



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCEM

MEMOIRE

Présenté à :

FACULTE DES SCIENCES – DEPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : Chimie des produits naturels

Par :

Mr MRABENT Mohammed Islem

Sur le thème

Extraction des huiles essentielles et des métabolites secondaires d'une plante et l'évaluation de leurs activités biologiques

Soutenu publiquement le 24 Juin 2025 à Tlemcen devant le jury composé de :

Mme KENICHE Assia	MCA	Université de Tlemcen	Présidente
Mme BENDIABDALLAH Amel	MCA	Université de Tlemcen	Encadrante
Mme LAZOUNI Imane	MCB	Université de Tlemcen	Examinatrice

Année Universitaire : 2024 ~ 2025

Remerciement

Ce travail est l'aboutissement d'une recherche réalisée au sein du laboratoire des substances naturelles et bioactives (LASNABIO) et du Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA) de l'Université Abou Bekr BELKAID de Tlemcen. Je profite de cette occasion pour exprimer ma respectueuse gratitude à Madame **KENICHE Assia**, Directrice du laboratoire Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses « COSNA », pour m'avoir accueilli au sein de leurs laboratoires. Un grand merci également à Monsieur **SELLES Chaouiki**, Directeur du laboratoire des substances naturelles et bioactives « LASNABIO ».

Je tiens tout particulièrement à remercier mon encadrante, **Madame BENDIABDELLAH Amel, MCA** à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant la direction de mon travail. Sa disponibilité, son aide constante, ses précieux conseils et ses connaissances scientifiques m'ont permis d'avancer dans mes recherches. Je la remercie également pour ses grandes qualités humaines et son soutien moral tout au long de mon travail. Cela a été un privilège pour moi de travailler sous sa direction.

J'exprime ma gratitude à **Madame KENICHE Assia** pour avoir accepté la présidence du jury. Ma reconnaissance va également à **Madame LAZOUNI Imane** pour avoir accepté d'examiner ce manuscrit et de participer à mon jury de soutenance.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à la doctorante **KALACHE Chaimaa** pour son soutien inestimable, ses conseils éclairés et sa constante disponibilité tout au long de mon travail au laboratoire. Mes sincères remerciements vont également à la doctorante **FELLAHI Manel** pour sa contribution précieuse à la réalisation des travaux sur l'activité anti-inflammatoire.

Enfin, j'adresse ma reconnaissance à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réussite de ce travail.

Dédicaces

Je remercie du fond du cœur mes parents, Mrabet Djamel et Kherbouche Afafe. Que Dieu les protège. Leur amour et leur soutien m'ont beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail.

Je n'oublie pas mes frères et sœurs :

Imene, Karim, Hasna, Ines et Kheireddine, pour leur présence et leurs encouragements.

Un grand merci aussi à mes amis :

Imrane, Brahim et Marouane, qui ont été à mes côtés dans les moments heureux comme dans les plus difficiles.

Sans votre soutien moral et votre amitié, rien de tout cela n'aurait été possible

Sommaire

Remerciement.....	II
Dédicaces.....	III
Liste des figures.....	VI
Liste des tableaux.....	VII
Liste des abréviations.....	VIII
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : Description Botanique et chimique de la plante	
I. La famille des Cupressacées.....	4
II. Présentation de l'espèce <i>Tetraclinis articulata</i>	4
II.1. Le genre <i>Tetraclinis</i>	4
II.2. Classification de l'espèce <i>Tetraclinis articulatas</i>	4
II.3. Description de la plante.....	5
II.4. Origine et habitat.....	6
II.5. Utilisation en médecine traditionnelle.....	6
II.6. Toxicité de la plante.....	7
II.7. Les Principes actifs responsables de l'activité et de la toxicité.....	7
II.8. Propriétés pharmacologique trouvés dans les <i>Tetraclinis articulata</i>	8
II.9. Etude antérieur sur la composition chimique des huiles essentielles de <i>Tetraclinis articulata</i> de quelques pays.....	9
1. L'huile essentielles de <i>Tetraclinis articulata</i> d'Algerie (région de Tlemcen).....	9
2. L'huile essentielles de <i>Tetraclinis articulata</i> du Maroc.....	9
3. L'huile essentielles de <i>Tetraclinis articulata</i> de l'Egypte.....	10
4. L'huile essentielles de <i>Tetraclinis articulata</i> de Tunisie.....	10
III. Les huiles essentielles.....	11
III.1. Généralités sur les huiles essentielles.....	11
III.2. Principaux domaines d'applications des huiles essentielles.....	11
IV. Techniques d'extractions des huiles essentielles.....	12
IV.1. Hydrodistillation de type Clevenger.....	12
V. Méthode d'analyse des huiles essentielles.....	13
V.1. Analyse par CPG.....	13
V.2. Couplage CPG/spectrométrie de masse « SM ».....	13
CHAPITRE II : Matériel et méthodes	
I. Provenance et identification de la plante.....	15
II. Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	15
III. Extraction de l'hydrolat.....	16
IV. Préparation des extraits aqueux et éthanolique de <i>Tetraclinis articulata</i>	16
V. Détermination des rendements en huiles essentielles et des extraits.....	17
VI. Tests phytochimiques.....	17
VII. Evaluation de l'activité antioxydante.....	19
VII.1. Piégeage du radicale libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).....	19
VII.2. Méthode de la réduction du fer (FRAP).....	20
VIII. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	21

VIII.1 Méthode de dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf	21
CHAPITRE II Résultats et discussion	
1-Partie chimique.....	24
I. Lieu de récolte et rendement	24
II. Extraction des extraits ethanologiques et aqueux des feuilles de Tetraclinis articulata	26
III. Résultats des tests phytochimique.....	26
Résultats et discussion : 2-Partie biologique	29
I. Evaluation de l'activité antioxydante	29
I.1 Test de piégeage du radical libre DPPH	29
I.2 Méthode de réduction des ions ferriques FRAP	33
II. Etude de l'activité anti-inflammatoire	35
Conclusion	41
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	43

Liste des figures

Figure 1: aspect generale de t. articulata.....	6
Figure 2: feuille de t.articulata	6
Figure 3: cones de t. articulata.....	6
Figure 4: ecorce de t. articulata.....	6
Figure 5:limonene.....	10
Figure 6:alpha pinene	10
Figure 7:camphre	10
Figure 8:bornyl acetate	10
Figure 9:montage d'hydrodistillation.....	12
Figure 10:montage d'hydrodistillation de type clevenger.	15
Figure 11:montage d'un extracteur de soxhlet	17
Figure 12:spectrophotometre et resultat du changement de couleur des echantillons.....	21
Figure 13:lieu de recolte de tetraclinis articulata.....	24
Figure 14:rendements des huiles essentielles du tetraclinis articulata de lalla seti	25
Figure 15:rendements des huiles essentielles du tetraclinis articulata de ghazaouat.....	25
Figure 16:rendement des extraits aqueux et ethanoliqes des feuilles de tetraclinis articulata	26
Figure 17: les resultats observes de quelques tests phytochimiques.....	27
Figure 18:variation de l'intensite de la couleur du dpph en fonction de la concentration.....	29
Figure 19:la valeur ci50(mg/ml) de l'huile essentielle des feuilles de tetraclinis articulata et de l'acide ascorbique par la methode dpph.....	32
Figure 20:la valeur ci50(mg/ml) des extraits ethanolique et aqueux des feuilles ainsi que l'extrait d'hydrolat des feuilles de tetraclinis articulata et de l'acide ascorbique par la methode dpph.....	33
Figure 21:les resultats de l'activite antioxydante des extraits (ethanolique ,aqueux et de l'hydrolat) par la methode de frap	34
Figure 22:les resultats de l'activite antioxydante de l'huile essentielle de tetraclinis articulata par la methode de frap.....	35
Figure 23:variation de l'intensite de la couleur de l'albumine de blanc d'œuf en fonction de la concentration	36
Figure 24:les valeurs de ci50 des extraits aqueux ,ethanoliqes et l'huile essentielle des feuilles de tetraclinis articulata par la methode de denaturation de l'albumine de blanc d'œuf	39

Liste des tableaux

Tableau 1: resultats des tests phytochimiques realises sur les extraits ethanoliques des feuilles de tetraclinis articulata obtenus par soxhlet.	27
Tableau 2: resultats des tests phytochimiques realises sur les extraits aqueux des feuilles de tetraclinis articulata prepares par decoction.	28

Liste des abréviations

- **CPG** : Chromatographie en phase gazeuse.
- **CG/MS** : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
- **HE** : Huile essentielle.
- **DPPH**: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle.
- **FRAP**: **F**erric **R**educing **A**bility of **P**lasma
- **CI50**: concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres
- **PI**: **P**ourcentage d'**i**nhibition
- **A.A** : Acide Ascorbique.
- **Mm** : Millimètre.
- **μL** : Symbole du microlitre, unité de mesure de volume.
- **g** : Gramme.
- **μm** : Le micromètre
- **CMI** : Concentration minimale inhibitrice
- **T** : Témoin
- **T. Articulata** : *Tetraclinis Articulata*
- **Abs** : absorbance .

INTRODUCTION

Introduction

Depuis longtemps, les plantes aromatiques et médicinales jouent un rôle important en tant que traitements. Elles suscitent de l'intérêt tant sur le plan médical qu'économique. On les utilise dans plusieurs domaines, comme l'aromathérapie pour leurs bienfaits, ainsi qu'en cosmétique, parfumerie et agroalimentaire, en raison de leurs bonnes propriétés et de leurs effets antioxydants.

Dans les pays en développement, environ 80 % des gens utilisent encore des extraits de plantes comme remèdes naturels en raison de problèmes économiques. De plus, l'utilisation excessive de médicaments modernes a entraîné la résistance de certaines bactéries aux antibiotiques, réduisant ainsi le nombre d'antibiotiques disponibles pour traiter les infections [1]. Par conséquent, l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques comme sources potentielles de nouveaux traitements reste essentielle dans les systèmes de santé traditionnels [2].

La richesse floristique de l'Algérie représente une valeur précieuse, grâce à sa biodiversité et aux nombreuses possibilités de développement durable qu'elle offre pour l'avenir. Les composés présents dans les plantes peuvent servir de base pour créer de nouveaux médicaments [3], [4]. Ces dernières années, l'intérêt pour les molécules naturelles ayant des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, notamment dans les extraits aromatiques et les huiles essentielles, a augmenté. Ces huiles sont extraites des plantes par des méthodes comme la distillation à la vapeur, les procédés mécaniques ou la distillation sèche.

Dans ce contexte, nous avons étudié une plante de la famille des Cupressacées, le *Tetraclinis articulata*. Cette espèce, présente à l'Afrique du Nord et surtout dans l'Algérie, Maroc et Tunisie, est appréciée pour son bois solide et résistant, utilisé en ébénisterie et marqueterie. Elle joue également un rôle important dans la formation des paysages végétaux de la région [5].

Introduction

Objectif :

Cette étude vise principalement à valoriser le *Tetraclinis articulata* en Algérie, en mettant en avant la production de son huile essentielle, de ses extraits, ainsi que l'évaluation de ses propriétés biologiques.

Notre travail est structuré en trois principaux chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une revue bibliographique comprenant une description botanique de *Tetraclinis articulata* et un aperçu des recherches précédentes menées sur cette espèce. Il aborde également les différentes méthodes d'extraction des huiles essentielles, leurs principaux domaines d'utilisation, ainsi que les techniques d'analyse associées.

Le deuxième chapitre présente les matériaux et les méthodes utilisés. Il traite de l'extraction des huiles essentielles, des tests phytochimiques menés sur les extraits aqueux et éthanoliques de la plante, de l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits à l'aide de deux méthodes (le test DPPH et la réduction du fer), ainsi que de l'analyse de l'activité anti-inflammatoire.

Enfin, **le troisième chapitre** est dédié à la présentation et à la discussion des résultats issus des analyses chimiques et biologiques.

Le travail se termine par une conclusion générale qui résume les principales observations de cette recherche

CHAPITRE I

CHAPITRE I : Description Botanique et chimique de la plante

I. La famille des Cupressacées :

Les Cupressacées sont une grande famille de conifères appartenant aux Dicotylédones, regroupant environ 30 genres et plus de 140 espèces décrites. C'est l'une des familles les plus importantes parmi les Angiospermes.

Les Cupressacées peuvent être des arbres ou des arbustes, souvent à feuillage persistant. Dans la majorité des cas, ce sont des plantes xérophile, adaptées à des milieux secs et pauvres en nutriments. L'aspect de l'appareil végétatif varie considérablement d'une espèce à l'autre, mais cette famille se distingue par ses inflorescences caractéristiques, souvent en forme de cône. Les fruits sont généralement des akènes, souvent surmontés d'un pappus. Une des propriétés notables de cette famille est sa richesse en composés naturels divers [6],[7]. Notamment les terpénoïdes et les flavonoïdes. Plusieurs études ont montré leur utilisation en médecine traditionnelle et en phytothérapie [8].

II. Présentation de l'espèce *Tetraclinis articulata* :

II.1. Le genre *Tetraclinis* :

Tetraclinis est un genre monotypique qui ne comprend qu'une seule espèce : *Tetraclinis articulata*, également connue sous le nom de **thuya de Berbérie** ou thuya de l'Atlas. Ce conifère, appartenant à la famille des Cupressacées, se distingue par sa capacité à s'adapter à des environnements arides et méditerranéens, principalement en Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie) et dans des zones limitées du sud-est de l'Espagne et à Malte.

Tetraclinis articulata est un sujet d'étude important en raison de ses caractéristiques écologiques, biologiques et économiques. En tant qu'espèce endémique, elle joue un rôle essentiel dans son écosystème, tout en étant reconnue pour la durabilité de son bois, ce qui en fait une ressource précieuse dans divers domaines [8].

II.2. Classification de l'espèce *Tetraclinis articulatas*:

Le Thuya de Berbérie appartient à la famille des Cupressacées et au genre *Tetraclinis* qui ne comprend qu'une seule espèce *T. articulata*, selon [9]. Le Thuya de Berbérie appartient au :

Règne :	plantea
Embranchement :	Spermatophytes
Sous-embranchement :	Gymnospermes
Classe :	Pinopsida
Ordre :	Pinales
Famille :	Cupressaceae
Genre :	<i>Tetraclinis</i>
Espèce :	<i>Tetraclinis articulata</i>

Nom scientifique de l'espèce : *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters ; *Callitris quadrivalvis* Vent. ; *C. articulata*(Vahl) Link [10]; *Thuja articulata* (Vahl) [9]

Nom vernaculaire arabe : Aaraar , (عرعار بري) sandarus (سنضروس) , Aaraa berboush (شجرة الحياة) Shajrat el Hayat (بربوش) (عرعار)

Nom commun (France) : Thuya de Berbérie, Thuya articulé, Thuya d'Algérie, Sandarac [11]

Nom latin : de ce conifère est *Tetraclinis articulata* ou *Callitris articulata*. C'est pourquoi les forêts de thuyas de Berbérie s'appellent tétraclinaies [12].

II.3. Description de la plante :

Le thuya de Berbérie est un arbre toujours vert qui peut atteindre une hauteur comprise entre 6 et 8 m, bien qu'il soit capable de dépasser les 15 mètres [13].

Le thuya est un résineux au feuillage léger et persistant. À un stade juvénile, son port est pyramidale (Figure 1). Ses feuilles, plates et en forme d'écailles, sont disposées de manière opposée et imbriquée par deux (Figure 2), ceux des jeunes plantes sont en aiguilles bleutées, mesurant entre 1 et 2 cm, Les fleurs se regroupent à l'extrémité des rameaux courts. Le fruit (Figure 3), un cône cubique qui s'ouvre par quatre valves sous l'effet de la chaleur, libérant ainsi six graines ailées [14] [15]. Le tronc (Figure 4) est droit, les rameaux sont dressés et minces.



Figure 1: Aspect générale de *T. Articulata*



Figure 2: Feuille de *T.articulata*



Figure 3: Cônes de *T. Articulata*



Figure 4: Ecorce de *T. Articulata*

II.4. Origine et habitat :

Le *Tetraclinis articulata* est principalement originaire des régions méditerranéennes, en particulier dans des zones comme le Maroc, l'Algérie et la Tunisie, et elle est également présente sur d'autres rivages méditerranéens [16]. Cet arbre s'adapte bien aux environnements arides et semi-arides, se développant souvent sur des sols sableux ou calcaires. On le trouve généralement dans des zones côtières, des collines et des forêts sèches, où il préfère les sols bien drainés [17]. Le *Tetraclinis articulata* est résistant à la sécheresse et tolère des conditions difficiles, ce qui lui permet de prospérer dans des habitats variés, y compris les zones perturbées et les terrains cultivés [7].

II.5. Utilisation en médecine traditionnelle :

Le *Tetraclinis articulata* est largement valorisée pour ses vertus médicinales, notamment au sein des traditions méditerranéennes. Les extraits de cette plante sont souvent employés pour traiter divers troubles respiratoires tels que l'asthme et la bronchite, grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires [8].

En Algérie et Maroc , les communautés locales exploitent cette essence forestière dans le cadre de la médecine traditionnelle en raison de ses nombreux effets bénéfiques. Les différentes parties de l'arbre, en particulier les feuilles et les rameaux, sont réputées pour leurs propriétés sudorifiques, diurétiques et antirhumatismales. Elles sont également recommandées pour traiter les infections intestinales, les maladies respiratoires, le diabète et l'hypertension. Les feuilles sont souvent utilisées en compresses pour soigner les fièvres infantiles, mélangées avec du petit lait pour lutter contre les diarrhées aiguës, et appliquées en pansements sur les blessures pour favoriser la cicatrisation. En homéopathie, l'essence des jeunes ramules, récoltés au début de la floraison, est également utilisée [11].

Cette plante est également reconnue pour ses propriétés antiseptiques et trouve son utilisation dans le traitement des infections cutanées. D'un point de vue économique, le bois de *Tetraclinis articulata* est recherché pour sa robustesse et est couramment utilisé dans la fabrication de meubles et d'objets artisanaux, tandis que les résines extraites trouvent des applications en parfumerie et cosmétique [18].

II.6. Toxicité de la plante :

Le Tetraclinis articulata présente certaines toxicités, bien que celles-ci soient généralement moins marquées que chez d'autres espèces. Les feuilles et les huiles essentielles de cet arbre peuvent déclencher des réactions allergiques chez les individus sensibles, notamment des irritations cutanées. Compte tenu de la présence de divers composés chimiques, il est conseillé de manipuler la plante avec précaution [19]. Bien que les incidents d'intoxication chez les animaux soient rares, une ingestion excessive peut entraîner des effets indésirables, notamment des troubles gastro-intestinaux [20]. Les parties de la plante les plus susceptibles de provoquer des problèmes sont les feuilles et les résines. Par conséquent, il est essentiel de faire preuve de vigilance, en particulier dans les zones où la plante est fréquemment exploitée [21].

II.7. Les Principes actifs responsables de l'activité et de la toxicité :

Le thuya de barbarie est généralement considéré comme non toxique, bien que certaines recherches aient mis en évidence des risques potentiels liés à son utilisation. Parmi les composés actifs présents, on retrouve des terpènes tels que le limonène et l' α -pinène, qui peuvent induire des réactions allergiques et des sensibilisations chez certaines personnes

[19]. L'extrait aqueux brut des feuilles a démontré une absence de cytotoxicité sur les cellules hépatiques, avec une concentration inhibitrice médiane (CI 50) supérieure à 400 µg/mL, tandis que l'ellipticine, un agent cytotoxique, présente une CI 50 d'environ 3,2 µg/mL [22].

Néanmoins, un cas d'eczéma de contact a été observé après l'application de poudre issue des feuilles et des rameaux, suggérant que certains composants pourraient être irritants [23].

Dans le domaine de la pharmacopée, *Tetraclinis articulata* est examiné pour ses effets bénéfiques potentiels, mais il est essentiel d'évaluer la toxicité à long terme de ses extraits et de ses huiles essentielles afin de mieux appréhender les risques associés à une utilisation prolongée. De plus, des études écotoxicologiques sont toujours nécessaires pour évaluer leurs impacts [24].

II.8. Propriétés pharmacologiques trouvés dans les *Tetraclinis articulata*

- ***Activité antioxydante :***

Les extraits de *Tetraclinis articulata* contiennent des composés phénoliques et des flavonoïdes qui possèdent une forte activité antioxydante. Ces antioxydants jouent un rôle clé dans la protection contre le stress oxydatif et les maladies dégénératives. [25].

- ***Propriétés antimicrobiennes :***

Les huiles essentielles extraites des feuilles et du bois de *Tetraclinis articulata* montrent une activité antibactérienne et antifongique contre plusieurs souches pathogènes. Cela suggère un potentiel dans le développement d'antiseptiques naturels. [26]

- ***Effet anti-inflammatoire :***

Certaines études indiquent que des extraits de cette plante pourraient inhiber les médiateurs de l'inflammation, ce qui peut être bénéfique dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques. [27]

- ***Activité antidiabétique :***

Des recherches suggèrent que *Tetraclinis articulata* pourrait avoir un effet hypoglycémiant en régulant les niveaux de glucose sanguin. Cet effet est attribué à la présence de composés bioactifs qui influencent le métabolisme du glucose. [28]

- ***Propriétés hépatoprotectrices :***

Certains extraits de cette plante ont montré un effet protecteur sur le foie en réduisant

les dommages induits par des substances toxiques. [29].

- **Effet anti-cancéreux potentiel :**

Quelques études préliminaires suggèrent que les composés présents dans *Tetraclinis articulata* pourraient avoir des effets cytotoxiques sur certaines cellules cancéreuses. [29].

II.9. Etude antérieure sur la composition chimique des huiles essentielle de *Tetraclinis articulata* de quelques pays :

Nous nous sommes intéressés à l'étude comparative de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* de la région de Tlemcen avec celles provenant du Maroc, d'Égypte et de Tunisie. Ces travaux ont principalement porté sur les feuilles et les parties aériennes de la plante. Les résultats mettent en évidence une variabilité chimique importante selon l'origine géographique et les conditions d'extraction. Ces études décrivent la composition chimique de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation. Ainsi, nous pouvons regrouper les profils obtenus en fonction de la prépondérance de certains composés.

1. L'huile essentielles de *Tetraclinis articulata* d'Algerie (région de Tlemcen) :

L'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* de Tlemcen, est composée de 36 composants, représentant 97,5 % de sa composition totale. L'identification des composants a été réalisée par comparaison des indices de rétention sur colonnes apolaires et polaires, ainsi que par spectres de masse et RMN ¹³C.

Cette huile est dominée par des monoterpènes (85,7 %), en particulier des monoterpènes oxygénés (44,6 %), suivis des monoterpènes hydrocarbonés (41,1 %). Les sesquiterpènes sont présents en plus petites quantités (11,8 %). Les principaux composants incluent l' α -pinène (23,6 %), le bornyl acétate (20,7 %), le camphre (17,3 %) et le limonène (9,5 %), indiquant la richesse de cette plante en composés à activité biologique potentielle, notamment les monoterpènes connus pour leurs propriétés antimicrobiennes et anti-inflammatoires [30][31].

2. L'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* du Maroc :

L'huile essentielle des feuilles de *T. articulata* du Maroc a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse [32][33]. Les principaux composants identifiés étaient l'acétate de bornyle (30,74 %), l' α -pinène (23,54 %), le limonène (23,31 %) et le camphre (17,27 %). D'autres composés mineurs incluaient le bornéol (4,7 %), l' α -terpinol (0,4 %) et le germacrène-D (0,3 %), tandis que le trans-caryophyllène n'a pas été

déecté. Le profil est dominé par des monoterpènes oxygénés et hydrocarburés, ce qui confère à cette huile une forte activité biologique. [32][34].

3. L'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* de l'Égypte :

L'huile essentielle de la partie aérienne de *T. articulata* cultivée en Égypte présente une composition différente. L'étude d'Ibrahim et al. [35] rapporte comme constituants principaux : le camphre (21,23 %), le fenchol (13,85 %), l'acétate de bornyle (15,03 %), la fenchone (9,48 %) et l'acétate d'isobornyle (8,39 %).

Ces résultats témoignent d'un autre chimiotype où le camphre et les alcools terpéniques prédominent, au détriment du limonène et de l' α -pinène.

4. L'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* de Tunisie :

Enfin, une étude tunisienne portant sur les feuilles de *Tetraclinis articulata* a révélé une composition dominée par l' α -pinène (23,54 %), suivi du camphre (17,27 %), du limonène (5,98 %) et du bornéol (4,57 %), avec une très faible présence d'acétate de bornyle (0,12 %) [36][37]. Le germacrène-D et le trans-caryophyllène y étaient quasi absents, ce qui confirme une importante variabilité entre les huiles issues de régions différentes.

Il est intéressant de noter que certains composés tels que l'acétate de bornyle sont majeurs dans certaines huiles (Maroc) et presque absents ailleurs (Tunisie), ce qui suggère l'existence de différents chimiotypes selon les régions. Cette variabilité peut être attribuée aux différences de climat, de sol, ou aux parties de la plante utilisées pour l'extraction.

Ci-dessous quelques composés de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* :

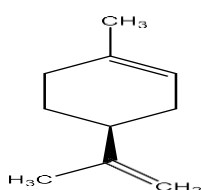


Figure 5: Limonène

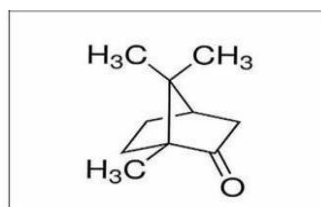


Figure 7: Camphre

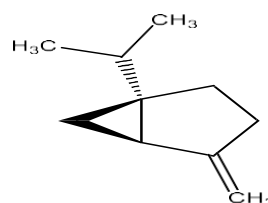


Figure 6: Alpha pinène

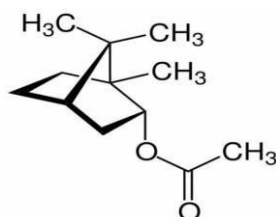


Figure 8: Bornyl acétate

III. Les huiles essentielles :

III .1. Généralités sur les huiles essentielles :

Les métabolites secondaires forment un ensemble de molécules non essentielles à la survie des plantes. Leur taille et leur masse sont généralement inférieures à celles des molécules du métabolisme primaire, telles que les glucides, les lipides et les acides aminés. Ces métabolites jouent un rôle crucial en générant des odeurs qui agissent à la fois comme répulsifs pour les prédateurs et comme attractifs pour les pollinisateurs, tout en aidant à capter le rayonnement solaire et à protéger la plante de ses effets nocifs.

Parmi les métabolites secondaires, on trouve les huiles essentielles, qui sont des mélanges volatils complexes issus de plantes ou d'arbres aromatiques. Ces huiles, obtenues par distillation, sont concentrées et hydrophobes, riches en principes actifs, bien que leur quantité soit faible par rapport à la masse totale de la plante.[38] Ces extraits se présentent sous forme liquide, mais, à la différence des huiles végétales, elles ne possèdent pas de texture grasse, car elles s'évaporent facilement.

III.2. Principaux domaines d'applications des huiles essentielles :

La composition chimique des huiles essentielles leur confère des propriétés remarquables, entraînant une expansion de leur utilisation dans divers secteurs industriels, notamment les industries cosmétiques et pharmaceutiques, ainsi que dans le domaine de la santé et en tant qu'insecticide naturel.

*En médecine : Plusieurs huiles essentielles ont montré des résultats cliniques prometteurs pour la désinfection de la pulpe dentaire et la prévention des caries. Elles sont également utilisées en massage en raison de leurs propriétés lipophiles, qui facilitent leur absorption par la peau. Ces mélanges complexes, composés d'alcools, de terpènes, de cétones et d'aldéhydes, sont couramment employés pour traiter diverses affections, y compris les infections bactériennes ou virales, ainsi que les troubles humoraux et nerveux. [39].

*En industrie alimentaire : Les huiles essentielles sont utilisées pour assurer une conservation saine et durable des produits alimentaires, tout en améliorant leurs qualités organoleptiques. Elles agissent également pour réduire la prolifération des micro-organismes, servant ainsi de conservateurs antioxydants et antimicrobiens dans les aliments [39]

Les épices et les herbes aromatiques, largement utilisées en cuisine [40], contribuent de manière significative au plaisir gastronomique [41]. Elles sont également classées comme condiments et aromates. [42].

*En agriculture : pour lutter contre les insectes et les nématodes par exemple [43].

*En cosmétique : des produits de beauté, articles de toilette et parfums, produit d'hygiène [40].

IV. Techniques d'extractions des huiles essentielles :

De nombreuses publications scientifiques examinent les avantages et les limites des techniques couramment utilisées pour extraire les composés volatils des plantes. Dans la production d'huiles essentielles, l'hydrodistillation et l'extraction à la vapeur sont les méthodes privilégiées. L'extraction à la vapeur est principalement utilisée dans l'industrie, tandis qu'à l'échelle de laboratoire, l'hydrodistillation est souvent réalisée à l'aide d'appareils de type Clevenger.

IV.1. Hydrodistillation de type Clevenger :

L'hydrodistillation de type Clevenger est une méthode d'extraction très ancienne, utilisant l'eau comme solvant [44]. L'obtention de l'huile essentielle à partir d'une plante se décompose en trois étapes : l'hydrodiffusion, la co-distillation et la coalescence. Un mélange d'eau et de plante est porté à ébullition, permettant aux substances odorantes (contenant l'extrait) de se vaporiser en se combinant avec la vapeur d'eau, ces vapeurs sont condensées pour obtenir un distillat qui se compose d'une phase aqueuse (légèrement parfumée), appelée hydrolat, et d'une phase organique contenant l'extrait très odorant, désignée sous le terme d'huile essentielle.

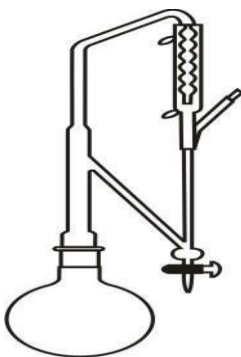


Figure 9:Montage d'hydrodistillation.

V. Méthode d'analyse des huiles essentielles

V.1. Analyse par CPG

Cette technique d'analyse, à la fois quantitative et qualitative, permet de déterminer le pourcentage relatif de chaque composant par rapport à l'ensemble des signaux du mélange analysé, tout en s'appuyant sur les temps de rétention pour l'identification des substances. [45].

V.2. Couplage CPG/spectrométrie de masse « SM »

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui allie les capacités de séparation de la chromatographie en phase gazeuse aux techniques de détection et d'identification de la spectrométrie de masse. Cette approche permet de déterminer les composés d'un échantillon en fonction de leur rapport masse/charge, offrant ainsi une analyse précise des différents constituants d'un mélange complexe. [46]

CHAPITRE II

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

I. Provenance et identification de la plante :

La plante de *Tetraclinis articulata* a été collectée au mois de janvier, février et mars 2025 dans deux endroits différents : la forêt de Lalla Seti de la wilaya de Tlemcen et la région de Ghazaouat .L'identification de cette dernière a été faite par le Professeur **Noury BENABADJI** du laboratoire d'écologie et gestion des écosystèmes naturels de l'Université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.

II. Procédés d'extraction des huiles essentielles :

Dans notre étude, nous avons utilisé la technique d'hydrodistillation de type Clevenger, qui est couramment employée pour produire des huiles essentielles. La matière végétale, coupée en petits morceaux, est placée dans un ballon de 6 litres avec suffisamment d'eau pour la submerger. Le réfrigérant est ensuite activé avec un débit d'eau ajusté.

Nous chauffons le mélange pour maintenir une ébullition douce pendant 5 à 6 heures. L'extraction commence dès que la première goutte apparaît dans le collecteur. Les substances odorantes se vaporisent avec la vapeur d'eau, puis se condensent, créant deux phases distinctes : une phase organique qui contient l'huile essentielle et une phase aqueuse représentant l'hydrolat. L'huile essentielle obtenue est ensuite recueillie et stockée dans des flacons en verre ambré, conservés au réfrigérateur à 4 °C.



Figure 10:Montage d'hydrodistillation de type Clevenger.

III. Extraction de l'hydrolat :

L'extrait d'hydrolat de *Tetraclinis articulata* a été obtenu en récupérant le premier litre d'eau de l'hydrodistillation, puis en faisant l'extraction trois fois avec 200 ml d'éther diéthylique. La phase organique a été évaporée dans un évaporateur rotatif (sans utilisation de chauffage), ce qui a donné une huile jaunâtre. Comme pour les huiles essentielles, l'extrait d'hydrolat est conservé dans un flacon en verre ambré à 4 °C jusqu'à son analyse.

IV. Préparation des extraits aqueux et éthanolique de *Tetraclinis articulata*:

L'extrait aqueux a été préparé par la Décoction et l'extrait éthanolique a été préparé par soxhlet

➤ *Décoction :*

On place 10 g de matière végétale dans un ballon avec 150 mL d'eau et quelques pierres ponce. Le ballon, équipé d'un réfrigérant, est chauffé sur un chauffe-ballon à ébullition constante pendant une heure. Après refroidissement, l'extrait est filtré, puis le solvant est évaporé.

➤ *Soxhlet:*

L'opération consiste à mettre dans un siphon de 100 mL une cartouche de papier filtre contenant 20 g de matière végétale finement coupée ou en poudre. L'extracteur est fixé sur un ballon contenant 300 mL d'éthanol. Le solvant est chauffé jusqu'à ébullition, et ses vapeurs passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et tombent dans le siphon, où elles macèrent la matière végétale.

Le solvant condensé s'accumule jusqu'à un niveau suffisant pour amorcer le siphon, puis retourne dans le ballon en entraînant les substances dissoutes. Ce processus est répété plusieurs fois. L'extrait obtenu est ensuite évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif [47].



Figure 11: Montage d'un extracteur de Soxhlet

V. Détermination des rendements en huiles essentielles et des extraits :

Le rendement correspond au rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite et la masse du matériel végétal utilisé. Il est exprimé en pourcentage (%) et se calcule à l'aide de la formule suivante :

$Rn\% = (m_n / m_n') \times 100$ Rn = rendement en huile essentielle en %.

m_n = masse d'huiles essentielles récupérées en gramme

(g). m_n' = masse de la matière végétale en gramme (g)

VI. Tests phytochimiques :

Les extraits éthanolique et aqueux obtenus ont été testés pour identifier les métabolites secondaires présents dans les cônes et les feuilles de *Tetraclinis articulata*. Ces analyses incluent des réactions de coloration, des précipitations et des observations sous lumière ultraviolette. Les tests ont été réalisés en utilisant des méthodes de caractérisation qualitative.

Les alcaloïdes :

Dans deux tubes à essai, on verse 0,5 mL de l'extrait à analyser. On acidifie ensuite avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl 1%). Dans le premier tube, on ajoute 0,5 mL de réactif de Mayer, et dans le second, 0,5 mL de réactif de Wagner. Si un précipité ou une turbidité apparaît, cela indique un résultat positif

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

.Réactif de Mayer:

Ce réactif est préparé en dissolvant 1,358 g de chlorure mercurique (HgCl_2) dans 60 mL d'eau, puis en dissolvant 5 g d'iodure de potassium (KI) dans 10 mL d'eau. Les deux solutions sont ensuite mélangées et le volume est complété à 100 mL. En présence d'alcaloïdes, un trouble et un précipité blanc se forment

1. *Réactif de Wagner:*

- On dissout 2 g de KI et 1,27 g de diiode (I_2) dans 75 mL d'eau, puis on ajoute cette solution à 100 mL d'eau. La formation d'un précipité brun indique la présence d'alcaloïde

- *Les composés polyphénoliques :*

- **Les flavonoïdes :**

Dans un tube à essai, introduire 1 mL d'extrait à analyser et ajouter 2 à 3 gouttes d'une solution aqueuse de FeCl_3 (1%). La présence des tanins est indiquée par une coloration verte ou bleu-noire.

- **Les tanins :**

Dans un tube à essai, on ajoute 1 mL de l'extrait puis 2 à 3 gouttes de chlorure ferrique (FeCl_3 à 1%). La présence de tanins est signalée par une coloration verte ou bleu-noir.

- **Les coumarines :** Fluorescence UV

Dans deux tubes, on met 1 mL d'extrait. L'un sert de témoin, et dans l'autre, on ajoute 0,1 mL d'hydroxyde d'ammonium ($\text{NH}_4 \text{OH}$ à 10%). On dépose une goutte de chaque sur un papier filtre et on observe sous lumière UV à 366 nm. Une fluorescence forte indique la présence de coumarines.

Les saponines : test de mousse

On introduit 10 mL de l'extrait dans un tube, puis on agite vigoureusement pendant 15 secondes. Après 15 minutes de repos, une mousse de plus de 1 cm indique la présence de saponines.

Amidon:

On traite 5 mL de l'extrait aqueux avec un réactif spécifique à l'amidon. Une coloration bleu-violet signale un test positif.

Réactif d'Amidon:

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

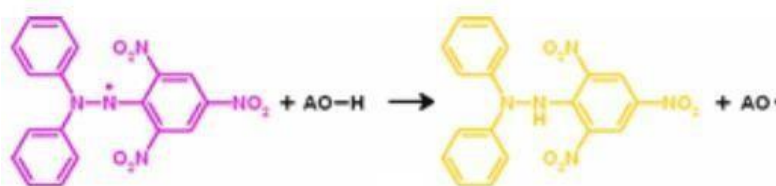
On dissout 1,2 g d'iode (I_2) et 2,5 g de KI dans 50 mL d'eau distillée, puis on chauffe 5 minutes. On complète ensuite le volume à 500 mL. Pour le test, on chauffe 5 mL de l'échantillon avec 10 mL d'une solution saturée de chlorure de sodium (NaCl) au bain-marie jusqu'à ébullition, puis on ajoute le réactif. L'apparition d'une couleur bleu-violette confirme la présence d'amidon.

VII. Evaluation de l'activité antioxydante :

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles et des Extraits des feuilles de *Tetraclinis articulata* a été évalué par deux méthodes : le piégeage du radical libre DPPH et la réduction du fer FRAP.

VII.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) :

L'activité antioxydante a été mesurée en utilisant le test DPPH. Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable qui absorbe dans le visible. Lorsqu'il est réduit par une substance capable de donner des protons, sa couleur violette intense devient jaune. L'intensité de cette décoloration est proportionnelle à la capacité des antioxydants à céder des protons.



Protocole :

La solution de DPPH a été préparée en dissolvant 0,006 mg de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) dans 100 mL de méthanol. Les échantillons (huile essentielle, hydrolat, huile fixe, etc.) ont été dissous dans le même solvant. À 1 mL de chaque extrait, préparé à différentes concentrations après des tests préliminaires, on ajoute 1 mL de la solution de DPPH.

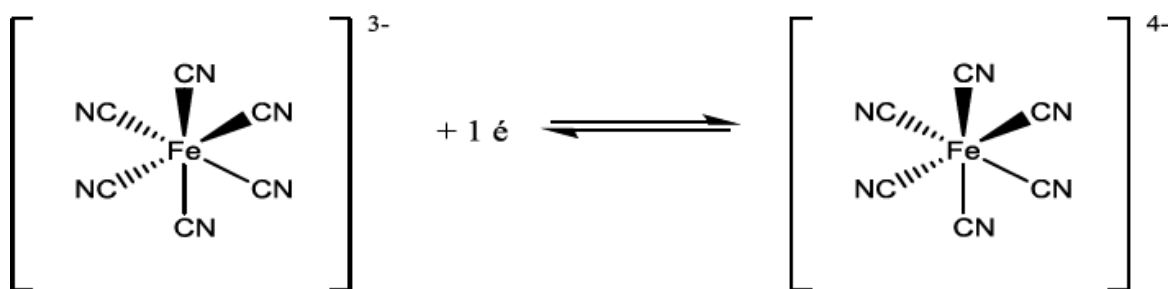
Le mélange est ensuite conservé au réfrigérateur, à l'abri de la lumière, pendant 30 minutes. Les absorbances sont mesurées à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV, avec un blanc composé de méthanol pur et un contrôle négatif contenant 1 mL de méthanol et 1 mL de DPPH. Le pourcentage d'inhibition de l'activité antiradicalaire est calculé selon la formule suivante : $AAR \% = \frac{[Abs\ contrôle - Abs\ échantillons]}{Abs\ contrôle} \times 100$

Dans les deux méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante (DPPH et FRAP), l'acide ascorbique a été utilisé comme standard de référence, dans les mêmes conditions

expérimentales.

La **CI₅₀** (concentration inhibitrice à 50 %) est définie comme la concentration d'un échantillon nécessaire pour inhiber 50 % du radical libre DPPH•. Elle est déterminée graphiquement par régression linéaire, en traçant les pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations croissantes des échantillons testés.

VII.2. Méthode de la réduction du fer (FRAP) :



L'activité réductrice des différents extraits a été mesurée en utilisant une méthode qui consiste à réduire les ions ferriques Fe^{3+} , jaunes, du complexe $\text{K}_3 \text{Fe}(\text{CN})_6$ en ions ferreux Fe^{2+} , bleus, grâce à un antioxydant. Ce changement de couleur est quantifié par spectrophotométrie à 700 nm [48].

Protocole :

Un millilitre d'extrait, à différentes concentrations, est mélangé avec 2,5 mL d'un tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3 \text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1 %. Le mélange est incubé au bain-marie à 50 °C pendant 20 minutes. Ensuite, on ajoute 2,5 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % pour arrêter la réaction.

Les tubes sont centrifugés à 3000 tours par minute pendant 10 minutes. On prélève alors 2,5 mL du surnageant, que l'on mélange avec 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution fraîche de FeCl_3 à 0,1 %. L'absorbance est mesurée à 700 nm avec un spectrophotomètre UV-VIS, en utilisant un échantillon de contrôle préparé sans extrait. Un contrôle positif avec de l'acide ascorbique (antioxydant de référence) est également analysé dans les mêmes conditions. Une augmentation de l'absorbance indique un pouvoir réducteur accru de l'échantillon testé.



Figure 12: Spectrophotomètre et résultat du changement de couleur des échantillons.

VIII. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

Le pouvoir anti-inflammatoire des huiles essentielles et des extraits a été effectué par la méthode in vitro de dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf

VIII.1 Méthode de dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf :

La méthode de stabilisation de la dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf est couramment utilisée pour évaluer l'activité anti-inflammatoire de divers composés. Dans ce test, l'albumine d'œuf sert de protéine modèle. Sa dénaturation est induite par des conditions extrêmes, comme une température élevée, un pH extrême ou l'ajout d'agents dénaturants.

Lorsque la dénaturation se produit, la structure native de l'albumine est altérée, ce qui entraîne une modification de ses propriétés physiques. L'efficacité anti-inflammatoire des extraits testés peut alors être estimée par leur capacité à empêcher ou limiter cette dénaturation.

Protocole : Une solution de 2,5 mL a été préparée en mélangeant 0,1 mL d'albumine de blanc d'œuf, 1,4 mL de tampon phosphate salin (PBS, pH 6,4) et 1 mL d'extrait aux concentrations de 1, 10, 100 et 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Le diclofénac sodique a été utilisé comme anti-inflammatoire de référence à des concentrations de 50, 100 et 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Un témoin négatif a été constitué en remplaçant l'extrait par un volume double d'eau distillée. L'ensemble des mélanges a été incubé à 37 ± 2 °C pendant 15 minutes, puis soumis à une chaleur de 70 °C pendant 5 minutes. Après refroidissement, les absorbances ont été mesurées à 660 nm [49].

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

Le pourcentage d'inhibition de l'activité anti-inflammatoire est calculé selon la formule suivante :

$$\text{AAR \%} = [\text{Abs échantillons} / \text{Abs contrôle}] - 1 \times 100$$

Dans la méthodes d'évaluation de l'activité anti-inflammatoire (**Méthode de dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf**) ,Le diclofénac sodique a été utilisé comme standard de référence, dans les mêmes conditions expérimentales.

La CI₅₀ (concentration inhibitrice à 50 %) correspond à la concentration d'un extrait nécessaire pour inhiber 50 % de la dénaturation thermique de l'albumine. Elle permet d'évaluer l'efficacité anti-inflammatoire d'un échantillon. Cette valeur est déterminée par régression linéaire, en traçant le pourcentage d'inhibition de la dénaturation en fonction des différentes concentrations testées de l'extrait ou du composé de référence.

CHAPITRE II

Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion :

1-Partie chimique.

I. Lieu de récolte et rendement :

L'huile essentielle a été obtenue par hydro distillation dans un appareil de type Clevenger durant 5 heures. La plante de *Tetraclinis articulata* a été collectée au mois de janvier, février et mars 2025 dans deux endroits différents : le foret de Lalla Seti de la wilaya de Tlemcen et la région de Ghazaouat

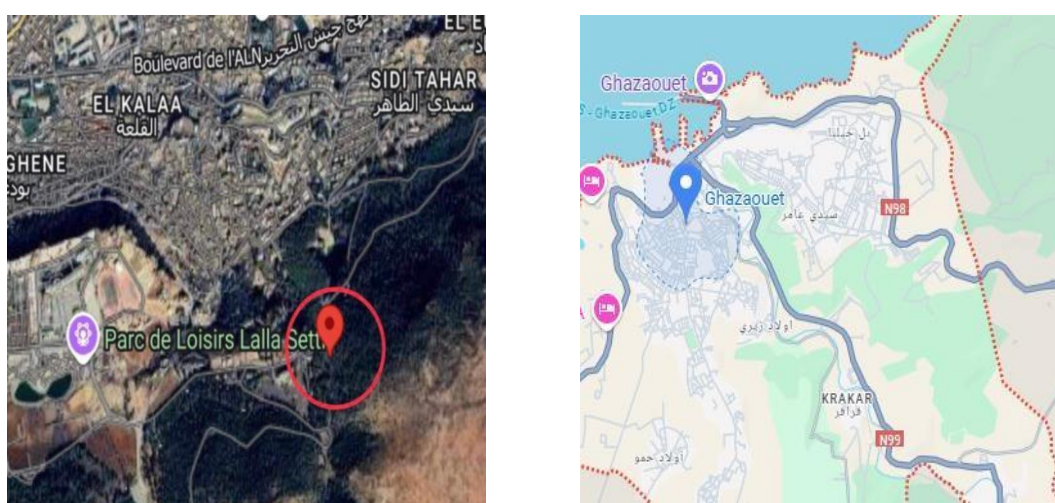


Figure 13: lieu de récolte de *Tetraclinis articulata*

Les huiles essentielles extraites de tous les organes (partie aérienne, tiges, feuilles, cônes) présentent une couleur jaune pâle. Les rendements, calculés par rapport à la matière végétale sèche, sont illustrés dans les figures 14 et 15.

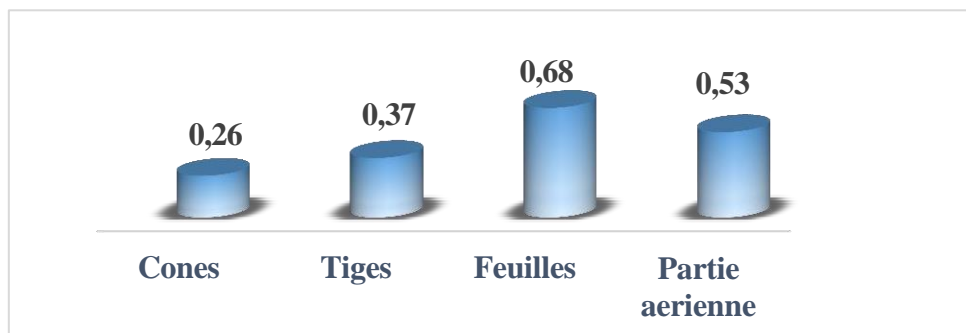


Figure 14: Rendements des huiles essentielles du *Tetraclinis articulata* de LALLA SETI

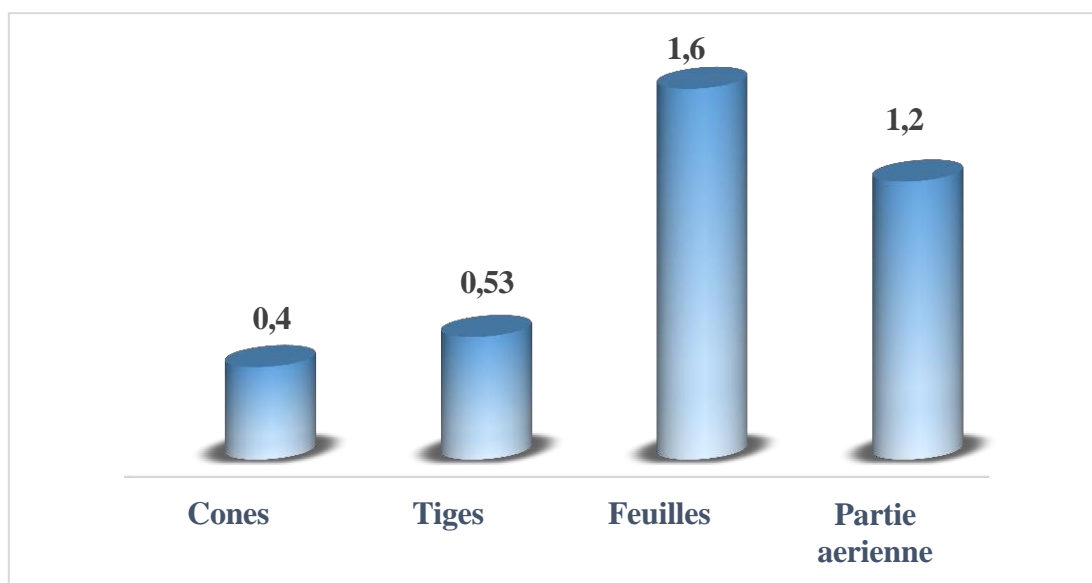


Figure 15: Rendements des huiles essentielles du *Tetraclinis articulata* de GHAZAOUAT

D'après les résultats trouvés, les rendements en huile essentielle de *Tetraclinis articulata* varient selon la région de récolte.

L'huile essentielle provenant de Ghazaouat a un rendement supérieur à celle de Lalla Setti. De plus, le rendement diffère selon l'organe de la plante : les feuilles offrent le meilleur rendement (0,68 % à Lalla Setti et 1,6 % à Ghazaouat), suivies de la partie aérienne, des tiges, et enfin des cônes, qui présentent le rendement le plus faible (0,26 % à Lalla Setti et 0,4 % à Ghazaouat). Ces variations peuvent être liées aux conditions de sol, de climat et d'altitude des deux régions.

Par ailleurs, la présence de différents composés suggère l'existence de chimiotypes variés

Chapitre III : Résultats et discussion

selon les régions, ce qui pourrait être influencé par les différences environnementales et les parties de la plante utilisées pour l'extraction.

II. Extraction des extraits ethanologiques et aqueux des feuilles de *Tetraclinis articulata* :

Calcul du rendement :

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse des extraits secs et la matière végétale que nous avons utilisé.

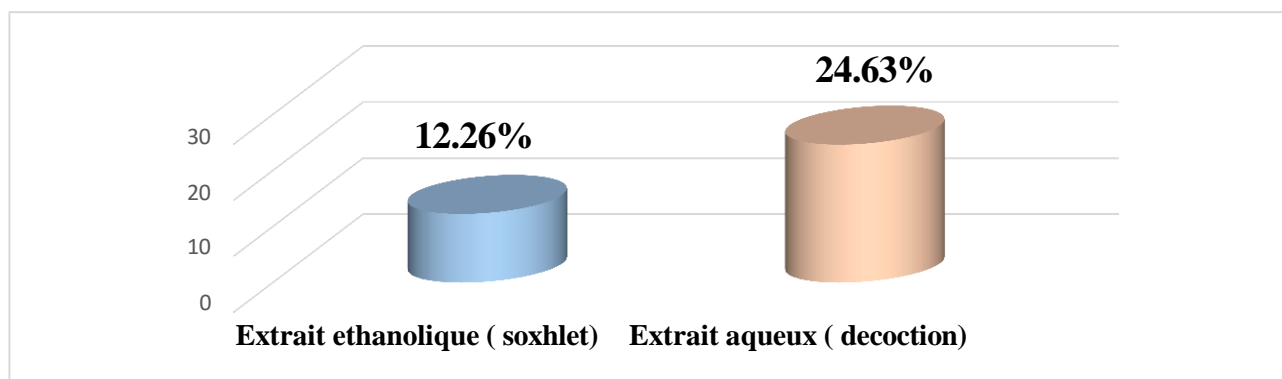


Figure 16:Rendement des extraits aqueux et ethanologiques des feuilles de *Tetraclinis articulata*

D'après les résultats que nous avons trouvés ; on peut dire que le rendement de l'extraits aqueux est supérieur à celui de l'extrait éthanologique avec des rendements de 24,63% et 12,26 % respectivement.

III. Résultats des tests phytochimiques :

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les extraits de *Tetraclinis articulata* sont présentés dans les tableaux 1 et 2. Pour la préparation des extraits, l'eau a été utilisée comme solvant pour la décoction, tandis que l'éthanol a servi pour l'extraction par Soxhlet.

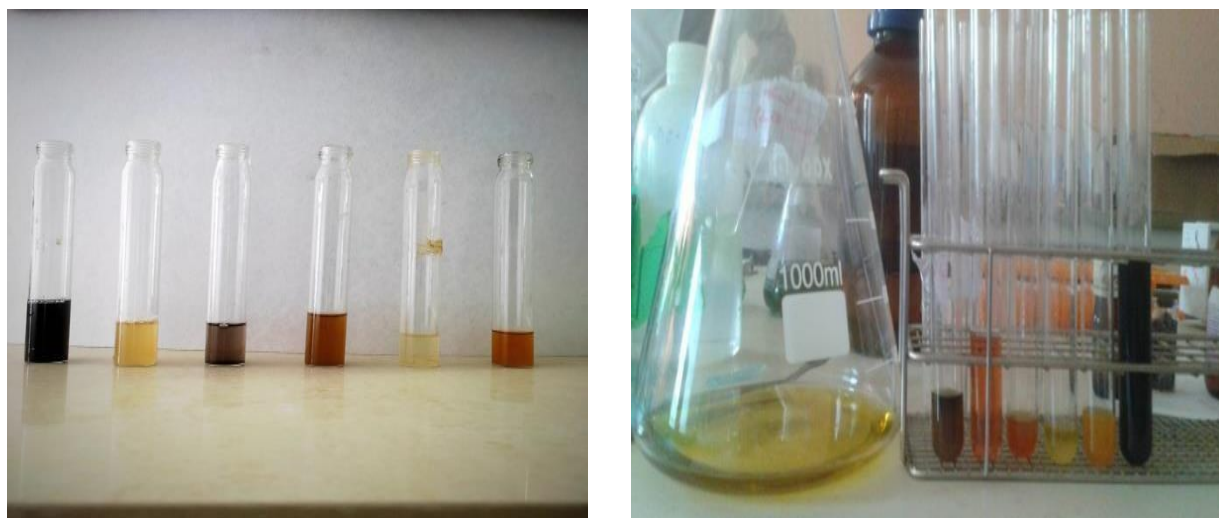


Figure 17: Les résultats observés de quelques tests phytochimiques

Tableau 1: Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits éthanoliques des feuilles de *Tetraclinis articulata* obtenus par soxhlet.

Tests phytochimiques		Les résultats des extraits éthanoliques des feuilles
Métabolites secondaires	Réactifs	Soxhlet
Tanins	FeCl ₃ 1%	+
Flavonoïdes	Hcl+mg ²⁺	+
Saponines	Test de mousse	-
Alcaloïdes	Mayer	+
	Wagner	+
Amidon	KI + I ₂	-
Hétérosides	Acide sulfurique + chloroforme	+

+ : positif ; - : Négatif

Les tests phytochimiques effectués sur l'**extrait éthanolique** des feuilles de *Tetraclinis articulata* obtenus par soxhlet (Tableau 1) ont révélé la présence des flavonoïdes, des

Chapitre III : Résultats et discussion

tanins, des hétérosides, des alcaloïdes et des saponines, tandis que l'amidon est absent.

Tableau 2: Résultats des tests phytochimiques réalisés sur les extraits aqueux des feuilles de *Tetraclinis articulata* préparés par décoction.

Tests phytochimiques		Les résultats des extraits aqueux des feuilles
Métabolites secondaires	Réactifs	Décoction
Tanins	FeCl ₃ 1%	+
Flavonoïdes	HCl+mg ²⁺	+
Saponines	Test de mousse	-
Alcaloïdes	Mayer	+
	Wagner	+
Amidon	KI + I ₂	-
Hétérosides	Acide sulfurique + chloroforme	+

+ : positif ; - : Négatif

Les tests phytochimiques effectués sur l'**extrait aqueux** des feuilles de *Tetraclinis articulata* obtenus par décoction (tableau 2) présente les mêmes résultats que ceux de l'extrait éthanolique. Les résultats sont positifs pour les hétérosides, les alcaloïdes, les tanins et les flavonoïdes et les saponines. En revanche, aucune réaction n'a été observée pour l'amidon.

Ces tests phytochimiques, reposant sur des réactions de coloration et de précipitation, ont révélé la présence de plusieurs familles de métabolites dans le *Tetraclinis articulata*. Les résultats montrent que cette plante présente un potentiel prometteur, principalement en raison de sa richesse en composés phénoliques tels que les tanins, les flavonoïdes et les hétérosides, qui sont connus pour leurs propriétés antioxydantes [50].

Résultats et discussion : 2-Partie biologique.

I. Evaluation de l'activité antioxydante :

I.1 Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité antiradicalaire a été mesurée en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH avec un spectrophotomètre UV. Cette méthode permet de comparer l'efficacité antioxydante des extraits (huile essentielle, hydrolat, extraits éthanolique et aqueux) des feuilles de *Tetraclinis articulata* à celle de l'acide ascorbique, qui sert de référence.

La solution de DPPH, fraîchement préparée, est violette. Lorsque des antioxydants puissants sont présents, capables de céder un atome d'hydrogène, la couleur s'estompe progressivement pour devenir jaune.

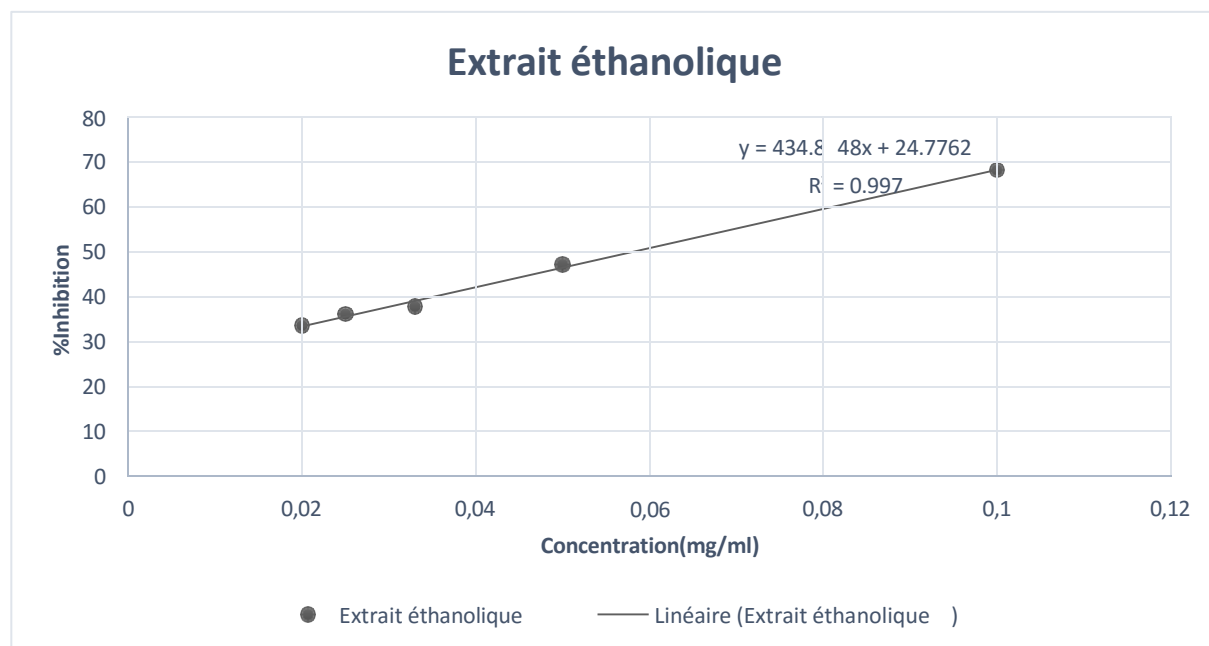


Figure 18: Variation de l'intensité de la couleur du DPPH en fonction de la concentration

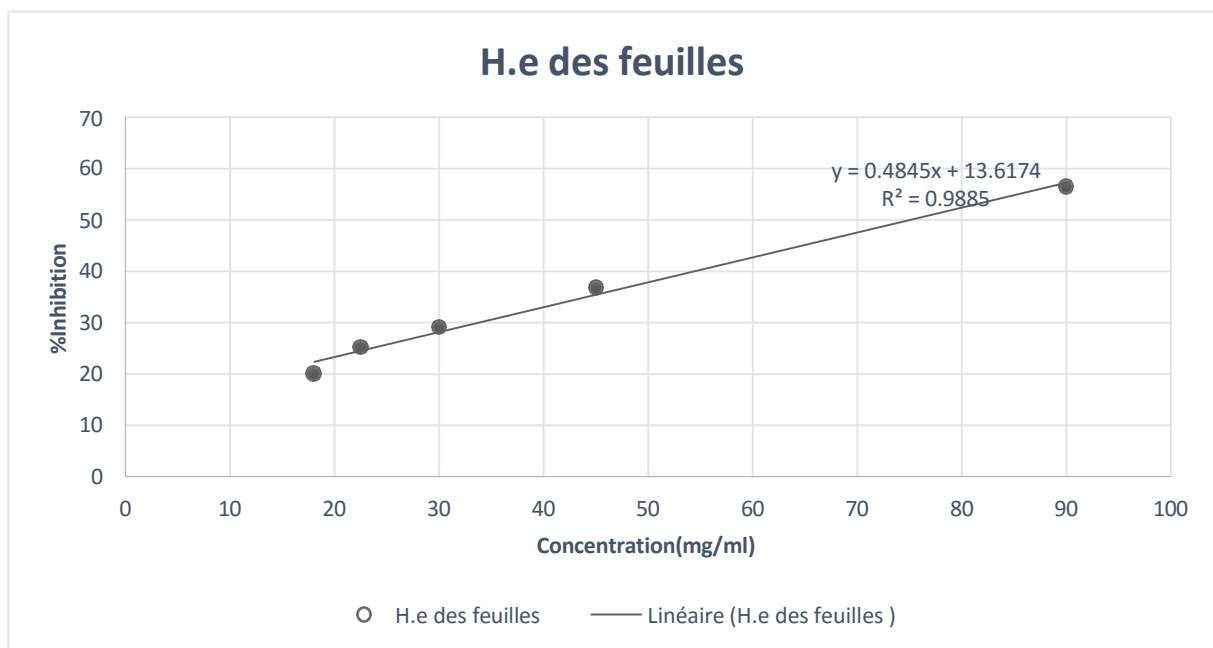
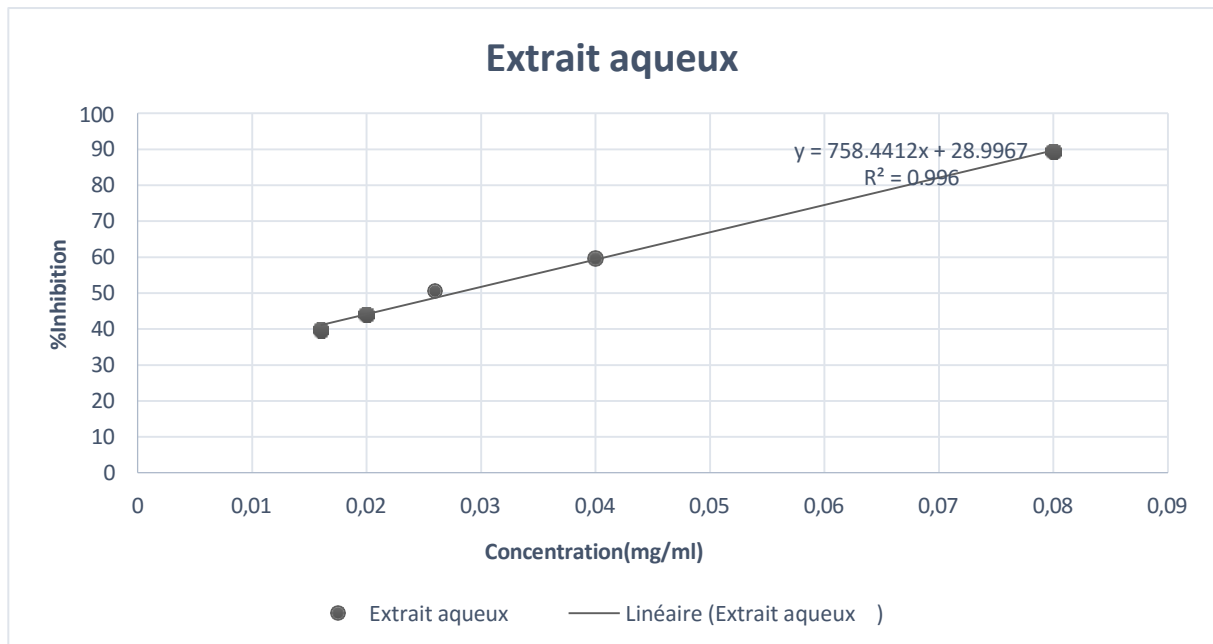
Le tableau ci-dessous présente les résultats de ce test, montrant le taux d'inhibition en fonction des différentes concentrations de nos extraits. Les CI_{50} sont déterminées graphiquement à l'aide de la régression linéaire des pourcentages d'inhibition par rapport aux différentes concentrations des échantillons testés (voir les graphes).

Chapitre III : Résultats et discussion

Echantillons	Activité anti-oxydante après 30 minutes					
Extrait éthanolique	concentration (mg/ml)	0.1	0.05	0.033	0.025	0.02
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	68.18	47.20	37.86	36.18	33.61
Extrait aqueux	concentration (mg/ml)	0.08	0.04	0.026	0.02	0.016
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	89.27	59.67	50.61	43.85	39.62
H.E des feuilles	concentration (mg/ml)	90	45	30	22.5	18
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	56.48	36.86	29.12	25.16	20.03
Acide ascorbique	concentration (mg/ml)	0.04	0.05	0.06	0.08	-
	Effet du balayage sur le DPPH (%)	39.04	51.23	68.57	97.84	-



Chapitre III : Résultats et discussion



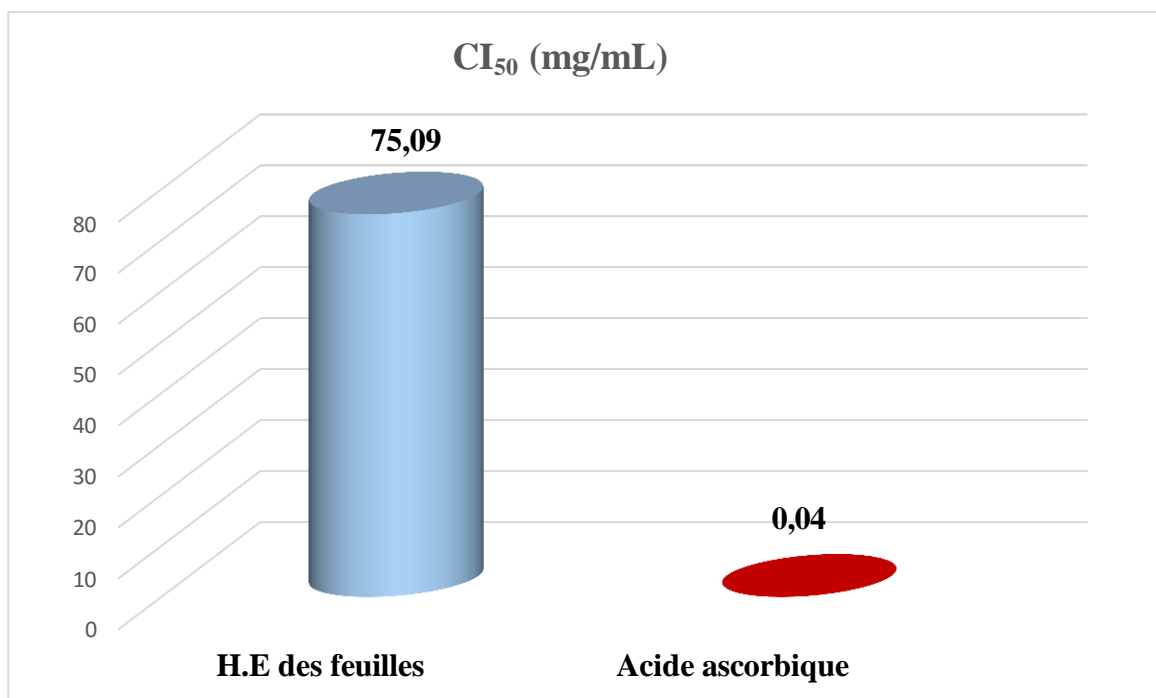
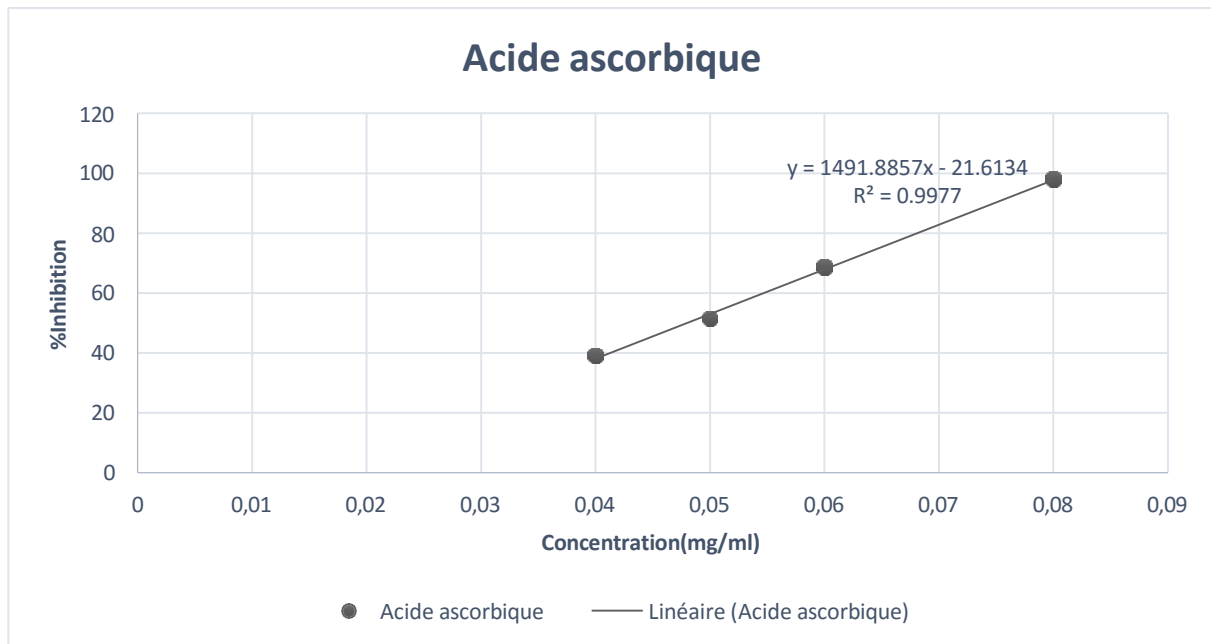


Figure 19: La valeur CI₅₀(mg/mL) de l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* et de l'acide ascorbique par la méthode DPPH

Chapitre III : Résultats et discussion

La CI_{50} représente la concentration d'antioxydant nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux libres DPPH• présents au départ. Une CI_{50} plus faible indique une activité antioxydante plus forte. La figure 15 montre les valeurs de CI_{50} mesurées pour l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata*, et de l'acide ascorbique par DPPH.

Les résultats montrent que l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* a une CI_{50} élevée de 75,09 mg/ml, bien supérieure à celle de l'acide ascorbique, ce qui indique une très faible activité antioxydante.

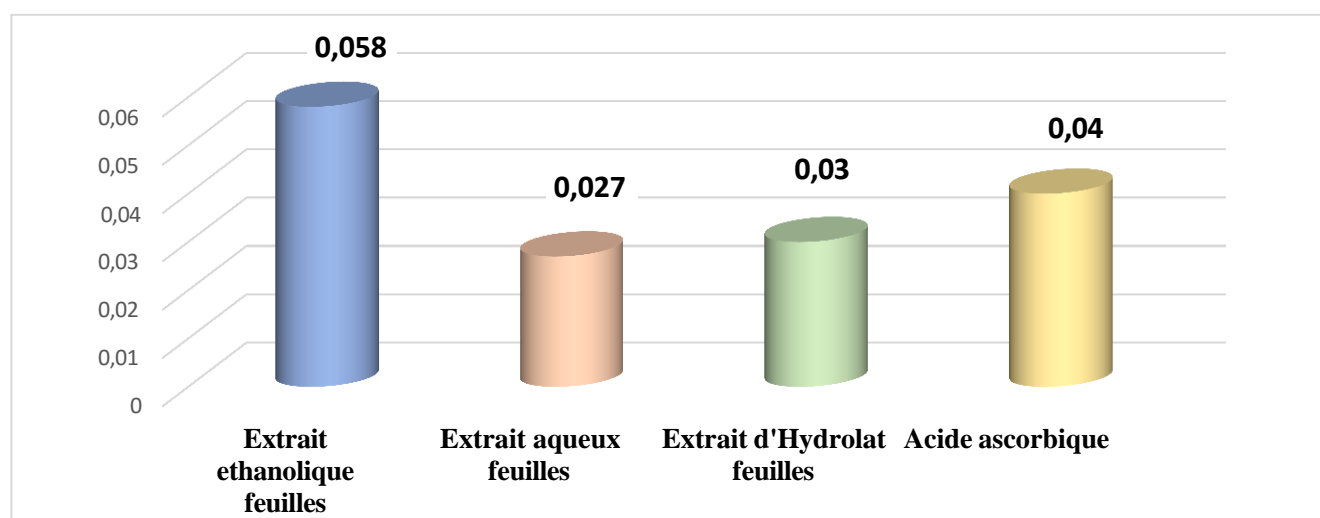


Figure 20: La valeur CI_{50} (mg/mL) des extraits éthanologique et aqueux des feuilles ainsi que l'extrait d'hydrolat des feuilles de *Tetraclinis articulata* et de l'acide ascorbique par la méthode DPPH

Contrairement à l'huile essentielle des feuilles, l'extrait aqueux des feuilles et l'extrait de l'hydrolat présentent une forte activité antioxydante avec des CI_{50} de 0,027 mg/ml et 0,03 mg/ml respectivement, inférieures à celle de l'antioxydant de référence l'acide ascorbique ($CI_{50}=0,04$ mg/ml), suivi de l'extrait éthanologique des feuilles qui présente une bonne activité antioxydante avec une CI_{50} de 0,058 mg/ml.

I.2 Méthode de réduction des ions ferriques FRAP :

Le tableau ci-dessous exprime les résultats du test FRAP traduit par l'absorbance en fonction des différentes concentrations de nos extraits.

Chapitre III : Résultats et discussion

Echantillons		Activité anti-oxydante					FRAP
Extrait éthanolique	concentration (mg/ml)	0.02	0.025	0.033	0.05	0.1	
Absorbance		0.668	1.103	1.381	1.701	2.124	
Extrait aqueux	concentration (mg/ml)	0.016	0.02	0.026	0.04	0.08	
Absorbance		1.223	1.413	1.823	2.118	2.446	
Extrait hydrolat des feuilles	concentration (mg/ml)	0.015	0.02	0.03	0.04	0.05	
Absorbance		0.90	1.29	1.70	1.93	2.33	
H.e des feuilles	concentration (mg/ml)	18	22.5	30	45	90	
Absorbance		0.861	1.063	1.483	1.568	1.763	
Acide ascorbique	concentration (mg/ml)	0.015	0.02	0.03	0.04	0.05	
Absorbance		0.9	1.2	1.6	1.8	2.115	

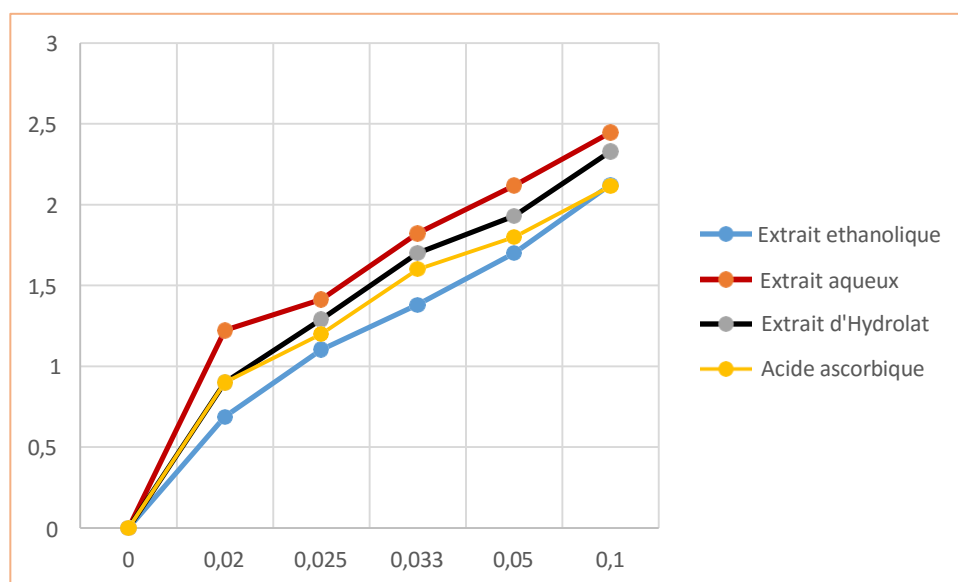


Figure 21: Les résultats de l'activité antioxydante des extraits (éthanolique ,aqueux et de l'hydrolat) par la méthode de FRAP

Chapitre III : Résultats et discussion

La méthode FRAP permet d'évaluer l'activité antioxydante en mesurant la capacité des échantillons à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) par transfert d'électron. La formation du complexe Fe^{2+} est ensuite mesurée par l'absorbance à 700 nm, liée à la formation du bleu de Prusse. Une augmentation de l'absorbance indique une meilleure capacité réductrice.

L'activité antioxydante des extraits est comparée à celle de l'acide ascorbique. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 21 et 22 .

Les résultats obtenus par la méthode FRAP confirment les résultats obtenus dans la méthode DPPH, en effet, l'extrait éthanolique des feuilles et l'extrait d'hydrolat des feuilles possèdent les meilleures activités suivies de l'extrait éthanolique des feuilles avec des courbes proches de celle de l'acide ascorbique, ce qui indique une capacité réductrice élevée.

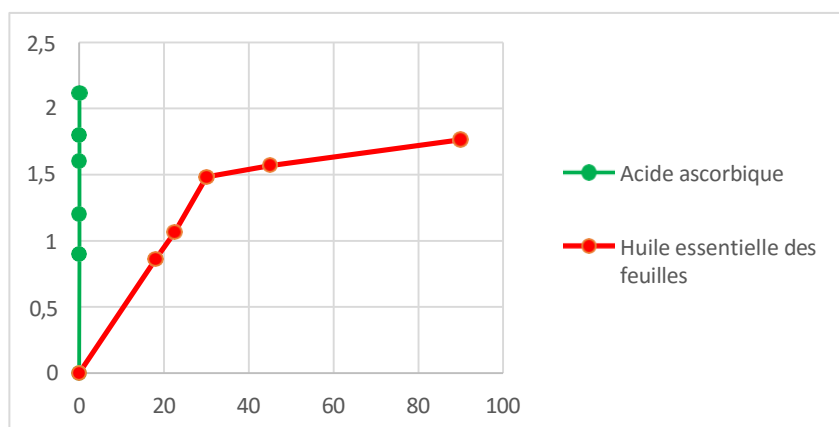


Figure 22: Les résultats de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* par la méthode de FRAP

L'activité réductrice de l'huile essentielle des feuilles reste très très faible en la comparant avec celle de la référence : l'acide ascorbique.

II. Etude de l'activité anti-inflammatoire

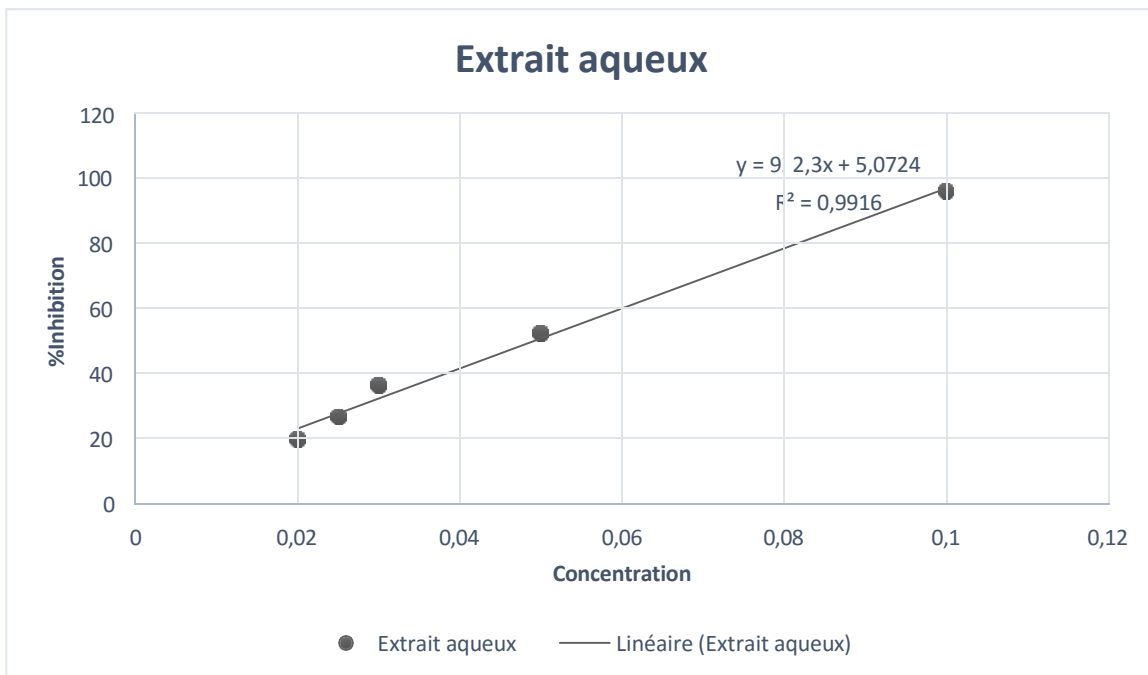
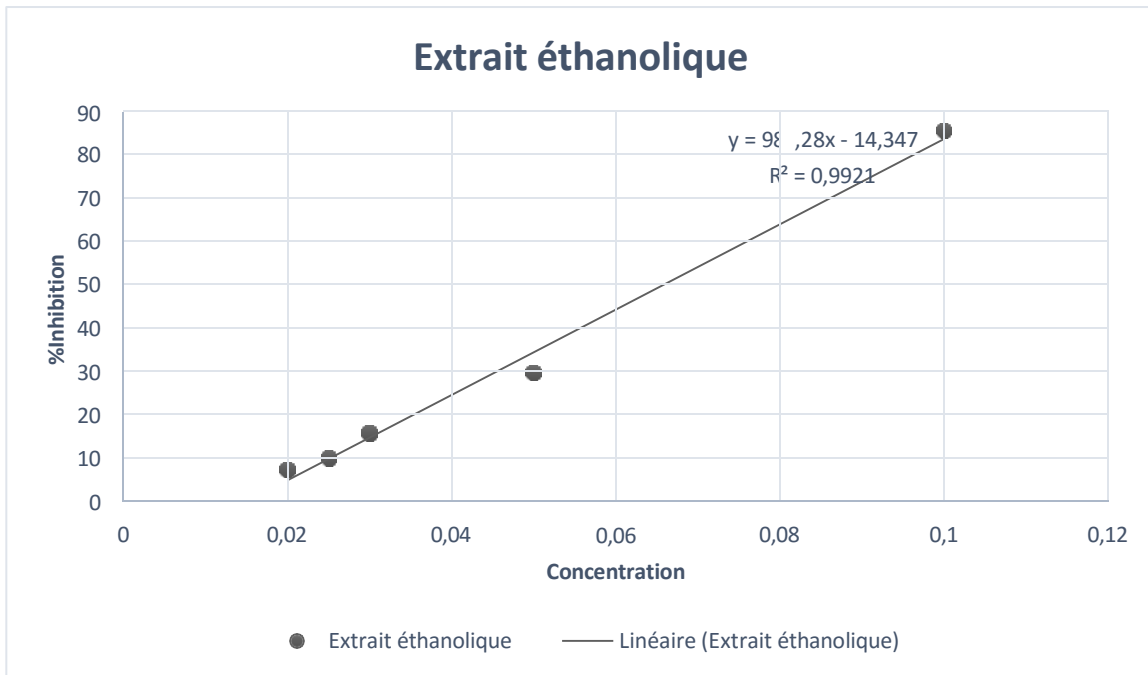
L'activité anti-inflammatoire des extraits et de l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* a été évaluée par la méthode de dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf. Cette méthode repose sur la capacité des composés à inhiber la dénaturation des protéines, un phénomène étroitement lié aux processus inflammatoires.

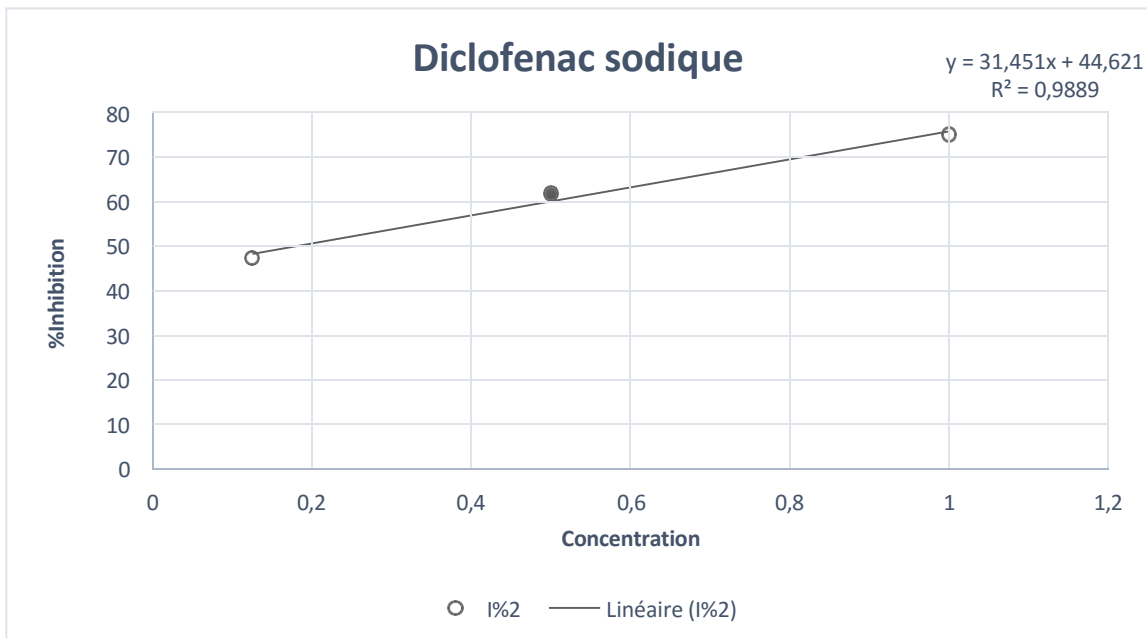
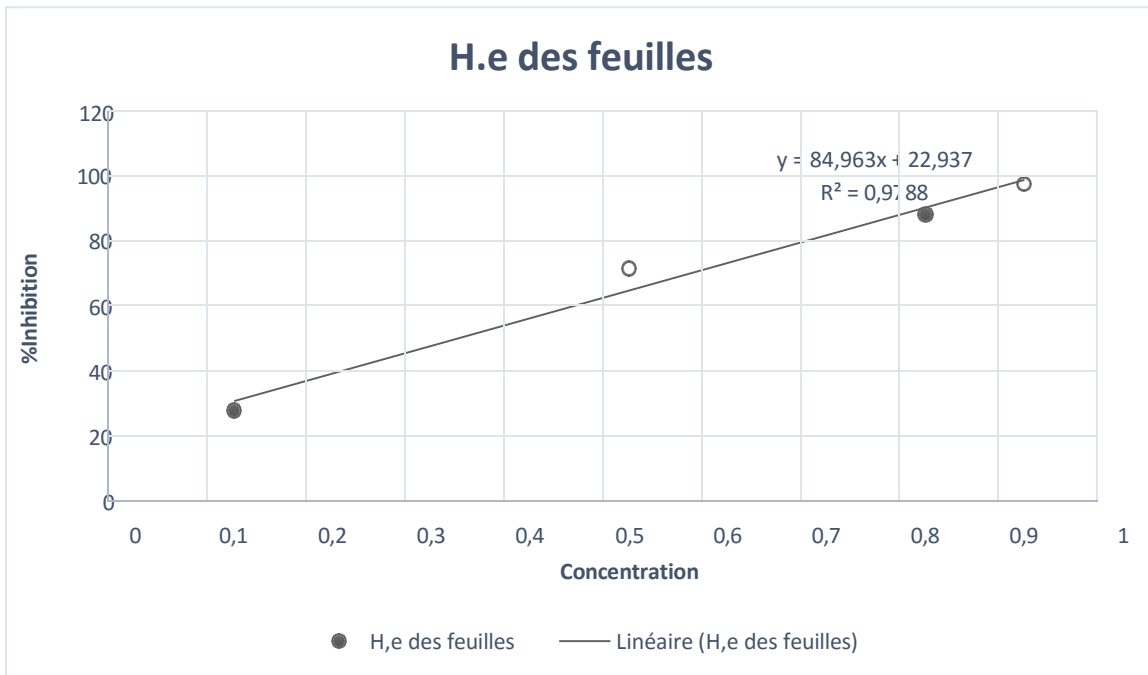


Figure 23: Variation de l'intensité de la couleur de l'albumine de blanc d'œuf en fonction de la concentration

Le tableau ci-dessous exprime les résultats de ce test traduit par le taux d'inhibition en fonctions des différentes concentrations de nos extraits. Les CI50 sont calculées graphiquement par la formule de la régression linéaire des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des échantillons testés (voir les graphes).

Echantillons	Activité anti-inflammatoire				
Extrait éthanolique concentration (mg/ml)	0.1	0.05	0.03	0.025	0.02
%Inhibition	85.61	29.86	16.01	10.22	7.58
Extrait aqueux .concentration (mg/ml)	0.1	0.05	0.03	0.025	0.02
%Inhibition	96.32	52.68	36.68	27.02	20.18
H.e des feuilles concentration (mg/ml)	0.9	0.8	0.5	0.1	
%Inhibition	98.02	88.68	72.08	28.38	
Diclofenac sodique concentration (mg/ml)	1	0.5	0.125		
%Inhibition	75.34	62.02	47.58		





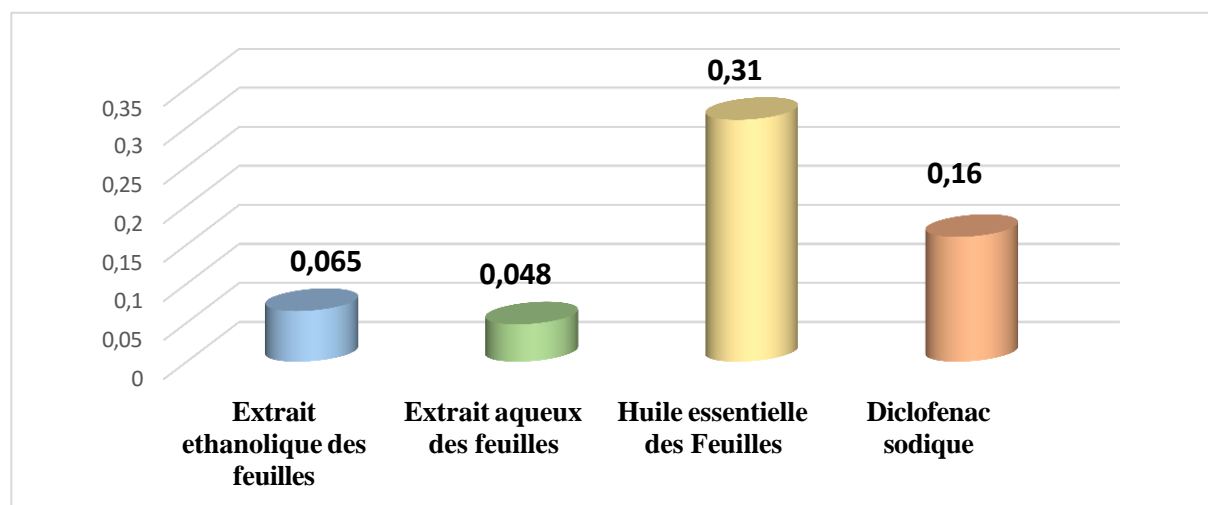


Figure 24: Les valeurs de CI50 des extraits aqueux, éthanoliques et l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* par la méthode de dénaturation de l'albumine de blanc d'œuf

En comparant les valeurs de CI50 obtenues pour les différents extraits éthanolique et aqueux ainsi que l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata*, avec le diclofénac utilisé comme composé de référence, on observe que l'extrait aqueux présente la meilleure activité avec une CI50 de 0,048 mg/mL, suivi par l'extrait éthanolique (CI50 = 0,065 mg/mL) donc une forte activité anti inflammatoire supérieure à celle de l'anti inflammatoire de référence (le diclofénac) qui présente une CI50 de 0,16 mg/mL,. En revanche, l'huile essentielle des feuilles montre une efficacité moindre avec une CI₅₀ de 0,31 mg/mL, indiquant une capacité anti inflammatoire inférieure à celle du diclofénac mais ça reste une très bonne activité en terme d'efficacité anti inflammatoire.

CONCLUSION

Conclusion

Conclusion

Dans le cadre de ces travaux, nous nous sommes intéressés au *Tetraclinis articulata*, une espèce de la famille des Cupressacées, largement répandue en Algérie, au Maroc et en Tunisie. L'objectif principal de cette étude était de valoriser cette plante à travers l'extraction, la caractérisation et l'évaluation des activités biologiques de ses extraits, notamment de l'huile essentielle de ses feuilles.

La composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* récoltée en Algérie s'est révélée proche de celle des huiles essentielles provenant du Maroc [32] et de la Tunisie [36], dans lesquelles les composés majoritaires sont l' α -pinène, le camphre et le bornyl acétate. Dans l'étude faite à Tlemcen (Algérie), l'huile essentielle est largement dominée par les monoterpènes oxygénés (44,6 %) et hydrocarbonés (41,1 %), avec l' α -pinène (23,6 %), le bornyl acétate (20,7 %), le camphre (17,3 %) et le limonène (9,5 %) comme principaux constituants [30].

Par ailleurs, les comparaisons avec des études menées dans d'autres pays (Maroc, Tunisie, Égypte) ont mis en évidence une certaine variabilité chimique, probablement due à des facteurs environnementaux, climatiques ou méthodologiques, comme le type d'organe utilisé ou la méthode d'extraction [32], [36].

Les analyses phytochimiques ont révélé la présence de nombreuses familles de métabolites secondaires, tels que les polyphénols, flavonoïdes et tanins, connus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes [25]. Cette richesse en composés bioactifs a été confirmée par les tests DPPH et FRAP, montrant une capacité antioxydante significative, bien corrélée à la concentration des extraits [26].

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire par la méthode de dénaturation de l'albumine a également révélé un effet inhibiteur important, indiquant que l'huile essentielle et les extraits de *Tetraclinis articulata* pourraient être utilisés comme agents naturels anti-inflammatoires [27]. Ces résultats viennent renforcer les usages traditionnels de cette plante en médecine populaire en Algérie, où elle est employée notamment contre les troubles respiratoires, les infections et les douleurs inflammatoires [8], [11].

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE

- [1] Delaveau P., 1987 : les épices, Histoire, description et usage des différents épices,aromates et condiments Albin Michel Editeur, p 372.
- [2] SK. Bhavsar, S. Singh, S. Giri, MR. Jain, DD. Santani, Journal of Ethnopharmacology. 124(2009) 426
- [3] Harborne,J. B. and Swain,T. ,Perspective in Phytochemistry, 1963 Academic press London,New york.
- [4] Jahodar, L. ,Klekakova,J. ,Journal of chemistry,1999,93,320-326.
- [5] Achhal A., Barrero M., Ech-Chamikh S., (1985), Productivité du thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters) dans le bassin versant du N'fis dans *Ecologia Mediterraea*, Tome XI, Fascicule 2/3.
- [6] Esser, R. B. (2000). La végétation et les écosystèmes forestiers de la région méditerranéenne, livre complet sur la végétation méditerranéenne, avec des sections traitant des espèces forestières importantes comme le thuya de Berbérie. Springer-Verlag.
- [7] Poole, S. H. L. (2001). *Conifers of the World* , Cet ouvrage couvre les espèces de conifères du monde entier Éditeur Timber Press. P 40
- [8] El Mechri, O., Belgherbi, B., Benaradj, A., & Berkane, I. (2024). Spatial distribution of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. formations in north-western Algeria. *Biodiversity: Research and Conservation*, 74, 43–52.
- [9] Bartels A, (1998): Guide des plantes du bassin méditerranée. Edition : Eugen Ulmer. P 400, pp 99.
- [10] Brosse J, (2004): Larousse des arbres: Dictionnaire des arbres et des arbustes. Eddition: LAROUSSE. Préface de pelt J.M. P576, pp478- 479
- [11] Tutin, T. G., et al. (1978). *Flora Europaea* , Cambridge University Press.36
- [12] Quézel, P., & Médail, F. (2003). *Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Elsevier. P 36
- [13] M'hirit, O. (1999). Le thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*), un arbre endémique aux multiples usages. *Forêt Méditerranéenne*, 20(1), 3-15.
- [14] Aronson, J., et al. (2009). Restoration and conservation of *Tetraclinis articulata* woodlands in North Africa. *Ecological Restoration*, 27(3), 256-258.
- [15] Benabid, A., & Fennane, M. (1994). Connaissance et gestion des écosystèmes

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

forestiers marocains : Cas du *Tetraclinis articulata*. Actes du Séminaire International sur la Gestion des Forêts en Méditerranée, 89-102.

[16] Boudy, L. N. (1950). Flore de l'Algérie référence fondamentale sur la flore d'Algérie et inclut des informations sur diverses espèces méditerranéennes, y compris *Tetraclinis articulata*. Imprimerie et Librairie Paul Dupont. 60

[17] Esser, R. B. (2000). La végétation et les écosystèmes forestiers de la région méditerranéenne, livre complet sur la végétation méditerranéenne, avec des sections traitant des espèces forestières importantes comme le thuya de Berbérie. Springer-Verlag.

[18] Ghani, M. A. (2011). Medicinal Plants of North Africa , CRC Press.12

[19] El-Hilaly, J., et al. (2003). Phytochemical and Pharmacological Studies on *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. Journal of Ethnopharmacology. 22

[20] Bensaci, M., et al. (2010). Ecological and Medicinal Uses of *Tetraclinis articulata* in North Africa. Journal of Mediterranean Ecology. 13

[21] El-Hilaly, J., et al. (2003). Phytochemical and Pharmacological Studies on *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters ,Journal of Ethnopharmacology. 08

[22] El-Hilaly, J., et al. (2003). Phytochemical and Pharmacological Studies on *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. Journal of Ethnopharmacology. 44

[23] Boudy, L. N. (1950). Flore de l'Algérie. Imprimerie et Librairie Paul Dupont. 06

[24] Ghani, M. A. (2011). Medicinal Plants of North Africa. CRC Press. 16

[25] El-Hilaly, J., et al. (2003). Phytochemical and Pharmacological Studies on *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters. Journal of Ethnopharmacology.6

[26] *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

[27] Khan, M. I., et al. (2020). "Anti-inflammatory potential of *Tetraclinis articulata*: Mechanisms and therapeutic implications." Journal of Ethnopharmacology.

[28] Boughalleb, N., et al. (2021). "Hypoglycemic effect of *Tetraclinis articulata* extracts in diabetic rats: Mechanisms and active compounds." Journal of Diabetes Research

[29] Bensaci, M., et al. (2010). Ecological and Medicinal Uses of *Tetraclinis articulata* in North Africa. Journal of Mediterranean Ecology.12

[30] Chemical Variability of the Essential Oil Isolated from Aerial Parts of *Tetraclinis Articulata* from North-Western Algeria – ResearchGate

[31] Chemical Variability of the Essential Oil Isolated from Aerial Parts of *Tetraclinis*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

articulata from North-Western Algeria – PubMed

- [32] Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Arakrak, A., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., & Pagán, R. (2011). Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Moroccan aromatic plants against oral pathogens. *Journal of Essential Oil Research*, 23(4), 288- 295.
- [33] Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., & Chaouch, A. (2010).
- [34] Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M. Chaouch A., 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
- [35] Ibrahim T, El-Helac A, El-Hefnawy H., Al-Taweel A et Perveena S., 2017. Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Essential Oils of Some Coniferous Plants Cultivated in Egypt. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 16(1) : 328-337.
- [36] Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., & Chaouch, A. (2010).
- [37] Herzi N., Bouajila J., Camy S., Romdhane M., Condoret J. 2013. Comparison of different methods for extraction from *Tetraclinis articulata*: Yield, chemical composition and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 141 (4) : 3537-3545.
- [38] Imene, F., *Les huiles essentielles et l'aromathérapie*. 2016, université des frères Mentouri Constantine.
- [39] Mnayer, D., *Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens*. 2014, Université d'Avignon.
- [40] Porter N., 2001: *Essential oil and their production*. *Corps and Food Research*. Number 32.
- [41] Smallfield B., 2001: *introduction to growing herbs for essential oil, medicinal and culinary purposes*. *Corps and Food Research* Number p 45
- [42] Quézel, P., & Médail, F. (2003). *Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Elsevier. P 36
- [43] M'hirit, O. (1999). Le thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*), un arbre endémique aux multiples usages. *Forêt Méditerranéenne*, 20(1), 3-15.
- [44] Aronson, J., et al. (2009). Restoration and conservation of *Tetraclinis articulata* woodlands in North Africa. *Ecological Restoration*, 27(3), 256-258.
- [45] Benabid, A., & Fennane, M. (1994). *Connaissance et gestion des écosystèmes forestiers marocains : Cas du Tetraclinis articulata*. Actes du Séminaire International sur la

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Gestion des Forêts en Méditerranée, 89-102.

[46] Boudy, L. N. (1950). Flore de l'Algérie référence fondamentale sur la flore d'Algérie et inclut des informations sur diverses espèces méditerranéennes, y compris *Tetraclinis articulata*. Imprimerie et Librairie Paul Dupont. 60

[47] Bourkhiss, M., Hnach, M., Bourkhiss, B., Ouhssine, M., & Chaouch, A. (2010).

[48] Paul Singleton. Bactériologie. 4ème édition. Ed. Dunod. 1999, P: 331-357.

[49] Chandra S., Chatterjee P., Dey P., Bhattacharya S. Evaluation of in vitro anti-inflammatory activity of coffee against the denaturation of protein. Asian Pac J Trop Biomed 2012;2(1): S178-S80.

[50] Hertog M. G. L., Feskens E. J. M., Hollman P. C. H., Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease, THE LANCET, 1993, 42(8878): 1007-101.

Résumé

Depuis quelques années, *Tetraclinis articulata*, plante aromatique de la famille des Cupressacées, suscite un intérêt croissant grâce à ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Utilisée en médecine traditionnelle contre les troubles respiratoires, le diabète et les infections, elle est riche en composés phénoliques. Son extrait aqueux et son hydrolat présente une activité antioxydante élevée ($CI_{50} = 0,027$ mg/mL) ($CI_{50} = 0,03$ mg/mL) respectivement, supérieure à l'acide ascorbique. L'extrait éthanolique suit avec une CI_{50} de 0,058 mg/mL. En anti-inflammatoire, l'extrait aqueux reste le plus actif ($CI_{50} = 0,048$ mg/mL), confirmant le fort potentiel thérapeutique de cette plante.

Mots clé : *Tetraclinis articulata*, Huile essentielle, Extraits, Activité antioxydante, Activité anti inflammatoire.

ملخص

في السنوات الأخيرة، أثار *Tetraclinis articulata*، وهو نبات عطري من عائلة Cupressaceae، اهتماما متزايدا بسبب خصائصه المضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات. يستخدم في الطب التقليدي ضد أمراض الجهاز التنفسي والسكري والالتهابات، وهو غني بالمركبات الفينولية. مستخلصه المائي وهيدرولات له نشاط مضاد للأكسدة عالية ($CI_{50} = 0.027$ ملغ / مل) ($CI_{50} = 0.03$ ملغ / مل) على التوالي، أعلى من حمض الأسكوربيك. يتبع مستخلص الإيثانول مع $CI_{50} 0.058$ ملغ / مل. في مضاد للالتهابات، يبقى المستخلص المائي الأكثر نشاطا ($CI_{50} = 0.048$ mg / mL)، مما يؤكد الإمكانيات العلاجية القوية لهذا النبات.

الكلمات المفتاحية: *Tetraclinis* : مفصل، زيت أساسي، مقتطفات، نشاط مضادات الأكسدة، نشاط مضاد للالتهابات.

Abstract

In recent years, *Tetraclinis articulata*, an aromatic plant from the Cupressaceae family, has garnered increasing interest due to its antioxidant and anti-inflammatory properties. Used in traditional medicine for respiratory disorders, diabetes, and infections, it is rich in phenolic compounds. Its aqueous extract and hydrosol show high antioxidant activity ($CI_{50} = 0.027$ mg/mL) and ($CI_{50} = 0.03$ mg/mL) respectively, both higher than ascorbic acid. The ethanolic extract follows with a CI_{50} of 0.058 mg/mL. For anti-inflammatory activity, the aqueous extract remains the most effective ($CI_{50} = 0.048$ mg/mL), confirming the strong therapeutic potential of this plant.

Keywords: *Tetraclinis articulata*, essential oil, extracts, antioxidant activity, anti-inflammatory activity.