

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
People's Democratic Republic of Algeria
The Minister of Higher Education and Scientific Research
ⵜⴰⴳⴷⴰⵏⵜ ⴰⴷⵓⴷⴰⵏⵜ ⴰⴷⵓⴷⴰⵏⵜ ⴰⴷⵓⴷⴰⵏⵜ ⴰⴷⵓⴷⴰⵏⵜ ⴰⴷⵓⴷⴰⵏⵜ

ABOU BEKR BELKAID UNIVERSITY
TLEMCEN
FACULTY OF MEDICINE- Dr. B. BENZERDJEB
PHARMACY DEPARTMENT



جامعة أبو بكر بلقايد تلمسان
كلية الطب - د. ب. بن زرجب
قسم الصيدلة

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

THÈME :
**Etude comparative entre une huile essentielle commerciale et une huile
essentielle extraite**

Présenté par :
AISSAOUIA Hanaa Loudjeyna BENTENAH Mohamed Yacine

Soutenu le
06/07/2023

Jury

Président :

Dr NEGADI Sihem

Maitre assistante en Botanique médical

Membres :

Dr HADJILA Amina

Maitre-assistante en Hydrobromatologie

Dr FELLAH Houda

Assistante en chimie Analytique

Encadrant :

Dr NORDINE Ibrahim Zakaria

Maitre-assistant en Chimie analytique

Année universitaire : 2022-2023

Remerciement

Nous commencerons par exprimer notre gratitude à notre directeur de recherche : Monsieur Zakaria Ibrahim Nordine pour ses précieux conseils, son aide, ses encouragements et qui a suivi ce travail sérieusement avec rigueur et enthousiasme sans jamais douter de son aboutissement.

Nos remerciements s'étendent aux membres du jury qui ont accepté de lire et juger notre travail.

Nous remercions également tous les enseignants du département de pharmacie qui ont contribué à notre formation.

Un grand merci à M. HAREK pour son accueil chaleureux au sein du laboratoire de chimie analytique et d'électrochimie.

On ne peut conclure sans remercier chaleureusement les participants aux différentes enquêtes.

Dédicace

Je dédie ce travail à mes chers parents pour leur soutien inconditionnel dont ils ont fait preuve à mon égard durant toute ma vie scolaire et universitaire. Merci pour le soutien financier, moral, psychologique et matériel. Si je suis ici aujourd'hui, c'est grâce à vous!

A mes très chères et adorables sœurs Nadia et Awatif.

A mes ami(e)s.

Mohamed Yacine

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents ; pour tous leurs sacrifices ; leur amour ; leur soutiens et leur prières tout au long de mes études.

A Mes très aimables sœurs Nassima ; Meriem et Imene pour leur encouragement et leur soutien moral. Sans oublié mes beaux-frères Karim et AbdRahim.

A mes nièces {Lamiss ; soundous} et mes neveux {Abderrahmane ; Riad ; Nadir}.

A la mémoire de ma grand-mère ; que dieu le tout puissant l'accueille dans son vaste paradis.

A mes meilleur amie : Ferial ; Salima qui n'ont jamais cessé de me soutenir. A mes adorables copines : Samer ; Imene ; Romaissa ; chaimaa ; Fatima avec qui j'ai vécu des beaux moments au cours de mon cursus à l'université.

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Hanaa

TABLE DES MATIERES

Table des matieres.....	I
Liste des abréviations	VI
Glossaire des termes scientifiques	VII
Liste des tableaux	VIII
Liste des figures	IX
INTRODUCTION GENERALE	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	3
CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES.....	4
1. Définition.....	5
2. Localisation des HE dans la plante.....	5
3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	5
4. Composition chimique.....	6
4.1. Les terpènes.....	6
4.1.1. Les monoterpènes.....	7
4.1.2. Les sesquiterpènes.....	8
4.2. Les composés aromatiques.....	8
4.3. Notion de chémotype.....	9
5. Le rôle des HES dans la plante.....	9
6. Paramètres influençant la composition quantitative et qualitative des huiles essentielles....	9
6.1 Facteurs intrinsèques.....	10
6.2 Facteurs extrinsèques.....	10
7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	10
7.1 Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	10

7.2	Extraction par Hydrodistillation.....	11
7.3	Expression à froid.....	12
7.4	Extraction au moyen de solvants.....	12
8.	La toxicité des huiles essentielles.....	12
9.	Activités biologiques des huiles essentielles.....	13
CHAPITRE II : PRESENTATION DE L'ESPECE DU CUPRESSUS SEMPERVIRENS ET DE PINUS HALEPENSIS		14
1.	Généralités sur le Cupressus sempervirens.....	16
1.1	Généralité.....	16
1.2	Taxonomie.....	16
1.3	Description botanique.....	16
1.3.1	La taille.....	16
1.3.2	La forme.....	16
1.3.3	Les feuilles.....	17
1.3.4	Les fleurs.....	17
1.3.5	Les cônes fructifères.....	18
1.3.6	Les graines.....	19
1.4	Répartition géographique.....	21
1.4.1	Dans le monde.....	21
1.4.2	En Algérie.....	22
1.5	Caractéristiques écologiques.....	23
1.6	Propriétés pharmacologique.....	23
1.7	Composition chimique.....	24
1.7.1	Les rameaux.....	24
1.7.2	Les cônes fructifères.....	24
1.7.3	Les feuilles.....	25
1.8	L'huile essentielle de Cupressus sempervirens.....	25
1.8.1	Composition chimique.....	25
1.8.2	Propriétés pharmacologiques.....	25
2.	Généralités sur le Pinus halepensis.....	27
2.1	Généralité.....	27

2.2	Taxonomie.....	27
2.3	Description botanique.....	28
2.3.1	La taille.....	28
2.3.2	L'écorce.....	28
2.3.3	Les feuilles.....	28
2.3.4	Les cônes fructifères.....	28
2.3.5	Les graines.....	29
2.4	Répartition géographique.....	29
2.5	Propriétés thérapeutique.....	30
2.6	La composition chimique.....	31
2.6.1	Les branches.....	31
2.6.2	Les cônes.....	31
2.6.3	Les graines.....	31
2.6.4	Les racines et les aiguilles.....	31
2.7	L'huile essentielle de <i>Pinus halepensis</i> MILL.....	32
2.7.1	Composition chimique.....	32
2.7.2	Propriétés pharmacologiques.....	32
ETUDE EXPERIMENTALE.....		34
MATERIEL ET METHODES.....		35
1.	Objectifs de l'étude.....	36
2.	Etude ethnobotanique sur les HEs du cyprès et de pin d'Alep.....	36
2.1	Type de l'étude.....	36
2.2	Matériels.....	36
2.3	Méthode.....	36
3.	Etude biologique sur HEs du cyprès et de pin d'Alep.....	36
3.1	Type et lieu d'étude.....	36
3.2	Matériel.....	37
3.2.1	Matériel végétal.....	37
3.2.2	Matériel du laboratoire.....	38
3.2.3	Réactifs.....	39
3.2.4	Matériel biologique.....	40

3.3 Méthode.....	41
3.3.1 Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	41
3.3.2 Caractérisation organoleptique des HEs du cyprès et de pin d'Alep.....	42
3.3.3 Caractère physique des HEs du cyprès et de pin d'Alep.....	42
3.3.3.1 La densité relative.....	42
3.3.4 Caractérisation de la composition chimique de l'HE par chromatographie sur couche mince (CCM).....	43
3.3.5 Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep.....	47
3.3.5.1 Test de la réduction du fer (FRAP).....	47
3.3.5.2 Piégeage du radical, 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) par spectrométrie.....	49
3.3.6 Evaluation de l'activité antibactérienne des HE du cyprès et pin d'Alep.....	52
RESULTATS.....	55
1. Résultats de l'enquête ethnobotanique sur les huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep.....	56
1.1. Description de la population étudiée.....	56
1.2. Connaissances générales sur les huiles essentielles.....	58
1.3. Connaissance sur l'huile essentielle de Pin d'Alep et du Cyprès.....	62
2. Résultat de l'étude biologique des huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep.....	65
2.1 Rendement de l'huile essentielle.....	65
2.2 Résultat de la caractérisation organoleptique des huiles essentielles.....	66
2.3 Résultat de la caractérisation physique des huiles essentielle	66
2.3.1 Densité	66
2.4 Résultat de la séparation chimique des composés des huiles essentielles par CCM.....	67
2.5 Résultat de l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles	71
2.5.1 Résultat du test FRAP	71
2.5.1.1 Résultat du test FRAP sur les HEs de cyprès vert (commerciale et Extraite).....	72
2.5.1.2 Résultat du test FRAP sur les HEs de pin d'Alep commerciale et extraite.....	73

2.5.1.3	Résultat du test FRAP sur l'acide ascorbique	75
2.5.2	Résultat du test DPPH	75
2.5.2.1	Résultat du test DPPH sur les HEs du cyprès vert.....	76
2.5.2.2	Résultat du test DPPH sur les HEs de pin d'Alep	78
2.5.2.3	Résultat de test DPPH sur l'acide ascorbique.....	80
2.6	Résultat de l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles.....	81
2.6.1	Résultat de l'activité antibactérienne des HEs de cyprès vert	81
2.6.2	Résultat de l'activité antibactérienne des HEs de pin d'Alep	84
DISCUSSION	87
1.	Discussion des résultats de l'enquête ethnobotanique.....	88
2.	Discussion des résultats du rendement en huile essentielle.....	91
3.	Discussion de résultat de la caractérisation organoleptique.....	91
4.	Discussion du résultat de la caractérisation physique des huiles essentielles.....	92
5.	Discussion du résultat de la séparation chimique par chromatographie sur couche mince.....	92
6.	Discussion des résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles.....	94
7.	Discussion des résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	95
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	97
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	
ANNEXES	

LISTE DES ABREVIATIONS

ABTS : acide 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonique)

AC : Acide

AChE : acétylcholinestérase

AFNOR : Association française de normalisation

ALAT : Alanine aminotransférase

ASAT : Aspartate aminotransférase

ATCC : American type culture collection

CCM : Chromatographie sur couche mince

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DPPH : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

FRAP : Ferric reducing antioxidant power (test de réduction de fer)

HE : Huile essentielle

IPP : isopentényl-pyrophosphate

Km : Kilomètre

ml : Millilitre

Rf : Rapport frontal

pH : potentiel hydrogène

ug : Micro gramme

GLOSSAIRE DES TERMES SCIENTIFIQUES

Bord denticulée : fait référence à des découpures très fines et serrées au bord d'une feuille.

Cataplasme : Préparation pâteuse étalée entre deux linges et appliquée sur la peau pour soulager une inflammation.

Conditions édaphiques : Liés à la nature et caractéristiques des sols.

Emménagogue : Qui provoque ou facilite le flux menstruel.

Forme mucronée : pourvu d'une pointe très courte droite et raide à l'extrémité d'un organe.

Inflorescence : un groupe ou un amas de fleurs.

Pluviométrie : Branche de la climatologie qui étudie la répartition des pluies dans l'espace et dans le temps.

Strobile : Formation compacte en forme d'épi ou de cône.

Trichome glandulaire : excroissance filamenteuse présente sur certaines plantes.

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU I: Classification de <i>Cupressus sempervirens</i> L.....	16
TABLEAU II: Taxonomie de <i>Pinus halepensis</i> Mill.....	28
TABLEAU III: Présentation des souches bactériennes testées	41
TABLEAU IV: Emplacement des échantillons sur la plaque CCM.....	46
TABLEAU V: Les volumes des phases mobile.	47
TABLEAU VI: Dilutions de l'huile essentielle extraite du cyprès.	49
TABLEAU VII : Dilutions de l'huile essentielle commerciale du cyprès.	49
TABLEAU VIII: Dilutions de l'huile essentielle extraite de pin d'Alep	49
TABLEAU IX: Dilutions de l'huile essentielle commerciale de pin d'Alep.	49
TABLEAU X: Dilutions de l'acide ascorbique (test de FRAP).	50
TABLEAU XI: Dilutions de l'HE de cyprès vert extraite (test de DPPH).....	52
TABLEAU XII: Dilutions de l'HE de cyprès vert commerciale (test de DPPH).	52
TABLEAU XIII: Dilutions de l'HE de pin d'Alep extraite (test de DPPH)	52
TABLEAU XIV: Dilutions de l'HE de pin d'Alep commerciale (test de DPPH)	52
TABLEAU XV: Dilution d'acide ascorbique (test DPPH)	53
TABLEAU XVI: Sensibilité des souches bactériennes en fonction de diamètre des zones d'inhibition	55
TABLEAU XVII: Rendements des huiles essentielles extraites	66
TABLEAU XVIII: Caractères organoleptiques des quatre huiles essentielles examinées.	67
TABLEAU XIX: Densité relative des huiles essentielles	67
TABLEAU XX: Résultat des Rapports frontaux des taches de la CCM (1er phase mobile)	69
TABLEAU XXI: Résultat des Rapports frontaux des taches de la CCM (2eme phase mobile).....	70
TABLEAU XXII: Résultat des Rapports frontaux des taches de la CCM (3eme phase mobile)	72
TABLEAU XXIII: IC50 des deux HEs de cyprès vert.....	78
TABLEAU XXIV: IC50 des deux HEs de pin d'Alep	80
TABLEAU XXV: IC50 de l'acide ascorbique.....	81
TABLEAU XXVI: Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les deux HEs de cyprès vert.....	82
TABLEAU XXVII : Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les deux HEs de pin d'Alep	85

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1: Structure chimique d'isoprène	6
FIGURE 2: couplage tête à queue de 2 unités isoprènes	7
FIGURE 3: Quelques composés monoterpènes des HEs	7
FIGURE 4: quelques composés sesquiterpenes des HEs	8
FIGURE 5: Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	11
FIGURE 6: La forme pyramidalis et horizontalis du <i>Cupressus sempervirens</i>	16
FIGURE 7: Fleurs mâles et femelles de <i>Cupressus sempervirens</i>	18
FIGURE 8: Les fruits (cônes) de <i>Cupressus sempervirens</i>	19
FIGURE 9: Etapes de formation de la graine du <i>Cupressus sempervirens</i>	20
FIGURE 10: Aire de répartition de <i>Cupressus sempervirens</i> L. dans le monde	22
FIGURE 11: Les feuilles du pin d'Alep	28
FIGURE 12: Les cônes femelles du pin d'Alep	28
FIGURE 13: Les cônes male et les graines de pin d'Alep	29
FIGURE 14: Aire de répartition de pin d'Alep dans le monde	30
FIGURE 15: Feuilles de pin d'Alep et du cyprès	37
FIGURE 16: Localisation géographique de la zone de cueillette de pin d'Alep.	37
FIGURE 17: Localisation géographique de la zone de cueillette de cyprès vert	38
FIGURE 18: Appareil d'hydrodistillation type Clevenger	41
FIGURE 19: Principe de la CCM	43
FIGURE 20: Mécanisme réactionnel du test FRAP	46
FIGURE 21: Mécanisme réactionnel du test DPPH	48
FIGURE 22: Répartition de la fréquence d'utilisation des huiles essentielles selon le sexe	54
FIGURE 23: Répartition de la fréquence d'utilisation des huiles essentielles selon l'âge	55
FIGURE 24: Répartition de la population étudiée selon le niveau d'instruction	55
FIGURE 25: Répartition de la population étudiée selon leur catégorie socio-professionnelle	56
FIGURE 26: Usage des huiles essentielles par la population étudiée	57
FIGURE 27: Le lieu d'achat des HE par la population étudiée	57
FIGURE 28: La disponibilité des HE sur le marché algérien	58
FIGURE 29: La fréquence d'utilisation des différents HE par la population étudiée	59

FIGURE 30: L'usage médicinal des huiles essentielles	60
FIGURE 31: Le pourcentage d'utilisation des HE de pin d'Alep et du cyprès par les recensés	60
FIGURE 32: Les différentes voie d'administration des HE par les recensés.	61
FIGURE 33: Les indications thérapeutiques d'HE du cyprès et de pin d'Alep par les recensés.....	62
FIGURE 34: Incidence des effets indésirables après utilisation des HEs.....	62
FIGURE 35: Degré de satisfaction de la population par rapport à l'utilisation des HEs	63
FIGURE 36: Résultat de l'analyse CCM des HEs du cyprès et de pin d'Alep (1er phase mobile)	65
FIGURE 37: Résultat de l'analyse CCM des HEs du cyprès et de pin d'Alep (2eme phase mobile)	66
FIGURE 38: Résultat de l'analyse CCM des HEs du cyprès et de pin d'Alep (3eme phase mobile)	67
FIGURE 39: Pouvoir réducteur de l'HE commerciale de cyprès vert en fonction des concentrations	68
FIGURE 40: Pouvoir réducteur de l'HE extraite de cyprès vert en fonction des concentrations	69
FIGURE 41: Pouvoir réducteur des huiles essentielles du cyprès commerciales/ extraites et d'AC ascorbique en fonction des concentrations.	69
FIGURE 42: Pouvoir réducteur de l'HE commerciale de pin d'Alep en fonction des concentrations	70
FIGURE 43: Pouvoir réducteur de l'HE extraite de pin d'Alep en fonction des concentrations	70
FIGURE 44: Pouvoir réducteur des huiles essentielles de pin d'Alep commerciale / extraite et d'AC ascorbique en fonction des concentrations	71
FIGURE 45: Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique en fonction des concentrations.....	71
FIGURE 46: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE commerciale du cyprès vert.	72
FIGURE 47: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE extraite de cyprès vert.	72
FIGURE 48: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des HEs commerciale extraite du cyprès vert.	73
FIGURE 49: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE commerciale de pin d'Alep.....	74
FIGURE 50: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE extraite de pin d'Alep.	74

FIGURE 51: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des HEs commerciale et extraite de pin d'Alep.	75
FIGURE 52: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique	76
FIGURE 53 : Résultat de l'aromatogramme de l'HE commerciale de cyprès vert sur les 3 souches bactériennes utilisées.....	77
FIGURE 54: Résultat de l'aromatogramme de l'HE extraite de cyprès vert sur les 3 souches bactériennes utilisées.....	78
FIGURE 55: Résultat de l'aromatogramme de l'HE commerciale de pin d'Alep sur les 3 souches bactériennes utilisées.....	80
FIGURE 56: Résultat de l'aromatogramme de l'HE extraite de pin d'Alep sur les 3 souches bactériennes utilisées.....	81

INTRODUCTION

INTRODUCTION GENERALE

Connues de façon empirique depuis des siècles, les huiles essentielles ont occupé toujours une place capitale dans la vie de nos ancêtres et dans les différentes civilisations anciennes notamment l'égyptienne, la grecque et la romaine, dont ils l'ont utilisé non seulement pour ses multitudes vertus médicinales, mais aussi dans d'autres champs d'utilisations : la parfumerie, les cosmétiques, embaumement...(1)

De nos jours, les huiles essentielles possèdent un atout considérable sur le marché mondial grâce à leur réservoir intarissable en principes actifs à activités biologiques et précieux propriétés thérapeutiques, qui peuvent offrir une source naturelle et nouvelle pour des éventuelles applications qui touchent plusieurs segments (2)

Cependant, l'utilisation de cette richesse en Algérie reste timide notamment pour certaines espèces comme le cyprès, le Géranium rosat, le pin d'Alep..). Un retard qui nous a amené à poser la problématique suivante : **Est-ce que les huiles essentielles commercialisées du *Cupressus sempervirens* et de *Pinus halepensis* répondent vraiment aux critères de qualités ?**

C'est dans cette perspective que se situe notre projet dont l'objectif principal peut se résumer ainsi : établir une étude comparative entre les huiles essentielles extraite et commerciale du cyprès et de pin d'Alep, pour traiter ce sujet le choix des plantes est porté sur le cyprès et le pin d'Alep à cause de leurs disponibilités en Algérie.

Dans le cadre de cette étude, le plan adopté comporte deux grandes parties :

La première partie est une synthèse bibliographique composée de deux volets ; dans le premier, on vise à dresser une revue de littérature sur les huiles essentielles, leur composition chimique, les méthodes d'extractions, les effets biologiques ainsi que la toxicité. Quant au second ; il sera consacré à la description botanique, la distribution géographique et l'utilisation du *Cupressus sempervirens* et de *Pinus halepensis*, tout en passant par leur composition chimique et leurs activités biologiques.

La deuxième partie sera dédiée aux travaux expérimentaux ; nous commencerons d'abord par la réalisation d'une enquête ethnobotanique dans le but de recenser la connaissance de nos

INTRODUCTION GENERALE

deux huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep par notre population et de rapporter leur usage médicinal.

Nous passerons ensuite à l'extraction et la caractérisation chimique par CCM, tout en mettant l'accent sur ces activités antioxydantes et antibactériennes, finalement notre manuscrit sera achevé par une conclusion générale et des perspectives futures.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :

Généralités sur les huiles essentielles

1. Définition

La pharmacopée européenne IXème édition a donné aux huiles essentielles la définition suivante : «Produit aromatique, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par distillation à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique adéquat sans chauffage. Une huile essentielle est généralement séparée de la phase aqueuse par un procédé physique qui ne modifie pas significativement sa composition »(3) .

Elles se différencient des huiles végétales par leur propriétés physiques et leur composition, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que leurs taches sur le papier sont passagères (4).

2. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles se logent dans des tissus sécrétoires spéciaux ; le type de tissu sécrétoire diffère selon la famille ou l'espèce de la plante aromatique. On distingue généralement les trichomes glandulaires à la surface de la plante ; quant aux structures sécrétoires à l'intérieur des tissus végétaux, il peut s'agir des canaux sécrétoires ; cellules sécrétoires ou des cavités sécrétoires (5).

Il est intéressant de noter que les organes de la même espèce peuvent contenir des huiles essentielles de composition différente dépendant de la localisation dans la plante.(6)

3. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont certaines caractéristiques physico-chimiques que l'on peut mesurer en laboratoire au moyen de techniques simples ou d'appareils plus complexes :

- Les huiles essentielles sont incolores ou jaune pâle
- Elles sont liquides à température ambiante (ordinaire) et certaines d'entre elles cristallisent à faible température ; d'odeur aromatique très prononcé.
- Solubles dans la plupart des solvants organique et dans les alcools à titre alcoométrique élevé, et dans les huiles végétales (liposolubles) mais peu solubles dans l'eau.
- Dotées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- Volatiles ; très inflammable ; leur consistance est huileuse mais non grasse.

-Leurs densité est en général inférieure à 1 (celle de l'eau) sauf les huiles essentielles de saffran, de girofle et de cannelle.

-Leurs points d'ébullition supérieures à 100°C (160° à 240°) et dépendent de leur poids moléculaire.

-Elles ont un indice de réfraction élevé. (7-9)

4. Composition chimique

Les huiles essentielles sont un mélange de molécules qui appartiennent principalement à deux groupes de composés odorants distincts selon l'origine biogénétique. Il s'agit des terpénoïdes, et des composés aromatiques (phénylpropanoïdes). Et d'autres composés en faibles proportions rentrent dans la composition de certaines huiles (ester ; acide organique ;...)
(10).

4.1. Les terpènes

Les terpènes constituent les principaux composants des huiles essentielles ; Ils sont définis comme des substances composées d'unités d'isoprène (2-méthylbutadiène) (figure 01) L'isoprène n'est pas souvent présent dans les huiles essentielles et n'est pas réellement un intermédiaire dans la biosynthèse. Mais le squelette 2-méthylbutane est facilement discernable dans les terpénoïdes. Le sens de couplage des unités isoprènes est presque toujours unidirectionnel, c'est ce qu'on appelle le couplage tête-queue (figure 02).

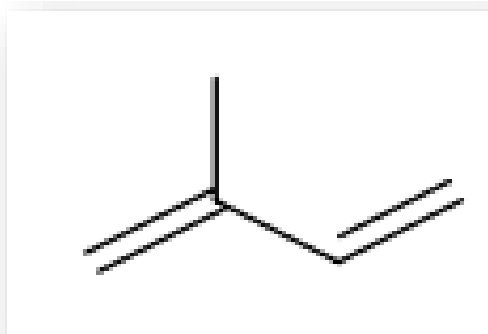


Figure 01 : Structure chimique d'isoprène (11)

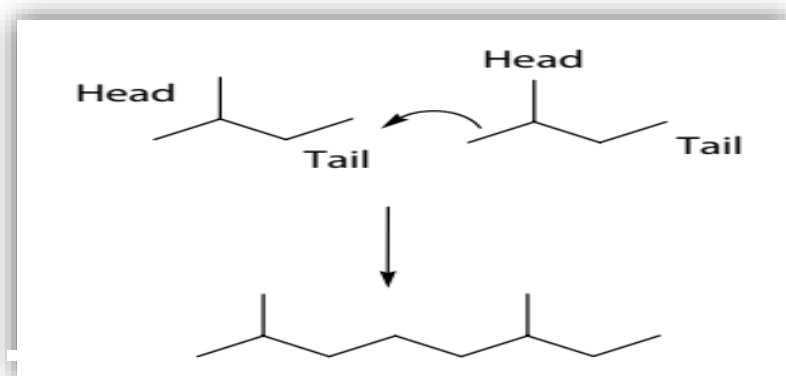


Figure 2 : couplage tête à queue de 2 unités isoprènes (11)

En général, seuls les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes sont suffisamment volatils pour être des composants des huiles essentielles.(11)

4.1.1. Les monoterpènes

Ils sont composés de deux unités isoprènes (C₅H₈), selon le mode de liaison «tête-queue». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bi-cycliques. Et contiennent la plupart des fonction chimique de matières organique à titre d'exemple : Alcool monocyclique (menthol) ; Phénol (thymol, carvacrol) ; Cétones (menthone, camphre) (12,13)

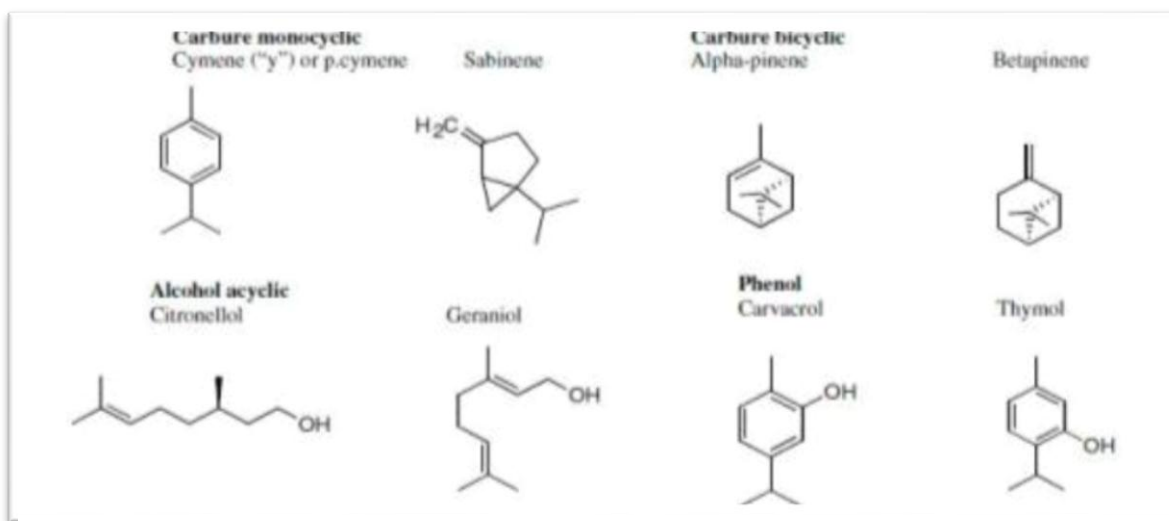


Figure 03 : Quelques composés monoterpènes des HEs.(13)

4.1.2. Les sesquiterpènes

Par définition, les sesquiterpénoïdes contiennent 15 atomes de carbone (C₁₅H₂₄). Cela leur confère une volatilité plus faible et donc point d'ébullition plus élevé que les monoterpénoïdes. Par conséquent, moins d'entre eux (en termes de pourcentage) contribuent à l'odeur des huiles essentielles, mais ceux qui le font ont souvent des seuils olfactifs bas et contribuent de manière significative en tant que notes finales.

Tout comme le géraniol est le précurseur de tous les monoterpénoïdes, le farnésol est le précurseur de tous les sesquiterpénoïdes. Son pyrophosphate est synthétisé dans la nature par l'addition d'isopentényle pyrophosphate (IPP) au pyrophosphate de géranyle et son hydrolyse donne le farnésol.(11)

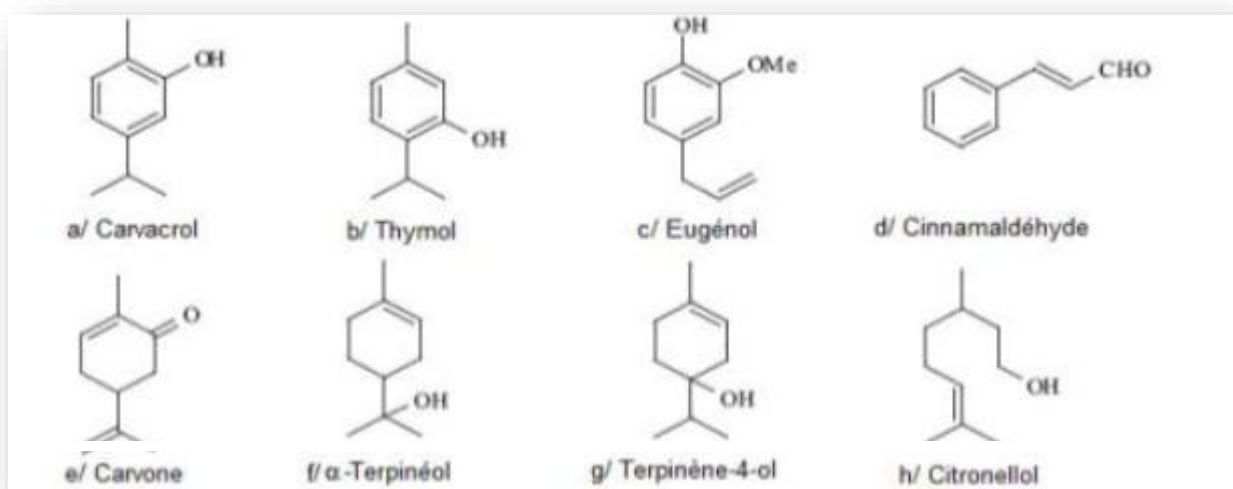


Figure 04: quelques composés sesquiterpéniques des HEs (13)

4.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (C₆-C₃).ils sont moins fréquents que les terpènes dans les huiles essentielles ; et ils peuvent aussi avoir des fonctions chimiques différentes ce sont souvent des allyles et des propenylphenols.

Ils se distinguent entre eux par :

- ✓ Le nombre et la position des groupements hydroxyle et métoxy.
- ✓ La position de la double liaison de la chaîne latérale, allylique ou propénylique.
- ✓ Le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (alcool, aldéhyde, cétone ou acide)

Cette catégorie comprend des composés odorants tels que la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole ... ; ils sont fréquemment rencontrés dans les huiles essentielles d'Apiaceae (anis, fenouil, persil, etc.)(10)

4.3. Notion de chémotype

La composition chimique de l'HE peut être différente au sein d'une même espèce de plante. Le chémotype d'une HE est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou caractéristique de l'HE. Cette classification permet de mieux cibler le choix d'une HE pour un usage thérapeutique plus précis et plus efficace.(12)

A titre d'exemple, l'HE de *Thymus vulgaris* à carvacrol est connue pour son activité antiseptique majoritairement tandis que l'HE de *Thymus vulgaris* à thymol a des propriétés anti-infectieuses majeures.(14)

5. Le rôle des HEs dans la plante

Le rôle de l'HE dans une plante demeure encore mal clarifié. Les travaux menés dans ce sens tendent à montrer que ces huiles pourraient constituer un élément de défense contre les différents prédateurs (champignons ; herbivores ; insectes ; micro-organisme) en modulant leur comportement vis-à-vis des plantes. Ces plantes aromatique se servent également des HEs pour empêcher la germination et le développement de certaines espèces végétales dans leur voisinage.

Par ailleurs ces essences peuvent jouer un rôle important en tant que modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaires qui protègent la plante contre les agents atmosphériques (15).

6. Paramètres influençant la composition quantitative et qualitative des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au niveau du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale car les activités biologiques qui découlent des huiles essentielles peuvent être très différentes. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante.

6.1. Facteurs intrinsèques

Une huile essentielle doit avant tout autre chose être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal.

L'influence du stade végétatif, l'organe, les hybridations, les facteurs de mutation, et le polymorphisme chimique « chimiotypes ou formes physiologiques » sont les principaux facteurs intrinsèques qui influencent la composition et le rendement des huiles essentielles (16).

6.2. Facteurs extrinsèques

Les conditions environnementales influencent aussi la composition des huiles essentielles. La température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée. Il n'y a pas eu mal des travaux ayant mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première, les conditions culturales telles que la date de semis, la date de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récolte influencent aussi la composition et le rendement des huiles essentielles (17).

7. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

7.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

La méthode d'extraction à la vapeur d'eau des huiles essentielles est considérée comme l'une des méthodes les plus utilisées pour obtenir des huiles essentielles de qualité. Dans ce système d'extraction, contrairement à l'hydrodistillation, le matériel végétal ne subit pas de macération directe dans l'eau, ce qui permet d'éviter certaines altérations hydrolytiques ou phénomènes de dégradation qui peuvent affecter négativement la qualité de l'huile.(18). L'échantillon est placé sur une grille, traversée par un courant de vapeur d'eau fourni par une chaudière. Sous l'action de l'humidité et de la chaleur, les molécules volatiles se libèrent et sont alors acheminées vers le condenseur et l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle (1).

Enfin, l'utilisation en aromathérapie nécessite un fonctionnement prolongé au besoin pour récupérer tous les composants aromatiques volatils.

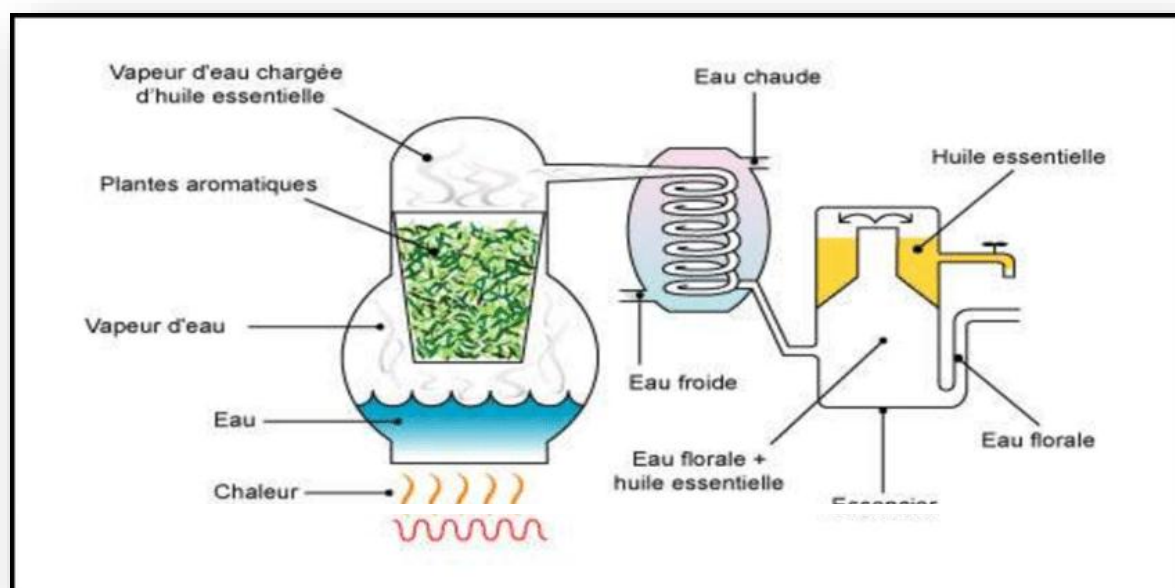


Figure 05 : Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.(16)

7.2. Extraction par Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus ancienne et la plus employée pour l'extraction des huiles essentielles. Elle consiste à charger la cuve d'un alambic par la partie de la plante à extraire dans l'eau chauffée jusqu'à l'ébullition (20). Ensuite, les vapeurs hétérogènes sont

condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par une simple différence de densité (1). Cette méthode présente des inconvénients qui sont principalement dus à l'action de la vapeur ou de l'eau bouillante ; certains organes végétaux, notamment les fleurs, sont trop fragiles pour supporter le traitement de distillation à la vapeur et d'hydrodistillation(18).

Cependant, le contact direct des composants de l'HE avec l'eau peut provoquer des réactions chimiques qui entraînent des changements dans la composition finale de l'extrait.

7.3. Expression à froid

Les huiles essentielles d'agrumes sont des produits fragiles du fait de leur composition chimique. C'est pourquoi, une technique d'extraction différente est élaborée pour cette catégorie de matière première. Le principe de cette technique est basé sur la rupture des parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe du fruit. Le produit final est une essence qui est entraînée par un courant d'eau froide qui n'a subi aucune modification chimique lors de son procédé d'extraction(21).

7.4. Extraction au moyen de solvants

Certaines plantes sont très sensibles à la chaleur. Il est donc impossible d'utiliser certains procédés comme la distillation à la vapeur d'eau ou l'hydrodistillation pour en extraire l'huile essentielle. Afin d'y remédier, on a recours à certaines méthodes d'extraction des composés odorants volatils telles que l'extraction par les solvants (22). Ce procédé consiste à placer le solvant volatil et la matière végétale à traiter dans l'extracteur. Du fait du lavage en continu, le solvant va être saturé en molécules aromatiques puis envoyé au concentrateur où il est distillé à pression atmosphérique. Le produit obtenu est appelé "concrète" (23). Le solvant utilisé ne doit pas réagir chimiquement avec l'extrait, de plus il doit avoir une certaine stabilité à la chaleur, à la lumière et à l'O₂ pour éviter toute sorte d'altération. Parmi les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (18).

8. La toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits à risque. La toxicité provient de la présence de certaines molécules aromatiques pour lesquelles des risques ont été identifiés suite à des

tests : la famille des cétones (une neurotoxicité et un risque abortif), la famille des phénols et des aldéhydes (dermocausticité, hépato-toxicité, irritation des muqueuses respiratoires, déclenchement des crises d'asthmes), la famille des furocoumarines et pyrocoumarines (réactions érythémateuses sous l'effet prolongé du soleil), la famille des monoterpènes (enflamme et détériorer les néphrons) (24).

Dans le monde actuel des produits naturels, il convient de ne pas utiliser ces substances de façon abusive. Comme pour un médicament, il existe pour chaque huile essentielle un équilibre entre le bénéfique et le risque qui doit aussi être envisagé en fonction du sujet.

9. Activités biologiques des huiles essentielles

La diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et propriétés biologiques.

Les activités antifongiques de nombreuses huiles essentielles incluant les huiles de thym, de citronnelle, de cannelle et de *Melaleuca alternifolia* ont été décrites. L'efficacité des huiles extraites des achillées, *Achillea fragrantissima*, *A. terrefolia* et *A. millefolium*, contre la levure pathogène *Candida albicans*, a également été mise en évidence.

Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle isolée des graines de *Nigella sativa* L., démontre une activité cytotoxique *in vitro* contre différentes lignées tumorales. *In vivo*, elle limite la prolifération des métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé la tumeur P815. L'huile essentielle de *Melissa officinalis* s'est révélée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant des cellules leucémiques HL-60 et K562.

D'autres applications médicales ont également été étudiées. Les travaux d'Oussou (2009) ont démontré la capacité de l'huile essentielle de basilic à limiter la formation d'ulcères gastriques induits par l'éthanol. Les recherches de Monti (2002) ont montré que les huiles essentielles facilitent la pénétration transdermique de substances médicamenteuses lipophiles comme l'estradiol.

Généralités sur les huiles essentielles

Des études ont également tenté d'analyser les effets des huiles essentielles sur le comportement et d'évaluer la possibilité de les utiliser pour lutter contre la dépendance à certaines drogues comme la nicotine (25)

CHAPITRE II :

*Présentation de l'espèce du Cupressus sempervirens
et de Pinus halepensis.*

1. Généralités sur le *Cupressus sempervirens*

1.1. Généralité

CUPRESSUS SEMPERVIRENS est une belle plante à feuilles persistantes appartenant aux Conifères de la famille des Cupressacées. C'est un arbre robuste qui peut résister à des conditions physiques très difficiles. Il pousse sur presque tous les types de sol et résiste à une sécheresse prolongée. Cependant, il peut aussi évoluer dans des climats humides (7).

Avec son élégante silhouette énoncée, le cyprès est un conifère emblématique des paysages méditerranéens, il a aussi été surnommé "cyprès d'Italie", "cyprès de Provence" ou tout simplement "cyprès méditerranéen" (26).

Il tire son nom, *Cupressus*, de *Cyprus*, qui indique une supposée d'origine chypriote. *Sempervirens* se traduit par « toujours vert », ce qui témoigne bien de son feuillage persistant, qui reste toujours vert.(27)

Sa présence sur les cimetières est aussi reliée à son symbole de vie éternelle qu'il doit à son feuillage toujours vert, à ses fruits toujours présents, et à son bois, quasi imputrescible (28).

1.2. Taxonomie

Selon AL-SNAFI , *Cupressus Sempervirens* L. est classé comme suit : (29)

Tableau I: Classification de *Cupressus sempervirens* L.

<i>Embranchement</i>	<i>Spermaphytes</i>
<i>Sous-embranchement</i>	<i>Gymnospermes</i>
<i>Classe</i>	<i>Pinopsida</i>
<i>Ordre</i>	<i>Pinales</i>
<i>Famille</i>	<i>Cupressaceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Cupressus</i>
<i>Espèce</i>	<i>Cupressus sempervirens. L.</i>

1.3. Description botanique

1.3.1. La taille

Le cyprès est un conifère qui peut atteindre une hauteur de 20 à 30 m et une largeur de 3 à 5 m. Sa croissance est rapide : il peut croître un mètre par an (30).

1.3.2. La forme

On recense plusieurs variétés de cyprès qui par sélection, ont donné des formes aujourd'hui bien distinctes reproduites par bouturage. On distingue, la forme horizontale avec une large couronne pyramidale et des branches s'étalant horizontalement, et la forme pyramidale qui forme un fuseau plus ou moins étroit prenant la forme d'un sapin (31).



Figure 06 : La forme pyramidalis et horizontalis du Cupressus sempervirens (32).

1.3.3. Les feuilles

Le cyprès forme des feuilles persistantes, vertes, en forme d'écailles triangulaire recouvrant totalement les rameaux. En formant à chaque fois une rangée de 4 écailles poussant aux extrémités émoussées (30) .

Elles sont aplaties, épaisses, glanduleuses, avec des bords finement denticulées, de couleur verte foncée, dégagent une odeur aromatique apaisante caractéristique bien connue des habitants du méditerranéen (30).

1.3.4. Les fleurs

La floraison a lieu au tout début de l'année. En général elle se situe entre janvier et mars mais elle peut varier suivant les régions (30).

Les fleurs unisexuées se situent à l'extrémité des rameaux et sont groupées en épis ou chatons, caractérisant les conifères.

On distingue, les chatons mâles de couleur jaune à brun clair à maturité, qui se présentent sous forme de petits renflements comme : des massues. Qui referment un pollen très allergisant (33).

Les fleurs femelles sont rassemblées en bouquet à l'extrémité des jeunes pousses dans des chatons en forme de minuscules artichauts verts globuleux, situés juste au-dessus des chatons mâles portés par de jeunes rameaux. (34).



Figure 07 : Fleurs mâles et femelles de Cupressus sempervirens(35)

1.3.5. Les cônes fructifères

Les inflorescences mâles et femelles sont séparées mais présentes sur le même pied, sous forme de cônes globuleux.

Le fruit de cyprès est un cône ovoïde de 20-25mm et de 3 à 4 cm de diamètre, avec une couleur vert luisant la première année (36). Il met deux ans à mûrir et devient brun foncé qui évolue par la suite en galbules lignifiées appelées : Noix de Cyprès.(37)

Il a une forme strobile, globulaire, verte, brillante, légèrement mucronée dans ces extrémités, comprenant 6 à 14 écailles opposées ligneuses et polygonales (34).



Figure 08 : Les fruits (cônes) de cupressus sempervirens(33)

1.3.6 Les graines

A leur maturité les écailles vont se séparer et libérer les graines nues ailées de petites tailles mesurant de 4 à 7 mm de long , Deux ailes sont placées de chaque côté des graines (7,31).

A l'intérieur de la graine, on trouve l'embryon entouré d'un tissu de réserve ; sa forme ailée favorise sa désamination par le vent (30).

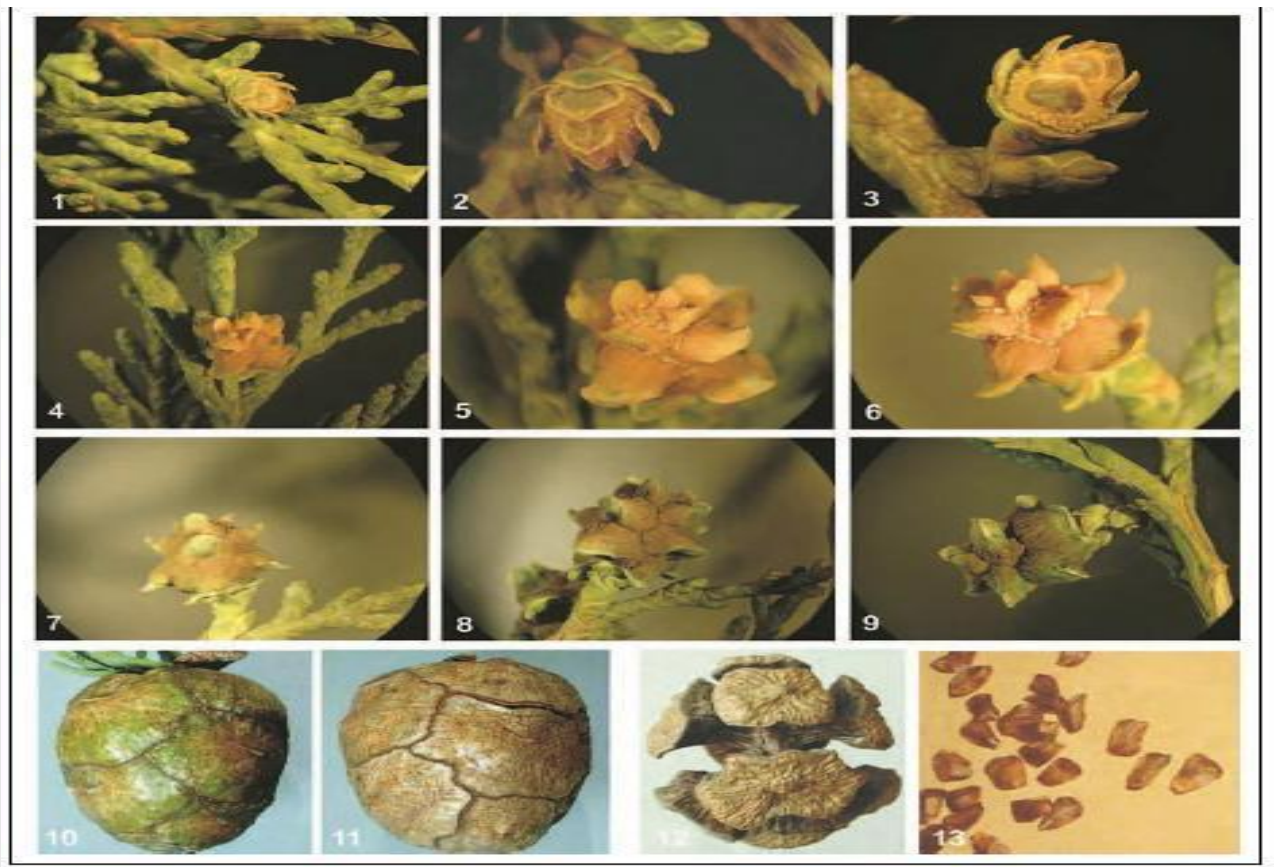


Figure 09 : Etapes de formation de la graine du Cupressus sempervirens (38) .

- 2- 3 : Phase initiale avec exposition des ovules.
- 4- 5- 6 : Premières phases de la fécondation.
- 7- 8- 9 : Grossissement des carpelles et formation du jeune cône.
- 10- 11- 12- 13 : Développement du cône jusqu'à l'ouverture et à la production de la graine.

1.4. Répartition géographique

1.4.1. Dans le monde

Le genre *Cupressus* représente, la famille des Cupressacée qui pousse un peu partout dans le monde, notamment dans l'hémisphère nord au niveau de la zone tempérée chaude et subtropicale.

Son aire de répartition naturelle est divisée en 2 groupes bien distincts :

- Le groupe américain.
- Le groupe eurasien.

Dans le groupe américain, on retrouve quelques espèces qui se concentrent principalement dans l'ouest des États-Unis surtout en Californie (30).

Dans le groupe eurasien, la plante a été distribuée en Asie tropicale à haute altitude (Palestine, Jordanie, Liban, Syrie, Irak, Turquie), au Proche -Orient où l'on trouve à l'état spontané en Iran, en Chine, et dans le nord de l'Inde (33).

Cependant, *Cupressus sempervirens* L était originaire du bassin méditerranéen, ou il est été cultivé comme arbres d'ornement. Il pousse en Afrique, que ce soit au Maghreb comme au Maroc ou en Algérie, ou bien au sud d'Europe en Grèce, Portugal, France et en Italie, ou on le trouve le plus souvent à l'état sauvage (34).

Enfin, puisqu'il résiste plutôt bien au froid, le Cyprès de Provence pousse aussi au Royaume-Uni, en Belgique, aux Pays-Bas, en Allemagne ou encore même en Hongrie, au Danemark ou encore en Suède. Mais il sera beaucoup moins commun qu'en Méditerranée de l'Ouest (38).

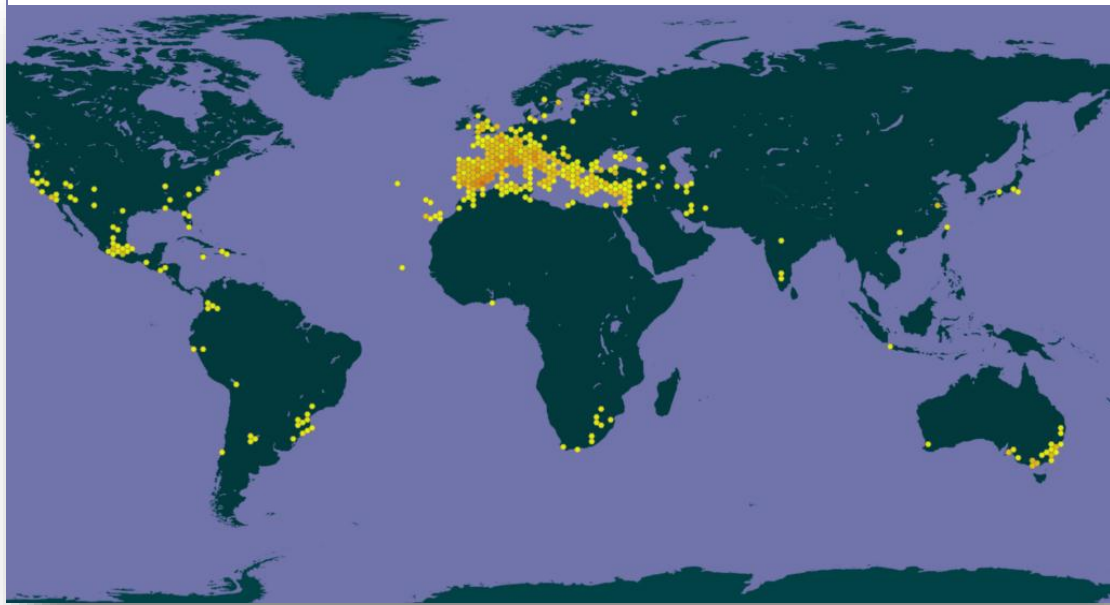


Figure 10 : Aire de répartition de Cupressus sempervirens L. dans le monde (37)

1.4.2. En Algérie

Les explorations botaniques faites montrent bien la richesse et la diversité floristique de l'Algérie. Cependant, La méditerranée est l'une des régions du monde qui accuserait l'augmentation de la température la plus importante. Cette augmentation est accompagnée d'une variabilité plus marquée sur l'abondance du couvert forestier.

Ainsi, les groupements forestiers des deux atlas varient d'un secteur à un autre, voire même au sein d'un même secteur c'est à dire d'une région à l'autre. Parmi les peuplements forestiers de l'atlas algérien qui nous intéressent ce sont bien les cupressinées (34).

Le cyprès vert (*Cupressus sempervirens* .L) est le plus répandu. Il offre une très grande diversité notamment en termes de forme et est utilisé à des fins ornementales, en brise vent ou encore en tant qu'arbre forestier sauvage ; tandis que, le cyprès de Duprez (*Cupressus dupreziana* A. Camus) se rencontre naturellement dans le désert du Tassili N'Ajjer (Algérie) et Représente une des espèces rares et menacées. Et, enfin on trouve Le cyprès de l'Arizona (*Cupressus arizonica* Greene) qui est une espèce introduite et pas très utilisée (36).

CHAPITRE II : Présentation de l'espèce *Cupressus sempervirens* et *Pinus halepensis*

L'adaptation exceptionnelle de ces 3 espèces face à la sécheresse est due à son << appareil chloro-vaporisateur >> qui va agir en réunissant les feuilles, en épaississant l'épiderme de cire, et en fermant les stomates qui permettent les échanges gazeux avec l'extérieur (30).

1.5. Caractéristiques écologiques

Dans les habitats naturels, le cyprès est présent dans les climats méditerranéens avec des étés secs et chauds et des hivers pluvieux, ou dans des climats semi-arides dans les zones orientales et intérieures de son aire de répartition (34).

C'est une espèce exigeante en lumière, résistante à la sécheresse et à la chaleur, qui croît avec un taux de pluie de seulement 200 mm par an. Sa période de croissance végétative coïncide avec le printemps et l'automne, pendant la période hivernale et celle des grandes chaleurs elle est au repos, tandis qu'elle peut reprendre rapidement après la pluie grâce à son grand système racinaire peu profond. Et du point de vue thermique, il peut résister à une température jusqu'à -20°C (39).

C'est une espèce pionnière qui croît rapidement lorsqu'elle est jeune sur la plupart des substrats, mais pas sur l'argile ou les sols engorgés d'eau. Il prospère mieux que les autres espèces sur des sols rocheux, secs et compacts, même s'il préfère des sols riches, profonds, humides et bien aérés avec un pH neutre, où cependant il est moins compétitif (34).

1.6. Propriétés pharmacologique

Le *Cupressus sempervirens* est considéré comme l'une des plus anciennes plantes médicinales utilisées par l'homme depuis l'Antiquité. Caractérisé par sa grande polyvalence thérapeutique qui s'exprime surtout à travers les rameaux et les cônes qui contiennent les différents constituants chimiques et principes actifs.

Les cônes de cyprès renferment des flavonoïdes, aux propriétés anti-inflammatoires, et des tanins qui protègent le système vasculaire et maintiennent le tonus veineux(40). Ils sont également utilisés comme anti-diarrhéique, antiseptique, astringent, anti-hémorroïdaire, et antirhumatisme.(41)

CHAPITRE II : Présentation de l'espèce *Cupressus sempervirens* et *Pinus halepensis*

Les noix de cyprès refferment des principes actifs aux propriétés antivirales, faisant de cette plante, la plante majeure dans toutes les affections virales aiguës ou récidivantes. Ces molécules ont une action directe sur le virus et permettent ainsi de supprimer l'infection.(42)

Ses feuilles séchées sont utilisées comme emménagogue et pour soulager les maux d'estomac ainsi que pour le diabète. Sa graine séchée a été utilisée pour traiter des plaies, des ulcères, des ecchymoses, des boutons ; et des éruptions cutanées (36)

1.7. Composition chimique

1.7.1. Les rameaux

La composition chimique des rameaux *Cupressus sempervirens* révèle :

- Cupressuflavone et amentoflavone (43)
- Des biflavones : Ces molécules appartiennent au groupe des flavonoïdes.
- 3 à 8 ml/kg d'huile essentielle constituée principalement des monoterpènes,, sesquiterpènes, d'esters et monoterpénols (30)

1.7.2. Les cônes fructifères

L'étude de la composition chimique des cônes a montré également la présence :

- Des dimères et oligomères proanthocyanidoliques : Ces molécules appartiennent au groupes des tanins.
- 5ml/kg d'huile essentielle constitué principalement d'hydrocarbures monoterpéniques
- Acides diterpéniques : acide communique, acide sandracopimarique ...
- Alcools diterpéniques
- Des biflavonoïdes de type procyanidols du groupe B : ces molécules appartiennent au groupes des flavonoïdes
- Alcools: bornéol, terpinéol, linalol, cédrol (44)

1.7.3. Les feuilles

Le criblage phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des tanins ; stérols ; coumarines ; triterpènes ; flavonoïdes ; alcaloïdes et mucilages. Ainsi que la cellulose ; hémicellulose et lignine (45)

1.8. L'huile essentielle de *Cupressus sempervirens*

1.8.1. Composition chimique

L'analyse de l'HE des rameaux feuillés et des cônes de *C. sempervirens* a permis l'identification des dizaines de composés volatils où l'Alpha-pinène a été trouvé comme composé majoritaire suivi par d'autres composés qui sont présents avec des taux inférieurs : (33).

-Monoterpènes : d-camphène, limonène, myrcène, alpha-terpinéol, 4-terpinéol, p-cudirène

- Sesquiterpénols : cédrol, cadinol

-Diterpénols labdaniques : manool, sempervirol

-Acides diterpéniques : acides néocupressiques

-Aldéhydes : furfural

1.8.2. Propriétés pharmacologiques

▲ Action veinotonique

Tout d'abord, l'action majeure est située dans le système capillaro-veineux où il présente une efficacité remarquable ; on l'utilisera principalement dans : (30)

-Les hémorroïdes.

-Les varices.

-Les jambes lourdes.

-Les œdèmes des membres inférieurs.

▲ Action antivirale

Des études ont démontré une action antivirale de l'extrait de cônes de Cyprès et notamment sur le virus de l'herpès, responsable de l'herpès labial, le virus de la grippe de type A et sur le coronavirus.

L'activité antivirale de l'extrait de Cyprès a été comparée à différentes concentrations à celle d'une molécule antivirale de référence dans le traitement de l'herpès : l'aciclovir. Les résultats ont montré que l'extrait de Cyprès inhibait la réplication virale à hauteur de 68,5 % à une concentration de 12,5 µg/ml, alors que l'aciclovir n'inhibait la réplication du virus herpétique qu'à hauteur de 55 % (33).

▲ Action antibactérienne et antifongique

Des études ont pu mettre en avant le pouvoir antibactérien et antifongique engendré par l'huile essentielle de cônes de Cyprès au contact de diverses espèces bactériennes ou fongiques dont *E. Coli*, *P. Aeruginosa*, *C. Albicans* et *S. Aureus*. Les résultats sont révélées concluants pour quasiment tous les germes sauf *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montré résistante, pour la levure l'HE a exhibé une action modérément inhibitrice.(46)

▲ Action anti-inflammatoire et antalgique

D'autres études encore ont pu démontrer une action antalgique des cônes de Cyprès, en raison de leur composition riche en monoterpènes et en limonène, tandis que l'action anti-inflammatoire s'explique par la présence de l'acétate de bornyle.(44)

Ainsi, cette activité « antimicrobienne », associée aux vertus anti-inflammatoires, justifie l'utilisation du Cyprès dans la prévention et le traitement d'affections saisonnières comme la grippe ou les affections ORL de type rhume hivernal.(44)

▲ Activité antispasmodique

L'huile essentielle de cyprès exerce des actions antispasmodiques et immunostimulantes permettant de lutter contre les affections pulmonaires et les phénomènes de refroidissement, principalement, les toux opiniâtres et quinteuses (coqueluche), la sinusite et l'asthme (43).

2. Généralités sur le *Pinus halepensis*

2.1. Généralité

-Le pin d'Alep ou *Pinus halepensis* est un conifère de la famille des Pinaceae ; il a été décrit par le botaniste écossais **Philip Miller** en 1768 (47).

-Les pins du groupe "halepensis" sont des espèces forestières de première importance dans le bassin méditerranéen par la surface qu'il occupe et le rôle qu'il joue dans l'économie des pays de cette région (48) .

-Pendant plusieurs siècles de nombreux pays arabes ont utilisé les graines de *Pinus* pour préparer un pudding sucré appelé « Assida Zgougou » ; récemment il a été ajouté comme un ingrédient dans les glaces et les bonbons (49).

2.2. Taxonomie

La systématique du pin d'Alep se résume comme suit :(50)

Tableau II: Taxonomie de *Pinus halepensis* Mill.

<i>Règne</i>	<i>Plantae</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Spermatophytes</i>
<i>Sous embranchement</i>	<i>Gymnospermes</i>
<i>Classe</i>	<i>Pinopsida</i>
<i>Ordre</i>	<i>Pinales</i>
<i>Famille</i>	<i>Pinacées</i>
<i>Genre</i>	<i>Pinus</i>
<i>Espèce</i>	<i>Halepensis Mill</i>

2.3. Description botanique

2.3.1. La taille

Le Pin d'Alep est un arbre vert, d'une hauteur totale de 25 à 27 mètres, sa longévité ne dépasse pas 150 ans. Au tronc tortueux, irrégulier et branchu (51).

2.3.2. L'écorce

L'écorce des jeunes arbres est lisse et gris argenté ; puis chez les adultes elle forme un rhytidome crevassée avec des écailles de couleur rougeâtre (48).

2.3.3. Les feuilles

Elles sont en forme d'aiguilles très fines <1mm ; de couleur vert jaunâtre ; finement denticulées sur les bords ; de 5 à 10 cm de longueur ; rassemblés par deux rarement par trois dans une gaine ; réunis en pinceaux à l'extrémité des ramifications (48).

2.3.4. Les cônes fructifères

➤ Les cônes femelles : ligneux ovoïde-conique avec pédoncule épais ; isolés ou par paires, ils deviennent matures au bout de deux ans ; laissent souvent leur graines s'échapper au cours de la troisième année (48).



Figure 11 : Les feuilles du pin d'Alep



Figure 12 : Les cônes femelles du pin d'Alep

➤ Les cônes males : de 6 à 7 cm rassemblant à des chatons dressés, produisent une grande quantité de pollen jaune orangé dispersé par le vent (48).

2.3.5. Les graines

Leur taille est de 7 mm ; brun gris sur une face ; gris moucheté de noir sur l'autre; Munie d'une aile allongée 4 fois plus longue qu'elle, qui facilite leur dissémination rapide (48,52).



Figure 13 : Les cônes male et les graines de pin d'Alep (53)

2.4. Répartition géographique

Le pin est originaire de l'hémisphère nord, notamment dans la région méditerranéenne (fig..) où il occupe plus de 25.000 km² et domine les formations forestières des régions semi-arides et arides. Son aire de répartition continentale s'étend de l'Afrique du Nord (Algérie ; Tunisie ; Maroc et Libye) et du Moyen-Orient (Syrie, Liban, Jordanie, Palestine et Turquie), jusqu'au sud de l'Europe méditerranéenne (Grèce orientale, Croatie, Italie du Nord, France orientale et Espagne orientale) (54) .

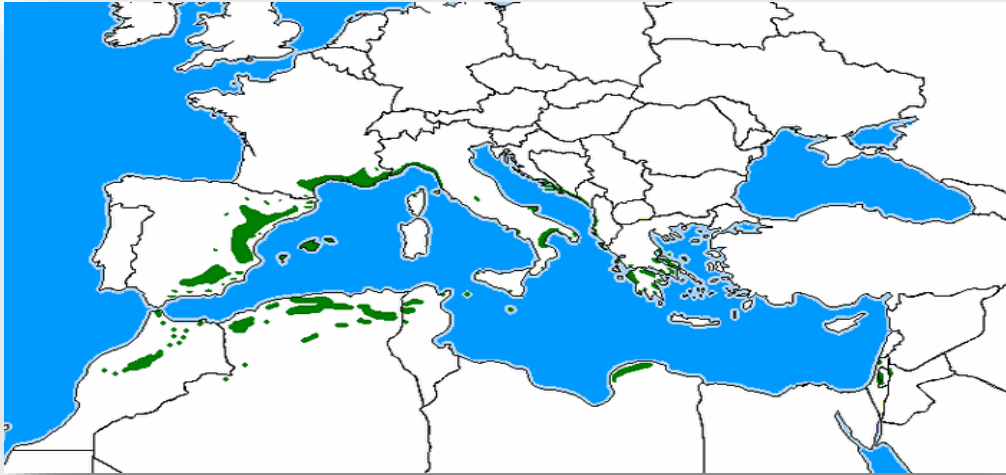


Figure 14 : Aire de répartition de pin d'Alep dans le monde(55).

En Algérie le pin est fréquent dans la surface forestière du tell littoral et l'Atlas saharien, avec une couverture de 37% (56).

Il présente de vastes peuplements en Oranais (Sidi-Bel-Abbès, Saïda, Tlemcen, Tiaret) dans la région algéroise (Médéa, Boughar, Monts des Bibans), dans le sud Constantinois (Aurès, région de Tébessa), et sur l'Atlas Saharien (Monts des Ouled Nail) (57).

2.5. Propriétés thérapeutiques

Le pin d'Alep est réputé pour ses vertus thérapeutiques et son utilisation en médecine traditionnelle pour le traitement de plusieurs affections ; les applications thérapeutiques de cette plante varient en fonction de la partie utilisée (58).

Les bourgeons ; les feuilles et la résine de la plante sont utilisés en décoction ou en cataplasme contre les affections respiratoires, urinaires ; comme antiseptique ; et stimulant des glandes surrénales (59).

Les gaines sont fréquemment utilisées en décoction contre l'ulcère gastrique et intestinal ; les infections respiratoires ; les infections de prostate ; la stérilité ; et les affections dentaires (60) .

Les cônes en infusion ou en poudre sont utilisés contre les hémorroïdes ; tuberculose ; les maladies pulmonaires ; hypertension (61,62).

CHAPITRE II : Présentation de l'espèce *Cupressus sempervirens* et *Pinus halepensis*

Les écorces et la résine de *Pinus* sont utilisés sous forme de poudre contre les troubles digestifs ;respiratoires ;cutanés ;circulatoires ;et génitaux (63).

Les racines sont également utilisées en décoction pour le traitement des infections respiratoires (64).

2.6. La composition chimique

2.6.1. Les branches

L'étude de la composition chimique des branches de *P. halepensis* montre sa richesse en aldéhydes ; en hydrocarbures ; et aussi en acétones. concernant les terpenoides il y'a un dominance de terpinène-4-ol (18,25%) (65).

2.6.2. Les cônes

L'analyse chimique des cônes de *P. halepensis* collecté en Algérie a indiqué la présence de 2 composés phénolique : la catéchine suivi de l'acide cinnamique. (66). Une autre étude réalisée en Italie a montré la présence des terpenoides dans l'huile végétale des cônes (67).

2.6.3. Les graines

L'analyse moyenne des graines montre qu'elles contiennent 22 ,7 % de protéines, 43,3 % d'huile et 25,7 % d'hydrates de carbone totaux. En ce qui concerne les minéraux, il y'a une dominance de potassium, magnésium et calcium. Pour les acides oléiques et linoléiques qui sont les principaux acides gras insaturés on note un taux de 27,3% et de 48,8% ; respectivement, alors que le principal acide gras saturé est l'acide palmitique (8,75%). Quant à l'ensemble de polyphénols et flavonoïdes, ils y sont présents aux pourcentages de 3,71 % et 0,80 % respectivement (68).

2.6.4. Les racines et les aiguilles

L'analyse chimique des extraits de racine et aiguille de *P.halepensis* a indiqué la présence de 59 composés appartenant aux différent groupes phytochimiques: les composés phénolique(50%) ; les acides gras(44%) ; monoterpènes(5%) ; sesquiterpènes (1%) (69).

2.7. L'huile essentielle de *Pinus halepensis* MILL

2.7.1. Composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles de *P. halepensis* varie de façon marquée en fonction des organes et des sites de récolte. 58 composés ont été identifiés dans l'huile extraite à partir des aiguilles avec le (Z) -caryophyllène et le b-pinène comme principaux constituants ; 57 dans l'huile des cônes avec l'alpha-pinène et le (Z)-caryophyllène comme composants principaux ; et seulement 27 dans l'huile extraite à partir des tiges avec l'alpha-pinène et le b-myrcène comme composants principaux (70).

2.7.2. Propriétés pharmacologiques

➤ **Activité antibactérienne :** l'HE de pin a montré un pouvoir antibactérien remarquable sur les souches de référence testées (*Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* ; *Listeria monocytogenes* ; *Proteus mirabilis* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; *Bacillus subtilis*) dont les souches les plus sensibles sont : *S.aureus* ; *L.monocytogenes* ; *P.mirabilis* (71).

➤ **Activité antifongique :** l'HE de gemme des pins (essence de térébenthine) a montré un pouvoir antifongique contre *Aspergillus Niger* à une concentration de 1/100 (72).

➤ **Activité larvicide :** le moustique tigre « *Aedes albopictus* » est connu en tant que vecteur de transmission de plusieurs pathogènes viraux. L'HE de *Pinus* a montré une activité larvicide sur la survie et le temps de développement (DT) de larves d'*Aedes albopictus* (73).

➤ **Effet protecteur :** en mesurant les paramètres physiologiques et certaines modifications histopathologiques, il a été observé que l'HE des aiguilles de *Pinus halepensis* avait un effet protecteur contre les effets secondaires de l'aspirine sur le foie et les reins chez les rats. Les résultats ont indiqué une diminution significative des paramètres biochimiques hépatiques (glucose ; cholestérol ; ASAT ; ALAT ; LDH) et rénaux (créatine ; urée ; protéine) par rapport au groupe témoin traité seulement par l'aspirine. Confirmant l'effet protecteur important de cette HE contre la toxicité induite par l'aspirine (74).

CHAPITRE II : Présentation de l'espèce *Cupressus sempervirens* et *Pinus halepensis*

L'HE de pin a montré également un effet protecteur contre la neurodegeneration et la démence d'Alzheimer par une diminution significative de l'action de AchE (acétylcholine estérase) et des dommages oxydatifs dans l'hippocampe des rats (75).

➤ **Activité antioxydante :** l'huile essentielle de Pinus montre son efficacité à neutraliser les radicaux libres via différents mécanismes in vitro, en utilisant les 3 méthodes expérimentales : DPPH, ABTS et FRAP (71).

ETUDE EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODES

1. Objectifs de l'étude

▲ Objectifs principaux

Effectuer une étude comparative des activités biologiques entre les huiles essentielles extraites et ses homologues commerciales des espèces «*Cupressus Sempervirens* » et «*Pinus halepensis* »

▲ Objectifs secondaires :

Réaliser une enquête ethnobotanique sur les huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep.

2. Etude ethnobotanique sur les HEs du cyprès et de pin d'Alep

2.1. Type de l'étude

Nous avons entamé la partie pratique de notre mémoire de fin d'étude par le lancement d'une enquête ethnobotanique de type descriptive transversale.

2.2. Matériels

L'enquête est effectuée sur la base d'un formulaire préétabli comportant trois parties incluant 15 variables (voir annexe I), validé par un pharmacographe Dr N.Belifa.

Excel STAT version 2013.

2.3. Méthode

Notre enquête ethnobotanique a été réalisée auprès de la population algérienne du 10 janvier 2023 au 15 avril 2023, les informations ont été recueillies au moyen d'un questionnaire en langue française et en arabe (voir Annexe I) et diffusé en ligne via (Google Form®). Les données recueillies sont saisies et analysées par le logiciel de traitement statistique Excel STAT version 2013.

3. Etude biologique sur les HEs du cyprès et de pin d'Alep

3.1. Type et lieu d'étude

Une étude expérimentale a été effectuée au niveau du laboratoire de chimie minérale de la faculté de médecine département de pharmacie de Tlemcen. Elle a duré deux mois (du 10 avril 2023 au 9 juin 2023).

3.2. Matériel

3.2.1 Matériel végétal

L'étude a été menée sur les feuilles des deux plantes : *Pinus halepensis* ; *Cupressus sempervirens*.



Figure 15 : Feuilles de pin d'Alep et du cyprès (photo originale.)

▲ Zone de récolte

- ▲ **Pin d'Alep** : la plante a été récoltée à 4 km de la commune de Bouhlou wilaya de Tlemcen.



Figure 16 : Localisation géographique de la zone de cueillette de pin d'Alep.

✧ **Cyprès vert** : la récolte a été effectuée près de la plage de Bider située au Nord-ouest de la wilaya de Tlemcen.

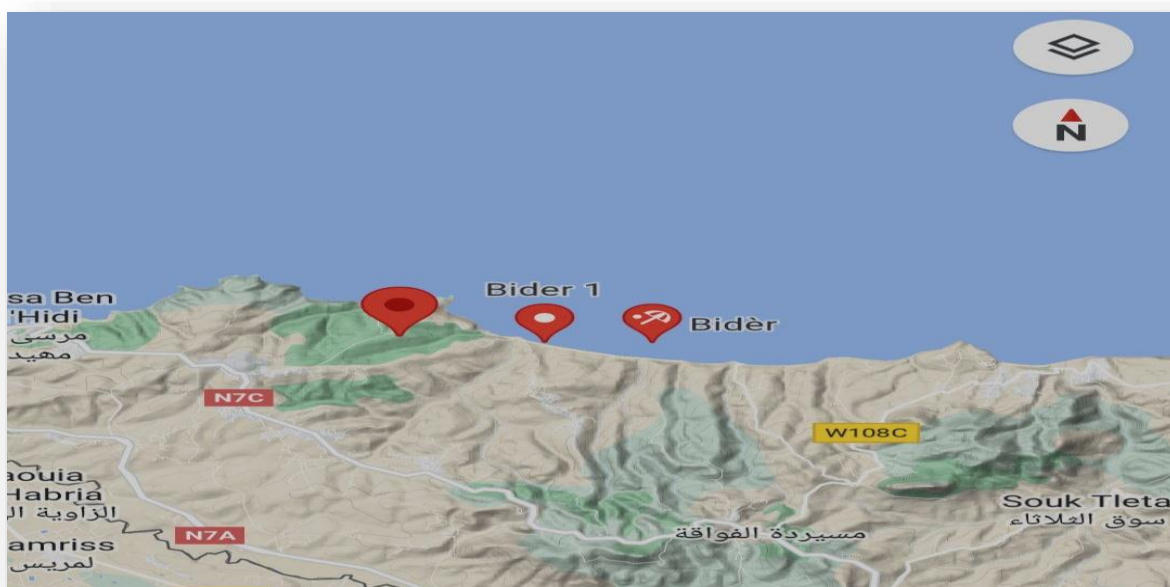


Figure 17 : Localisation géographique de la zone de cueillette de cyprès vert.

✧ **La période de la collecte**

La collecte des feuilles de cyprès a été effectuée au début de la période hivernale (05 janvier 2023), alors que celle des feuilles du pin d'Alep a été faite en mi- janvier 2023, tout en respectant les normes recommandées.

✧ **Séchage et conservation de matériel végétal**

Après la récolte, les feuilles des deux plantes ont été isolées, débarrassées des débris ; ensuite séchées à l'air libre dans un endroit sec à l'abri de la lumière ; à température ambiante ; puis conservées dans des sacs propres jusqu'au jour de l'extraction

3.2.2. Matériel du laboratoire

✧ **Appareillage**

- Balance analytique OHAUS PIONEER.
- Etuve Gallenkamp incubator size 2, model no.IH-100.
- Hydro distillateur type Clevenger.
- Spectrophotomètre Biotech engineering management Co.Ltd. (UK) model Vis-7220G.

- Bain marie Memmert GmbH Co.KG.
- Centrifugeuse Sigma 1-6.
- Vortex type IKA Vibrofix VF1.
- Bec bunsen.
- Lampe à rayons ultraviolets.
- Micropipettes.

^ Verrerie

Erlenmeyers, béchers, fioles jaugées, tubes à essai, verres de montre, ampoule à décanté, spatules en métal, éprouvettes, cuves, flacons ombrés, pipettes, pipettes Pasteur, entonnoirs, tubes Eppendorf.

3.2.3. Réactifs

- HE commerciale de *C.sempervirens* (**Purenaissance**)
- HE commerciale de *P.halepensis* (**Purenaissance**)
- eau distillée

Les solvants organiques utilisés dans les différents compartiments de cette étude sont :

- Acétate d'éthyle ($C_4H_8O_2$).
- Ethanol 95% (C_2H_5OH).
- Méthanol (CH_3OH).

Les différents acides sont :

- Acide trichloroacétique ($C_2HCl_3O_2$).
- L'acide ascorbique ($C_6H_8O_6$).

On note aussi, les réactifs chimiques utilisés :

- 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH).
- Ferrocyanure de potassium ($K_3 [Fe(CN)_6]$).
- Chlorure ferrique ($FeCl_3$).
- Ether de pétrole.
- Solution tampon phosphate 0.2M.
- Hexane (**C_6H_{14}**).

- Dichlorométhane.
- diméthylsulfoxyde (C₂H₆OS).

3.2.4. Matériel biologique

▲ Les souches bactériennes

Pour la réalisation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du cyprès vert et de pin d'Alep on a utilisé trois souches bactériennes présentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau III: Présentation des souches bactériennes testées.

<i>Souche bactérienne</i>	<i>Caractère bactériologique</i>	<i>Famille</i>	<i>Référence</i>
<i>Escherichia coli</i>	Bacille Gram négatif	Enterobacteriaceae	ATCC 25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci Gram positif	Staphylococcaceae	ATCC 25923
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille Gram négatif	Pseudomonadaceae	ATCC 27853

▲ Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pendant l'analyse biologique des huiles essentielles :

- ✓ Une gélose nutritive pour le repiquage.
- ✓ Une gélose Mueller Hinton pour l'aromatogramme.

3.3. Méthode

3.3.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

L'extraction des huiles essentielles des deux plantes (cyprés vert ; pin d'Alep) a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger.

▲ Procédé d'extraction

L'opération consiste à introduire 500g de matière végétale dans un ballon préalablement rempli d'une quantité adéquate d'eau distillé ,l'ensemble est ensuite porté à ébullition pendant une durée de 3 heures. Les vapeurs chargées d'huile, lors de leur passage à travers le réfrigérant se condensent et chutent dans un décanteur (76).

En raison de la différence de densité l'eau et HE se séparent ; les huiles sont ensuite récupérées dans des petits flacons opaques (77).

On a répété cette opération deux fois pour le cyprés et une seule fois pour le pin d'Alep.



Figure 18 : Appareil d'hydrodistillation type Clevenger (photo originale).

^ **Conservation de l'huile essentielle**

L'huile essentielle extraite est conservée dans des petits flacons opaques ; hermétiquement fermés et stockés à basse température (4°C- 8°C).

^ **Détermination du Rendement en huile essentielle**

Le rendement en HE est défini comme le pourcentage de la masse d'HE obtenue par rapport à la masse de la matière végétale utilisée lors de l'extraction. Il est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$R = (m/m_0) \cdot 100$$

Où : R : le rendement en HE en %

m : masse d'HE extraite en g

m₀ : masse de la matière végétale utilisée en g.(7).

3.3.2. Caractérisation organoleptique des HEs du cyprès et de pin d'Alep

L'évaluation des propriétés organoleptiques est considérée comme la première étape de l'évaluation de la qualité des huiles essentielles. Cette caractérisation porte sur trois volets : aspect ; couleur ; odeur (78).

3.3.3. Caractère physique des HEs du cyprès et de pin d'Alep

3.3.3.1 La densité relative

^ **Principe**

La densité est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume.

La densité relative d'une substance ou d'une huile essentielle est le rapport entre la masse d'un volume donné de cette substance et la masse d'un volume égal d'eau distillée à une température de 20°C (79). Elle est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$d = \rho_{HE} / \rho_{eau}$$

d : Densité relative

ρ_{HE} : masse volumique de HE

ρ_{eau} : masse volumique de l'eau pure (78)

3.3.4. Caractérisation de la composition chimique de l'HE par chromatographie sur couche mince (CCM)

^ Principe

La CCM est une méthode analytique permettant le contrôle de la pureté d'une substance, la séparation des constituants d'un mélange et éventuellement leur identification.

Le mélange à analyser est immobilisé sur un support appelé phase stationnaire (un gel de silice déposé en couche mince sur une plaque d'aluminium) est séparé par entraînement au moyen d'un solvant approprié (l'éluant) qui migre par capillarité sur la plaque (80). Chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, de l'adsorption et de la désorption successives de chaque composé sur la phase stationnaire, soit de leur solubilité différente dans chaque phase (81).

Les taches doivent être révélées après la migration ; si la plaque de silice a un indicateur fluorescent, il peut être détecté en pulvérisant un réactif de signature ou en observant sous la lumière UV.

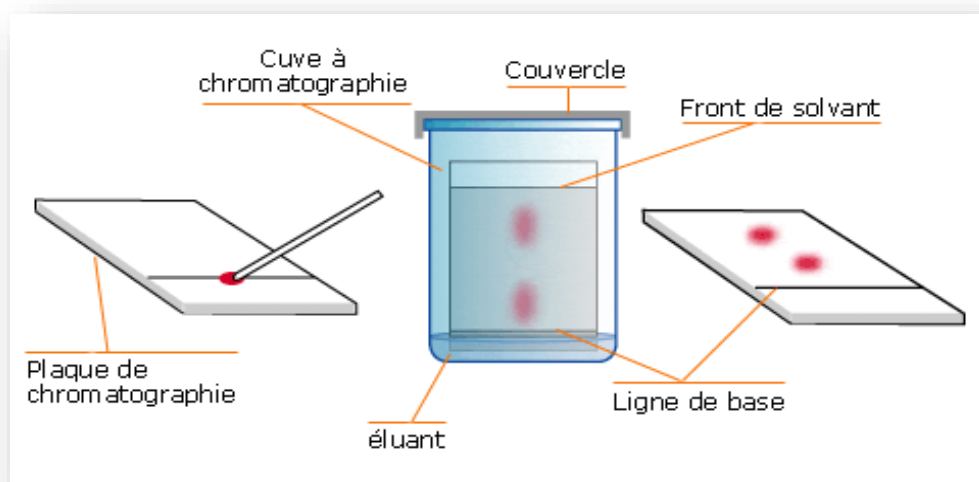


Figure 19 : Principe de la CCM (82)

^ **Protocole**

➤ **Préparation de la cuve**

L'atmosphère de la cuve doit être saturée en vapeur d'éluant. Ceci impose d'avoir une cuve bien fermée et préparée un certain temps à l'avance. Le niveau de l'éluant au fond de la cuve doit être de 5 à 8mm.

➤ **Plaques de CCM**

- Déposer la plaque CCM pendant 10mn dans une étuve.
- Avant, de marquer les produits sur la plaque, repérer l'endroit des dépôts. Pour cela, tracer un léger trait de crayon parallèle au bord inférieur de la plaque à une distance de 2cm. Les produits seront déposés juste au-dessus cette ligne, à 2cm du bord de la plaque et espacés de 1cm.

➤ **Le dépôt du mélange**

Le dépôt se fait avec des pipettes de pasteur en verre jetable d'une façon perpendiculaire. Chaque phase doit être déposée en solution diluée dans le méthanol, et le même analyte peut être déposé plusieurs fois de suite au même endroit, ce qui concentre l'analyte.

Repérer par un chiffre ou une lettre les emplacements.

Tableau IV: Emplacement des échantillons sur la plaque CCM.

<i>Numéro de dépôt</i>	<i>Nom d'échantillon</i>
1	<i>HE commerciale du cyprès vert</i>
2	<i>HE extraite de cyprès vert</i>
3	<i>HE commerciale du pin d'Alep</i>
4	<i>HE extraite du pin d'Alep.</i>
5	<i>Thymol.</i>
6	<i>Vanilline</i>
7	<i>Menthol</i>
8	<i>Camphor</i>
9	<i>Cinéol</i>

^ Elution

La plaque est déposée en position verticale ou légèrement inclinée dans la cuve préalablement saturée par les vapeurs du système solvant approprié, l'échantillon à étudier sera plus ou moins entraîné par la progression par capillarité de la phase mobile vers le haut de la plaque (83).

Quand le front de l'éluant arrive au bord supérieur, retirer doucement et sécher la plaque à l'air libre pour évaporer entièrement l'éluant.

Tableau V: Les volumes des phases mobile.

<i>Phase mobile</i>	<i>Volume</i>
<i>Hexane /Ether de pétrole.</i>	(9/1)
<i>Ether de pétrole/dichlorométhane.</i>	(8/2)
<i>Hexane /acétate d'éthyle.</i>	(9/1)

^ Révélation

La visualisation de la plaque est faite par une lampe UV à une longueur d'onde de 254nm (81).

^ Exploitation de la CCM

La distance parcourue entre la ligne de dépôt et le centre de chaque tâche, permet de calculer les rapports frontaux, et Identifier les substances par rapport aux authentiques (80).

$$R_f = d / D$$

✓ **d**: La distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tâche, c'est la distance parcourue par l'espèce chimique.

✓ **D**: La distance parcourue par l'éluant dans le même temps ; c'est la distance entre la ligne de dépôt et le front du solvant.

3.3.5. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep

3.3.5.1. Test de la réduction du fer (FRAP)

▲ Principe

Cette méthode est basée sur la capacité d'un composé ou d'un extrait brut à réduire l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}).

La présence des réducteurs (AH) dans les extraits des plantes provoquent la réduction des ions Fe^{3+} présent dans le complexe de ferricyanure de potassium $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ à la forme ferreux (84).

Par conséquent, le Fe^{2+} peut être évalué en mesurant l'augmentation de la densité de la couleur bleu cyanée dans le milieu réactionnel à 700 nm.

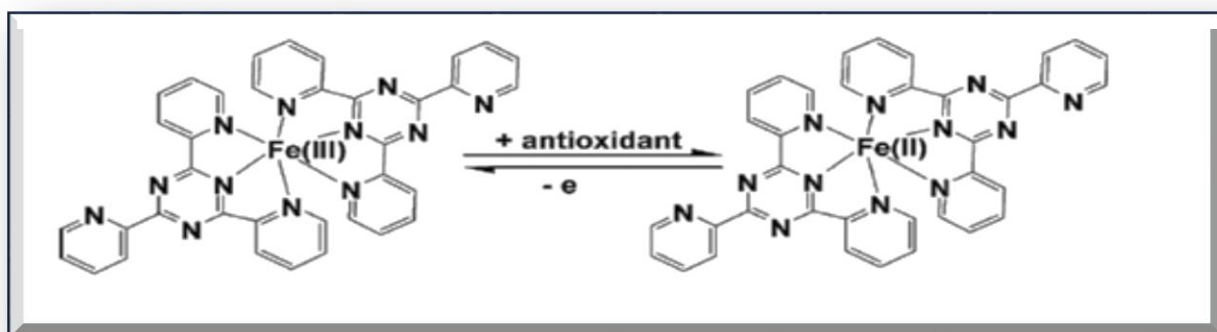


Figure 20 : Mécanisme réactionnel du test FRAP(85).

▲ Mode opératoire

Le protocole qui suit est basé sur la méthode mise au point par OYAIKU, (1986), qui a subi quelques modifications (78).

▲ FRAP sur l'huile essentielle

Ajouter 0,5 ml de solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 0,5 ml de solution de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1% à 100 μl de la solution de méthanol d'huile essentielle étudiée à différentes concentrations (78).

Tableau VI: Dilutions de l'huile essentielle extraite du cyprès.

Numéro tube	1	2	3	4	5	6
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	675	337,5	168,8	84,38	42,2	21,1

Tableau VII : Dilutions de l'huile essentielle commerciale du cyprès.

Numéro tube	1	2	3	4	5	6
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	828	414	207	103,5	51,75	25,875

Tableau VIII: Dilutions de l'huile essentielle extraite de pin d'Alep.

Numéro tube	1	2	3	4	5	6
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	812	406	203	101,5	50,8	25,4

Tableau IX: Dilutions de l'huile essentielle commerciale de pin d'Alep.

Numéro tube	1	2	3	4	5	6
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	807	403,5	201,8	100,9	50,5	25,25

Incuber le tout dans un bain-marie à 50 °C pendant 30 min. Ajouter ensuite 0,5 ml d'acide trichloracétique à 10 % pour terminer la réaction et centrifuger à 3 000 tr/min pendant 10 minutes. Mélanger 0,5 ml du surnageant avec 1 ml d'eau distillée et 0,1 ml de solution aqueuse de FeCl₃ à 0,1 %.

^ FRAP sur l'acide ascorbique

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique préparé à différentes dilutions (tableau X) dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons.

Tableau X: Dilutions de l'acide ascorbique (test de FRAP).

Numéro tube	1	2	3	4	5	6
Concentration (µg/ml)	1000	500	250	125	62,5	31,25

3.3.5.2 Piégeage du radical, 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) par spectrométrie

^ Principe

Le test de DPPH est basé sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical libre DPPH de couleur violet foncée ; l'électron impair de l'atome d'azote dans le DPPH est réduit lorsqu'il reçoit un atome d'hydrogène provenant de la substance antioxydante pour former le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune (86).

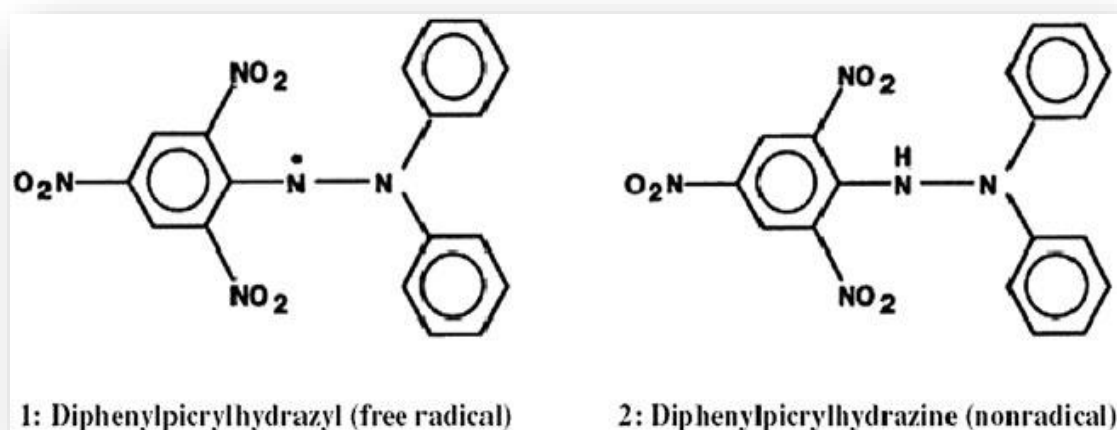


Figure 21 : Mécanisme réactionnel du test DPPH (86).

^ Mode opératoire

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antiradicalaire en utilisant le test de DPPH est basée sur la méthode décrite par Molyneux 2003 ; avec quelques modifications (78).

^ DPPH sur les huiles essentielles

- Une solution éthanolique de DPPH a été préparée en dissolvant 4mg de produit dans 100ml d'éthanol, ce qui équivaut à une concentration de 0.004% (87).
- Ensuite, une série de 5 solutions éthanoliques de différentes concentrations a été préparée pour chaque huile essentielle.
- Pour chaque dilution 400ul ont été ajoutés à 600ul de la solution éthanolique de DPPH.
- Dans les mêmes conditions, un contrôle a été préparé en mélangeant 400ul d'éthanol avec 600 ul de DPPH.
- Le milieu réactionnel a été incubé pendant 30min à l'obscurité à température ambiante ; puis la lecture des DO a été effectuée à 517nm contre un blanc (éthanol) (87).

Tableau XI: Dilutions de l'HE de cyprès vert extraite (test de DPPH).

N° de tube	1	2	3	4	5
Concentration en (ug/ml)	675	337.5	168.75	84.375	42.2

Tableau XII: Dilutions de l'HE de cyprès vert commerciale (test de DPPH).

N° de tube	1	2	3	4	5
Concentration en (ug/ml)	828	414	207	103.5	51.75

Tableau XIII: Dilutions de l'HE de pin d'Alep extraite (test de DPPH)

N° de tube	1	2	3	4	5
Concentration en (ug/ml)	812	406	203	101.5	50.75

Tableau XIV: Dilutions de l'HE de pin d'Alep commerciale (test de DPPH)

N° de tube	1	2	3	4	5
Concentration en (ug/ml)	807	403.5	201.75	100.875	50.4375

▲ DPPH sur l'acide ascorbique

Une série de 10 dilutions est préparée à partir d'une solution mère d'acide ascorbique ; utilisée en tant qu'antioxydant de référence.

Tableau XV: Dilution d'acide ascorbique (test DPPH).

N° de tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentration	1000	500	250	125	62.5	31.25	15.625	7.125	3.906	1.953
En (ug/ml)										

- L'activité antioxydante des huiles essentielles et de l'acide ascorbique est exprimée en pourcentage d'inhibition (PI) selon la formule suivante :

$$PI(\%) = (A_0 - A_1 / A_0) \cdot 100$$

- ✓ A₀ : absorbance du DPPH dans l'éthanol.
- ✓ A₁ : absorbance de l'échantillon (87).

-Les IC₅₀ (concentration de l'échantillon nécessaire pour piéger 50% des radicaux libres) ont été calculées à partir des graphiques représentant les PI en fonction des concentrations (88).

3.3.6. Evaluation de l'activité antibactérienne des HE du cyprès et pin d'Alep

L'activité antibactérienne des 4 huiles essentielles étudiées a été évaluée par méthode de diffusion sur milieu solide ; appelée aromatoگرامme.

▲ Principe de l'aromatoگرامme

L'aromatoگرامme est basé sur une technique largement utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme.

Cette méthode vise à détecter une éventuelle activité antibactérienne de l'HE étudiée en présence des micro-organismes testés. Elle implique l'utilisation des disques stériles imprégnés d'une quantité d'HE placés sur une gélose inoculée avec des souches bactériennes ; la diffusion de l'HE dans la gélose permet de suivre l'inhibition de la croissance bactérienne,

qui se manifeste par la formation d'une zone claire autour de disque ; appelée zone d'inhibition (77).

▲ **Mode opératoire**

Préparation de l'inoculum bactérien : pour préparer la suspension bactérienne ; une ou plusieurs colonies de chaque culture sont prélevées avec une pipette pasteur et transférées dans de l'eau physiologique stérile ; puis homogénéisées à l'aide d'un vortex. La charge bactérienne est ajustée à 0.5 MC Farland.

- Les quatre HEs ont été diluées dans le DMSO (diméthylsulfoxyde) dont l'activité antibactérienne est nulle ; afin d'obtenir une série de dilution pour chaque HE étudiée.

- La suspension bactérienne préalablement préparée est frottée sur toute la surface de la gélose MH à l'aide un écouvillon de haut en bas en stries serrées à 4 reprises ; l'ensemencement est complété en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

- Des disques de 6 mm de diamètre en papier buvard stériles ont été imprégnés de 20ul de l'HE à différentes concentrations ; puis déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface de la gélose préalablement ensemencée.

- Les boîtes sont incubées à l'étuve pendant 24 h à 37°C.

- La lecture des résultats s'effectue par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition ; qui apparait comme un halo translucide autour de chaque disque. La présence ou l'absence de halo permet d'interpréter la sensibilité ou la résistance des germes aux HE.

Tableau XVI: Sensibilité des souches bactériennes en fonction de diamètre des zones d'inhibition (89)

Diamètre de la Zone d'inhibition	Sensibilité
<8mm	Résistante -
Entre 9 et 14mm	Sensible +
Entre 15 et 19mm	Très sensible ++
>20mm	Extrêmement sensible +++

RESULTATS

1. Résultats de l'enquête ethnobotanique sur les huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep

Notre étude a été effectuée sur un échantillon composé de 120 personnes, et les résultats sont analysés et discutés par le biais de graphes en pourcentage et des diagrammes en bâtons pour la bonne comparaison des données.

1.1. Description de la population étudiée

▲ Répartition de la population étudiée selon le sexe

Dans notre échantillon, il y a une prédominance du sexe féminin avec un pourcentage de 91,6% (110 personnes), contre 8,4% (10 personnes) qui appartiennent au sexe masculin.

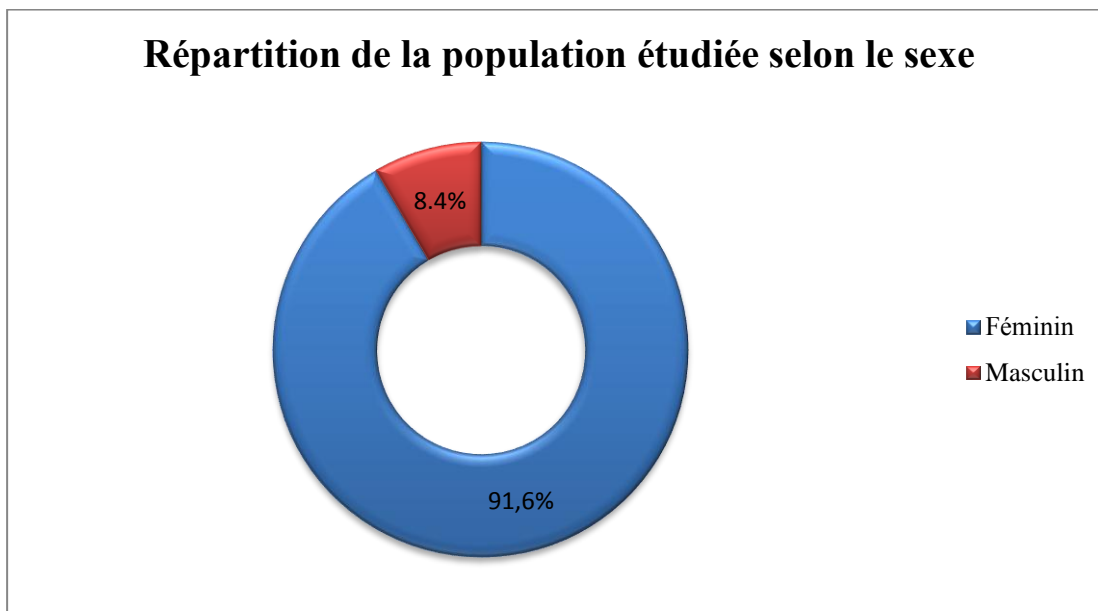


Figure 22 : Répartition de la fréquence d'utilisation des huiles essentielles selon le sexe

▲ Répartition de la population étudiée selon l'âge

L'utilisation des huiles essentielles est répandue quasiment chez toutes les tranches d'âge sauf pour les personnes âgées, plus de 60 ans. Cependant, la tranche d'âge détenant le plus grand pourcentage soit de 87,5% est celle de 20 à 40ans, puis 10,8% pour les enquêtés de moins de 20ans alors que pour la tranche d'âge de 40 à 60ans, on note un taux de 1,7% seulement.

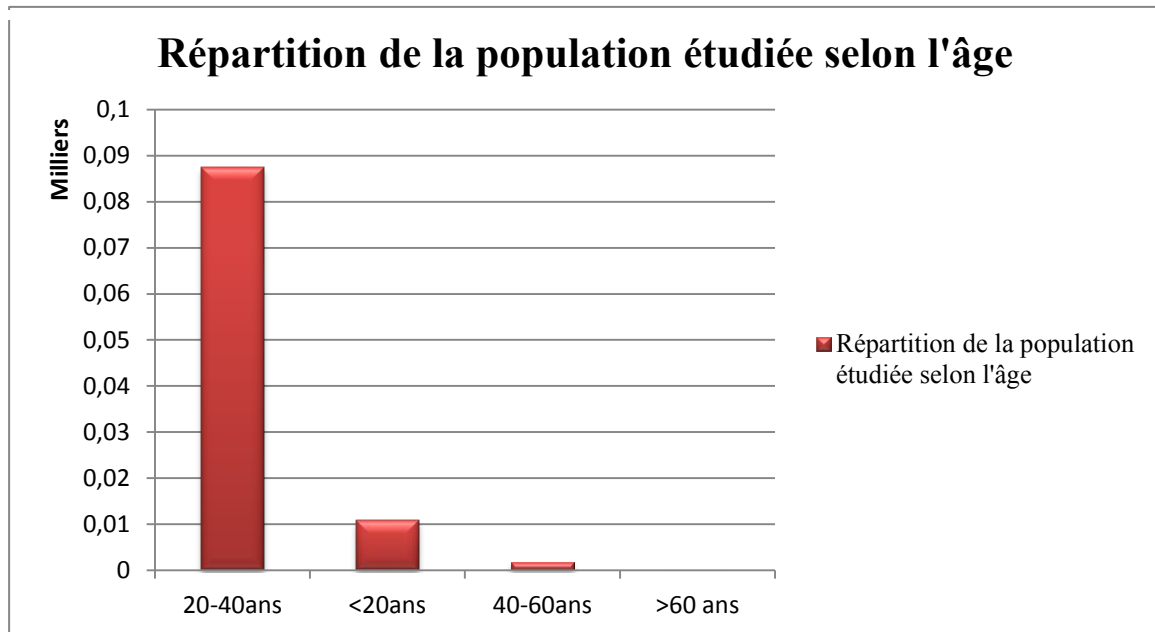


Figure 23 : Répartition de la fréquence d'utilisation des huiles essentielles selon l'âge.

▲ **Niveau d'instruction de la population étudiée**

Concernant le niveau académique des personnes utilisatrices des huiles essentielles, les résultats montrent que la grande majorité avait un niveau universitaire, avec un pourcentage de 95%, suivi par un pourcentage d'utilisation négligeable de 1,5% pour les analphabètes et de 3,5% pour les personnes ayant un niveau secondaire/ moyen.

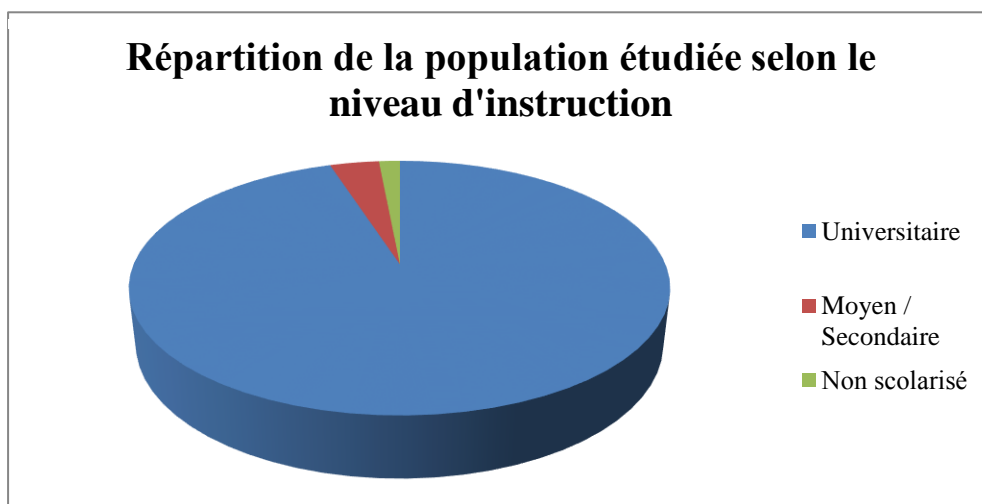


Figure 24 : Répartition de la population étudiée selon le niveau d'instruction.

^ **Catégorie socio-professionnelle de la population étudiée**

La figure 25 montre que 64,8% des personnes interrogées sont des chômeurs, suivie ensuite par les fonctionnaires et les personnes ayant une profession libérale avec des taux respectivement de 25,8% et 8,6% alors que le pourcentage le plus faible est celui des artisans 0,8%.

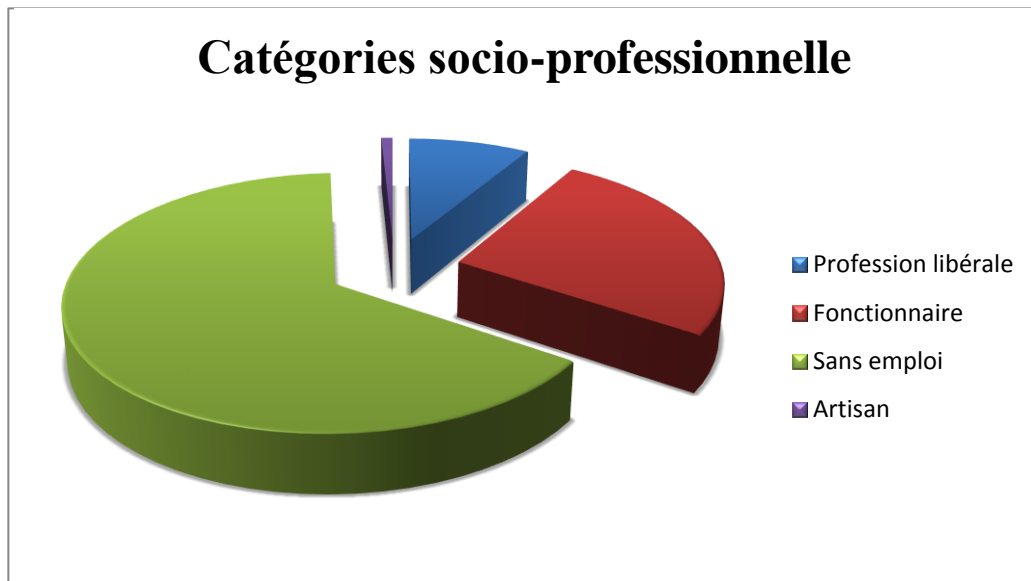


Figure 25 : Répartition de la population étudiée selon leur catégorie socio-professionnelle.

1.2. Connaissances générales sur les huiles essentielles

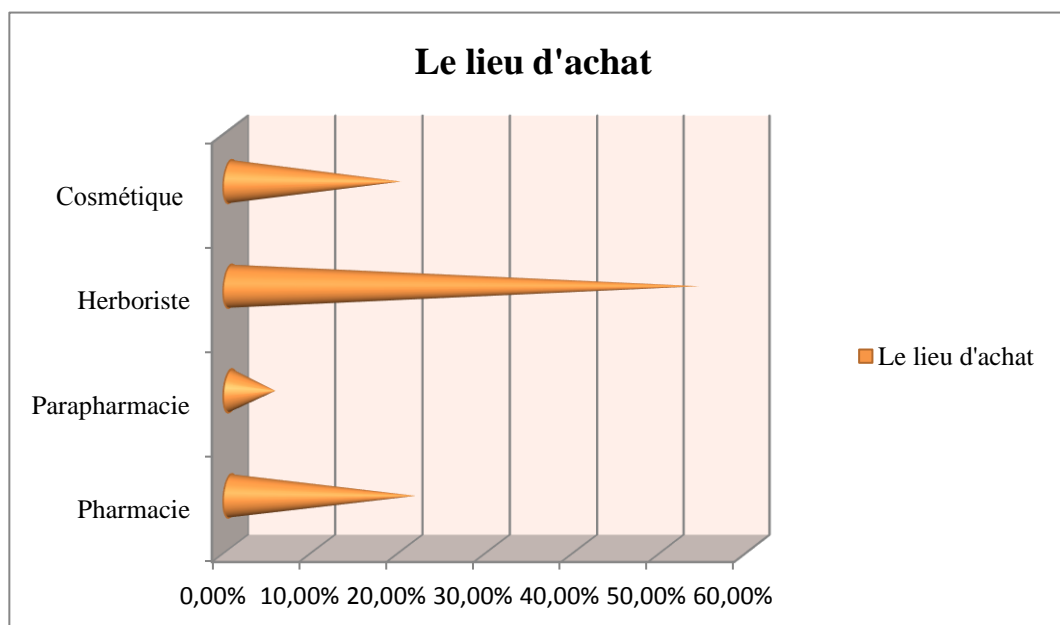
Le résultat obtenu révèle que la majorité des personnes enquêtées ont recours à l'utilisation des huiles essentielles avec un taux de 91,6%.



Figure 26 : Usage des huiles essentielles par la population étudiée.

▲ **Lieu d'achat**

Vu les résultats obtenus, la majorité des personnes questionnées achètent leurs huiles essentielles de l'herboristerie, avec un taux de 53,9%, suivi par l'achat chez les magasins de cosmétique et en pharmacie avec des pourcentages estimés respectivement de 19,6% et 23,3%. Enfin 3,2% des personnes interrogées les achètent en parapharmacie.



La figure 27 : Le lieu d'achat des HE par la population étudiée.

^ **La disponibilité sur le marché**

La figure 28 montre que parmi les personnes utilisant les HEs 96,7% ont confirmé la disponibilité des huiles essentielles sur le marché algérien alors 3,3% de la population étudiée affirment leur non disponibilité sur le marché.

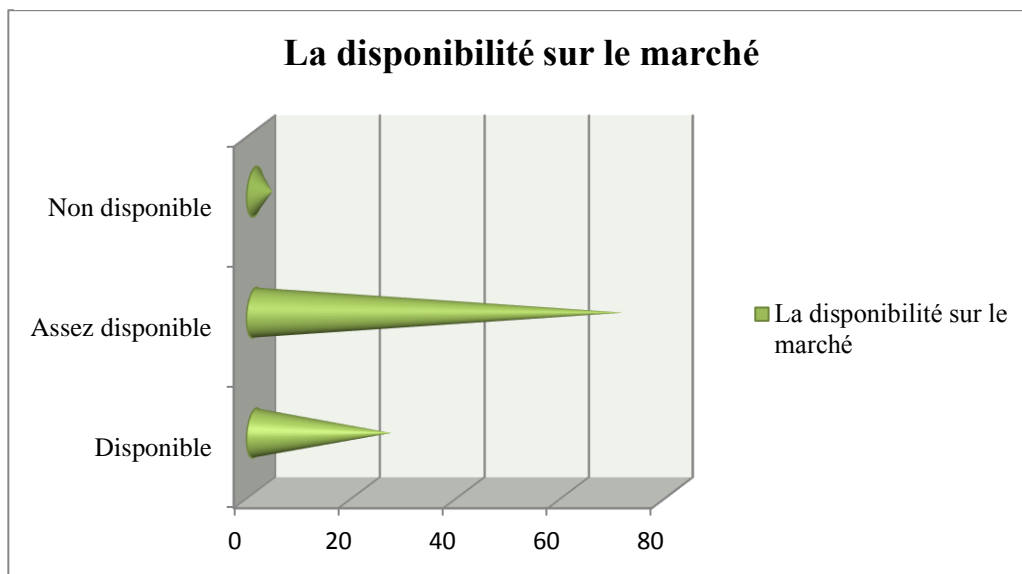


Figure 28 : La disponibilité des HE sur le marché algérien

^ **Les huiles essentielles les plus utilisées par la population étudiée**

L'enquête ethnobotanique a permis de dresser une variabilité remarquable des huiles essentielles utilisées en Algérie, tout en notant leur répartition et leur fréquence de citations. Nous citons : l'huile de Lavande (42,1%) , l'huile de menthe vert (24,3%) , l'huile de l'Eucalyptus (13,7%) , l'huile de citron (08%) , l'huile de pin d'Alep (5,5%), l'huile de l'origan (3,9%) , l'huile du cyprès (1,6%) , l'huile de Géranium Rosat (0,9%).

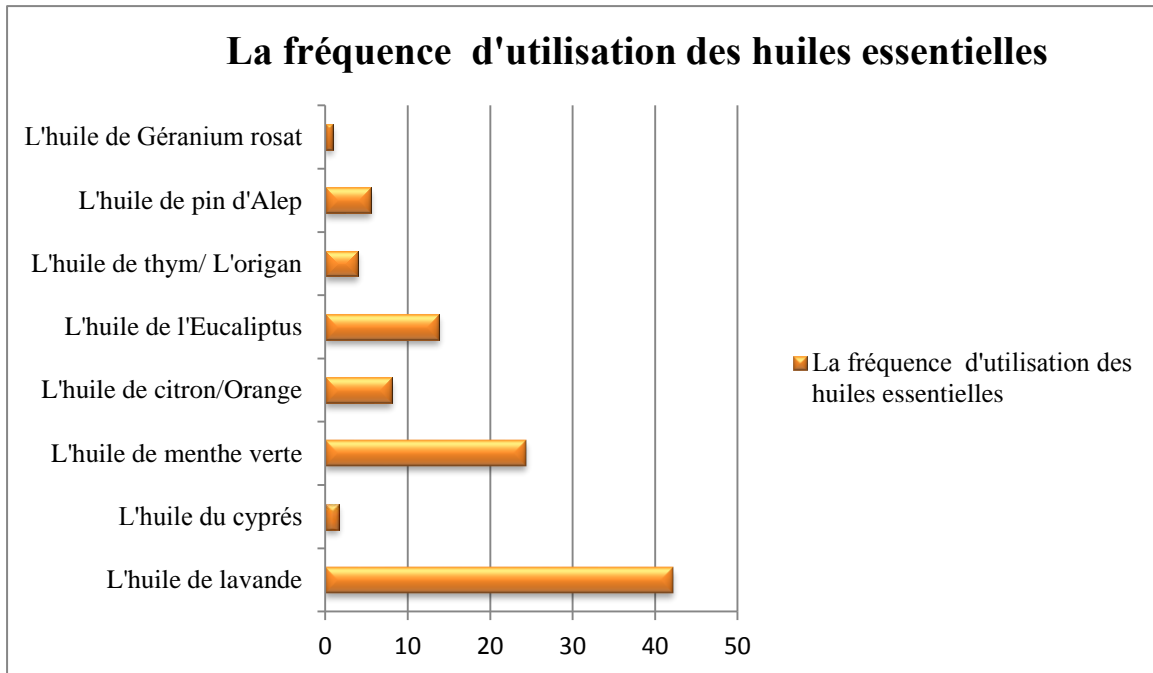


Figure 29 : La fréquence d'utilisation des différents HE par la population étudiée.

▲ **L'Usage médicinal des huiles essentielles par la population étudiée**

Dans cette zone d'étude, la majorité des enquêtés utilisent les huiles essentielles pour le bien être de la peau et les soins des cheveux avec un taux de 35,1%, suivi par l'utilisation contre les troubles respiratoires (18,2%), pour le massage (14,6%), troubles dermatologiques (11,1%), troubles digestifs (6,9%), trouble de sommeil (8,5%), et contre les douleurs musculaires et articulaires (2,8%).

Enfin, elles sont utilisées pour augmenter les défenses naturelles avec un pourcentage de 1,8% et pour leurs propriétés cicatrisantes (1%).

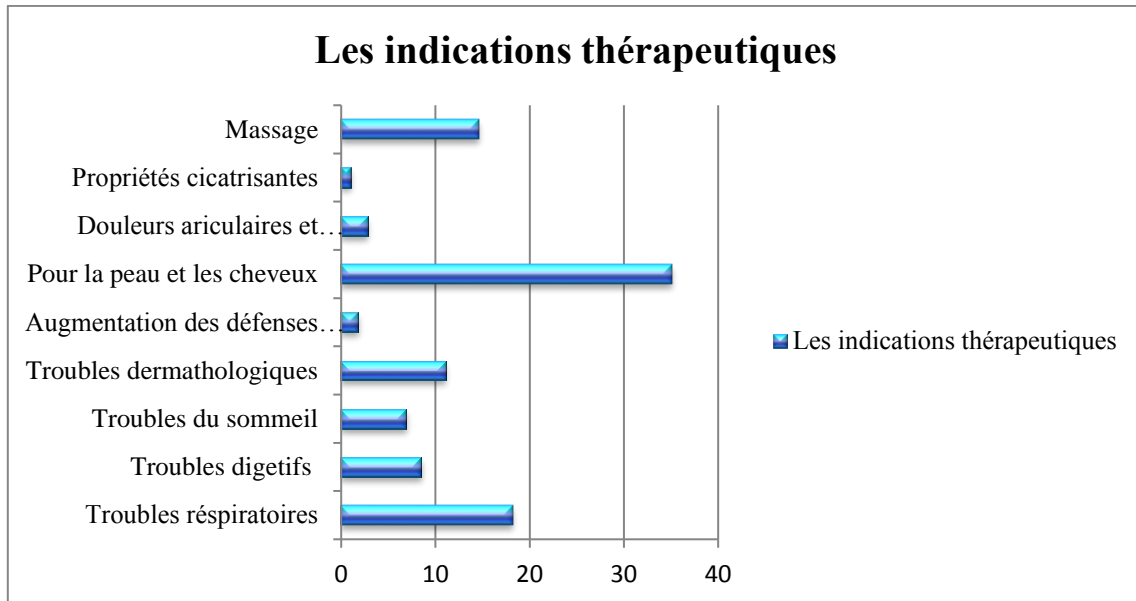


Figure 30 : L'usage médicinal des huiles essentielles.

1.3 Connaissance sur l'huile essentielle de Pin d'Alep et du Cyprès

▲ L'utilisation de l'huile essentielle de pin d'Alep et du cyprès par la population étudiée

Concernant la fréquence d'utilisation de nos huiles essentielles, on a trouvé que 78% des recensés n'ont jamais utilisé les huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep alors que les 22% l'ont déjà utilisé.

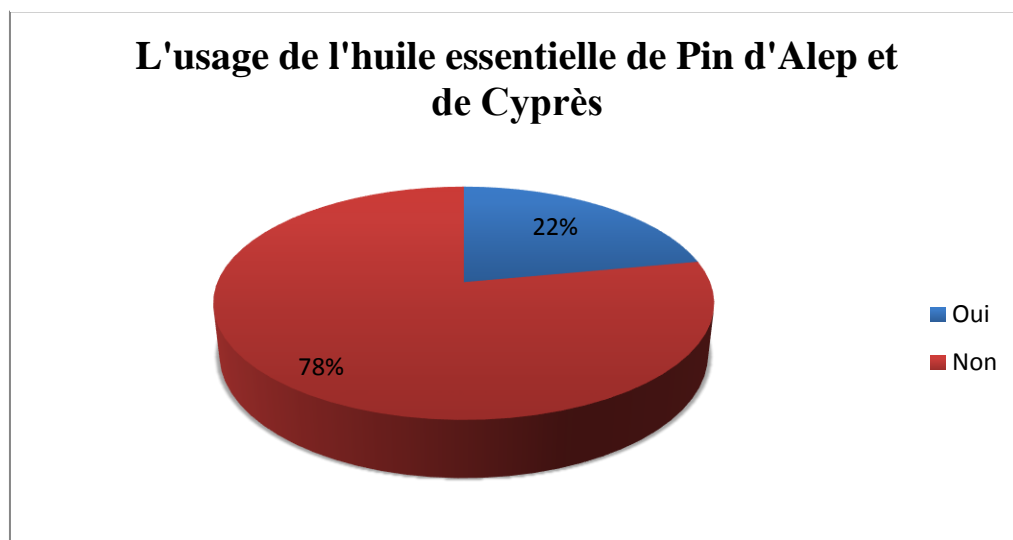


Figure 31 : Le pourcentage d'utilisation des HE de pin d'Alep et du cyprès par les recensés.

^ Voie d'administration

Selon le résultat obtenu, la majorité de la population a recourt à administrer les huiles essentielles par voie cutanée avec un pourcentage de 80,77% contrairement à 11,54% qui les utilisent par voie aérienne tandis que 7,69% seulement les utilisent par voie orale.

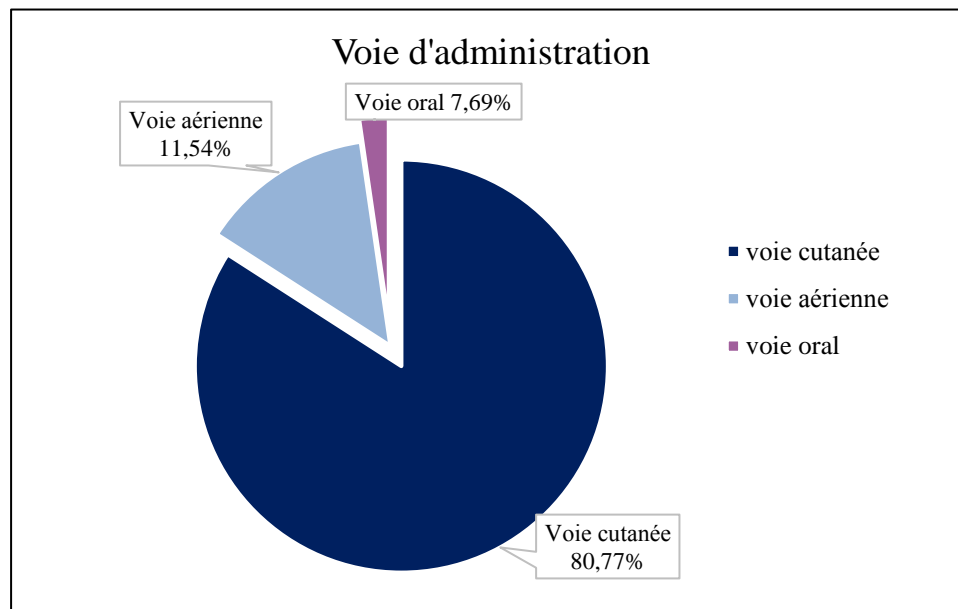


Figure 32 : Les différentes voie d'administration des HE par les recensés.

^ Usage thérapeutique

Sur la totalité des citations, l'indication thérapeutique majeure des huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep était pour la peau et les soins des cheveux avec 10 citations (38,5%), suivi par le traitement des troubles dermatologiques avec 3 citations (11,5%), traitement des troubles respiratoires avec deux citations (7,7%), massage et stresse avec 03 citations pour chacune (11,5%), puis les propriétés cicatrisante et l'amélioration de la qualité du sommeil avec 2 citations pour chacune (7,7%), enfin le traitement des troubles de digestions avec une seule citation (3,9%).

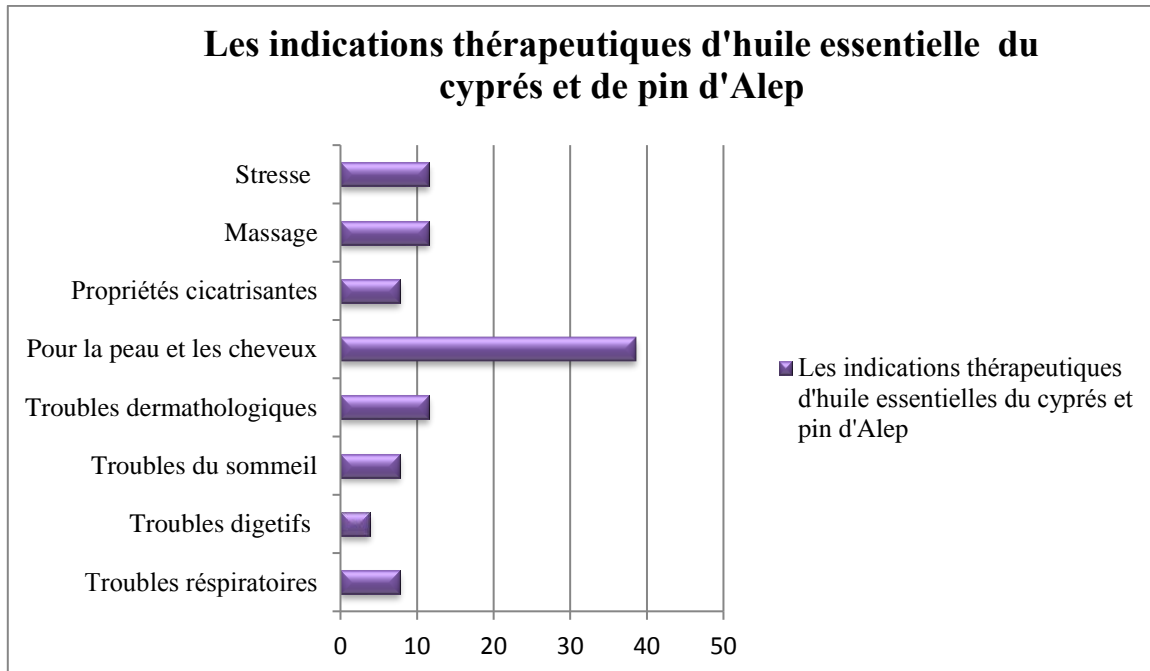


Figure 33 : Les indications thérapeutiques d'HE du cyprès et de pin d'Alep par les recensés.

▲ Effets indésirables des huiles essentielles

Selon le résultat encaissé, la majorité des personnes interrogées (90,3%) n'ont jamais subi des effets indésirables après avoir utilisé les huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep sauf pour 9,7% de la population enquêtées.

Parmi les effets indésirables cités, on trouve : les éruptions et les irritations cutanées, prurit et l'hypersensibilité de la peau.

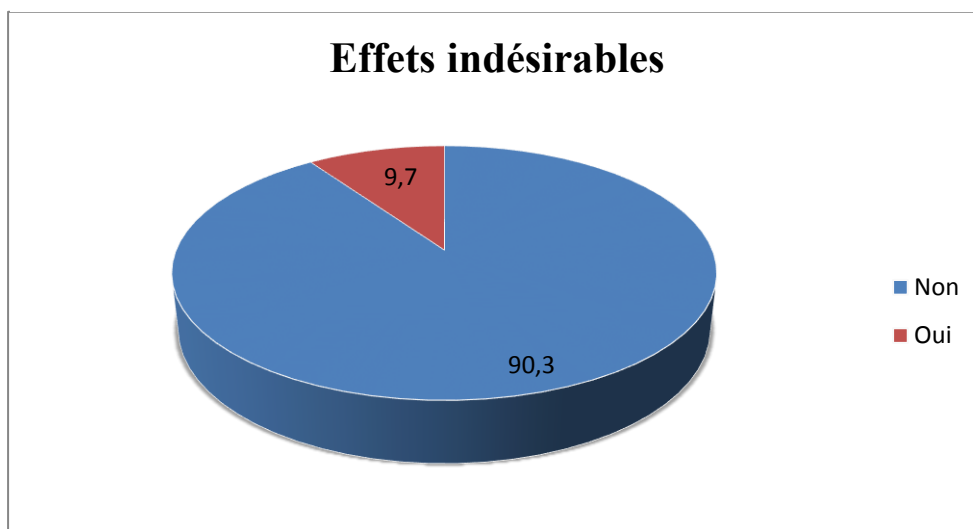


Figure 34 : Incidence des effets indésirables après utilisation des HEs

▲ **Degré de satisfaction de la population à l'égard de l'utilisation des HEs**

D'après les résultats obtenus, 61,5% des personnes questionnées étaient satisfait après l'utilisation des HEs de pin d'Alep et de cyprès 30,8% étaient moyennement satisfait alors que 7,7 % d'entre eux ne l'étaient pas.

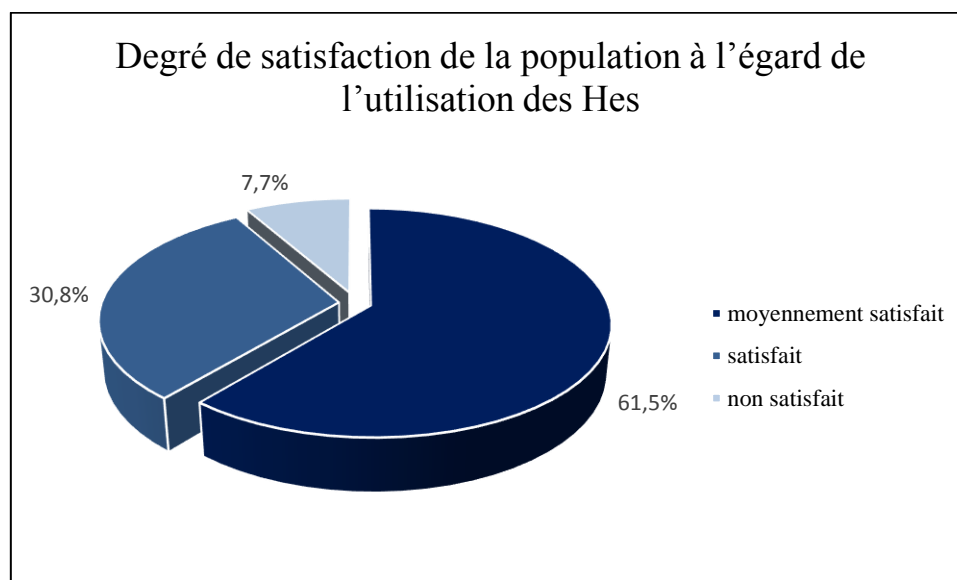


Figure 35 : Degré de satisfaction de la population par rapport à l'utilisation des HEs.

2. Résultat de l'étude biologique des huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep

2.1. Rendement de l'huile essentielle

Le tableau XVII présente les rendements d'extraction des huiles essentielle des feuilles de pin d'Alep et de cyprès vert.

Tableau XVII: Rendements des huiles essentielles extraites.

Huile essentielle	Pin d'Alep	Cyprès vert
Rendement en %	0,804	0,327

2.2. Résultat de la caractérisation organoleptique des huiles essentielles

Tableau XVIII: Caractères organoleptiques des quatre huiles essentielles examinées.

	Couleur	Aspect	Odeur
HE extraite de pin d'Alep	Incolore	Liquide à T° ambiante; limpide	très forte caractéristique de la plante
HE commerciale de Pin d'Alep	Jaune très pale	Liquide à T° ambiante; limpide	très forte caractéristique de la plante
HE extraite de Cyprès vert	Jaune très pale	Liquide à T° ambiante; limpide	boisée très forte
HE commerciale de Cyprès vert	Jaune pale	Liquide à T° ambiante; limpide	boisée très forte

2.3. Résultat de la caractérisation physique des huiles essentielle

2.3.1. Densité

La densité relative des quatre huiles essentielles examinées est indiquée dans le tableau suivant.

Tableau XIX: Densité relative des huiles essentielles.

	HE extraite de pin d'Alep	HE commerciale de pin d'Alep	HE extraite de cyprès vert	HE commerciale de cyprès vert
Densité	0,812	0,807	0,798	0,828

2.4. Résultat de la séparation chimique des composés des huiles essentielles par CCM

Le résultat de l'analyse chromatographique sur couche mince CCM de nos échantillons a permis de révéler la présence de plusieurs taches pour chaque type d'huile essentielle et pour optimiser la séparation de leurs composés nous avons utilisé plusieurs phase mobile. Le résultat de chaque phase est résumé dans les tableaux et les figures ci-dessous.

^ **1^{ère} phase mobile** : éther de pétrole : hexane (1:9)

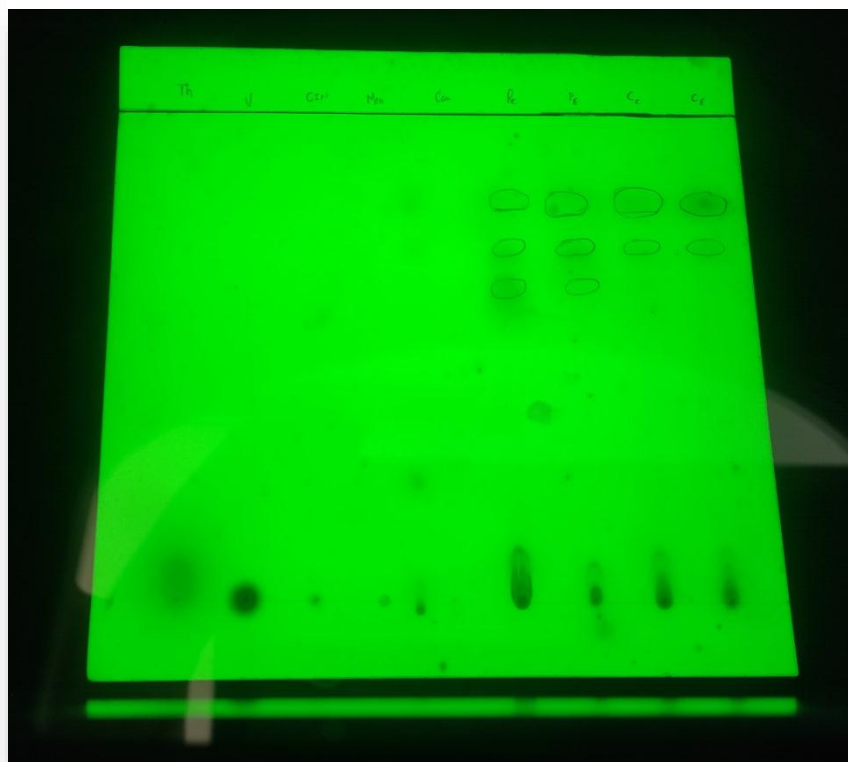


Figure 36 : Résultat de l'analyse CCM des HEs du cyprès et de pin d'Alep (1^{er} phase mobile).

Tableau XX: Résultat des Rapports frontaux des taches de la CCM (1er phase mobile).

	<i>Taches</i>	<i>Rapport frontal</i>
<i>HE extraite du cyprès</i>	<i>Tache 1</i>	0,68
	<i>Tache 2</i>	0,76
<i>HE commerciale du cyprès</i>	<i>Tache 1</i>	0,69
	<i>Tache 2</i>	0,76
<i>HE extraite de pin d'Alep</i>	<i>Tache 1</i>	0,61
	<i>Tache 2</i>	0,69
	<i>Tache 3</i>	0,76
<i>HE commerciale de pin d'Alep</i>	<i>Tache 1</i>	0,6
	<i>Tache 2</i>	0,69
	<i>Tache 3</i>	0,76

Le résultat obtenu de la séparation chimique de l'huile essentielle du cyprès commerciale et extraite a montré la présence de deux taches pour chacun qui ont les mêmes rapports frontaux : 0,68 et 0,76, et que l'huile essentielle du pin d'Alep extraite et commerciale a décelé la présence de trois taches avec les mêmes rapports frontaux suivant : 0,6/ 0,69 / 0,76.

2^{ème} phase mobile : éther de pétrole : dichlorométhane (2:8)

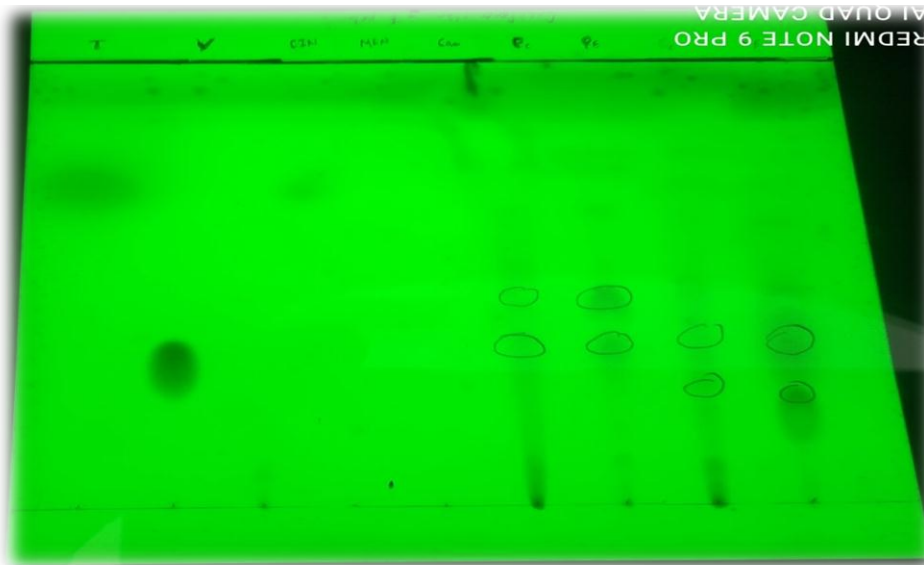


Figure 37 : Résultat de l'analyse CCM des HES du cyprès et de pin d'Alep (2eme phase mobile)

Tableau XXI: Résultat des Rapports frontaux des taches de la CCM (2eme phase mobile).

	<i>Taches</i>	<i>Rapport frontal</i>
<i>HE extraite de cyprès</i>	<i>Tache 1</i>	0,23
	<i>Tache 2</i>	0,34
<i>HE commerciale du cyprès</i>	<i>Tache 1</i>	0,24
	<i>Tache 2</i>	0,35
<i>HE de pin d'Alep extraite</i>	<i>Tache 1</i>	0,33
	<i>Tache 2</i>	0,31
<i>HE de pin d'Alep commerciale</i>	<i>Tache 1</i>	0,33
	<i>Tache 2</i>	0,31

Les taches obtenues après la séparation des composés de l'huile essentielle du pin d'Alep extraite et commerciale sont en nombre de deux pour chacun d'entre elles avec des rapports frontaux égaux de l'ordre de : 0,31 et 0,33 respectivement. Concernant le résultat de l'huile essentielle du cyprès extraite et commerciale on a obtenu 2 taches ayant des rapports frontaux presque identiques.

3^{ème} phase mobile : hexane : acétate d'éthyle (9:1)



Figure 38 : Résultat de l'analyse CCM des HEs du cyprès et de pin d'Alep (3eme phase mobile).

Tableau XXII: Résultat des Rapports frontaux des taches de la CCM (3eme phase mobile).

	<i>Taches</i>	<i>Rapport frontal</i>
<i>HE extraite du cyprès</i>	<i>Tache 1</i>	0,32
	<i>Tache 2</i>	0,44
<i>HE commerciale du cyprès</i>	<i>Tache 1</i>	0,32
	<i>Tache 2</i>	0,45
<i>HE extraite de pin d'Alep</i>	<i>Tache 1</i>	0,34
	<i>Tache 2</i>	0,45
<i>HE commerciale de pin d'Alep</i>	<i>Tache 1</i>	0,34
	<i>Tache 2</i>	0,46

2.5. Résultat de l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles

Dans cette étude ; l'activité antioxydante des huiles essentielles est évaluée en utilisant deux méthodes : DPPH ; FRAP.

2.5.1. Résultat du test FRAP

Les résultats de test FRAP sont exprimés sous forme des courbes représentant l'évolution de l'absorbance en fonction des concentrations des HEs et de l'acide ascorbique.

2.5.1.1. Résultat du test FRAP sur les HEs de cyprès vert (commerciale et extraite)

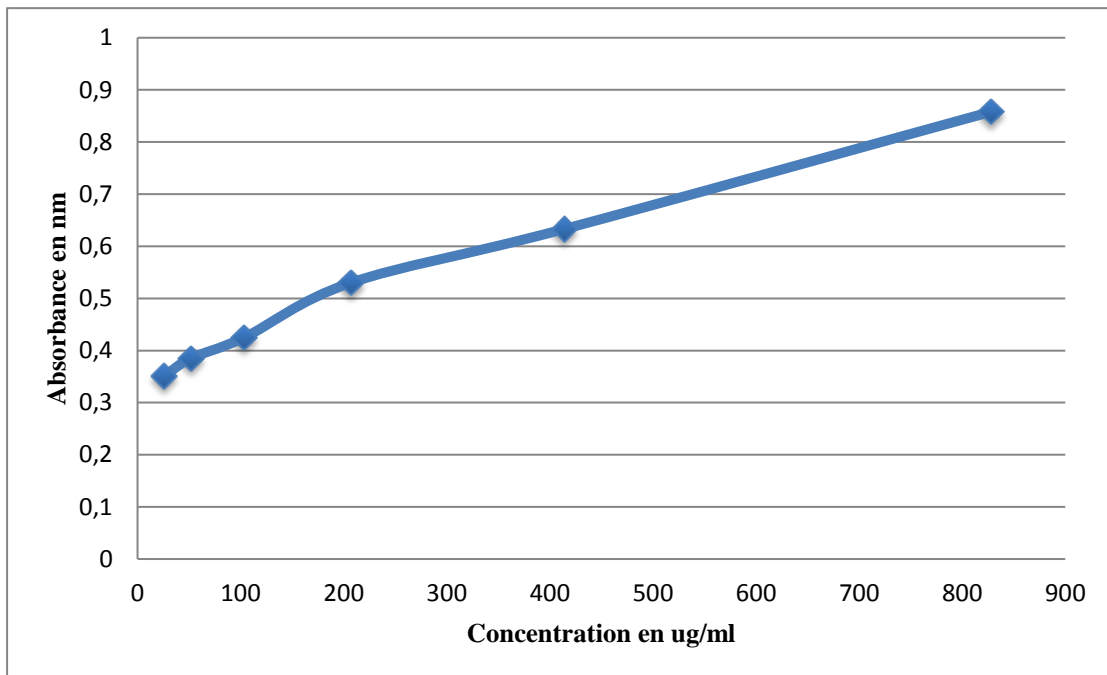


Figure 39 : Pouvoir réducteur de l'HE commerciale de cyprès vert en fonction des concentrations.

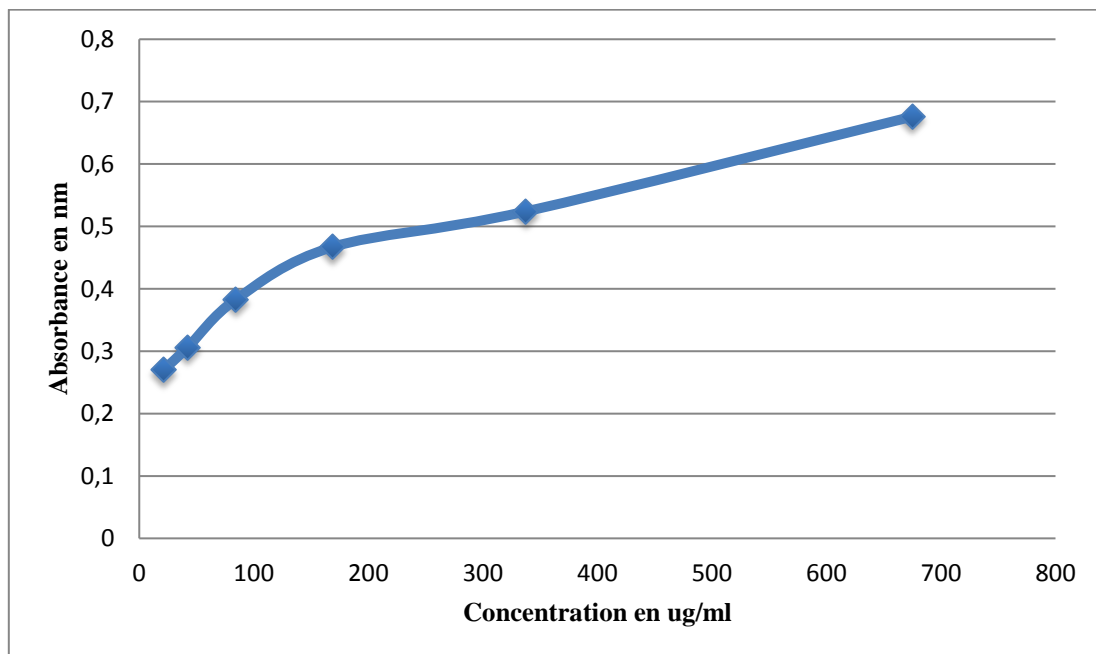


Figure 40 : Pouvoir réducteur de l'HE extraite de cyprès vert en fonction des concentrations.

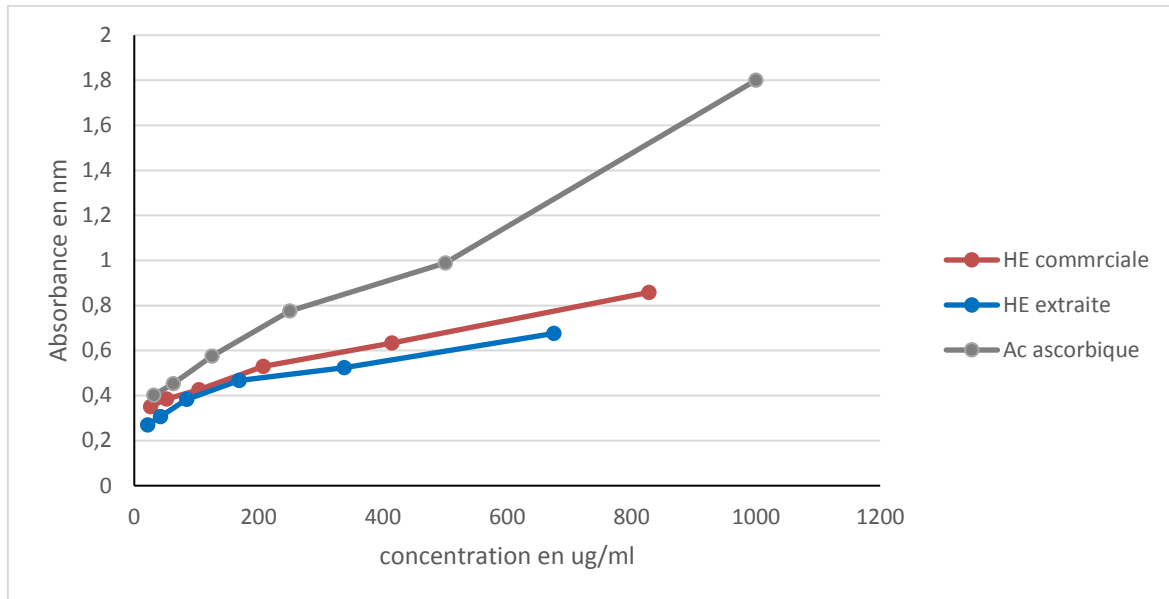


Figure 41 : Pouvoir réducteur des huiles essentielles du cyprès commerciales/ extraites et d'AC ascorbique en fonction des concentrations.

2.5.1.2. Résultat du test FRAP sur les HEs de pin d'Alep commerciale et extraite

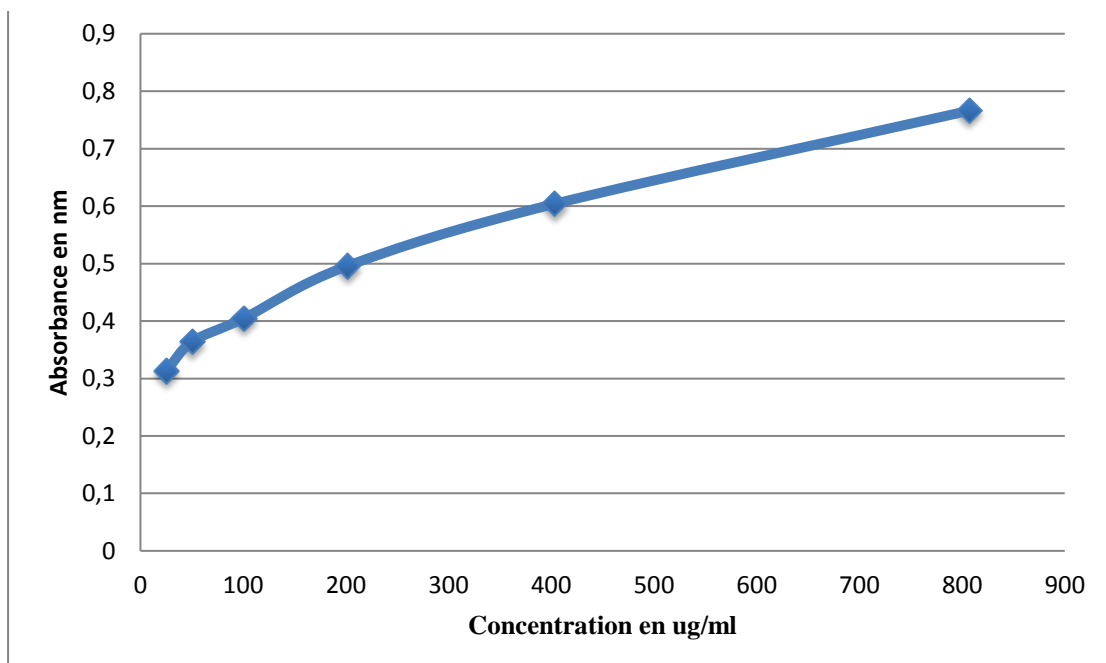


Figure 42 : Pouvoir réducteur de l'HE commerciale de pin d'Alep en fonction des concentration

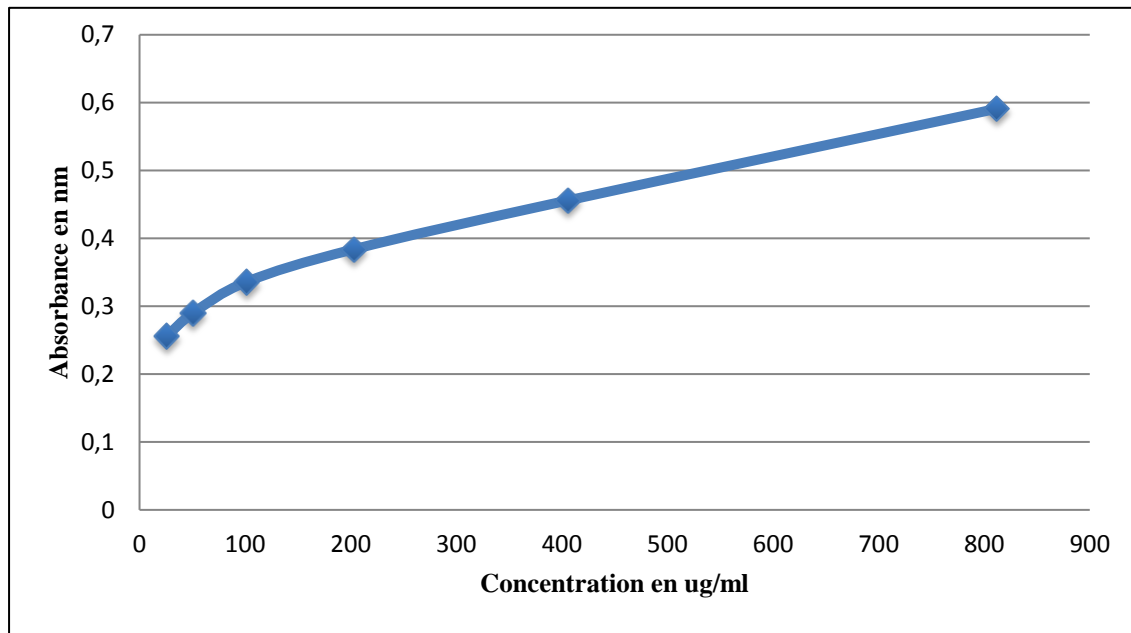


Figure 43 : Pouvoir réducteur de l'HE extraite de pin d'Alep en fonction des concentrations

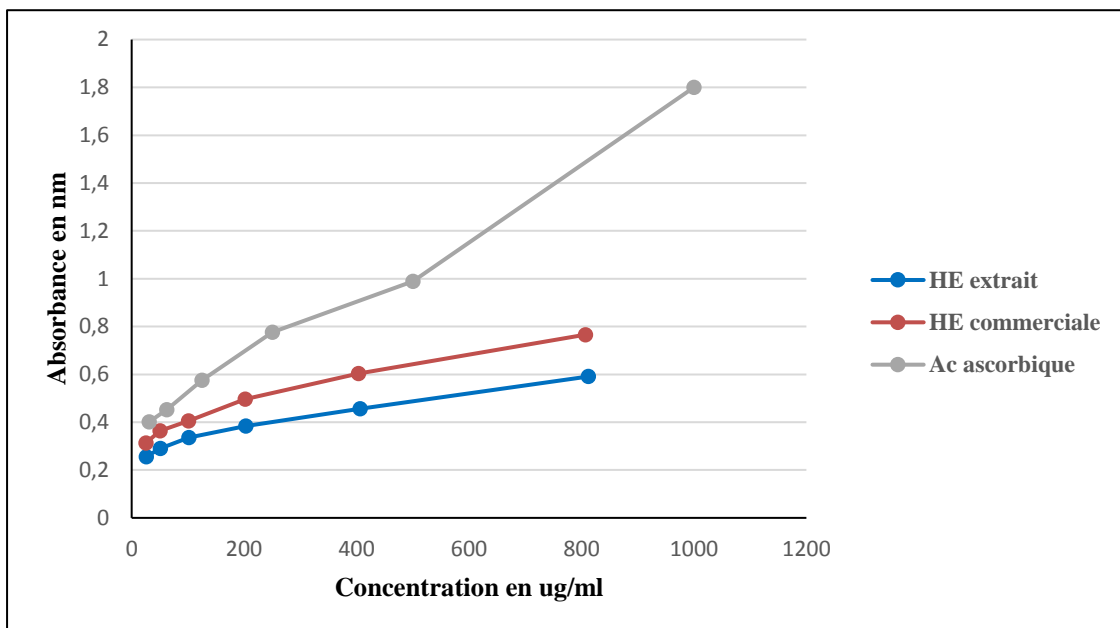


Figure 44 : Pouvoir réducteur des huiles essentielles de pin d'Alep commerciale / extraite et d'AC ascorbique en fonction des concentrations.

2.5.1.3. Résultat du test FRAP sur l'acide ascorbique

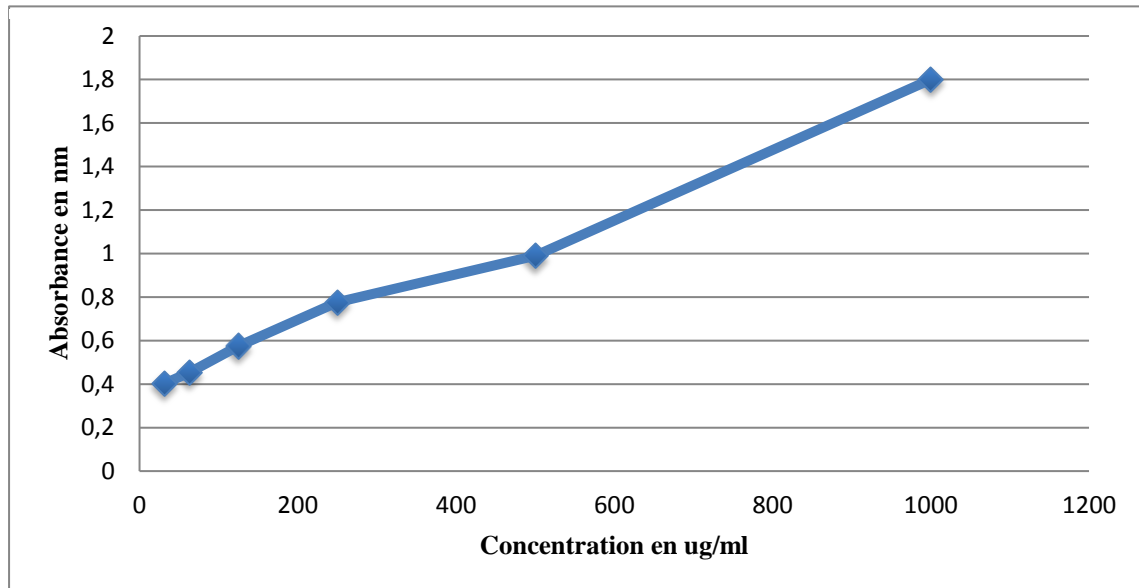


Figure 45 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique en fonction des concentrations.

2.5.2. Résultat du test DPPH

Les valeurs de pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les huiles essentielles et l'acide ascorbique obtenue après la mesure des absorbances par spectrophotomètre à 517nm ont permis de tracer des courbe d'activité de piégeage des radicaux libre.

2.5.2.1. Résultat du test DPPH sur les HEs du cyprès vert

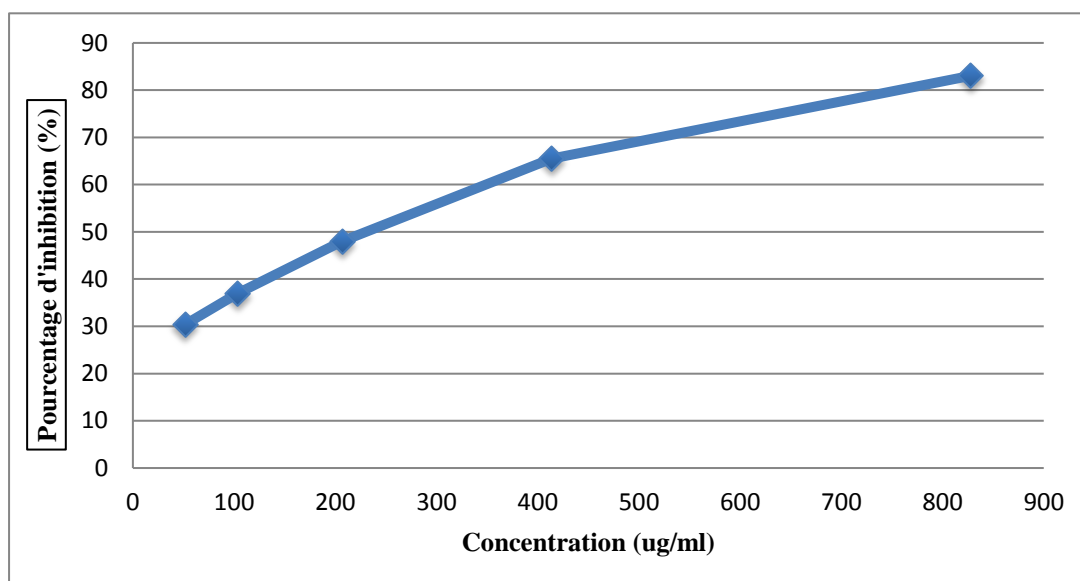


Figure 46 : Pourcentage d'inhibition du radicale DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE commerciale du cyprès vert.

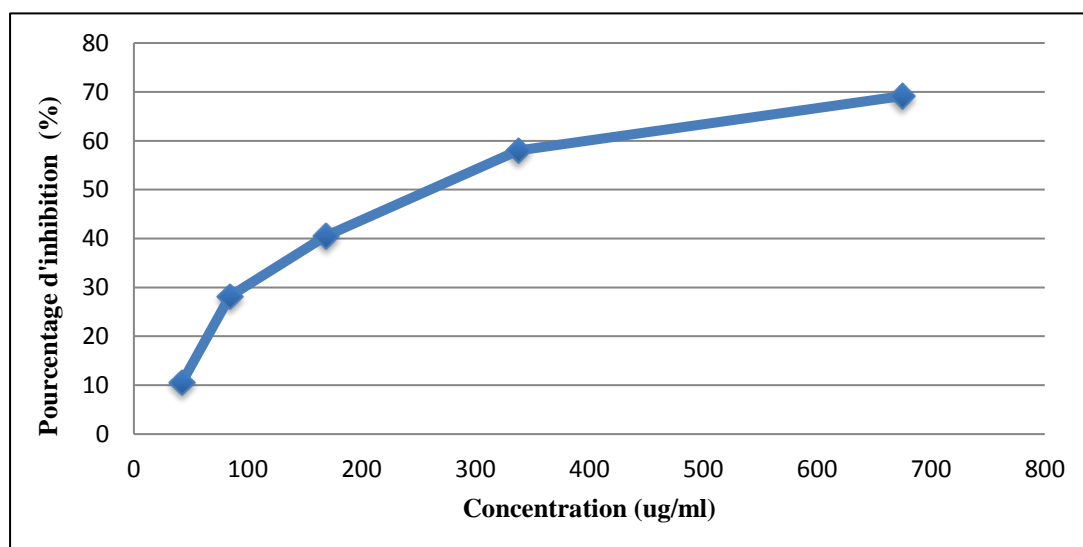


Figure 47 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE extraite de cyprès vert.

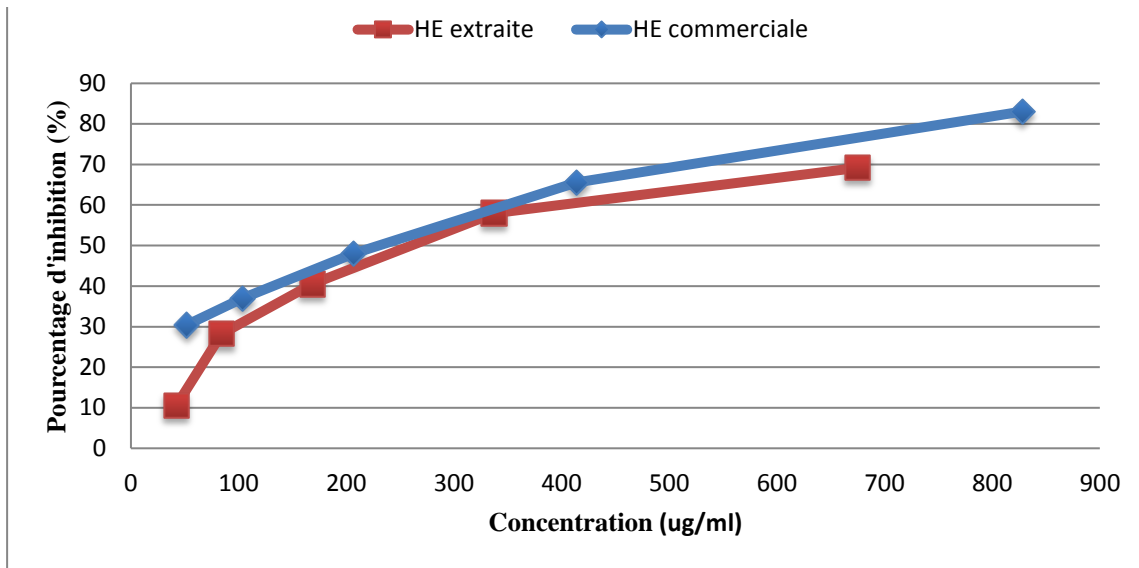


Figure 48 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des HEs commerciale extraite du cyprès vert.

Tableau XXIII: IC50 des deux HEs de cyprès vert.

	HE commerciale deCypès vert	HE extrait du Cypès vert
IC50	278,49 ug/ml	366,71 ug/ml

2.5.2.2. Résultat du test DPPH sur les HEs de pin d'Alep

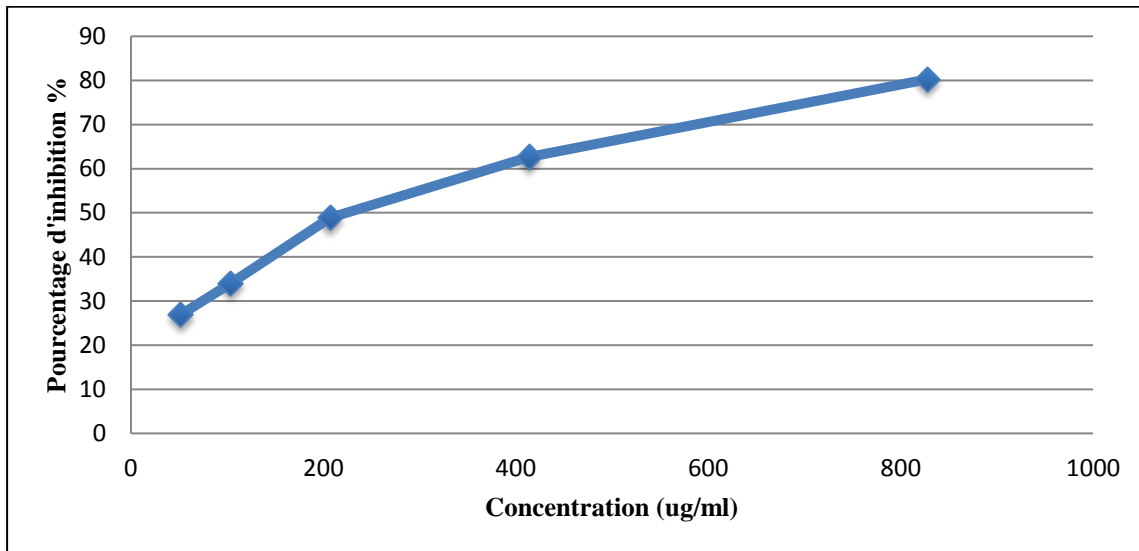


Figure 49 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE commerciale de pin d'Alep.

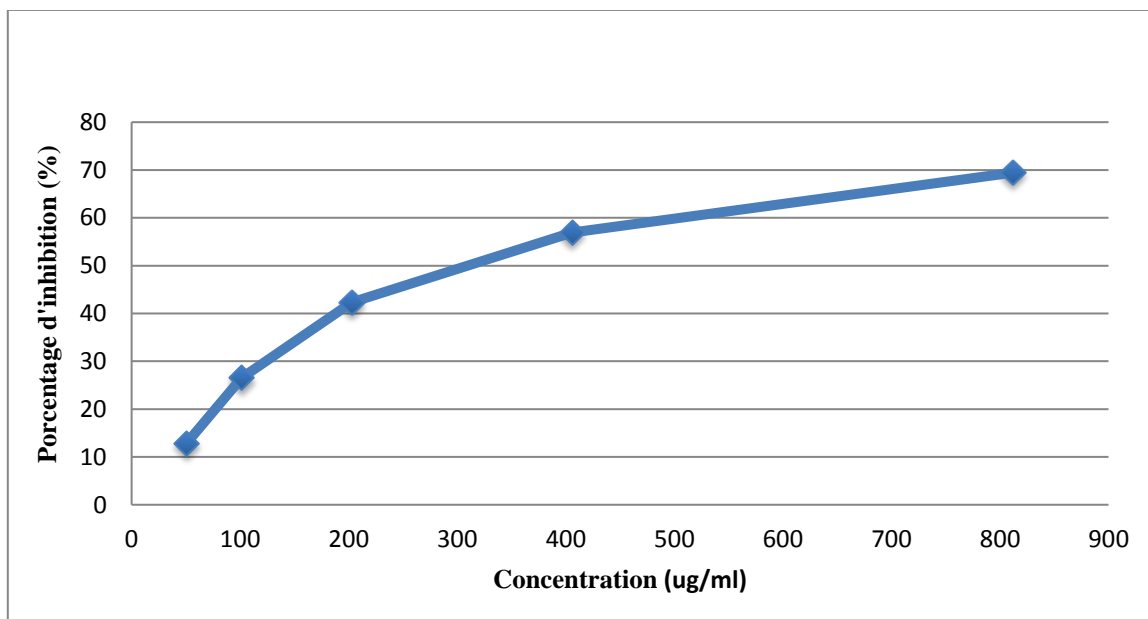


Figure 50 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'HE extraite de pin d'Alep.

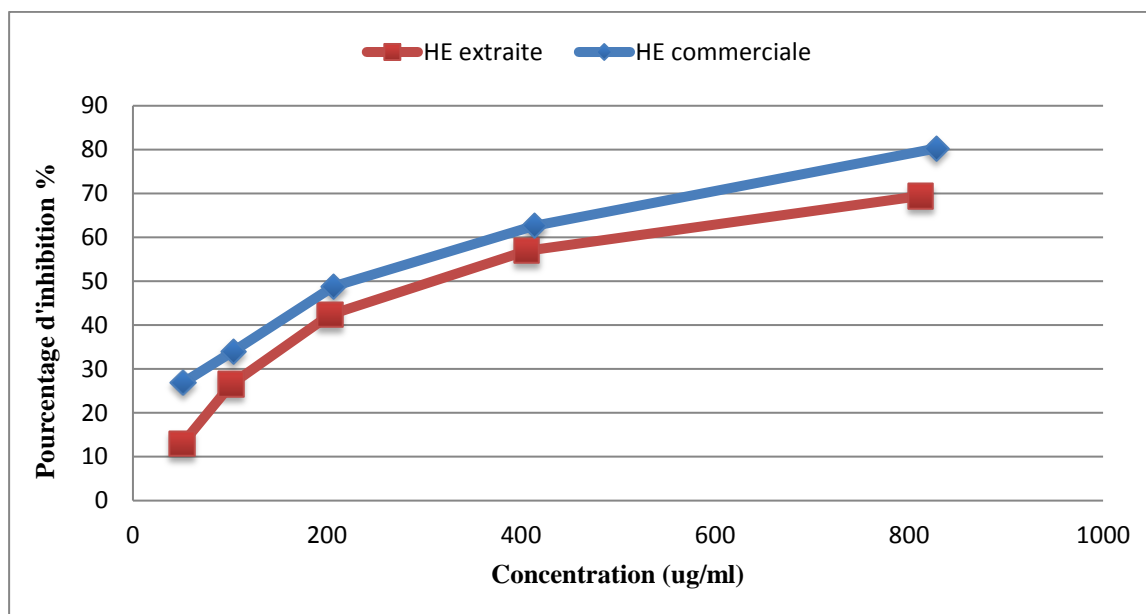


Figure 51 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations des HEs commerciale et extraite de pin d'Alep.

Tableau XXIV: IC50 des deux HEs de pin d'Alep.

	HE commerciale de Pin d'Alep	HE extraite de Pin d'Alep
IC50	312,73 ug/ml	438,25 ug/ml

2.5.2.3. Résultat de test DPPH sur l'acide ascorbique

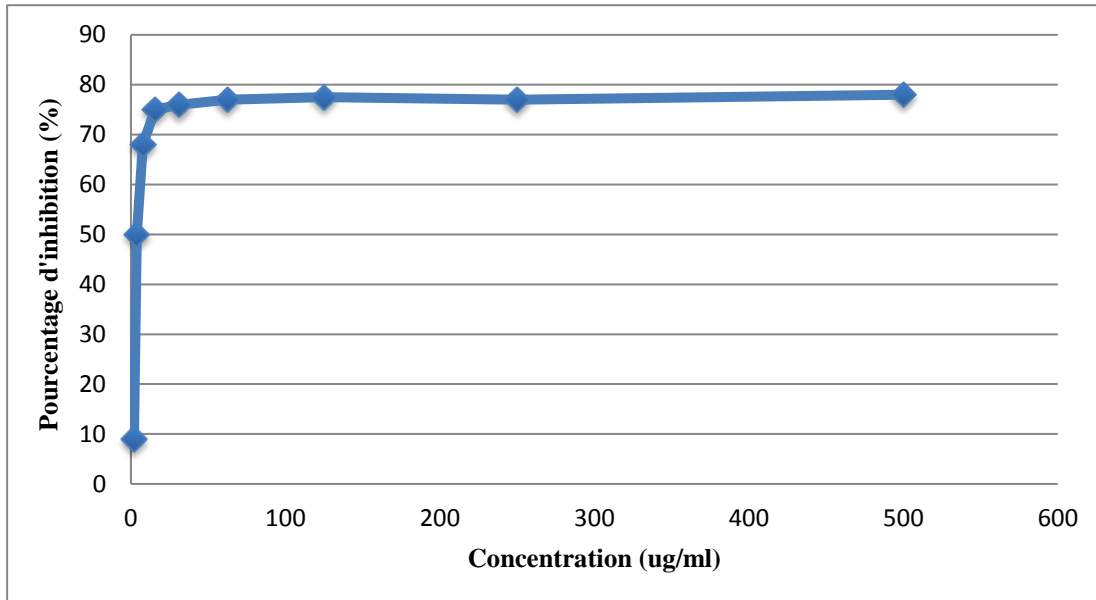


Figure 52 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.

Tableau XXV: IC50 de l'acide ascorbique.

Acide ascorbique	
IC50	4,2179 ug/ml

2.6. Résultat de l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

L'activité antibactérienne des huiles essentielle était absente ; aucune zone d'inhibition n'a été observée. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures et les tableaux ci-dessous.

2.6.1. Résultat de l'activité antibactérienne des HEs de cyprès vert

Tableau XXVI: Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les deux HEs de cyprès vert.

		1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Pseudomonas aeruginosa	HE commerciale	-	-	-	-	-	-
	HE extraite	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli	HE commerciale	-	-	-	-	-	-
	HE extraite	-	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	HE commerciale	-	-	-	-	-	-
	HE extraite	-	-	-	-	-	-

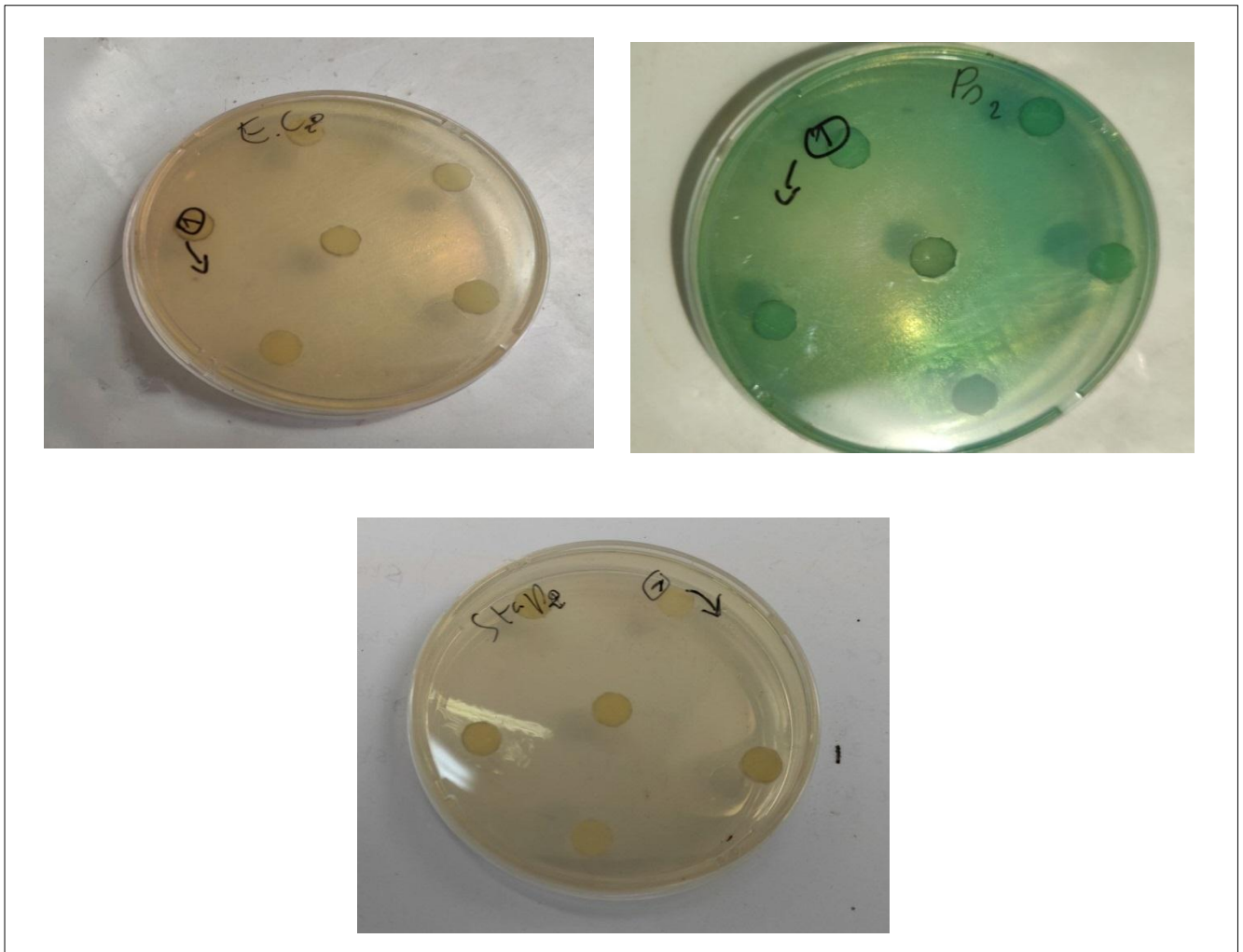


Figure 53 : Résultat de l'aromatogramme de l'HE de cyprès vert sur les 3 souches bactériennes utilisées.

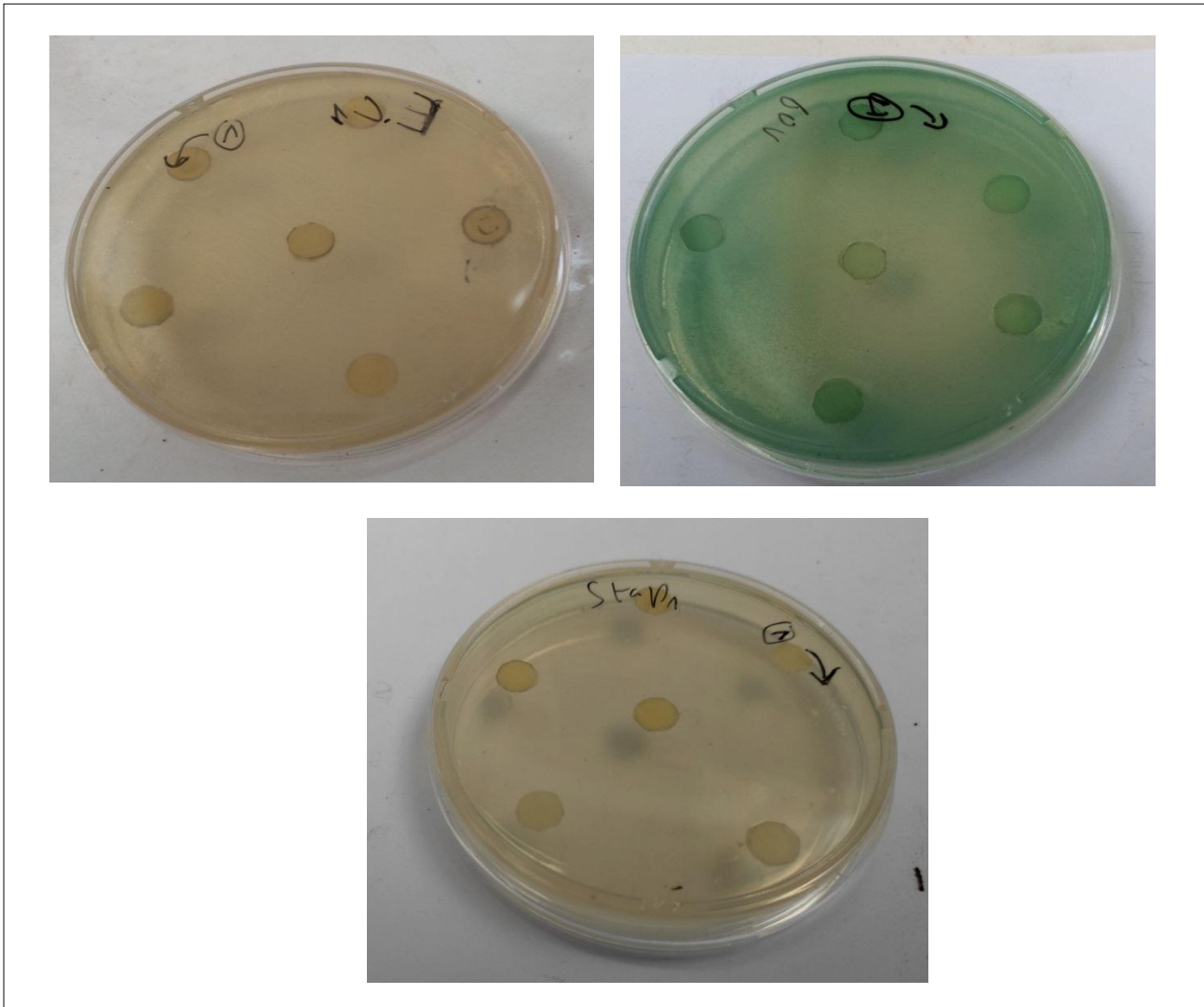


Figure 54 : Résultat de l'aromatogramme de l'HE extraite de cyprès vert sur les 3 souches bactériennes utilisées.

2.6.2. Résultat de l'activité antibactérienne des HEs de pin d'Alep

Tableau XXVII: Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis les deux HEs de pin d'Alep.

		1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
Pseudomonas aeruginosa	HE commerciale	-	-	-	-	-	-
	HE extraite	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli	HE commerciale	-	-	-	-	-	-
	HE extraite	-	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	HE commerciale	-	-	-	-	-	-
	HE extraite	-	-	-	-	-	-

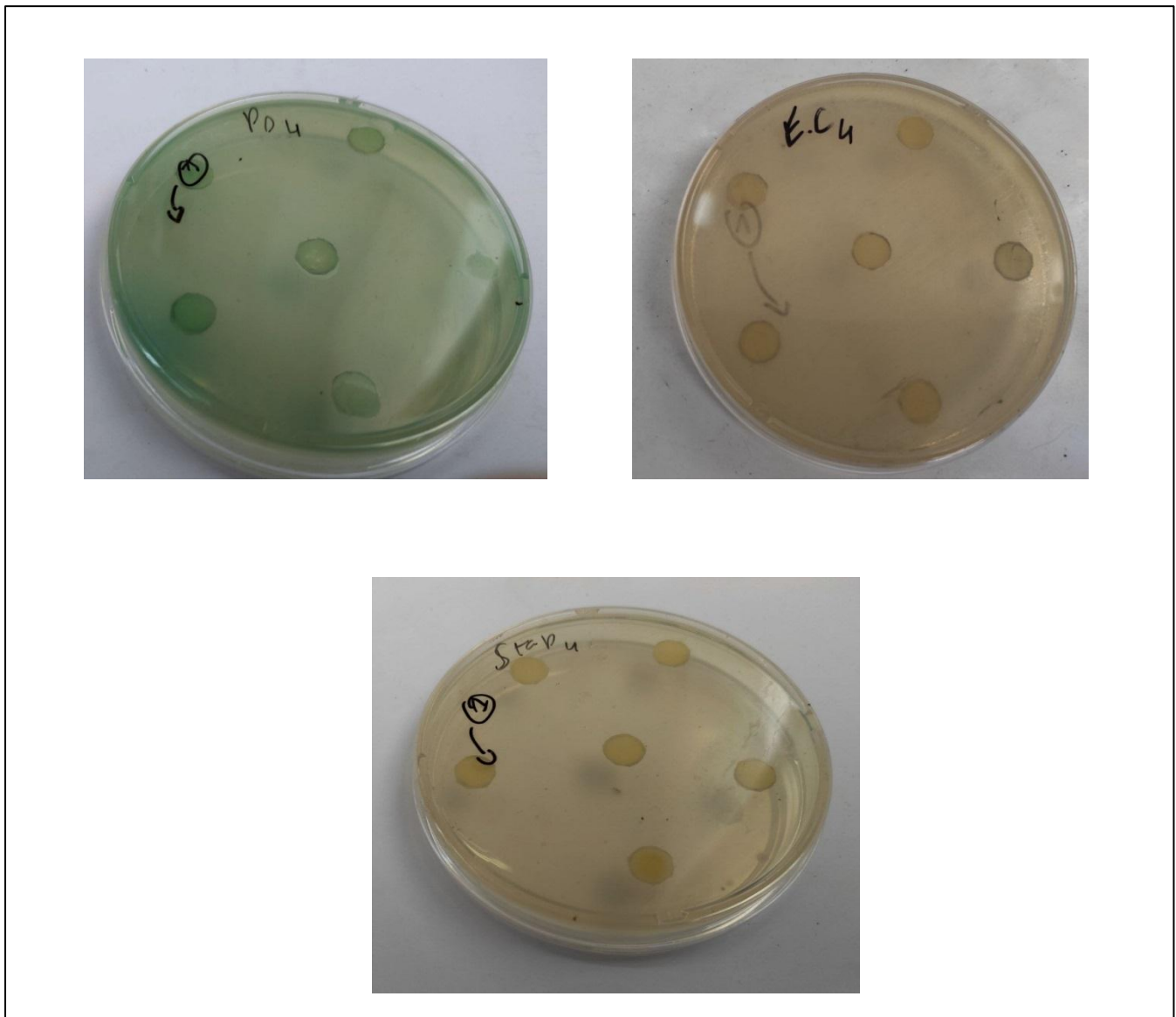


Figure 55 : Résultat de l'aromatogramme de l'HE commerciale de pin d'Alep sur les 3 souches bactériennes utilisées.

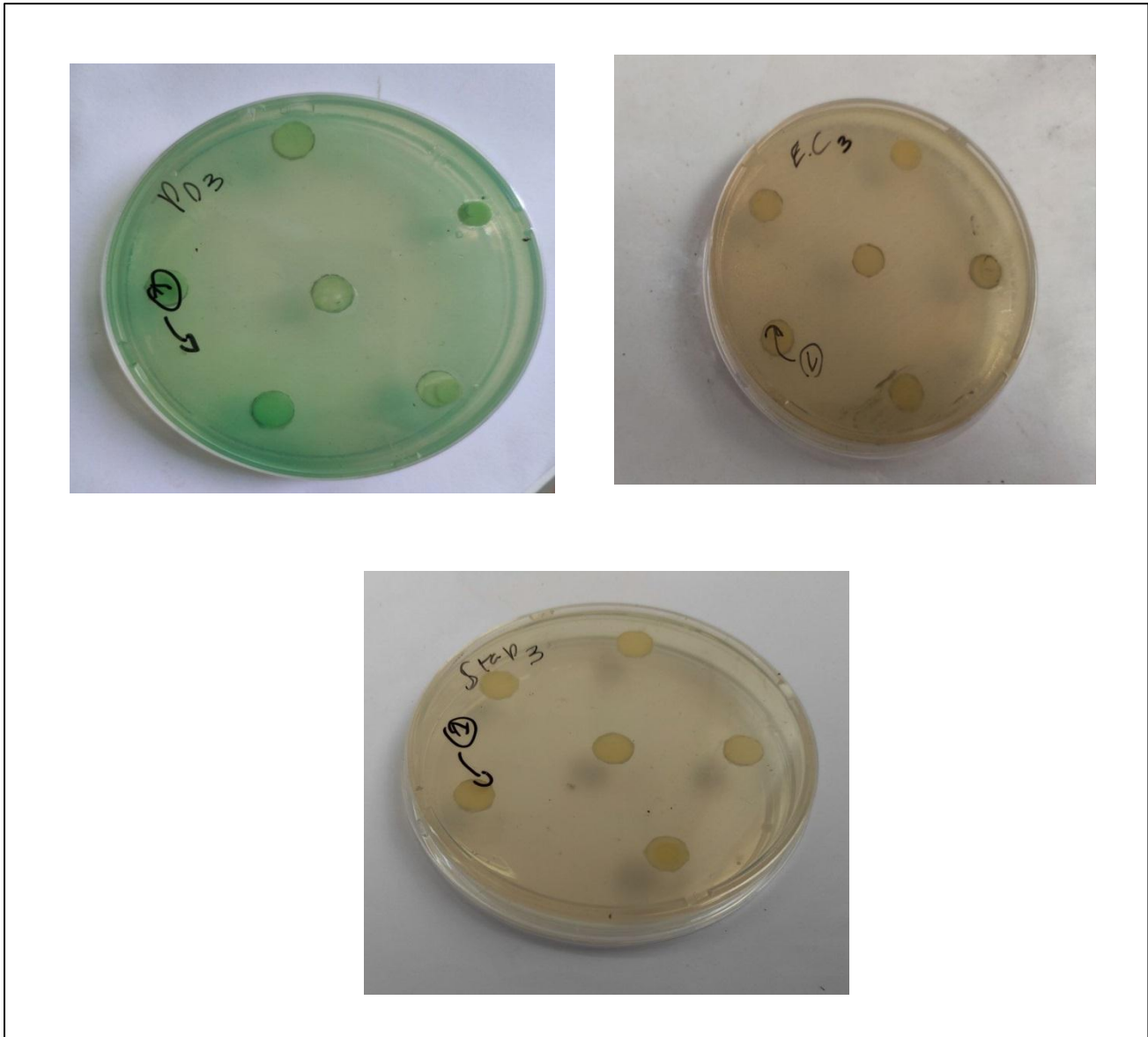


Figure 56 : Résultat de l'aromatogramme de l'HE extraite de pin d'Alep sur les 3 souches bactériennes utilisées.

DISCUSSION

1. Discussion des résultats de l'enquête ethnobotanique

Plusieurs études sont réalisées actuellement sur les huiles essentielles dans le but de produire une connaissance générale et approfondie sur leur usage médicinale et leur mode d'emploi.

D'après les résultats obtenus, l'utilisation des huiles essentielles est répandue quasiment chez toutes les tranches d'âge, avec une prédominance chez les sujets âgés entre 20 et 40 ans. Cela reviendrait au fait que ces personnes auraient plus de connaissances sur les HEs par le biais de l'accès facile à l'information via l'internet et les médias. Pour les moins de 20ans le recours est plus faible en raison de la méfiance vis-à-vis leur utilisation. On note une régression considérable chez les personnes âgées plus de 60ans, parce que leur utilisation n'a plus de réelle signification thérapeutique à ce stade-là, mais aussi en raison de leurs connaissances limitée sur l'usage des HEs.

L'usage des HEs est nettement plus élevé chez les femmes, cela est lié non seulement au flux d'informations continu apporté par les réseaux sociaux, mais aussi de la facilité de transmission du savoir entre elles surtout lors des rencontres féminines (les fêtes, les belles mères...). Ces résultats ressemblent en quelque sorte à ceux trouvés dans l'étude **de Fanny Noury, Perrine Mazetier, et Françoise Lohézie-Le Dévéhat**, dont les personnes d'âge entre [26-35ans] et [36-45ans] ont une fréquence d'utilisation des HEs de 65 % et que l'échantillonnage de l'enquête auprès du grand public est majoritairement féminin avec un taux de 86%(90).

Concernant le niveau d'étude, les universitaires ont plus recours à utiliser les HEs vu leurs connaissances et leurs notions acquises lors de leur parcours universitaire.

L'évaluation de l'utilisation des HEs, montre que la majorité des recensés ont en déjà utilisé au moins une seule fois. Cela revient essentiellement aux bienfaits et à la facilité d'utilisation des HEs. Concernant le lieu d'achat, 53.9% des interrogés utilisant les HEs les achètent de l'herboristerie suivi de la pharmacie, le cosmétique et la parapharmacie. En comparant nos résultats avec ceux de **Aurélié Pommier**, on remarque que le lieu privilégié

est la pharmacie pour 75% des répondants, ensuite viennent les magasins bio / naturels pour 55 % et d'internet pour 33%. Cela peut s'expliquer, d'une part, par le manque de conseil et de transmission d'informations nécessaires de l'appart du pharmacien et d'autre part, par le fait que les sources d'informations sont principalement de l'environnement social ce qui confirme que l'usage des HEs par notre population est une pratique à transmission populaire(91).

Par la suite, notre étude nous a permis de répertorier les différentes huiles essentielles utilisées par la population algérienne. Les résultats obtenus démontrent une diversité d'utilisation remarquable des HEs : l'huile de lavande (42.1%), l'huile de menthe vert (24.3%), l'huile du citron (8%), l'huile d'Eucalyptus (13.7%) et l'huile de thym (3.9%). Ce qui correspond avec une autre étude menée par **Delphine Freynet, Marion Vivant** qui avaient recensé les huiles essentielles les plus utilisées par les patients atteints de la mucoviscidose et qui ont trouvé une variabilité de choix de l'HE utilisé : l'huile l'Eucalyptus et le Tea Tree (13%), l'huile de Ravintsara (11%), l'huile de Citron, l'huile de la Lavande et le Thym (9%), l'huile de la Cannelle(2%)(92) .

Cette richesse est due aux nombreux avantages médicinaux traditionnels et thérapeutiques dans les différents terrains que ce soit pour traiter certains troubles respiratoire (14,6%), troubles digestifs (8,5%), ou dermatologiques (11,1%). De plus elles sont utilisées pour les soins des cheveux et de la peau (35,1%) et pour faire du massage (18,2%). Ces résultats obtenus sont cohérents avec l'étude de **Maha Hafsé, Kawtar Fikri Benbrahimr et Abdellah Farah** qui ont trouvé que l'huile essentielle de Pistacia lentiscus est utilisée surtout pour traiter certains troubles de digestion (75%), trouble dermatologique (2%) et également pour les soins des cheveux (9%)(93).

Passant à l'usage des huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep, les pourcentages montrent un résultat imprévu. Le taux des personnes utilisant ces deux huiles essentielles est estimé seulement à 22%. Cela peut revenir au manque de disponibilité sur le marché algérien mais aussi au manque d'informations sur ses véritables propriétés et son usage médicinal.

Pour les voies d'utilisation des huiles essentielles du cyprès et de pin d'Alep, les résultats obtenus montrent que la voie cutanée est la plus utilisée, ce qui correspond bien avec les principales indications pour lesquelles ils les utilisent : la peau et les soins pour cheveux, les troubles dermatologiques, les propriétés cicatrisantes et le massage. D'ailleurs l'étude de **Aurélien Pommier** sur les utilisations des HEs de lavande, Tea-tree et Ravinstara, a trouvé que les utilisations principales de l'HE de lavande étaient : l'effet cicatrisant contre (brûlures, escarres ou plaies), décontractant musculaire, apaisant après un coup de soleil(94).

Ceci s'explique par les propriétés cicatrisantes, régénératrice cutanée, antiprurigineuses, et anti- inflammatoires des principes actifs terpéniques présents dans l'HE de lavande et du cyprès.

Vient en deuxième position, la voie aérienne, avec un taux de (11,54%), qui est généralement utilisée pour soulager le stress et traiter les troubles de sommeil. Cela revient principalement à l'action neurotonique et tranquillisante des composés terpénique sur le système nerveux. Ce qui rejoint aux études menée par **AZOUZ Siham DEMOUCHE Imane** sur l'effet relaxant et d'endormissement de l'HE de lavande (95).

Quant à la voie orale, elle est rarement et seulement utilisée pour traiter certains troubles respiratoires et digestifs.

Dans sa thèse sur les utilisations thérapeutiques des huiles essentielles, Florence **MAYER** confirme que l'HE du cyprès est semblé très efficace pour traiter certains troubles respiratoires notamment la toux sèche. Cela est dû principalement à son action antitussive portée par ces composés sesquiterpéniques(96).

En ce qui concerne les effets indésirables, très peu de personnes ont en déjà présenté avec un pourcentage de 9,7% seulement qui sont généralement d'ordre cutané. Ceci ne correspond pas aux résultats de l'étude de **Fanny Noury, Perrine Mazetier, Françoise Lohéziec-Le Dévéhat**, où la majorité des interrogés ont développé des effets indésirables, après avoir utilisé les HEs : d'Eucalyptus (18%), Tea tree (15%), Agrumes (15%), Lavande (12%) et Thym (12%). La voie cutanée est toujours la plus mise en cause avec un taux de 75%.

2. Discussion des résultats du rendement en huile essentielle

Dans la présente étude le rendement de l'HE des feuilles sèches de cyprès vert a été évalué à 0,327%. Notre résultat est en accord avec celui obtenu dans l'étude d'**AMARA** et d'**ELANSARY**, où les rendements étaient respectivement de 0,32% et de 0,35%. Ce rendement de l'HE est plus élevé que celui obtenu dans l'étude d'**ANKA** réalisée au Liban où les rendements étaient de 0,121% et 0,242%. En revanche, il est significativement inférieur à celui obtenu dans l'étude de **SELIM** qui était de 2,6% (97–100).

D'autre part ; le rendement en HE des aiguilles séchées de pin d'Alep était de 0,804% ; ce qui est similaire au rendement de l'HE de la même espèce récoltées dans la région d'EL Kala en Algérie (0,8%). Dans la région de Souk Ahras, par contre la même espèce a donné un rendement de 0,3% (101). Une autre étude menée en Tunisie a montré que les rendements en HEs extraites de plusieurs échantillons de pin d'Alep cultivée dans différents bioclimats varient entre 0,9% et 1,57% ; ce qui est relativement supérieur à ce que nous avons obtenu (102).

La différence entre ces résultats peut être expliquée par plusieurs causes, à savoir la partie de la plante utilisée, la date et la zone de récolte, la méthodologie d'extraction. Ces facteurs sont extrêmement importants car les rendements d'extraction dépendent de différentes variables telles que la partie de matériel végétale ; les variations saisonnières; les conditions environnementales et de culture, l'âge de la plante (103).

3. Discussion de résultat de la caractérisation organoleptique

HE de cyprès obtenu par hydrodistillation est de couleur jaune très pale, d'odeur boisée très forte et d'aspect limpide. Il est à noter que ces caractéristiques sont identiques à celles de l'HE commerciale. Les paramètres organoleptiques des deux HEs sont également en accord avec les normes d'AFNOR (104).

Les caractéristiques organoleptiques de l'HE de pin d'Alep extraite sont très proches de celles de l'HE commerciale, avec une très forte odeur caractéristique de la plante, un aspect limpide et une coloration jaune très pâle pour l'HE commerciale, alors que l'HE extraite est

incolore. Ces caractéristiques apparaissent similaires à celles décrites dans l'étude de **Hjouji** (105).

4. Discussion du résultat de la caractérisation physique des huiles essentielles

Au cours de la présente étude, nous avons comparé la densité relative des deux HEs extraite et commerciale de cyprès vert. Nous avons noté que l'HE extraite avait une densité relative proche de celle de l'HE commercialisée (0,798 et 0,828 respectivement). Nos résultats sont quasiment identiques à celle mentionné dans l'étude d'**AL-Snafi** soit de 0,825 (29).

Les densités relatives des deux HEs extraites et commerciales de pin d'Alep sont approximativement les mêmes soit respectivement 0,8120 et 0,807. Ces résultats sont toutefois inférieurs à ceux obtenus avec d'autres espèces de pin : *Pinus brutia* (0,95); *Pinus caribaea* (0,9) (106). Cela démontre que la densité des huiles essentielles varie considérablement d'une espèce à une autre au sein du même genre.

Cette ressemblance entre les résultats des huiles essentielles extraites et leurs homologues commerciaux et ceux de la littérature témoigne de la bonne qualité de nos huiles.

5. Discussion du résultat de la séparation chimique par chromatographie sur couche mince

Dans le but d'avoir des empreintes bien déterminées sur les composés chimique de nos huiles essentielles, nous avons utilisé plusieurs systèmes d'élution de polarité différente.

Commençant par la première phase mobile (hexane / éther de pétrole), les résultats montrent la présence de deux taches avec les mêmes rapports frontaux pour l'huile essentielle du cyprès extraite et commerciale. Ainsi, la séparation de l'HE de pin d'Alep extraite et commerciale révèle la présence de trois taches ayant les mêmes RFs. Cela confirme que les deux HEs avec leur fraction extraite et commerciale ont une composition chimique identique

qui contient ni le Thymol, la vanilline, camphor et le cinéol. Ce résultat est cohérent avec l'étude menée par **Mariam HEDJAL-CHEBHEB** où les composés majoritaires étaient de la famille des terpènes(107).

Passant ensuite; à la deuxième phase mobile (dichlorométhane/éther de pétrole) ; le chromatogramme obtenu a décelé 2 taches pour les HEs de pin d'Alep extraite et commerciale avec les mêmes Rfs alors qu'on a marqué avec ce système de dilution des tache bien distinctes avec des RFs presque identique pour l'HE du cyprès commerciale et extraite, ce qui indique que la composition chimique de nos HE que ce soit extraite ou commerciale est toujours la même, mais avec une concentration des composés légèrement élevée pour l'huile extraite. Ces résultats obtenus sont conformes à ceux rapportés par l'étude de **BASMA Hireche et HADJER Ferhat** qui ont trouvé les mêmes espèces chimiques avec une différence de pourcentage de concentration, en utilisant toujours la même phase mobile (36).

D'après la recherche bibliographique, les composés majoritaires de nos huiles essentielles appartiennent à la famille des monoterpènes hydrocarbonés suivis par les sesquiterpènes.

Enfin, nous avons utilisé comme phase mobile (hexane : acétate d'éthyle). L'analyse a montré la présence des taches aux RFs identiques pour l'HE de pin d'Alep extraite et commerciale, alors pour celle du cyprès extraite et commerciale on a trouvé des taches avec des RF presque identiques, cela confirme leur même constitution chimique avec l'absence des étalons utilisés : Thymol, vanilline, camphor et du cinéol. Ceci a été confirmé par le résultat des travaux menée par **KASMI MOHAMED** qui a exploité les composés majoritaire de l'HE du cyprès et de pin d'Alep, et qui sont représenté par : α pinène, β Pinène, et le Delta-3-Carène pour le premier, et le β -caryophyllène, l' α -pinène, et le β -myrcène pour le second (108).

Selon les résultats apportés, nous en déduisons donc que la nature de la phase mobile affecte de façon directe la séparation chimique. Mais qu'il y a aussi une similitude de constitution chimique entre les huiles essentielles extraites et commerciale du cyprès et de pin d'Alep.

6. Discussion des résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles

L'activité antioxydante des 4 huiles essentielles examinées a été évaluée au moyen de deux tests : FRAP et DPPH.

D'après les résultats de test FRAP, qui montrent que l'activité antioxydante des composants antioxydants est dose-dépendante ce qui est confirmé par l'étude de **NWAEHujur** (109). Nous avons observé que la capacité de réduction du fer des huiles essentielles commerciales est légèrement supérieure à celle des huiles essentielles extraites. Nous avons noté que l'HE commerciale du cyprès vert avait une absorbance de 0,513 nm, alors que l'HE extraite de la même espèce avait une absorbance de 0,459 nm pour une concentration identique de 250 ug/ml. De même manière l'HE commerciale de pin d'Alep avait une absorbance de 0,494 nm, alors que l'HE extraite avait une absorbance de 0,378 nm pour la même concentration. Notant qu'une augmentation d'absorbance reflète une augmentation de pouvoir réducteur.

Pour le test de DPPH, les IC50 sont déterminés graphiquement par régression linéaire des courbes générés à l'aide de logiciel Excel.

Les résultats d'estimation des IC50 des HEs ont montré des valeurs relativement basses pour les HEs commercialisées par rapport aux HEs extraites par hydrodistillation, ce qui traduit une activité antiradicalaire plus importante pour les HEs commerciales. Cette constatation est confirmée par l'étude de **POSTU** (75) qui confirme que les valeurs d'IC50 sont inversement proportionnelle à l'activité antioxydante.

L'étude d'**ARGUI** (110) sur l'HE de cyprès vert a révélé une valeur IC50 de 5295 ug/ml pour le test DPPH, ce qui est significativement plus élevée par rapport aux valeurs enregistrées dans notre travail (278.49 ug/ml pour HE commerciale et 366.71ug/ml pour HE extraite). Par conséquent, la capacité antioxydante de nos HEs du cyprès vert est nettement plus importante.

L'étude de l'activité antioxydante de HE de pin d'Alep menée par **BOUYAHYA** (71) a enregistré une activité plus importante que celle constatée avec nos HEs (commerciale et extraite) de pin d'Alep, avec une valeur IC50 de 113,25 µg/ml.

Nombreuses études ont prouvé que l'activité antioxydante des HEs est principalement attribuée à leur profil chimique ; notamment à la présence des composés phénoliques et de composés terpéniques (111,112). Mais aussi aux effets synergiques de deux ou plusieurs composés présents dans l'HE(113).

Sur la base de ces études, nous pouvons conclure que l'activité antioxydante des HEs examinées est liée à leur composition chimique. De plus l'étude de **KHAJEH** (114) a prouvé que même si la composition chimique de huile essentielle obtenue par hydrodistillation et par le biais d'autres méthodes d'extraction est similaire sur le plan qualitatif ; elle diffère sur le plan quantitatif. Cela explique le fait que les huiles essentielles commerciales ont une activité antioxydante légèrement plus élevée.

7. Discussion des résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Dans cette présente étude, nous avons utilisé 3 souches de bactéries : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* pour évaluer l'activité antibactérienne des quatre HEs examinées.

Nos résultats ont montré que l'activité antibactérienne des HEs extraites était identique à celle des HEs commerciales. Cependant il n'y avait aucune activité contre les trois souches testées.

L'étude d'**ANKA** (98) a montré que les bactéries de gram négative (*E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) étaient résistantes au HE du cyprès vert ; alors que le *Staphylococcus aureus* (gram positive) était sensible avec une zone d'inhibition de 12mm. Ces résultats concordent avec notre étude à l'exception de la sensibilité de *Staphylococcus aureus*, les autres résultats sont cohérents.

En revanche, l'HE de pin d'Alep utilisée dans l'étude de **SADOU** (101) montre une activité antibactérienne significative contre les 3 souches de bactérie avec une sensibilité plus élevée de *S.aureus* par rapport à *E. coli* et *P.aeruginosa*.

En se référant à la littérature ; plusieurs études ont montré que l'activité antibactérienne des HEs est liée à leur caractère hydrophobe, qui leur permet de pénétrer dans les couches lipidique de la paroi bactérienne (115). Cela explique que la résistance élevée des bactérie gram négative pourrait être attribuée à la présence de leur membrane phospholipidique externe presque imperméable aux composé lipophiles (113).

Par ailleurs, la sensibilité des micro-organismes peut différer en fonction du germe testé ; une HE pouvant être bactériostatique contre certaines souches ; bactéricide contre d'autres ; ou encore sans effet. De plus la sélectivité des HEs vis-à-vis certaines bactéries découle de la composition variable des fractions actives des HEs ; qui ont souvent des effets synergiques (116).

En se basant sur la littérature, la différence entre nos résultats et ceux d'autres auteurs précédemment mentionnés peut être due aux différentes origines des microorganismes, ainsi qu'aux différentes origines des HEs et à sa méthode d'acquisition ce qui influence d'une façon direct sur le chémotype caractéristique de chacune des huiles essentielles.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Dans un cadre de contrôle qualité, nous avons effectué une étude comparative entre les HEs extraites et leurs homologues commerciales des espèces « *Pinus halepensis* » et « *Cupressus sempervirens* ».

En premier lieu, et par le biais d'une enquête menée auprès de 120 personnes ; nous avons réussi à recueillir des données précieuses sur les indications et les tendances de la population en matière d'utilisation des HEs. Les femmes entre 20 et 40ans dominent cette population en terme d'utilisation de ces essences notamment en dermatologie et dans les soins de la peau et des cheveux.

L'analyse chromatographique par CCM montre une similitude en termes de composition chimique des HEs extraites et leurs équivalents commerciaux.

D'autre part, l'étude des activités biologiques a donné des résultats prometteurs ; bien que certaines différences ont été observées ; les HEs extraites et commerciales de chaque espèce ont présenté des similitudes remarquables dans les activités biologiques. Les résultats du test FRAP ont reflété une capacité antioxydante importante ; cette activité est confirmée par les résultats du test DPPH où les concentrations d'IC50 étaient de l'ordre de 278,49 ug/ml pour l'HE commerciale de cyprès vert et 366,71 ug/ml pour l'HE extraite de la même espèce. Pour le pin d'Alep les IC50 étaient de 312,73 ug/ml pour l'HE commerciale et 438,25 ug/ml pour l'HE extraite ; indiquant que la qualité et le pouvoir des antioxydants présent dans les HEs extraites sont comparables à ceux des HEs commerciales.

En revanche ; l'étude microbiologique a révélé qu'aucune des HEs n'a une activité antibactérienne sur les trois souches bactériennes testées.

En se référant à ces résultats, indiquant que la qualité (propriétés physicochimiques et activités biologiques) des HEs commerciales est comparable à celle des HEs extraites, nous estimons que notre objectif est atteint.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Il est important de noter que notre étude n'est qu'une étape préliminaire dans ce domaine de recherche ; nous espérons qu'elle contribuera à stimuler d'autres recherches plus approfondies.

Dans cette perspective ; nous pouvons envisager et explorer plusieurs nouvelles pistes de recherche à savoir :

- Analyser la composition chimique des huiles essentielles par CPG/SM et RMN.
- Evaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes (ABTS ; ORAC ; bêta-carotène ; CUPRAC).
- Evaluer l'activité antimicrobienne sur d'autres souches bactériennes et des souches fongiques.
- Evaluer autres activités biologiques et pharmacologiques des huiles essentielles in vitro comme in vivo.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Piochon M. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Université du Québec à Chicoutimi; 2008.
2. Bassaid Oulhadj R, Zermane A. Extraction de l'huile essentielle de *Lepidium Sativum* par plusieurs. 2020;
3. Guerriaud M. Réglementation des huiles essentielles, un besoin de sécurité. *Actual Pharm.* 2018;57(580):21-5.
4. Sallé JL, Pelletier J. Les huiles essentielles: synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Editions Frison-Roche; 1991.
5. Zizovic I, Stamenić M, Orlović A, Skala D. Supercritical carbon dioxide extraction of essential oils from plants with secretory ducts: Mathematical modelling on the micro-scale. *J Supercrit Fluids.* 2007;39(3):338-46.
6. Degryse AC, Delpla I, Voinier MA. Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Rapp Stage En Vue L'obtention Diplôme D'ingénieur Génie Sanit.* 2008;
7. BELGHARBI H. Etude de l'effet inhibiteur de corrosion de l'huile essentielle de Cyprès. 2020;
8. CHARIK S, KADRI Y. Criblage phytochimique et extraction des huiles essentielles de l'espèce *lavandula officinalis*. 2020;
9. Belhocine A, Aouine F. Etude de l'effet antimicrobien et antioxydant de l'huile essentielle de *pinus sylvestris* sur la conservation de la saucisse. 2017;
10. Chenni M. Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "*Ocimum basilicum L.*" extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. *Mém Dr Univ D'Oran.* 2016;1.
11. Sell C. Chemistry of essential oils. In: *Handbook of Essential Oils.* CRC Press; 2020. p. 161-89.
12. BELKHIRI FZ. Etude de l'activités antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* 2015;
13. Hallak H, Djebbar L, Malki S. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de trois plantes médicinales. 2022;
14. Mayer F. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles: Etude de cas en maison de retraite. 2012;
15. Bouyahya A, Bakri Y, Et-Touys A, Talbaoui A, Khouchlaa A, Charfi S, et al. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie.* 2018;16(S1):S173-83.
16. Deschepper R. Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. 2017;

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

17. Houda M, Maria B. Détermination des huiles essentielles des aiguilles de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.). 2020;
18. Nadjib BM, Amine F. MÉTHODES D'EXTRACTION ET DE DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES : REVUE DE LITTÉRATURE. 2019;
19. Goudjil MB. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. 2016 [cité 19 juin 2023]; Disponible sur: <http://rgdoi.net/10.13140/RG.2.2.11204.65926>
20. Velé Hélène. Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments. université Angers; 2015.
21. mooh90. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles [Internet]. Agronomie. 2019 [cité 11 juin 2023]. Disponible sur: <https://agronomie.info/fr/les-methodes-d'extraction-des-huiles-essentielles/>
22. Bousbia N. Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. 2011;
23. mooh90. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles [Internet]. Agronomie. 2019 [cité 11 juin 2023]. Disponible sur: <https://agronomie.info/fr/les-methodes-d'extraction-des-huiles-essentielles/>
24. HUILES ESSENTIELLES Recommandations sanitaires pour l'emploi d'huiles essentielles dans les compléments alimentaires. janv 2019;9.
25. DJABRI C, LAHMIDI S. Effet pupicide et ovocide de huile Essentielle D'Ocimum basilicum chez *Culiseta longiareolata*. 2021;
26. Gralon [Internet]. [cité 4 janv 2023]. Le cyprès : un conifère méditerranéen. Disponible sur: <https://www.gralon.net/articles/maison-et-jardin/jardin/article-le-cypres---un-conifere-mediterraneen-9564.htm>
27. Muséum national d'Histoire naturelle [Internet]. [cité 4 janv 2023]. Cyprès commun. Disponible sur: <https://www.mnhn.fr/fr/cypres-commun>
28. Cyprès en Provence | Provence 7 [Internet]. 2015 [cité 4 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.provence7.com/portails/nature/parcs-et-jardins-en-provence/cypres-en-provence/>
29. Al-Snafi AE. Medical importance of *Cupressus sempervirens*-A review. IOSR J Pharm. 2016;6(6):66-76.
30. Riom C. Le *Cupressus sempervirens*: approche du concept du pollinier sentinelle nantais. 2010;
31. Akram A, Benchahra Aida HR, Aymen K. Etude de l'activité antibactérienne du Cyprès. 2022;
32. Binette & Jardin [Internet]. [cité 5 févr 2023]. Cyprès de Provence (*Cupressus sempervirens*) : arbre, plantation, entretien. Disponible sur: <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-310-cypres-provence-cupressus-sempervirens-silhouette-sud.html>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

33. Djaffar khadidja, Zenati asma. Etude bibliographique des activités biologiques et composés chimiques des trois plante médicinales :Ruta Chalepenses, Syzygium Aromaticum et Cupressus Sempervirens. 2020.
34. Dahah Halima. Étude de l'effet antifongique des extraits de Cupressus sempervirens et Lepidium sativum sur Colletotrichum sp. agent de l'antracnose de la tomate (Lycopersicon esculentum Mill). Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie; 2020.
35. Flore d'Occitanie [Internet]. [cité 5 févr 2023]. Cyprès de Provence. Disponible sur: <http://floredu languedocroussillon.eclublog.com/cypres-de-provence-a106708220>
36. BASMA Hireche HF. Etude de l'effet inhibiteur des huiles essentielles de Cyprès (Cupressus Sempervirens. L) sur la corrosion de l'acier X70 (sans et avec soudure). 2019;
37. RODRIGUEZ R. CYPRÈS DE PROVENCE : Photo + Habitat + Utilisations + Confusions [Internet]. Monde Végétal. 2021 [cité 9 janv 2023]. Disponible sur: <https://monde-vegetal.fr/cypres-de-provence/>
38. NICHANE M. Contribution à l'étude du dépérissement du Cyprès vert (Cupressus sempervirens L.) dans les monts des Traras Occidentaux (Wilaya de Tlemcen. 2015;
39. Kismoune S, Benabdelkader ME. L'effet de l'extrait aqueux de cyprès sur la croissance de champignon Phythophthora infestans. 2021;
40. Cyprès : propriétés, bienfaits de la plante médicinale [Internet]. 2020 [cité 13 mars 2023]. Disponible sur: <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2658879-cypres-proprietes-bienfaits-de-la-plante-medicinale/>
41. Cyprès (Cupressus sempervirens) : propriétés, bienfaits de cette plante en phytothérapie - Doctissimo [Internet]. [cité 13 mars 2023]. Disponible sur: <https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/cypres.htm#proprietes-medicinales-du-cypres>
42. Cyprès : La plante des affections virales [Internet]. [cité 19 mars 2023]. Disponible sur: <https://www.pileje.fr/revue-sante/cypres>
43. Cyprès, Cupressus: bienfaits et utilisations [Internet]. [cité 18 mars 2023]. Disponible sur: <https://www.bio-enligne.com/produits/141-cypres.html>
44. Dieti Natura [Internet]. [cité 18 mars 2023]. Qu'est-ce que le Cyprès ? Disponible sur: <https://www.dieti-natura.com/plantes-actifs/cypres.html>
45. Ibrahim E, Desoukey S, Hadad G, Salam R, Ibrahim A, Ahmed S, et al. Analysis of cupressuflavone and amentoflavone from Cupressus sempervirens L. and its tissue cultured callus using HPLC-DAD method. Pharm Pharmacol Int J. 2017;5(5).
46. Nacira Amara, Boughérara Y. Activité Antimicrobienne De L'Huile Essentielle Du Cyprès Vert (Cupressus Sempervirens L.). 3 sept 2017 [cité 4 janv 2023]; Disponible sur: <https://zenodo.org/record/883857>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

47. ABDELLAOUI R, DEBIH R. Etude de la mycoflore endophyte du Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.). 2019;
48. Nahal I. Taxonomie et aire géographique des pins du groupe halepensis. *Obtions Méditerranéennes*. 1986;1-9.
49. Mahdhi A, Ghazghazi H, El Aloui M, Ben Salem R, Rigane G. Identification and quantification of phenolic and fatty acid profiles in *Pinus halepensis* mill. seeds by LC-ESI-MS and GC: Effect of drying methods on chemical composition. *Food Sci Nutr*. 2021;9(4):1907-16.
50. MAIRE R. Flore de L'Afrique du Nord. Volumen 1. Encyclopédie Biologique 33. 366 pp. Ed Paul Lechevalier Paris. 1952;
51. Seigue A. La forêt circumméditerranéenne et ses problèmes. Vol. 5. Maisonneuve & Larose; 1985.
52. Kadik B. Contribution à l'étude du Pin d'Alep(*Pinus halepensis* Mill.) en Algérie: écologie, dendrométrie, morphologie. 1987;
53. Dalal A, Ismahane L. Les propriétés de *Pinus Halepensis* Mill. 2020;
54. Rigane G, Jebali J, Ghazghazi H, Riguene H, Khouja ML, Salem RB. Chemical composition and biological activities of *pinus halepensis* Mill. oil. *Rev Roum Chim*. 2019;64(11):999-1006.
55. TAIBI Z, Mona N. Effet de la contrainte thermique (hautes et basses températures) sur les jeunes plants du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans la région de M'sila. 2017;
56. Zenzen W. Utilisation du SIG pour l'analyse de la structure de la forêt de Ouennougha dans la Wilaya de Bordj Bou Arréridj, mémoire, master en foresterie, univ. Tlemcen 60p Annexe. 2016;7.
57. Boudy P. Guide du forestier en Afrique du Nord. 1952;
58. El Omari N, Guaouguaou FE, El Menyiy N, Benali T, Aanniz T, Chamkhi I, et al. Phytochemical and biological activities of *Pinus halepensis* mill., and their ethnomedicinal use. *J Ethnopharmacol*. 2021;268:113661.
59. Benderradji L, Rebbas K, Ghadbane M, Bounar R, Brini F, Bouzerzour H. Ethnobotanical study of medicinal plants in Djebel messaad region (M'sila, Algeria). *Glob J Res Med Plants Indig Med*. 2014;3(12):445-59.
60. Bouasla A, Bouasla I. Ethnobotanical survey of medicinal plants in northeastern of Algeria. *Phytomedicine*. 2017;36:68-81.
61. Sari M, Sarri D, Hendel N, Boudjelal A. Ethnobotanical study of therapeutic plants used to treat arterial hypertension in the Hodna region of Algeria. *Glob J Res Med Plants Indig Med*. 2012;1(9):411.
62. Sarri M, Boudjelal A, Hendel N, Sarri D, Benkhaled A. Flora and ethnobotany of medicinal plants in the southeast of the capital of Hodna (Algeria). *Arab J Med Aromat Plants*. 2015;1(1):24-30.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

63. Ouhammadou H, Boubaker H, Msanda F, El Mousadik A. An ethnobotanical study of medicinal plants of the Agadir Ida Ou Tanane province (southwest Morocco). *J Appl Biosci*. 2014;84:7707-22.
64. Chohra D, Ferchichi L. Ethnobotanical study of Belezma National Park (BNP) plants in Batna: East of Algeria. *Acta Sci Nat*. 2019;6(2):40-54.
65. Mohamed AA, Behiry SI, Ali HM, EL-Hefny M, Salem MZ, Ashmawy NA. Phytochemical compounds of branches from *P. halepensis* oily liquid extract and *S. terebinthifolius* essential oil and their potential antifungal activity. *Processes*. 2020;8(3):330.
66. Meziti H, Bouriche H, Kada S, Demirtas I, Kizil M, Senator A, et al. Phytochemical analysis, and antioxidant, anti-hemolytic and genoprotective effects of *Quercus ilex* L. and *Pinus halepensis* Mill. methanolic extracts. *J Pharm Pharmacogn Res*. 2019;7:260-72.
67. Nam AM, Casanova J, Tomi F, Bighelli A. Composition and chemical variability of Corsican *Pinus halepensis* cone oil. *Nat Prod Commun*. 2014;9(9):1934578X1400900935.
68. Cheikh Rouhou S, Hentati B, Besbes S, Blecker C, Deroanne C, Attia H. Composition chimique des graines de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) d'origine tunisienne et caractérisation de la fraction lipidique. In 2006.
69. Fernandez C, Monnier Y, Ormeño E, Baldy V, Greff S, Pasqualini V, et al. Variations in allelochemical composition of leachates of different organs and maturity stages of *Pinus halepensis*. *J Chem Ecol*. 2009;35(8):970-9.
70. Amri I, Hamrouni L, Hanana M, Gargouri S, Fezzani T, Jamoussi B. *Biol Agric Hortic*. 2013;29(2):91-106.
71. Bouyahya A, Belmehdi O, Abrini J, Dakka N, Bakri Y. Chemical composition of *Mentha suaveolens* and *Pinus halepensis* essential oils and their antibacterial and antioxidant activities. *Asian Pac J Trop Med*. 2019;12(3):117.
72. Ghanmi M, Satrani B, Chaouch A, Aafi A, Abid AE, Ismaili MR, et al. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'essence de térébenthine du pin maritime (*Pinus pinaster*) et du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) du Maroc. *Acta Bot Gallica*. 2007;154(2):293-300.
73. Koutsaviti K, Giatropoulos A, Pitarokili D, Papachristos D, Michaelakis A, Tzakou O. Greek *Pinus* essential oils: larvicidal activity and repellency against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res*. 2015;114(2):583-92.
74. Bouzenna H, Samout N, Amani E, Mbarki S, Tlili Z, Rjeibi I, et al. Protective effects of *Pinus halepensis* L. essential oil on aspirin-induced acute liver and kidney damage in female Wistar albino rats. *J Oleo Sci*. 2016;65(8):701-12.
75. Postu PA, Sadiki FZ, El Idrissi M, Cioanca O, Trifan A, Hancianu M, et al. *Pinus halepensis* essential oil attenuates the toxic Alzheimer's amyloid beta (1-42)-induced memory impairment and oxidative stress in the rat hippocampus. *Biomed Pharmacother*. 2019;112:108673.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

76. CHAIBET D, HAMEDOUNE C, CHERFIOUI N, SELMANE R. CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'HUILE ESSENTIELLE EXTRAITE DE *Bupleurum spinosum* L. 2021;
77. Mehani M. Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camendulensis* dans la région de Ouargla. 2015;
78. TRIQUI ; KHEDIM INEK. Etude phytochimique d'une plante médicinale *Salvia algeriensis* Desf. 2022.
79. BOUMENIKHRA K. Caractérisation physico-chimique des huiles essentielles de trois espèces d'agrumes. 2015.
80. Document d'accompagnement du programme de chimie de seconde / Statut évolutif / janvier 2000.....104 - Recherche Google [Internet]. [cité 19 juin 2023]. Disponible sur:
https://www.google.com/search?q=Document+d%E2%80%99accompagnement+du+programme+de+chimie+de+seconde+%2F+Statut+%C3%A9volutif+%2F+janvier+2000.....104&rlz=1C1AVNG_enDZ685DZ686&oq=Document+d%E2%80%99accompagnement+du+programme+de+chimie+de+seconde+%2F+Statut+%C3%A9volutif+%2F+janvier+2000.....104&aqs=chrome..69i57.1806j0j15&sourceid=chrome&ie=UTF-8
81. Mouna N, Tarek B, Amira A. Etude phytochimiques d'une plante medicinale. 2021;
82. MAXICOURS [Internet]. [cité 4 juin 2023]. La chromatographie sur couche mince. Disponible sur: <https://www.maxicours.com/se/cours/la-chromatographie-sur-couche-mince/>
83. Madjour S. Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis*. 2014;
84. MESSIKH Y, TEHAMI W, CHERGUI Y. Caractérisation de l'huile essentielle et évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de l'espèce. 2021;
85. Meriem L, Amina S, Ghania O. Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale.
86. Kedare SB, Singh R. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol*. 2011;48:412-22.
87. Dieng SIM, Fall AD, Diatta-Badji K, Sarr A, Sene M, Sene M, et al. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigma thonningii* Schumach. *Int J Biol Chem Sci*. 2017;11(2):768-76.
88. Sharififar F, Moshafi M, Mansouri S, Khodashenas M, Khoshnoodi M. In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*. 2007;18(7):800-5.
89. Mouas Y, Benrebaha FZ, Chaouia C. ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTERIENNE DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DE L'EXTRAIT MÉTHANOLIQUE DU ROMARIN *ROSMARINUS OFFICINALIS* L. *Rev Agrobiol*. 2017;7(1):363-70.
90. Bihan EL. Françoise LOHEZIC-LE DEVEHAT.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

91. Freynet D, Vivant M. Enquête sur l'utilisation des huiles essentielles par les patients atteints de la mucoviscidose: une approche quantitative et qualitative.
92. Noury F, Mazetier P, Lohézic-Le Dévéhat F. Enquêtes sur la survenue d'intoxications après l'utilisation d'huiles essentielles, comparaison avec les données du CAP d'Angers (2017–2018). *Ann Pharm Fr.* mai 2023;81(3):492-518.
93. Hafsé M, Benbrahim KF, Farah A. Enquête ethnobotanique sur l'utilisation de *Pistacia lentiscus* au Nord du MAROC (Taounate). 2015;13(4).
94. Pommier A. Enquête auprès de patients sur l'utilisation de trois des huiles essentielles les plus demandées au comptoir: Lavande officinale, Ravintsara et Tea-tree, création de fiches et conseils à l'officine.
95. AZOUZ Siham, DEMOUCHE Imane. SUIVI DU CIRCUIT DES HUILES ESSENTIELLES DE L'EXTRACTION A LA VENTE EN OFFICINE. CONTRIBUTION A LEUR CONTRÔLE. 2022.
96. Atkinson J, Siest G, Vigneron C. PROFESSEURS EMERITES.
97. Amara N, Boughérara Y. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du cyprès vert (*Cupressus sempervirens* L.). *Algerian J Nat Prod.* 2017;5(2):455-62.
98. Anka L, Rammal H, Kobeissi A, Saab HB. Chemical composition and biological potentials of Lebanese *Cupressus sempervirens* L. leaves extracts. *J Med Plants Res.* 2020;14(6):292-9.
99. Elansary HO, Salem MZ, Ashmawy NA, Yacout MM. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of leaves essential oils from *Syzygium cumini* L., *Cupressus sempervirens* L. and *Lantana camara* L. from Egypt. *J Agric Sci.* 2012;4(10):144.
100. Selim SA, Adam ME, Hassan SM, Albalawi AR. Chemical composition, antimicrobial and antibiofilm activity of the essential oil and methanol extract of the Mediterranean cypress (*Cupressus sempervirens* L.). *BMC Complement Altern Med.* 2014;14:1-8.
101. Sadou N, Seridi R, Djahoudi A, Hadeff Y. Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill. du Nord est Algérien. *Synthèse Rev Sci Technol.* 2015;30:33-9.
102. Dakhlaoui S, Bourgou S, Bachkouel S, Ben Mansour R, Ben Jemaa M, Jallouli S, et al. Essential oil composition and biological activities of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Miller) needles collected from different Tunisian regions. *Int J Environ Health Res.* 2023;33(1):83-97.
103. Xavier V, Finimundy TC, Heleno SA, Amaral JS, Calhelha RC, Vaz J, et al. Chemical and bioactive characterization of the essential oils obtained from three Mediterranean plants. *Molecules.* 2021;26(24):7472.
104. de Normalisation AF. Huiles Essentielles, Monographie Relative aux Huiles Essentielles, Tome 2, vols 1 and 2. AFNOR Paris. 2000;
105. Hjouji K, Atemni I, Mehdaoui I, Ainane A, Berrada S, Rais Z, et al. Essential oil of aleppo pine needles: antioxidant and antibacterial activities. 2021;

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

106. Hanana M, Bejia A, Amri I, Gargouri S, Jamoussi B, Hamrouni L. Activités biologiques des huiles essentielles de pins. *J New Sci.* 2014;4(3):18-32.
107. Hedjal-Chebheb M. Identification des principes actifs des huiles essentielles de quelques résineux et plantes aromatiques de provenance Algérienne et Tunisienne. Etude de leurs activités biologiques à l'égard d'un insecte ravageur des graines stockées, *Callosobruchus maculatus* F. 1775 (Coleoptera: Bruchidae).
108. KASMI M'hamed. Extraction, Elaboration de pommades anti- hémorroïdes à base d'huiles essentielles de pin d'Alep et de cyprès. 2018.
109. Nwaehujor CO, Ezeja MI, Udeh NE, Okoye DN, Udegbonam RI. Anti-inflammatory and anti-oxidant activities of *Mallotus oppositifolius* (Geisel) methanol leaf extracts. *Arab J Chem.* 2014;7(5):805-10.
110. Argui H, Youchret-Zalleza OB, Suner SC, Periz ÇD, Türker G, Ulusoy S, et al. Isolation, Chemical Composition, Physicochemical Properties, and Antibacterial Activity of *Cupressus sempervirens* L. Essential Oil. *J Essent Oil Bear Plants.* 2021;24(3):439-52.
111. Choudhary R, Swarnkar P. Antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds in some medicinal plants of India. *Nat Prod Res.* 2011;25(11):1101-9.
112. Kim HJ, Chen F, Wu C, Wang X, Chung HY, Jin Z. Evaluation of antioxidant activity of Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil and its components. *J Agric Food Chem.* 2004;52(10):2849-54.
113. Boukhris M, Regane G, Yangui T, Sayadi S, Bouaziz M. Chemical composition and biological potential of essential oil from Tunisian *Cupressus sempervirens* L. *J Arid Land Stud.* 2012;22(1):329-32.
114. Khajeh M, Yamini Y, Sefidkon F, Bahramifar N. Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chem.* 2004;86(4):587-91.
115. Goetz P, Ghedira K. Mécanisme d'action antibactérienne des huiles essentielles. In: *Phytothérapie anti-infectieuse.* Springer; 2012. p. 193-208.
116. Boutabia L, Telailia S, Bouguetof I, Guenadil F, Chefrour A. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bull Société R Sci Liège.* 2016;85(2016):174-89.

ANNEXES



Enquête sur l'utilisation des huiles essentielles en Algérie.

Dans le cadre de la réalisation d'un projet de fin d'étude, nous les internes en pharmacie avons lancé ce questionnaire concernant l'usage des huiles essentielles par la population algérienne.

Merci de votre participation !

في إطار إعداد مذكرة تخرج للحصول على
شهادة دكتوراه في الصيدلة، قمنا بهذا الاستبيان حول
استعمال الزيوت الأساسية من
طرف سكان الجزائر.

نتمنى من المشاركين التكرم بالإجابة على استبياننا هذا

ANNEXE I : Questionnaire de l'enquete ethnobotanique (suite)

Age: (العمر)

- <20 ans
- 20-40 ans
- 40 - 60 ans
- > 60 ans

Sexe: (الجنس)

- Masculin (ذكر)
- Féminin (انثى)

Niveau d'étude (المستوى التعليمي) :

- Primaire (ابتدائي) / Moyen (متوسط) /
Secondaire (ثانوي)
- Universitaire (الجامعي)
- Non scolarisé (غير متمدرس)

Profession (المهنة):

- Profession libérale (مهنة حرة)
- Fonctionnaire (موظف عمومي)
- Artisan (حرفي)
- Sans emploi (لا أعمل)

Avez-vous déjà utilisé des huiles essentielles ?

هل سبق لكم من قبل استعمال زيوت اساسية؟

Oui (نعم)

Non (لا)

D'où vous les avez acheté?

من اين تم الشراء؟

Pharmacie(صيدلية)

Parapharmacie(شبه صيدلية)

Cosmétique (بائع مواد التجميل)

Herboriste (بائع الاعشاب)

ANNEXE I : Questionnaire de l'enquete ethnobotanique (suite)

Comment jugez-vous la disponibilité des huiles essentielles en Algérie ?

ماهي نسبة توفر الزيوت الاساسية في السوق الجزائرية؟

- Disponible (متوفرة)
- Assez disponible (متوفرة نسبيا)
- Non disponible (غير متوفرة)

Quelles sont les huiles essentielles que vous avez déjà utilisé?

ما هي انواع الزيوت الاساسية التي سبق لكم استعمالها؟

- L'huile de Lavande (زيت خزامى)
- L'huile de Cyprès (زيت السرو)
- L'huile de Menthe verte (زيت النعناع)
- L'huile de Citron / Orange (زيت الليمون / البرتقال)
- L'huile de l'Eucalyptus (زيت الكاليتوس)
- L'huile de Thym/ L'origan (زيت الزعتر / الزعتر البري)
- L'huile de Pin d'Alep (زيت الصنوبر)
- L'huile de Géranium Rosat (زيت جيرانيوم)

ANNEXE I : Questionnaire de l'enquete ethnobotanique (suite)

A quelle fin utilisez-vous les huiles essentielles?

لاي غرض تستعملون الزيوت الاساسية؟

- Trouble respiratoire (اضطرابات تنفسية)
- Trouble de sommeil (اضطرابات في النوم)
- Trouble de digestion (اضطرابات في الهضم)
- Trouble dermatologique (امراض الجلد)
- Augmentation des défenses naturelles (تقوية المناعة)
- Pour la peau et les cheveux (للبشرة و الشعر)
- Douleurs articulaires (الام مفصالية و عضلية) et musculaires
- Propriété cicatrisante (التئام الجروح)
- Massage (للتدليك)

Avez-vous déjà utilisé l'huile essentielle de Pin d'Alep ou de Cyprès ?

هل استعملتم من قبل زيت الصنوبر او زيت السرو؟

- Oui (نعم)
- Non (لا)

Vous utilisez les huiles essentielles par voie:

تستعملون الزيوت الاساسية عن طريق؟

- Orale (عن طريق الفم)
- Cutanée (تطبيق موضعي)
- Aérienne (Inhalation) (الاستنشاق)

Si oui, pour quelle raison?

اذا كانت الاجابة بنعم فلاي غرض؟

- Trouble respiratoire (La toux, décongestion des voix respiratoires, expectorant...)
- Trouble de digestion (Contre le reflux gastro-intestinal, anti-vomitif, laxatif...)
- Trouble dermathologique (Eczéma, démangeaison, vieillissement cutané...)
- Renforcement des défenses immunitaires (Immuno-stimulant)
- Douleurs articulaires et musculaires (Anti-rhumatismale, décontracturant...)
- Propriétés cicatrisantes (Plaies, blessures...)
- Pour la peau et les cheveux (Anti-pelliculaire, apaisante...)

ANNEXE I : Questionnaire de l'enquete ethnobotanique (suite)

Est ce que vous avez déjà présenté des effets indésirables après avoir utilisé une huile essentielle?

هل سبق لك ان اظهرت اثار جانبية بعد استعمالك للزيوت الاساسية؟

- Oui (نعم)
- Non (لا)

Si oui, lesquelles?

اذا نعم, ماهي ؟

Votre réponse

Etes-vous satisfait de l'utilisation des huiles essentielles commercialisées en Algérie?

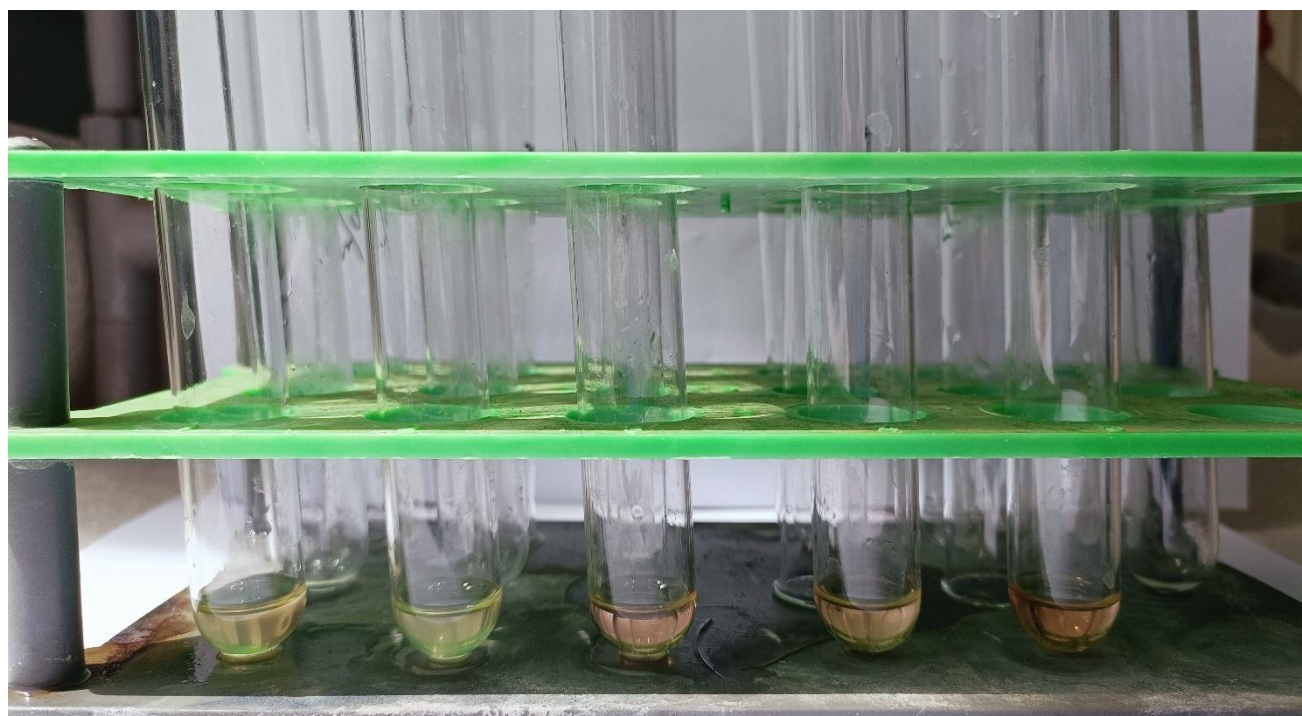
هل انت راض عن استعمال الزيوت الاساسية المسوقة في الجزائر؟

- Satisfait (راض)
- Moyennement satisfait (راض نسبيًا)
- Non satisfait (غير راض)

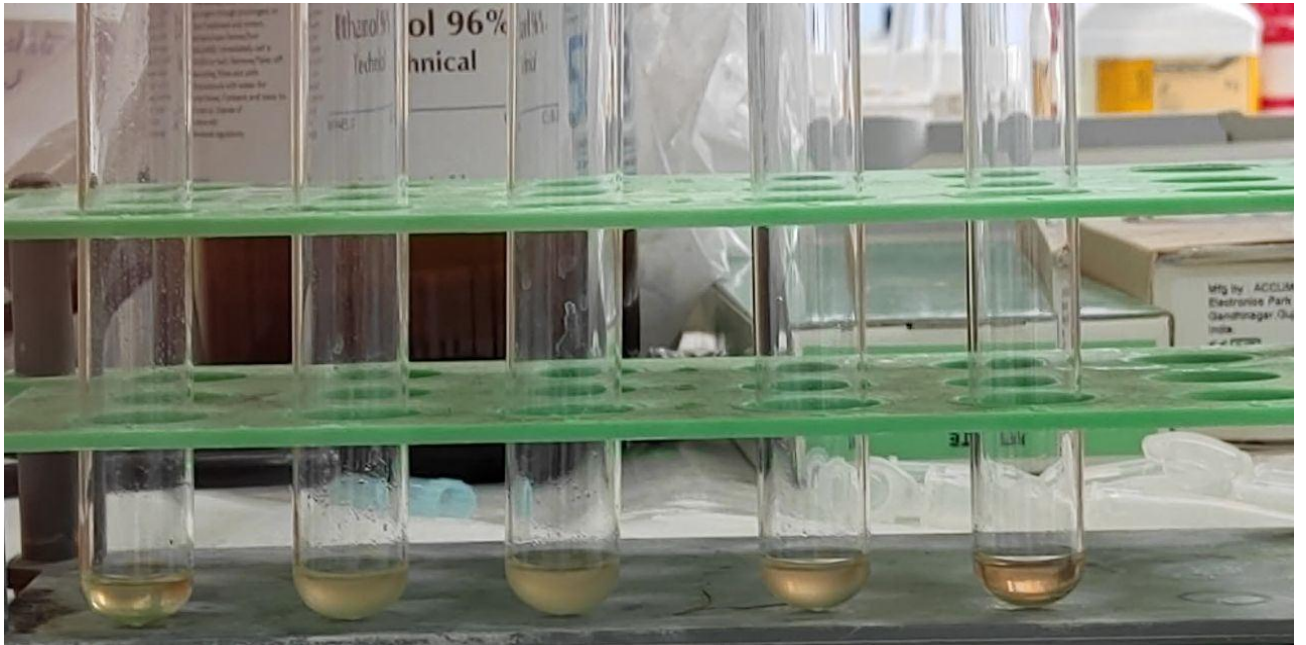
ANNEXE II: Test DPPH (acide ascorbique)



ANNEXE III : Test DPPH (HE extraite de pin d'Alep)



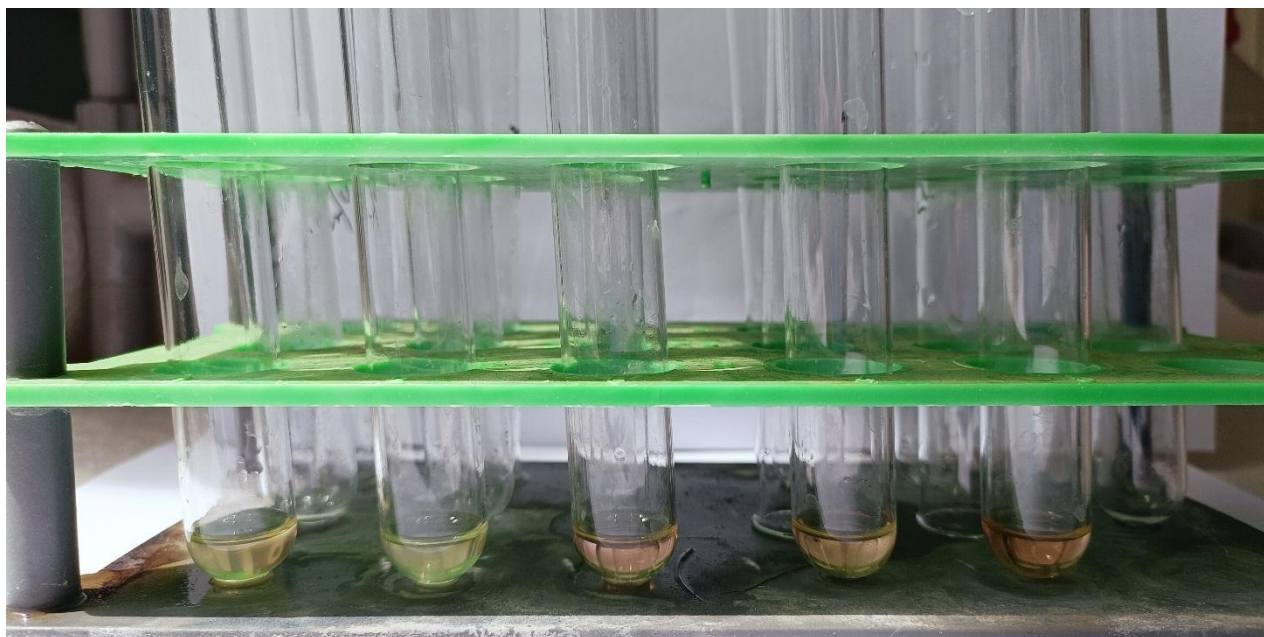
ANNEXE IV : Test DPPH (HE commerciale de pin d'Alep)



ANNEXE V : Test DPPH (HE extraite de cyprès vert)



ANNEXE VI : Test DPPH (HE commerciale de cyprès vert)



Résumé

Pinus halepensis et *Cupressus sempervirens* sont des espèces forestières connues pour leur richesse en huiles essentielles et leurs propriétés thérapeutiques. Ce travail vise à comparer les activités biologiques des huiles essentielles extraites de ces espèces avec celles de leurs homologues commerciaux. L'étude a été initiée par une enquête ethnobotanique sur l'utilisation des huiles essentielles par la population algérienne. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation ; avec des rendements de 0,804% et 0,327% respectivement pour pin d'Alep et cyprès vert. L'analyse chromatographique par chromatographie sur couche mince a révélé une similarité en terme de composition chimique entre les essences extraites et les essences commerciales.

L'activité antioxydante des huiles essentielles a été évalué par le biais de deux méthodes FRAP et DPPH ; les résultats ont montré une similitude entre les huiles extraites et commerciales avec une activité légèrement supérieure pour les huiles commerciales, les valeurs d'IC50 étaient de 278,49 ug/ml et 366,71 ug/ml respectivement pour l'huile essentielle de cyprès commerciale et extraite ; et de 312,73 ug/ml et 438,25 ug/ml respectivement pour l'huiles essentielle de pin d'Alep commerciale et extraite. L'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode d'aromatogramme a révélé une résistance pour les trois souches testées : *Escherichia coli* ; *Pseudomonas aeruginosa* ; et *Staphylococcus aureus*.

Mots clés : Huiles essentielles, activité antioxydante, activité antibactérienne ; *Pinus halepensis*, *Cupressus sempervirens*.

Abstract

Pinus halepensis and *Cupressus sempervirens* are forest species known for their abundance of essential oils and their therapeutic properties. This work aims to compare the biological activities of essential oils extracted from these species with those of their commercial counterparts. The study was initiated by an ethnobotanical survey on the use of essential oils by the Algerian population. Essential oils were extracted by hydrodistillation, with yields of 0.804% and 0.327% for Aleppo pine and green cypress respectively. TLC chromatographic analysis revealed a similarity in chemical composition between the extracted and commercial essences. The antioxidant activity of the essential oils was assessed by two methods, FRAP and DPPH; the results showed a similarity between extracted and commercial oils, with a slightly higher activity for the commercial oil : IC50 values were 278.49 ug/ml and 366.71 ug/ml respectively for commercial and extracted cypress essential oil ; and 312.73 ug/ml and 438.25 ug/ml respectively for commercial and extracted Aleppo pine essential oil. Evaluation of antibacterial activity by the aromatogram method revealed resistance for the three strains tested: *Escherichia coli*; *Pseudomonas aeruginosa* ; and *Staphylococcus aureus*.

Key words: essential oils, antioxidant activity; antibacterial activity; *Pinus halepensis*, *Cupressus sempervirens*

ملخص

Pinus halepensis و *Cupressus sempervirens* من أنواع الأشجار المعروفة بزيتها الأساسية وخصائصها العلاجية. يهدف هذا العمل إلى مقارنة الأنشطة البيولوجية للزيوت الأساسية المستخلصة من هذه الأنواع بأنشطة نظيراتها التجارية. بدأت الدراسة بدراسة استقصائية عرقية عن استخدام الزيوت الأساسية من قبل السكان الجزائريين. تم استخراج الزيوت الأساسية عن طريق التنقيط المائي؛ مع عائدات بنسبة 0.804% و 0.327% على التوالي لصنوبر حلب والسرور الأخضر. كشف التحليل اللوني للطبقة الرقيقة عن وجود تشابه في التركيب الكيميائي بين البنزين المستخرج والتجاري. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية باستخدام طريقتين FRAP و DPPH؛ وأظهرت النتائج وجود تشابه بين الزيوت المستخرجة والزيوت التجارية ذات النشاط الأعلى قليلا بالنسبة للزيوت التجارية، وكانت قيمة IC50 278.49 ميكروغرام/مل و 366.71 ميكروغرام/مل على التوالي بالنسبة للزيت العطري التجاري والمستخرج من السرور؛ و 312.73 ميكروغرام/مل و 438.25 ميكروغرام/مل على التوالي لزيت الصنوبر العطري الحلي التجاري والمستخرج. أظهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة طريقة الرسم العطري مقاومة للسلاطات الثلاث التي تم اختبارها: الإشريكية القولونية؛ الزائفة الزنجارية؛ والمكورات العنقودية الذهبية.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، نشاط مضادات الأكسدة، نشاط مضاد للبكتيريا. *Pinus halepensis*, *Cupressus sempervirens*.

