



République algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem
Faculté des sciences de la nature et de la vie
Département des sciences alimentaires



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par :

OUKID Nawal
FERHI Chaima

Pour l'obtention du diplôme de
MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : **Nutrition et Pathologie**

Thème :

**Valorisation des activités biologiques des huiles
essentielles de deux plantes aromatiques :
Tetraclinis articulata et *Thuya occidentalis***

Soutenu le 8 juillet 2025, devant le jury :

Présidente	Dr YAHLA I.	MCA	Université de Mostaganem
Examinatrice	Dr ZERROUKI K.	MCA	Université de Mostaganem
Rapporteur	Dr CHERRAD H.	MCB	Université de Mostaganem

Année universitaire : 2024 – 2025



REMERCIEMENTS

Avant tout, je rends grâce à Dieu, le Tout-Puissant, qui m'a accordé la force, la patience et la détermination nécessaires pour mener à bien ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à ma directrice de mémoire, Dr CHERRAD Hayet, pour ses orientations précieuses, sa rigueur scientifique, son accompagnement attentif et son soutien constant tout au long de ce travail de recherche.

Mes sincères remerciements vont également aux membres du jury : Dr. YAHLA Imen, Maître de conférences A à l'Université de Mostaganem, d'avoir accepté la présidence de jury de ce mémoire et Dr ZERROUKI Kheira, Maître de conférences A à l'Université de Mostaganem, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également l'ensemble des enseignants du Département des Sciences alimentaires pour la qualité de la formation qu'ils nous ont dispensée durant tout notre parcours universitaire, ainsi que pour les connaissances enrichissantes qu'ils ont partagées avec nous.

Je tiens aussi à exprimer ma profonde gratitude à tous les membres du personnel technique du laboratoire, pour l'assistance technique et les facilités qu'ils m'ont apportées lors de la réalisation de la partie expérimentale.

Mes remerciements s'adressent aussi à mes camarades de promotion, pour les échanges d'idées enrichissants et l'ambiance collaborative qui a régné tout au long de ce travail.

Enfin, je réserve une mention toute particulière à ma chère famille, dont le soutien moral et l'encouragement permanent ont été essentiels dans l'accomplissement de mon parcours académique.

Dédicace

À la mémoire de mon cher père, que Dieu ait son âme. Son souvenir bienveillant m'accompagne chaque jour et continue de m'inspirer. Je lui dédie ce travail en signe de fidélité et de prière.

À ma précieuse mère, mon pilier, pour sa lumière, sa patience et ses prières constantes qui ont été mon refuge dans les moments difficiles.

À mon frère Bilal, pour sa présence constante, son soutien sans faille et son rôle apaisant tout au long de ce parcours.

À ma sœur Soumaya, pour sa tendresse, ses encouragements et sa confiance en moi.

À toute ma famille bien-aimée, et à toutes les personnes qui m'ont soutenue de près ou de loin durant ce chemin.

Je vous dédie ce travail, modeste dans sa forme mais immense par l'amour et la reconnaissance qu'il contient.

CHAIMA

Dédicace

*À ceux qui ont été, après Dieu, le pilier de chaque étape de ma vie,
À ceux qui m'ont élevé dans les valeurs, appris la persévérance et soutenu sans
relâche,*

*À mes chers parents, lumière de mon chemin et source inépuisable d'amour,
À ma mère, tendre et dévouée, dont les prières m'ont toujours accompagné,
À mon père, exemple de sagesse et de force...*

Je vous dédie ce travail avec toute ma gratitude et mon affection.

À mes frères, compagnons de vie et de rêves,

*À toute ma famille, en particulier la famille Oukid et la famille Zerouala, qui
ont toujours été pour moi un refuge sûr, une source d'amour, de soutien et
d'encouragement inestimable tout au long de ce parcours. Que Dieu vous
bénisse pour votre présence précieuse dans ma vie.*

Je vous offre humblement le fruit de mes efforts.

Et à mes enseignants estimés,

*À ceux qui m'ont transmis leur savoir avec passion et bienveillance,
À ceux qui m'ont guidé, corrigé, encouragé tout au long de mon parcours
universitaire,*

*Et en particulier à mon encadrant, pour sa disponibilité, ses conseils et sa
confiance,*

*Je vous adresse mes sincères remerciements et vous dédie ce modeste travail en
témoignage de ma reconnaissance.*

NAWAL

Résumé

Cette étude a porté sur deux plantes médicinales aromatiques, *Tetraclinis articulata*, originaire de la région de Sidi Lakhdar (Mostaganem), et *Thuya occidentalis*, provenant de la wilaya de Relizane. L'objectif était d'examiner leur composition phytochimique et d'évaluer leurs activités biologiques, notamment antioxydantes et anti-inflammatoires. L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation a révélé un rendement supérieur pour *T. articulata* (0,27 %) par rapport à *T. occidentalis* (0,1 %). L'analyse spectrophotométrique des composés bioactifs a montré une teneur élevée en polyphénols dans l'huile essentielle de *T. articulata* ($69,76 \pm 9,3$ mgEQAG/mL) contre $31,58 \pm 5,0$ mgEQAG/mL pour *T. occidentalis*. Les flavonoïdes étaient similaires dans les deux espèces, tandis que les tanins condensés étaient présents dans des proportions comparables. Les activités antioxydantes, évaluées par les méthodes DPPH et FRAP, ont confirmé une corrélation avec la concentration en composés bioactifs. L'activité anti-inflammatoire, mesurée par l'inhibition de la dénaturation des protéines, a montré des résultats prometteurs, avec une efficacité maximale pour *T. articulata* (59,74 %) et *T. occidentalis* (56,21 %). Ces résultats mettent en lumière le potentiel thérapeutique des huiles essentielles, en particulier celle de *T. articulata*, pour une utilisation en phytothérapie et dans les compléments alimentaires naturels.

Mots-clés: *Tetraclinis articulata*, *thuya occidentalis*, huiles essentielles, antioxydants, anti-inflammatoires, flavonoïdes, polyphénols.

Abstract :

The study focused on two aromatic medicinal plants, *Tetraclinis articulata*, from the Sidi Lakhdar region (Mostaganem), and *Thuya occidentalis*, from the wilaya of Relizane. The aim was to examine their phytochemical composition and assess their biological activities, in particular their antioxidant and anti-inflammatory properties. Extraction of the essential oils by hydrodistillation revealed a higher yield for *T. articulata* (0.27%) than for *T. occidentalis* (0.1%). Spectrophotometric analysis of bioactive compounds showed a high polyphenol content in the essential oil of *T. articulata* (69.76 ± 9.3 mg EQAG/mL) compared with 31.58 ± 5.0 mgEQAG/mL for *T. occidentalis*. Flavonoids were similar in both species, while condensed tannins were present in comparable proportions. Antioxidant activities, assessed by DPPH and FRAP methods, confirmed a correlation with the concentration of bioactive compounds. Anti-inflammatory activity, measured by inhibition of protein denaturation, showed promising results, with maximum efficacy for *T. articulata* (59.74%) and *T. occidentalis* (56.21%). These results highlight the therapeutic potential of essential oils, particularly that of *T. articulata*, for use in phytotherapy and natural food supplements.

Keywords: *Tetraclinis articulata*, *Thuya occidentalis*, essential oils, antioxidants, anti-inflammatory, flavonoids, polyphenols.

ملخص

رُكزت الدراسة على نباتين طبييين عطريين هما تيتراكليينيس أركولاتا من منطقة سيدي لخضر (مستغانم)، وتويا أوكسيدنتاليس من ولاية غليزان. كان الهدف هو فحص تركيبها الكيميائي النباتي وتقييم أنشطتها البيولوجية، ولا سيما خصائصها المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات. كشف استخلاص الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي عن إنتاجية أعلى للزيوت العطرية لتي أركولاتا (0.27%) مقارنةً بتي أوكسيدنتاليس (0.1%). وأظهر التحليل الطيفي الضوئي للمركبات النشطة بيولوجيًا وجود نسبة عالية من البوليفينول في الزيت العطري لنبات تي. كانت مركبات الفلافونويدات متشابهة في كلا النوعين، بينما كانت العفص المكثف موجوداً بنسب متقاربة. أكدت أنشطة مضادات الأكسدة، التي تم تقييمها بطريقتين DPPH وFRAP، وجود علاقة مع تركيز المركبات النشطة بيولوجيًا. وأظهر النشاط المضاد للالتهابات، الذي تم قياسه عن طريق تثبيط تمسخ البروتين، نتائج واعدة، مع أقصى فعالية لنبات تي. أركولاتا (59.74%) وت. أوكسيدنتاليس (56.21%). وتسلط هذه النتائج الضوء على الإمكانيات العلاجية للزيوت العطرية، ولا سيما زيت تي. أركولاتا، لاستخدامه في العلاج بالنباتات والمكملات الغذائية الطبيعية.

الكلمات المفتاحية: تيتراكليينيس أرتيكيولاتا، ثويا أوكسيدنتاليس، الزيوت الأساسية، مضادات الأكسدة،

مضادات الالتهاب، الفلافونويد، البوليفينول.

Liste de tableaux

Tableau 1 : Les composition chimique de la plante <i>Tetraclinis artucilata</i>	25
Tableau 2 : La gamme d'étalon d'acide gallique	37
Tableau 3 : La gamme d'étalon de la quercétine	38
Tableau 4 : la gamme étalon de la catéchine.....	40
Tableau 5 : Rendement des huiles essentielles.....	48

Liste de figures

Figure 1 : Structure de l'isoprène (Nebie, 2023).....	7
Figure 2 : Structures de quelques monoterpènes hydrocarbonés. (Nebie, 2023).....	7
Figure 3 : Structures de quelques sesquiterpènes oxygénés(Nebie, 2023)	7
Figure 4 : Structure de quelques monoterpènes oxygénés . (Nebie, 2023).....	8
Figure 5 : Structures de quelques sesquiterpènes hydrocarbonés	8
Figure 6 : Structures de quelques composés aromatiques(Nebie, 2023).....	9
Figure 7 : Schéma du montage de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau(extrait de Laïche et Mercheri, 2023)	10
Figure 8 : Schéma du montage de l'extraction par hydrodistillation . (extrait de Laïche et Mercheri, 2023).....	11
Figure 9 : Montage de l'expression à friod.	12
Figure 10 : Schéma du montage de l'extraction par micro-onde (extrait de Laïche et Mercheri, 2023).....	14
Figure 11 : Schéma du montage de l'extraction par CO2 supercritique(extrait de Laïche et Mercheri, 2023).....	16
Figure 12 : feuille de <i>T. articulata</i>	23
Figure 13 : cônes de <i>T. articulata</i>	24
Figure 14 : Aspect général de <i>T. articulata</i>	24
Figure 15 : cônes de <i>T. articulata</i>	24
Figure 16 :Ecorce de <i>T. articulata</i>	25
Figure 17 : Feuilles de <i>thuya occidentalis</i>	31
Figure 18 : Récole des plantes (<i>Tetraclinis articulata</i> et <i>Thuya occidentalis</i>).....	34

Figure 19 : localisation géographique des échantillons végétaux	35
Figure 20 : extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	36
Figure 21 : Les échantillons et la gamme d'étalon d'acide gallique pour le dosage polyphénols totaux.....	37
Figure 22 : Echantillon de la gamme quercétine pour le dosage des flavonoïde	39
Figure 23 : La gamme d'étalon de catéchine pour le dosage des tannins.	40
Figure 24 : la vitamine C et les échantillons après ajout du DPPH	42
Figure 25 : Les échantillons des huiles essentielles étudiées.....	43
Figure 26 : Incubation dans l'étuve pour test FRAP	44
Figure 27 : Centrifugation des échantillons des échantillon pour test FRAP.	44
Figure 28 : Les échantillons de <i>Tetraclinis articulata</i> et <i>Thuya occidentalis</i> pour activité anti inflammatoire.....	46
Figure 29 : Incubation des échantillons dans un bain-marie à 72°C pour activité antiinflammatoire.....	46
Figure 30 : l'huile essentielle de <i>Tetraclinis articulata</i> (A) et de <i>Thuya occidentalis</i> (B)	48
Figure 31 : la courbe d'étalon d'acide gallique.....	50
Figure 32 : Teneur en polyphénols totaux.....	50
Figure 33 : la courbe d'étalon de quercétine	52
Figure 34 : Teneur en flavonoïdes.....	52
Figure 35 : la courbe d'étalon de catéchine.....	55
Figure 36 : Teneur en tanins.....	55
Figure 37 : Inhibition de <i>Tetraclinis articulata</i> et <i>Thuya occidentalis</i>	57
Figure 38 : Inhibition de la vitamine C	57
Figure 39 : IC50 de chaque échantillon	58
Figure 40 : la courbe d'étalon de vitamine C	59
Figure 41 : Capacité réductrice de <i>Tetraclinis articulata</i> et <i>Thuya occidentalis</i>	60
Figure 42 : inhibition de <i>Tetraclinis articulata</i> et <i>Thuya occidentalis</i>	61

Liste de Abréviations

AlCl₃: Chlorure d'aluminium

CI₅₀: Concentration inhibitrice à 50 %

CMB: Concentration minimale bactéricide

CMI: Concentration minimale inhibitrice

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (test antioxydant)

EO: Essential oil (anglais pour HE)

EQQ: Équivalent quercétine

EtOH: Éthanol

FeCl₃: Chlorure ferrique

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power (test antioxydant)

GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse – Spectrométrie de masse

HE: Huile essentielle

IR: Infrarouge

K₃[Fe(CN)₆]: Ferricyanure de potassium

LOX: Lipoxygénase

MeOH: Méthanol

Na₂CO₃: Carbonate de sodium

NaNO₂: Nitrite de sodium

RPM: Révolution par minute (centrifugation)

T. articulata: *Tetraclinis articulata*

T. occidentalis: *Thuya occidentalis*

TCA: Acide trichloroacétique

TLC: Chromatographie sur couche mince

UV: Ultra-violet

XO: Xanthine oxydase

A-pinène: *alpha*-pinène (monoterpène)

B-thuyone: Bêta-thuyone (monoterpène toxique)

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Liste Des Tableau, Des figures et Abréviations.

Sommaire

Introduction	Erreur ! Signet non défini.
Chapitre I : Analyse bibliographique	5
I.1 Généralité	5
I.2 Définition des huiles essentielles	5
I.3 Compositions chimiques des huiles essentielles	6
I.4 Méthodes d'extraction	9
I.5 Activités biologiques des huiles essentielles	16
I.6 Applications des huiles essentielles	20
I.7 La plante de <i>Tetraclinis articulata</i>	21
I.7.1 Définition.....	21
I.7.2 Caractéristique botanique	22
I.7.3 Composition chimique	25
I.7.4 Activités biologiques rapportées	26
I.8 La plante de <i>Thuya occidentalis</i>	28
I.8.1 Définition.....	28
I.8.2 Caractéristiques botaniques	29
I.8.3 Composition chimique	30
I.8.4 Activités biologiques rapportées	31
Chapitre II : Matériel et Méthodes	34
II.1. Récolte des échantillons végétaux	34
II.2 Méthodes d'extraction des huiles essentielles	35
II.3 Dosages des composés bioactifs.....	36
II.3.1 Dosages des polyphénols totaux.....	36
II.3.2 Dosage des flavonoïdes	38
II.3.3 Dosage de tanins condensés	39
II.4 Evaluation des activités biologiques	41
II.4.1 Activités anti-oxydantes	41
II.5 Activité Anti inflammatoire	45
Chapitre III : Résultats et discussion	48
III.1 Rendement des huiles essentielles.....	48
III.2 Dosage des polyphénols totaux	49
III.3 Dosage des Flavonoïdes	51

III.4	Dosage des tannins	54
III.5	Évaluation de l'activité antioxydante.....	55
III.5.1	Test de DPPH	55
III.5.2	Test FRAP	59
III.6	Évaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro :	61
	Références bibliographiques	68

ITRODUCTION

INTRODUCTION

Les plantes aromatiques et médicinales sont utilisées à des fins thérapeutiques depuis des siècles. Leurs bienfaits transmis oralement à travers les générations ou consignés dans d'anciens manuscrits, ont perduré malgré l'essor de la médecine moderne qui a relégué, dans une certaine mesure, les pratiques naturelles au second plan. Partout dans le monde, les traditions médicales témoignent de l'importance historique de ces plantes dans les soins de santé.

Aujourd'hui encore, leur usage thérapeutique reste courant, notamment dans les pays en développement où l'accès à un système médical moderne demeure limité.

L'étude des propriétés phytothérapeutiques, en particulier les activités antimicrobienne et anti-oxydante, constitue un champ de recherche prometteur, surtout lorsqu'il s'agit de plantes peu connues ou rarement utilisées dans les médecines traditionnelles. Ces espèces représentent une source potentielle de nouvelles molécules actives.

Les métabolites secondaires, quant à eux, continuent de susciter l'intérêt des chercheurs, tant *in vitro* qu'*in vivo*, pour l'identification de composés naturels innovants, en particulier ceux contenus dans les huiles essentielles.

Ces dernières, grâce à la simplicité de leur extraction, à leur grande richesse chimique et à leur polyvalence, jouent aujourd'hui un rôle crucial dans la formulation de nombreux produits dans les secteurs pharmaceutique, cosmétique, parfumeur et agroalimentaire (Boussaid, 2017).

Le continent africain se distingue par l'une des biodiversités les plus riches au monde, abritant une vaste gamme de plantes utilisées comme herbes médicinales, sources alimentaires naturelles ou à des fins thérapeutiques. Plus de 5 000 composés naturels y ont été identifiés, dont un grand nombre s'est révélé bénéfique dans la médecine traditionnelle, tant pour la prévention que pour le traitement de diverses maladies. Toutefois, malgré cette richesse végétale exceptionnelle, les efforts consacrés au développement d'agents chimiothérapeutiques et prophylactiques issus de ces plantes demeurent limités. (Faroumbi, 2003).

Dans cette optique, notre travail de recherche vise à contribuer à la valorisation du patrimoine végétal algérien en s'intéressant à l'étude des propriétés biologiques de certaines plantes locales. Plus précisément, nous nous sommes penchés sur l'évaluation des activités

INTRODUCTION

biologiques des huiles essentielles extraites des feuilles de *Tetraclinis articulata*, une espèce endémique du bassin méditerranéen présente en algérie, et de *Thuya occidentalis*, une plante aromatique également collectée localement.

Ces huiles ont été analysées pour leurs potentiels effets antimicrobiens et antioxydants, dans le but de mieux cerner leur intérêt thérapeutique et de proposer de nouvelles pistes d'exploitation dans le domaine de la médecine naturelle. Cette démarche s'inscrit dans un contexte où la résistance microbienne croissante et le stress oxydatif constituent des enjeux majeurs en santé publique, et où les solutions naturelles apparaissent comme des *alternatives* prometteuses .

CHAPITRE I

**ANALYSES
BIBLIOGRAPHIQUES**

Chapitre I : Analyse bibliographique**I.1 Généralité**

L'usage des huiles essentielles remonte à la Haute Antiquité. En effet, dès 4000 ans avant J.-C., les Égyptiens maîtrisaient la distillation sèche pour extraire l'essence de cèdre et utilisaient des substances aromatiques dans le cadre de la momification, grâce à leurs propriétés antiseptiques reconnues. La première huile essentielle mentionnée dans un traité médical est celle de romarin, utilisée au XIII^e siècle pour ses vertus thérapeutiques. Le romarin était d'ailleurs connu depuis l'Antiquité pour son parfum balsamique (Nourachani, 2010).

L'aromathérapie s'est ensuite développée grâce au médecin et philosophe persan Avicenne (Ibn Sīnā, 980-1037), qui parvint à produire la première huile essentielle pure de *Rosa centifolia* en inventant un système de serpentín pour le refroidissement rapide de la vapeur aromatique, marquant ainsi un tournant important dans la médecine par les plantes.

Au début du XX^e siècle, le chimiste français René-Maurice Gattefossé (1881-1950), considéré comme le père de l'aromathérapie moderne, s'est consacré à l'étude des propriétés médicinales des huiles essentielles. Après s'être grièvement brûlé les mains lors d'une explosion en laboratoire, il eut le réflexe de les plonger dans un récipient contenant de l'huile essentielle de lavande. La guérison rapide de ses blessures l'incita à approfondir ses recherches dans ce domaine (Atmani-Merabet, 2018).

Enfin, dans les années 1960, le docteur Jean Valnet (1920-1995) poursuivit les travaux de Gattefossé et publia plusieurs ouvrages de référence, dont *Aromathérapie – Traitement des maladies par les essences des plantes* (1964). Tous deux sont aujourd'hui reconnus comme les fondateurs de l'aromathérapie moderne.

Ce chapitre propose une synthèse bibliographique portant sur les huiles essentielles, en abordant leur composition chimique, leur biosynthèse, leurs propriétés biologiques, leurs applications, leur marché mondial, ainsi que les méthodes d'extraction et d'analyse.

I.2 Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances naturelles produites par divers organes des plantes aromatiques tels que les feuilles, les fruits, les racines ou encore les pétales. Plusieurs définitions permettent de mieux cerner leur nature. Selon l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM), une huile essentielle est un produit odorant, généralement complexe, extrait d'une matière végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, par distillation sèche, ou encore par un procédé mécanique sans recours à la chaleur. Elle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé

physique n'entraînant pas de modification significative de sa composition. (fourmentin et kfouryn, 2024).

L'Association Française de Normalisation (AFNOR) propose également une définition officielle, précisant qu'il s'agit d'un produit obtenu à partir d'une matière première naturelle végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques appliqués à l'épicerpe des agrumes, ou encore par distillation sèche, suivi d'une séparation physique de la phase aqueuse, sans *altération* notable de la composition.

Enfin, pour l'Agence Européenne des Produits Chimiques (ECHA), une huile essentielle est définie comme la fraction volatile d'un produit naturel, obtenue par distillation, distillation à la vapeur ou expression (notamment pour les agrumes).

Elle contient principalement des hydrocarbures volatils et provient de différentes parties de la plante. Le terme « essentielle » fait référence à l'arôme distinctif ou à l'« essence » caractéristique de la plante.

I.3 Compositions chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées de mélanges complexes de molécules très diverses, appartenant principalement à deux grandes familles chimiques selon leur origine biogénétique : les composés terpéniques (incluant les terpènes et leurs dérivés oxygénés) et les composés aromatiques issus du phénylpropane (Boukkobza et Goetz, 2014). On y trouve également, en quantités généralement faibles, d'autres types de composés tels que des *alcools*, *aldéhydes*, *cétones*, *esters*, etc. L'ensemble de ces substances se caractérise par une faible masse moléculaire (Bakkali et *al.*, 2008).

- **Composés terpéniques : terpènes et terpénoïdes :**

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, dont la structure peut être cyclique ou à chaîne ouverte. Leur formule générale est $(C_5H_8)_n$, où n représente le nombre d'unités de base appelées isoprènes (ou 2-méthylbuta-1,3-diène), ayant pour formule brute C_5H_8 (figure 8). Selon la valeur de n , on distingue différents types de terpènes : les monoterpènes ($n = 2$), les sesquiterpènes ($n = 3$), les diterpènes ($n = 4$), etc.

Les terpénoïdes, également appelés isoprénoïdes, sont des dérivés des terpènes présentant des structures similaires, mais appartenant à diverses familles chimiques telles que les *alcools*, les *aldéhydes*, les *cétones*, les *esters* ou encore les *éthers-oxydes* (Ben aissa, 2011).

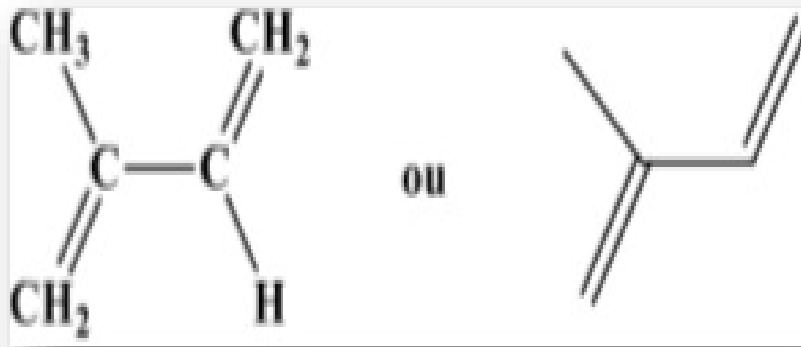


Figure 1 : Structure de l'isoprène (Nebie, 2023)

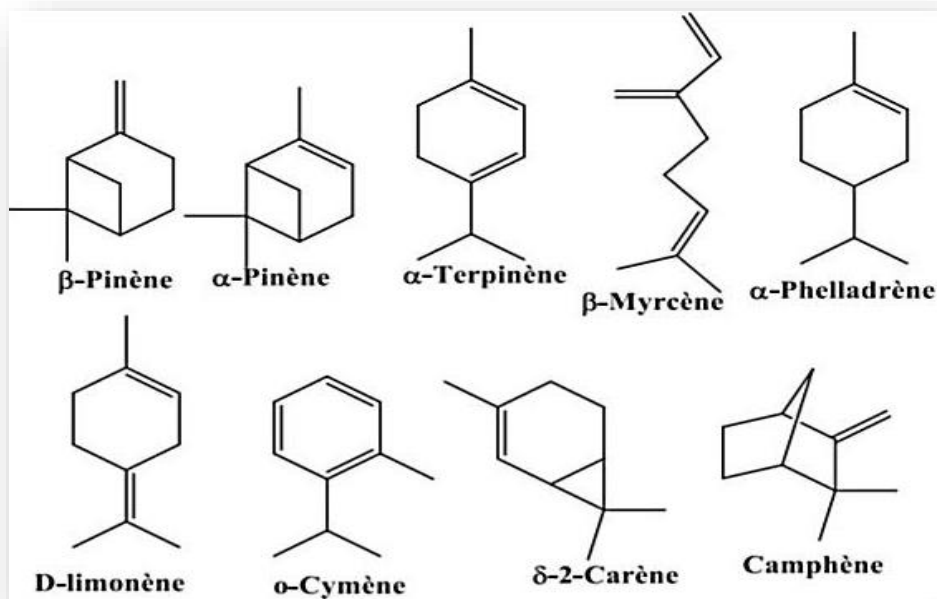


Figure 2 : Structures de quelques monoterpènes hydrocarbonés. (Nebie, 2023)

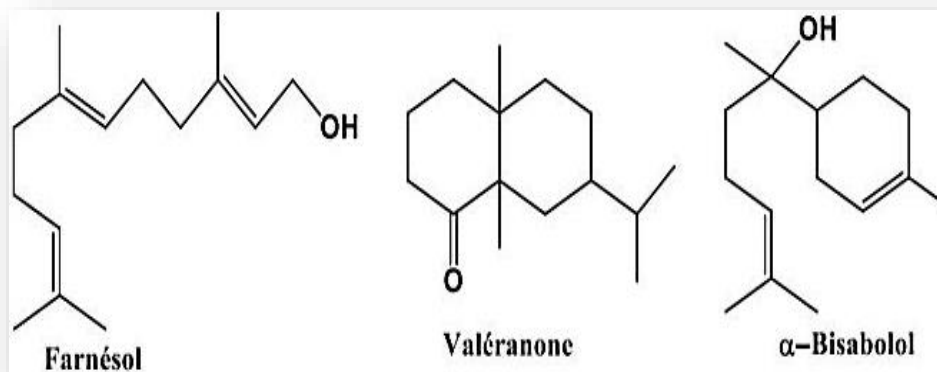


Figure 3 : Structures de quelques sesquiterpènes oxygénés(Nebie, 2023)

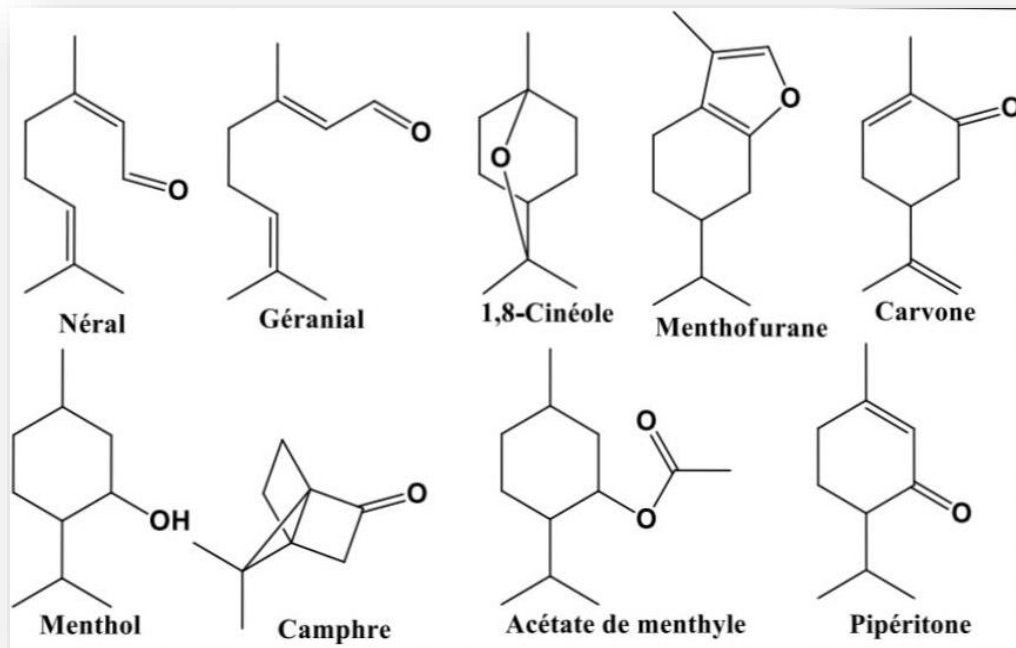


Figure 4 : Structure de quelques monoterpènes oxygénés . (Nebie, 2023)

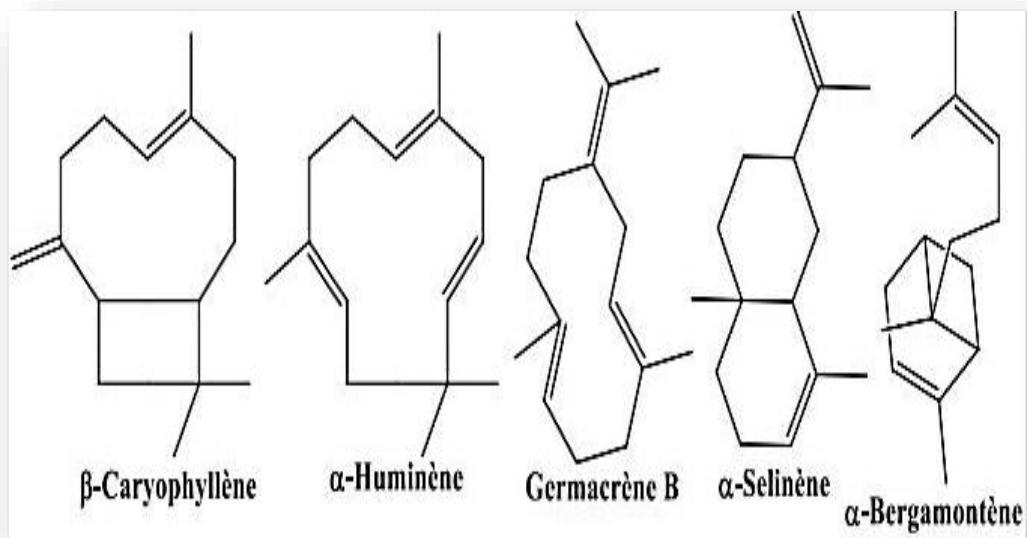


Figure 5 : Structures de quelques sesquiterpènes hydrocarbonés .

- **Composés aromatiques :**

Les composés aromatiques présents dans les huiles essentielles sont des dérivés du phénylpropane. Bien qu'ils soient moins abondants que les terpènes et leurs dérivés oxygénés, on y retrouve principalement deux types de structures : les *allyl*phénols et les propénylphénols.

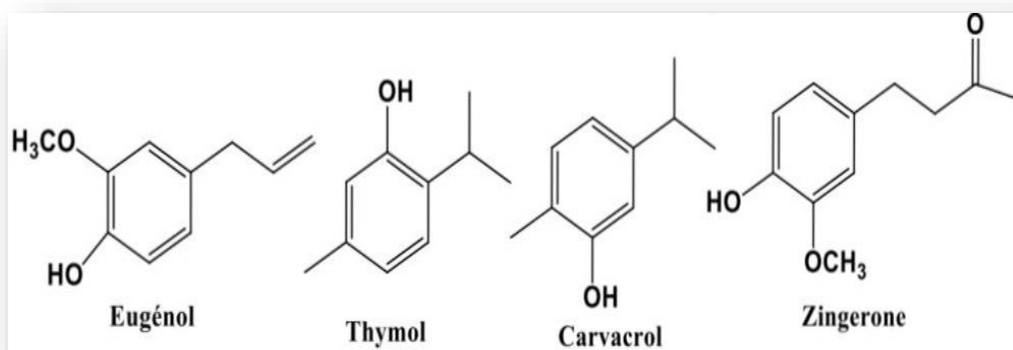


Figure 6 : Structures de quelques composés aromatiques(Nebie, 2023)

- **Composés d'origines diverses :**

En plus des composés terpéniques et aromatiques, les huiles essentielles peuvent contenir une grande variété d'autres substances. Parmi celles-ci figurent des composés azotés et soufrés, ainsi que divers types de molécules telles que les *alcools*, acides gras, coumarines, lactones, *aldéhydes*, cétones, esters et éthers-oxydes, présents en proportions variables.

I.4 Méthodes d'extraction

- **Distillation par entraînement à la vapeur :**

La distillation par entraînement à la vapeur est l'une des méthodes officielles et les plus couramment utilisées pour l'extraction des huiles essentielles (voir figure 7). Dans ce procédé, le matériel végétal est placé dans un *alambic*, posé sur une grille perforée située au-dessus d'un réservoir d'eau. Ainsi, le végétal est exposé à la vapeur d'eau saturée sans être directement en contact avec l'eau bouillante.

Sous l'effet de la vapeur, de nombreuses glandes présentes dans le végétal se rompent, libérant leurs composés aromatiques. Les huiles essentielles diffusent *alors* à travers la matière végétale et se mêlent à la vapeur d'eau qui circule autour. Ce mélange de vapeurs chargées en composés volatils est ensuite condensé avant d'être séparé par décantation. Grâce à la différence de densité entre l'eau et les huiles essentielles, ces dernières se regroupent en une phase distincte et peuvent être récupérées facilement (Bouras M., 2018).

Cette technique présente l'avantage de minimiser les réactions chimiques indésirables entre les composants des huiles essentielles et l'eau, évitant ainsi des modifications dans la composition finale de l'extrait. De plus, elle est particulièrement efficace pour extraire les huiles essentielles contenues dans les glandes situées en surface du végétal. En revanche, la distillation des huiles essentielles présentes plus profondément dans le végétal nécessite un temps plus long et une quantité de vapeur plus importante que pour celles situées en surface.

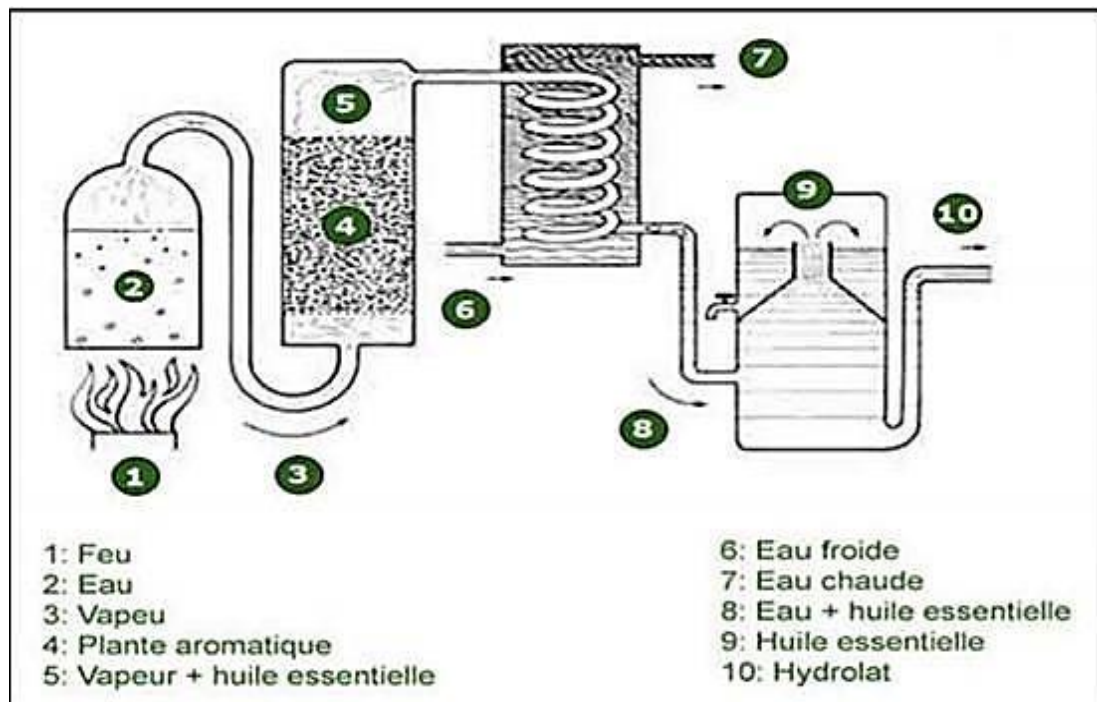


Figure 7 : Schéma du montage de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau(extrait de Laïche et Mercheri, 2023)

- **L'hydrodistillation :**

Il s'agit de la technique la plus simple et la plus répandue. Elle consiste à immerger directement les matières premières dans l'eau, puis à les faire bouillir dans leur totalité. Cette opération est généralement réalisée à pression atmosphérique. La vapeur générée est ensuite condensée grâce à un système de réfrigération à circulation d'eau.

Des expériences menées jusqu'à l'extraction complète de l'essence matricielle ont montré que le temps de distillation des organes végétaux ligneux est plus long que celui des plantes herbacées (Chakik et Kadri, 2019). Cette différence est étroitement liée à la localisation des structures responsables de la production ou du stockage des huiles essentielles, lesquelles peuvent se trouver à la surface de la plante ou à l'intérieur des tissus végétaux. Ces caractéristiques influencent le processus de distillation à l'eau, notamment le mécanisme continu impliqué, et donc la durée de l'opération d'extraction.

Lorsque ces structures sont superficielles, la membrane externe ou couche cornée se rompt rapidement lors de l'ébullition, permettant une évaporation immédiate des composés volatils. En revanche, lorsque les huiles essentielles sont situées sous la surface, elles doivent d'abord diffuser à travers l'épaisseur des tissus végétaux avant de pouvoir entrer en contact avec l'eau ou sa vapeur pour ensuite s'évaporer, comme c'est le cas des sécrétions internes (Ottou, 2017).

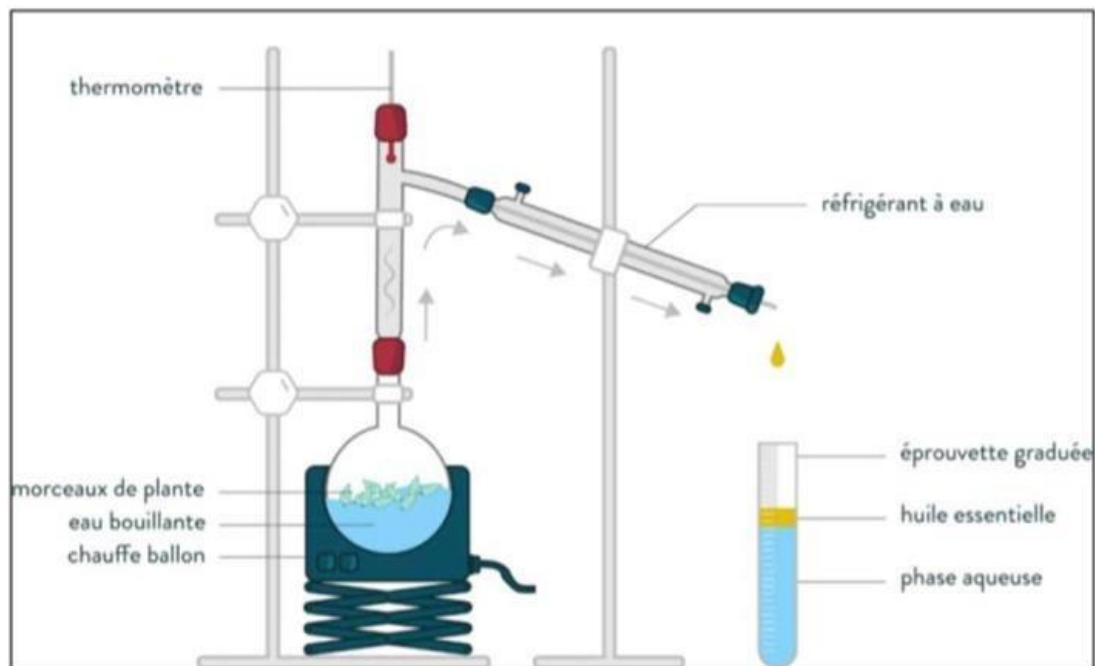


Figure 8 : Schéma du montage de l'extraction par hydrodistillation . (extrait de Laïche et Mercheri, 2023)

- **L'expression à froid :**

Ce procédé est spécifiquement utilisé pour divers fruits et plantes, en particulier les agrumes tels que les oranges, citrons et mandarines. Les huiles essentielles de ces fruits sont localisées dans de petites glandes situées dans la peau (ou écorce).

Cette méthode peut être réalisée sans apport de chaleur : elle repose sur l'utilisation d'une presse hydraulique permettant de soumettre le matériau végétal à une forte pression (Figure 9). Cette opération nécessite généralement des équipements industriels complexes.

L'extraction à froid de fruits entiers – incluant le jus et la pulpe – consiste d'abord à trier les fruits en fonction de leur taille, puis à les presser mécaniquement à froid (sans chauffage) pour libérer les huiles essentielles. Ces dernières remontent à la surface du jus extrait et sont ensuite séparées par centrifugation.

Une autre technique consiste à extraire uniquement l'écorce : celle-ci est d'abord retirée, broyée, puis frottée contre un dispositif muni d'une tête métallique conçue pour rompre les sacs à huile contenant l'essence végétale (Boudilmi et Mehous , 2019).

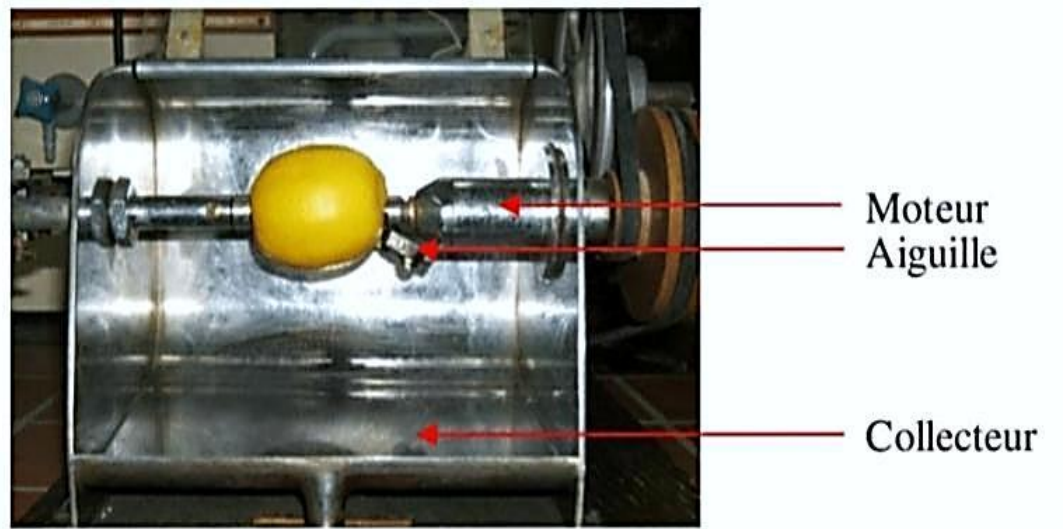


Figure 9 : Montage de l'expression à froid.

- **Extraction assistée par ultrasons :**

L'extraction assistée par ultrasons est une technique moderne et efficace qui repose sur la génération de cavitation, un phénomène provoqué par l'application d'ondes sonores à haute fréquence (20–100 kHz), entraînant la formation et l'implosion de microbulles dans le liquide présent au sein de la matrice végétale. Cette implosion provoque la rupture des cellules végétales, libérant ainsi leur contenu sous l'effet de la pression et de la température élevées (Pavlič et *al.*, 2017). Cette méthode améliore considérablement le transfert de masse, ce qui facilite l'extraction des composés bioactifs à partir des matrices végétales (Ramić et *al.*, 2020).

L'un de ses principaux avantages est sa capacité à extraire avec précision des composés sensibles à la chaleur tout en préservant leur intégrité. En effet, contrairement aux méthodes classiques nécessitant des températures élevées susceptibles d'altérer les composants fragiles, l'ultrason fonctionne à basse température, ce qui favorise la conservation des composés thermosensibles et améliore la qualité des huiles essentielles (Da Porto et *al.*, 2012). De plus, cette technique limite les dommages tissulaires, optimise l'extraction de certains composés bioactifs et augmente la teneur en phytoconstituants grâce à sa capacité à cibler les structures cellulaires (Méndez-Lagunas et *al.*, 2017).

L'extraction ultrasonique est suffisamment flexible pour permettre l'extraction d'une grande variété de composés volatils et non volatils, en ajustant ses paramètres selon la nature des matériaux végétaux. Ces avantages démontrent que l'utilisation des ultrasons constitue une méthode scientifiquement fondée, garantissant une meilleure efficacité et une conservation

accrue des composants bioactifs lors de l'extraction des huiles essentielles (Da Porto et *al.*, 2013).

L'extraction des huiles essentielles assistée par ultrasons est une technologie prometteuse qui offre plusieurs avantages par rapport aux méthodes conventionnelles, notamment une rapidité de traitement et une efficacité accrue. Toutefois, cette méthode présente également certaines limites (Reverchon & Marco, 2006). L'instabilité du phénomène de cavitation – en raison de la formation et de l'effondrement *aléatoires* des microbulles – peut entraîner des variations dans l'efficacité de l'extraction, ce qui nécessite une optimisation rigoureuse du processus (Pereira & Meireles, 2007).

De plus, la chaleur générée lors de l'application des ultrasons peut provoquer une dégradation thermique des composés sensibles contenus dans les huiles essentielles. Enfin, le passage de cette technique du laboratoire à l'échelle industrielle pose des défis opérationnels et logistiques complexes, ce qui souligne la nécessité de solutions adaptées pour assurer son exploitation commerciale. Malgré ces défis, les avantages remarquables de cette méthode soulignent son importance potentielle dans l'industrie de l'extraction des huiles essentielles (Ravikumar, 2017).

- **Extraction assistée par micro-ondes :**

L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) est une méthode innovante et prometteuse utilisée pour l'extraction de composés de valeur, tels que les pigments naturels, à partir de différentes parties de plantes ainsi que de résidus végétaux. Cette technique présente de nombreux avantages par rapport aux méthodes conventionnelles, notamment un rendement plus élevé et une meilleure qualité des extraits.

L'un des principaux atouts de la MAE réside dans sa capacité à réduire considérablement le temps d'extraction et la quantité de solvant nécessaire. Par exemple, une extraction séquentielle a été réalisée avec succès pour isoler d'abord l'huile essentielle de citron, puis les pigments contenus dans les écorces de citron (Ghazanfari et *al.*, 2023).

Des recherches ont également démontré l'efficacité de la MAE pour l'extraction des huiles essentielles à partir de différentes sources végétales. C'est le cas des feuilles d'*Eucalyptus globulus*, pour lesquelles un rendement de 2,65 % a été obtenu, soit un résultat supérieur à celui des méthodes classiques (Imranid et *al.*, 2021).

Une étude basée sur un plan expérimental de type Box–Behnken (BBD) a permis d'évaluer l'effet de plusieurs paramètres sur le rendement d'extraction, tels que le rapport solide/solvant (8–12 g/100 ml), la puissance des micro-ondes (230–540 W), la quantité d'enzyme (0,4–0,6 g) et le temps d'extraction (20–40 min) [41]. Les résultats ont montré un

rendement élevé d'extraction d'huile pigmentaire (LP) atteignant 6 % en masse (Ghazanfari et *al.*, 2023).

Outre ses performances techniques, la MAE se distingue par sa rentabilité énergétique et sa réduction de l'utilisation des solvants, la rendant plus économique que les techniques traditionnelles. En outre, l'irradiation par micro-ondes, utilisée comme prétraitement, permet d'accélérer la distillation à la vapeur, comme cela a été démontré dans le cas de l'extraction de l'huile essentielle de romarin, avec un taux d'extraction plus rapide qu'avec les méthodes classiques.

Cependant, malgré ses nombreux avantages, la MAE présente certaines limites. Le coût élevé des équipements, la possibilité de dégradation des composés sensibles à la chaleur, ainsi que le caractère parfois laborieux et chronophage de la procédure peuvent constituer des freins à son adoption à grande échelle.

Le schéma du processus d'extraction assistée par micro-ondes est illustré à la Figure 10.

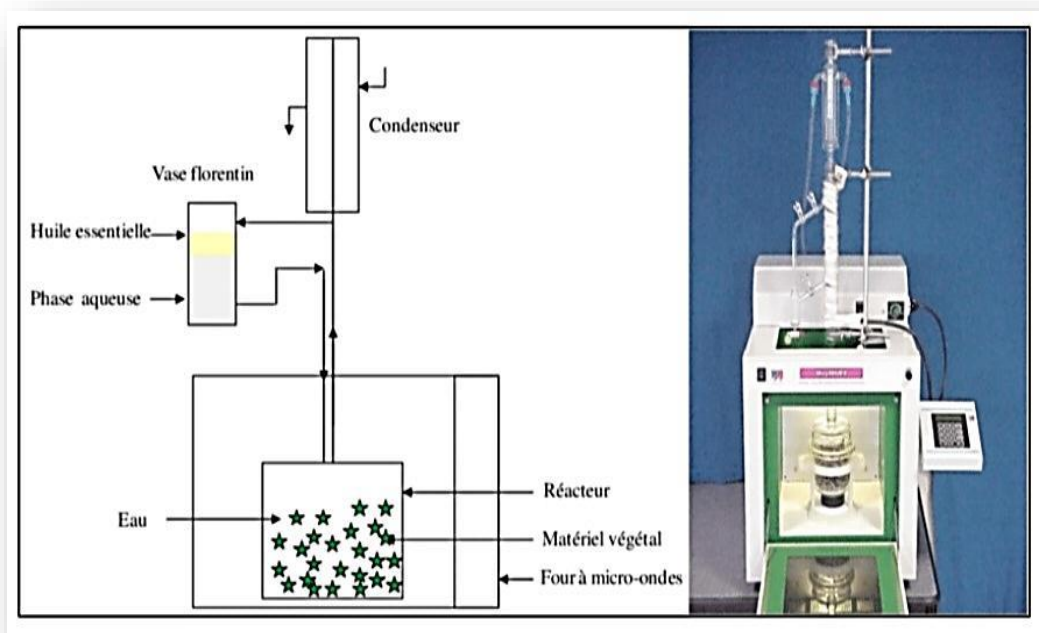


Figure 10 : Schéma du montage de l'extraction par micro-onde (extrait de Laïche et Mercheri, 2023)

- **Extraction par fluide supercritique (SFE) :**

L'extraction au fluide supercritique (SFE), utilisant principalement le dioxyde de carbone (CO₂) comme solvant, est largement reconnue pour sa précision dans l'isolement des molécules ciblées tout en éliminant les composés indésirables. Par rapport aux méthodes d'extraction traditionnelles par solvants organiques, la SFE permet d'obtenir des huiles essentielles de haute qualité, caractérisées par une grande pureté (Zheljazkov et *al.*, 2018).

L'un des avantages majeurs de la SFE réside dans sa capacité à produire des extraits sans résidus, ce qui est particulièrement pertinent pour les applications en cosmétique et en aromathérapie (Pavlič et *al.*, 2020). Fonctionnant à des températures relativement basses, elle assure la préservation des composés thermosensibles, souvent dégradés par les méthodes conventionnelles comme l'extraction Soxhlet.

La SFE se distingue également par sa sélectivité modulable : il est possible d'ajuster la température et la pression pour cibler l'extraction de certaines classes de composés. L'utilisation du CO₂ — un solvant non toxique et respectueux de l'environnement — confère à cette méthode un caractère écologique notable, comparé aux solvants organiques traditionnels.

De plus, le temps d'extraction réduit associé à la SFE en fait une méthode particulièrement efficace pour la production à grande échelle, notamment dans les contextes industriels où la rapidité est essentielle (Pavlič et *al.*, 2020).

Cependant, malgré ses nombreux avantages, la SFE présente plusieurs limitations :

Le coût d'investissement initial élevé constitue un obstacle majeur pour les petites entreprises ou les start-ups, car les équipements nécessaires sont coûteux.

La complexité technique du procédé, qui nécessite une maîtrise approfondie des dynamiques de pression et de température, représente également un frein à son adoption généralisée.

De plus, la solubilité limitée du CO₂ supercritique pour les molécules polaires peut entraîner des extractions incomplètes, empêchant l'obtention de la totalité des composants présents dans les huiles essentielles (Da Porto et *al.*, 2009).

Les coûts énergétiques élevés requis pour maintenir les conditions supercritiques, ainsi que la sensibilité du procédé aux variations de température et de pression, peuvent affecter la composition et l'arôme final des extraits.

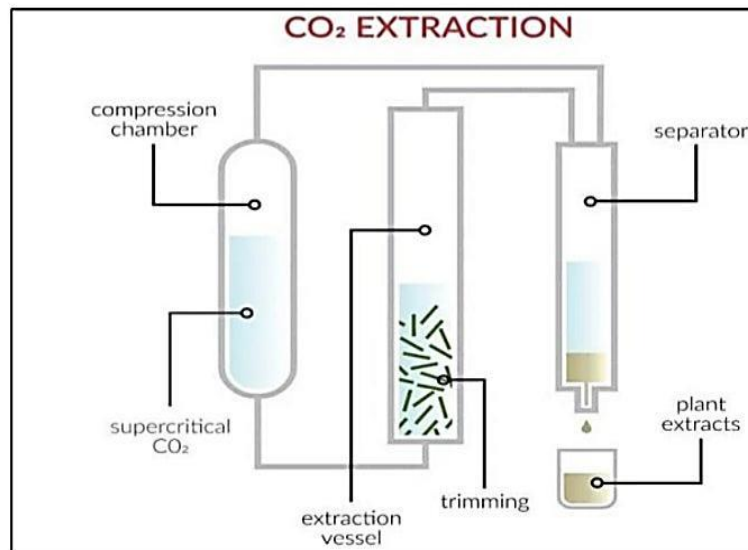


Figure 11 : Schéma du montage de l'extraction par CO₂ supercritique (extrait de Laïche et Mercheri, 2023)

I.5 Activités biologiques des huiles essentielles

- **Activités antioxydantes des huiles essentielles (HE) :**

Les huiles essentielles dotées de propriétés antioxydantes suscitent un intérêt croissant, notamment dans les domaines des sciences *alimentaires* et de la médecine. Grâce aux systèmes modernes de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), il est désormais possible de détecter des milliers de constituants présents dans les HE, ce qui permet une analyse approfondie de leurs profils chimiques complexes et variés. Parmi ces composés, ceux présentant une activité antioxydante retiennent particulièrement l'attention. Ils constituent une fraction essentielle de ces mélanges et sont souvent mis en avant comme sources prometteuses pour la découverte et le développement de nouveaux composés bioactifs, avec des applications potentielles en médecine, en pharmacie, en cosmétique et dans d'autres domaines.

Il est important de comprendre l'efficacité et le mécanisme d'action de chaque constituant d'une HE pour pouvoir prédire l'activité antioxydante globale de celle-ci (Figure 6).

D'un point de vue chimique, l'activité antioxydante désigne la capacité d'un composé, même à faible concentration, à protéger des substances susceptibles de s'oxyder — comme les lipides polyinsaturés — contre les processus oxydatifs (Ruberto & Baratta, 2000).

L'oxydation est principalement induite par une réaction en chaîne radicalaire, au cours de laquelle l'oxygène est incorporé dans les molécules organiques, entraînant la formation d'hydroperoxydes, d'époxydes et d'autres dérivés oxygénés. Ce phénomène est connu sous le nom de peroxydation.³⁰ Lors de ce processus, les radicaux *alkylperoxy* ($\text{ROO}\cdot$) sont les principaux responsables de la propagation de la chaîne réactionnelle. D'autres radicaux à courte durée de vie, tels que les radicaux hydroxyles ($\text{HO}\cdot$), produits par la réaction de Fenton, peuvent également intervenir dans l'initiation et la propagation de cette réaction. L'efficacité d'un antioxydant est étroitement liée à sa capacité à neutraliser les radicaux $\text{ROO}\cdot$ (Amorati & Valgimigli, 2018).

- **Activité antimicrobienne :**

Les huiles essentielles (HE) sont utilisées dans divers secteurs, notamment les produits pharmaceutiques, les nutraceutiques, la cosmétique, la parfumerie, l'agronomie et l'assainissement, en raison de leurs propriétés antimicrobiennes. Avec l'augmentation de la résistance aux médicaments antimicrobiens, les chercheurs sont confrontés au défi de développer de nouvelles molécules capables de cibler les agents pathogènes humains (Rudramurthy *et al.*, 2016).

Les HE gagnent en popularité comme *alternative*, car elles ne présentent pas les effets secondaires indésirables, tels que la néphrotoxicité ou l'ototoxicité, souvent associés aux médicaments synthétiques. De plus, elles représentent une approche viable pour contrôler les micro-organismes pathogènes multirésistants et lutter contre diverses maladies infectieuses (Pauli & Schilcher, 2010).

- **Activité antibactérienne :**

L'activité antibactérienne des HE se caractérise par leur capacité à inhiber ou inactiver la croissance bactérienne (Dhifi *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2011).

De nombreuses études ont démontré les effets inhibiteurs puissants des HE issues de plantes telles que *Syzygium aromaticum*, *Thymus vulgaris*, *Salvia rosmarinus*, *Origanum vulgare*, *Cinnamomum verum* et *Pimenta dioica* contre divers agents pathogènes bactériens (LeBel *et al.*, 2017; Mohamed *et al.*, 2018; Dutra *et al.*, 2019; Lorenzo-Leal *et al.*, 2019).

Les composés phénoliques présents dans les HE, comme l'eugénol, le carvacrol et le thymol, sont principalement responsables de leur activité antibactérienne contre des bactéries

telles que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pneumoniae* et *Escherichia coli*. La nature aromatique de ces composés contribue de manière significative à l'efficacité antibactérienne des HE (Lopez-Romero et al., 2015; Siddiqua et al., 2015; Herman et al., 2016; Marchese et al., 2016).

Les HE montrent une activité antibactérienne plus marquée contre les bactéries à Gram positif que contre celles à Gram négatif (Marchese et al., 2016; Sandri et al., 2007).

Par exemple, les HE de *Chrysopogon zizanioides* et de *Santalum album* ont montré une inhibition limitée des bactéries à Gram négatif, mais se révèlent plus efficaces contre les souches à Gram positif.

La nature hydrophobe des HE leur permet d'interagir avec les membranes cellulaires bactériennes, en perturbant leur structure et en augmentant leur perméabilité, ce qui peut entraîner la mort cellulaire. De plus, certains composés présents dans les HE peuvent également agir sur les mécanismes de tolérance aux médicaments chez les bactéries à Gram négatif, renforçant ainsi leur efficacité antibactérienne (Devi et al., 2010; Saei-Dehkordi et al., 2010).

L'inflammation est une réponse protectrice de l'organisme face à des stimuli nuisibles, impliquant l'intervention du système immunitaire pour éliminer les causes de l'agression et rétablir l'homéostasie tissulaire (Rana et al., 2023). (Figure 7)

Cependant, une inflammation prolongée en l'absence de stimuli persistants peut entraîner des lésions tissulaires et contribuer à l'apparition de maladies telles que le cancer ou l'obésité, nécessitant alors une intervention clinique (Bouyahya et al., 2020; Rahmani et al., 2020).

Ce processus est marqué par la libération de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-1 β , l'IL-6 et l'IL-8, qui activent les cellules immunitaires et augmentent la perméabilité vasculaire, ce qui peut conduire à des dommages tissulaires si la réponse n'est pas correctement régulée (Abdallah et al., 2023).

Des recherches ont montré que les huiles essentielles (HE) peuvent moduler les réponses inflammatoires en agissant sur les cytokines et les enzymes pro-inflammatoires, ce qui suggère leur potentiel en tant qu'agents anti-inflammatoires naturels (Sharifi-Rad et al., 2017).

L'HE de *Pelargonium graveolens*, notamment grâce à son composé principal, le citronellol, a démontré une réduction significative de la sécrétion de β -hexosaminidase dans les mastocytes stimulés par l'IgE, indiquant son potentiel dans le traitement des réactions allergiques par inhibition de la dégranulation des mastocytes (Abdallah et al., 2023; Mohammed et al., 2022).

L' α -phéllandrène, un autre composant d'HE, a montré des effets protecteurs contre la

cystite hémorragique induite par l'ifosfamide ainsi que dans la cicatrisation des plaies. Il inhibe l'infiltration des leucocytes, l'adhésion des neutrophiles, et diminue la production de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α et l'IL-6 (Bouyahya et al., 2019; Benali et al., 2018).

La bergaptène, présente dans l'HE de *Citrus bergamia*, a montré un effet prometteur dans le traitement des troubles cutanés en réduisant les lésions coliques et l'œdème dans des modèles de colite (Bencheikh et al., 2021).

Le carvacrol et son dérivé, l'acétate de carvacryle, ont présenté une activité anti-inflammatoire via leur interaction avec le récepteur TRPA1, impliqué dans la détection des lésions cellulaires (Guedri et al., 2023; Aouinti et al., 2023).

Des études de docking moléculaire ont confirmé une forte affinité de liaison entre le carvacrol et le récepteur TRPA1, renforçant ainsi son effet anti-inflammatoire (Tchoumboungang et al., 2009; Amvam Zollo et al., 1998).

L'eucalyptol, une autre HE, a montré une réduction de l'œdème de la patte et des cytokines pro-inflammatoires dans divers modèles d'inflammation, avec une action dépendante du récepteur TRPM8 (Bassolé & Juliani, 2012; Gakuubi & Maina, 2021; Kim et al., 1995).

- **Activité antidiabétique :**

Le métabolisme du glucose joue un rôle essentiel dans la régulation de la sécrétion d'insuline, en commençant par la phosphorylation du glucose en glucose-6-phosphate via la glucokinase. Cette réaction génère de l'ATP, qui inhibe les canaux potassiques sensibles à l'ATP. Cette inhibition active les canaux calciques voltage-dépendants de type L, entraînant une augmentation du calcium intracellulaire et déclenchant ainsi la libération d'insuline (Bouyahya et al., 2022).

Par ailleurs, des hormones d'origine intestinale comme le peptide 1 de type glucagon (GLP-1) et le peptide insulino-trope dépendant du glucose (GIP) renforcent la sécrétion d'insuline pancréatique, bien qu'elles soient rapidement inactivées par la dipeptidyl peptidase-4 (Ghanemi et al., 2021; Khan et al., 2019).

Un régime riche en graisses aggrave la situation en provoquant une inflammation et un dysfonctionnement du tissu adipeux, ce qui stimule la production de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF- α , l'IL-6 et l'IL-1 β , contribuant ainsi à la résistance à l'insuline et au diabète de type 2 (Al-Snafi, 2016).

Les huiles essentielles (HE) ont montré des propriétés antidiabétiques en neutralisant les radicaux libres, en inhibant l'oxydation du glucose et en réduisant la glycation des protéines, tout en modulant les voies de signalisation associées au métabolisme du glucose, notamment les voies MAPK, GLUT4 et Caspase-3 (Zhang & Chen, 2020). (Figure 8)

Elles permettent de réduire les marqueurs pro-inflammatoires tels que le TNF- α et les interleukines, d'augmenter les niveaux d'insuline et de stimuler les enzymes antioxydantes telles que la SOD, la catalase et la GPx (Bahadori et al., 2023; Haq et al., 2022).

La modulation des voies MAPK, incluant les ERK, JNK et p38/SAPK, a permis de restaurer la fonction d'AQP7, de promouvoir la sécrétion d'insuline et d'inhiber la Caspase-3, réduisant ainsi l'apoptose des cellules β (Zhou et al., 2021; Zhang et al., 2022; Ullah et al., 2022).

Le renforcement de la signalisation de l'insuline a favorisé la translocation de GLUT4, facilitant le métabolisme du glucose (Cheng et al., 2022; Lu et al., 2022).

L'inhibition des prostaglandines, des cytokines, de l' α -amylase et de l' α -glucosidase a permis de réduire la résistance à l'insuline, d'améliorer l'activité des enzymes glycoprotéiques et de stabiliser les niveaux de glucose (Guo et al., 2020; Wang et al., 2021; Zhang & Hu, 2021).

De plus, l'activation de l'AMPK a favorisé l'expression de GLUT4, réduit l'inflammation et amélioré la résistance à l'insuline (Batiha et al., 2022).

I.6 Applications des huiles essentielles

Le champ d'utilisation des huiles essentielles est extrêmement étendu. Toutefois, quatre grands domaines d'application industrielle se distinguent : l'industrie agroalimentaire, la parfumerie et la cosmétique, l'industrie

pharmaceutique ainsi que l'industrie chimique.(agrimer, 2020).

- **Industrie agroalimentaire :**

Dans ce secteur, les huiles essentielles sont principalement exploitées en tant qu'agents de conservation des *aliments* et comme substances aromatisantes. Par exemple, les huiles essentielles de clou de girofle, vanille, menthe, gingembre, citronnelle et d'agrumes sont couramment incorporées dans la fabrication de confiseries, thés, sirops, boissons, biscuits et divers produits laitiers.(kelal. 2013 ; ouder, 2018).

- **Industrie de la parfumerie et des cosmétiques :**

Ce secteur représente l'un des plus grands consommateurs d'huiles essentielles. Celles-ci interviennent dans la formulation de parfums, shampooings, gels douche, crèmes, laits corporels, déodorants, ainsi que dans divers produits d'entretien comme les savons, détergents, lessives et adoucissants textiles.

- **Industrie pharmaceutique :**

Le secteur pharmaceutique fait un large usage des huiles essentielles, notamment dans la formulation d'antiseptiques à usage externe. Il exploite aussi leurs propriétés biologiques variées, telles que les effets bactériostatiques, bactéricides, antifongiques et protecteurs.

L'Agence Européenne du Médicament a d'ailleurs reconnu l'efficacité de nombreuses huiles essentielles dans le traitement de diverses pathologies. Parmi celles-ci figurent l'anis vert, l'arbre à thé, la bergamote, la cannelle de Ceylan, le carvi et l'eucalyptus globuleux.

Par exemple, l'huile essentielle de Tea Tree (arbre à thé) est utilisée pour le soin des plaies superficielles, les piqûres d'insectes, les démangeaisons, ainsi que les inflammations de la muqueuse buccale. Quant à l'huile essentielle de *Mentha piperita*, elle est préconisée dans la gestion des troubles digestifs tels que les spasmes, les flatulences, les douleurs abdominales et la colopathie fonctionnelle, ainsi que dans le soulagement des céphalées. (sokasan, 2017).

- **Industrie chimique :**

Dans l'industrie chimique, les huiles essentielles servent de matières premières dans la synthèse de principes actifs à usage pharmaceutique, de vitamines et de composés aromatiques. Elles sont également intégrées dans des formulations de biopesticides, en raison de leur large spectre d'activité contre les insectes et agents pathogènes.

À titre d'exemple, l'huile essentielle de clou de girofle est utilisée pour lutter contre le champignon *Glomerella cingulata*, responsable de la pourriture des raisins mûrs. Par ailleurs, l'huile essentielle d'orange est autorisée en France comme insecticide et acaricide naturel. (gundel et al. 2019).

I.7 La plante de *Tetraclinis articulata*

I.7.1 Définition

Tetraclinis articulata, communément appelée *Thuya* de Barbarie, est une espèce monoïque appartenant à l'embranchement des Gymnospermes et à la famille des Cupressacées (Hadjadj et Letreuch Belarouci, 2017 ; Zahir et Rahmani, 2020). Cette espèce est essentiellement limitée à la région sud-ouest du bassin méditerranéen (Hadjadj et Letreuch Belarouci, 2017), où elle constitue un élément important du couvert forestier nord-africain.

Le *Thuya* de Barbarie joue un rôle socio-économique significatif, notamment dans le domaine de l'artisanat traditionnel. Son bois, très prisé pour sa qualité, est utilisé en ébénisterie, tandis que son écorce, riche en résine, est exploitée dans la fabrication de certains vernis (Montassir et *al.*, 2017 ; Mhirit et Benchekroun, 2006).

En outre, cette essence forestière est largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Diverses parties de la plante sont employées dans le traitement des infections intestinales, des douleurs gastriques, des maladies respiratoires, du diabète, de l'hypertension ainsi que de la fièvre (Zahir et Rahmani, 2020). Ces usages suggèrent que les extraits et/ou les huiles essentielles (HE) de *T. articulata* contiennent des composés bioactifs dotés de diverses activités biologiques (Dane et *al.*, 2015 ; El Jemli et *al.*, 2016a ; Montassir et *al.*, 2017 ; Rached et *al.*, 2018 ; Sadiki et *al.*, 2018).

Dans cette optique, la présente revue vise à valoriser les effets biologiques de cette plante, notamment ses propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antitumorales ainsi que son activité larvicide. Elle aborde également les données disponibles sur la toxicité de l'espèce, dans le but d'informer le public sur les limites de son usage en médecine traditionnelle et moderne, et de souligner les éventuels risques pour certaines espèces clés des écosystèmes aquatiques et terrestres.

I.7.2 Caractéristique botanique

Le *Thuya* de Berbérie (*Tetraclinis articulata* ou *Callitris articulata*) est un conifère sempervirent, mesurant généralement entre 6 et 8 mètres de hauteur, mais pouvant atteindre plus de 15 mètres. Ce conifère, typiquement méditerranéen, forme des peuplements appelés tétraclinaies ou callitraies (UICN, 2011).

Espèce rustique et xérophile, *T. Articulata* est capable de se régénérer après les incendies, et peut croître sur des sols pauvres, ce qui lui confère un rôle écologique majeur dans la lutte contre l'érosion, notamment en zones montagneuses.

Cet arbre résineux présente un feuillage persistant et léger. À l'état juvénile, il adopte un port pyramidal. Ses feuilles sont réduites en écailles imbriquées et opposées deux à deux. Les fleurs, organisées en chatons, sont localisées à l'extrémité des rameaux. Les fruits sont des cônes à forme cubique, s'ouvrant sous l'effet de la chaleur par quatre valves, libérant ainsi jusqu'à six graines munies d'ailes (Hadjadj-Aoul et *al.*)

L'arbre fleurit en automne, généralement au mois d'octobre, et produit ses fruits l'été suivant, soit en juin-juillet. La fructification débute à partir de 15 ans et peut se poursuivre jusqu'à un âge très avancé. L'ouverture des cônes, qui, comme pour de nombreuses autres

espèces, est déclenchée par la chaleur, n'a lieu qu'à la fin de l'été (Boudy, 1952).

Les plantules sont très similaires à celles du pin d'Alep et peuvent facilement être confondues avec lui. En effet, au cours de leur première année, elles possèdent de petites feuilles en aiguilles d'environ un centimètre de longueur.

Ce n'est que plus tard que les petites feuilles de la plantule du *Thuja* s'organisent en écailles imbriquées par groupes de quatre, formant ainsi de petits rameaux articulés caractéristiques. Ce processus donne naissance à un feuillage très léger, ce qui permet au couvert du *Thuja* de rester suffisamment lumineux (Hadjadj-aoul, 1995).

La production de graines (Figure 5) de cette espèce est relativement élevée, atteignant environ 10 000 graines par kilogramme. Le problème de la régénération naturelle de l'arbre ne semble pas être limité par la quantité de semences produites (Hadjadj-aoul et *al.*, 2009).



Figure 12 : feuille de *T. articulata*

(<http://api.tela-botanica.org/img:002272863O.jpg>)



Figure 13 : cônes de *T. articulata*

(<http://ecologie.ma/le-thyya-de-berberie>)



Figure 14 : Aspect général de *T. articulata*

(<http://ecologie.ma/le-thuya-de-berberie>)



Figure 15 : cônes de *T. articulata*

(<http://api.tela-botanica.org/img:002272863O.jpg>)



Figure 16 :Ecorce de *T. articulata*

(<http://www.flickr.com/photos/helicongus/10697>)

I.7.3 Composition chimique

Tableau 1 : Les composition chimique de la plante *Tetraclinis artucilata* .

Auteurs et année de publication	Pays	Partie utilisé	Méthodes d'extraction	Méthodes d'analyse	Composés majoritaires
(Benali Toumi et al., 2011)	La région de Frenda, Tlemcen (Algérie)	Feuilles	Clevenger	CPG et CG/MS	Bornyle acetate (24, 59%) Camphre (23, 41%) α -pinene (11,34%)
(Bourkhiss et al., 2007)	La région de Khemisset(Maroc)	Rameaux sèche	Clevenger	CG/MS	L' α -pinène (30,22 %) le limonène (22,29 %)
(Ben jemia et al., 2012)	Parc national de Boukornine (Tunisie)	Feuilles séchées	Clevenger	CG/MS	l'acétate de bornyle (31,4%) l' α -pinène (24,5%) le camphre (20,3%)
(Buhagiar et al., 2000)	Ile de Malte	Cônes et Graines	Clevenger	CG/MS	l' α -pinène (68.2%, 46.3%) limonène (16.6% ,25.3%)

I.7.4 Activités biologiques rapportées

- **Activité antibactérien :**

La résistance bactérienne aux antibiotiques constitue aujourd'hui un enjeu majeur de santé publique à l'échelle mondiale. En effet, ces dernières décennies ont été marquées par une recrudescence des maladies infectieuses en raison de l'émergence et de la propagation de souches bactériennes multi-résistantes (Zahir et *al.*, 2018a). Face à cette problématique, de nombreuses recherches ont été entreprises dans le but d'identifier des composés antibactériens d'origine végétale.

Dans ce contexte, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle (HE) extraite par hydro-distillation à partir du bois de loupe de *Tetraclinis articulata*, récolté dans la région d'Oulmès (Maroc), a été évaluée contre quatre souches bactériennes : *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Streptococcus D*. Les résultats ont mis en évidence une activité inhibitrice notable vis-à-vis de toutes les bactéries testées, avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) proches de 1,25 µl/ml.

Cette activité antibactérienne pourrait être attribuée à l'un ou plusieurs des quinze composés identifiés dans l'HE par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Les principaux constituants détectés sont le cédrène (23 %), le thymol (22 %), le 3-tert-butyl-4-méthoxyphénol (19 %), le cédrénol (9,6 %), le muurolène (5,4 %) et le sclarène (3 %). Ces résultats suggèrent que l'HE issue du bois de loupe de *T. articulata* possède un potentiel intéressant en tant qu'agent antibactérien (El Moussaouiti et *al.*, 2010).

- **Activité anti-inflammatoire :**

L'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles (HE) extraites des feuilles et du bois de *Tetraclinis articulata*, prélevés dans quatre sites algériens (Zeddine, Mansoura, Zakkar et Tazoult), a été évaluée à travers l'inhibition de deux enzymes clés de l'inflammation : la lipoxigénase (LOX) et la xanthine oxydase (XO). L'efficacité inhibitrice a été déterminée par le calcul des concentrations inhibitrices médianes (CI₅₀), correspondant à 50 % d'inhibition de l'activité enzymatique.

Les résultats ont révélé que les HE présentent des propriétés anti-inflammatoires notables, bien que les valeurs de CI₅₀ varient en fonction de l'organe (bois ou feuilles) et du site de collecte. Concernant la lipoxigénase, les valeurs de CI₅₀ pour les extraits de bois se situent entre 2,51 ± 0,23 et 8,88 ± 0,11 µg/ml, tandis que celles des feuilles varient entre 13,86 ± 0,20 et 25,93 ± 0,16 µg/ml. Les HE de la région de Zeddine ont montré la plus forte inhibition

enzymatique, avec des CI_{50} respectives de $2,51 \pm 0,23 \mu\text{g/ml}$ pour le bois et de $13,86 \pm 0,20 \mu\text{g/ml}$ pour les feuilles. À l'inverse, les HE provenant de Tazoult ont présenté les inhibitions les plus faibles.

Toutefois, même la meilleure activité inhibitrice observée ($2,51 \pm 0,23 \mu\text{g/ml}$) reste inférieure à celle du composé de référence, l'acide nordihydroguaiarétique, dont la CI_{50} est de $0,61 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$.

En ce qui concerne la xanthine oxydase, les HE ont également démontré un pouvoir inhibiteur, avec des CI_{50} variant de $6,54 \pm 0,25$ à $17,97 \pm 0,27 \mu\text{g/ml}$ pour le bois, et de $18,12 \pm 0,15$ à $29,4 \pm 0,19 \mu\text{g/ml}$ pour les feuilles. Là encore, la meilleure inhibition ($6,54 \pm 0,25 \mu\text{g/ml}$) a été obtenue avec l'HE de bois, mais demeure inférieure à celle de l'allopurinol, composé standard, dont la CI_{50} est de $2,45 \pm 0,19 \mu\text{g/ml}$ (Djouahri et al., 2014a).

- **Autres activités biologiques :**

Outre ses effets antibactériens et anti-inflammatoires, *Tetraclinis articulata* a fait l'objet de nombreuses études mettant en évidence d'autres activités biologiques intéressantes. Selon Jlizi et al. (2018), la résine de *Thuya* possède une activité antityrosinase significative, atteignant un taux d'inhibition de 87,2 % à une concentration de $50 \mu\text{g/ml}$. De plus, cette résine exerce un effet antitumoral marqué contre la lignée cellulaire HeLa (adénocarcinome), avec une concentration inhibitrice médiane (CI_{50}) de $9,5 \pm 1,0 \mu\text{g/ml}$.

L'huile essentielle (HE) de *T. articulata* a également montré une activité cytotoxique sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses humaines, notamment celles du sein et de l'ovaire, avec une CI_{50} d'environ $80 \mu\text{g/ml}$ (Buhagiar et al., 1999). Ces auteurs ont attribué cet effet à la présence de monoterpènes, capables d'induire l'apoptose.

Par ailleurs, Rached et al. (2018) ont démontré que l'extrait à l'acétate d'éthyle de *T. articulata* contient des flavonoïdes tels que la catéchine, l'épicatéchine et la quercétine, qui inhibent efficacement la prolifération de trois lignées cellulaires du cancer de la prostate humaine. Les mécanismes d'action suggérés incluent l'arrêt du cycle cellulaire, la régulation négative de la protéine mutante p53, l'inhibition d'enzymes pro-carcinogènes ainsi que la modulation de l'expression des protéines Ras (Tiwari et Husain, 2017).

D'autre part, Sadiki et al. (2018) ont mis en évidence le potentiel neuroprotecteur de l'HE de *T. articulata*, suggérant son utilisation comme agent thérapeutique contre la démence. En effet, l'HE module l'activité cholinergique et renforce l'action antioxydante dans l'hippocampe de rats traités expérimentalement.

L'activité larvicide de la plante a également été démontrée. L'extrait aqueux de son bois présente des effets toxiques notables 24 heures après exposition, avec des concentrations létales

(CL₅₀) très faibles. L'étude, menée sur différentes espèces de moustiques (*Culex pipiens*, *Aedes caspius*, *Culiseta longiareolata* et *Anopheles maculipennis*), atteste de l'efficacité de la plante comme *larvicide naturel* (Aouinty et al., 2006).

- **Toxicité :**

La majorité des recherches concluent à une faible toxicité de *Tetraclinis articulata* (Zahir et al., 2020). Son innocuité a été confirmée aussi bien chez la souris (Jemli et al., 2016a) que chez le rat (Sadiki et al., 2018). Plus encore, une étude menée sur des cellules hépatiques primaires de porc a montré que l'extrait aqueux brut des feuilles de *T. articulata* (région d'Oran, algérie) ne présente aucune cytotoxicité observable, avec une CI₅₀ supérieure à 400 µg/ml, comparée à l'ellipticine (CI₅₀ = 3,2 µg/ml), utilisée comme agent de référence (Rached et al., 2018).

Cependant, un cas clinique d'eczéma de contact a été signalé à la suite d'une application unique d'une décoction de feuilles et de rameaux de *T. articulata*. Cette toxidermie pourrait être due à certains composants potentiellement allergènes tels que le limonène, l'α-pinène et le camphre (Zahir et Rahmani, 2020).

Il convient également de souligner que la majorité des études existantes s'intéressent uniquement à la toxicité aiguë, alors que la toxicité peut varier en fonction de la partie de la plante utilisée, de la dose administrée et de la durée d'exposition. Ainsi, il est crucial de procéder à des analyses approfondies incluant la toxicité chronique et la toxicité cumulative, tant pour les extraits bruts que pour les huiles essentielles et leurs composés actifs (Azzi et al., 2012).

D'un point de vue environnemental, il est également indispensable de mener des études écotoxicologiques pour évaluer les impacts potentiels sur les espèces non ciblées. Montasir et al. (2017) ont notamment mis en évidence une toxicité aiguë et un effet reprotoxique potentiel de l'extrait aqueux de *T. articulata* sur *Daphnia magna*, un organisme aquatique clé dans les écosystèmes marocains, soulignant ainsi la nécessité d'une utilisation raisonnée de ces extraits naturels.

I.8 La plante de *Thuya occidentalis*

I.8.1 Définition

Le *Thuya occidentalis* (*Thuya occidentalis*) est une essence forestière persistante appartenant à la famille des

Cupressacées. Il est principalement présent dans le nord-est des États-Unis ainsi que dans le sud-est du Canada, notamment au Québec et en Ontario. Cette espèce pousse sur une grande

variété de sites, incluant des stations humides ou mal drainées, et se rencontre aussi bien en peuplements purs qu'en peuplements mixtes associés à d'autres résineux comme le sapin baumier (*Abies balsamea*) ou des feuillus tels que les érables (*Acer* spp.) (Bouffroy et al., 2012).

Le *Thuja* occidental se caractérise par une croissance lente et une grande longévité, pouvant vivre plusieurs centaines d'années. Cette longévité en fait un indicateur important de forêts anciennes et écologiquement matures (Bergeron, 2000). Il présente une forte tolérance à l'ombre, ce qui lui permet de persister dans les strates inférieures des peuplements forestiers pendant de longues périodes, même dans des conditions moins favorables pour d'autres espèces.

Sur le plan écologique, le *Thuja* joue un rôle essentiel dans le maintien de la biodiversité. Il fournit nourriture et abri à diverses espèces animales, notamment aux cerfs de Virginie (*Odocoileus virginianus*) qui l'utilisent particulièrement en hiver pour se protéger du froid et trouver une source alimentaire (Ullrey et al., 1967). Cette espèce peut se reproduire aussi bien sexuellement, par graines, que de façon asexuée par marcottage, favorisant ainsi sa régénération dans divers contextes écologiques.

Du point de vue économique, le bois de *Thuja* est très prisé pour sa résistance naturelle à la pourriture. Il est utilisé dans la construction, la fabrication de papier Kraft et d'autres produits nécessitant un matériau durable (Bouffroy et al., 2012).

I.8.2 Caractéristiques botaniques

Nom scientifique : *Thuja occidentalis* L.

Famille : Cupressaceae (les Cupressacées)

Nom commun : *Thuja occidentalis*, Cèdre blanc du Nord

Origine : Nord-est de l'Amérique du Nord, notamment au Québec, en Ontario et dans le nord-est des États-Unis (Bouffroy et al., 2012)

Port et taille : Conifère à feuillage persistant, à port conique.

Hauteur : généralement entre 10 et 20 mètres, pouvant atteindre 25 mètres dans des conditions favorables (Farrar, 1995).

Diamètre du tronc : jusqu'à 60 cm.

La couronne est dense et régulière chez les jeunes individus, devenant plus irrégulière avec l'âge.

Feuillage : Feuilles en forme d'écailles, vert foncé, disposées en rameaux aplatis en éventail.

Texture coriace et émanation d'une odeur aromatique lorsqu'on les froisse (Bouffroy et

al., 2012).

Écorce : Écorce mince, fibreuse, de couleur brun rougeâtre à gris.

Se détache en longues bandes verticales (Farrar, 1995).

Cônes : Cônes femelles : petits (8 à 12 mm), ovoïdes, brun clair à maturité, composés de 8 à 10 écailles.

Cônes mâles : très petits, produisant du pollen au printemps (Boulfroy et *al.*, 2012).

Système racinaire : Racines peu profondes et étalées, rendant l'arbre vulnérable au renversement lorsqu'il est

I.8.3 Composition chimique

Thuja occidentalis L., communément appelé *Thuja* occidental, est un conifère appartenant à la famille des Cupressacées. Cette plante est reconnue pour sa richesse en composés bioactifs, responsables de ses diverses propriétés pharmacologiques et usages industriels.

- **Huiles essentielles**

Les huiles essentielles extraites principalement des feuilles et rameaux de *Thuja occidentalis* contiennent une forte proportion de monoterpènes. Le principal composé est l' α -thuyone, qui représente généralement entre 50 et 65 % de la composition totale. D'autres composés importants incluent le β -thuyone, le fenchone, le sabinène, l' α -pinène et le limonène. Ces huiles sont responsables des activités antimicrobiennes, antifongiques et insecticides observées chez cette espèce (Boulfroy et *al.*, 2012).

- **Composés phénoliques et flavonoïdes**

Thuja occidentalis contient également des composés phénoliques tels que les coumarines, et des flavonoïdes comme le kaempférol et la quercétine. Ces molécules jouent un rôle important dans les propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires du *Thuja* (Ruel et Harvey, 2010).

- **Autres composés**

Le bois et les autres parties de la plante renferment aussi des polysaccharides ainsi que des *Thuyaplicines*, des composés phénoliques spécifiques au bois de thuya, connus pour leur forte activité antibactérienne (Harvey et Miller, 2013).

- **Toxicité**

L' α -thuyone est reconnu pour sa toxicité neuroactive à forte dose, pouvant provoquer des convulsions et d'autres effets neurologiques. Il est donc recommandé d'utiliser ses extraits avec prudence, notamment dans les préparations médicinales (Miller, 2015).



Figure 17 : Feuilles de *thuya occidentalis*.

(Annie Rouleau)

I.8.4 Activités biologiques rapportées

Le *Thuja occidentalis* est une espèce reconnue pour ses nombreuses propriétés biologiques, qui en font une plante d'intérêt à la fois pharmaceutique et écologique.

- **Activités antimicrobiennes :**

Plusieurs études ont démontré que les extraits de *Thuja occidentalis* possèdent une forte activité antimicrobienne contre divers agents pathogènes, notamment des bactéries Gram-positives et Gram-négatives ainsi que des champignons. Ces propriétés sont attribuées à la présence de composés bioactifs tels que les thujones, les flavonoïdes et les tanins (Kozłowska et al., 2012).

- **Activités antioxydantes :**

Les extraits de *Thuja* contiennent des composés phénoliques qui confèrent une importante activité antioxydante. Ces antioxydants permettent de neutraliser les radicaux libres, ce qui peut contribuer à la protection cellulaire et à la prévention de certaines maladies liées au stress oxydatif (Singh et al., 2015).

- **Activité anti-inflammatoire :**

Des travaux ont montré que les extraits de *Thuja occidentalis* peuvent réduire les processus inflammatoires en inhibant la production de médiateurs inflammatoires. Cette propriété est intéressante pour le traitement de maladies inflammatoires chroniques (Müller et al., 2017).

- **Activité antivirale :**

Certaines recherches suggèrent que les huiles essentielles de *Thuja* ont une activité antivirale, notamment contre des virus responsables d'infections respiratoires, bien que ces résultats nécessitent des validations cliniques supplémentaires (Smith et al., 2018).

- **Autres activités :**

Le *Thuya* est également utilisé en phytothérapie pour ses propriétés expectorantes et immunostimulantes. Il intervient dans le traitement des affections des voies respiratoires et comme soutien du système immunitaire (Brahim et *al.*, 2016).

CHAPITRE II

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Récolte des échantillons végétaux

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué exclusivement des feuilles de deux espèces appartenant à la famille des Cupressacées : *Tetraclinis articulata* et *Thuya occidentalis*.

Les feuilles de *Tetraclinis articulata*, connu sous le nom de *Thuya* de Berbérie, ont été récoltées dans la région Sidi Lakhdar, wilaya de Mostaganem(Algérie.), un environnement naturel caractérisé par un climat méditerranéen et une végétation spontanée bien développée.

Thuya occidentalis, appelé également *Thuya* occidental ou cèdre blanc du Nord, les feuilles ont été prélevées à partir d'arbres matures cultivés également dans la région de Oued R'hiou, wilaya de Relizane (Algérie).

La collecte des feuilles a été réalisée manuellement au cours du mois de mars, en sélectionnant uniquement les feuilles saines et bien développées, dans le but de garantir la qualité du matériel végétal destiné à l'extraction des huiles essentielles.



Figure 18 : Récolte des plantes (*Tetraclinis articulata* et *Thuya occidentalis*)



Figure 19 : localisation géographique des échantillons végétaux

II.2 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles de *Tetraclinis articulata* et de *Thuya occidentalis* a été réalisée par hydrodistillation, en utilisant un appareil de type Clevenger modifié. Ce dispositif est constitué d'un récipient en inox placé sur une plaque chauffante électrique, muni d'un couvercle hermétique traversé par un tube de sortie en acier inoxydable permettant le passage de la vapeur. La vapeur d'eau, en traversant la matière végétale, entraîne avec elle les composés volatils. Elle est ensuite dirigée vers un condenseur à circulation d'eau froide, où elle se condense.

Le distillat obtenu, composé d'un mélange d'eau et d'huile essentielle, a été soigneusement traité pour séparer entièrement la phase aqueuse. L'eau a été décantée et retirée manuellement, permettant de récupérer uniquement l'huile essentielle. Cette dernière a ensuite été conservée dans des flacons en verre brun, à l'abri de la lumière, à une température de 4 °C, en vue des analyses biologiques ultérieures. Généralement, le processus prend deux heures.



Figure 20 : extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.

II.3 Dosages des composés bioactifs

II.3.1 Dosages des polyphénols totaux

- **Principe de la Méthode de Folin-Ciocalteu**

La quantification des polyphénols totaux a été réalisée selon la méthode décrite par Wood *et al.* (2002). Le réactif de Folin-Ciocalteu contient des hétéropolyacides phosphotungstiques (H₃PW₁₂O₄₀) et phospho-molybdiques (H₃PMo₁₂O₄₀). En présence de composés phénoliques, ces acides sont réduits, ce qui entraîne la formation d'un complexe de couleur bleue. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la concentration en polyphénols dans l'échantillon et peut être mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde spécifique (généralement entre 725 nm et 765 nm).

- **Mode opératoire :**

200 µl d'huile essentielle (1/10, v/v dans du méthanol) a été ajouté à 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10. Après homogénéisation, le mélange a été incubé durant 5 minutes à température ambiante (environ 23 ± 1 °C), puis 2 ml de solution de carbonate de sodium NaCO₃ à 7,5 % (m/v) ont été ajoutés. Le mélange obtenu a été incubé à 50 °C pendant 5 minutes. L'absorbance de la solution a ensuite été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc composé de 5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et de 4 ml de solution de carbonate de sodium.

- **Préparation de la gamme d'étalon d'acide gallique :**

L'acide gallique a été utilisé comme étalon de référence pour établir la courbe d'étalonnage et déterminer la concentration en polyphénols totaux, exprimée en mg

d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait). La courbe a été établie simultanément dans les mêmes conditions expérimentales. Une solution mère est obtenue en dissolvant 1 mg d'acide gallique dans 5 ml de méthanol (MeOH), ce qui donne une concentration de 200 µg/ml. Ensuite, une série de dilutions a été réalisée à partir de cette solution mère.

Tableau 2 : La gamme d'étalon d'acide gallique

Concentration de la solution étalon (Acide gallique) (µg/ml)	Dilution de la solution SM
25	25 µl de SM + 175 µl de MeOH
50	50 µl de S1 + 150 µl de MeOH
75	75 µl de S1 + 125 µl de MeOH
100	100 µl de S1 + 100 µl de MeOH
125	125 µl de S1 + 75 µl de MeOH
150	150 µl de S1 + 50 µl de MeOH
175	175 µl de S1 + 25 µl de MeOH
200	200 µl de S1



Figure 21 : Les échantillons et la gamme d'étalon d'acide gallique pour le dosage polyphénols totaux.

II.3.2 Dosage des flavonoïdes

- **Principe:**

La quantification des flavonoïdes a été réalisée en utilisant une méthode qui repose sur la formation d'un complexe stable entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène situés sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes (Ali-Rachedi et *al.*, 2018). Cette méthode est une version modifiée de celle décrite par Topçu et *al.* (2007).

- **Mode opératoire:**

Une quantité de 1 mg d'extrait est dissoute dans 1 ml de méthanol. Dans une microplaque à 96 puits, 50 µl de l'extrait sont ajoutés à 100 µl de méthanol. Ensuite, 20 µl de nitrite de sodium et 20 µl de chlorure d'aluminium sont ajoutés. Le mélange est incubé à l'obscurité pendant 40 minutes à température ambiante. L'absorbance est ensuite mesurée à 415 nm. Un blanc est préparé en remplaçant les réactifs par du méthanol (50 µl d'extrait + 150 µl de méthanol).

- **Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine:**

Une solution mère (SM) de quercétine a été préparée en dissolvant 1 mg dans 5 ml de méthanol pour obtenir une concentration de 200 µg/ml. Les dilutions sont préparées dans des tubes Eppendorf comme décrit dans le tableau 3.

50 µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque, suivis de l'addition de 130 µl de méthanol, 10 µl d'acétate de potassium (CH_3COOK) et 10 µl de nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$).

Après une incubation de 40 minutes, la lecture est effectuée à 415 nm. Enfin, une courbe d'étalonnage de la quercétine est établie.

Tableau 3 : La gamme d'étalon de la quercétine

Concentration de la solution étalon (Quercétine) (µg/ml)	Dilution de la solution mère
25	25 µl de SM + 175 µl de MeOH
50	50 µl de SM + 150 µl de MeOH
75	75 µl de SM + 125 µl de MeOH
100	100 µl de SM + 100 µl de MeOH
125	125 µl de SM + 75 µl de MeOH

150	150 μl de SM + 50 μl de MeOH
175	175 μl de SM + 25 μl de MeOH
200	200 μl de SM

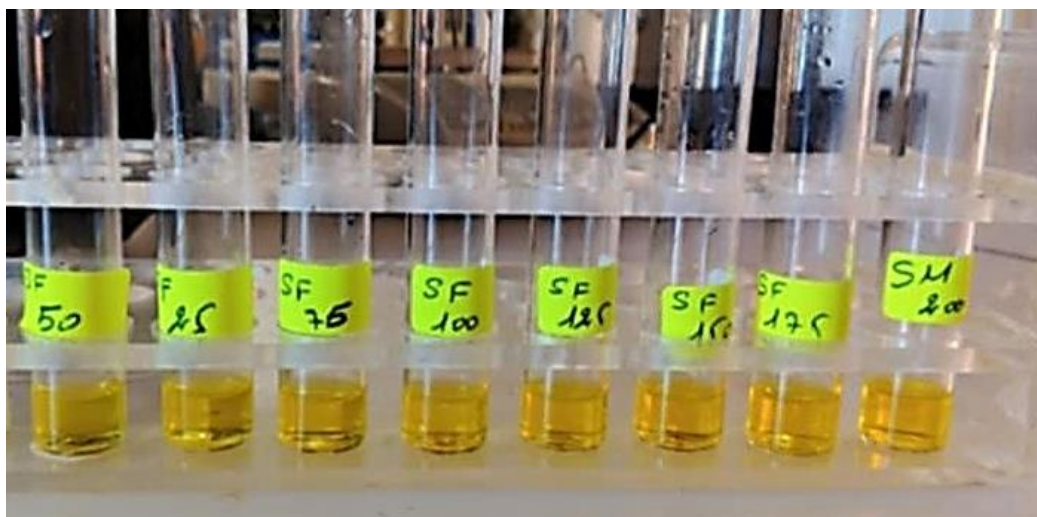


Figure 22 : Echantillon de la gamme quercétine pour le dosage des flavonoïde

II.3.3 Dosage de tanins condensés

- **Principe**

La méthode de Schofield et al. (2001) est une méthode colorimétrique qui quantifie les tanins condensés (proanthocyanidines) en se basant sur leur capacité à réagir avec la vanilline en milieu acide fort (HCl). Cette réaction entraîne la formation d'un complexe chromophore de couleur rouge-rose, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en tanins condensés. L'absorbance est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde d'environ 500 nm. Les résultats sont généralement exprimés en équivalents de catéchine (EC), car la catéchine est un monomère de base des proanthocyanidines et est souvent utilisée comme étalon.

- **Mode opératoire**

400 μl de chaque échantillon ou standard, ont été ajoutées à 3 ml d'une solution de vanilline (4% dans le méthanol), et 1,5 ml d'acide hydrochlorique concentré. Le mélange est incubé durant 15 min et l'absorbance est lue à 500 nm. Les concentrations des tanins condensés sont déduites à partir des gammes d'étalonnage établies avec la catéchine (0-0,5 mg/ml), et sont exprimées en milligramme d'équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg ECT/g).

- **Préparation de la gamme étalon de catéchine :**

La gamme étalon de catéchine a été préparée à partir d'une solution mère de 1 mg/ml

(20 mg de catéchine dissous dans 20 ml de méthanol). Les différentes concentrations ont été obtenues par dilution de cette solution mère comme indiqué dans le tableau ci-dessous :

Tableau 4 : la gamme étalon de la catéchine

Concentration de la gamme étalon catéchine ($\mu\text{g/ml}$)	Dilution de la solution mère
100	100 μL SM + 900 MeOH
250	250 μL SM + 750 MeOH
500	500 μL SM + 500 MeOH
750	750 μL SM + 250 MeOH
1000	1000 μL SM

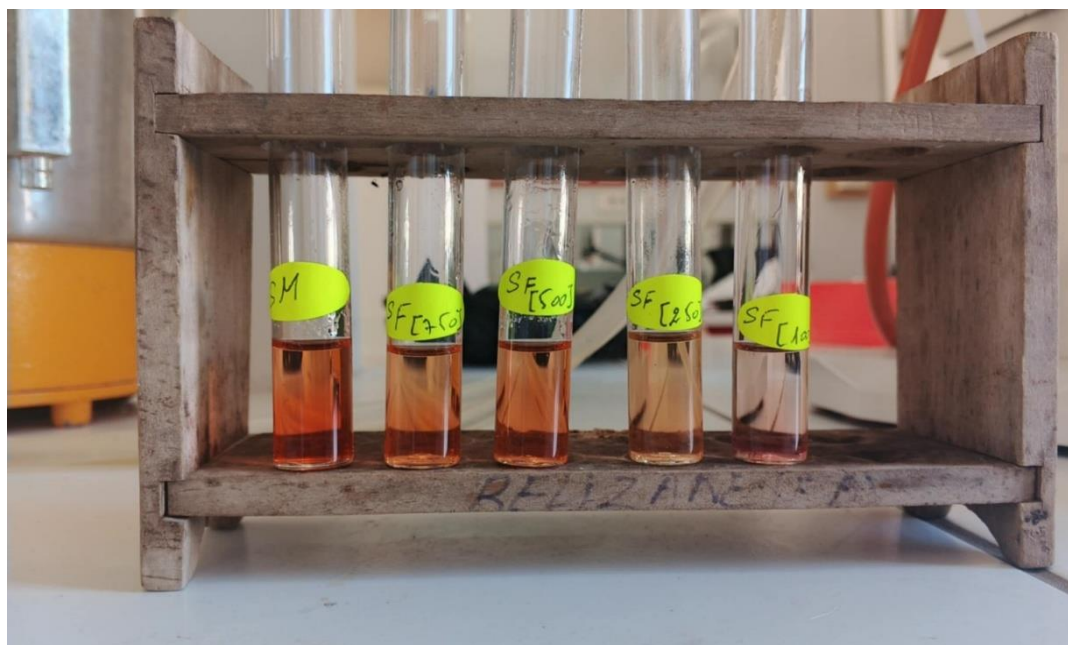


Figure 23 : La gamme d'étalon de catéchine pour le dosage des tannins.

II.4 Evaluation des activités biologiques

II.4.1 Activités anti-oxydantes

L'évaluation de l'activité antioxydante repose sur la mesure de la capacité d'une substance à interagir avec un radical libre ou à prévenir une réaction d'oxydation. La plupart des méthodes *in vitro* se basent sur des réactions colorimétriques où la disparition d'un radical stable ou la formation d'un produit d'oxydation sont suivies spectrophotométriquement. Les résultats sont souvent exprimés en équivalents d'une substance antioxydante de référence (par exemple, Trolox, acide ascorbique) ou en pourcentage d'inhibition de l'oxydation..

II.4.1.1 Test au DPPH

- **Principe**

Le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est l'une des méthodes les plus couramment utilisées pour évaluer l'activité antioxydante d'une substance. Il s'agit d'une technique simple, rapide et relativement peu coûteuse. Le DPPH est un radical libre stable, de couleur violette intense. En présence d'un antioxydant, qui est une substance capable de céder un atome d'hydrogène ou un électron, le radical DPPH• est réduit en 1,1-diphényl-2-picrylhydrazine (DPPH-H), une molécule non radicalaire et de couleur jaune pâle. La décoloration de la solution de violet à jaune est proportionnelle à la capacité de l'échantillon à piéger les radicaux libres, en suivant la réaction suivante :



- **Mode opératoire**

Le test est basé sur le protocole de Brand-Williams *et al.*, (1995) en y apportant quelques modifications.

Préparation de la solution de DPPH (60µM) : 1,18 mg de DPPH sont dissous dans 50 ml de méthanol, la solution obtenue est conservée à l'abri de la lumière à une température de 4°C

Préparation des échantillons : préparer une série de dilutions dans du méthanol, des huiles essentielles de *Tétraclinis articulata* et de *Thuya occidentalis* afin d'obtenir différentes concentrations. Dans des tubes secs, des volumes de 1mL de chaque échantillon (d'huile essentielle) sont ajoutés à 2mL de la solution de DPPH.

Le contrôle positif : une solution d'acide ascorbique (vitamine C) est utilisée comme un antioxydant étalon (standard) dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

Contrôle négatif : Le témoin est préparé en mélangeant 0,1 ml de méthanol avec 1 ml de DPPH.

Incubation : Les mélanges sont ensuite agités et incubés dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes.

Lecture spectrophotométrique : L'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.



Figure 24 : la vitamine C et les échantillons après ajout du DPPH

Pour chaque concentration le test est répété 3 fois et l'activité anti-oxydante est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH (% PI) suivant l'équation suivante :

$$\% \text{ PI} = [(A \text{ contrôle négatif} - A \text{ échantillon}) / A \text{ contrôle négatif}] \times 100$$

Avec :

A contrôle négatif : correspond à l'absorbance du DPPH après le temps de la réaction.

A échantillon : correspond à l'absorbance de l'échantillon avec DPPH après le temps de la réaction.

L'activité antioxydante est exprimée ensuite par la détermination d'**IC50**, sachant que l'IC50 est la concentration d'extrait nécessaire pour l'obtention de 50% de la forme réduite du radical DPPH.

II.4.1.2 Test de FRAP

Le Pouvoir Réducteur FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) est une méthode colorimétrique largement utilisée pour évaluer la capacité antioxydante d'un échantillon. Le FRAP mesure la capacité d'un antioxydant à réduire des ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}). Cette technique permet de mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) qui donne la couleur bleue. En effet, le Fe^{3+} participe à la formation du radical hydroxyle. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des échantillons testés

Dans un premier temps, une dilution initiale de l'huile essentielle a été réalisée en dissolvant 50 μl d'huile dans 1 ml de méthanol. À partir de cette solution mère, une série de concentrations a été préparée : 10, 30, 50, 70, 100 et 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

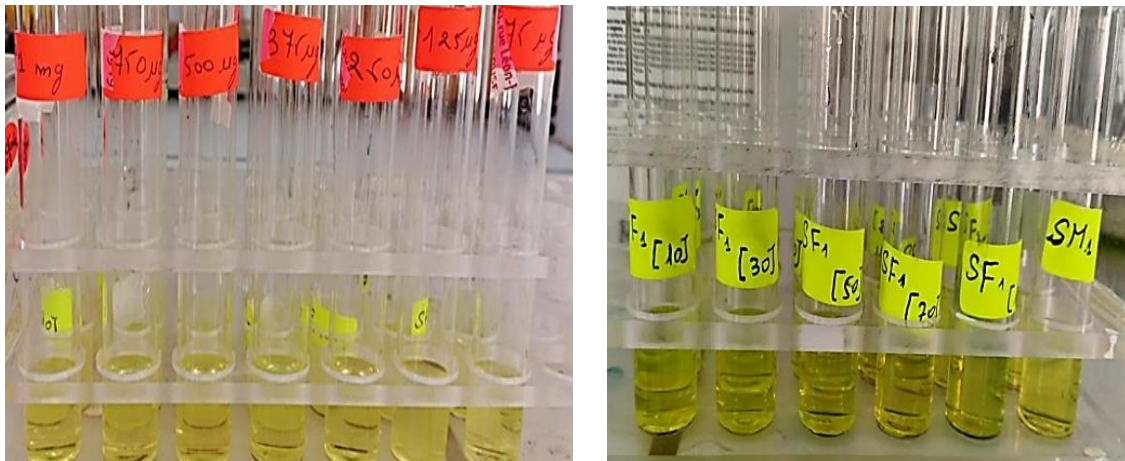


Figure 25 : Les échantillons des huiles essentielles étudiées.

- **Mode opératoire**

Le test antioxydant est réalisé selon la Méthode de Prasad et *al.* (2009). 1,25 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 1,25 ml de solution de potassium ferricyanide (1 %) sont ajoutées à 50 μl des différentes concentrations des échantillons. Les mélanges sont Incubés à 50 °C pendant 20 minutes.



Figure 26 : Incubation dans l'étuve pour test FRAP

• **Précipitation** : Ajouter **1,25 ml** d'une solution aqueuse de TCA à **10 %** au milieu réactionnel puis Centrifuger pendant 10 minutes à 3000 rpm.



Figure 27 : Centrifugation des échantillons des échantillon pour test FRAP.

Mesure de l'Absorbance :

Ajouter **1,25 ml** d'eau distillée et **250 µl** de FeCl₃ à **1 %** au surnageant.

Mesurer l'absorbance à **700 nm** contre un blanc contenant tous les réactifs sans échantillon.

II.5 Activité Anti inflammatoire

Méthode d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA)

- **Principe**

L'activité anti-inflammatoire in vitro a été évaluée à l'aide du test d'inhibition de la dénaturation thermique de l'albumine sérique bovine (BSA), décrit par Kandikattu, 2013. Le principe repose sur l'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) provoquée par la chaleur (72 °C), grâce aux HE des plantes.

- **Mode opératoire**

Une gamme de concentrations de chaque HE (de 0 à 10 mg/mL) est préparée (figure 31)

- 1 mL de chaque dilution est mélangé à 1 mL de solution de BSA à 0,2 %, préparée dans du tampon Tris-HCl (0,05 M, pH 6,6).
- Le mélange est incubé à 37 °C pendant 15 minutes, puis à 72 °C pendant 5 minutes (figure 32)
- Après incubation, le mélange est vortexé, refroidi rapidement, puis la turbidité est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.
- Blanc échantillon : Pour chaque concentration d'HE, un blanc constitué de 1ml d'extrait et de 1ml de Tris-Hcl (0,05 M à pH 6,6) est préparé. Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait et du Tris-Hcl des résultats obtenus.
- Blanc BSA : il est préparé en mélangeant 1 ml de solution de BSA à 1 ml du solvant utilisé pour les échantillons. Ce blanc représente la dénaturation maximale du BSA en l'absence d'inhibiteur.

Dans ce test, le diclofénac a été utilisé comme anti-inflammatoire de référence. L'évaluation de son activité anti-inflammatoire a été effectuée dans les mêmes conditions opératoires que celles appliquées aux échantillons.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA) a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Protection (\%)} = \frac{(\text{DO contrôle} - \text{DO blanc}) - (\text{DO échantillon} - \text{DO blanc})}{(\text{DO contrôle} - \text{DO blanc})} \times 100$$

DO Blanc : Absorbance de l'extrait sans BSA

DO Échantillon : Absorbance de l'échantillon ou standard (test)

DO Contrôle : Absorbance solvant utilisé pour les extraits et du BSA

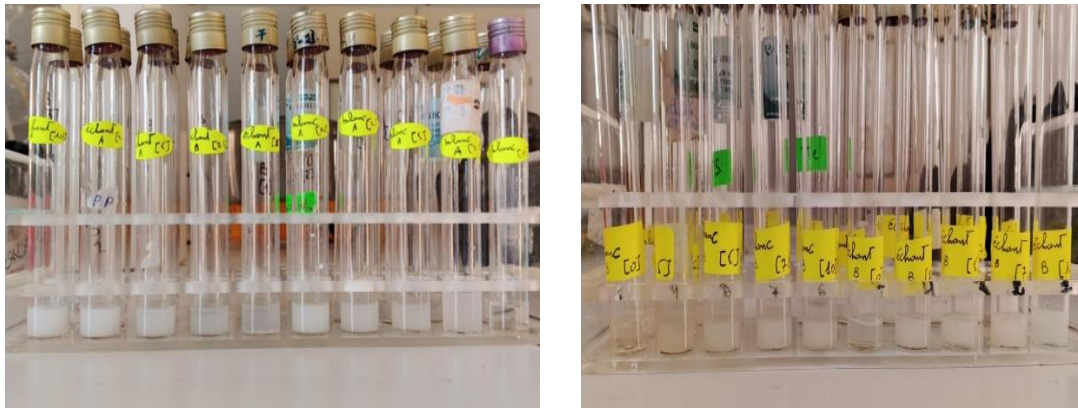


Figure 28 : Les échantillons de *Tetraclinis articulata* et *Thuya occidentalis* pour activité anti inflammatoire.

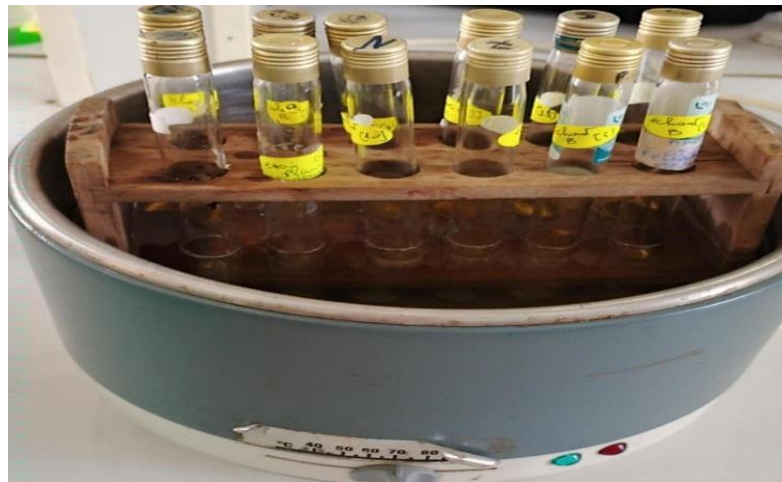


Figure 29 : Incubation des échantillons dans un bain-marie à 72°C pour activité anti inflammatoire.

Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de $M \pm ES$ de 3 essais par échantillon. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre les différents échantillons est effectuée en utilisant le test 't' de Student (test 't' est significatif à $P < 0,05$).

CHAPITRE III :
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Rendement des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été extraites à partir des feuilles de deux espèces végétales : *Tetraclinis articulata* et *Thuja occidentalis*. Le rendement d'extraction a été calculé en pourcentage par rapport à la masse de matière végétale sèche utilisée. Les résultats ont montré une différence nette entre les deux espèces en termes de quantité d'huile obtenue : le rendement de *Tetraclinis articulata* était d'environ 0,27 %, tandis qu'il n'a pas dépassé 0,1% chez *Thuja occidentalis* (tableau 6). L'huile obtenue était de couleur jaune très clair et d'odeur très forte pour *T articulata* et d'un vert claire et d'une odeur spécifique aux conifères.

Le rendement en huile essentielle est un paramètre important qui dépend de nombreux facteurs, tant génétiques qu'environnementaux, ainsi que de la méthode d'extraction utilisée (Figueiredo et al., 2008). La variation observée entre *Tetraclinis articulata* et *Thuja occidentalis* pourrait s'expliquer par plusieurs mécanismes intrinsèques et extrinsèques.

Tableau 5 : Rendement des huiles essentielles

Espèce botanique	Rendement (%)
<i>Tetraclinis articulata</i>	0,27
<i>Thuja occidentalis</i>	0,1

Figure 30 : l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (A) et de *Thuja occidentalis* (B)

Les résultats du rendement en huile essentielle révèlent des valeurs relativement faibles pour les deux espèces étudiées : *Tetraclinis articulata* et *Thuja occidentalis*. Le rendement est de 0,27 % pour *Tetraclinis articulata* et de 0,1 % pour *Thuja occidentalis*. Ces résultats

indiquent que, bien que les deux plantes soient capables de produire des huiles essentielles, la quantité extraite reste modeste par rapport à la masse de matière végétale sèche utilisée.

Cette différence de rendement peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la composition chimique intrinsèque des plantes, la densité des glandes sécrétrices, les conditions environnementales (type de sol, climat), ainsi que la méthode d'extraction utilisée (Djeral, 2023). Une étude menée dans la région de Tlemcen (Aïn Kebira) a montré des rendements variant entre 0,16 % et 0,66 % selon les mois, avec les valeurs les plus élevées enregistrées en décembre et en juin (Boussaid *et al.* 2022). Ces variations sont attribuées à la composition chimique, à la disponibilité et à l'accessibilité des composés volatils, ainsi qu'aux conditions environnementales.

Le rendement plus élevé observé chez *Tetraclinis articulata* suggère une concentration plus importante ou une meilleure accessibilité des composés volatils. Ce résultat est en accord avec certaines études antérieures, telles que celle de Benjilali *et al.* (1991) qui a rapporté un rendement atteignant 0,30 %, et celle de Bourkhiss *et al.* (2007), qui a confirmé que *Tetraclinis articulata* présente un rendement supérieur à d'autres conifères tels que *Juniperus phoenicea* et *Cupressus sempervirens*.

Cependant, même si le rendement est faible, cela ne remet pas en question la valeur biologique ou pharmacologique des huiles obtenues, car les huiles essentielles sont souvent efficaces à très faibles concentrations en raison de la puissance de leurs composés actifs.

Cette différence pourrait être due à une plus grande teneur en composés volatils chez *T. articulata*. Cela rend cette espèce plus intéressante pour une exploitation industrielle ou thérapeutique. Toutefois, une analyse qualitative des huiles est nécessaire pour évaluer pleinement leur valeur biologique..

III.2 Dosage des polyphénols totaux

La teneur totale en composés phénoliques a été déterminée par la méthode spectrophotométrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, selon le protocole modifié décrit par Wood *et al.* (2002).

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

Cette teneur a été calculée à partir de l'équation de régression linéaire obtenue à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée avec différentes concentrations d'acide gallique.

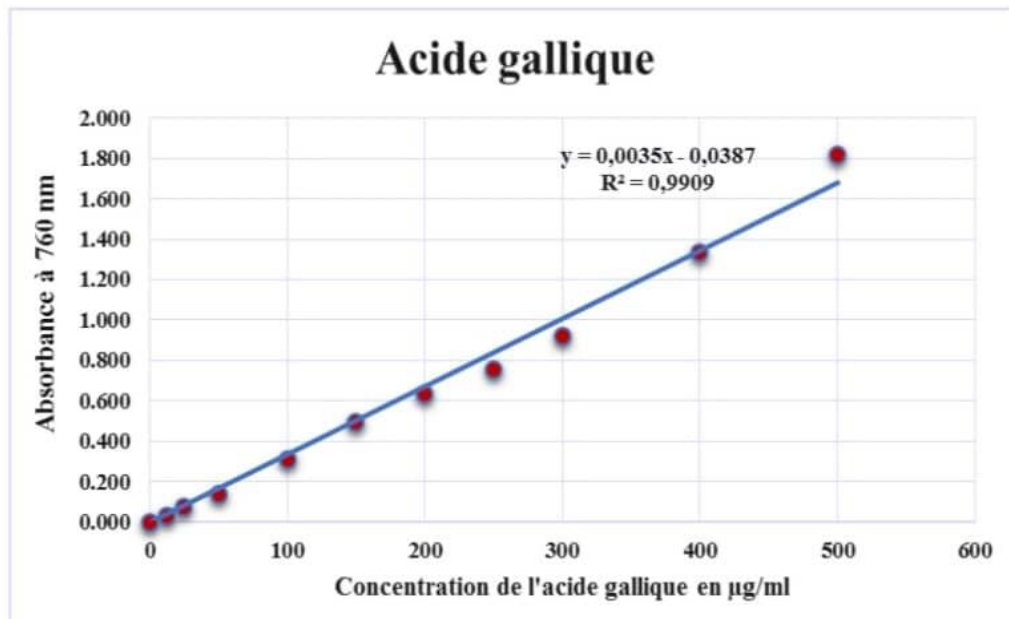


Figure 31 : la courbe d'étalon d'acide gallique

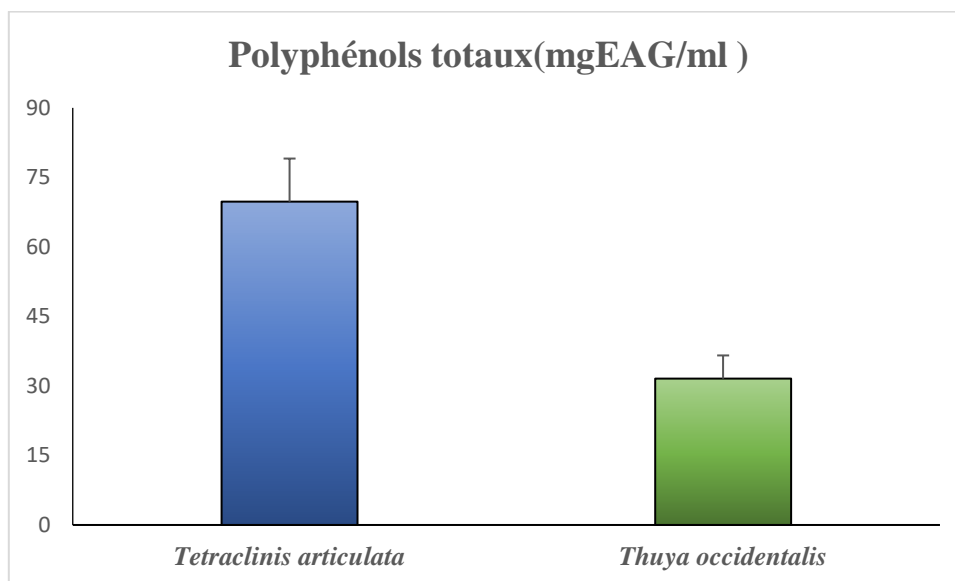


Figure 32 : Teneur en polyphénols totaux.

Cette étude démontre que l'extrait de *Tetraclinis articulata* contient une quantité significativement plus élevée de composés phénoliques totaux ($69,76 \pm 9,3$ mg EAG/g) par rapport à *Thuja occidentalis* ($31,58 \pm 5$ mg EAG/g). Cette différence marquée indique le potentiel antioxydant supérieur de *T. articulata*.

Plusieurs recherches corroborent la haute teneur en polyphénols de *T. articulata*. Bouyahya et al. (2018) ont rapporté jusqu'à 75 mg EAG/g dans les extraits méthanoliques de

ses feuilles, caractérisés par une prédominance de flavonoïdes et de tanins condensés. De même, Boukhris et al. (2013) ont observé des valeurs similaires, soulignant l'influence des conditions environnementales extrêmes méditerranéennes (sécheresse, stress hydrique, fort ensoleillement) sur la production de ces métabolites secondaires, essentiels pour la défense de la plante (Lattanzio et al., 2006 ; Elicoh-Middleton et al., 2000).

Nos résultats pour *Thuja occidentalis* ($31,58 \pm 5$ mg EAG/g) sont en accord avec des études antérieures, bien qu'inférieurs à ceux de *T. articulata*. Singh et al. (2012) ont mesuré environ 33 mg EAG/g dans des extraits alcooliques de feuilles de *T. occidentalis*, tandis que Raina et al. (2013) ont trouvé des valeurs variant entre 28 et 35 mg EAG/g selon la partie de la plante et le solvant. Ceci suggère que *T. occidentalis*, bien qu'ayant une activité antioxydante certaine, est moins riche en polyphénols que *T. articulata*.

Les écarts observés entre les deux espèces peuvent s'expliquer par des facteurs génétiques, écologiques et biochimiques. *T. articulata*, en tant qu'espèce méditerranéenne, a développé une capacité accrue à produire des composés phénoliques pour résister aux stress abiotiques. En revanche, *T. occidentalis*, originaire de régions tempérées plus humides, n'a pas été soumise aux mêmes pressions évolutives. De plus, la densité des structures sécrétrices (glandes, trichomes) et la composition enzymatique propres à chaque espèce influencent également la teneur finale en polyphénols.

III.3 Dosage des Flavonoïdes

Les résultats ont révélé une teneur notable en flavonoïdes dans les HEs analysés. Les concentrations ont été exprimées en milligrammes équivalents de quercitrine par gramme d'extrait sec (mg EQ/g ES), en se basant sur une courbe d'étalonnage obtenue avec la quercitrine comme étalon.

Cette richesse en flavonoïdes traduit un potentiel antioxydant important, les flavonoïdes étant reconnus pour leur capacité à neutraliser les radicaux libres grâce à leurs groupements hydroxyles. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par *ali-Rachedi et al.* (2018), confirmant ainsi la fiabilité de la méthode utilisée et l'intérêt biologique du végétal étudié. La présence de flavonols, flavones ou autres dérivés flavonoïdiques peut contribuer significativement à l'activité biologique globale observée dans d'autres tests.

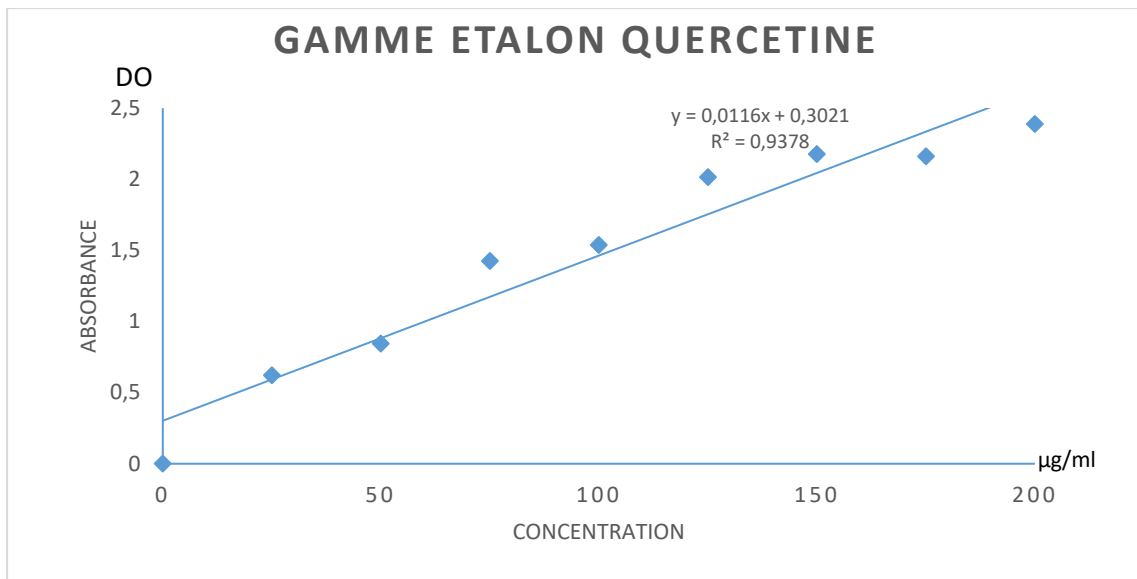


Figure 33 : la courbe d'étalon de quercétine

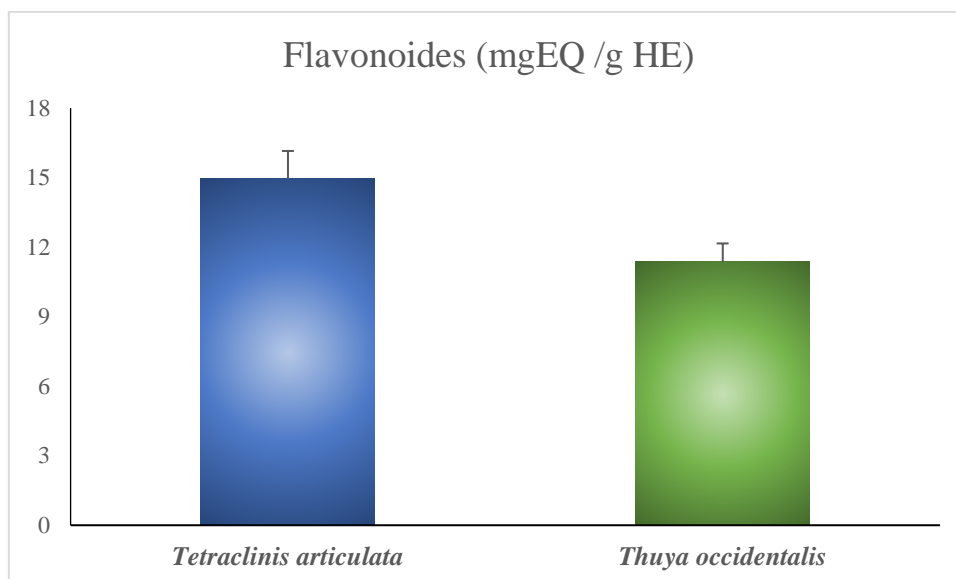


Figure 34 : Teneur en flavonoïdes

Les résultats obtenus dans cette étude révèlent une teneur appréciable en flavonoïdes dans les extraits huileux des feuilles de *Tetraclinis articulata* (14,97 ± 1,2 mg EQ/ml) et de *Thuja occidentalis* (11,36 ± 0,8 mg EQ/ml). Ces concentrations relativement élevées sont en accord avec les travaux antérieurs soulignant la richesse de ces deux espèces en composés phénoliques et flavonoïdiques.

Concernant *Tetraclinis articulata*, plusieurs études ont rapporté des teneurs élevées en flavonoïdes. Par exemple, Boukhris et al. (2013) ont mesuré des valeurs allant jusqu'à 15 mg EQ/g dans des extraits méthanoliques de feuilles. De même, Abdennabi et al. (2017) ont montré

que cette espèce possède une capacité antioxydante corrélée à sa richesse en composés phénoliques, notamment les flavonoïdes. Cette abondance est généralement attribuée à la composition chimique intrinsèque des feuilles ainsi qu'à l'adaptation de l'espèce à des conditions environnementales rigoureuses, comme la sécheresse et le rayonnement solaire intense, qui stimulent la biosynthèse de métabolites secondaires protecteurs (Elicoh-Middleton *et al.*, 2000 ; Lattanzio *et al.*, 2006).

En ce qui concerne *Thuya occidentalis*, nos résultats s'alignent également avec la littérature existante, bien que cette espèce semble généralement présenter des teneurs légèrement inférieures en flavonoïdes comparée à *T. articulata*. Par exemple, Singh *et al.* (2012) ont signalé une teneur en flavonoïdes d'environ 10,2 mg EQ/g dans les extraits éthanoliques de feuilles de *T. occidentalis*, tandis que Raina *et al.* (2013) ont observé des valeurs comprises entre 8 et 11 mg EQ/g selon le solvant utilisé.

Ces variations sont souvent liées non seulement au génotype et à l'origine géographique de la plante, mais aussi aux conditions d'extraction. En effet, comme l'ont montré Saneja *et al.* (2010), l'utilisation de solvants polaires tels que le méthanol ou l'éthanol permet une extraction efficace des flavonoïdes, ce qui explique les bonnes valeurs obtenues dans cette étude.

Il est important de noter que des facteurs génétiques, écologiques (température, lumière, sol) et anatomiques (densité des glandes sécrétrices) peuvent influencer considérablement la biosynthèse et l'accumulation des flavonoïdes entre les espèces, voire au sein d'une même espèce.

Ainsi, les différences observées entre *T. articulata* et *T. occidentalis* dans notre étude pourraient résulter à la fois de facteurs intrinsèques et des conditions environnementales distinctes dans lesquelles ces espèces se développent. La comparaison avec les données antérieures confirme la richesse des deux espèces étudiées en flavonoïdes, avec une supériorité relative pour *Tetraclinis articulata*.

III.4 Dosage des tanins

Cette étude a révélé que les extraits huileux de *Tetraclinis articulata* et *Thuja occidentalis* sont riches en tanins condensés, avec des teneurs respectives de $3,21 \pm 0,61$ mg EC/ml et $4,04 \pm 0,82$ mg EC/ml. Bien que les deux espèces soient intéressantes, *T. occidentalis* présente une teneur légèrement plus élevée.

Pour *Tetraclinis articulata*, des études antérieures (Bouyahya et al., 2018) ont déjà confirmé sa richesse en tanins, flavonoïdes et acides phénoliques, associés à des activités antioxydantes et antimicrobiennes. La production de ces composés protecteurs chez *T. articulata* est stimulée par les conditions climatiques extrêmes de son habitat (Lattanzio et al., 2006).

Concernant *Thuja occidentalis*, la teneur plus élevée en tanins est cohérente avec des travaux antérieurs (Raina et al., 2013), qui ont montré des quantités variables de tanins condensés et hydrolysables selon la méthode d'extraction et la partie de la plante. Singh et al. (2012) ont également noté une activité antioxydante modérée dans les extraits alcooliques de *T. occidentalis*, probablement due aux tanins et autres composés phénoliques.

Les différences de teneur entre les deux espèces pourraient être attribuées à des facteurs tels que la diversité génétique, la densité des glandes sécrétrices, la composition chimique des feuilles et les facteurs abiotiques (sol, lumière, température), qui influencent la biosynthèse des tanins, essentiels pour la protection des plantes.

Bien que *T. articulata* soit globalement reconnue pour ses composés phénoliques, *T. occidentalis* a montré une teneur légèrement supérieure en tanins condensés dans cette étude..

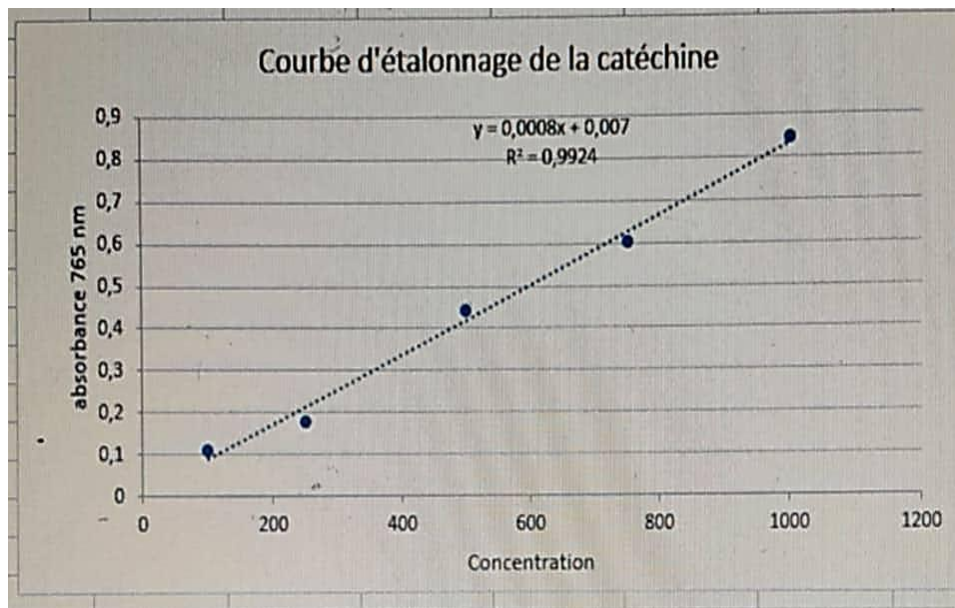


Figure 35 : la courbe d'étalon de catéchine

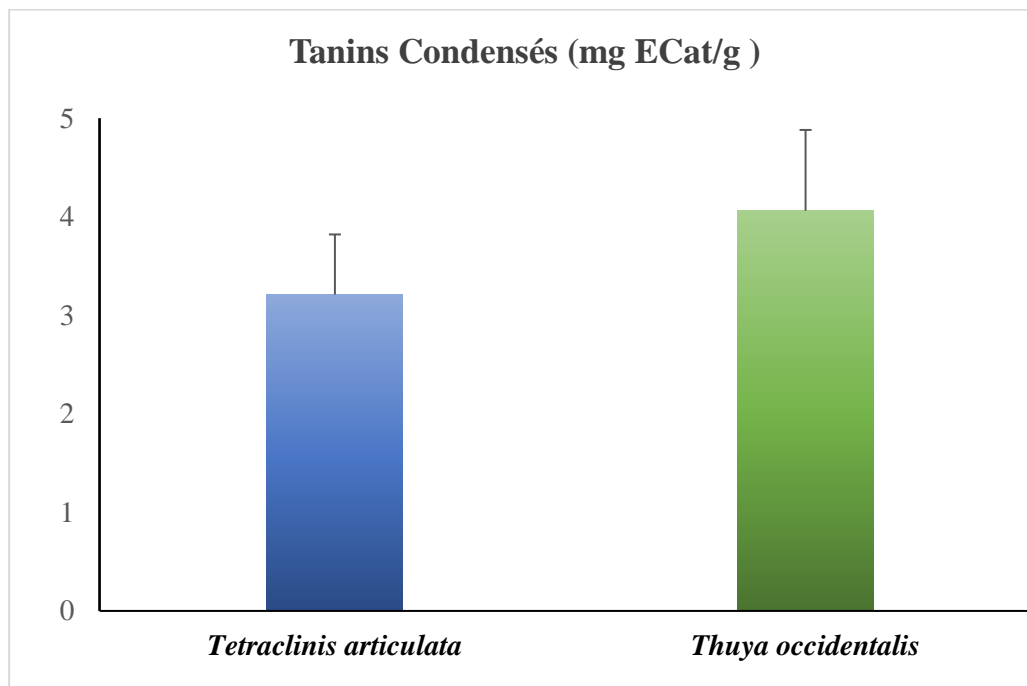


Figure 36 : Teneur en tanins

III.5 Évaluation de l'activité antioxydante.

III.5.1 Test de DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée par le test DPPH, basé sur la capacité de l'échantillon à réduire le radical libre DPPH. Les résultats montrent une inhibition croissante du radical DPPH en fonction des concentrations utilisées. L'intensité de la couleur violette diminue progressivement avec l'augmentation des doses, traduisant une réduction efficace du radical par l'extrait testé.

La plus faible concentration (0,05 mg/ml) présente une faible inhibition, tandis que la concentration la plus élevée (0,5 mg/ml) induit une forte décoloration, indiquant une activité antioxydante maximale. Cette relation dose-réponse suggère que l'extrait possède un pouvoir antioxydant notable, proportionnel à la concentration appliquée.

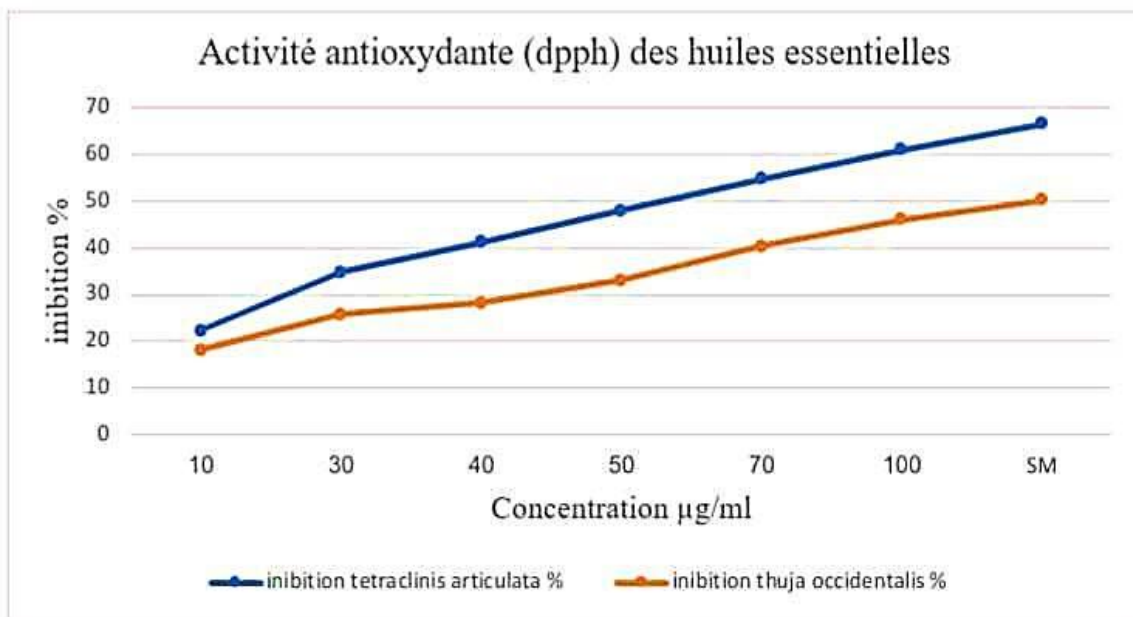


Figure 37 : Inhibition du DPPH PAR HE de *Tetraclinis articulata* et *Thuja occidentalis*.

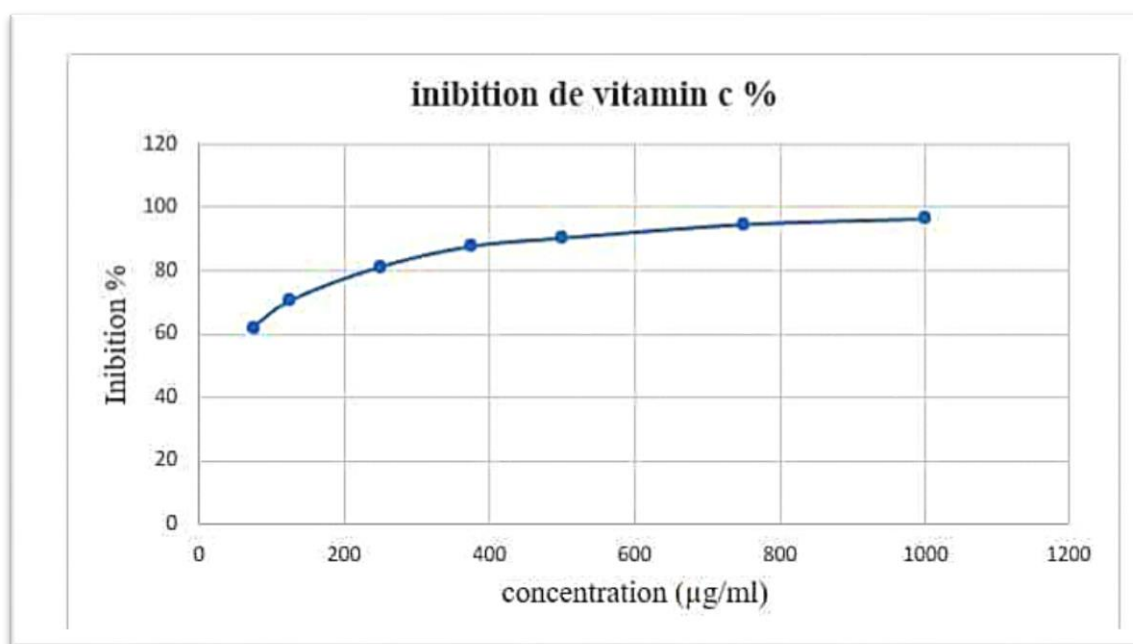


Figure 38 : Inhibition du DPPH par la vitamine C

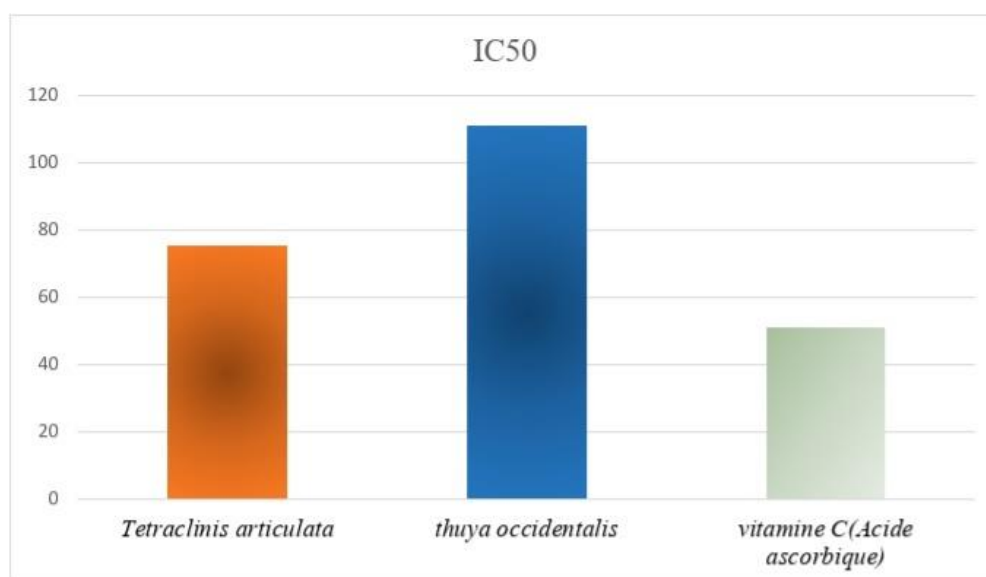


Figure 39 : IC₅₀ de la Vit C et les HEs de *Tetraclinis articulata* et *Thuya occidentalis*

Les résultats obtenus à partir du test DPPH ont montré que les huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* et de *Thuya occidentalis* présentent une activité antioxydante variable. L'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* a démontré la meilleure activité antioxydante parmi les deux, avec une IC₅₀ estimée à environ 65 μg/ml, contre 98 μg/ml pour *Thuya occidentalis*. Cette différence suggère une richesse plus importante en composés bioactifs dans l'huile de *Tetraclinis*, notamment en composés phénoliques ou terpéniques responsables de l'activité antioxydante.

La vitamine C, utilisée comme référence standard, a montré une activité très élevée avec une IC₅₀ de 100 μg/ml, confirmant son efficacité connue en tant que puissant donneur d'électrons capable de neutraliser les radicaux libres. L'activité antioxydante des huiles essentielles est généralement attribuée à la présence de composés tels que le carvone, le limonène ou l' α -pinène, qui peuvent agir en tant que donneurs d'hydrogène. Dans notre étude, la supériorité de *Tetraclinis* pourrait être expliquée par une teneur plus élevée en ces composés actifs.

Ben Hsouna et *al.* (2013) ont rapporté une IC₅₀ d'environ 70 μg/ml pour l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* provenant de Tunisie, ce qui est proche de nos résultats, renforçant ainsi leur fiabilité.

Boukhatem et *al.* (2014) ont constaté que l'huile de *Thuya occidentalis* présente une activité antioxydante relativement modérée, ce qui concorde avec nos observations.

Alam *et al.* (2013) ont mentionné que la vitamine C présente une IC_{50} comprise entre 80 et 120 $\mu\text{g/ml}$ selon les conditions expérimentales, ce qui est en accord avec notre valeur de référence.

Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* possède un potentiel intéressant en tant qu'antioxydant naturel, ce qui pourrait la rendre utile dans des applications thérapeutiques ou alimentaires. L'huile de *Thuya occidentalis*, bien que moins efficace, montre néanmoins une certaine activité. La vitamine C demeure une référence fiable pour ce type d'analyse, permettant de calibrer l'efficacité des extraits testés

III.5.2 Test FRAP

Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits analysés, conformément à la méthode décrite par Prasad *et al.* (2009). Ce test repose sur la capacité des composés antioxydants à réduire les ions ferriques (Fe^{3+}) en ions ferreux (Fe^{2+}) en présence de ferricyanure de potassium. Le fer ferreux formé réagit ensuite avec le chlorure ferrique (FeCl_3), produisant un complexe coloré mesuré à une longueur d'onde de 700 nm. Une absorbance plus élevée indique un pouvoir réducteur plus important, ce qui reflète une activité antioxydante plus élevée.

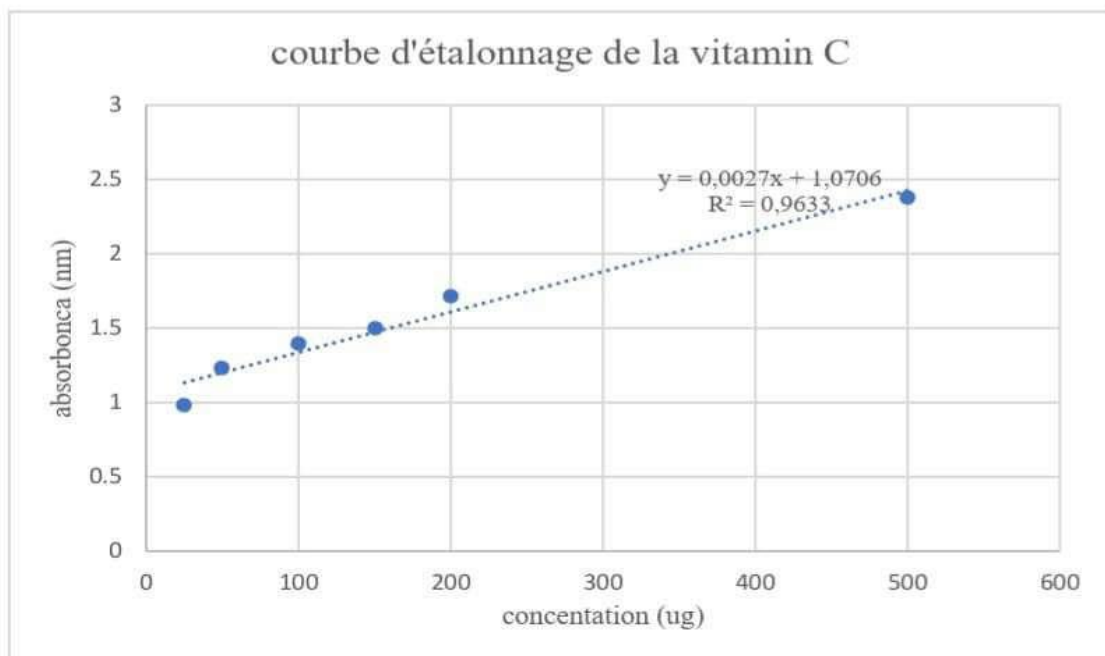


Figure 40 : la courbe d'étalon de vitamine C pour le test de FRAP

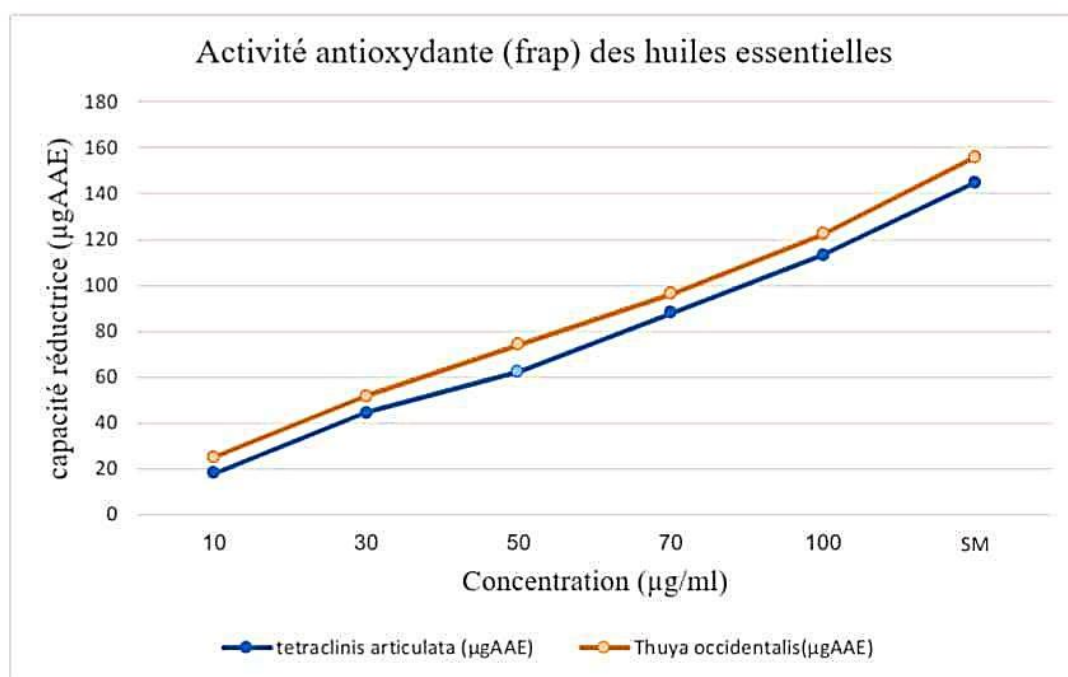


Figure 41 : Capacité réductrice de *Tetraclinis articulata* et *Thuya occidentalis*

Dans un premier temps, les huiles essentielles extraites des feuilles de *Tetraclinis articulata* et *Thuya occidentalis* ont été soumises à l'épreuve FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) afin d'évaluer leur potentiel réducteur. La concentration équivalente en acide ascorbique (µg AAE) a été déterminée à partir de l'absorbance enregistrée, selon la relation linéaire de la courbe étalon :

$$[\text{Concentration} = (\text{Absorbance} - b) / a],$$

où « a » représente la pente de la droite, et « b » l'ordonnée à l'origine.

Les résultats ont montré une corrélation directe entre l'augmentation de la concentration des échantillons et leur capacité antioxydante, illustrant ainsi un effet dose-dépendant. Globalement, l'huile essentielle de *Thuya occidentalis* s'est révélée plus efficace que celle de *Tetraclinis articulata*, notamment à la concentration maximale de 150 µl, avec des valeurs respectives de 155,93 µg AAE et 144,81 µg AAE. Cette différence pourrait traduire une plus forte teneur en composés réducteurs tels que certains phénols ou monoterpènes oxygénés.

Ces données concordent avec les résultats rapportés dans la littérature. Par exemple, Bouyahya et collaborateurs (2019) ont démontré une activité antioxydante marquée pour *T. occidentalis*, en lien avec sa richesse en thuyone, un composé reconnu pour ses propriétés

réductrices. De même, Hazzoumi et al. (2018) ont observé une activité FRAP significative dans *T. articulata*, bien que sujette à des variations liées à l'origine géographique et au stade de développement des feuilles.

Même si ces huiles n'atteignent pas l'efficacité des antioxydants de référence comme l'acide ascorbique, elles présentent néanmoins une activité notable, leur conférant un intérêt potentiel dans les formulations naturelles à visée antioxydante, que ce soit dans les secteurs cosmétique ou nutraceutique.

Enfin, les écarts constatés entre les deux espèces pourraient découler de différences intrinsèques dans la composition biochimique de leurs huiles essentielles, modulées par des facteurs écologiques, saisonniers, ou génétiques.

III.6 Évaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro :

En se basant sur le test d'inhibition thermique de la dénaturation de la BSA (albumine sérique bovine) pour évaluer l'activité anti-inflammatoire in vitro, l'efficacité des extraits végétaux de *Tetraclinis articulata* et de *Thuya occidentalis* a été étudiée, selon le protocole de Karthik et al. (2013) avec quelques modifications mineures.

Ce test repose sur la capacité des extraits à inhiber la dénaturation thermique de la BSA à 72 °C, détectée par mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 660 nm.

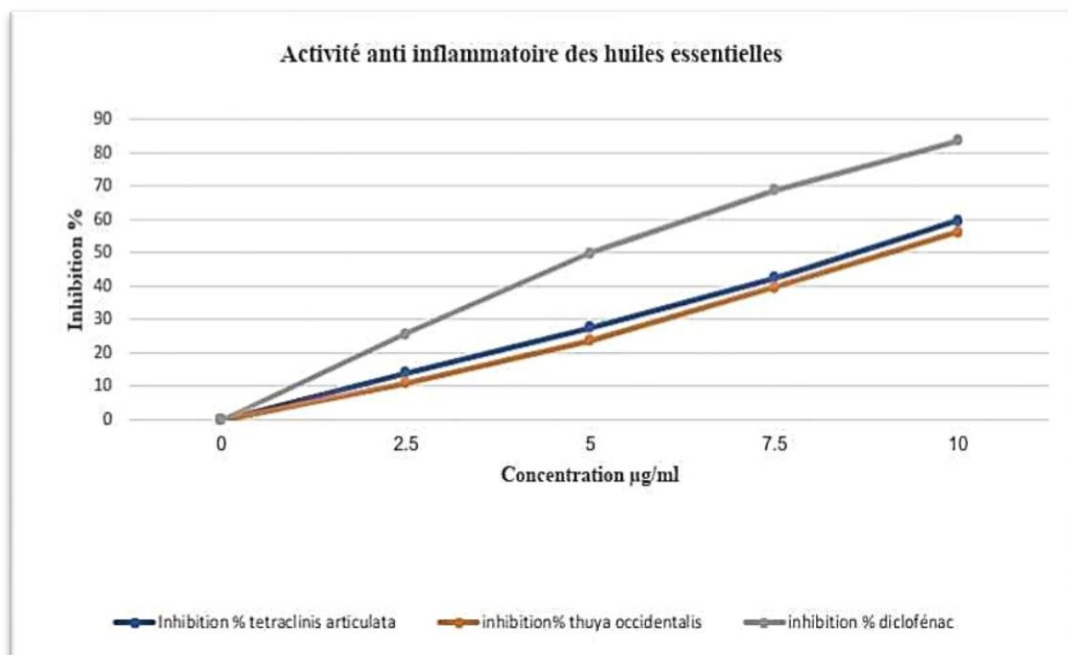


Figure 42 : inhibition de *Tetraclinis articulata* et *Thuya occidentalis*.

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles extraites de *Tetraclinis articulata* et *Thuja occidentalis* a été réalisée à travers le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines. Les résultats obtenus mettent en évidence une corrélation positive entre l'augmentation des concentrations testées et l'intensité de l'inhibition. À la concentration maximale de 10 µg/mL, l'huile essentielle de *T. articulata* a induit une inhibition de 59,74 %, contre 56,21 % pour *T. occidentalis*, traduisant ainsi une activité modérée mais significative.

Ces effets révèlent la présence de métabolites secondaires bioactifs capables de préserver l'intégrité structurale des protéines soumises à un stress thermique. Toutefois, en comparaison avec le diclofénac sodique, utilisé comme référence dans ce test, les huiles présentent une efficacité inférieure. Le diclofénac a en effet affiché un pourcentage d'inhibition de 83,61 % à la même concentration, ce qui confirme son efficacité en tant qu'AINS reconnu. Cette différence peut être expliquée par la spécificité du mécanisme d'action du diclofénac, qui cible notamment l'enzyme cyclooxygénase (COX), tandis que les huiles essentielles exercent leur effet via des mécanismes plus diffus et dépendant de leur composition chimique variable.

Les données recueillies concordent avec les résultats rapportés dans la littérature. Bouaziz et al. (2020) ont décrit que l'huile essentielle de *T. articulata* contient des molécules telles que le camphre, l' α -pinène et le bornéol, dont les propriétés anti-inflammatoires sont documentées. Par ailleurs, les travaux de Kacem et al. (2019) confirment que les extraits de *T. occidentalis* possèdent également une activité anti-inflammatoire notable, bien que moins marquée que celle des médicaments de référence.

Il convient de rappeler que l'efficacité biologique des huiles essentielles peut être fortement influencée par plusieurs facteurs, notamment l'origine botanique, les conditions pédoclimatiques, la saison de récolte, ainsi que la méthode d'extraction utilisée. En dépit de leur puissance modérée comparée aux AINS classiques, ces huiles présentent un intérêt particulier en tant qu'agents naturels dans des approches thérapeutiques alternatives. Elles pourraient ainsi être envisagées pour la prise en charge de troubles inflammatoires légers à modérés ou comme adjuvants dans les traitements conventionnels.

CONCLUSION
CONCLUSION

CONCLUSION

Conclusion

Cette étude vise à évaluer et analyser l'activité biologique des huiles essentielles extraites des feuilles des plantes *Tetraclinis articulata* et *Thuya occidentalis*, à travers l'étude de leur composition chimique secondaire, notamment la teneur en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins, ainsi que la réalisation de tests biologiques pour déterminer leur efficacité en tant qu'antioxydants et anti-inflammatoires, avec une comparaison des résultats entre les deux espèces.

Les résultats des analyses chimiques ont montré que les deux extraits contiennent des proportions variables de composés phénoliques, avec une supériorité marquée de l'extrait de *Tetraclinis articulata* en termes de teneur en polyphénols et flavonoïdes, ce qui témoigne de sa richesse en composés bioactifs reconnus pour leur rôle dans la lutte contre le stress oxydatif et la protection cellulaire. Quant aux tanins, leurs taux étaient relativement similaires, ce qui indique un certain partage des propriétés défensives entre les deux plantes.

Concernant l'activité antioxydante, elle a été évaluée à l'aide de deux tests fondamentaux : DPPH et FRAP. Les résultats ont révélé que les deux huiles possèdent une capacité notable à piéger les radicaux libres, avec une efficacité plus prononcée pour l'huile de *Tetraclinis articulata*, qui a présenté la plus faible valeur d'IC₅₀ et une capacité réductrice plus élevée au test FRAP. Cela confirme que cette activité est liée à sa richesse en composés phénoliques et terpéniques.

Pour ce qui est de l'activité anti-inflammatoire, les huiles essentielles ont démontré des effets variables lors du test d'inhibition de la dénaturation de l'albumine, avec une supériorité de l'huile de *Tetraclinis articulata* qui a montré la meilleure capacité à réduire le phénomène inflammatoire. Ce résultat peut être attribué à la présence de composés reconnus pour leurs effets anti-inflammatoires tels que l' α -pinène et le camphène.

De manière générale, cette étude a démontré que les huiles essentielles extraites des feuilles de *Tetraclinis articulata* et de *Thuya occidentalis* possèdent des propriétés biologiques intéressantes, notamment en termes d'activités antioxydante et anti-inflammatoire, ce qui leur confère une valeur thérapeutique et applicative prometteuse. La comparaison entre les deux

CONCLUSION

espèces a mis en évidence une supériorité relative de l'huile de *Tetraclinis articulata* dans la majorité des tests, sans pour autant négliger l'efficacité acceptable de l'huile de *Thuya occidentalis*.

À partir de ces résultats, plusieurs perspectives peuvent être envisagées, notamment : la réalisation d'analyses plus avancées à l'aide de techniques comme GC-MS et HPLC pour identifier précisément les composés actifs, l'évaluation de l'effet de ces huiles in vivo pour confirmer leur efficacité in vitro, l'exploration d'autres activités biologiques telles que les effets antibactériens, antifongiques et antiviraux, ainsi que le développement de formulations thérapeutiques ou alimentaires naturelles à base de ces huiles essentielles.

Les résultats obtenus ouvrent ainsi des perspectives prometteuses quant à l'exploitation des plantes médicinales comme source naturelle et sûre de composés bioactifs, dans le cadre de la recherche de solutions alternatives aux produits chimiques synthétiques.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- **Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013).** *Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal, 21(2), 143–152.* <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>
- **Ali-Rachedi, R., Touahria, F., Boudjedjou, L., & Didi, M. A. (2018).** *Détermination des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant d'extraits d'Eucalyptus globulus. Revue des Bioressources, 8(1), 73-85.*
- **Al-Snafi, A. E. (2016).** *The pharmacological importance of Thuya occidentalis – A review. Indian Journal of Pharmaceutical Science & Research, 6(4), 101–111.*
- **Amvam Zollo, P. H., Biyiti, L., & Tchoumboungang, F. (1998).** *Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de cinq plantes médicinales aromatiques du Cameroun. Phytotherapy Research, 12(4), 225–228.*
- **Aouinti, M., Touati, M., & Benyahia, A. (2023).** *Molecular docking of carvacrol and derivatives with TRPA1 receptor. Journal of Molecular Modeling, 29(3), Article 89.*
- **Aouinty, B., Mellouki, F., Mahari, S., & Badri, W. (2006).** *Activité larvicide de Tetraclinis articulata (Cupressaceae) sur quatre espèces de moustiques. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 99(5), 365–370.*
- **Atmani-Merabet, N. (2018).** *L'aromathérapie : histoire, principes et applications. Journal de Médecine et Pharmacopée Traditionnelle, 2(1), 21–28.*
- **Azzi, R., Rahmani, N., & Zidoune, M. N. (2012).** *Étude de la toxicité chronique des extraits de plantes médicinales. Phytothérapie, 10(3), 163–168.*
- **Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012).** *Essential oils in combination and their antimicrobial properties. Molecules, 17(4), 3989–4006.* <https://doi.org/10.3390/molecules17043989>
- **Ben Hsouna, A., Trigui, M., Ben Halima, N., & Abdelkafi, S. (2013).** *Chemical composition and antimicrobial activities of essential oils from Tunisian Tetraclinis*

articulata. *Journal of Food Science*, 78(3), M392–M397.

- **Benali, T., Zerkani, A., & Hamdani, M. (2018).** Effets anti-inflammatoires de l'α-phéllandrène dans des modèles animaux. *Annales de Biologie Clinique*, 76(3), 325–330.
- **Bencheikh, N., Charef, M., & Bensouici, C. (2021).** Bergaptène et activités pharmacologiques : une revue. *Revue de Phytothérapie*, 19(2), 85–90.
- **Bouaziz, M., Sayadi, S., & Montane, D. (2009).** *Polyphenols content and antioxidant activity of leaf extracts from Tunisian olive cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(7), 2971–2976.
- **Boukhatem, M. N., Kameli, A., & Saidi, F. (2014).** *Antioxidant properties of the essential oil of Thuya occidentalis. Phytothérapie*, 12(6), 352–358.
- **BOUSSAID M., BEKHECHI C., & TOMI P., TOMI F. (2022).** Annual variation in essential oil yield and composition from leaves of *Tetraclinis articulata* in Northwestern Algeria (Ain Kebira, Tlemcen Province). *Journal of Natural Product Research and Applications*, 2(1), 30–37. <https://doi.org/10.46325/jnpra.v2i1.37>
- **Bouyahya, A., Bakri, Y., Dakka, N., & Et-Touys, A. (2018).** *Polyphenols composition and antioxidant activity of Tetraclinis articulata extracts. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8(5), 234–240.
- **Bouyahya, A., Chamkhi, I., & El Omari, N. (2022).** *Essential oils and antidiabetic activity: mechanisms and applications. Evidence-Based Complementary and alternative Medicine*, 2022, Article ID 2029374.
- **Bouyahya, A., Et-Touys, A., & El-Bachiri, A. (2019).** *Efficacité antioxydante des huiles essentielles : étude sur T. occidentalis. Phytochemistry Reviews*, 18(4), 987–996.
- **Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2012).** *Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of chamomile essential oil and their antioxidant activity. Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(8), 1826–1831.
- **Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2013).** *Ultrasound-assisted extraction of*

essential oils from spices. Ultrasonics Sonochemistry, 20(4), 1072–1080.

- **Djeral, Mounir (2023).** *Revue bibliographique sur les huiles essentielles.* Mémoire de Master, spécialité sciences alimentaires. Université Mouloud Mammeri, 63 pages.
- **Gakuubi, M. M., & Maina, A. W. (2021).** *Antimicrobial and anti-inflammatory potential of eucalyptol.* *International Journal of Phytomedicine, 13(1), 45–53.*
- **Ghanemi, A., Yoshioka, M., & St-Amand, J. (2021).** *Hormonal regulation of GLP-1 and GIP.* *Journal of Endocrinology and Metabolism, 11(2), 45–52.*
- **Guedri, H., Benammar, L., & Boukhris, M. (2023).** *Carvacrol et TRPA1 : modélisation moléculaire.* *Computational Toxicology, 17, 100185.*
- **Hazzoumi, Z., Moustakime, Y., & El Hassan, L. (2018).** *Evaluation de l'activité antioxydante de Tetraclinis articulata.* *Revue des Bioressources, 10(2), 54–63.*
- **Jemli, M. E., Bouaziz, M., & Sayadi, S. (2016a).** *Toxicité aiguë des extraits de T. articulata chez la souris.* *Journal de Toxicologie Expérimentale, 7(2), 98–105.*
- **Khan, M. A. B., Hossain, M. S., & Rahman, M. M. (2019).** *Role of incretin hormones in diabetes.* *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews, 13(1), 830–837.*
- **Kharoubi, O., Belarbi, M., & Boudjelal, A. (2020).** *Polyphénols et activité antioxydante des extraits de Thuya occidentalis.* *Revue algérienne de Phytothérapie, 8(1), 47–56.*
- **Kim, H. M., Lee, E. H., & Jung, K. Y. (1995).** *Effect of 1,8-cineole on mouse models of inflammation.* *Planta Medica, 61(4), 346–348.*
- **Méndez-Lagunas, L. L., Rodríguez-Ramírez, J., & Cruz-Gracida, M. (2017).** *Extraction assisted by ultrasound: application in essential oils.* *Food Bioprocess Technology, 10(3), 569–582.*
- **Montasir, M. E., Rahmouni, I., & Hattaf, M. (2017).** *Toxicité aquatique de T. articulata sur Daphnia magna.* *Environmental Toxicology and Chemistry, 36(11), 3063–3071.*
- **Nourachani, R. (2010).** *L'histoire des huiles essentielles.* Mémoire de master en biologie

végétale, Université d'Alger.

- **Pavlić, B., Kaplan, M., & Zeković, Z. (2017).** *Use of ultrasound in the extraction of essential oils. Ultrasonics Sonochemistry, 36, 125–134.*
- **Pereira, C. G., & Meireles, M. A. A. (2007).** *Supercritical fluid extraction vs. ultrasound-assisted extraction: practical comparisons. Trends in Analytical Chemistry, 26(9), 730–736.*
- **Prasad, K. N., Yang, B., Dong, X., & Jiang, Y. (2009).** *Flavonoid contents and antioxidant activities from leaves of medicinal plants. Food Chemistry, 115(1), 20–26.*
- **Rached, W., Zeghoud, S., & Mahdeb, N. (2018).** *Évaluation de la cytotoxicité d'extraits de T. articulata sur cellules porcines. Biological Research, 51(1), 52.*
- **Reverchon, E., & Marco, I. D. (2006).** *Supercritical fluid extraction and fractionation of essential oils and related products. Journal of Supercritical Fluids, 38(2), 146–166.*
- **Sadiki, M., Moulay, L., & Cherrah, Y. (2018).** *Activité neuroprotectrice de T. articulata chez le rat. Journal of Ethnopharmacology, 220, 116–124.*
- **Schofield, P., Mbugua, D. M., & Pell, A. N. (2001).** *Analysis of condensed tannins: a review. Animal Feed Science and Technology, 91(1-2), 21–40.*
- **Tchoumboungang, F., Amvam Zollo, P. H., & Dagne, E. (2009).** *Activité biologique des huiles essentielles africaines. African Journal of Traditional, Complementary and alternative Medicines, 6(3), 238–243.*
- **Topçu, G., Gören, A. C., & Bilsel, G. (2007).** *Flavonoid content of medicinal plants in Turkey. Turkish Journal of Chemistry, 31(5), 537–546.*
- **Toumi, F. B., Benyahia, M., Hamel, L., Mohamedi, H., & Boudaghen, L. (2011).** *Étude comparative de la composition chimique des huiles essentielles de Tetraclinis articulata (Vahl) Masters originaire d'Algérie. Acta Botanica Gallica, 158(1), 93–100 . <https://doi.org/10.1080/12538078.2011.10516257>*
- **Wood, J. E., Senthilmohan, S. T., & Peskin, A. V. (2002).** *Antioxidant activity of*

procyanidin-rich extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4137–4144.

- **Zahir, H., & Rahmani, N. (2020).** *Étude de cas d'eczéma de contact à T. articulata. Revue de Dermatologie allergologie*, 12(2), 125–128.
- **Zahir, H., Rahmani, N., & Hadj-Mahammed, M. (2020).** *Toxicité aiguë de T. articulata chez les rongeurs. Annales de Toxicologie Analytique*, 32(1), 43–

ANNEX

Solution	Igrédients	Quantités pour le volume donné	Procédure de préparation
Tampon Phosphate (0.2 M , pH 6.6)	Na ₂ HPO ₄ , NaH ₂ PO ₄ , Eau distillée	Na ₂ HPO ₄ : 23.8 g NaH ₂ PO ₄ : 13.8 g Pour 1 l	<ul style="list-style-type: none"> • Dissoudre dans 800 ml d'eau distillée • Ajuster le pH à 6.6 avec un pH-mètre • Compléter à 1 l avec eau distillée
Ferricyanure de potassium (1%)	K ₃ Fe(CN) ₆ , Eau distillée	1 g pour 100 ml	<ul style="list-style-type: none"> • Dissoudre 1 g dans 100 ml d'eau distillée
TCA (10%)	Acide trichloroacétique, Eau distillée	10 g pour 100 ml	<ul style="list-style-type: none"> • Dissoudre 10 g dans 100 ml d'eau distillée
Chlorure de fer (III) (0.1%)	FeCl ₃ , Eau distillée	0.1 g pour 100 ml	<ul style="list-style-type: none"> • Dissoudre 0.1 g dans 100 ml d'eau distillée

