originaires de l'Indonésie et se trouvent surtout dans le nord et le centre de Maluka (Moluques) et Papua Barat (Irian Jaya) (**Bhowmik *et al.*, 2012**). De nos jours, il est largement cultivé au Brésil, Haïti, Kenya, en Malaisie, à Maurice, au Mexique et aux Seychelles (**Lim, 2014**) en particulier aux Zanzibar, à Madagascar, aux Philippines, en Inde, au Sri Lanka et la Tanzanie (**Charles, 2013**).



Figure 01. Les principales payes productrices de clou de girofle au monde

Trade Map 2019

### 1.3. Description Botanique et systématique

#### 1.3.1. Classification de l'espèce

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum* (Faucon, 2012 ; Pulikottil et Nath, 2015):

- *Caryophyllus aromaticus* L.(1753)
- *Eugenia caryophyllata* Thunb.(1788)
- *Eugenia caryophyllus* Spreng.(1825)
- *Eugenia aromatica* (L.) Baill.(1876)
- *Jambosa caryophyllus* (Thunb.) Nied. (1893)
- *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry, (1939)

<b>Règne</b>	: Plantae
<b>Sous-règne</b>	: Tracheobionta
<b>Embranchement</b>	: Magnoliophyta (= phané)
<b>Sous-embranchement</b>	: Magnoliophytina (= angiospermes)
<b>Classe</b>	: Magnoliopsida (= dicotylédones)
<b>Sous classe</b>	: Rosidae
<b>Ordre</b>	: Myrtales
<b>Famille</b>	: Myrtaceae- Myrtacées
<b>Sous-famille</b>	: Myrtoideae.
<b>Genre</b>	: <i>Syzygium</i> Gaertn. 6 espèce(s) dans le genre <i>Syzygium</i>
<b>Espèce</b>	: <i>S. aromaticum</i> (Ghedira, Goetz, & Le Jeune, 2010)

**Tableau 01 : Dénomination internationales de *Syzygium aromaticum***

Nom Commun	Giroflier,Laung
Nom Français	Clou de girofle, arbre au clou
Nom Anglais	Clove,buds
Nom Arabe	Kourounfoul(القرنفل)

### 1.3.2. Description morphologique de clou de girofle (*Syzygium Aromaticum*)

Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum* L.) est une épice aromatique possédant un ligneux de 6 à 12 m de haut, qui peut vivre jusqu'à 150 ans. C'est un arbre sempervirent, de forme pyramidale ou conique, qui possède un tronc principal de forme oblique. Il est recouvert, ainsi que tous les rameaux, d'une écorce lisse et de couleur gris clair. Chaque rameau porte à son extrémité un bouquet de 4 à 10 feuilles avec un bourgeon terminal. De nos jours, il ressemble souvent à un arbuste car il est régulièrement taillé pour faciliter la cueillette (**Atmani et Baira, 2015**).



**Figure 02. Allure d'un Giroflier de Madagascar (Barblet, 2015)**

Les racines superficielles forment un chevelu utilisant facilement les matières minérales du sol (**Gupta et al., 2015**). Ses feuilles, de 08 à 12 cm de long, sont persistantes et coriaces, elles sont positionnées de manière opposée, pétiolées, ovales, aux limbes lancéolés, à la face supérieure vert rougeâtre et à la face inférieure vert sombre, entrecoupée légèrement. Son feuillage est aromatiques et produisent un fort arôme de clou de girofle lorsqu'ils sont froissés (**Goetz et Ghedira, 2012**).

Les fleurs sont disposées en cymes terminales de 2-5 fleurs parfumées formant 3 fourches, le réceptacle floral est presque cylindrique, voire un peu angulaire. Il porte un ovaire infère, biloculaire, chaque loge contenant une vingtaine d'ovules. Au-dessus, le style est bref et se termine en stigmate bilobé. En ce qui concerne l'androcée, les étamines sont nombreuses et regroupées en 4 faisceaux.



**Figure 03. Branche de giroflier portant les clous en inflorescence terminale (Barblet, 2015 ; Hussien, 2015)**

Les fleurs à 4 pétales blanc rosé sont caractérisées par leurs sépales rouges persistants. (Barblet, 2015).



**Figure 04. Boutons floraux et fleurs de giroflier (Barblet, 2015)**

### 1.3.3. Récolte et culture

Le moment le plus favorable à la récolte des boutons floraux, est avant l'épanouissement de la corolle (Ghedira *et al.*, 2010), quand ils commencent à prendre une teinte rosée.

Les clous de girofle sont mis ensuite sur des claies au soleil ou à feu doux pour les sécher. Au cours du séchage, les clous perdent entre 67 et 72 % d'eau, jusqu'à ce qu'ils deviennent brun rouge (Benzeggouta, 2015).



**Figure 05. *Syzygium Aromaticum* (Teuscher *et al.*, 2005) ►**

Les clous et les griffes doivent être séchés avant d'être stockés. Ce stockage permet la vente de la récolte tout au long de l'année. En ce qui concerne les feuilles, une fois récoltées elles sont immédiatement distillées (**Barblet, 2015**)

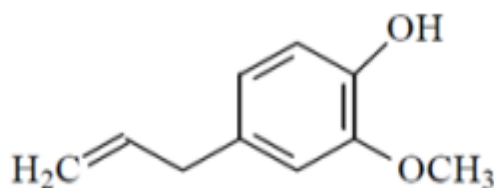
Concernant la culture et dans les conditions idéal, le giroflier a besoin d'un sol volcanique (ou sédimentaire), au bord de mer, avec une forte pluviométrie bien répartie sur l'année, et un ensoleillement plus marqué à l'apparition des inflorescences (**Ramarijaona, 1985; Mailhebiau, 1989**).

### 1.3.4. Arôme et Saveur

Les clous de girofle laisse une sensation d'engourdissement dans la bouche (**Charles, 2013**) ; ils ont un arôme chaud, épicé, poivré et piquant (**Gupta et Kaur, 2015**).

## 1.4. Composition Chimique de Clou de Girofle

Le clou de girofle est riche en substances bioactive telle que l'huile essentielle (environ 15 à 20%). Celle-ci contient selon la Pharmacopée européenne, de l'eugénol (75 à 88% de l'huile), de l'acétate d'eugénol (4 à 15%), des composés terpéniques (5 à 14%) riche spécialement dans les boutons floraux, les pédoncules fructifères et les fruits (**Direction de la qualité du médicament du conseil de l'Europe, 2004**).



**Figure 6: Structure de l'eugénol**

Le pédoncule floral (griffes) renferme 5 à 6% d'huile, dans les feuilles la quantité d'huile est de 3 à 4%. D'autres constituants sont également présents dans le giroflier tel que les flavonoïdes, les tanins, l'acide phénolique, les stérols et triterpènes, les glucides (amidon et fibre cellulosique), les sels minéraux et les chromons (**Max et robert, 2003; Shauenberg et Paris, 2013**)



**Tableau 2:** les principaux composants chimiques de *Syzygium aromaticum* (Ghedira *et al.*, 2010)

Famille de constituants	Détail des constituants
<b>Huile essentielle 15 à 20 %</b>	Eugénol 80 à 90 %
	Acétat d'eugénol 5 à 10 %
	$\alpha$ et $\beta$ caryophyllène 5 à 12 % et $\beta$ -caryophyllène époxyde 0,5% $\alpha$ humulène 0.6 %
	Cétones aliphatiques.
<b>Tanins (12 %)</b>	Tanins gallique et ellagique, acide gallique, acideprotocatéchiq, eugéniine, casuarictine , 1 ,3-di-o-galloyl-4,6-(S)-hexahydroxydphénoyl-beta-D-glucopyranose,tellimagrandine
<b>Flavonoïdes (0.4 %)</b>	Quercétine ,kaempférol, rhamnénine, eugénétine
<b>Chromons</b>	Biflorine, Isobiflorine, hétérosides de chromone
<b>Corps gras</b>	Stérols, glycosides stéroliques, huile grasse (10 %)
<b>Autres</b>	Acides phénols, tri terpènes

### 1.5. Utilisation de clou de girofle

Les usages du clou de girofle sont très variés :

❖ **Domaines Culinaires :** En cuisine, il est présent dans le pain d'épices, les biscuits à la cannelle, les marinades et les infusions (Teuscher *et al.*, 2005). Entier ou en poudre, il sert à aromatiser les conserves de légumes, les compotes de pommes et autres fruits (Georgetti, 2003).

❖ **Domaine Agriculture :** Avec son pouvoir herbicide et protecteur des cultures contre les ravageurs (insectes et les champignons), il trouve son application comme insecticide sur les charançons nuisibles des graines en stocks (Alice, 2011).



❖ **Domaine Médicinale** : Le clou de girofle est anti-inflammatoire et antibactérien, il est utile pour lutter contre beaucoup d'infections urinaires, digestives et cutanées.

Les boutons floraux du giroflier possèdent des propriétés antiseptiques et anesthésiques qui sont reconnues depuis très longtemps et proposées dans les douleurs dentaires. Il entre dans la composition du khôl, primitivement onguent ophtalmique (**Atmani et Baira, 2015**).

Les clous de girofle soulagent les troubles digestifs tels que les flatulences et les coliques. Ils apaisent aussi la toux, les spasmes musculaires lors de leur application locale (**Iserin et al., 2001**). Il permet de soulager les spasmes musculaires lors de son application locale (**Dupont et Guignard, 2012**).

En Asie tropical, ils furent souvent recommandés en cas de paludisme, de choléra, de tuberculose, de la gale et de certaines affections virales (**Iserin, 2007**).

❖ **Stimulant physique et intellectuel** : Le clou de Girofle a une action stimulante bien dans les cas d'asthénie intellectuelle (perte de mémoire) ; Corporelle ; il stimule aussi et augmente également les contractions de l'utérus lors de l'accouchement, considéré comme aphrodisiaque (**Iserin et al., 2001**).

# *Les huiles essentielles*

### 2. Les huiles essentielles

#### 2.1. Historique

L'histoire des huiles essentielles remonte à 4000 ans avant JC. Les Egyptiens, les Grecs, les Romains, les Perses, les Chinois et les Indiens étaient connus pour avoir pratiqué l'aromathérapie pendant des siècles pour la conservation des momies, la désinfection des plaies, la confection des pommades, des parfums et des boissons aromatiques (Möller, 2008).

Les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des plantes aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide. Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation (Christine 2020).

Aujourd'hui les huiles essentielles sont en ventes dans les pharmacies, prêt directement à l'emploi pour les consommateurs et plus facile à utiliser (gélules, sirops, gouttes, pommades shampoings, savons ...).

#### 2.2. Définition

Une huile essentielle est un liquide concentré odorant et hautement volatiles, de composition complexe. Elles sont obtenues à partir de différentes parties de la plante (Kone, 2001) par plusieurs procédés d'extraction comme l'entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation, ou l'expression à froid. Ces composées hydrophobes appartiennent aux diverses séries aliphatiques, aromatique et térpéniques (AFNOR, 2000).

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, ex. : *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Cupressaceae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Piperaceae*, *Poaceae*, *Rutaceae* et *Zingiberaceae*, etc. (Bruneton, 2009).

#### 2.3. Répartition systématique et localisation dans les plantes

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : en particulier les sommités fleuries (ex. lavande), les feuilles (ex. laurier) et bien que cela soit moins habituel, dans les écorces (ex. cannellier), les bois (ex. santal, camphrier), les racines (ex. vétiver), les rhizomes (ex. curcuma, gingembre), les fruits (tout épices, anis, badiane), les graines (ex.

muscade) et les **boutons floraux (ex. clou de girofle) (Paris et Hurabielle, 1981; Vangelder, 2017).**

Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. Quantitativement, les teneurs en huile essentielle sont plutôt faibles, assez souvent inférieures à 10 ml/kg. **Des teneurs fortes comme celle du bouton floral de girofler (150 ml/kg et plus dans le bouton séché) sont exceptionnelles ((Degryse *et al.*, 2008 ; Bruneton, 2009).**

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante :

- cellules à huiles essentielles des *Lauraceae* ou des *Zingiberaceae* ;
- poils sécréteurs des *Lamiaceae* ;
- poches sécrétrices des *Myrtaceae* ou des *Rutaceae* ;
- canaux sécréteurs des *Apiaceae* ou des *Asteraceae* (**Baser et Buchbauer, 2010; Lakhdar, 2015).**

### 2.4. Propriétés physicochimiques des huiles essentielles

□ liquides à température ambiante. Il existe cependant des exceptions, par exemple : l'huile essentielle de myrthe est visqueuse (**Vangelder, 2017).**

□ la solubilité est très grande dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques, et est totale dans les huiles grasses parce que elles sont lipophiles et donc très peu solubles dans l'eau (**Franchomme *et al.*, 2001).**

□ les huiles essentielles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras, par évaporation, peuvent retourner à l'état d'odeur sans laisser de traces, ce qui les différencie des huiles fixes (olive, tournesol...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (**Bernadet, 2000).** La volatilité étant très liée à la composition chimique, les mono terpènes sont par exemple beaucoup plus volatiles que les sesquiterpènes (**Kaloustian *et al.*, 2012).**

□ La plupart des huiles essentielles ont une couleur jaune presque imperceptible lors de leur obtention, elles deviennent plus foncées au cours de la conservation (oxydation) (**Vangelder, 2017; Kaloustian *et al.*, 2012).**

□ Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de sassafras, **de girofle** ou de cannelle constituent des exceptions) (**Vangelder, 2017**).

### 2.5. Composition chimique de l'HE des clous de girofle

Une huile essentielle est chimiquement bien déterminée. Son utilisation en thérapeutique est très réglementée car c'est un mélange extrêmement complexe de composés purs très actifs et toxiques. Ils peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les **terpénoïdes** (composés terpéniques) et les **phénylpropanoïdes** (**Buchanan et al., 2000**). Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation (constituants non volatils) (**Bruneton, 2009**).

Les clous de girofle renferment à l'état frais environ 15 à 20% d'huile essentielle, dont 78 à 98% d'eugénol. En ce qui concerne la composition, la Pharmacopée européenne définit des intervalles de quantité recommandée pour chaque constituant (**direction de la qualité du médicament du conseil de l'Europe, 2004**) :

- 75,0 et 88,0 % pour l'eugénol
- 5,0 et 14,0 % pour le  $\beta$ -caryophyllène
- 4,0 à 15,0 % pour l'acétyl-eugénol (acétate d'eugényle)

### Les phénylpropanoïdes

Le composé prépondérant dans les huiles essentielles du girofler est l'eugénol. Il appartient aux phénylpropanoïdes (**Klein et al., 2013**). Il s'agit de composés fortement anti-infectieux (bactéricides, virucides et parasitocides), ils sont également immunostimulants. Parmi les trois « phénols » les plus puissants dans les huiles essentielles : carvacrol, thymol, et eugénol, l'eugénol est le moins toxique (**Klein et al., 2013**).

### Les sesquiterpènes

Ce sont des terpènes de formule  $C_{15}H_{24}$ , lors de la distillation, ces grosses molécules sont trop lourdes pour être entraînées dans le distillat. Elles ne sont donc pas quantitativement majoritaires dans les huiles essentielles. Le  $\beta$ -caryophyllène constitue un exemple de sesquiterpène présente dans l'H.E. de girofler (5 à 14%). Les sesquiterpènes sont des molécules calmantes et anti-inflammatoires (**Mailhebiau, 1989**). En effet, leur action stabilisatrice sur la membrane des cellules basophiles, permet de réguler la libération d'histamine, diminuant ainsi les manifestations inflammatoires (démangeaisons, irritations)

(Klein *et al.*, 2013). L'H.E. de giroflier contient d'autres sesquiterpènes comme l' $\alpha$ -humulène <1%, camphène 1%, et le  $\gamma$ -pinène <1% (Mailhebiau *et al.*, 1992).

### Les esters aromatiques

Un ester est le produit de la combinaison chimique d'un alcool aromatique et d'un acide. Dans le cas de l'H.E. de clou de girofle, l'ester est l'acétate d'eugényle, issu de l'eugénol. Un autre exemple d'ester aromatique est le salicylate de méthyle, qui lui est présent en très petite quantité dans l'huile essentielle (<1%) (Mailhebiau *et al.*, 1992). Ce sont des molécules antispasmodiques musculotropes et neurotropes. Au même titre que l'eugénol, l'acétate d'eugényle possède également des propriétés antibactériennes. Mais c'est surtout un stimulant général, très utile en cas de dépression hivernale (Klein *et al.*, 2013).

### Autres composants

Bien que présents en faible quantité dans l'huile essentielle de clou de girofle, ces composants renforcent l'action des constituants, révélant une synergie d'action.

- **Les Aldéhydes aromatiques :** L'oxydation de l'eugénol aboutit à la formation d'un aldéhyde aromatique : la vanilline. C'est par le biais de ce procédé que l'arôme artificiel de la vanille a été synthétisé durant de nombreuses années.

- **Les oxydes sesquiterpéniques :** Ces molécules sont issues de l'oxydation des sesquiterpènes, et sont peu représentées dans les huiles essentielles. Leurs propriétés restent mal connues, mais il s'agirait de molécules anti-inflammatoires et faiblement anxiolytiques (Jirovetz *et al.*, 2006) Parmi elles, l'oxyde de caryophyllène qui est présent dans l'H.E. de clou de girofle (<1%).

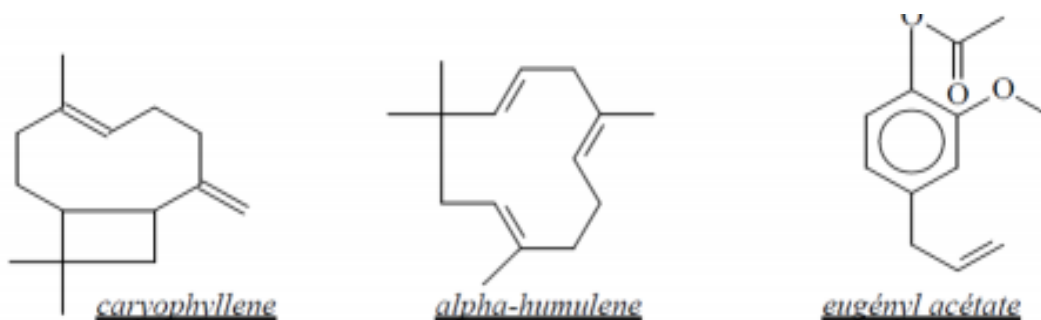


Figure 07. Quelques composés de l'huile essentielle des Clous de Girofle (Barblet, 2015)

## 2.6. Les techniques d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs procédés d'extraction des huiles essentielles. Le choix se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter et des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire (**Bruneton, 2009**).

**2.6.1. Hydro-distillation simple :** Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité (**Piochon, 2008**).

**2.6.2. Entraînement à la vapeur d'eau:** La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. La vapeur, chargée de l'essence, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier. Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle (**Labioud, 2016**).

**2.6.3. Extraction à froid :** Ce procédé, le plus simple et celui qui conserve le mieux l'intégrité de l'essence, est également le plus limité. En effet, il ne peut s'appliquer qu'à une famille botanique, celle des *Rutaceae*, pour extraire l'essence du zeste de ses fruits. La méthode consiste à déchirer mécaniquement les poches à essence que l'on trouve en grande quantité sur l'épicarpe de ces fruits, puis à séparer le produit d'extraction de la matière végétale solide. Aujourd'hui, la méthode la plus couramment employée, permet une extraction simultanée du jus et de l'huile essentielle, par pressage vertical des fruits entiers à l'aide de coupelles métalliques, et ces deux éléments sont par la suite séparés par centrifugation (**Couecou et al., 2001**).

**2.6.4. Extraction par les solvants:** La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool (**Labioud, 2016**).

**2.6.5. Extraction au fluide supercritique :** Elle consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique ( $P=72.8$  bars et  $T=31.1^{\circ}\text{C}$ ). Le fluide ainsi obtenu traverse la plante et se charge en composé à extraire. Ensuite, il est détendu et passe en phase gazeuse et finalement se sépare du composé extrait (**Pellerin, 2001**).

L'extraction des huiles essentielles par le CO<sub>2</sub> supercritique fournit des huiles de très bonne qualité et en un temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques (**Kazazi et al., 2007**).

**2.6.6. Extraction par micro-ondes:** Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant. On filtre et on récupère ensuite L'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (**Paré, 1997;Abbes, 2014**).

**2.6.7. Enfleurage:** permettant l'exploitation des organes fragiles, la procédure met à profit la liposolubilité des composés odorants des végétaux. Le matériel végétal est mis sur des plaques de verre recouvertes d'une mince couche de graisse. Cette méthode peut être réalisée à froid ou à chaud, et on obtient ainsi des absolues de pommade (**Lardry et Haberkorn, 2007**).



# *Analyse des articles scientifiques*

### 3. Activités biologiques de l'huile essentielle des clous de girofle

#### 3.1. Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

L'émergence de la résistance aux antibiotiques est devenue un vrai problème de santé publique. La principale stratégie utilisée pour contrecarrer ce problème a été l'utilisation des combinaisons d'antibiotiques mais l'antibio-résistance était toujours là (**Hemaiswarya et al., 2008**). Ceci a poussé les recherches thérapeutiques vers des solutions alternatives, notamment la pharmacologie phytofilière et, en particulier, l'Aromathérapie, utilisant l'essence aromatique des plantes pour prévenir et soigner certaines maladies grâce à leur richesse en huiles essentielles, alcaloïdes, polyphénols, etc. (**Girard, 2010**). Ces composants bioactifs sont qualifiés de pouvoirs antibactériens spécifiques, ils peuvent inhiber ou ralentir la croissance des microorganismes (**De Martino, 2009**).

Les HE et leurs composants majoritaires se sont révélés efficaces dans le contrôle de la propagation de certains agents bactériens (**Cilletelacroit, 2007 ; Nazzaro et al., 2013**). Les propriétés antibactériennes des HE sont connues depuis longtemps et aujourd'hui, un bon nombre de publications ont confirmé leur effet bactériostatique et bactéricide contre des souches bactériennes pathogènes même parfois à de très faibles concentrations (**Talbaoui et al., 2012**).

Plusieurs molécules présentes dans les HE sont douées de propriétés antibactériennes, en particulier les alcools, les aldéhydes et les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'**eugénol**). L'huile essentielle de giroflier fait partie des huiles ayant le plus fort pouvoir antibactérien (avec l'origan d'Espagne, le thym et la cannelle) (**Rahyoun, 2006**).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* pourrait être attribué aux phénols et notamment à son constituant majoritaire l'**eugénol** (**Rhayoun, 2006**). Selon l'étude effectuée par **Mytle et al. (2006)**, les taux de croissance de *Listeria* souches monocétogènes ont significativement réduits par un traitement de 1 % et 2% d'H.E. de clou de girofle. En outre, **Ogunwande et al. (2005)** ont constaté que l'huile essentielle du fruit a montré une forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, tandis que l'huile essentielle des feuilles inhibe fortement la croissance de *Bacillus cereus* avec une CMI de 39 µg/mL.

En outre, *Staphylococcus epidermidis* et les autres espèces de staphylocoques à coagulas négative sont couramment impliqués au cours des infections nosocomiales ou associées aux soins, en particulier sur matériel (bactériémies sur cathéter, endocardites sur prothèse, infections de site opératoire). Leur implantation dans le microbiote cutanéomuqueux et leur capacité à synthétiser un biofilm protecteur vis-à-vis des défenses de l'hôte sont les principaux déterminants du pouvoir pathogène de ces bactéries opportunistes (**Barbier, 2015**). Une enquête est entretenue pour évaluer l'activité de l'huile essentielle des clous de girofle sur 32 souches de *Staphylococcus epidermidis* multirésistantes isolées des biomatériaux de dialyse à l'aide d'un test de diffusion sur disque. Chaque bactérie souche a démontré un degré significatif de sensibilité à l'huile essentielle, et une activité étendue contre les bactéries Gram-positives, produisant une zone claire d'inhibition. Cependant, le niveau d'activité le plus élevé a été observé contre cinq souches de *S. epidermidis* (CIP106510, E13, S27, S23 et S38), avec une zone d'inhibition > 16 mm (**Enzo et Susan, 2002 ; Bagamboula et al., 2004**).

L'eugénol n'est pas le seul composant dans l'H.E. de clou de girofle à avoir une activité antibactérienne, l'acétate de l'eugényl possède également des propriétés bactéricides sur les bactéries aussi bien Gram négative que Gram positive. **Musthafaks et Voravuthikunchisp, 2015**) ont montré que la concentration de 150 µg/ml d'acétate d'eugényl inhibe la production des facteurs de virulence comme la pyocyanine et pyoverdine et diminue l'activité des protéases de *P.aeruginosa*. Avec la même concentration, l'acétate d'eugényl diminue l'activité hémolytique du *S.aureus* et diminue la production du pigment staphyloxanthine. Selon **Ferah et al. (2002)**, l'efficacité antimicrobienne d'une huile essentielle est liée à la nature et à la teneur de ses différents constituants qui peuvent agir en synergie. La nature des composés très volatils et instables des huiles essentielles les rendent très instables, et doivent être stockées dans des conditions adéquates, permettant de conserver leurs propriétés chimiques ainsi que physiques. La chaleur, la lumière (UV solaires) et l'O<sub>2</sub> de l'air favorisent l'oxydation des huiles essentielles ce qui entraîne une dénaturation de leurs molécules actives, et donc une perte réelle d'activité.

**Seladji, 2014 et Benfekih, 2015** ont évalué la sensibilité de quelques bactéries vis-à-vis de l'huile essentielle du clou de girofle, les résultats ont montré que les souches bactériennes Gram(-) testées sont très sensibles à l'huile essentielle du clou de girofle notamment *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Klebsiella* et *Escherichia coli*, en revanche l'huile essentielle du clou de girofle n'a pas révélé une activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*

(Ghannadi *et al.*, 2012).

Certaines bactéries Gram (-) résistent à l'effet inhibiteur des huiles essentielles, cela peut s'expliquer, du fait que la paroi cellulaire d'une bactérie Gram (-) a une membrane extérieure qui recouvre la partie peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et une assise de nature lipopolysaccharide et protéine. Selon (Leclerc *et al.*, 1995) cette membrane constitue une barrière imperméable aux substances hydrophobes. Cependant l'absence de cette membrane chez les bactéries Gram (+) permet à la bactérie d'être plus sensible aux HE (Burt, 2004). De plus, les bactéries à Gram (-) possèdent des protéines membranaires appelées pompes à efflux qui expulsent l'agent antimicrobien hors de la cellule avant qu'il puisse agir (Loucif, 2011).

Selon (Carmen et Hancu, 2014), l'intensité de l'effet de l'huile essentielle du clou de girofle est variable selon les souches étudiées toutes les bactéries Gram(-) sont sensibles, elles ont montrées le plus grand diamètre de zone d'inhibition qui est 19.5mm.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles est expliquée de différentes manières (Dormanand, 2000):

- Activité létale bactéricide : elle rend perméable la membrane du micro-organisme, provoquant une fuite d'ion K<sup>+</sup>, ce qui implique la perte de l'osmose de la cellule suivi de la mort du micro-organisme

- Activité inhibitrice ou bactériostatique : empêche la croissance du micro-organisme.

Les mécanismes par lesquels les H.ES exercent leur activité antimicrobienne sont mal connus. Du fait de la complexité de leur composition chimique, il est difficile de donner une idée précise sur le mode d'action des H. ES. Il est probable que leur activité antibactérienne ne soit attribuable à un mécanisme unique, mais plusieurs sites d'action au niveau cellulaire

- certaines études suggèrent que l'HE peut agir sur la membrane cellulaire des bactéries (Benchaar *et al.*, 2008). En effet, le caractère lipophile des molécules constituant les HE les rend capables de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire et de s'accumuler entre les phospholipides, entraînant des changements de conformation et éventuellement un manque de régulation de la membrane cellulaire, ce qui perturbe ainsi le transport membranaire des substances nutritives et le gradient ionique des deux côtés de la membrane cytoplasmique (Cox *et al.*, 2001). L'eugénol, composé phénolique de l'huile essentielle de giroflier, sur *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes* est responsable de

l'inhibition de la mobilité et la rupture de la membrane. Ces dommages sont irréversibles et réduisent la charge de surface bactérienne (**Burt, 2004 ; Gill et Holley, 2004 ; Polly Soo Xi Y et al., 2015**).

□ les HE, grâce à leurs caractéristiques hydrophobes, constituent une véritable menace pouvant affecter la biosynthèse des acides gras insaturés (**Burt et Reinders, 2003**), il se trouve qu'elles inhibent la désaturase et la *cis-trans* isomérase ; enzymes impliquées dans l'anabolisme et la conversion des acides gras (**Di Pasqua et al., 2007**). En effet, la présence des HE dans la cellule bactérienne, même à des concentrations inférieures à la concentration minimale inhibitrice (CMI), diminue le taux des acides gras insaturés responsable autrefois de la fluidité membranaire. Cela cause de légères perturbations au niveau de l'enveloppe externe de la cellule, traduisant ainsi des modifications structurales de la membrane. **L'eugénol**, augmente la quantité d'acides gras saturés et diminue celle d'acides gras insaturés en C18 (**Di Pasqua et al., 2007**). Une fois appliqué sur *Escherichia coli O157:H7* il cause une altération dans les compositions des acides gras (**Di Pasqua et al., 2010**).

□ Action sur le quorum sensing (QS), encore appelé « phénomènes bactériennes », est l'ensemble des molécules qu'utilisent les bactéries pour coordonner et assurer la communication entre elles (**Bouyahya et al., 2018**). Cette communication assure un certain nombre de fonctions cellulaires telles que l'expression des facteurs de virulence, la bioluminescence, la sporulation, la formation de biofilms et l'accouplement (**Cai et al., 2010 ; Trosko, 2016**). Aujourd'hui, il est bien clair que le QS est fortement associé au développement de la résistance aux antibiotiques via l'induction de la formation des biofilms. D'où la nécessité de cribler des molécules qui pourraient avoir un effet anti-QS. Certains composés isolés des HE se sont montrés efficaces contre le QS. **L'eugénol** provoque l'inhibition de la production des facteurs de virulence tels que le violacéine, l'élastase, la pyocyanine et le biofilm chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Chromobacterium violaceum* (**Zhou et al., 2013**).

### 3.2. Pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

Les dernières décennies ont été témoins d'une augmentation spectaculaire de l'incidence des infections fongiques systémiques potentiellement mortelles. La majorité des antifongiques utilisés en clinique présentent divers inconvénients en termes de toxicité, d'efficacité et de coût. Leur utilisation fréquente a conduit à l'émergence de souches résistantes. De plus, la pression publique pour réduire l'utilisation de fongicides synthétiques dans l'agriculture a augmenté. Des inquiétudes ont été soulevées concernant à la fois l'impact sur

l'environnement et le risque potentiel pour la santé lié à l'utilisation de ces composés (**Abad et al., 2007**).

L'activité antifongique de l'huile essentielle de clou de girofle contre les champignons, notamment *Microsporum audouinii*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Trichophyton rubrum*, a été étudiée. Le résultat était que l'huile essentielle de clou de girofle inhibe fortement la croissance des spores et des champignons des dermatophytes (**HyeYeon et Min Hee, 2007**).

Plusieurs études ont confirmé les effets antifongiques de l'HE de clou de girofle sur différentes espèces de champignons tels que des dermatophytes, des levures du genre *Candida* (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. glabrata*) ou de l'*Aspergillus*. Ces champignons étant fréquemment responsables d'infections chez l'homme en particulier en ce qui concerne l'*Aspergillus*, un champignon responsable d'infection fongique sévère chez les patients immunodéprimés. L'eugénol, l'un des constituants majeur de l'HE de clou de girofle, était la substance antifongique la plus efficace. Les effets ont été également confirmés sur des souches de champignons résistants à un traitement antifongique classique (le fluconazole) (**Park et al., 2007 ; Chaieb et al., 2007 ; Pinto et al., 2009 ; Marchese et al., 2017**).

Selon les travaux effectués par Panizzi et al. (1993) concernant l'étude de l'activité antimicrobienne de l'huile de girofle contre une gamme d'agents pathogènes fongiques, y compris ceux des infections urogénitales. L'huile de clou de girofle s'avère posséder une forte activité antifongique contre les pathogènes fongiques opportunistes tels que *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Aspergillus fumigatus*.

A la lumière de tous ces travaux et recherches, l'extrait des « clous de girofle » présente un large spectre d'activité antimicrobienne d'où l'importance de cette huile comme étant un conservateur, antiseptique très efficace pour empêcher le développement microbien et protéger la santé vis-à-vis la présence des agents pathogènes.

### **3.3. Pouvoir antiviral de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum***

L'eugénol (4-allyl-2-méthoxyphénol), étant le constituant majoritaire du clou de girofle, a été étudié pour son activité antivirale par plusieurs groupes de recherche. **Tragoopua et Jatisatienr** ont utilisé l'eugénol pur comme composé de référence dans leurs études anti Herpes simplex virus (antiHSV) et ont constaté qu'il exerçait une activité antivirale plus élevée que les extraits éthanolique de la plante entière. Des résultats similaires ont été obtenus par **Benencia et Courrèges** qui ont rapporté la capacité de l'eugénol à inhiber la réplication

du HSV-1 et du HSV-2 avec des concentrations 50 % de (IC<sub>50</sub>) soit 25,6 µg/mL et 16,2 µg/mL, respectivement. Dans la même étude, l'eugénol était virucide, alors qu'aucune cytotoxicité associée au composé n'a été révélée pour les concentrations testées.

L'eugénol a également montré une activité antivirale contre la grippe (**Dai et al., 2013**). En outre, il exerce un effet anti-HCV (anti-hépatite virale) en réagissant sur la fusion des cellules virales et l'inhibition des protéases (**Goetz et al., 2012**). Il s'avère également efficace comme inhibiteur du virus Ebola in vitro (**Lane et al., 2019**).

L'usage thérapeutique traditionnel du clou de girofle dans les troubles respiratoires et son activité contre différents types de virus, ainsi que ses propriétés anti-inflammatoires, immunostimulatrices et antithrombotiques, sont autant de caractéristiques intéressantes soulignant son potentiel dans la lutte contre la maladie COVID-19.

Le clou de girofle est l'une des plantes médicinales actuellement employées pour prévenir et contrôler la maladie associée au SRAS-CoV-2, avec *Eucalyptus globulus*, *Cymbopogon citratus*, *Zingiber officinale*, et d'autres plantes douées de l'avantage d'être peu coûteuses et disponible dans le monde entier (**Kanyadina, 2020**). Un protocole de prévention et le traitement du COVID-19 à l'aide de clous de girofle, comme plante médicinale, a été décrit par **Kanyinda**, qui rapporte un effet prouvé du traitement à condition qu'il soit réalisé dans les premiers stades de la maladie (**Kanyadina, 2020**). Le protocole prévoyait la préparation d'une décoction dont les clous de girofle sont bouillis dans de l'eau avec d'autres matières végétales pendant 15 min. Les principes actifs sont ensuite inhalés par les patients pendant cinq minutes. Le même protocole aussi comprenait une décoction buvable obtenue avec des clous de girofle et d'autres matières végétales (**Kanyadina, 2020**). A noter, des enquêtes ont été menées dans les pays à faible taux de pandémie (**Samaddar et al., 2020 ; Rhodes et al., 2020**), pour identifier les différents remèdes maison utilisés par les populations locales pendant le COVID-19, qui ont inclus de nombreuses épices et herbes. Fait intéressant, plus de 93% des Indiens interrogés pensent que les épices sont utiles pour guérir le COVID-19 ou d'autres infections virales et peut aider à renforcer l'immunité. Les clous de girofle sont mentionnés comme l'une des épices les plus fréquemment utilisées pendant la pandémie actuelle de COVID-19 avec d'autres plantes comme la cannelle, le gingembre, le poivre noir, l'ail, et le basilic (**Singh et al., 2021**). D'un point de vue moléculaire, certaines études ont recommandé des phytocomposés extraits de clous de girofle comme des puissants médicaments anti-COVID-19 (**Pandey et al., 2020 ; Joshi et al., 2020**), le kaempférol, in

silico est capable d'inhiber la protéase SRAS-CoV-2 en se liant aux résidus Cys145 et His41 du site actif avec haute affinité via des interactions hydrophobes et liaisons hydrogène (**Rehman et al., 2020**).

### 3.4. Pouvoir anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

L'inflammation est définie comme une réaction protectrice compliquée du corps contre des causes dangereuses telles que les microbes ou les cellules endommagées (**Ferrero-Miliani et al., 2007 ; De Cássia et al., 2013**) l'objectif du système biologique étant d'éliminer les stimuli toxiques du corps tout en améliorant la guérison. Néanmoins, cette réaction doit être réglée et ne durer qu'un court laps de temps ; sinon, cela peut conduire au développement de pathologies liées au système immunitaire (**De Cássia et al., 2008**). L'inflammation est généralement classée comme aiguë ou chronique. Le premier est un type de réponse résistante innée qui se distingue par la stimulation des cellules occupantes, la libération de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires et l'afflux de cellules polymorphonucléaires, généralement des neutrophiles polymorphonucléaires, vers les endroits endommagés. Ce complexe de réponse stimule les indicateurs de base de l'inflammation, y compris la chaleur, la douleur et l'œdème (**Stone, 2017**). Cependant, ce dernier est une réponse prolongée qui se distingue par une altération constante des types de cellules trouvées à l'endroit inflammatoire, ce qui entraîne une réparation et surmonte les dommages. Un flux sanguin élevé par dilatation des vaisseaux sanguins et la libération d'intermédiaires pro-inflammatoires se produisent dans les deux formes d'inflammation (**De Cássia et al., 2016**).

La voie de signalisation du facteur nucléaire kappa B (NF- $\kappa$ B) joue un rôle important dans la réponse immunitaire. Il a une importance dans les procédures inflammatoires en raison de son rôle dans la transcription des cytokines, comme l'oxyde nitrique (NO) et d'autres. L'industrie pharmaceutique s'intéresse aux substances qui bloquent cette voie, comme l'eugénol (**Islam, et al., 2018 ; Wang et al., 2016 ; Polessio et al., 2017**) ; Généralement, les patients souffrant d'affections inflammatoires utilisent des glucocorticoïdes ou des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Néanmoins, ces médicaments sont liés à des effets secondaires graves, tels que des saignements et des ulcères digestifs. De plus, une efficacité curative limitée a été observée par ces médicaments, ce qui conduit fréquemment les patients à interrompre le traitement (**Bermas, 2014**). Par conséquent, l'industrie pharmacologique a concentré ses efforts sur la découverte de nouveaux composés bioactifs.



Les ingrédients bioactifs issus des plantes médicinales séduisent pour le développement de nouveaux médicaments ciblant diverses affections, comme celles liées aux actions inflammatoires, souvent liées au stress oxydatif. La majorité de ces ingrédients peuvent inhiber le stress oxydatif et les réponses inflammatoires. De plus, ces composés pourraient participer à une méthode protectrice d'amélioration de la qualité de vie par l'apport d'une alimentation riche en eux (**Barboza, 2018**).

L'eugénol possède la capacité d'entraver la fabrication d'anions superoxydes dans les neutrophiles en obstruant la voie de phosphorylation Raf/MEK/ERK1/2/p47. De plus, il est reconnu comme un suppresseur des intermédiaires pro-inflammatoires, comprenant le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ), l'IL-1 $\beta$  et l'IL-6, la prostaglandine E2 (PGE2), l'expression inductible de l'oxyde nitrate synthase (iNOS) et l'expression de cyclooxygénase-2 (COX-2), leucotriène C4 et 5-lipoxygénase (5-LOX) et facteur nucléaire kappa B (NF- $\kappa$ B). L'action anti-inflammatoire de l'eugénol est liée à l'arrêt de la chimiotaxie des neutrophiles/macrophages et à l'inhibition de la production de neurotransmetteurs inflammatoires, comme les leucotriènes et les prostaglandines. De plus, l'eugénol possède des activités chimioprotectrices en empêchant l'expression des cytokines macrophages (**Navarro et al., 2019 ; Batiha et al., 2020**).

Barboza et al. (2018) ont revu les physionomies antioxydantes et anti-inflammatoires de l'eugénol, ainsi que ses modes d'action et ses capacités curatives pour traiter les affections inflammatoires in vitro/in vivo. L'eugénol a empêché la carcinogenèse cutanée stimulée par le 7,12-diméthylbenz[a]anthracène (DMBA) et le 12-O-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA). Les caractéristiques anti-inflammatoires de l'eugénol sont liées à son mécanisme moléculaire, en raison de la diminution des niveaux de cytokines pro-inflammatoires, ainsi que des marqueurs enzymatiques de l'inflammation tels que COX et iNOS, qui sont liés à la modulation de l'état redox avec une diminution du MDA et une élévation enzymes antioxydantes. Par conséquent, ces découvertes impliquent puissamment la capacité chimiothérapeutique de l'eugénol contre la carcinogenèse.

Des recherches continues ont démontré que l'eugénol entrave la COX-2 et la 5-LOX (**Tsuchiya, H. 2017**). En conséquence, l'eugénol pourrait potentiellement fonctionner comme un composé anti-inflammatoire, lui permettant de remplacer certains AINS dans diverses affections. En outre, il pourrait être utilisé dans le développement de nouveaux médicaments

éclectiques pour lutter contre les troubles liés aux procédures inflammatoires, comme le cancer ou l'arthrose.

### 3.5. Pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

Les phénomènes d'oxydation sur les aliments provoquent des changements qui affectent la saveur, la couleur, l'odeur et donc la qualité nutritionnelle de ces produits. Cette oxydation s'effectue sur les lipides par une chaîne de réaction radicalaire en présence d'oxygène. Il y a production d'un radical superoxyde  $O_2^-$  ; capable d'attaquer les molécules lipidiques ce qui entraîne la formation d'hydroperoxyde et d'un nouveau radical libre. Ces hydroperoxydes sont instables et sont rapidement réduits en divers sous produits comme des époxydes, des cétones et des aldéhydes ; la qualité des produits alimentaires n'est plus assurée.

Dans ce même contexte, les cellules et tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène endommageant ainsi les macromolécules biologiques et provoquant par la suite l'apparition de pathologies (Daouda, 2015).

Dans l'industrie agroalimentaire comme dans la médecine, les phénomènes d'oxydation tels que la peroxydation des acides gras est peut être prévenu par l'addition d'antioxydants. Ces substances sont des composants qui vont interférer avec les radicaux libres et subir la dégradation à la place des acides gras :

- Soit en réagissant directement avec les radicaux libres ;
- Soit en le chélatant avec les métaux catalytiques ;
- Soit en ayant un rôle nécrophage (appelé souvent scavenger)

De nombreux antioxydants de synthèse sont utilisés pour contrôler l'oxydation lipidique tel que le butylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA), le propylgalate (PG) et le butylhydroquinone (TBHQ). Mais ces aspects chimiques ainsi que leurs effets néfastes rendent leurs utilisations douteuses. De nombreuses recherches sont mises en routes pour leurs trouver des équivalents d'origine naturelle.

D'après plusieurs investigations. Le clou de girofle (*Syzygium aromaticum* (L.) est considéré comme une herbe très importante dans la médecine traditionnelle, ayant des activités biologiques étendues. Le clou de girofle se compose de nombreuses classes et groupes de composés chimiques tels que les hydrocarbures, les monoterpènes, les composés phénoliques et sesquiterpènes. L'eugénol (70 à 85 %), l'acétate d'eugénol (15 %) et le  $\beta$ -caryophyllène (5 à 12 %) sont les composés phytochimiques les plus couramment identifiés dans l'huile de girofle (Mittal *et al.*, 2014). Parmi les différents ingrédients actifs, l'eugénol (4-allyl-2-méthoxyphénol) présente de nombreux avantages biologiques tels que des activités antioxydantes, anticancérigènes, antibactériennes, antifongiques et insecticides (Mittal *et al.*, 2014).

De plus, L'eugénol est considéré comme un antioxydant général. Il inhibe la monoamine oxydase. Il a été démontré qu'il possède des caractéristiques neuroprotectrices (Kabuto *et al.*, 2007). Il est reconnu pour protéger l'ADN et les protéines des dommages, arrêter la génération de formes réactives d'azote, augmenter la capacité cyto-antioxydante et entraver la fabrication d'espèces réactives de l'oxygène. De plus, l'eugénol peut éliminer les molécules endommagées, arrêter les mutations cancérogènes et réparer les dommages oxydatifs (Tammannavar *et al.*, 2013 ; Pavithra *et al.*, 2014; Khalil *et al.*, 2017).

Les capacités antioxydantes de l'eugénol sont attribuées à sa configuration, car sa structure permet la réparation des radicaux libres en acceptant les atomes d'hydrogène fournis (Gülçin, 2011).

Une étude qui a lié les réalisations antioxydantes et anti-inflammatoires de l'eugénol a été menée pour valider le profil biochimique de ce composant. Yogalakshmi *et al.* ont démontré que l'exposition de rats à l'eugénol (10,7 mg/kg de poids corporel/jour) pendant 15 jours réduisait la traduction des marqueurs inflammatoires (IL-6, COX-2 et TNF- $\alpha$ ), les indices de peroxydation lipidique et l'oxydation des protéines (Yogalakshmi *et al.*, 2010).

Selon plusieurs études (Raja *et al.*, 2015 ; Nejad *et al.*, 2017 ; Fathy *et al.*, 2019), l'eugénol possède des activités antioxydantes et anti-inflammatoires à faibles doses, à des concentrations plus élevées, il peut avoir une influence pro-oxydante, provoquant la production de radicaux libres. De plus, l'ADN désintégré dans les fibroblastes humains normaux peut être élevé sous l'influence de l'huile de girofle à des concentrations élevées.

### 3.6. Pouvoir cytotoxique et anticancéreux de l'huile essentielle de *syzygium aromaticum* :

L'étude de la cytotoxicité de l'huile essentielle des clous de girofle sur les cellules cancéreuses (HT29, A549, Hep2, raw 264.7) et les cellules normales (MRC-5) a été déterminée par la capacité des cellules à réduire métaboliquement le MTT en un colorant formazan. Les résultats ont révélé que l'huile essentielle possédait un excellent effet cytotoxique significatif contre toutes les lignées cellulaires cancéreuses étudiées (**Bochra *et al.*, 2010**).

L'huile de clou de girofle s'est avérée hautement cytotoxique à des concentrations aussi faibles que 0,03 % (v/v), avec jusqu'à 73 % de cet effet attribuable à l'eugénol (**Prashar *et al.*, 2006**). Ce dernier a montré des propriétés anticancéreuses contre plusieurs types de cancer, tels que la leucémie, le cancer du poumon, le cancer du côlon, le cancer colorectal, le cancer de la peau, le cancer gastrique, le cancer du sein, le cancer du col de l'utérus et le cancer de la prostate (**Yi *et al.*, 2015 ; Nisar *et al.*, 2021; Ulanowska et Olas, 2021 ; Petrocelli *et al.*, 2021 ; Cassano *et al.*, 2021**).

Selon plusieurs études l'eugénol peut agir à la fois comme antioxydant, stoppant la mutation et comme pro-oxydant dans les cellules cancéreuses, affectant les voies de signalisation et détruisant les cellules tumorales. On pense que le processus moléculaire comprend des phases variées: diminution de l'activité de la cyclooxygénase-2, entrave à la stimulation de NF- $\kappa$ B, régulation à la baisse de la production de prostaglandines, activation de l'arrêt de la phase S du cycle cellulaire et déclenchement de l'apoptose en réduisant les niveaux de cytokines inflammatoires **Fangjun et Zahijia, 2017; Fathy *et al.*, 2019**).

Le cancer du poumon est devenu l'une des principales causes de décès dans le monde chez les hommes et il augmente chez les femmes à un degré inquiétant. A la base de l'étude de **Fangjun et Zahijia, 2017**, une étude utilisant des cellules d'adénocarcinome du cancer du poumon A549 et du fibroblaste pulmonaire embryonnaire humain MRC-5 a démontré qu'une faible concentration de l'eugénol est capable d'inhiber la migration des cellules cancérogènes, entraver la durabilité des cellules cancéreuses du poumon et stopper les métastases. À des concentrations plus élevées (1000  $\mu$ M), l'eugénol a exercé des influences létales sur les cellules cancéreuses.

Petrocelli et ces collaborateurs ont utilisé l'eugénol dans une étude sur les cellules NCM-460 (côlon épithélial) et l'action anticancéreuse contre les lignées cellulaires du cancer colorectal

(CRC), ils ont constaté que l'eugénol agit comme agent antitumorale ciblant sélectivement les cellules coliques transformées (**Petrocelli *et al.*, 2021**).

### 3.7. Autres activités pharmacologiques liées à l'eugénol

- L'eugénol, pourrait moduler les voies de la douleur en se liant aux récepteurs GABA (acide gamma amino-butyrique) et en augmentant l'affinité du GABA pour son récepteur. L'eugénol, potentialiserait la réponse du récepteur GABA induisant un effet sédatif et anesthésique (**Aoshima et Hamamoto, 1999**).
- L'eugénol s'est montré capable de moduler l'action du récepteur NMDA (N-méthyl-D-aspartic acid) en bloquant partiellement l'entrée massive de calcium à l'intérieur du neurone induite par le glutamate, expliquant ainsi son pouvoir neuroprotecteur.
- L'eugénol, inhibe le courant sodique au niveau des neurones par interaction avec les canaux à sodium inactivés, en ralentissant beaucoup leur passage à une forme activée. Ces canaux sont essentiels dans l'initiation et la propagation de potentiels d'action. Cette inhibition de courant Na<sup>+</sup> dans les neurones sensoriels pourrait donc être un mécanisme important provoquant l'analgésie et diminuant ainsi l'excitabilité neuronal (**Lee *et al.*, 2005 ; Cho *et al.*, 2008**).

*Conclusion & perspectives*

### Conclusion

*Syzygium aromaticum L.*, également connu sous le nom *d'Eugenia caryophyllata L.* est un arbre appartenant à la famille des *Myrtaceae* qui pousse dans les régions tropicales. Originaire des Moluques en Indonésie, le bouton floral séché de cette plante est connu sous le nom de « clou de girofle », utilisés en entier comme épice, en infusion ou sous forme d'huile essentielle.

Bien que toutes ces formes partagent les mêmes propriétés pharmacologiques, nous nous sommes intéressés dans notre travail, à l'étude théorique de son huile essentielle et ses propriétés biologiques. Plusieurs recherches ont été menées pour identifier les principaux composés phytochimiques existant dans l'huile essentielle de clou de girofle. Elle s'avère riche en eugénol et d'autres composants comme l'acétate d'eugényle, le  $\beta$ -caryophyllène et plusieurs sesquiterpènes, dont  $\alpha$ -cubèbène, eugéniine, kaempférol, acide oléanolique, salicylate de méthyle,  $\alpha$ - et  $\beta$  humulène.

Traditionnellement, l'huile essentielle de clou de girofle trouve des applications dans les soins dentaires, notamment le traitement des gingivites, des brûlures et des troubles respiratoires et digestifs. Les études antérieures ont également mis en évidence d'autres propriétés remarquables, à savoir, Antimicrobienne, anticancéreuse, antioxydante, anti-inflammatoire, et activités antimutagènes.

D'après les études citées dans ce travail, le clou de girofle mériterait une place importante à l'officine. Des études complémentaires, sur sa toxicité chez l'Homme, pourraient motiver son utilisation dans le cadre de nouvelles stratégies thérapeutique.

## *Références bibliographiques*



### A

**Abbes A.** Évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Ammoides verticillata* «Noukha» de la région de Tlemcen. Mémoire de Master en Science Agronomique et des forêts. Université Abou Berk Belkaid Tlemcen **2014**, 12p.14p

**AFNOR.** Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse (Tome1) – Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2. Volumes 1 et 2). Mars **2000**.

**Atmani H., Baira K.** Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique et l'étude des caractères Physico-chimique de l'huile essentielle du clou de girofle *Syzygium aromaticum* L.[en ligne]. Biologie et physiologie végétale. Algerie: Université Frères Mentouri 1 Constantine, **2015**, 86 p

### B

**Bagamboula CF., Uyttendaele M., Debevere J.** Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiol* **2004** ; 21: 33–42.

**Barbelet.** Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. Thèse de Doctorat d'Etat de docteur en pharmacie, Université de Lorraine, **2015**

**Barboza J.N. da Silva Maia Bezerra Filho, C.; Silva, R.O.; Medeiros, J.V.R.; de Sousa, D.P.** An overview on the anti-inflammatory potential and antioxidant profile of eugenol. *Oxidative Med. Cell. Longev.* **2018**, 1–9.

**Baser KHC et Buchbauer G.** Handbook of essential oil: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis, USA **2010**.

**Batiha G.E. Alkazmi L.M. Wasef L.G. Beshbishy A.M., Nadwa E.H. Rashwan E.K.** *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities. *Biomolecules* **2020** ; 10 : 202.

**Benencia F. Courreges, M.** In vitro and in vivo activity of eugenol on human herpesvirus. *Phytother. Res.* 2000 ; 14 : 495-500.

**Benzeggouta N.** Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux de plantes 2015.

**Bermas B.L.** Non-steroidal anti inflammatory drugs, glucocorticoids and disease modifying anti-rheumatic drugs for the management of rheumatoid arthritis before and during pregnancy. *Curr. Opin. Rheumatol* **2014** ; 26 :334–340.

**Bernadet M.** Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles, Editions Dangles, **2000**.

**Bouyahya A., Abrini J., Bakri Y., Dakka N.** Les huiles essentielles comme agents anticancéreux: actualité sur le mode d'action. *Phytothérapie* **2016** :1-14.

**Bruneton J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4eéd.). Lavoisier-Tec & Doc collection : France **2009**, 1292p.

**BURT S.A.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. *Int. J. Food Microbiol* **2004** ; 94 :223-253.

**Burt SA, Reinders RD.** Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Appl Microbiol* **2003** ; 36: 162–167.

### C

**Cai Y., Wang R., An MM.** Iron-depletion prevents biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* through twitching motility and quorum sensing. *Brazilian Journal of Microbiology* **2010**; 41:37-41.

**Caillet L.** Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de recherche en science appliquées à l'alimentation (RESALA), INRS-Institut Armand-Frappier, **2007**: 1-8p

**Cassano R., Cuconato M., Calviello G., Serini S., Trombino S.** Recent advances in nanotechnology for the treatment of melanoma. *Molecules* **2021** ; 26 :785

**Chaachouay N., Douira A., Zidane L.** COVID-19, prevention and treatment with herbal medicine in the herbal market of Salé Prefecture, North-Western Morocco. *Eur. J. Integr. Med.* **2021** ; 42 : 101285.

**Chaieb K, Hajlaoui H, Zmantar T, Kahla-Nakbi AB, Rouabhia M, Mahdouani K, Bakhrouf A.** The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytother Res* **2007** ; 21:501-506.

**Chaieb K., Zmantar T., Ksouri R., Hajlaoui H., Mahdouani K., Abdely C. & Bakhrouf A.** Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical *Candida* species. *Mycoses* **2007** ; 50 : 403-406.

**Cox SD, Mann CM, Markham JL.** Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *J Appl Microbiol* **2001** ; 91: 492–497.

### D

**Dai JP., Zhao XF., Zeng J., Wan QY., Yang JC., Li WZ., Chen XX., Wang GF., Li KS.** Drug screening for autophagy inhibitors based on the dissociation of Beclin1-Bcl2 complex using BiFC technique and mechanism of eugenol on anti-influenza A virus activity. *PLoS ONE* **2013**, 8, e61026.

**Daouda T.** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat en Chimie organique. Université Felix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire, **2015**.

**Davet P., Rouxel F.** Détection et isolement des champignons du sol, Paris. cedex **1997**.

**De Cássia R., da Silveira SA., Rade LN., de Sousa, DP.** A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. *Molecules* **2013** ; 18 :1227-1254.

**De Cássia R., da Silveira SA., Rade LN., de Sousa DP.** Anti-inflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous cinnamon, (*Cinnamomum osmophloeum*) twigs. *Bioresour. Technol.* **2008**; 99 :3908-391.

**De Martino L. de Feo V., Nazzaro F.** Chemical composition and in vitro antimicrobial and mutagenic activities of seven Lamiaceae essential oils. *Molecules* **2009** ; 14:4213-230.

**Degryse AC., Delpla I., Voinier MA.** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP **2008**, 87p.

**Di Pasqua R., Betts G., Hoskins N., Edwards M., Ercolini D., Mauriello G.** Membrane toxicity of antimicrobial compounds from essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2007** ; 55:4863-4870.

**Direction de la qualité du médicament du conseil de l'europe.pharmacopée européenne.** 5<sup>e</sup>éd. Sainte-Ruffine : Maisonneuve S.A. ; 2004.

**Dorman H.J.D., Deans S.G.** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol* **2000** ; 88 : 308-316.

**Dupont F., Guignard J.L.** Botanique: les familles des plantes. 15<sup>ème</sup> ed. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson 2012,16p

### E

**Enzo AP, Susan JS.** Antibacterial activity of Australian plant extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant enterococci (VRE). *J Basic Microbiol* **2002** ; 42: 444-448.

### F

**Fangjun L., Zhijia Y.** Tumor suppressive roles of eugenol in human lung cancer cells. *Thorac. Cancer* **2017** ; 9 : 25-29.

**Farah A., Satrani B., Fechtal M., Abdelaziz Chaouch A., Talbi M.** Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* et de son hybride naturel (clone 583). *Acta Botanica Gallica*. **2001** ; 148 (3) :183-190.

**Fathy M., Fawzy M., Hintzsche H., Nikaido T., Dandekar T., Othman E.M.** Eugenol Exerts Apoptotic Effect and Modulates the Sensitivity of HeLa Cells to Cisplatin and Radiation. *Molecules* **2019** ; 24 : 3979

**Faucon M.** Traité d'aromathérapie scientifique et médicale: fondements & aide à la prescription : monographies : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques Ed. Sang de la Terre. Paris, 2012 ; 879p

**Ferrero-Miliani L., Nielsen OH., Ersen PS., Girardin SE.** Chronic inflammation: Importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 $\beta$  generation. *Clin. Exp. Immunol* **2007** ; 147 :227-235.

### G

**Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R.** *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie* 2010 ; 8 : 37-43p

**Gill AO., Holley RA.** Mechanisms of Bactericidal Action of Cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of Eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus Sakei*. *Applied and Environmental Microbiology* **2004** ; 70 (10) : 5750-5755.

**Girard G.** Les propriétés des huiles essentielles dans les soins bucco-dentaires d'hier à aujourd'hui. Thèse de Doctorat. Nancy I. France, **2010** ; 6-8p

**Gülçin I.** Antioxidant activity of eugenol: A structure–activity relationship study. *J. Med. Food* **2011** ; 14 : 975–985.

### H

**Hee Youn Chee, Min Hee Lee.** Antifungal Activity of Clove Essential Oil and its Volatile Vapour Against Dermatophytic Fungi, Division of Cell Biology, Konyang Medical School, Daejeon City, Korea, *Mycobiology* **2007** ; 35(4): 241-243.

**Hemaiswarya S, Kruthiventi A.K., et Doble M.** Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine* **2008** ; 15 : 639-652p

**Hitoshi A., Koutaro H.** Potentiation of GABA<sub>A</sub> Receptors Expressed in *Xenopus* Oocytes by Perfume and Phytoncid; *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **1999**; 63, (4):743–748.

**Hussein G., Miyashiro H., Nakamura N., Hattori M., Kakiuchi N., Shimotohno K.** Inhibitory effects of Sudanese medicinal plant extracts on hepatitis C virus (HCV) protease. *Phytother. Res.* **2000** ; 14 : 510–516.

### I

**Iserin P., Masson M., Restellini J,** Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparations, soins. 2<sup>ème</sup> édition Larouss. Hong Kong, **2001** ; 99-143p

**Iserin P.** Encyclopédie des plantes médicinales:identification, préparation, soins 1st. Ed.Larousse Bourdasse. Paris. **2001** ; 155-291p

**Islam SS., Al-Sharif I., Sultan A., Al-Mazrou A., Remmal A., Aboussekhra A.** Eugenol potentiates cisplatin anti-cancer activity through inhibition of ALDH-positive breast cancer stem cells and the NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Mol. Carcinog* **2018** ; 57 : 333-346.

### J

**Joshi T., Joshi T., Sharma P., Mathpal S., Pundir H., Bhatt V., Chandra S.** In silico screening of natural compounds against COVID-19 by targeting Mpro and ACE2 using molecular docking. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* **2020** ; 24 : 4529-4536.

### K

**Kabuto H., Tada M., Kohno M.** Eugenol [2-Methoxy-4-(2-propenyl)phenol] Prevents 6-Hydroxydopamine Induced Dopamine Depression and Lipid Peroxidation Inductivity in Mouse Striatum. *Biol. Pharm. Bull.* **2007** ; 30 : 423–427.

**Kacemi Ben Soultane F,** Activité antioxydante des huiles essentielles du gingembre (*Zingiber officinale*) et du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*). **2017**

**Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L., Vergnes MF.** Etude de six huiles essentielles: composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie* **2008** ; 6 :160-164.

**Kanyinda JNM.** Coronavirus (COVID19) : A protocol for prevention and treatment (Covalyse®). *Eur.J.Med.HealthSci.* **2020** ; 2 : 1-4.

**Kazazi H., Rezaei K., Ghotb-Sharif SJ., Emam-Djomeh Z., Yamini Y.** Supercritical fluid extraction of flavors and fragrances from (*Hyssopus officinalis* L.) cultivated in Iran. *Food Chemistry* **2007** ; 105 : 805–811

**Khalil, A.A.; Rahman, U.U.; Khan, M.R.; Sahar, A.; Mehmood, T.; Khan, M.** Essential oil eugenol: Sources, extraction techniques and nutraceutical perspectives. *RSC Adv.* **2017** ; 7 : 32669–32681.

**Kumar P., Mishra S., Malik A., & Satya S.** Insecticidal properties of *Mentha* species: A review. *Industrial Crops and Products* 2011 ; 34(1) : 802-817.

**Kurokawa M., Hozumi T., Basnet P., Nakano M., Kadota S., Namba T., Kawana T., Shiraki K.** Purification and Characterization of Eugenol as an Anti-herpesvirus Compound from *Geum japonicum* and *Syzygium aromaticum*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1998** ; 284 :728-735.

### L

**Labiod R.** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calaminetha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat en biochimie Appliquée. Université Annaba, **2016**-14p.

**Lakhdar L.** Évaluation de L'activité Antibactérienne d'huile essentielle marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : étude in vitro, Thèse de Doctorat en science Odontologieues. Université Mohamed V de Rabat, **2015**. 28/14CSNS. 183p

**Lane T., Anantpadma M., Freundlich JS., Davey RA., Madrid PB., Ekins S.** The natural product eugenol is an inhibitor of the ebola virus in vitro. *Pharm. Res.* **2019** ; 36 : 1-6.

**Lardry JM., Haberkorn V.** Les Huiles Essentielles : principes d'utilisation. *Kinesi therapy Reviews* **2007** ; 61: 18-23.

**Loucif K.** Recherche de substances antibactériennes à partir d'une collection de souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Université Mentouri Constantine Algérie. **2011**

### M

**Marchese A., Barbieri R., Coppo E., Orhan I.E., Daglia M., Nabavi SF., Izadi M., Abdollahi M., Nabavi SM., Ajami M.** Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic view point. *Crit. Rev. Microbiol.* **2017** ; 43 : 668-689.

**Mittal M., Gupta N., Parashar P., Mehra V., Khatri M.** Phytochemical evaluation and pharmacological activity of *Syzygium aromaticum*: A comprehensive review. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2014** ; 6 : 67–72.

**Musthafa KS., Voravuthikunchai SP.** Anti-virulence potential of eugenylacetate against pathogenic bacteria of medical importance. *Antonie Van Leeuwenhoek* **2015** ; 107(3) :703-710.

**Mytle N., Anderson GL., Doyle MP., Smith MA.** Anti-microbial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil ininhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Food Control* 2006 ; 17:102-107.

### N

**Nazzaro F., Fratianni F., De Martino L., Coppola R., De Feo V.** Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 2013 ; 6:1451-1474.

**Nejad SM., Özgüneş H., Başaran N.** Pharmacological and Toxicological Properties of Eugenol. *Turk. J. Pharm. Sci.* 2017 ; 14 : 201-206.

**Nisar MF., Khadim M., Rafiq M., Chen J., Yang Y., Wan CC.** Pharmacological Properties and Health Benefits of Eugenol: A Comprehensive Review. *Oxidative Med. Cell. Longev.* 2021 : 1–14.

### O

**Ogunwande IA., Olawore NO., Ekundayo O., Walker TM., SchmidtJM., Setzer WN.** Studies on the essential oils com-position, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora*L. *Int J Aromather* 2005 ; 15: 147-152

### P

**Pandey P., Singhal D., Khan F., Arif M.** Aninsilico screening on *Pipernigrum*, *Syzygium aromaticum* and *Zingiber officinale roscoe* derived compounds against SARS-CoV-2: A drug repurposing approach. *Biointerface Res. Appl. Chem.* 2020 ; 11 :11122-11134.

**Paré J.** Procédé assisté par micro-ondes. Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles 1997 ; 4: 4.

**Park MJ., Gwak KS., Yang I., Choi WS., Jo HJ., Chang WJ., Jeung EB.,Choi IG.** Antifungal activities of the essential oils in*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermumbetersonni* Bailey and their constituents against various derma-tiphytes. *J Microbiol* 2007 ; 45:460-465.

**Pavithra B.** Eugenol—A Review. *J. Pharm. Sci. Res.* 2014 ;6 :153-154.

**Pellerin P.** Extraction par le CO<sub>2</sub> à l'état supercritique. *Annales des Falsifications et de l'Expertise Chimique* 2001 ; 94 : 51-62

**Petrocelli G., Farabegoli F.,Valerii MC., Giovannini C., Sardo A., Spisni E.** Molecules Present in Plant Essential Oils for Prevention and Treatment of Colorectal Cancer (CRC). *Molecules* 2021 ; 26 :885.

**Peuscher E., Antor R., et Lobstein A.** Plantes aromatiques. (Epices, aromates, condiments et huiles essentielles). Tec & doc. Paris, 2005 ; 266-477P

**Pinto E, Vale-Silva L, Cavaleiro C, 2009,** Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of medical microbiology*, 58(11), 1454-1462p

**Pinto E., Vale-Silva L., Cavaleiro C.** Antifungal activity of the clove essential oil from *Syzygium aromaticum* on *Candida*, *Aspergillus* and dermatophyte species. *Journal of medical microbiology* 2009 ; 58(11) :1454-1462p



**Piochon M.** Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hemi-synthèse. Mémoire de Master. Université du Québec à Chicoutimi **2008**, p19.

**Polesso F., Sarker M., Anderson A., Parker DC., Murray SE.** Constitutive expression of NF- $\kappa$ B inducing kinase in regulatory T cells impairs suppressive function and promotes instability and pro-inflammatory cytokine production. *Sci. Rep.* **2017** ; 7 :14779

**Polly Soo Xi Y., Thiba K., Kok-Gan C.** Antibacterial mode of action of Cinnamomum verum bark essential oil, alone and in combination with piperacillin, against a multi-drug – resistant Escherichia coli strain. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **2015** ; 25(8) : 1299-1306

**Prashar A., Locke IC., Evans CS.** Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell Prolif* **2006** ; 39: 241-248

### R

**Raja MRC., Srinivasan V., Selvaraj S., Mahapatra SK.** Versatile and synergistic potential of eugenol: A review. *Pharm. Anal. Acta* **2015** ; 6 : 367.

**Rehman M., Al Ajmi MF., Hussain A.** Natural compounds as inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (3CL<sup>pro</sup>): A molecular docking and simulation approach to combat COVID-19. *Curr. Pharm. Des.* **2020**, **16**.

**Rhayour.** Bactériologie générale et médicale. Elleipses édition Marketing **2006**.

**Rhodes JM., Subramanian S. Laird E., Kenny RA.** Low population mortality from COVID-19 in countries south of latitude 35 degrees North supports vitamin D as a factor determining severity. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **2020** ; 51 : 1434-1437.

### S

**Saleem HN., Batool F., Mansoor HJ., Shahzad-ul-Hussan S., Saeed M.** Inhibition of dengue virus protease by Eugenol, Isobiflorin, and Biflorin Isolated from the Flower Buds of *Syzygium aromaticum* (Cloves). *ACS Omega* **2019** ; 4 : 1525-1533.

**Samaddar A., Gadepalli R., Nag VL., Misra S.** The enigma of low COVID-19 fatality rate in India. *Front. Genet.* **2020** ; 11 : 854.

**Seladji D.** Compositions chimiques, propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles des racines de trois pinaceae d'Algérie. Mémoire de Master en Chimie. Université de Tlemcen, Algérie. **2014**

**Singh NA., Kumar P., Kumar N.** Spices and herbs : Potential antiviral preventives and immunity boosters during COVID-19. *Phytother. Res.* **2021**, 29.

**Stone M.J.** Regulation of chemokine–receptor interactions and functions. *Int. J. Mol. Sci.* **2017** ; 18 : 241

### T

**Talbaoui A., Jamaly N., Aneb M.** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. *Journal of Medicinal Plants Research* **2012** ; 6 : 4593-4600.

**Tammannavar P., Pushpalatha C., Jain S., Sowmya SV.** An unexpected positive hypersensitive reaction to eugenol. *Case Rep.* **2013** bcr2013009464.

**TragoolpuaY.** Jatisatienr A. Antiherpes simplex virus activities of *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bullock & SG Harrison and essential oil, eugenol. *Phytother. Res.* 2007 ; 21 : 1153-1158.

**Trosko JE.** Evolution of microbial quorum sensing to human global quorum sensing: an insight into how gap junctional intercellular communication might be linked to the global metabolic disease crisis. *Biology (Basel)* **2016** ; 5: 29.

**Tsuchiya H.** Anesthetic agents of plant origin: A review of phytochemicals with anesthetic activity. *Molecules* **2017** ; 22 : 1369.

### U

**Ulanowska M., Olas B.** Biological Properties and Prospects for the Application of Eugenol—A Review. *Int. J. Mol. Sci.* **2021** ; 22 : 3671.

### W

**Wang J., Liu YT., Xiao L., Zhu L., Wang Q., Yan T.** Anti-inflammatory effects of apigenin in lipopolysaccharide-induced inflammatory in acute lung injury by suppressing COX-2 and NF-kB pathway. *Inflammation* **2014** ; 37 : 2085-2090.

### Y

**Yi JL., Shi S., Shen YL., Wang L., Chen HY., Zhu J., Ding Y.** Myricetin and methyl eugenol combination enhances the anticancer activity, cell cycle arrest and apoptosis induction of cis-platin against HeLa cervical cancer cell lines. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **2015** ; 8 :1116-1127

**Yogalakshmi B., Viswanathan P., Anuradha CV.** Investigation of antioxidant, anti-inflammatory and DNA-protective properties of eugenol in thioacetamide-induced liver injury in rats. *Toxicology* **2010** ; 268 :204-212.