

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de RELIZANE  
Faculté des Sciences et de la Technologie  
Département des Sciences Biologiques



MEMOIRE  
En vue de l'obtention du diplôme de MASTER  
Spécialité Biochimie Appliquée  
Intitulé

Etude phytochimique de l'huile essentielle de *Tétraclinis articulata*

Présenté par :

Mlle LAMECHE Khouloud

Mlle HENNIA Ibtissem Feriha

Mlle CHEHADA Manel

Devant les membres de jury :

Président : Mlle

HANIS FAWZIA

Maître assistant (B) (U. Relizane)

Encadrant : Mme

BENAHMED FATIHA

Maître assistant (A) (U. Relizane)

Co-encadrant : Mlle

MEJADJI BOCHRA

Doctorante

Examineur : Mlle

BEKHEDDA HADJER

Maître assistant (B) (U. Relizane)

Année universitaire : 2023/2024

---

## *Remerciements*

---

Tout d'abord, on exprime louanges et remerciements à Dieu ﷻ qui nous a donné la force et la patience à accomplir cette recherche.

On exprime notre profonde reconnaissance à:

Mme BENAHMED Fatiha pour son dévouement complet, pour sa contribution pour le développement de ce travail et on remercie également pour son encadrement, pour ses conseils dans l'orientation de nos activités de recherche et ses conseils au cours de cette année sur le plan scientifique.

On tient à remercier notre co-encadreur Mme MEDJADJI Bochra, pour tous son encadrement et ses conseils dans l'orientation quant à la réalisation de ce travail

.Je tiens à remercier les membres du jury pour leur lecture critique, pour leurs commentaires précieux et pour leurs suggestions.

Je m'adresse :

Au Docteur HANIS Fawzia qui nous a fait l'honneur d'avoir accepté de présider ce jury,

Au Docteur BEKHEDDA Hadjer d'avoir accepté d'être examinateur de ce mémoire,

.A tous les membres du Laboratoire pédagogique du Département des Sciences Biologiques :

Mr Youcef, Mr Abdelkader et Mme Fatima

## DÉDICACES

Je voudrais dédier ce modeste travail à toi,

Ma Mère, l'être cher dans ma vie, toi qui es toujours là pour me consoler, me soulager et m'encourager, toi qui as donné le meilleur de toi-même pour me voir réussir jour après jour. Mère, tu es la cause de ma réussite dans la vie.

À mon ange gardien, , à mon Papa Rien au monde ne vaut les efforts que vous avez déployés jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être

À mes adorables sœurs Soumia, Imane et Asmaa, ainsi qu'à mon adorable frère Slimane.

À tous mes professeurs, particulièrement à Madame Benahmed qui nous a beaucoup soutenus, et à tous mes collègues de promotion en Biochimie Appliquée, ainsi qu'à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.

### LAMECHE KHOULOU

Avant tout, je remercie mon Dieu tout-puissant, الله le Créateur, Grand et Miséricordieux, de m'avoir donné le courage, la force, la santé et la persévérance, et de m'avoir permis de finaliser ce travail dans les meilleures conditions.

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

À ma très chère mère, Tu incarnes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

À mon très cher père, Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts que vous avez déployés jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être. À mes adorables sœurs Youssra et Nessrine, à toute ma famille, à tous mes amis (en particulier Khouloud et Manel), et à tous les enseignants qui ont contribué à ma formation.

### HENNIA IbtissemFeriha

Je dédie ce travail à mes chers parents, pour leur soutien inconditionnel, leur amour et leurs sacrifices sans lesquels cette réussite n'aurait pas été possible. Merci pour votre confiance en moi et pour m'avoir donné les moyens de réaliser mes rêves.

À ma sœur Wissal, et à mon frère Mohamed.

À mes amis et collègues, leur soutien moral et pour avoir partagé avec moi les moments de joie et de défi.

À mes professeurs, pour leurs encouragements constants et leur générosité dans le partage des connaissances. Enfin, à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce projet. Merci du fond du cœur.

### CHEHADA MANEL

## RÉSUMÉ

Nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et à l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata*, une plante endémique appartenant à la famille des Cupressacées, connue pour ses vertus thérapeutiques, de la wilaya de Relizane.

Dans un premier temps, nous avons procédé à un criblage phytochimique des grandes classes de métabolites secondaires, suivi par le dosage quantitatif des polyphénols totaux par une méthode colorimétrique et une étude de l'activité antioxydante testée à l'aide de la réduction du radical DPPH. Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à déterminer l'effet antibactérien contre une souche d'*Escherichia coli*. Le rendement de l'huile essentielle extraite de la biomasse foliaire de *Tetraclinis articulata* (Vahl) est de 0,22 % par rapport à la matière sèche. La teneur en polyphénols a révélé une forte concentration en polyphénols, et nous avons remarqué que l'huile essentielle de *T. articulata* présente une bonne activité antioxydante. Les résultats relatifs à l'activité antibactérienne ont montré une activité et un degré de sensibilité moyens contre la souche d'*Escherichia coli*. L'effet bénéfique de *T. articulata* pourrait résulter des propriétés antioxydantes de cette plante. Cette étude pourrait être approfondie dans le but de développer un phytomédicament pour la production de nouveaux agents antioxydants et de substituants dans le domaine de l'agroalimentaire.

## ABSTRACT

The objective of this study is to find natural substitutes in cosmetics, chemical preservatives, or in the field of insecticides. We focused on the phytochemical study and biological activity of the essential oil from the leaves of *Tetraclinis articulata*, an endemic plant belonging to the Cupressaceae family, known for its therapeutic virtues, from the wilaya of Relizane.

First, we conducted a phytochemical screening of the major classes of secondary metabolites, followed by the quantitative determination of total polyphenols using a colorimetric method and a study of antioxidant activity tested using DPPH radical reduction. Secondly, we aimed to determine the antibacterial effect against an *Escherichia coli* strain. The yield of essential oil extracted from the foliar biomass of *Tetraclinis articulata* (Vahl) is 0.22% relative to the dry matter. The polyphenol content revealed a high concentration of polyphenols, and we observed that the essential oil of *T. articulata* exhibits good antioxidant activity. The results related to antibacterial activity showed moderate activity and sensitivity against the *Escherichia coli* strain. The beneficial effect of *T. articulata* could result from the antioxidant properties of this plant. This study could be further developed to create a phytomedicine for the production of new antioxidant agents and substitutes in the field of food processing.

## ملخص

كنا مهتمين بالدراسة الكيميائية النباتية والنشاط البيولوجي للزيت العطري لأوراق التتراكلينيس أرتيكلولاتا ، وهو نبات مستوطن ينتمي إلى عائلة كوبريساسي ، والمعروف بفضائله العلاجية ، من ولاية غليزان.

أولا ، أجرينا فحصا كيميائيا نباتيا للفئات الرئيسية من المستقلبات الثانوية ، تلاه التحديد الكمي للبولىفينول الكلي بطريقة قياس الألوان ودراسة لنشاط مضادات الأكسدة الذي تم اختباره باستخدام تقليل جذر ديه. ثانيا ، كنا مهتمين بتحديد التأثير المضاد للبكتيريا ضد سلالة من الإشريكية القولونية. العائد من الزيت العطري المستخرج من الكتلة الحيوية ورقة من تيتراكلينيس أرتيكلولاتا (فاهل) هو 0.22 ٪ بالنسبة للمادة الجافة. كشف محتوى البولىفينول عن تركيز عال من مادة البولىفينول ، ولاحظنا أن الزيت العطري من مادة تي أرتيكلولاتا له نشاط جيد مضاد للأكسدة. أظهرت النتائج المتعلقة بالنشاط المضاد للبكتيريا نشاطا متوسطا ودرجة من الحساسية ضد سلالة الإشريكية القولونية. يمكن أن ينتج التأثير المفيد ل ت. أرتيكلولاتا عن الخصائص المضادة للأكسدة لهذا النبات. يمكن تطوير هذه الدراسة بشكل أكبر بهدف تطوير الطب النباتي لإنتاج عوامل جديدة مضادات الأكسدة والبدائل في مجال الأغذية الزراعية.



## LISTE DES ABREVIATIONS

**A:** Absorbance  
**HE :** Huile essentielle  
**PA :** Principe actif  
**H :** heures  
**M :** mètre  
**Ha :**hectares  
**Ul :** microlitre  
**g :**gramme  
**ml :** millilitre  
**Mvg :** Matière végétal sec  
**IC50 :** half maximal inhibitory concentration  
**nm :** nanomètre  
**Min :**minute  
**Lps :**lipo-polysaccharides  
**DMSO :**Diméthylsulfoxyde  
**Mg :**milligramme  
**E.coli:** Escherichia coli  
**OMS :** organisation Mondiale  
**HE :** Huile essentielle  
**PA :** Principe actif  
**H :** heures  
**M :** mètre  
**Ha :**hectares  
**CPG :**chromatographie en phas gazeuse  
**DPPH :** 2-2-diphexyl-2picylidrazl)  
**Ul :** microlitre  
**g :**gramme  
**ml :** millilitre  
**Mvg :** Matière végétal sec  
**IC50 :** half maximal inhibitory concentration

## LISTE DES FIGURES

**Figure 01:** Schéma montrant les applications des huiles essentielles dans différentes industries

**Figure 02:** Structure chimique de certains constituants populaires des huiles essentielles de plantes et d'herbes

**Figure 03 :** Mécanisme d'action des huiles essentielles contre l'oxydation des lipides

**Figure 04:** Cibles des huiles essentielles (EOs) dans les cellules bactériennes

**Figure 05:** Representative photos de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.

**Figure 06:** Cibles des huiles essentielles (EOs) dans les cellules bactériennes,

**Figure 07 :** Aire de répartition de la région méditerranéenne.

**Figure 08:** Réaction entre le DPPH et un antioxydant AH

**Figure 09:** Forme libre et réduite du DPPH

**Figure 10 :** courbe d'étalonnage de l'acide gallique

**Figure 11 :** Aactivité antioxydant d'huile essentielle de *Tetraclinis articulata*

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 01 :** *Composition chimique de certaines essences de Tetraclinis articulata*

**Tableau 02:** Criblage chimique des métabolites secondaires de l'espèce *T.articulata*

**Tableau 03 :** sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition

**Tableau 04:** Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition



<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>I</b>
<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS .....</b>	<b>IV</b>
<b>LISTE DES FIGURES.....</b>	<b>V</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>VI</b>
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE .....</b>	<b>01</b>
<b>1. Les Huiles essentielles : quel intérêt ? .....</b>	<b>04</b>
1.1. Caractéristiques et composition chimique des huiles essentielles .....	04
1.2. Interet des huiles essentielles .....	04
1.2.1. Activité antioxydante .....	04
1.2.2. Effets Antimicrobiens des Huiles Essentielles .....	04
1.3. Systématique de la plante .....	
.....	05
1.3.1. Répartition géographique .....	05
1.3.2. Composition chimique de thuya .....	07
1.3.3. Domaine d'utilisation .....	12
1.3.4. Usage thérapeutique de <i>Tetraclinis articulata</i> .....	13
<b>2. Matériels.....</b>	<b>15</b>
2.1. Matériel végétal .....	
.....	15
2.2. Préparation de l'huile essentielle de <i>T.articulata</i> .....	16
2.3. Criblage chimique des métabolites secondaires de « <i>T.articulata</i> » .....	17
2.3.1. Analyses quantitatives des extraits aqueux .....	17
2.4. Dosage des polyphénols totaux .....	17
2.5. Activités antioxydantes .....	18
2.5.1. Piégeage du radical libre DPPH .....	18
2.6. Activité biologique .....	18
2.6.1 Activité antibactérienne .....	18
<b>3. Etude in vitro de l'HE de T. articulata .....</b>	<b>23</b>
3.1 Rendement .....	23
3.2 Criblage chimique des métabolites secondaires .....	24
3.3 Analyse quantitative de l'HE de <i>T.articulata</i> .....	24
3.3.1 Polyphénols totaux .....	25
3.4 Evaluation de l'activité antioxydante. ....	25
3.5.1 Le piégeage du radical libre (DPPH) .....	26
3.5.2 Activité antimicrobienne .....	26

<b>Conclusion Et Perspectives .....</b>	<b>29</b>
<b>Refrence bibliographique .....</b>	<b>31</b>



A solid red vertical bar on the left side of the page.

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

---

Les huiles essentielles (HE) sont des composés volatils et aromatiques extraits des plantes par diverses méthodes. Elles sont utilisées depuis des siècles pour leurs propriétés médicinales et aromatiques. Dans les temps anciens, les huiles essentielles étaient utilisées pour traiter une gamme de maladies et d'infections, telles que la peste, le choléra et la tuberculose (**El Hachlafi et al., 2024**).

L'utilisation des HE comme agents antimicrobiens remonte à l'Égypte ancienne, où elles étaient utilisées pour l'embaumement et pour la prévention de la propagation des maladies infectieuses (**El Hachlafi et al., 2024**).

Tout au long de l'histoire, les HE ont été utilisées dans les pratiques de médecine traditionnelle à travers le monde, par exemple, dans la médecine ayurvédique, les HE sont utilisées depuis des milliers d'années pour traiter diverses maladies, y compris les infections (**N. Benkhaira et al., 2023**).

De même, dans la médecine traditionnelle chinoise (MTC), les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et antivirales. L'utilisation des HE comme agents antimicrobiens a gagné en popularité au début du 20<sup>ème</sup> siècle avec la découverte des propriétés antibactériennes et anti-inflammatoires des HE telles que le thym et l'eucalyptus (**E.M. Abdallah et al., 2011**). Depuis lors, de nombreuses recherches ont été menées pour explorer l'activité antimicrobienne des HE et leur potentiel en tant qu'alternatives aux médicaments antimicrobiens conventionnels (**V.K. Joshi et al., 2011**).

Ces dernières années, l'émergence et la propagation de bactéries résistantes aux antibiotiques ont été reconnues comme l'une des plus grandes menaces pour la santé publique mondiale, et la majorité des grandes entreprises pharmaceutiques ont abandonné la recherche sur les antibiotiques en raison des coûts élevés et du faible retour sur investissement, entraînant une diminution significative du nombre de nouveaux antibiotiques approuvés par les agences de réglementation. Par conséquent, les HE pourraient être une source prometteuse de nouveaux agents antimicrobiens.

L'Algérie est un véritable réservoir phylogénétique connu pour sa riche et grande diversité floristique. Ainsi, de nombreuses enquêtes ethnopharmacologiques ont été menées dans diverses régions du pays pour documenter et préserver les connaissances indigènes et développer une stratégie de protection de la biodiversité Senouci, F., Ababou, A., Senouci, S., & Bouzada, N. (2023). Traditional medicinal plants applied for the treatment of gastrointestinal diseases in Chlef, Algeria. *Egyptian Journal of Botany*, 63(2), 419-429..

## INTRODUCTION GÉNÉRALE

---

*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast., également appelée Thuja orientalis, est un arbre conifère à feuilles persistantes, appartenant à la famille des Cupressaceae. Cette espèce est largement distribuée dans les pays d'Afrique du Nord, y compris l'Algérie, le Maroc, et la Tunisie et constitue un élément substantiel de la végétation dans cette région. *T. articulata* est couramment utilisée en médecine populaire pour traiter divers maux tels que les problèmes gastro-intestinaux infantiles, les infections respiratoires, l'hypertension, le cancer, le diabète, les maladies de la peau et les troubles rhumatismaux (El Hachlafi et al.,2024). Des études biologiques antérieures sur l'huile essentielle de *T. articulata* ont mis en évidence ses remarquables bioactivités en tant qu'antimicrobien (El Hachlafi et al.,2024), antioxydant, anti-inflammatoire, antidiabétique et insecticide.

Les constituants chimiques de l'huile essentielle de *T. articulata* ont montré la présence de différents composés bioactifs, appartenant généralement au groupe des monoterpènes, y compris l' $\alpha$ -pinène, le limonène, le bornéol, le camphre, le cis-verbenol, l'acétate de bornyle et l' $\alpha$ -terpinéol (El Hachlafi et al., 2024)

L'objectif de cette enquête exploratoire est de déterminer les propriétés biologiques de l'huile essentielle (HE) de *T. articulata*, à savoir l'activité antibactérienne, antioxydante, en utilisant une approche in vitro

Dans cette optique, nous avons fait :

- 1- L'étude phytochimique par dosage qualitatif et quantitatif des composés polyphénoliques et ainsi que l'étude de ses activités antioxydantes.
- 2- Une étude biologique par l'effet antimicrobien de *Tetraclinis articulata* par la méthode aromatogramme sur une souche bactérienne *Escherichia coli*

L'étude entreprise dans ce document est représentée en trois parties. La première partie est une étude bibliographique, la deuxième partie décrit le matériel et les méthodes mises en place afin de répondre aux questions posées dans ce projet. Enfin, la dernière partie de ce manuscrit consiste en la présentation et la discussion des résultats obtenus au cours de ce travail.



# **ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE**

### 1. Les Huiles essentielles : quel intérêt ?

Les huiles essentielles possèdent des propriétés analgésiques, des médicaments anti-inflammatoires, des médicaments antiprotozoaires, des agents anticarcinogènes, des gastroprotecteurs et des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. Cette dernière propriété est d'un grand intérêt dans le contrôle de la maladie d'Alzheimer, une maladie neurodégénérative progressive qui affecte principalement la population âgée et représente 50 à 60 % des cas de démence chez les personnes de plus de 65 ans (El Hachlafi et al., 2024). Récemment, les huiles essentielles ont suscité un grand intérêt dans l'industrie alimentaire pour contrôler les microorganismes d'origine alimentaire, et une attention particulière est désormais accordée aux extraits de plantes en remplacement des antimicrobiens conventionnels (Figure 1).

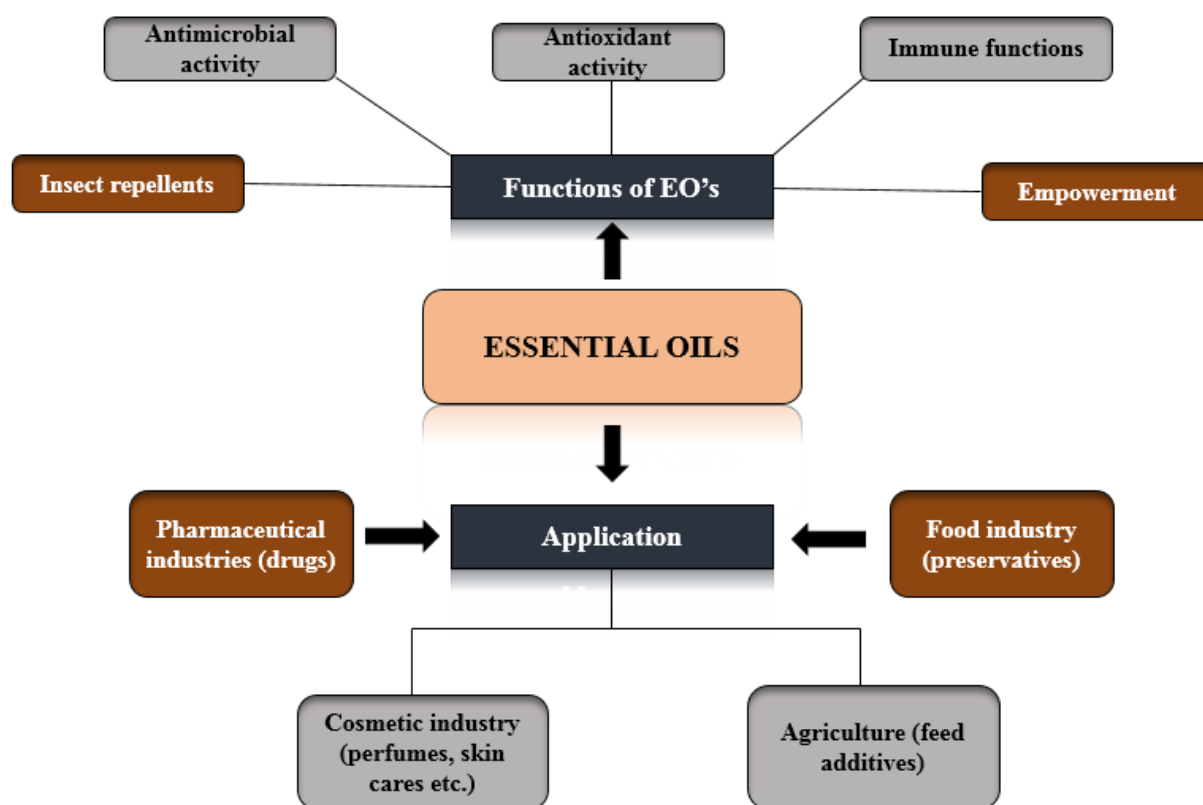


Figure 1: Schéma montrant les applications des huiles essentielles dans différentes industries (Herman, et al., 2019)

### 1.2. Caractéristiques et composition chimique des huiles essentielles

De manière intéressante, les huiles essentielles (HE) sont bien caractérisées en fonction des composés naturels existants, environ 20 à 60 en différentes quantités (Buchanan et al. 2015). En raison de leur nature hydrophobe et de leur densité souvent inférieure à celle de l'eau, elles sont



généralement lipophiles, se dissolvent dans les solvants organiques, sont incompatibles avec l'eau et peuvent être séparées de la phase aqueuse par décantation (**El Asbahani et al., 2015**).

Cependant, les composés les plus actifs sont classés en quatre groupes en fonction de leur nature diversifiée et de leur composition chimique, tels que les terpénoïdes (par exemple, le carvacrol, le thymol), les terpènes (par exemple, le limonène, le p-cymène), les phénylpropènes (par exemple, la vanilline, l'eugénol), et d'autres composés comme les isothiocyanates ou l'allicine (**Zanetti et al. 2018**). Sur l'autre côté, Tariq et al. (2019) ont décrit que les huiles essentielles contenant des phénols ou des aldéhydes tels que l'eugénol, le carvacrol, le linalaldéhyde, le citral ou le thymol comme composant principal ont montré la plus forte activité antibactérienne, suivies par les huiles essentielles contenant des terpènes et des alcools.

### 1.3. Interet des huiles essentielles

#### 1.3.1. Activité antioxydante

Récemment, il est soupçonné que des antioxydants synthétiques tels que le butylhydroxytoluène (BHT) et le butylhydroxyanisole (BHA) ont provoqué des effets indésirables potentiels sur la santé humaine (**Oswell et al., 2018**). Ainsi, les huiles essentielles (HE) ont été considérées comme une bonne alternative car la majorité des HE sont généralement classées comme sûres (GRAS) (**Ribeiro-Santos et al., 2017**). Le potentiel antioxydant des matières organiques dépend principalement de leur composition chimique (**Bhavaniramya et al., 2019**). Les phénols et certains autres composés métaboliques secondaires sont liés par des doubles liaisons, responsables de l'activité antioxydante intrinsèque des HE.

Les HE extraites de plantes traditionnelles sont des sources riches en monoterpènes oxygénés tels que des esters, des cétones et des aldéhydes. De plus, les hydrocarbures monoterpéniques et les terpénoïdes phénoliques, tels que le carvacrol ou le thymol, sont les principaux composés chimiques qui confèrent une activité antioxydante plus forte aux HE obtenues à partir de certaines plantes (**Bhavaniramya et al., 2019**). Par exemple, l'huile extraite de plantes médicinales telles que le thym, l'origan, le basilic, le clou de girofle, la muscade, La cannelle et le persil montrent des activités antioxydantes significatives grâce à la présence de constituants majeurs tels que le carvacrol et le thymol (**Aruoma, 1998**). Leurs activités sont associées à la présence de composés phénoliques, qui possèdent des propriétés significatives dans l'oxydation et la réduction et jouent un rôle important dans la neutralisation des radicaux libres et dans la décomposition des peroxydes (**Burt , 2004**). D'autres composants tels que les éthers, certains

alcools, aldéhydes, cétones et monoterpènes comme l'isomenthone, le citronellal, le géraniol/néral, le 1,8-cinéole, le linalol et la menthone jouent également un rôle majeur dans les propriétés antioxydantes des huiles essentielles (**Modzelewska et al. 2005**).

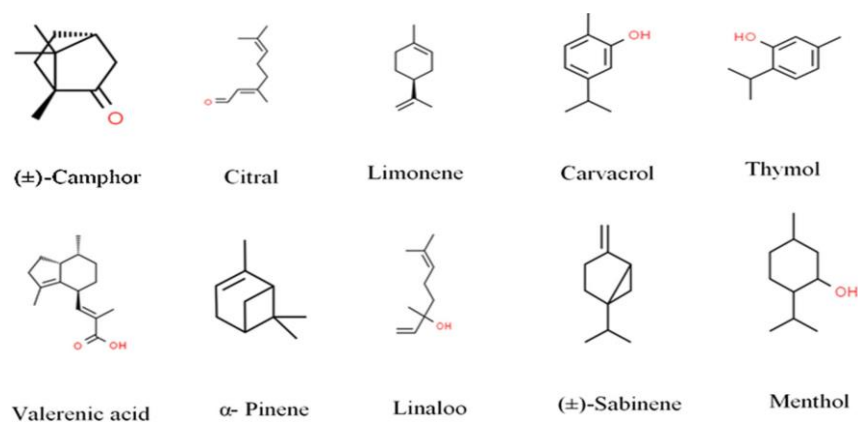


Fig. 2 Structure chimique de certains constituants populaires des huiles essentielles de plantes et d'herbes (**Bhavaniramya et al., 2019**)

#### 1.3.1.1.Mode d'action

Les huiles essentielles (HE) utilisent différents mécanismes (directs ou indirects) pour ralentir les réactions d'oxydation, y compris la prévention de l'initiation de la chaîne et l'activité de piégeage des radicaux libres (**Maqsood et al. 2013; Rodriguez-Garcia et al., 2016**). De plus, l'abstraction continue d'hydrogène, les agents terminaux, les quenchers de la formation d'oxygène singulet et la liaison avec les catalyseurs d'ions métalliques de transition font partie de leurs modes d'action (**Tongnuanchan and Benjakul 2014**).

Cependant, la composition chimique des HE détermine leurs propriétés et donc leur mode d'action. Cependant, en raison de la grande variété de composés, leur activité antioxydante ne peut pas être attribuée à un seul mécanisme d'action (**Pateiro et al., 2018**). L'activité des HE en tant qu'antioxydants se déroule en trois phases : initiation, propagation et terminaison, comme illustré dans la Figure2.

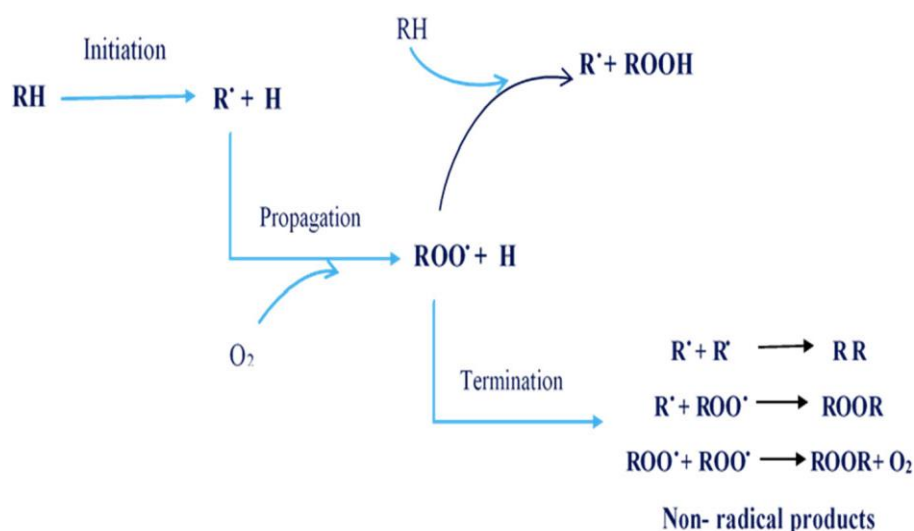


Figure 2 : Mécanisme d'action des huiles essentielles contre l'oxydation des lipides

### 1.3.2. Effets Antimicrobiens des Huiles Essentielles

Certaines huiles essentielles sélectionnées semblent avoir l'avantage d'inhiber la croissance des pathogènes potentiels tout en influençant modérément les membres bénéfiques du microbiote intestinal. Cela a été observé après que des souches de *Clostridium perfringens* se sont révélées sensibles au carvacrol, à la cinnamaldéhyde, au citral, au limonène, au thymol, particulièrement à la concentration plus élevée testée (500 mg/l), ainsi qu'à l'huile d'origan, l'huile de romarin et l'huile de thym. L'huile de clou de girofle, une huile essentielle extraite de la plante de clou de girofle, *Syzygium aromaticum* (L), a été rapportée comme une substance bioactive. La destruction cellulaire de ces pathogènes est due à la capacité des composés hydrophobes des huiles essentielles de perturber la membrane cellulaire du microorganisme, ce qui entraîne un changement de morphologie cellulaire, une altération de la perméabilité membranaire et une fuite d'électrolytes

Par conséquent, le mode d'action des huiles essentielles (EOs) n'a pas encore été entièrement compris, et la principale conséquence des EOs peut être liée aux composés chimiques naturellement présents dans les plantes contenant des EOs (Kačániová et al. 2017). En effet, Burt (2004) déclare que chaque composé peut présenter différents mécanismes antimicrobiens à travers une série de réactions biochimiques à l'intérieur des cellules bactériennes, ce qui dépend du type de composants chimiques présents dans les EOs. Bajpai et al. (2012) ont également constaté que l'activité antimicrobienne des EOs dépendait de la composition des plantes et de la synergie, montrant ainsi que la chimie des EOs est d'une grande importance.

Cependant, divers mécanismes d'activité antibactérienne des EO ont été suggérés. Par exemple, les EO sont supposées être moins efficaces contre les bactéries Gram (-) comparativement aux bactéries Gram (+) en raison de la présence d'une membrane externe hydrophile contenant une chaîne polysaccharidique hydrophile qui agit comme une barrière aux composés hydrophobes (Al-Maqtari et al., 2020). De plus, la membrane externe de cette cellule est chargée, donc elle a une nature hydrophile. Cependant, certains composés non hydrophiles peuvent facilement pénétrer cette barrière (Nazzaro et al. 2013). D'un autre côté, les EO peuvent pénétrer facilement les cellules, travailler sur la paroi cellulaire et interagir avec la membrane de la cellule (Khorshidian et al. 2018), puis se transférer facilement au cytoplasme. Après avoir pénétré dans la cellule, ces composés altèrent la perméabilité de la cellule et interfèrent avec les enzymes contribuant à la production d'énergie (Basim et al., 2000). De plus, ces composés ne peuvent pas seulement affecter de nombreuses enzymes contribuant à la production d'énergie, mais aussi endommager les protéines internes à des concentrations plus élevées (Omonijo et al., 2018), et arrêter la force motrice protonique qui conduit finalement à la mort cellulaire (Basim et al., 2000). La Figure 6 illustre les cibles des EO dans les cellules bactériennes et montre différents mécanismes d'activité antimicrobienne.

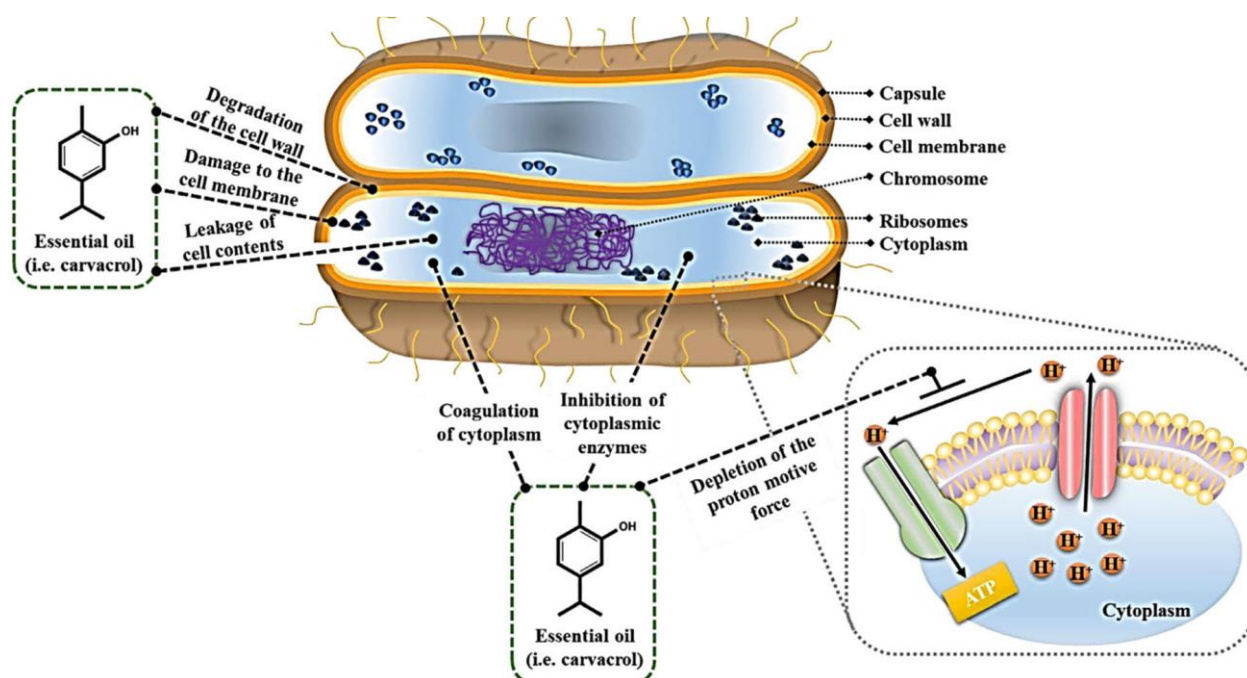


Figure 4 : Cibles des huiles essentielles (EOs) dans les cellules bactériennes, montrant différents mécanismes d'activité antimicrobienne : dégradation de la paroi cellulaire ; dommages à la membrane cellulaire ; fuite du contenu cellulaire ; coagulation ou inhibition des protéines cytoplasmiques ; et épuisement de la force proton-motrice. (Gutiérrez-del-Río et al. 2018)

## 2. Choix de *Tetraclinis articulata*

*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. (Fig.), communément appelé l'arbre Araar, le thuya de Barbarie et l'arbre à gomme de sandaraque, est une espèce monoïque d'arbres conifères de la famille des Cupressaceae. Originaire des régions montagneuses de l'Afrique du Nord, principalement du Maroc, de l'Algérie et de la Tunisie, avec des populations reliques présentes à Malte et près de Carthagène, en Espagne (**I. Bouadid et al., 2023**).

Traditionnellement, les feuilles et les parties aériennes sont consommées par voie orale sous forme de décoction et/ou d'infusion pour traiter le diabète sucré, l'hypertension, la toux, l'asthme et les troubles digestifs (**M. El Jemli et al., 2023**). De plus, plusieurs rapports ethnopharmacologiques ont affirmé que l'infusion, la décoction et les cataplasmes des parties aériennes sont efficaces contre la tuberculose, la diarrhée, les infections des voies urinaires, la migraine, les nausées, l'anxiété et les maladies du côlon (**A. Harmouzi et al., 2016**) .

Les études phytochimiques ont révélé que l'arbre Araar est riche en acides phénoliques, flavonoïdes, phytostérols, terpènes et acides gras, entre autres (**El Hachlafi et al., 2023**)

Ces métabolites secondaires sont responsables des activités antioxydantes rapportées, antimicrobiennes, cytotoxiques, anti-inflammatoires, antidiabétiques, antiurolithiatriques, et neuroprotectrices (**El Hachlafi et al., 2023**)



**Figure 5. 1** Representative photos of *Tetraclinis articulata* (Vahl) (Mast. 2023)

## 2.2. Systématique de la plante

Selon (**Hadjadjet al. (2017)**), le thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*) est une espèce endémique, médicinale et aromatique de la famille des cupressaceae.

Le tableau suivant illustre la typologie botanique du thuya de Berbérie

- <b>Embranchement</b>	Spermatophytes
- <b>Sous-embranchement</b>	Gymnospermes
- <b>Classe</b>	Pinosida
- <b>Sous-Classe</b>	Dialypétales ou Rosidae
- <b>Sous-série</b>	Diplostémones
- <b>Ordre</b>	Pinales
- <b>Famille</b>	Cupressaceae
- <b>Genre</b>	<i>Tetraclinis</i>

### 2.2.1. Etymologie

**Tableau 01** : les différents noms de *Tetraclinis articulata* à travers le monde\*

Nom commun (France)	Nom Arabe	Nom Latin	En anglais
Thuya de Berbérie	Aaraar (عرعار)	<i>Tetraclinis articulata</i>	Cartagena cypress
Thuya articulé	Araarberboush (بربوش عار)		Barbary Thuya
	Shajarat-el-hayat (الحياة شجرة)		Sandaractree

( Lamnauer & Batanouny, 2005 )

### 2.2.2. Répartition géographique

#### 2.2.2.1. Dans le monde

Cette espèce végétale est principalement présente au Maghreb, car en dehors de ce territoire, il ne se rencontre à l'état résiduel que sur le littoral du sud-est de l'Espagne dans la région de Carthagène et à Malte, où il est en danger de disparition (**Quézelet al., 2003**). En Afrique du Nord, où il occupe environ un million d'hectares, il est principalement sur le plateau central du Maroc (900 000 ha), depuis le nord du Rif jusqu'à l'Anti-Atlas et dans la région d'Ifni.

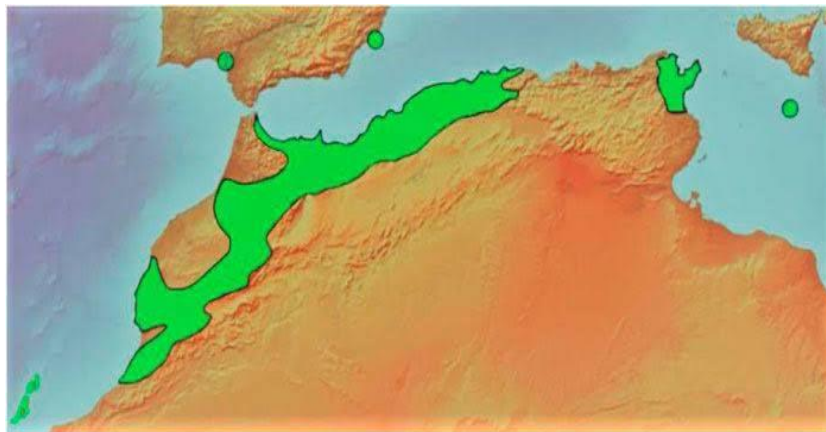


Par contre, il manque au Maroc steppique sud-oriental. Il est largement répandu en Tunisie entre Bizerte et Zaghuan (**Quézel *et al.*, 2003**). Il représente actuellement moins de 140 000 hectares en Algérie (**Letrech, 1991, Maatoug *et al.*, 2004 ; Boussaid, 2017**).

#### 2.2.2.2. En Algérie

Le début du siècle dernier, les Tétracinaies s'élevaient à 161.000 ha (**Benabdelli, 1992**), tandis que vers la fin de cette période, les chiffres donnés par l'administration des forêts oscillaient entre 143.000 ha et 130.000 ha (**Letreuch-Belarouci, 1991**). Selon les recherches de Quézel et de Santa (1962, 1963), le thuya est très répandu dans le secteur Oranais, assez répandu dans le secteur algérois et dans le sous-secteur des hauts plateaux, et il est extrêmement rare dans la grande Kabylie. Dans la région Algéro-Ouarsienne, les populations de thuya ne sont pas très distinctes et sont généralement en association avec le pin d'Alep. Les individus les identifient dans les régions de Cherchel, Média, Ténès et Theniet el Had en utilisant des taillis anciens dégradés par les incendies. Ils se rencontrent également dans les régions de Dellys et Lakhdaria en utilisant des pieds isolés et de petits bouquets.

Enfin, ils se retrouvent dans la vallée de l'oued sahel vers M'Chandellah, dans le piémont sud de Lalla Khadîdja du Djurdjura (**Lapie et Maige, 1914 ; Hadjadj-aoul, 1995**).



**Figure 06 :** Aire de répartition de la région méditerranéenne (**Farjon et Fiiler , 2013**)

#### 2.2.3. Composition chimique de thuya

La variation dans la composition de l'huile essentielle est probablement due aux lieux et aux périodes de récolte qui doivent être différentes. La variation dans la composition chimique de thuya dans les quatre pays montre la diversité chimique due à l'influence des facteurs environnementaux et écologiques.

**Tableau 02** : Composition chimique de certaines essences de *Tetraclinis articulata*

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%) $\alpha$ -pinene (11,34%)
(Bourkhiss et al., 2007)	La région de Khemisset(Maroc)	Rameaux sèche	Clevenger	CG/MS	L' $\alpha$ -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' $\alpha$ -pinène (24,5%) le camphre (20,3%)
(Buhagiar et al., 2000)	Ile de Malte	Cônes et Graines	Clevenger	CG/MS	l' $\alpha$ -pinène (68.2%, 46.3%) limonène (16.6% ,25.3%)

#### 2.2.4. Domaine d'utilisation

L'espèce de *Tetraclinis articulata* constitue un élément important dans la végétation forestière nord-africaine. Cet arbre joue un rôle socio-économique important dans le domaine de l'artisanat, et ce grâce à son bois de grande valeur employé en ébénisterie et à son écorce riche en résine dont les extraits sont utilisés dans la fabrication de certains vernis (Montassiret al., 2017 ; Mhirit et Benchekroun, 2006).

Par ailleurs, cette essence forestière est très utilisée en médecine traditionnelle en raison de ses multiples effets thérapeutiques. En effet, différentes parties du thuya sont Préconisées dans le traitement des infections intestinales, des douleurs gastriques, des maladies respiratoires, du diabète, de l'hypertension et de la fièvre (Zahir et Rahmani, 2020).

Ces utilisations relèvent que les extraits ou les huiles essentielles (HE) de *Tetraclinis articulata* possèdent des composés actifs qui exercent de nombreuses activités biologiques (Dane et al., 2015 ; El-Jemliet al., 2016 a ; Montassiret al., 2017 ; Rached et al., 2018 ; Sadiki et al., 2018) .



En effet, plusieurs activités biologiques ont été rapportées pour les extraits et les HE de *Tetraclinis articulata*, notamment des activités anti-oxydantes, antibactériennes, antifongique, anticorrosion, cytotoxiques, insecticides, leishmanicides, anti-inflammatoires, anti-diarrhéiques, vas relaxantes et protectrices. Cependant, d'autres investigations concernant la toxicité, la pharmacocinétique et la pharmacodynamique de *Tetraclinis articulata* et de ses principaux composés bioactifs sont nécessaires pour valider son utilisation pharmacologique.

*Tetraclinis articulata* contient également certains éléments nutritionnels tels que des composés minéraux, du sucre et des protéines qui pourraient indiquer son utilisation potentielle dans le domaine nutraceutique. Toutes ces propriétés de *Tetraclinis articulata* ont un intérêt économique majeur qui est effectivement utilisé dans la fabrication de vernis de luxe, de produits pharmaceutiques et dans d'autres usages industriels, il est généralement utilisé sous forme de poudre pour préparer la surface de certains papiers ( **Hadjadj et al., 2017**).

#### 2.2.5. Usage thérapeutique de *Tetraclinis articulata*

Cette essence forestière est très utilisée en médecine traditionnelle en raison de ses multiples effets thérapeutiques. En effet, différentes parties du thuya sont préconisées dans le traitement des infections intestinales, des douleurs gastriques, des maladies respiratoires, du diabète, de l'hypertension et de la fièvre (**Zahiret al., 2020**).

Il est conseillé également comme anti-diarrhéique, fébrifuge, diurétique, antirhumatismal et hypoglycémiant oral (**Bellakhda et al., 1982 ; Ait Igri, 1990 ; Bellakhda et al., 1991 ; Ziyat et al., 1997 ; Farjon, 1998**). Par ailleurs, une décoction de poudre des rameaux mélangée à la poudre de l'écorce de Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) est utilisée en bain contre la fièvre infantile.

Le cataplasme de feuilles est utilisé en cas de migraines. Une décoction de feuilles est indiquée dans le traitement des douleurs gastro-intestinales (**Salhi et al., 2010**) ainsi que pour guérir des contusions et des blessures (**Djouahri et Boudarene, 2012**). Les feuilles en poudre associées au henné (*Lawsonia inermis* L.) sont appliquées en cataplasme, sur le cuir chevelu comme adoucissant et comme traitement antichute (**Lahsissene et al., 2009 ; Salhi et al., 2010**). En usage externe, les feuilles sont utilisées sur les blessures et sur la plaie ombilicale du nouveau-né, comme cicatrisant (**Bellakhda, 1997**).


# **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

## 2. Matériels

### 2.1. Matériel végétal

La préparation et la réalisation de toutes les manipulations pour l'obtention des résultats est effectuée au sein du Laboratoire pédagogique du Département des Sciences Biologiques de l'université de Relizane durant le mois de Février au mois de mai 2024.

Notre choix pour la matière végétale s'est porté sur « *Tétraclinis articulata* » de la famille des Cupracées. L'espèce sélectionnée a été récoltée en mois de Février à Zemoura (wilaya Relizane).

 **Situation géographique :** La wilaya de Relizane est une wilaya algérienne située au nord-ouest du pays. Elle est limitée par la wilaya de Mostaganem au Nord-est, au Sud-est par la wilaya de Tiaret, et au sud-ouest par la wilaya de Mascara. S'étend sur une superficie totale de 484.000 hectares elle est divisée en 13 daïras et 38 communes. Relizane étant le chef-lieu de la wilaya (Gourari, 2010).



**Photo 29:** Photo situation géographique de la wilaya Relizane. (www.google.com  
Le 27/04/2021)

#### Préparation des feuilles de *T.articulata*

Les feuilles récupérées sont débarrassées de leur poussière résiduelle et nettoyées avec de l'eau de robinet pour éliminer toute trace de terreau, puis mis à sécher à température ambiante dans un endroit aéré à l'ombre afin de mieux conserver les molécules sensibles.

Les feuilles totalement séchées sont initialement pilonnées pour être finement broyées à l'aide d'un mortier. Ce broyage a permis d'obtenir une poudre fine et homogène ce qui a pour

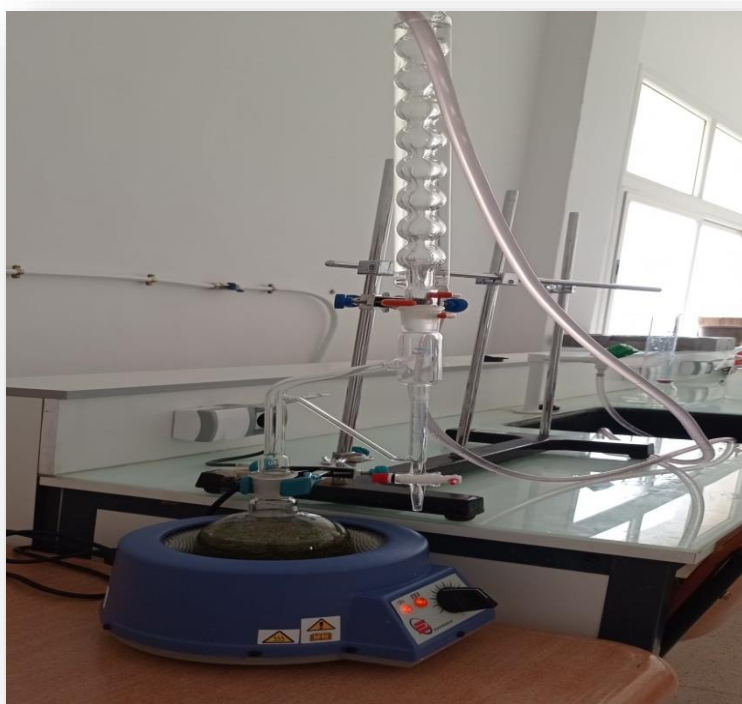
conséquence une augmentation de la surface de contact solvant-échantillon, permettant ainsi d'augmenter le rendement tout en minimisant le temps d'extraction.

### **2.2.Préparation de l'huile essentielle de *T.articulata***

Le matériel végétal séché a été soumis à une hydrodistillation à l'aide d'un dispositif d'extraction de type Clevenger (Fig.). Cette méthode utilise la vapeur d'eau pour transporter les huiles essentielles.

Pour cela, 30 g de masse végétale séchée ont été placés dans un grand ballon, auquel environ 400mL d'eau distillée ont été ajoutés. Le mélange a été porté à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle ont traversé un tube vertical puis un serpentin de refroidissement où la condensation a eu lieu.

Les gouttelettes d'huile ainsi formées se sont accumulées dans un tube préalablement rempli d'eau distillée. En raison de sa faible densité par rapport à l'eau, l'huile essentielle a flotté à la surface de celle-ci. L'opération d'extraction a duré trois heures..



**Extraction des huiles par Hydrodistillation (Appareil Clevenger)  
(Laboratoire Relizane)**

### 2.3.Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction, qui est exprimé en % et calculé par rapport au poids de la matière sèche de départ utilisée selon la formule suivante :

**Calcul du rendement**

$$\text{Rdt} = \frac{M_{HE}}{M_{vg}} \times 100$$

**Ou : Rdt : rendement en HE (en %)**

**M<sub>HE</sub>**: masse de l'huile essentielle

**M<sub>vg</sub>** :masse végétale sec

### 2.4.Analyses des HE de *T.articulata*

#### 2.4.1. Analyse qualitatif: Screening phytochimique

##### **Caractérisation des composés phénoliques**

La caractérisation des composés phénoliques est faite selon Konkon et al. (2006), à 1 ml de chaque extrait, quelques gouttes de solution alcoolique de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 2% sont ajoutées.

L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée indique la présence de polyphénols.

##### **Caractérisation des Tanins**


À 1 ml de chaque extrait est ajouté 1ml d'eau distillée et quelques gouttes d'une solution diluée de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 1% (**Karumi, 2004**).

L'apparition d'une couleur verdâtre ou bleu verdâtre indique la présence de tanins catéchiques et une coloration bleue noire révèle la présence de tanins galliques.

#### 2.4.2. Analyses quantitatives des extraits aqueux

##### 2.4.2.1.Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) (**Singleton et Rossi, 1965**) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et al. (2010). Le réactif FCR, est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de complexe des acides phosphotungstiques (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et des acides phosphomolybdiques (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>), en milieu alcalin il oxyde les phénols en ions phénolates, ce qui entraîne la formation d'un nouveau complexe constitué d'oxyde bleu de tungstène (W<sub>8</sub>O<sub>23</sub>) et de molybdène (Mo<sub>8</sub>O<sub>23</sub>). La coloration bleue produite est proportionnelle à la quantité des polyphénols et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

 **Protocole:** La technique est réalisée selon le protocole suivant :

0,1 mL d'extrait est mélangé avec 0,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu (1:10 v/v, H<sub>2</sub>O). Le mélange est agité à l'aide d'un vortex puis incubé pendant 5 min à l'obscurité et à température ambiante; ensuite, 1,5 mL de la solution aqueuse de carbonate de sodium anhydre (2% p/v) sont ajoutés puis agités; après l'incubation de mélange pendant une heure, l'absorbance est mesurée à 765 nm. Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec lyophilisé (mg EAG/g d'extrait), calculées à partir d'une droite (équation de régression linéaire:  $y = 80.466 x - 0,0151$ ;  $R^2 = 0,9987$ ) préparée à l'aide de différentes concentrations d'acide gallique (0,02 ; 0,04 ; 0,06 ; 0,08 et 0,1 mg/mL, H<sub>2</sub>O). Cette courbe est réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons étudiés. Les dosages sont effectués en triplicata

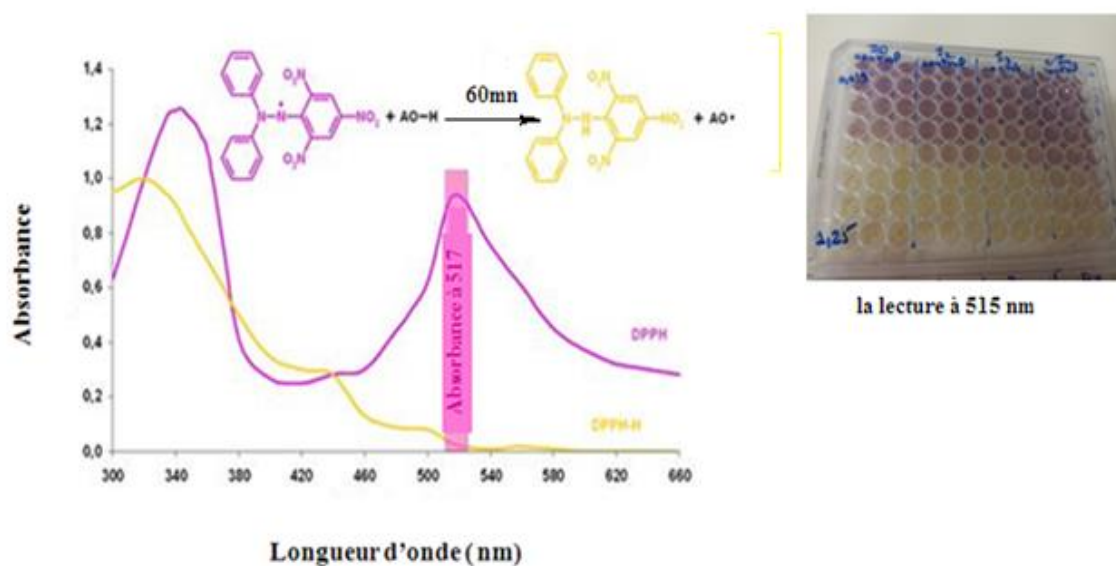
### 2.5. Activités antioxydantes

Afin d'évaluer la capacité antioxydante, de HE de *T.articulata* in vitro

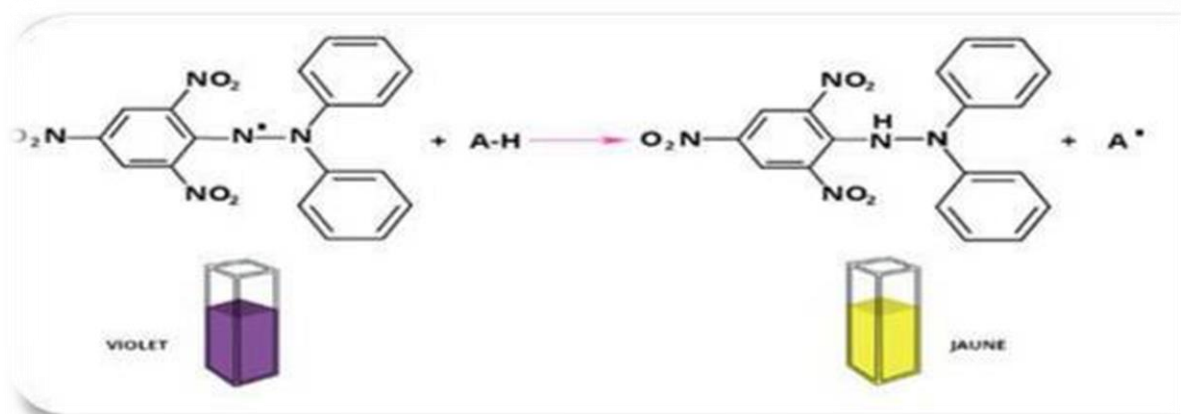
 Le piégeage du radical libre (DPPH)(2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

#### 2.5.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

**Principe :** L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie, par le dosage du DPPH (Blois ; 1958). Le test DDPH est largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante. Son principe se résume à la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée en solution dans le méthanol. Quand une solution de DDPH est mise en présence d'une substance antioxydante, il se transforme en une forme réduite (diphényle picryl-hydrazine) d'une couleur jaunâtre. Le virage vers cette coloration et de son intensité découle de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents (Miguel-Chavez, 2017).



**Figure 07:** Réaction entre le DPPH et un antioxydant AH. • (Boligon et al., 2014.)



**Figure 8:** Forme libre et réduite du DPPH (Drand-Williams et al., 1995)

**Protocole :** dans des cuves, est déposé un volume de 40 µl de différentes concentrations de chaque échantillon et 160 µl de la solution méthanolique de DDPH préalablement dissous comme suit : 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol gardé à -20°C à l'abri de la lumière. Après une période d'incubation de 30 minutes du mélange à l'obscurité et à température ambiante pour éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles, l'absorbance est mesurée à 517 nm.

Le BHT (Hydroxytoluènebutylé) est utilisé comme standards antioxydants. L'activité anti radicalaire des échantillons est exprimée en pourcentage d'inhibition du DPPH en utilisant la formule suivante (Khantouche et Abderabba 2018) :

$$\% \text{ d'inhibition DPPH} = \frac{A \text{ contrôle} - A \text{ extrait}}{A \text{ contrôle}} \times 100$$

A Contrôle est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

A Extrait est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait.

#### Protocole :

- ✚ Dans 07 tubes à essai, mettre (10µl .20 µl .30 µl .40 µl .60 µl .80 µl .100 µl) d'huile essentielle de *Tétracclinis articulata*.
- ✚ Ajouter les volumes (90ul .80ul .70ul .60ul .40ul .20ul .0 ul) de méthanol en ordre. Ensuite, ajouter un volume de 1ml de solution DPPH dans chaque cuvette: la solution méthanolique de DPPH préalablement dissous comme suit : 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol gardé à -20°C à l'abri de la lumière.

Après une période d'incubation de 30 minutes du mélange à l'obscurité et à température ambiante pour éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles, l'absorbance est mesurée à 517 nm.

L'activité anti radicalaire des échantillons est exprimée en pourcentage d'inhibition du DPPH en utilisant la formule suivante (Khantouche et Abderabba 2018) :

$$\% \text{ d'inhibition DPPH} = \frac{A \text{ contrôle} - A \text{ extrait}}{A \text{ contrôle}} \times 100$$

A Contrôle est l'absorbance de la réaction ne contenant que les réactifs.

A Extrait est l'absorbance de la réaction contenant les réactifs et l'extrait

### 2.6.Activité biologique

L'étude des activités biologiques des substances bioactives des plantes médicinales se trouve à la base des médecines dites alternatives, de nombreux procédés utilisés dans la conservation des produits alimentaires crus ou cuits, de substances actives exploitées dans les produits pharmaceutiques. La présente étude, s'intéresse particulièrement à l'activité antioxydant et antimicrobienne des extraits et huile essentielles de plante(*Tétracclinis articulata* ).



### 2.6.1. Activité antibactérienne

Notre étude a porté sur la souche bactérienne *Escherichia coli*

#### 2.6.1.1. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne de *T. articulata*

A l'aide d'une pipette Pasteur, quelques colonies des souches cibles, bien isolées ont été prélevées à partir d'une culture fraîche de 18 à 24 h sur milieu gélosé Mueller Hinton (MH).

+ Ces colonies ont ensuite été transférées dans de l'eau physiologique et homogénéisées à l'aide d'un vortex.

+ Cet inoculum sert à ensemercer par écouvillonnage des boîtes de Pétri stériles préalablement coulées par la gélose MH sur une épaisseur de 4 mm et séchées 30min à température ambiante avant emploi.

#### 2.6.1.2. Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de disque « Aromatogramme sur milieu solide »

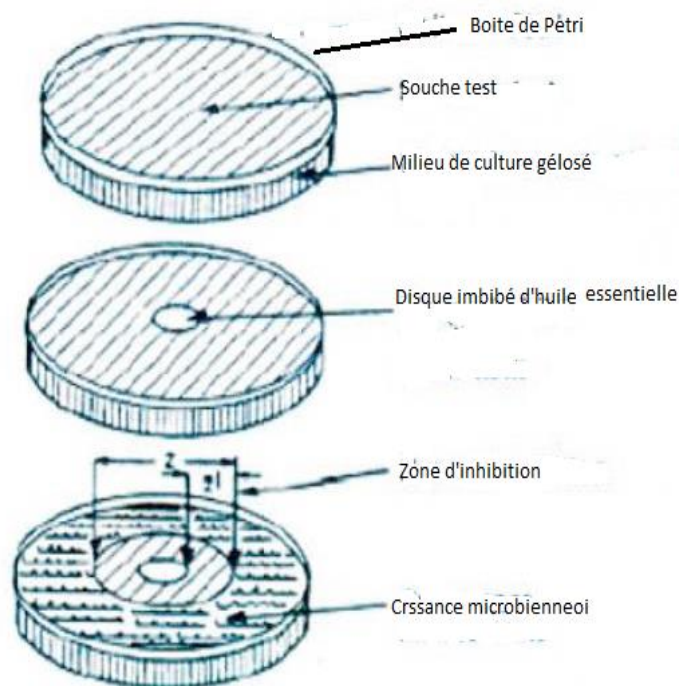
L'évaluation de l'activité antibactérienne de HE est réalisée par la méthode de diffusion sur milieu solide préconisée par Rasooli et Mirmostafa (2003), Abu-Darwish et *al.* (2012).

+ Des disques de papier Wattman N°1 de 6 mm de diamètre ont été préparés, stérilisés puis déposés à la surface des boîtesensemencées (un disque par boîte).

+ Les disques sont par la suite chargés avec 10 µl de HE.

+ Les boîtes sont laissées diffusées pendant 2 heures à 4°C, puis incubées à 37°C pendant 18-24h.

+ Les diamètres sont mesurés en mm.



**Figure 9:** Méthode de diffusion sur gélose solide

#### Expression des résultats

La lecture se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque en mm au moyen du marqueur. Les résultats sont exprimés en fonction du diamètre de la zone inhibitrice.

**Tableau 2 :** Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (Ponce *et al.*, 2003)

Sensibilité des souches bactériennes	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	Diamètre < 8mm
Sensible(+)	Diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 à 19 mm

### 3. Présentation des Résultats et analyses statistiques

Les résultats ont été représentés sous forme de moyennes avec leur écart-type (Moy  $\pm$  écart-type).

**RÉSULTATS ET**

**DISCUSSION**

### 3. Etude in vitro de l'HE de *T. articulata*

#### 3.1. Qualité et rendement moyen de l'huile essentielle isolée

l'huile essentielle isolée des feuilles de *T. articulata* est de couleur jaune très clair et d'odeur balsamique très forte. Le rendement moyen est calculé par rapport à la matière sèche ; est de 0,20 %, en comparaison avec les travaux Toumi et al.(2013) qui a trouvé que le rendement le plus important est celui d'Ouled Mimoun avec 0,78%, celui de la région d'El Haçaiba est de 0,75% et celui de Frenda de 0,35%. Des résultats comparables décrivant la variabilité des rendements sont présents dans la littérature, en particulier au Maroc. Ainsi, Barrero et al. (2005) ont-ils obtenu un rendement de 0,70% pour l'huile essentielle extraite de feuilles de la région de Tétouan (Maroc), Bourkhis et al. (2007) ont cité un rendement de 0,22% pour la région de Khmisset (Maroc).

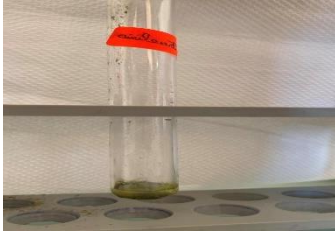

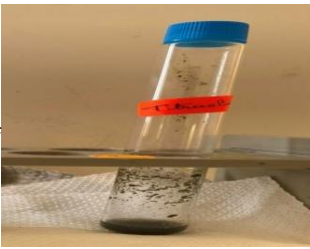
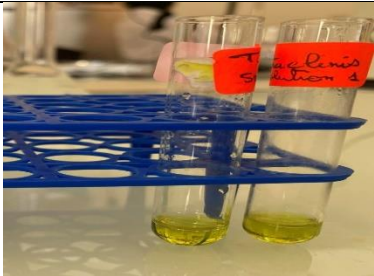

Plusieurs auteurs mentionnent la variabilité du rendement en huiles essentielles selon la localisation géographique, la saison, l'organe et l'espèce [14].

#### 3.2. Criblage chimique des métabolites secondaires

Le criblage phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des feuilles de *Tetraclinis articulata*. La détection de ces composés est basée sur des tests de coloration et de précipitation en solution. Les tests de précipitation mettent en évidence les tanins, tandis que les tests de coloration en solution révèlent d'autres groupes de métabolites secondaires, tels que les composés phénoliques. Les résultats de cette manipulation indiquent clairement une présence abondante de composés phénoliques, caractérisés par une réponse positive au test de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>).

La présence de groupes de substances chimiques dans les feuilles de *Tetraclinis articulata*, notamment les polyphénols et les tanins (Tableau 7), permet de la classer parmi les plantes médicinales antioxydantes. Ces résultats sont en accord avec ceux de Wachter et al. (1999), qui confirment par leurs études la richesse de ces feuilles en polyphénols, Djouahri et al. [30] ont montré que l'huile essentielle de feuilles de thuya était composée d' $\alpha$ -pinène (23,60 %), d'acétate de bornyle (24,40 %) et de camphre (18,30 %) comme principaux composés.

**Tableau 1:** Criblage chimique des métabolites secondaires de l'espèce *T.articulata*

Tanins	  
Polyphénols	 

Les résultats sont interprétés comme suit :

(+++) présence forte, (++) présence moyenne, (+) présence, (-) absence.

### 3.3. Analyse quantitative de l'HE de *T.articulata*

Afin de caractériser quantitativement l'HE de *T.articulata* préparée à partir des feuilles de, un dosage des polyphénols totaux, et des flavonoïdes a été effectué.

#### 3.3.1. Polyphénols totaux

La teneur des polyphénols a été obtenue à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec des concentrations croissantes en acide gallique. Elle est exprimée en mg d'acide gallique par gramme de l'huile de *Tétraclinis articulata*. Le résultat montre que la teneur en polyphénols totaux de notre échantillon est de l'ordre de  $378 \pm 34.20$  mg EAG/g d'extrait, El Jemli et al., 2016 a montré que La teneur totale en polyphénols dans l'E en utilisant la méthode de Folin Ciocalteu est  $175,67 \pm 10,21$   $\mu$ g EAG/mg de l'E de plante, La variabilité de ces résultats est fortement dépendante de la région de la croissance de l'espèce (aspect géographique) (Konieczynski *et al.*, 2016) mais également de la faible spécificité du réactif de « Folin-ciocalteu » qui est l'inconvénient principal de ce dosage colorimétrique (Roslan et al., 2019). Généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé de groupe hydroxyle présentent une activité antioxydante très importante (Fadili et al., 2017).

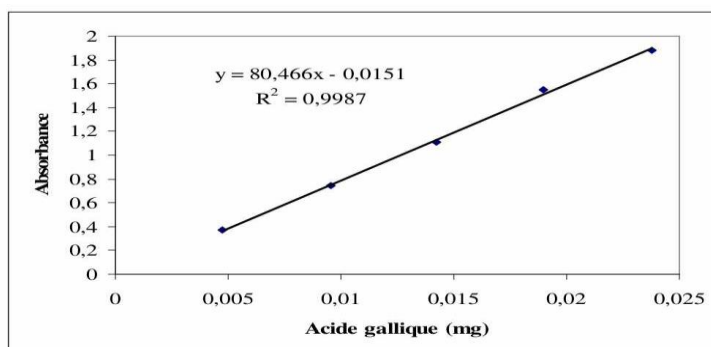


Figure 8 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique

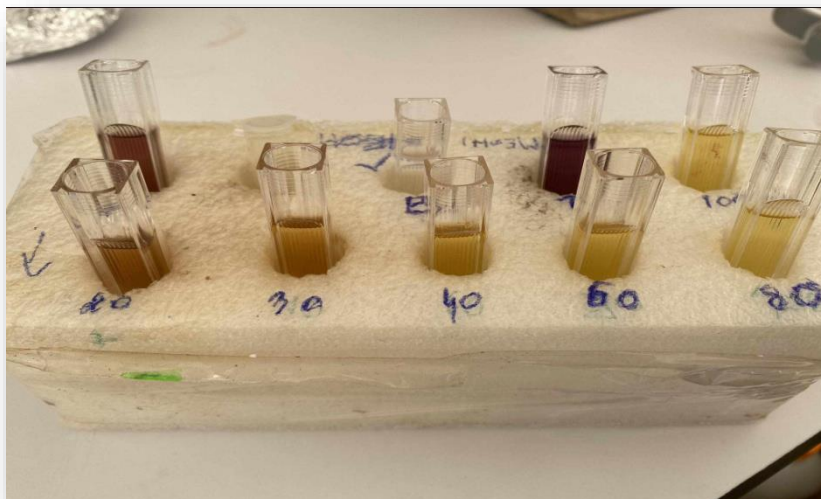
### 3.4. Evaluation de l'activité antioxydante

#### 3.4.1. Le piégeage du radical libre (DPPH)

Les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH sont exprimés en  $IC_{50}$ . Etant donné que l' $IC_{50}$  de notre extrait ( $0,09 \pm 0,21 \mu\text{g/mL}$ ) est significative par rapport aux standards (BHT) ( $6,82 \pm 0,49 \mu\text{g/mL}$ ) ceci signifierait qu'il a réduit de manière significative le DPPH, possède donc une bonne activité antioxydante, L' $IC_{50}$  de notre extrait était proche par rapport aux standards (BHT), ceci signifierait que notre extrait a réduit de manière significative le DPPH, et qu'il possède donc une bonne activité antioxydante. L' $IC_{50}$  est la concentration des antioxydants nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH (Awa et al., 2018)

La valeur d' $IC_{50}$  est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, plus cette valeur est faible plus l'activité antioxydante est élevée (Bouyahyaet al., 2017). En effet, plusieurs facteurs peuvent influencer sur les valeurs des  $IC_{50}$ , tels que le solvant utilisé, la concentration de la solution du DPPH et la durée d'incubation (Sharma et Baht, 2009).

Quant à l'huile essentielle, les extraits organiques de *T. articulata* étaient connus pour leur potentiel antioxydant. En effet, les extraits méthanoliques de *T. articulata* ont montré une activité élevée contre les radicaux libres DPPH et ABTS L'huile essentielle collectée à différents stades phénologiques avait une activité antioxydante significative prouvée par les tests DPPH et  $\beta$ -carotène



**Figure 9 :** l'activité antioxydant d'huile essentielle de *Tetraclinis articulata*

### 3.5.Activité antimicrobienne

Après interprétation des résultats, on remarque que le Diametre d'inhibition de *T. articulata* est de 8mm, donc *T. articulata* possède un degré d'inhibition limitée vis-à-vis de *E.coli*. *Tetraclinis articulata* a également été reconnu pour plusieurs activités biologiques intéressantes. En effet, Bourkhiss, Ouhssine, Hnach, Satrani et Farah ont démontré que son huile essentielle était efficace contre les deux bactéries *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus luteus*. En fait, cette huile essentielle extraite par micro-ondes a montré une activité antioxydante et anti-inflammatoire significative.. Cette huile essentielle a également montré une activité antibactérienne contre les souches bactériennes *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus enterica*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi qu'une activité antifongique contre les souches *Fusarium culmorum*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*. Les huiles essentielles de thuya ont montré une activité antifongique contre les souches phytopathogènes *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* et *Alternaria solani*

. Djouahri et al. ont montré que les extraits méthanoliques de *T. articulata* présentaient un fort pouvoir anti-inflammatoire et antibactérien contre les souches *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*. La fraction d'acétate d'éthyle de *T. articulata* a montré une activité anti-inflammatoire, une cytotoxicité contre les cellules tumorales, une activité antibactérienne et une activité antioxydante. Rguez et al. ont démontré que l'huile essentielle de *T. articulata*

appliquée en traitement préventif sur des plants de tomate en conditions de serre améliorait la croissance des plants et réduisait l'infection par *B. cinerea* à 17,72 % par rapport aux plants infectés et non traités à 52,11 %. L'huile essentielle appliquée à 100 µg mL<sup>-1</sup> sur les fruits de tomate réduisait l'infection causée par *B. cinerea* de 64,01 %.

En conséquence, la perturbation de la membrane cellulaire par les EOs peut affecter de nombreux processus biochimiques, la sécrétion de régulateurs de croissance, la synthèse de molécules structurales, et la manipulation des nutriments (Tariq et al. 2019).

**Tableau 03 :** sensibilité et degré d'activité selon le diamètre d'inhibition

Huile essentielle	Diamètre d'inhibition de croissance (mm)	Degré de sensibilité	Résultat
<i>T.articulata</i>	8 ± 0.5	Sensibilité limitée	+



**CONCLUSION ET**

---

**PERSPECTIVES**

---

Dans la première partie, nous avons caractérisé la composition chimique de l'HE de *T.articulata* afin d'avoir une connaissance plus approfondie des métabolites secondaires, particulièrement les composés phénoliques et nous avons évalué leurs potentiels biologiques à travers quelques activités choisies.

L'extraction de l'huile essentielle des desfeuilles de *T.articulata* été réalisée par hydrodistillation. Le rendement a été voisin de 0,24%

C'est une plante très utilisée dans la pharmacopée traditionnelle en Algérie pour traiter diverses pathologies comme les infections bactériennes et fongiques, le diabète, la tension artérielle, le rhumatisme, les allergies, les inflammations, les activités anticholinestérase, etc. Ces pathologies impliquent un processus infectieux, inflammatoire et/ou un stress oxydatif, d'où le choix des bioactivités testées.

Cet extrait a été évalué par criblage chimique Le criblage chimique préliminaire a mis en évidence de nombreuses substances à caractère polyphénolique: des flavonoïdes, des tanins et des acides phénoliques. L'huile de *Tétraclinis articulata* a montré une forte activité antioxydante, quant l'activité antibactérienne montre sensibilité moindre chez la souche *E. coli*.

La plante *T.articulata* est une plante à caractère biologique très prometteur dans le domaine de l'agroalimentaire, en cosmétique et en thérapie médicale.



## **REFERENCES**

## **BIBLIOGRAPHIQUES**

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- Al-Maqtari, T., & Al-Doaiss, A. A. (2020). Antioxidant, Antimicrobial and Wound Healing Potential of *Jatropha variegata*-An Interesting Plant Endemic to Yemen. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*, 23(12), 1581-1590.
- Aruoma, O. I. (1998). Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society*, 75(2), 199-212.
- Bajpai, V. K., Baek, K. H., & Kang, S. C. (2012). Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, 45(2), 722-734.
- Barrero A.F., M.M. Herrador, P. Arteaga, J. Quilez, M. Akssira, F. Mellouki & S. Akkad, 2005.- Chemical composition of the essential oil of leaves and wood of *Tetraclinis articulata* Vahl. *J. Ess. Oil. Res.*, 17 (1), 166-168.
- Basim, hüseyin., Yegen, O. K. T. A. Y., & Zeller, W. O. L. F. G. A. N. G. (2000). Antibacterial effect of essential oil of *Thymbra spicata* L. var. *spicata* on some plant pathogenic bacteria/ *Journal of Plant Diseases and Protection*, 279-284.
- Bhavaniramy, S., Vishnupriya, S., Al-Aboody, M. S., Vijayakumar, R., & Baskaran, D. (2019). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & oil science and technology*, 2(2), 49-55.
- Bourkhis M., M. Hnach, B. Bourkhis, M. Ouhssine & A. Chaouch, 2007.- Composition chimique et propriété antimicrobienne de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* Vahl du Maroc. *Afrique Sci.*, 3 (2), 232-242.
- Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2018). Les huiles essentielles comme agents anticancéreux: actualité sur le mode d'action. *Phytothérapie*, 16(5), 254.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), 173-183.
- Djouahri, A., & Boudarene, L. (2012). Antioxidant and anti-inflammatory activity of methanolic, chloroform and ethyl acetate extracts of leaves *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters Algerian.
- E.M. Abdallah, Plants: an alternative source for antimicrobials, *J. Appl. Pharmaceut. Sci.* (2011) 16–20

- El Asbahani, K. Miladi, W. Badri, M. Sala, E.H. Aït Addi, H. Casabianca, A. El Mousadik, D. Hartmann, A. Jilale, F.N.R. Renaud, A. Elaissari, Essential oils: From extraction to encapsulation, *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 483, Issues 1–2, 2015, Pages 220-243,
- El Hachlafi, N., Benkhaira, N., Al-Mijalli, S. H., Mrabti, H. N., Abdnim, R., Abdallah, E. M., ... & Fikri-Benbrahim, K. (2023). Phytochemical analysis and evaluation of antimicrobial, antioxidant, and antidiabetic activities of essential oils from Moroccan medicinal plants: *Mentha suaveolens*, *Lavandula stoechas*, and *Ammi visnaga*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 164, 114937.
- El Hachlafi, N., Fikri-Benbrahim, K., Al-Mijalli, S. H., Elbouzidi, A., Jeddi, M., Abdallah, E. M., ... & Chahdi, F. O. (2024). *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. essential oil as a promising source of bioactive compounds with antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory and dermatoprotective properties: In vitro and in silico evidence. *Heliyon*
- Farjon, A. (1998). *World checklist and bibliography of conifers* (pp. v+-298).
- Fouzia Benali Toumi, Mohamed Benyahia, Laid Hamel, Halima Mohamedi & Lynda Boudaghen (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
- Hadjadj-Aoul, S. (1995). *Les peuplements du thuya de Berbérie (Tetraclinis articulata, (Vahl) Masters) en Algérie: phytoécologie, syntaxonomie, potentialités sylvicoles* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 3).
- Harmouzi, A., CHLOUCHI, A., MUSTAPHI, N. E. H., EBICH, F., El Kamari, F., El Hamzaoui, N., ... & El Ammari, Y. Phytochemical Composition and Molluscicidal Properties of Polyphenols and Saponins Isolated from Various Organs of a Moroccan weed.
- Kačániová, M., Terentjeva, M., Vukovic, N., Puchalski, C., Roychoudhury, S., Kunová, S., ... & Ivanišová, E. (2017). The antioxidant and antimicrobial activity of essential oils against *Pseudomonas* spp. isolated from fish. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(8), 1108-1116.
- Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.

- Khorshidian, N., Yousefi, M., Khanniri, E., & Mortazavian, A. M. (2018). Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 45, 62-72.
- Konieczynski, P., Arceusz, A., & Wesolowski, M. (2016). Essential elements and their relations to phenolic compounds in infusions of medicinal plants acquired from different European regions. *Biological trace element research*, 170, 466-475.
- Konkon, N. G., Simaga, D., Adjoungova, A. L, N., Guessan K. E., Zirihi, C. N., Kone, B. D., 2006. Etude phytochimique de mitragynainermis (WILLD) O. KTZE (RUBIACEAE), plante à feuille antidiabetique. Pharm. Méd. Trad. Afr. Volume 14. p.p.: 73-80.
- Lahsissene, H., & Kahouadji, A. (2010). Traditional therapeutic practices involving the use of medicinal plants in the Zaër region of Western Morocco. *Phytothérapie*, 8, 210-217.
- Lamnauer, Driss et Batanouny, Kamal. 2005. A guide to medicinal plant in north africa. s.l. : IUCN , 2005.p 269.
- LETREUCH-BELAROUICI, N. (1995). Réflexion autour du développement forestier: les zones à potentiel de production. *Les objectifs. OPU Alger*.
- Maqsood, S., Benjakul, S., & Shahidi, F. (2013). Emerging role of phenolic compounds as natural food additives in fish and fish products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(2), 162-179.
- Mhirit, O., & Benchekroun, F. (2006). Les écosystèmes forestiers et périforestiers: situation, enjeux et perspectives pour 2025. *Contribution au Rapport sur le Développement Humain (RDH50) Maroc, GT8-7*, 397-483.
- Montassir, L., Berrebaan, I., Mellouki, F., Zkhiri, F., Boughribil, S., & Bessi, H. (2017). Acute toxicity and reprotoxicity of aqueous extract of a Moroccan plant (Tetraclinis articulata) on freshwater cladoceran Daphnia magna. *J. Mater. Environ. Sci*, 8, 770-776.
- N. Benkhaira, N. El Hachlafi, M. Jeddi, R. Abdnim, M. Bnouham, S.I. Koraichi, K. Fikri-Benbrahim, Unveiling the phytochemical profile, in vitro bioactivities evaluation, in silico molecular docking and ADMET study of essential oil from Clinopodium nepeta grown in Middle Atlas of Morocco, Biocatal. Agric. Biotechnol. (2023), 102923

- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451-1474.
- Omonijo, F. A., Ni, L., Gong, J., Wang, Q., Lahaye, L., & Yang, C. (2018). Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production. *Animal Nutrition*, 4(2), 126-136.
- Oswell, N. J., Thippareddi, H., & Pegg, R. B. (2018). Practical use of natural antioxidants in meat products in the US: A review. *Meat science*, 145, 469-479.
- Pateiro, M., Barba, F. J., Domínguez, R., Sant'Ana, A. S., Khaneghah, A. M., Gavahian, M., ... & Lorenzo, J. M. (2018). Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. *Food Research International*, 113, 156-166.
- Quézel P. & Médail F. 2003. Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. 573 pp. Elsevier, Paris.
- Rached, W., Zeghada, F. Z., Bennaceur, M., Barros, L., Calhelha, R. C., Heleno, S., ... & Ferreira, I. C. (2018). Phytochemical analysis and assessment of antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory and cytotoxic properties of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters leaves. *Industrial Crops and Products*, 112, 460-466.
- Ribeiro-Santos, R., Andrade, M., de Melo, N. R., & Sanches-Silva, A. (2017). Use of essential oils in active food packaging: Recent advances and future trends. *Trends in food science & technology*, 61, 132-140.
- Rodriguez-Garcia, I., Silva-Espinoza, B. A., Ortega-Ramirez, L. A., Leyva, J. M., Siddiqui, M. W., Cruz-Valenzuela, M. R., ... & Ayala-Zavala, J. F. (2016). Oregano essential oil as an antimicrobial and antioxidant additive in food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(10), 1717-1727.
- San Miguel-Chávez, R. (2017). Phenolic antioxidant capacity: A review of the state of the art. *Phenolic Compounds-Biological Activity*, 8, 54-79.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Tariq et al. (2019) Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., ... & Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial pathogenesis*, 134, 103580.

- Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.
- V.K. Joshi, R. Sharma, V. Kumar, Antimicrobial activity of essential oils: a Review, *Int. J. Food Ferment. Technol.* 1 (2011) 161–171.
- Zahir, I., Er-rahmany, A., Es-sadouny, R., & El Hadri, I. (2020). Activités biologiques de *Tetraclinis articulata*: revue de synthèse. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*.
- Zanetti, M., Carniel, T. K., Dalcanton, F., dos Anjos, R. S., Riella, H. G., de Araújo, P. H., ... & Fiori, M. A. (2018). Use of encapsulated natural compounds as antimicrobial additives in food packaging: A brief review. *Trends in Food Science & Technology*, 81, 51-60.
- Ziyyat, A., Legssyer, A., Mekhfi, H., Dassouli, A., Serhrouchni, M., & Benjelloun, W. (1997). Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco. *Journal of ethnopharmacology*, 58(1), 45-54.