

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

Université Saad Dahlab Blida -1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

Option: Biotechnologie et valorisation des plantes médicinales et aromatiques



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème

**Evaluation des quelques activités biologiques de deux huiles
essentielles de *Cupressus (sempervirens et arizonica)*.**

Présenté par :

- Makhoulf Loubna
- Mahieddine Abla

Devant le jury :

- Présidente : Mme Tadjine Nacera
 - Examinatrice : Mme Merzougui Hana
 - Promotrice : Mme Ayachi Nabila
 - Co-promoteur : Mr Sali Omar
- MCB
MA
MCA
Ingénieur d'analyses

Date de soutenance : juillet 2023

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

Université Saad Dahlab Blida -1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

Option: Biotechnologie et valorisation des plantes médicinales et aromatiques



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

Thème

**Evaluation des quelques activités biologiques de deux huiles
essentielles de *Cupressus (sempervirens et arizonica)*.**

Présenté par :

- Makhoulf Loubna
- Mahieddine Abla

Devant le jury :

- Présidente : Mme Tadjine Nacera
 - Examinatrice : Mme Merzougui Hana
 - Promotrice : Mme Ayachi Nabila
 - Co-promoteur : Mr Sali Omar
- MCB
MA
MCA
Ingénieur d'analyses

Date de soutenance : juillet 2023

Remerciements

Avant tous Nous remercions le dieu qui nous a créés et nous avoir accordé la vie et la force nécessaire afin de réaliser ce travail.

*Nous adressons nos vifs remerciements au **Mme Tadjine** qui a eu la bonté d'accepter d'être présidente de ce jury, on reste convaincue que votre présence nous assurera de la valorisation et de la teneur de notre projet. Veuillez accepter notre profond respect.*

*Nos remerciements à **Mme Merzougui** d'avoir accepté d'examiner ce travail, nous comptons sur vos remarques sans doute enrichissantes. Soyez assuré de notre reconnaissance et notre profond respect.*

*On remercie tout particulièrement notre promotrice **Mme Ayachi N** qui nous a honorés en acceptant de diriger ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour son soutien, ces conseils en or et pour sa disponibilité permanente.*

*On remercie aussi tout particulièrement notre Co-promoteur **Mr Safi. Omar** Ingénieur d'analyses.*

*Le personnel du laboratoire pédagogique de microbiologie de **SAIDAL Mme Chader** chef de laboratoire et **Mr Nouas .S** le directeur de département de microbiologie*

Nous adressons également nos remerciements à tous nos enseignants qui ont donné les bases de la science tout au long de nos cursus.

Nous exprimons également toutes nos reconnaissances à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près, à l'aboutissement de ce travail.



Dédicaces

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleurs conditions.

Et qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras.

Mes chers parents :

A ma très chère mère Oum elkfir:

Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi et puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder. Santé, longue vie et bonheur.

A mon père Rachid :

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis. Pour mon éducation et ma formation.

A mes sœurs et mes frère: Amina, Cherifa, Soumia, Ayoub et Abd el karim.

A mes neveux: Rayan, Alaa, Ines et Hadil.

A mon fiancé Hassan et sa famille.

A tous mes Ami(e)s : Makhlouf Loubna, Makhlouf yasmine et leur mère, Ikram, Hanaa et Wafaa.

A tous mes cousines et ma familles Mahieddine et Ben hanour.

Mahieddine Abla



Dédicaces

Louange à Dieu tout puissant, qui m'a permis de voir ce jour tant attendu.

*Je dédie ce modeste travail : A **ma mère**, à qui aucune dédicace ne saurait exprimer l'affection et l'amour que j'éprouve pour elle. Puisse ce travail être la récompense de tes soutiens moraux et de tes sacrifices. Que dieu te garde et t'accorde. Une parfaite santé et bonheur en permanence. Pour que tu restes la splendeur de ma vie. Puisse dieu te prêter longue vie, santé et bonheur.*

*A **mon père**, qu'ils trouvent dans ce travail le fruit de ses sacrifices consentis pour mon éducation et l'expression de mon amour et de ma gratitude pour bienveillance dont m'a toujours entourés. Puisse dieu te prêter longue vie, santé et bonheur.*

*Une spéciale dédicace à ma sœur **Yasmine** q'elle m'a aidé énormément. Je lui souhaite le bonheur, la chance, les succès et la santé.*

*A toute ma famille **Makhlouf** et la famille **Mazouni***

*A mon très cher neveu : **Mohamed Acil** et mon beau frère : **Sidali***

*A mon binôme **Abla***

*A mes proches amies : **Nadjet, Djazia, Fatiha, Abir et Sabrina***

A tous mes collègues de la promotion de master II Biotechnologie et valorisation des plantes 2022/2023.

MAKHLOUF loubna

Résumé

De nos jours, la tendance à utiliser des produits naturels issus de plantes se développe face aux effets secondaires des composés synthétiques qui peuvent être nocifs pour la santé humaine et l'environnement. Les huiles essentielles sont des composés naturels qui sont aujourd'hui de plus en plus utilisés dans différents domaines.

L'extraction des huiles essentielles des parties aériennes de *cyprés sempervirens* par la méthode d'hydrodistillation a présenté un rendement de 0.38%.

L'objectif principal de cette étude a été d'évaluer les propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires de deux huiles essentielles de *Cyprés* : *sempervirens* et *arizonica*. L'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles a été évaluée par la méthode de réduction du DPPH. L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été examinée par la méthode de diffusion sur disque contre trois souches bactériennes soit : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* et deux souches fongiques : *Candida albican* et *Aspergillus brasiliensis*. L'étude de l'activité anti-inflammatoire a été évaluée par la méthode de l'œdème induit par la carragénine sur les pattes de souris.

Les résultats ont montré que les HE utilisés présentent une importante activité vis-à-vis des micro-organismes testés, avec un excellent effet de l'huile de *Cupressus arizonica*.

D'autre part l'HE de *C.sempervirens* a révélé une activité antioxydante plus importante qu'HE de *C.arizonica*, avec des pourcentages d'inhibition de radical libre plus élevés et à une concentration plus faible, l'huile essentielle de l'échantillon à la concentration (0.5µl/ml) a montré le pouvoir réducteur le plus important, avec un pourcentage d'inhibition de 98,68 %.

L'HE de *Cupressus arizonica* a exprimé un effet anti-inflammatoire supérieur à celui de l'HE de *Cupressus sempervirens*. Ces données montrent que les HE constitueraient une solution alternative saine et efficace aux produits chimiques et se prêtent bien aux investigations dans le domaine de la lutte biologique.

Mots clés: Huiles essentielles, activité antimicrobienne, activité anti-inflammatoire, activité antioxydante, extraction des huiles essentielles.

Abstract

Nowadays, the tendency to use natural products from plants is developing in the face of the side effects of synthetic compounds that can be harmful to human health and the environment. Essential oils are natural compounds that are now increasingly used in different fields.

The extraction of essential oils from the aerial parts of *sempervirens cypress* by the hydrodistillation method had a yield of 0.38%.

The main objective of this study was to evaluate the antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory properties of two *cypress* essential oils: *sempervirens* and *arizonica*. The study of the antioxidant activity of essential oils was evaluated by the DPPH reduction method. The evaluation of antimicrobial activity was examined by the disc diffusion method against three bacterial strains: *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and two fungal strains: *Candida albican* and *Aspergillus brasiliensis*. The study of anti-inflammatory activity was evaluated using the square edema method on mouse legs.

The results showed that the HE used has an important activity vis-à-vis the microorganisms tested, with an excellent effect of *Cupressus arizonica* oil.

On the other hand, *C.sempervirens* HE showed a higher antioxidant activity than *C.arizonica* HE, with higher free radical inhibition percentages and at a lower concentration, the essential oil of the sample at the concentration (0.5µl/ml) showed the greatest reductive power, with an inhibition percentage of 98.68%.

Cupressus arizonica HE expressed an anti-inflammatory effect greater than *Cupressus sempervirens* HE. These data show that HE would be a healthy and effective alternative to chemicals t and are well suited for investment

ملخص

في الوقت الحاضر، يتطور الميل إلى استخدام المنتجات الطبيعية من النباتات في مواجهة الآثار الجانبية للمركبات الاصطناعية التي يمكن أن تكون ضارة بصحة الإنسان والبيئة. الزيوت الأساسية هي مركبات طبيعية تستخدم الآن بشكل متزايد في حقول مختلفة. بلغ عائد استخراج الزيوت الأساسية من الأجزاء الجوية من *Cupressus sempervirens* بواسطة طريقة التقسيم المائي 0.38%. كان الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم الخصائص المضادة للميكروبات ومضادات الأكسدة ومضادة للالتهابات لاثنين من الزيوت الأساسية للسرو: *Cupressus* و *Cupressus sempervirens* و *arizonica*. تم تقييم دراسة النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية بواسطة طريقة تقليل DPPH. تم فحص تقييم النشاط المضاد للميكروبات من خلال طريقة انتشار القرص ضد ثلاث سلالات بكتيرية: *Bacillus subtilis* و *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* وسلالتين فطريتين: *Candida albican* و *Aspergillus brasiliensis* تم تقييم دراسة النشاط المضاد للالتهابات باستخدام طريقة الودمة المربعة على أرجل الفئران. أظهرت النتائج أن الزيت الأساسي المستخدم له نشاط مهم مقابل الكائنات الحية الدقيقة التي تم اختبارها، مع تأثير ممتاز لزيت *Cupressus arizonica*.

من ناحية أخرى، أظهر الزيت الأساسي *C. sempervirens* نشاطاً مضاداً للأكسدة أعلى من الزيت الأساسي *C. arizonica*، مع نسب تثبيط حرة أعلى وبتركيز أقل، أظهر الزيت الأساسي للعينة عند التركيز (0.5 مل) أكبر قوة اختزالية، بنسبة تثبيط 98.68%. أعرب الزيت الأساسي *Cupressus arizonica* عن تأثير مضاد للالتهابات يفوق تأثير الزيت الأساسي *Cupressus sempervirens*. تظهر هذه البيانات أن الزيت الأساسي سيكون بديلاً صحياً وفعالاً للمواد الكيميائية t ومناسباً تماماً.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد للالتهابات، النشاط المضاد للأكسدة، استخراج الزيوت الأساسية.

Liste des tableaux

Tableau 01: La classification des <i>Cupressacées</i>	3
Tableau 02: Classification de Cyprès : <i>Cupressus sempervirens.L</i>	6
Tableau 03: Classification de Cyprès : <i>Cupressus arizonica</i>	8
Tableau 04: Principaux constituants des huiles essentielles de <i>C. sempervirens</i> précédemment signalées de différentes origines.....	10
Tableau 05: Principaux constituants des huiles essentielles de <i>C. arizonica</i> précédemment de différentes origines.....	11
Tableau 06: Répertoire des espèces étudiées.....	13
Tableau 07: les différentes souches microbiennes de référence.....	13
Tableau 08: liste des matériels de laboratoire (Equipements, Matériels et verreries).....	14
Tableau 09: liste des Produits chimiques, réactifs et milieux de culture.....	14
Tableau 10 : Résultat du test antioxydant exprimant la concentration efficace 50% en mlHE/ml.....	32

Liste des figures

Figure 01: Classification détaillée de l'ordre des <i>Cupressales</i>	4
Figure 02: <i>Cupressus sempervirens</i>	6
Figure 03: Cônes <i>Cupressus sempervirens</i>	7
Figure 04: Fleurs mâles et femelles de <i>Cupressus sempervirens</i>	7
Figure 05: <i>Cupressus arizonica</i>	8
Figure 06: Dispositif d'hydrodistillation.....	15
Figure 07: Préparation des dilutions de l'huile essentielle.....	17
Figure 08: Ensemencement par écouvillon.....	18
Figure 09: dépôt des disques et incubation des boites.....	18
Figure 10: Gavage des différents extraits.....	20
Figure 11: Injection de la carragénine.....	20
Figure 12: sacrifice des souris.....	21
Figure 13: Coupure et pesée des pattes.....	21
Figure 14: préparations des extraits.....	23
Figure 15: préparations de DPPH.....	23
Figure 16: lecture de résultats.....	23
Figure 17: Représentation graphique du test de sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis d'huile essentielle testé <i>C.arizonica</i>	26
Figure 18: Représentation graphique du test de sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis d'huile essentielle testé <i>C.sempervirens</i>	27
Figure 19: Moyennes de la différence des poids entre la patte gauche et droite des souris...28	
Figure 20: Pourcentage de l'œdème et le pourcentage de réduction de l'œdème.....	29
Figure 21: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de <i>C. arizonica</i>	31

Figure 22: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *C.sempervirens*.....31

Liste des abréviations

AT : La décroissance de l'absorbance

ATCC : American Type Culture Collection

B. subtilis : *Bacillus subtilis*

C. arizonica : *Cupressus arizonica*

C. sempervirens : *Cupressus sempervirens*

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl

E. coli : *Escherichia coli*

GC-MS : Chromatographie phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse

HE : huile essentielles

IC50 : La concentration inhibitrice médiane

LRPMA : Laboratoire de recherche en plantes médicinales et aromatiques

M' : masse d'huile essentielle en gramme à partir des parties aériennes

M : masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme

OMS : Organisation mondiale de la santé

PI : pourcentage d'inhibition

RHE : Rendement en huile essentielle

RMN : Résonance magnétique nucléaire

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

UFC : Unité Formant colonie

BHA : Beta Hydroxy Acids

Tableau de matière

Résumé

Introduction.....	1
-------------------	---

Synthèse bibliographique

I.1. Définition des plantes médicinales.....	3
I.2. Généralité sur la famille des <i>Cupressacées</i>	3
I.2.1. Position systématique.....	3
I.2.2. Le genre <i>Cupressus</i>	4
I.2.3. Distribution géographique.....	5
I.2.4. Utilisation en médecine traditionnelle.....	5
I.3. Espèces <i>Cupressus sempervirens</i>	6
I.3.1. Position systématique.....	6
I.3.2. Description botanique.....	6
I.3.3. Composition chimique.....	7
I.4. Espèces <i>Cupressus arizonica</i>	8
I.4.1. Position systématique.....	8
I.4.2. Description botanique.....	8
I.4.3. Composition chimique.....	9
I.5. Rappel bibliographique sur les études de la composition chimique d'huiles essentielles étudiées.....	9

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1 Objectifs.....	12
I.2 Matériel	13
I.2.1 Matériel biologique.....	13
I.2.2 Matériel non biologique.....	14
I.3.Méthode.....	15

I.3.1. Extraction des huiles essentielles par Hydrodistillation.....	15
I.3.2. Activité antimicrobienne.....	16
I.3.3. activité anti-inflammatoire.....	19
I.3.4. Activité anti-oxydante.....	22
I.3.5. Méthode de préparation de 100 g de la crème hydratante.....	24
Chapitre II: Résultats et discussion	
II.1. Résultat de rendement.....	25
II.2. Résultat de l'activité antimicrobienne.....	26
II.3. Résultat de l'activité anti-inflammatoire.....	28
II.3. Résultat de l'activité anti-oxydante.....	30
Conclusion.....	34
Références bibliographique	
Annexes	

Introduction

Introduction

Introduction

À travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales. De nos jours, les plantes sont toujours utilisées comme médicaments : en phytothérapie, des parties ou extraits de plantes sont employés, mais plus généralement le principe actif est isolé de la plante, purifié ou synthétisé afin d'être précisément dosé dans le médicament (**Dridi, 2005**)

L'Algérie présente une richesse floristique remarquable qui est directement liée à sa diversité écosystématique et paysagère. Sa flore est estimée à 4000 espèces, le nombre de ceux endémiques est de 464 (387 espèces, 53 sous-espèces et 24 variétés), soit 11,61 % des plantes vasculaires algériennes. (**YAHY & ABDELGUERFI, 2012**)

En Algérie, le genre *Cupressus* se trouve, sauf quelques rares petites formations, à l'état d'arbre isolé ou arbre d'ornement ou d'alignement. Les espèces endémiques ou naturalisées de ce genre sont : le cyprès du Tassili (*Cupressus dupreziana* A. Camus), le cyprès de l'Atlas (*Cupressus atlantica* Gaussen), le cyprès toujours vert (*Cupressus sempervirens* L.). (**Nichane, 2015**)

Les huiles essentielles, également appelées « huiles volatiles », sont des mélanges complexes de composés volatils qui sont produits par les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires. Elles sont responsables des propriétés de la plante aromatique, Les HE agissent à la fois sur la physique et leur psychisme, leurs molécules extrêmement fines, ont la capacité de diffuser immédiatement et profondément dans l'organisme, agissant via le flux sanguin pour exercer leurs effets thérapeutiques. Elles sont connues pour leurs activités antimicrobiennes, antifongiques et insecticides (**Valdivieso-Ugarte et al, 2019**). Bien qu'elles contiennent deux ou trois composants majeurs à un taux de 20 à 70%, les huiles essentielles sont des mélanges très complexes composés principalement de terpènes, de terpénoïdes et de phénylpropanoïdes, et peuvent également contenir de nombreux autres composés, tels que des oxydes et des dérivés soufrés (**Wińska et al., 2019**).

Le présent travail s'intéresse essentiellement à l'étude des propriétés, antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes des huiles essentielles de cyprès (*Cupressus sempervirens* et *arizonica*).

Introduction

Les objectifs de la présente étude sont :

- Extraction des huiles essentielles de notre plante étudiée.
- Evaluation des propriétés antioxydantes in vitro à travers le test de piégeage du radical DPPH.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne vis-à-vis des trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) et deux souches fongiques *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*.
- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire testée sur des souris *Albinos*.

Notre travail est organisé comme suit : Premièrement, une introduction générale qui présente un aperçu sur le *cyprès*, les huiles essentielles et leurs activités biologiques, et se termine par la présentation des objectifs de l'étude. Ensuite, une présentation des matériels utilisés à savoir le matériel végétal, animal et les microorganismes, puis les méthodes et les différents protocoles réalisés. Suivi des différents résultats obtenus à partir de l'évaluation des activités biologiques concernées et la discussion de chacun de ces résultats. Enfin, une conclusion qui représente un résumé du travail effectué et des principaux résultats obtenus, avec quelques suggestions et perspectives pour compléter et développer ce travail.

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Généralité sur les plantes médicinales

I.1. Définition des plantes médicinales:

Selon la définition de la Pharmacopée Française (11ème édition en vigueur): « Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée Européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Ces plantes médicinales peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques ». (Limonier, 2018)

En d'autres termes nous pouvons dire qu'une plante médicinale est une plante dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise. (Chabrier, 2018)

Les plantes sont considérées comme médicinales lorsque l'un de leurs organes à une activité pharmacologique et un emploi thérapeutique. Donc, comme le souligne, les plantes médicinales sont toutes les plantes qui ont des emplois thérapeutiques. On les appelle « Herbes à tisanes » car elles sont fréquemment utilisées dans les tisanes. (Merradi, 2021)

I.2. Généralité sur la famille des *Cupressacées* :

I.2.1. Position systématique :

Tableau 01: La classification des *Cupressacées* est la suivante : (Nava, 2008)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Coniferophyta</i>
Classe	<i>Pinopsida</i>
Ordre	<i>Pinales</i>
Famille	<i>Cupressaceae</i>

Sur la base de critères génétiques et morphologiques, il est actuellement proposé de diviser la famille *Cupressaceae* en sept sous-familles : (Nava, 2008)

- *Cunninghamioideae* (Zucc. ex Endl.) Quinn (*Cunninghamia*)
- *Taiwanioideae* L.C.Li (*Taiwania*)
- *Athrotaxidoideae* L.C.Li (*Athrotaxis*)

Synthèse bibliographique

- **Sequoioideae**Saxton (*Sequoia*, *Sequoiadendron*, *Metasequoia*)
- **Taxodioideae**Endl. ex K.Koch (*Taxodium*, *Glyptostrobus*, *Cryptomeria*)
- **Callitroideae**Saxton (*Callitris*, *Actinostrobus*, *Neocallitropsis*, *Widdringtonia*, *Diselma*, *Fitzroya*, *Austrocedrus*, *Libocedrus*, *Pilgerodendron*, *Papuacedrus*).
- **Cupressoideae**Rich. ex Sweet (*Thuja*, *Thujopsis*, *Chamaecyparis*, *Fokienia*, *Calocedrus*, *Tetraclinis*, *Microbiota*, *Platycladus*, *Callitropsis*, *Cupressus*, *Juniperus*)

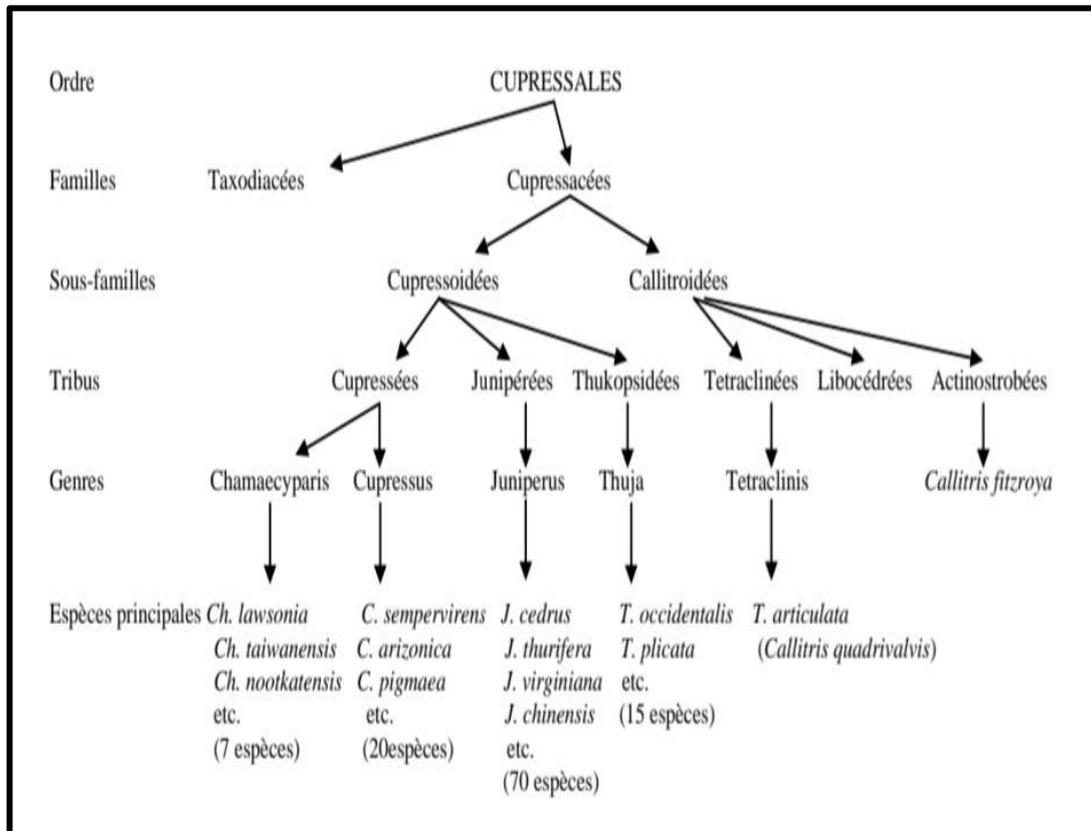


Figure 01: Classification détaillée de l'ordre des *Cupressales* (Haluk, 2000)

I.2.2. Le genre *Cupressus*:

Les conifères qui ont le nom commun de « cyprès » appartiennent au genre *Cupressus* qui est l'un des genres de la famille *Cupressaceae*. En général, les espèces appartenant à ce genre montrent une plasticité aux conditions édaphiques et certaines ont une remarquable tolérance à la sécheresse. Les cyprès peuvent être trouvés sous climats tempérés chauds, dans l'hémisphère Nord, plus précisément autour de la Méditerranée, en Asie et en Amérique du Nord. (Nava, 2008)

I.2.3. Distribution géographique :

Les *cyprès* sont des localités indigènes dispersées dans les grandes régions tempérées chaudes ou subtropicales de l'hémisphère nord. Son aire de répartition naturelle comprend l'ouest de l'Amérique du Nord et centrale, l'Afrique du Nord, le Moyen-Orient, l'Himalaya, le sud de la Chine et le Nord du Vietnam; de nombreuses espèces sont cultivées comme arbres d'ornement, le *Cyprès* commun est un arbre représentatif de la flore méditerranéenne qui est un symbole du deuil dans cette région. (Nichane, 2015)

Par ailleurs, la distribution de cette famille est sous l'influence de facteurs divers : climat, sol, perturbations (catastrophes naturelles, exploitation humaine), etc.

En Algérie, les cupressacées ne représentent que des essences forestières de protection. En outre, dans une étude comparative des essences forestières du pourtour méditerranéen, a signalé la présence de quatre espèces dans la famille des *cupressacées*. (Ahmed, 2016-2017)

I.2.4. Utilisation en médecine traditionnelle :

Cupressus est une plante médicinale traditionnelle et aromatique:

- traditionnellement employé pour le traitement de l'angine et les rhumatismes.
- dans la médecine traditionnelle turque, les fruits de cette plante sont employés pour traiter le rhume et les toux. (Tumen, 2012)
- ses feuilles sèches sont utilisées comme emménagogue et pour les maux d'estomac ainsi que pour le diabète.
- Sa plante fruitière séchée est utilisée pour le traitement de l'inflammation, des maux de dents et de la laryngite et aussi comme contraceptif, astringent et antiphlastique.
- La graine séchée de cet arbre a été utilisée pour plaies, ulcères, ecchymoses, plaies, boutons, pustules, éruptions cutanées et érysipèle.
- Huile essentielle de *Cupressus sempervirens* est utilisée à l'extérieur pour les maux de tête, le rhume, la toux et la bronchite. (Ben Nouri, 2015)

I.3. Espèces *Cupressus sempervirens* :

I.3.1. Position systématique :

Tableau 02: Classification de *Cyprès* : *Cupressus sempervirens*.L. (Nichane, 2015)

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



Figure 02: *Cupressus sempervirens*. (Lemoine & Rouane, 1978).

I.3.2. Description botanique :

Est un arbre, qui peut atteindre vingt-cinq mètres de hauteur. Il a un tronc élancé d'où partent nombreuses branches ramifiées disposées en longue cyme pyramidale étroite et aigue.

Synthèse bibliographique

L'écorce est d'un gris rougeâtre et fissurée. Les feuilles persistantes, en forme d'écailles, triangulaires, d'un vert foncé, imbriquées sur quatre rangs, revêtent entièrement les rameaux. C'est une plante monoïque, les cônes fructifères, arrondis et d'un brun un peu luisant, ont deux à trois centimètres de diamètre et se composent de huit à douze écailles ligneuses, qui s'écartent à maturité pour laisser échapper les graines. (Amara, 2017) Cet arbre est sensible au froid (au-dessous de -15 °C), il résiste bien à la sécheresse (600 mm/an) et il est moyennement exigeant en lumière. Sa croissance est assez rapide sur la hauteur mais lente sur le diamètre. (HEDJAL-CHEBHEB, 2014)



Figure 03: Cônes *Cupressus sempervirens* (Caudullo & Rigo, 2016 ; Sebbane & Khaldi, 2019).



Figure 04: Fleurs mâles et femelles de *Cupressus sempervirens* (Hireche & Ferhat, 2019)

I.3.3 Composition chimique :

Certaines études sur la composition chimique de *Cypripès* indiquent que la plante contient divers métabolites secondaires, à savoir des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponines et des

Synthèse bibliographique

phénols. Toutes les proportions sont inférieures à 2%. Ces molécules naturellement présentes dans les plantes ont des propriétés chimiques différentes. Comme son nom l'indique, les alcaloïdes sont alcalins et ont une signification thérapeutique historique. Le tanin est un polyphénol dont la propriété est de précipiter les protéines et est utilisé pour tanner le cuir. Les saponines sont des hétérosides naturels des plantes. (Rawat, 2010)

I.4. Espèces *Cupressus arizonica*:

I.4.1. Position systématique :

Tableau 03: Classification de *Cypèrès* : *Cupressus arizonica*. (Haluk, 2000)

Ordre	<i>Cupressales</i>
Familles	<i>Cupressacées</i>
Sous-familles	<i>Cupressoidées</i>
Tribus	<i>Cupressées</i>
Espèce	<i>Cupressus arizonica</i>

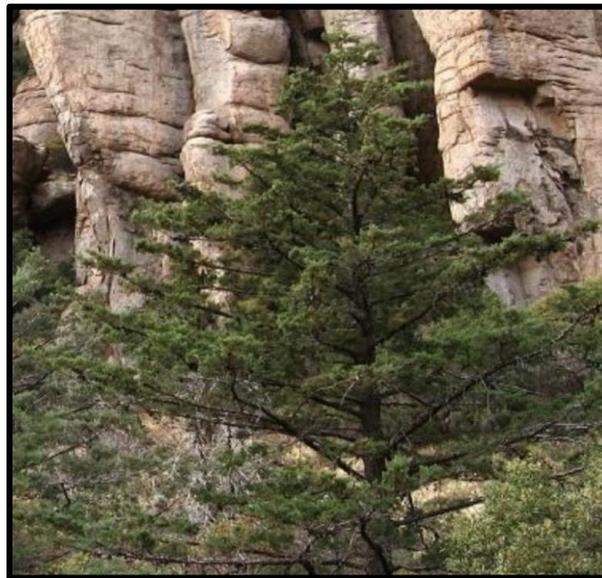


Figure 05: *Cupressus arizonica*.(Michel Caron, 2023)

I.4.2. Description botanique :

Cupressus arizonica est apprécié en raison de sa vigueur et, surtout, de sa très grande rusticité, tant sur le plan édaphique que climatique, puisqu'il ne craint pas des températures de - 20°C. On le trouve effectivement en France très bien acclimaté dans des stations sèches à

Synthèse bibliographique

pH élevé du Midi, comme dans certaines régions montagneuses à climat rude (Massif Central). Ajoutez à cela sa résistance à *Coryneum cardinale* et on ne s'étonnera pas de l'engouement actuel pour cette espèce, utilisée aussi bien comme écran brise-vent, élément de décoration, ou essence forestière. (Afocel-Armef, 1985)

Arbre persistant et monoïque (haut : 25 m), à la couronne conique puis colonnaire. Feuilles squame formes, à l'apex aigu. Cônes mâles ovoïdes (long : 2-5 mm, diam : 2 mm), groupées en fascicules axillaires. Cônes femelles gris à bruns, oblongs à globuleux (long : 20-30 mm). (Greene, 2006)

I.4.3. Composition chimique :

La composition chimique, les activités antioxydantes et allélopathiques de l'extrait de feuilles et de cônes de *Cupressus arizonica* de Tunisie ont été évaluées. Les valeurs des rendements en huiles essentielles (HE) étaient de 0,18 % pour les feuilles et de 1,07 % pour les cônes. Grâce à l'analyse par GC/MS des feuilles et des cônes de *C. arizonica*, les principaux composés identifiés dans l'HE des feuilles étaient l'umbellulone (19,4 %) et l' α -pinène (10,75%) tandis que l'HE des cônes était caractérisé par sa richesse en α -pinène (81,3%). (Ferjani , 2022)

I.5. Rappel bibliographique sur les études de la composition chimique d'huiles essentielles étudiées :

Les principaux composants d'huile essentielle de *Cupressus arizonica* sont l' α -pinène, le cymène, le myrcène, le limonène, l'hydrate de sabinène, le cédrane et le germacrene D. (Emamiet *al*, 2010)

Plusieurs études reportent que l'analyse de la composition chimique des HEs se fait par chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC) ; et ce pour l'analyse quantitative, et par chromatographie phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (GC-MS) ; pour l'analyse qualitative, cette analyse peut également être réalisée par la technique de résonance magnétique nucléaire (RMN) (Bissangou & Ouamba, 1997 ; Burt, 2004 ; Tomi *et al*, 2011 ; Boukssaim *et al*. 2013)

Synthèse bibliographique

Tableau 04: Principaux constituants des huiles essentielles de *C. sempervirens* précédemment signalées de différentes origines.

Pays	Partie utilisée	composants	Références
Iran	Feuilles	α -pinene (30%), Δ -3-carene (24%), terpinolene (6.6%), α -terpenylacetate (6.6%).	Jahani et al (2019)
	Cônes	α -pinene (39%), Δ -3-carene (24%), α -terpenylacetate (5.6%)	
Italie	Feuilles	α -pinene (19.3%), sabinene (39.6%), limonene (7.31%), zingibirene (6.9%), δ -terpinene (6.14%), δ -cadinene (5.45%)	Sachetti et al (2005)
Grèce	Cônes	α -pinene (39.54%) and γ -terpinene (11.56%).	Loukis et al (1991)
Algérie	Feuilles	α -pinene (47.00 - 52.76%), δ -3-carene (19.35 - 21.13%), α -terpinylacetate (4.10 - 6.47%), cedrol (2.03 - 3.92%), myrcene (3.11 - 3.48%) and limonene (2.28 - 3.31%).	Changriha et al (1993)
Algérie	Feuilles	α -pinene (2.8 - 44.9%), δ -3-carene (31 - 10.6%) and α -terpinylacetate (5.5 - 12.0%)	Changriha et al (1997)
Algérie	Feuilles	α -pinene (60.5%), cedrol (8.3%),	Mazari et al (2010)
Tunisie	Rameaux	α -pinene (20%), δ -3-carene (22.9%), α -terpinolene (9.4%), α -terpinylacetate (7.5%), limonene (5.1%)	Cheraif et al (2018)
Tunisie	Cônes	α -pinene (47.51%), α -cedrol (7.40, 4.11%).	Amri et al (2013)

Synthèse bibliographique

Tableau 05: Principaux constituants des huiles essentielles de *C. arizonica* précédemment de différentes origines.

Pays	Partie utilisée	composants	Références
Maroc	Feuilles	cis-muuro-la-4 (14), 5-diène (21,27 %), umbellulone (19,88 %), α -pinène (9,39 %) et α -muurolène (7,87 %7)	Cherrad et al (2022)
	Cônes	α -pinène (51,07%), myrcène (17,92%), limonène (9,66%), β -pinène (4,92%), méta-cyménène (2,6%) et α -terpinéol (2,38 %)..	
Iran	Feuilles	hydrocarbures monoterpéniques (33,4%), hydrocarbures sesquiterpéniques (27,0%), monoterpènes oxygénés (22,8%) et sesquiterpènes oxygénés (14,3%). Les principaux constituants étaient le p-cymène (13,7 %), l' α -pinène (9,2 %), le cis-muuro-la-3,5-diène (7,9 %) et le germacrène D (6,6 %).	Sedaghat et al (2011)
	Fruits	Hydrocarbures monoterpéniques, α -pinène (61,9%),myrcène (12,6%), limonène (5,0%) et contenant de l'oxygènehydrate de monoterpènetrans-sabinène (6,8%)	
Tunisie	Feuilles	α -pinène et umbellulone comme ceux-ci constituent respectivement 20,0 % et 18,4 % de l'huile. le cis-Muuro-la-4(14),5-diène était également présent dans une proportion (9,4 %), ainsi que les deux formes isomères étroitement apparentées de cis-muuro-la-5-en-4-ols (total 5,5 %)	Chéraif et al (2007)
Argentine	Feuilles	α -pinène (22,9%), limonène (8,5 %), umbellulone (16,5 %), terpinen-4-01(5,5 %) et cis-muuro-la-4(14),5 diène (9,0 %)	Malizia (2000)
Algérie	Feuilles	Ombellulone (37.3%) Sesquiterpènes (9,8 %) cétones (37,3 %)	Chanegriha et al (1997)

Partie expérimentale

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1 Objectifs :

Les objectifs de notre travail sont :

- Extraction des huiles essentielles de notre plante étudiée.
- Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cupressus sempervirens* et *Cupressus arizonica*, vis-à-vis des trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) et deux souches fongiques *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*.
- Evaluation de l'activité anti-inflammatoire testée sur des souris *Albinos* par la méthode de l'œdème induit..
- Evaluation des propriétés antioxydantes in vitro à travers le test de piégeage du radical DPPH.

Ces parties expérimentales sont réalisées au niveau du laboratoire de contrôles qualité du site de production Gué de Constantine SAIDAL et aussi au niveau du laboratoire de recherche en plantes médicinales et aromatiques LRPMA de université de Blida 1.

Partie expérimentale

I.2 Matériel :

Pour la réalisation de ce travail, le matériel utilisé est classé ci-dessous :

I.2.1 Matériel biologique :

a. Matériel végétal :

Le matériel végétal utilisé dans notre étude est constitué de deux espèces de la même plante (**Tableau 06**) : *Cupressus sempervirens*, *Cupressus arizonica* qui sont recueillies de deux régions différentes : Blida et Moustaghanem, les plantes ont été récoltées durant la période du décembre/ janvier 2023. Le tableau, récapitule le matériel végétal utilisé dans cette étude.

Tableau 06: Répertoire des espèces étudiées

Famille	Espèce	Lieu de récolte	Date de récolte	Partie utilisé
<i>Cupressus</i>	<i>C. arizonica</i>	Moustaghanem	23 et 24 décembre 2022	Partie aérienne
	<i>C.sempervirens</i>	Blida Ben khelil	12 et 14 janvier 2023	Partie aérienne

b. Souches microbiennes :

Le matériel biologique utilisé dans notre étude est représenté par les souches microbiennes pathogènes provenant d'une collection de culture de type ATCC. (**Tableau 07**)

Tableau 07: les différentes souches microbiennes de référence

Nature du microorganisme	Espèces	Références	Origine
Bactéries	<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC6633	Institut pasteur (Paris)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538	
	<i>Echerichia coli</i>	ATCC8739	
Champignons	<i>Candida albicans</i>	ATCC10231	
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC16404	

c. Animaux de laboratoire :

Les animaux de laboratoire utilisés sont des souris de race *Albinos* provenant de l'élevage de l'animalerie de Saidal Gué de Constantine.

Partie expérimentale

I.2.2 Matériel non biologique :

a. Appareils du laboratoire :

Tableau 08: liste des matériels de laboratoire (Equipements, Matériels et verreries)

Equipements et appareillage	Matériels et verreries
<ul style="list-style-type: none">- Balance analytique (METTLER TOLEDO)- Etuve- Bec Bunsen- Hotte- Spectrophotomètre UV-Vis (GENESYS 150)	<ul style="list-style-type: none">- Béchers- Boîtes de pétri- Cuves- Ecouvillons- Entonnoirs- Fiole- Flacons en verres- Papiers d'aluminium- Pipettes pasteur- Pied à coulisse- Tubes à essais- disque de papier buvard- pince

b. Produits chimiques, réactifs et milieux de culture :

Tableau 09: liste des Produits chimiques, réactifs et milieux de culture

Produits chimiques et solvants	Réactifs	Milieux de culture	Echantillon des HE
<ul style="list-style-type: none">-Eau distillée- Eau physiologique-Diclofenac-Ether-Méthanol- Vitamine c	<ul style="list-style-type: none">-Tween 80-Carragénine-DPPH	<ul style="list-style-type: none">-Gélose Muller Hinton-Gélose Sabouraud à 4%	<ul style="list-style-type: none">-HE de <i>C.sempervirens</i>-HE de <i>C.arizonica</i>

Partie expérimentale

I.3.Méthode :

I.3.1. Extraction des huiles essentielles par Hydrodistillation :

a. Procédé d'extraction (LAIB, 2012) :

13000 g des parties aériennes de *C.sempervirens* sont mises dans un ballon à fond rond de 50000 ml, additionnées de 26000 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant environ 4 heures. L'HE est alors entraîné par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le condensateur. Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface qui sera par la suite séparée, après repos du liquide. (Figure 06)



Figure 06: Dispositif d'hydrodistillation (Original)

b. Détermination du rendement d'extraction

Les quantités des huiles essentielles obtenues vont être exploitées dans le but de calculer le rendement à la fin du procédé d'extraction. Selon la norme (AFNOR, 1986), le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

Partie expérimentale

$$\text{RHE (\%)} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

RHE : rendement en huile essentielle des parties aériennes;

M' : masse d'huile essentielle en gramme à partir des parties aériennes;

M : masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

c. Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela que nous les avons conservées à une température voisine de 4 °C, dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement pour les préserver de l'air et de la lumière.

I.3.2. Activité antimicrobienne :(Strandardisation de l'antibiogramme selon l'OMS, 1999).

L'évaluation de l'activité anti microbienne a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le principe consiste à déposer des disques de papier buvard (wattman) stérile de 9 mm imbibés d'une concentration connue d'huile essentielle qui diffuse à partir sur une géloseensemencée préalablement avec le microorganisme testé.

L'huile essentielle diffuse à partir du centre du disque vers la périphérie, après la durée d'incubation, il se produit un halo (zone) d'inhibition circulaire. La mesure de ce diamètre se fait à l'aide d'un pied à coulisse.

a. Préparation de l'inoculum :

La méthode consiste à préparer une suspension en prélevant des colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes et fongiques à tester à partir d'une culture de 18h à 24h. On fait introduire dans les tubes à essais de 5 ml d'eau physiologique (Na Cl à 0,9%) stériles la suspension est bien homogénéiser dont l'opacité doit être équivalente à 0,5 Ferland .les suspensions ont une DO de 0,08 à 0,10 pour les bactéries et de 1 à 2 pour les levures et les moisissures à 625 nm ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 UFC /ml.

Partie expérimentale

b. Préparation des dilutions de l'huile essentielle :

L'huile essentielle a été dissoute dans le tween 80 pour préparer les différentes concentrations avec des dilutions successives. Sachant que la concentration de la solution mère d'HE de chaque extrait est : 1ml d'huile essentielle + 1 ml de tween.

Nous avons réalisé une série de dilution allant (75% ,50% ,25 %,12.5 %) à partir d' un mélange entre le tween et l' huile essentielle. **(Figure 07)**



Figure 07: Préparation des dilutions de l'huile essentielle (Original)

c. Technique par écouvillonnage (Kirby-Bauer recommandée par l'OMS) :

L'ensemencement est réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile imbibé de la suspension bactérienne ou fongique puis l'essorer sur la paroi interne du tube et faire des stries serrées à la surface de la gélose préalablement solidifiée dans les boîtes de pétri stériles.

Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois. Finir l'ensemencement et en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Laisser imprégner les boîtes pendant 5 minutes à température ambiante. Les couvercles des boîtes doivent être fermés. **(Figure 08)**

Partie expérimentale

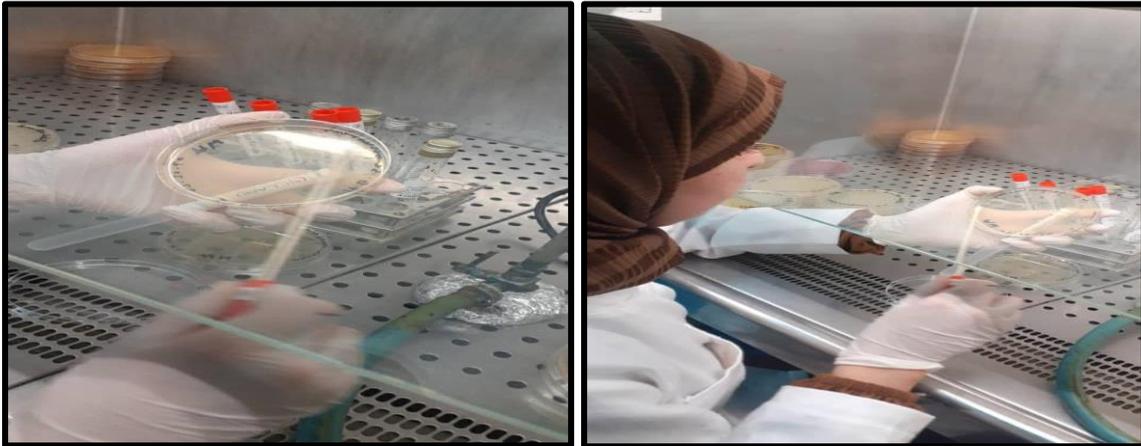


Figure 08: Ensemencement par écouvillon (Original)

d. Dépôt des disques imprégnés :

- Prélever aseptiquement à l'aide d'une pince stérile un disque buvard (Wattman) imprégnés dans l'huile essentielle et ses dilutions, ensuite les déposer délicatement à la surface des boites contenant la gélose inoculée.
- Appuyer doucement sur le disque imbibé pour assurer un contact uniforme avec le milieu
- Laisser les boites pendant quelques instants (15 min) à la surface de la hotte à température ambiante pour permettre la diffusion de l'échantillon étudiée.
- Incuber à 37°C pendant 18h à 24 h pour les bactéries et 25°C pendant 48h pour les champignons (la levure et moisissure). (**Figure 09**)
- La lecture des zones d'incubation par le Pied à coulisse.

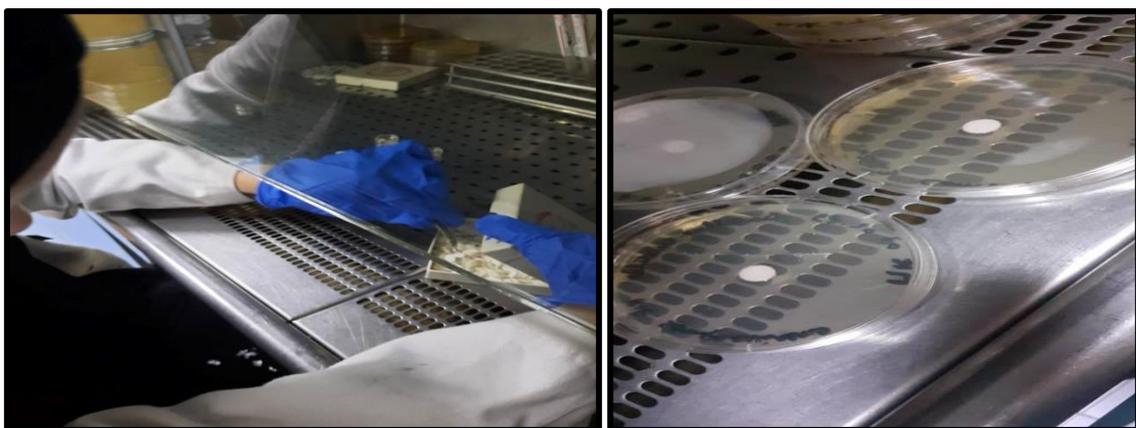


Figure 09: dépôt des disques et incubation des boites (Original)

Partie expérimentale

e. Interprétation des résultats :

La lecture des antibiogrammes est obtenue par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques en mm avec un pied à coulisse.

Selon (MEE & SETH ELA, 1994), l'estimation de l'activité antimicrobienne et antifongique est déterminée par classement des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne et fongique, elle est répartie en quatre classes :

- **Fortement inhibitrice** : diamètre de la zone ≥ 28 mm
- **Modérément inhibitrice** : $16 \text{ mm} \leq \text{diamètre de la zone} \leq 28$ mm
- **Légèrement inhibitrice** : $10 \text{ mm} \leq \text{diamètre de la zone} \leq 16$ mm
- **Non inhibitrice** : diamètre de la zone ≤ 10 mm

I.3.3. activité anti-inflammatoire :

Nous avons utilisé la méthode de l'œdème induit par la carragénine sur les pattes de souris (Colot, 1972) adoptée par le laboratoire de pharmacologie de Gué de Constantine SAIDAL.

a. Détermination de l'activité anti-inflammatoire des huiles :

Le test est réalisé sur plusieurs temps :

❖ La veille du test :

Les souris sont mises à jeun la veille du test.

❖ Le jour du test :

Au temps T_0 :

- On administre aux quatre lots les suspensions suivantes: **(Figure 10)**
 - **Lot 1 Témoin négatif**: chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau distillée.
 - **Lot 2 Témoin positif**: chaque souris reçoit 0.5 ml du produit de référence *Diclofenac* 25mg.
 - **Lot 3 Essai₁**: chaque souris reçoit 0.5 ml de huile essentielle de *C.sempervirens* pure.
 - **Lot 4 Essai₂**: chaque souris reçoit 0.5 ml de huile essentielle de *C.arizonica* pure.

Partie expérimentale



Figure 10: Gavage des différents extraits. (Original)

Au temps $T_0 + 30$ min :

- On injecte la solution de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0.025 ml à tous les souris mis en expérience. (**Figure 11**)



Figure 11: Injection de la carragénine (Original)

Partie expérimentale

Au temps $T_0 + 4$ heures :

- On sacrifie les souris par l'éther provenant de SIGMA-ALDRICH. (Figure 12)



Figure 12: sacrifice des souris (Original).

- On coupe les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et on les pèse sur une balance analytique. (Figure 13)



Figure 13: Coupure et pesée des pattes (Original).

Partie expérimentale

b. Méthode de calcul du pourcentage de réduction des œdèmes :

- Les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et de la patte droite sont calculées pour chaque lot.
- Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% œdème) est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{Moyenne des poids des pattes gauches} - \text{moyenne des poids des pattes droites}}{\text{Moyenne des poids de patte droite}} \times 100$$

- Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

I.3.4. activité anti-oxydante :

Ont été utilisés des tests pour l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles des deux plantes étudiées (*C.sempervirens*, *C.arizonica*). Il s'agit de l'activité scavenger de radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl).

a. Mode opératoire :

Pour réaliser l'analyse, 2,9 ml de la solution méthanolique de DPPH (0,025 g / l) est ajouté à 100 µl de l'huile essentielle à différentes concentrations (0.5 ,0.25, 0.125, 0.062, 0.031 ml HE/ml). Le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. La longueur d'onde d'absorption maximale a été préalablement déterminée. Toutes les lectures sont effectuées à 515 nm.

Partie expérimentale

Le protocole d'évaluation du pouvoir anti-radicalaire est illustré par :

- 100µl d'extrait (0.5, 0.25, 0.125, 0.06, 0.03 ml HE/ml). (**Figure 14**)



Figure 14: préparations des extraits (Original)

- 2,9 ml de DPPH (0,025). (**Figure 15**)



Figure 15: préparations de DPPH (original)

- Incubation pendant 30 min à température ambiante et à l'obscurité.
- Lecture à 517 nm. (**Figure 16**)



Figure 16: lecture de résultats (Original)

Partie expérimentale

L'activité anti-radicalaire estimée selon l'équation suivante:

$$PI = \frac{(\text{DO du blanc} - \text{DO de l'échantillon})}{\text{DO du blanc}} \times 100$$

Où :

PI : pourcentage d'inhibition.

AT : La décroissance de l'absorbance

NB : La réalisation de la cinétique de cette activité permet de déterminer les concentrations qui correspondent à 50% d'inhibition (**IC50**) ; la valeur d'**IC50** la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée.

b. Calcul des IC50 et de l'activité anti radicalaire :

La concentration inhibitrice à 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient Concentration 50%), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

I.3.5. Méthode de préparation de 100 g de la crème hydratante

- On pèse 6 g de l'alcool cétylique et 4 g d'emulgine et 25 g d'huile de vaseline
- On met les trois pesés dans la plaque chauffante avec une température ambiante de 70°C (le mélange ne doit pas bouillir)
- On mesure 58 g d'eau distillée pour obtenir de l'eau tiède
- On ajoute progressivement la phase aqueuse sur la phase huileuse
- On met le mélange dans un agitateur à turbine jusqu'à l'obtention d'une crème épaisse
- On laisse le mélange refroidir à 40 °C puis on ajoute 1 ml d'huile essentielle concernée
- On obtient une crème hydratante prête à l'utilisation

Remarque : on met deux préparations pour chaque huile essentielles (cupressus arizonica et cupressus sempervirens)

Partie expérimentale

Chapitre II: Résultats et discussion

II.1. Résultat de rendement :

Le rendement a été calculé pour la plante *C.sempervirens* à laquelle nous avons assisté à l'extraction, pour la deuxième espèce nous n'avons pas calculé le rendement.

❖ *C.semperverens*:

Le résultat est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

RHE : rendement en huile essentielle des parties aériennes;

M' : masse d'huile essentielle en gramme à partir des parties aériennes;

M : masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

Le calcule :

$$\text{RHE\%} = \left(\frac{50}{13000} \right) \times 100 = 0.38\%$$

Le *C.sempervirens* nous a donné un rendement de 0.38%. Ce dernier est proche à celui obtenu par (Amara, N, et Boughérara, en 2017) au Blida Algérie qui était 0.32%. D'autre part notre rendement était légèrement supérieur par rapport à celui obtenu à partir de cyprès Algérien de (Mazari, 2010) qui était de 0,26%, par contre est plus faible par rapport à celui obtenu en Cameron par (Taponjou et al, 2005) où le rendement huile essentielle était de 1%.

Selon nos résultats nous pouvons dire que le rendement en huile essentielle peut se varier selon l'espèce, l'âge de la plante, la partie soumise à la distillation et la période de la récolte.

Partie expérimentale

II.2. Résultat de l'activité antimicrobienne :

- ❖ Les résultats de l'activité antimicrobienne d'HE de *C.arizonica* sont représentés dans l'histogramme. (Figure 17)

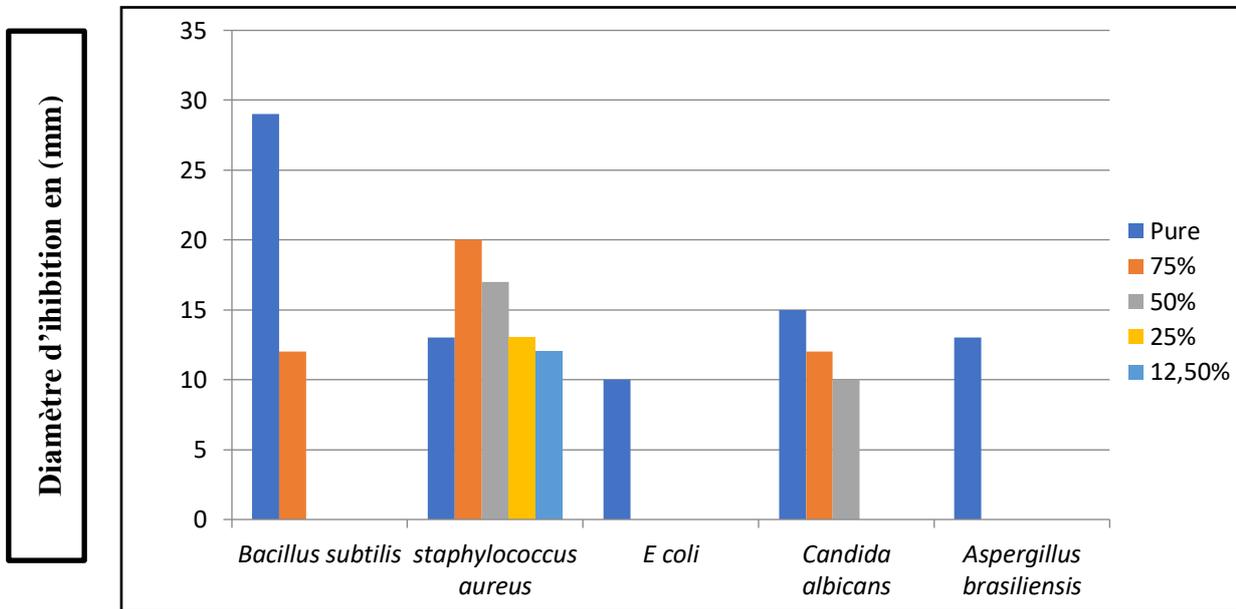


Figure 17: Représentation graphique du test de sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis d'huile essentielle testé *C.arizonica*.

D'après l'histogramme de la figure 17, on constate D'une part que l'HE de *C.arizonica* présente une activité antibactérienne vis-à-vis des souches : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *E coli*. D'autre part elle possède une activité antifongique vis-à-vis des souches *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*.

Bacillus subtilis est extrêmement sensible à l'HE du *C.arizonica*, car ce dernier présente un diamètre d'inhibition de 39 mm en présence de cette HE pure. Plus la concentration de celle-ci diminue, le diamètre d'inhibition diminue. Par contre *E coli* est faiblement sensible à cette l'HE pure mais aucune sensibilité n'est enregistrée aux différentes dilutions de l'HE de *C.arizonica*.

Staphylococcus aureus est hautement sensible à l'HE de *C.arizonica* avec un diamètre de 20 mm à 75%. Ce diamètre diminue lorsque la concentration d'HE diminue, par contre la zone d'inhibition enregistrée pour l'HE pure est plus faible que la zone d'inhibition de la concentration de 75% qui a donné un diamètre de 13mm. Pour les autres souches elle est résistante vu qu'aucune zone d'inhibition n'a été signalée

Partie expérimentale

A partir des résultats d'histogramme, on constate que l'HE de *C.arizonica* possède une activité antifongique modérée vis-à-vis de *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis* à une concentration pure. Les diamètres d'inhibition sont 17 mm, 13 mm et 10 mm aux concentrations 50%, 25% et 12,5% respectivement. D'autre part la souche *Aspergillus brasiliensis* ne présente aucune zone d'inhibition dans les autres dilutions.

Nos résultats diffèrent de ceux obtenus par (Chéraif, I et al en 2007) qui ont montré que *Staphylococcus aureus* et *E coli* ont une DZI 27 mm et 17 mm.

Selon (Cherrad S et al 2022) l'HE des feuilles de *C.arizonica* a montré un effet inhibiteur puissant pour les souches bactériennes testées à la concentration de 1/100 pour *B.subtilis*, *S.aureus*.

❖ Résultats de l'activité antimicrobienne d'HE de *C.sempervirens* sont résumés dans l'histogramme. (Figure 18)

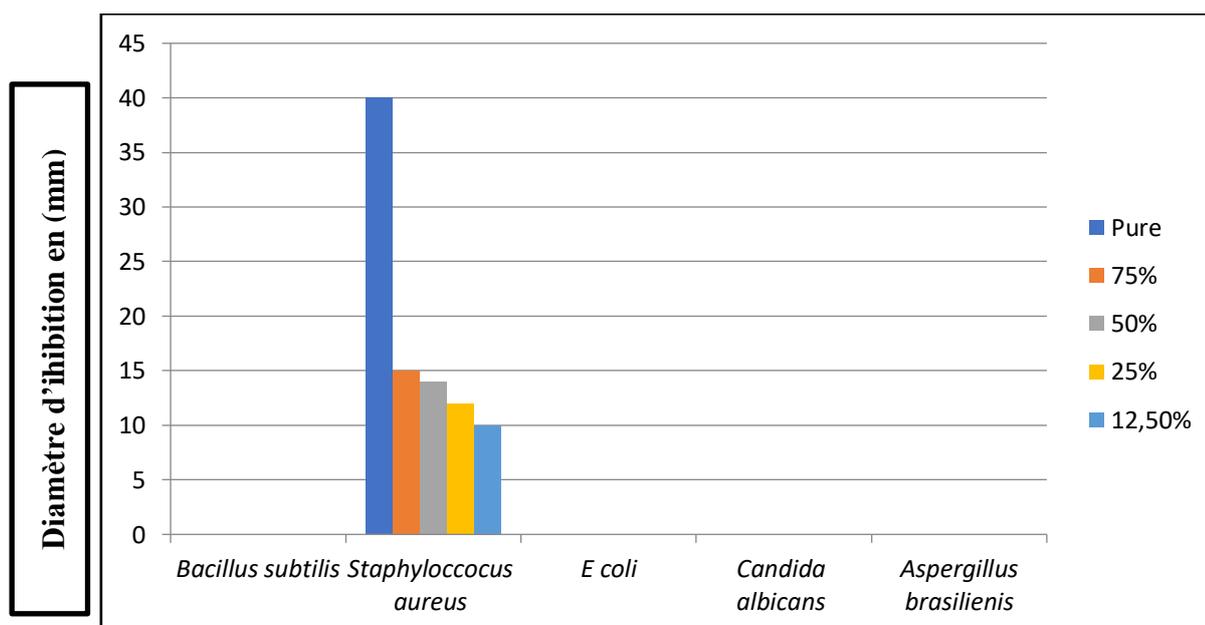


Figure 18: Représentation graphique du test de sensibilité des souches microbiennes vis-à-vis d'huile essentielle testé *C.sempervirens*.

D'après l'histogramme de la figure 18 on remarque que seulement la souche *Staphylococcus aureus* est fortement sensible à l'HE de *C.sempervirens* pure et les autres souches sont résistantes.

En générale, on remarque d'une part que les deux HEs ont une activité antimicrobienne moyenne et quelque fois importante. D'une autre part le pouvoir antimicrobien de l'HE de *C.arizonica* est plus important que celui du *C.sempervirens*.

Partie expérimentale

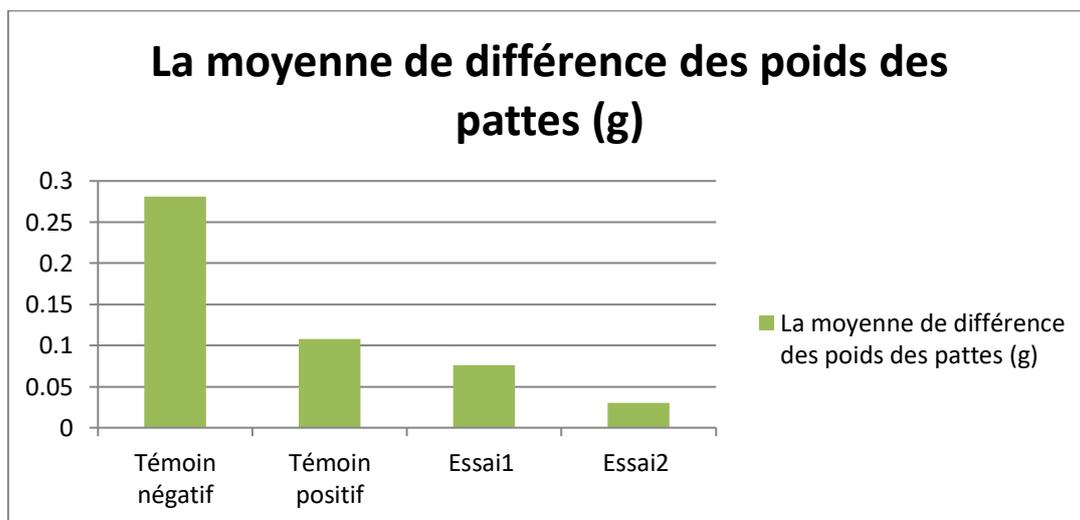
Nos résultats ont été contredits avec ceux d'**Amara et Boughérara, 2017**, les résultats de l'activité antibactérienne de *C. sempervirens* a mis en évidence des zones d'inhibition pour le *Candidaalbicans* avec un DZI égal à (20 mm), suivi par *Bacillus subtilis*, et *Staphylococcus aureus* (15 mm), *Escherichia coli* (13 mm). Par contre nos résultats ont donné une inhibition seulement avec *staphylococcus aureus* avec un DZI égal à 40 mm.

D'autres résultats de **Chaudhary et al en 2012** ont montré que les extraits *C.sempervirens* L. a inhibé la croissance de toutes les souches bactériennes comme : *B. subtilis* et *S. aureus* avec des zones d'inhibition de 27,25 et 24,75 mm, respectivement.

II.3. Résultat de l'activité anti-inflammatoire :

Nous avons estimé l'œdème en fonction du poids de la patte gauche (patte testée) par rapport à la patte droite (patte témoin) de la souris.

Les variations des poids moyens des pattes de souris traitées pour les 4 souris sont rapportées dans la figure 19.



Essai1 : HE (*C.sempervirens*) ; Essai2 : HE (*C.arizonica*)

Figure 19: Moyennes de la différence des poids entre la patte gauche et droite des souris

La figure 19, montre que la carragénine entraîne une augmentation de 0.281g du poids de la patte des souris, pour le lot témoin. L'administration orale de Diclofenac à la dose de 2mg/ml prévient l'augmentation du poids de la patte de souris, elle est de 0.108g. Une augmentation moindre a été observée après l'administration d'HE de *C.sempervirens* à la dose de 0.5g/ml et HE de *C.arizonica* à la dose de 0.5g/ml, d'ordre de 0.076 et 0.03 respectivement.

Partie expérimentale

Pour mieux comprendre l'effet de notre huile sur cette inflammation, nous avons calculé le pourcentage de l'œdème et le pourcentage de réduction de l'œdème, les résultats sont consignés dans la figure 20.

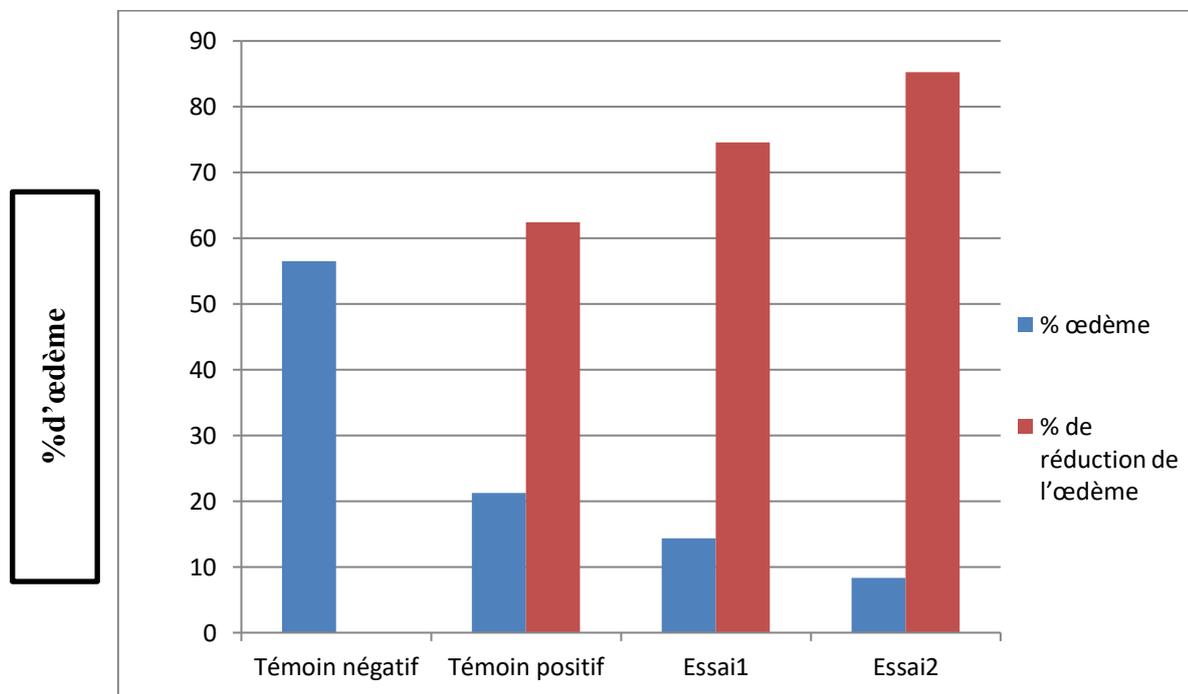


Figure 20: Pourcentage de l'œdème et le pourcentage de réduction de l'œdème.

L'évaluation du pourcentage de réduction de l'œdème montre que l'HE de *C.sempervirens* a réduit de 74.58% l'œdème à la dose de 0.5g/ml, son effet semble légèrement plus important que celui du lot de référence (62.47%). L'HE de *C.arizonica* à la dose de 0.5 g/ml possède une activité anti-inflammatoire très remarquable (85.21%) nettement plus importante que l'effet obtenu par Diclofénac (référence).

Des résultats similaires ont été rapportés dans plusieurs travaux :

(Laghouti, A., & Mahdi, B. 2017) L'étude de l'activité anti-inflammatoire a révélé que les différentes doses de huile essentielle de *C.sempervirens*, ont inhibé l'œdème inflammatoire d'une façon significative ($p < 0.05$) par rapport au témoin, et que cette activité inhibitrice était similaire à celle présentée par le groupe traité avec le Diclofénac (50 mg/kg) et ceci à partir de la 3e heure avec un effet maximal à la 6e heure.

(Fakhri, S et al, 2022). Selon les résultats de nos expériences sur l'œdème de patte avec carraghénane, l'HE *C.arizonica* à toutes les doses testées (1, 0,5 et 0,25 g/kg) a entraîné une diminution significative de l'œdème de patte, ce qui indique l'effet anti-inflammatoire de l'HE

Partie expérimentale

C.arizonica à partir de 0,5 heure après injection de carraghénine par rapport au groupe témoin négatif ($P < 0,001$) sans différence significative entre ces trois groupes. De plus, le diclofénac, comme médicament de référence, a amélioré l'œdème des pattes. Les effets anti-inflammatoires de l'HE *C.arizonica* et du diclofénac ont augmenté en fonction du temps et ont atteint un sommet 4 heures après l'injection de carraghénine. En comparaison, l'œdème de la patte a graduellement augmenté dans le groupe témoin négatif et atteint son niveau le plus élevé 4 heures après l'injection de carraghénane.

II.3. Résultat de l'activité anti-oxydante :

Pour l'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles des parties aériennes de (*C.arizonica*, *C.sempervirens*), notre choix s'est porté sur la méthode du piégeage du radical 2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Le principe de ce test repose sur un changement de couleur qui a été suivi par la lecture de l'absorbance à une longueur d'onde spécifique, à savoir à 515 nm. Nous avons opté pour un protocole à base du solvant méthanol. Nous avons déterminé le pouvoir antioxydant des huiles essentielles des parties aériennes de *C.arizonica* de 5 échantillons (d1, d2, d3, d4, d5) et de quatre échantillons de *C.sempervirens* (d1, d2, d3, d4).

Sur les figures 21 et 22 ci-dessous, nous reportons les résultats des pourcentages d'inhibition des huiles essentielles de (*C.arizonica*, *C.sempervirens*). Les profils de l'activité anti-radicalaire obtenus révèlent que les huiles essentielles testées possèdent une activité dose-dépendante.

Partie expérimentale

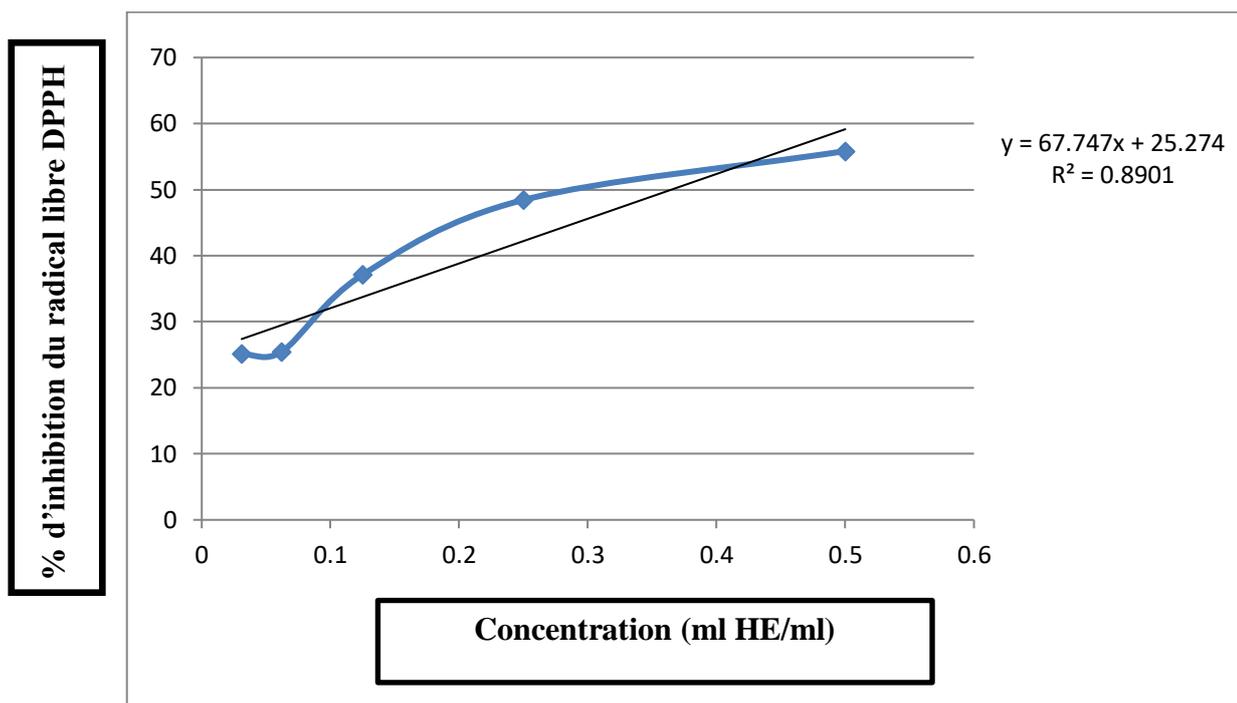


Figure 21: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *C. arizonica*.

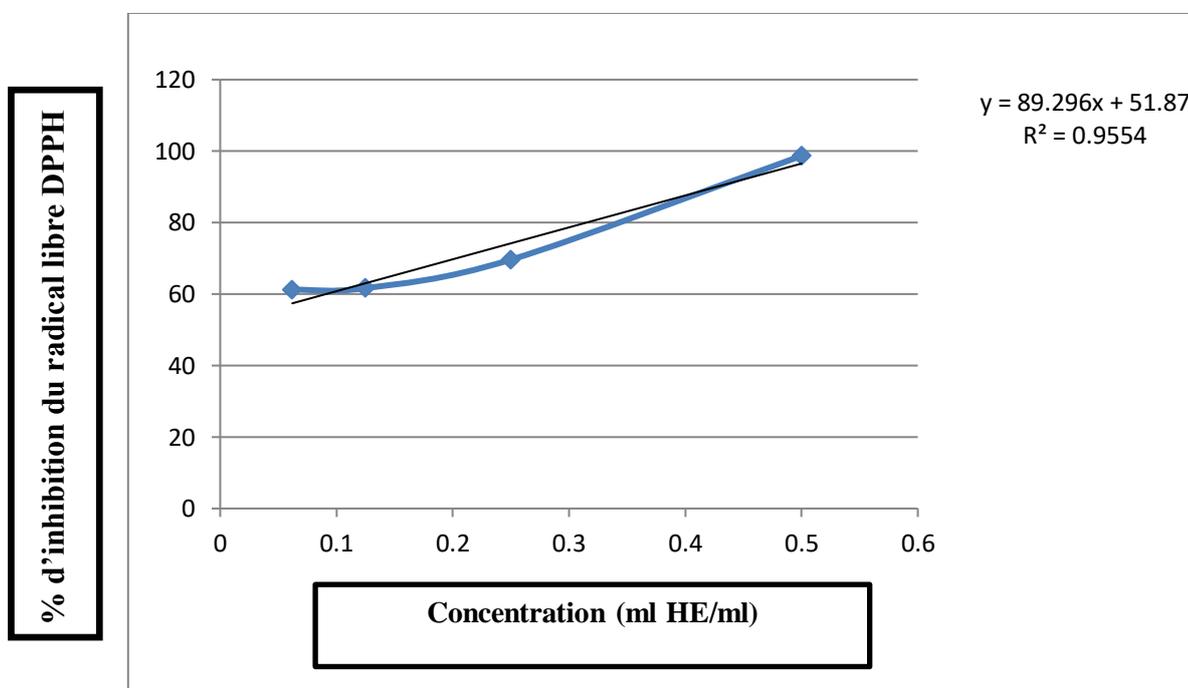


Figure 22: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des huiles essentielles de *C. sempervirens*.

Partie expérimentale

A partir des résultats obtenus pour cette plante, le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'HE de *C.sempervirens* ou pour l'HE de *C.arizonica* testées.

Pour une concentration de 0.5 ml HE/ml, l'HE de *C.arizonica* a révélé un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de 55.83% (figure 21), tandis que pour une concentration de 0.5 ml HE/ml d'HE *C.sempervirens* le pourcentage d'inhibition obtenu est 98.68 % (figure 22). L'HE de *C.sempervirens* a révélé une activité antioxydante plus importante que l'HE de *C.arizonica*, avec des pourcentages d'inhibition plus élevés de même concentration.

❖ La détermination de l'IC50 :

IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Les calculs des IC50 sont schématisés sur les figures 19 et 20.

Les résultats de l'activité antioxydante pour chaque plante sont exprimés en des concentrations IC50% par la méthode DPPH sont présentés dans le tableau.

Tableau 10 : Résultat du test antioxydant exprimant la concentration efficace 50% en mlHE/ml.

HE	IC50
HE de <i>C.arizonica</i>	0.36

L'HE du *C.arizonica* ramène le radical libre stable avec un IC50 de 0.36 ml HE/ml. En ce qui concerne l'HE du *C.sempervirens*, nous n'avons pas pu calculer l'IC50, parce que le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH le plus faible était supérieur à 50%, c'est-à-dire que nous ne pouvons calculer la CI50 que si nous réduisons la concentration de l'HE du *C.sempervirens*.

En effet, dans une étude menée par (Cherrad, S., 2022). L'activité la plus puissante a été obtenue à partir de l'huile de cône *C.arizonica* (IC50 = 0,098 ± 0,008 mg/ml), suivie de l'huile essentielle des feuilles (IC50= 5,297 ± 0,09 mg/ml), alors qu'elles étaient toutes moins efficaces que les antioxydants naturels utilisés (acide ascorbique) avec une CI50 = 0,00364 ± 0,001 mg/ml.

Partie expérimentale

(Barzegari, F., Hosseinihashemi, S. K., & Baseri, H, 2023). De plus, parmi les extraits analysés, les fruits et les branchlets présentent une activité anti-oxydante élevée à 90,3 % et 93,3 %, respectivement, lorsque la concentration était de 0,015 et de 0,493 mg/ml, respectivement. D'une part, les résultats de l'étude sur l'activité anti-oxydante et la composition chimique des extraits hydroéthanoliques de différentes parties de *C.arizonica* indiquent que *C.arizonica* est une riche source de composés phénoliques, avec une capacité anti-oxydante élevée qui peut fournir une protection contre les radicaux libres de récupération. D'autre part, il est évident que parmi les différentes parties de la plante, les extraits de fruits et de branches ont montré une bonne activité anti-oxydante par rapport aux extraits de feuilles de *C.arizonica*, coïncidant avec des niveaux élevés de terpènes et de composés phénoliques dans ces parties.

(Abdulkhani et al, 2020) une activité anti-radicalaire puissante est obtenu par la méthode du BHA pour l'extrait acétate purifié de *C.arizonica* avec 56,37 %. Pour le test avec le DPPH, l'activité inhibitrice de l'extrait L'acétate de potassium n'était que de 14,66 %. Cette activité est due composés phénoliques et elle dépend du nombre et de l'emplacement de groupes hydroxyles dans les composés phénoliques.

(Aliouat.K, Boudaoud.N, 2018) A partir des résultats obtenus pour l'extrait de *Cupressus sempervirens*, les substances isolées avec macération ont une activité anti-oxydante importante. Les résultats de ce test montrent que 50% des radicaux libres ont été éliminés par les polyphénols de *Cupressus sempervirens* à partir de concentration de 21 µg /ml.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets antimicrobiens, anti-inflammatoire, antioxydante des huiles essentielles de cyprès (*C.sempervirens*, *C.arizonica*).

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement obtenu à partir de partie aérienne de *C.sempervirens* est 0.38%.

Au terme de notre étude il en ressort que les HE extraites de la partie aérienne de *C.arizonica* de Moustaghanem est révélée remarquablement l'activité antibactérienne et antifongique par rapport au HE de *C.sempervirens* de Blida.

Les résultats de l'étude de l'activité anti-inflammatoire des HES de nos expériences sur l'œdème de patte, l'HE *C.arizonica* à toutes les doses testées a entraîné une diminution significative de l'œdème de patte à pourcentage de réduction de (85.21%), ce qui indique l'effet anti-inflammatoire de l'HE par rapport à l'HE de *C.sempervirens* à pourcentage de réduction de (74.58%).

L'activité antioxydante des huiles essentielles de deux plantes est évaluée par l'étude de leurs pouvoir a piégé le radical libre DPPH. D'ailleurs, la meilleure activité anti-radicalaire est observée pour l'huile essentielle de *C.sempervirens* a révélé un pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH de 98.68 %.

Description de la crème hydratante : Sa texture légère et douce est facilement absorbée par la peau, satinée, onctueuse, lisse et brillante à la fois. Chaque crème hydratante a une odeur spéciale de l'huile essentielle ajoutée.

Ces différences peut être dû aux conditions climatiques, nature du sol et d'autre part peut être la composition chimique des HE.

De plus, cette recherche nous a permis de maîtriser les techniques microbiologiques et les techniques de chimie ainsi de manipuler sur les souris.

L'une des limites de notre étude était le nombre de types des activités biologiques des HES étudiées ainsi que le manque des souches bactériennes et fongiques. Sur ce, s'il y aurait une continuité à ce travail, il serait très intéressant d'élargir notre étude sur d'autres activités biologiques : antivirales, antiseptiques ... et de travailler sur un échantillon plus important

Conclusion

des souches bactériennes et fongiques, pour une bonne évaluation des taux d'expression des HE de *cyprès* en Algérie.

De plus, il serait souhaitable d'étudier les activités biologiques de *Cyprès* des autres régions en Algérie pour avoir extraire le meilleur HE pour sa meilleur activité.

Références bibliographiques

1. **Abdulkhani, A., Sedaghat, A., Alizadeh, P., & Tabil, L. G. (2020).** Extraction of bioactive moieties of *Cupressus arizonica*. *Can. Biosyst. Eng.*, 62, 8-1.
2. **ALIOUAT, K., & BOUDAUD, N. (2018).** Polyphénols de quelque plantes médicinales de la famille Thymelaeacea et Cupressaceae et l'étude leurs activité antioxydante.
3. **Amara, N., & Boughérara, Y. (2017).** Activité antimicrobienne de l'huile essentielle du cyprès vert (*Cupressus sempervirens* L.). *Algerian Journal of Natural Products*, 5(2), 455-462.
4. **Amri L. Hamrouni, M. Hanana, S.Gargouri, B. Jamoussi. (2013).** Chemical composition, bioherbicidal and antifungal activities of essential oils isolated from Tunisian common cypress (*Cupressus sempervirens* L.) ». *Journal of Medicinal Plants Research*. 1070-1080.
5. **Barzegari, F., Hosseinihashemi, S. K., & Baseri, H. (2023).** Chemical composition and antioxidant activity of extracts from the fruit, leaf, and branchlet of *Cupressus arizonica* Greene. *BioResources*, 18(1), 19.
6. **Ben Nouri A., Dhifi W., Bellili S., Ghazghazi H., Aouadhi Ch., Chérif A., Hammami M., Mnif W., 2015.** "Chemical Composition, Antioxidant Potential, and Antibacterial Activity of Essential Oil Cones of Tunisian *Cupressus sempervirens*". Hindawi Publishing Corporation, *Journal of Chemistry*, 2015 :1-8.
7. **Bissangou M.F., Ouamba J.M. (1997).** Valorisation chimique de quelques espèces aromatiques et médicinales du Congo (*Ageratum conyzoides* L, *Chromolaena odorata* King et Robinson, *Hyptis suaveolens* Poit et *Lippia multiflora* Moldenke). *Pharmacologie Médical Traditionnelle Africaine.*, 9: 70-84.
8. **Boukssaim H., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Aberchane M., Khia A., Alaoui M.S.B., Chaouch A. et Farah A. (2013).** Caractérisation chimique et microbiologique des huiles essentielles des rameaux, des cônes et du bois du *Cupressus atlantica*, arbre forestier endémique du Maroc. *Phytothérapie.*, 94 : 223-253.
9. **Bouyahyaoui, A. (2016-2017).** Contribution à la valorisation des substances naturelles : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région de l'Atlas algérien. Thèse Pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences. Département de Biologie: Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem.
10. **Bull. Torrey Bot, G. (2006, 06 29).** Genre des *Cupressus*. Consulté le 03 17, 2023, sur *Plantes botanique*: <https://www.plantes-botanique.org/>

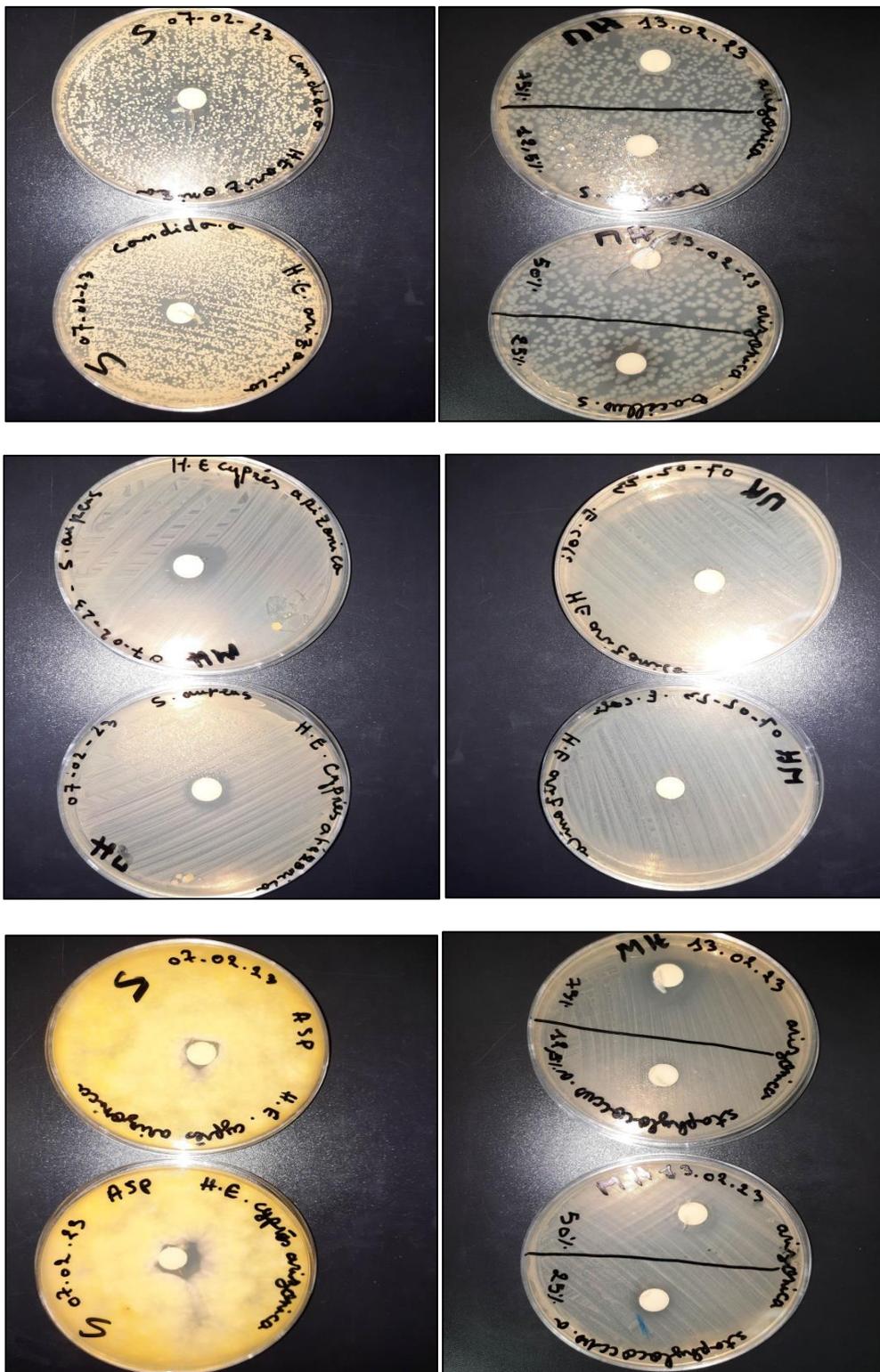
11. **Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods— a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253.
12. **Caudullo G., de Rigo D., 2016.** *Cupressus sempervirens* in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European Atlas of Forest Tree Species*, 3 :87-89.
13. **Chabrier, J. (2010).** *Plantes médicinales et formes plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie* (Doctoral dissertation, thèse UNIVERSITE HENRI POINCARÉ-NANCY 1 2010, FACULTE DE PHARMACIE).
14. **Chanegriha, N., Baaliouamer, A., Meklati, B. Y., Chretien, J. R., & Keravis, G. (1997).** GC and GC/MS leaf oil analysis of four Algerian cypress species. *Journal of Essential Oil Research*, 9(5), 555-559.
15. **Cheraif, H. Ben jannet, M. Hammami, Z. Mighri. (2018).** Etude de l'influence de la répartition géographique sur la composition chimique de l'huile essentielle des rameaux du *Cupressus sempervirens* L. Poussant en Tunisie ». *Laboratoire de Biochimie. (Tunisie)*.91-98.
16. **Chéraif, I., Jannet, H. B., Hammami, M., Khouja, M. L., & Mighri, Z. (2007).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Cupressus arizonica* Greene. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(12), 813-820.
17. **Cherrad, S., Jaouadi, I., Bouyahya, A., Koursaoui, L., Aouane, E. M., Satrani, B., ... & Chaouch, A. (2022).** Phytochemical Analysis and Study of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Two Parts of *Cupressus arizonica* Essential Oils. *Journal of Food Quality*, 2022.
18. **Dhaouadi, F., Mouna, S., Ismail, A., Fedia, M., Sana, K., Yassine, M., ... & Naceur, M. (2022).** Chemical composition, antioxidant and allelopathic activities of essential oils and crude extracts of *Cupressus arizonica* Greene. *Phytoprotection*, 102(1), 21-29.
19. **Dridi, F. (2005).** Extraction et analyse de l'huile essentielle de cumin formulation d'une pommade decongestionnante (Doctoral dissertation). Intro 1
20. **Emami, S. A., Fakhrjafary, M., Tafaghodi, M., & Hassanzadeh, M. K. (2010).** Chemical composition and antioxidant activities of the essential oils of different parts of *Cupressus arizonica* Greene. *Journal of Essential Oil Research*, 22(3), 193-199.
21. **Fakhri, S., Jafarian, S., Majnooni, M. B., Farzaei, M. H., Mohammadi-Noori, E., & Khan, H. (2022).** Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the essential oil isolated from *Cupressus arizonica* Greene fruits. *The Korean journal of pain*, 35(1), 33-42.

22. **HALUK, J.P. & ROUSSEL, C. (2000).** Caractérisation et origine des tropolones responsables de la durabilité naturelle des Cupressacées. Application potentielle en préservation du bois. *Ann. For. Sci.*, 57: 819-829.
23. **Laghouti, A., & Mahdi, B. (2017).** Evaluation de la toxicité aigüe et de l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles de *Cupressus sempervirens* et de *Cedrus atlantica* (Doctoral dissertation, École Nationale Supérieure Vétérinaire).
24. **LAHBIB, K., DKHIL, M., ghanem Boughanmi, N., & ATTIA, M. B.(2016).** Laboratoire de Biosurveillance de l'Environnement, Faculté des Sciences de Bizerte Reçu le 22 juillet 2016.
25. **LEMOINE-SEBASTIAN Cécile, ROUANE P (1978).** La sexualité des Cupressacées : Observations sur la répartition des sexes chez *Actinostrobus pyramidalis* Miq. et chez *Cupressus sempervirens*, p. 31- 44 - Départ./Région : , Bulletin de la Société Botanique de France, 4, Tome 125 - Fascicule 1-2.
26. **Limonier, A. S. (2018).** La phytothérapie de demain: les plantes médicinales au cœur de la pharmacie.
27. **Malizia, R. A., Cardell, D. A., Molli, J. S., González, S., Guerra, P. E., & Grau, R. J. (2000).** Volatile constituents of leaf oils from the Cupressaceae family: Part I. *Cupressus macrocarpa* Hartw., *C. arizonica* Greene and *C. torulosa* Don species growing in Argentina. *Journal of Essential Oil Research*, 12(1), 59-63.
28. **Mazari, K., Bendimerad, N., Bekhechi, C., & Fernandez, X. (2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *J Med Plants Res*, 4(10), 959-964.
29. **MERRADI , M., BOUGUERRA , K., & BAYOU , S. (2021).** La guérissons à base de l'Armoise blanche en médecine traditionnelle dans les Aurès (Algérie) -Étude anthropologiqueHealing based on White Wormwood in Traditional Medicine in Aures (Algeria) -Anthropological Study-. 05(02), 1065-1074. *Tributaries JOURNAL*.
30. **Michel Caron,** Le cyprès de l'Arizona, www.eFloras.org, consulté le 13 mars 2023.
31. **Nichane N., 2015.** Contribution à l'étude du dépérissement du Cyprès vert (*Cupressus sempervirens* L.) dans les monts des Traras Occidentaux (Wilaya de Tlemcen) Département d'Ecologie et Environnement. Université Tlemcen. Algérie. Pp : 22-26.
32. **OMS, (1999).** Strandardisation de l'antibiogramme.

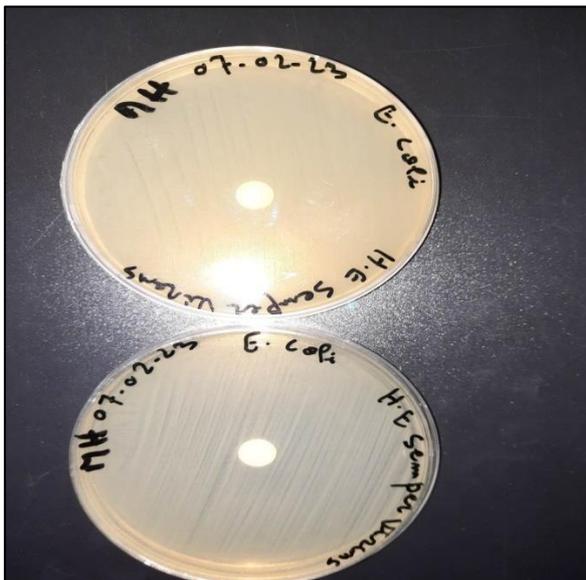
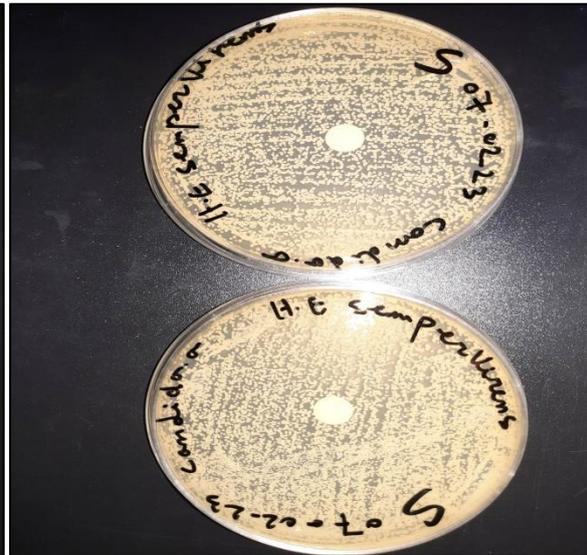
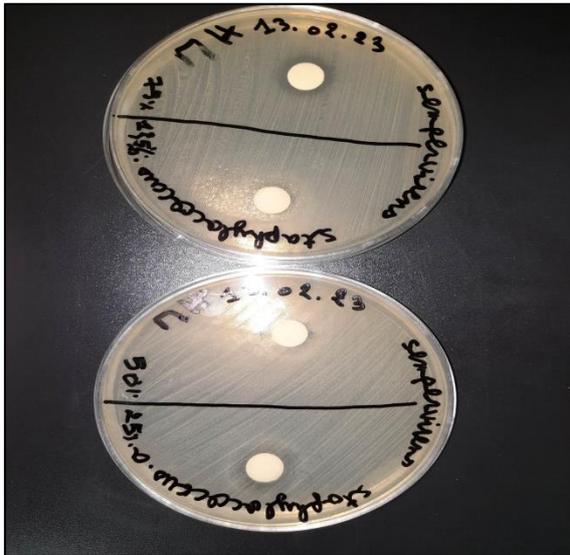
- 33. Rivera Nava, J. L. (2008).** Stratégie mère porteuse chez *Cupressus dupreziana* A. Camus (cyprès du Tassili): analyse, conséquences et perspectives (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 3).
- 34. SEBBANE, B., & KHALDI, M. (2019).** Quelques composés secondaires isolés à partir des plantes de la famille de Cupressacée (*Cupressus sempervirens*, *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus communis*): extraction, caractérisation et activité antibactérienne.
- 35. Sedaghat, M. M., Dehkordi, A. S., Khanavi, M., Abai, M. R., Mohtarami, F., & Vatandoost, H. (2011).** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Cupressus arizonica* EL Greene against malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Pharmacognosy research*, 3(2).
- 36. Tomi F., Sutour S., Bradesi P. et Casanova J. (2011).** Chemical composition of the essential oil from Corsican *Mentha aquatica*- combined analyses by GC(RI), GC-MS and ¹³C NMR spectroscopy. *Natural Product Communications.*, 10(6): 1479-1482.
- 37. Tumen I., Süntar I., Keleş H., Küpeli Akkol E., (2012).** A therapeutic approach for wound healing by using essential oils of *Cupressus* and *Juniperus* species growing in Turkey. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2012 :1-7.
- 38. Valdivieso-Ugarte M., Gomez-Llorente C., Plaza-Díaz J., & Gil Á. (2019).** Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: A systematic review. *Nutrients*, 11(11), 2786.
- 39. Wińska K., Mączka W., Łyczko J., Grabarczyk M., Czubaszek A., & Szumny A. (2019).** Essential oils as antimicrobial agents—myth or real alternative?. *Molecules*, 24(11), 2130.
- 40. YAHI, N. et ABDELGUERFI, A, 2012,** Rapport sur l'Etat de l'Environnement (RNE 2011) Volet Biodiversité.

Annexe

1. Zones d'inhibitions de *Cupressus arizonica* :



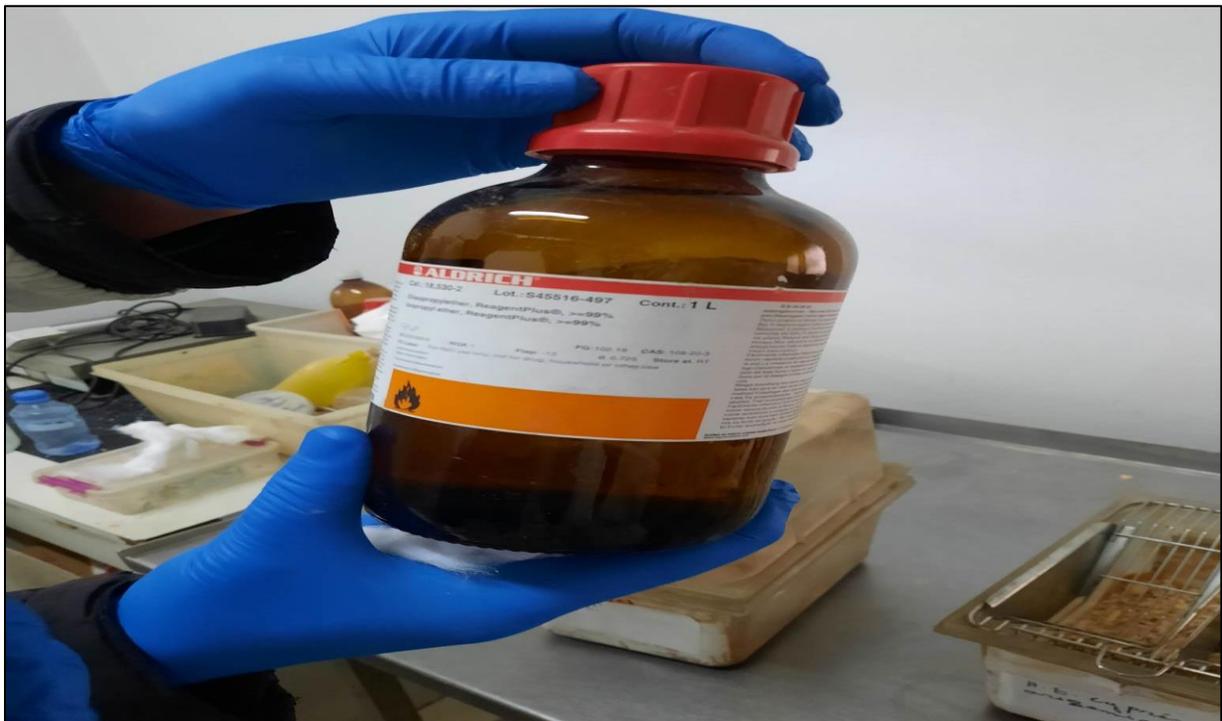
2. Zones d'inhibitions de *Cupressus sempervirens*:



3. Hydrodisstillateur :



4. L'éther :



5. Spectrophotomètre :

