



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES ET BIOLOGIQUE

Département : Biotechnologie et Agro-écologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme du Master Académique

Spécialité : Biotechnologie

Option : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

**Activité anti inflammatoire et anti microbienne d'un mélange des huiles essentielles
De deux espèces
« *Artemisia arborescens* » et « *Eucalyptus globulus* »**

Soutenue le :

03/07/2025

Présenté par :

• **Aich Djamila** • **Klalib Roumaisa** • **Annabi Nour el Yasmine**

Devant le jury composé de :

Mme Tadjine. N	MCA. USD Blida 1	présidente
Mme Semmar.I	MAA. USD Blida 1	Examinatrice
Mme Ghanai. R	MCB. USD Blida 1	Promotrice

Année universitaire : 2024/2025

REMERCIEMENT

REMERCIEMENT

Remerciements

Tout d'abord nous remercions Dieu tout puissant de la bonne santé, la volonté et la patience.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre promotrice **Dr. GHANAI.R** pour nous avoir guidé tout au long de la réalisation de notre travail de fin d'étude, pour ses orientations, ses encouragements, ses conseils sans lesquelles ce mémoire n'aurait pas lieu, ainsi que pour sa compréhension, Sa patience et sa disponibilité.

Nous tenons à remercier énormément les membres de jury **Dr TADJINE N** et **Dr SEMMAR I**, de nous faire l'honneur d'examiner notre travail, Pour leurs conseils avisés et pour leurs critiques constructives.

Ainsi nous tenons à remercier énormément le personnel du laboratoire de SAIDAL pour leur aide durant notre pratique.

Enfin, nous tenons à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin À l'accomplissement de ce mémoire, et les enseignants qui ont participé à notre formation soient sincèrement remerciés.

Dédicace

Toute louange revient à Allah, celui qui m'a soutenue quand mes forces m'abandonnaient, qui a entendu mes prières murmurées dans le noir, et qui ne m'a jamais laissée seule.

A moi, pour avoir compris que la réussite ne vient pas d'un coup d'éclat, mais d'un enchaînement de pas constants souvent invisibles.

A mon père « **Slimane** », mon premier repère, l'homme silencieux derrière mes plus grandes forces. Ton regard a toujours suffi à me rassurer.

Maman « **Fatima Zohra** », si j'ai tenu bon c'est parce que tu as toujours été là : mon pilier silencieux, ma force tranquille. Ta présence apaisante et tes prières discrètes m'ont portée bien plus loin que je ne l'aurais cru

Zineb, Amina et Imen vous avez été mes premières alliées mes premières confidentes mes premières fiertés merci pour tout ce qui ne se dit mais se sent. A ^{Aya}, ta douceur et ta lumière illuminent mes journées. Ton sourire est ma force silencieuse. Je t'aime plus que les mots ne peuvent le dire

A **Karim, Mammer et Zakaria**, Je n'ai pas des frères mais Allah m'a offert mieux.

A mes trésors **Rassim, Abderrahim, Malek et Yaman** Vous êtes l'innocence la joie et la tendresse qui rendent tout plus beau.

A **Hanane, Ikram et Khayra** merci pour les confidences à 3h du matin pour les silences partagés pour les fous rires soudains vous êtes des chapitres à part dans mon histoire A **Aya, Manar, Mounia, Manel et Yasmine**, nos chemins ont peut-être pris des directions différentes, mais nos rires restent accrochés à mon cœur.

A **Hiba et Karima** cousines mais avec vous j'ai toujours senti plus du lien, du vrai, du cœur.

Aich Djamila  ,

Dédicace

﴿وَقُلْ لِّرَبِّكَ زِدْنِي عِلْمًا﴾

« Et dis : Seigneur, augmente-moi en savoir » — [Sourate Taha – v.114] **À ma**

chère mère,

Ton amour, tes prières et ton soutien ont été ma plus grande force. Tu es mon refuge, ma lumière et la source de chaque réussite dans ma vie. Ce diplôme est autant le tien que le mien.

À mon père bien-aimé,

Merci pour ta patience, tes conseils et ta force tranquille. Tu m'as appris à croire en moi et à avancer avec courage et confiance.

À mes frères,

Merci d'avoir toujours été là pour moi, avec vos encouragements et votre affection sincère.

À mes sœurs,

*Vous avez adouci mes jours les plus difficiles. Une pensée toute particulière à ma sœur qui vit loin de nous la distance n'a jamais diminué ta place dans mon cœur. **À mes***

beaux-frères,

À vos enfants, et à ceux de mes sœurs, vous avez apporté de la joie, de la tendresse et de la chaleur à ma vie.

*À tous ceux qui m'ont soutenu(e), de près ou de loin, par une parole, un geste, un regard ou une simple prière, je vous dis merci du fond du cœur. **À mes amis fidèles,***

Merci d'avoir cru en moi, partagé mes doutes, et célébré mes réussites. Votre amitié est un trésor inestimable. Ce succès est le fruit de mes efforts, mais surtout de votre amour et de votre présence. Je vous le dédie avec tout mon cœur.

﴿وَأَخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ﴾

« Et leur dernière invocation sera : Louange à Allah, Seigneur de l'univers » —
[Sourate Yunus – v.10]

□ **Klalib Roumaisa** □

Dédicace

J'ai toujours cru qu'au fond du cœur, il y a des graines qui ne portent leurs fruits que si elles sont arrosées de larmes et de patience. Aujourd'hui, j'écris ces mots après avoir traversé des périodes difficiles et affronté la tempête avec détermination et la foi qu'un rêve.

À ma chère mère :

Merci à celle qui a créé le paradis sous ses pieds, celle que j'ai toujours souhaité être la lumière de mes yeux en un jour comme celui-ci, celle qui a été le soutien lorsque le corps faiblissait, la voix lorsque l'espoir s'estompait, et la lueur qui a rempli mes journées de tendresse.

À mon cher père :

La lumière qui a illuminé mon chemin et la lampe dont la lumière ne s'éteindra jamais dans mon cœur. Du sacrifice de mes biens les plus précieux, j'ai puisé en lui ma force et mon estime de moi. Tout ce que j'ai accompli, je le dois à toi.

À mon frère bien-aimé :

Pour mon soutien indéfectible, la sécurité de mes journées, pour celui qui a renforcé ma détermination, pour celui qui a été un soutien et une aide sur ce chemin. Merci pour tous les sacrifices.

À ma famille :

Tous ceux qui ont contribué par un mot, une invitation ou une prise de position, même fugace, sont toujours gravés dans mon âme.

À mes fidèles amis :

Mes compagnons, votre amour est indescriptible. Aucun mot ne saurait vous remercier pour votre gentillesse, mais ma gratitude est éternelle dans mon cœur.

À mon amie la plus proche :

Tu es ma deuxième famille. Ma réussite est un bouquet d'amour que je t'offre avec une gratitude indescriptible. Tu es et resteras l'amie la plus précieuse que je n'aie jamais connue. -Nabila-

Au final, toute l'histoire ne sera peut-être pas racontée, et les fins ne seront peut-être pas racontées telles que nous les avons vécues, mais ce n'est pas seulement un succès, mais le début de mes victoires.

RESUMERESUME

Résumé

Activité anti inflammatoire et anti microbienne d'un mélange des huiles essentielles de deux espèces « *Artemisia arborescens* » et « *Eucalyptus globulus* »

Afin de contribuer à la valorisation de la flore algérienne, une étude a été menée dans le but d'évaluer deux activités biologiques (anti inflammatoire et anti microbienne) d'un mélange des huiles essentielles de deux espèces aromatiques (*Artemisia arborescens* et

Eucalyptus globulus). L'extraction des huiles essentielles à partir des parties aériennes des deux espèces étudiées a été accomplie par la distillation à l'entraînement à la vapeur d'eau, le rendement obtenu est de 0.54% pour l'espèce *Artemisia arborescens* et de 2% pour *Eucalyptus globulus*. L'activité antibactérienne du mélange des deux huiles essentielles (50% d'*Artemisia arborescens* et 50% d'*Eucalyptus globulus*) a été évaluée expérimentalement selon la méthode de diffusion sur un milieu nutritif. Les résultats obtenus ont révélé une forte action inhibitrice sur la croissance des souches pathogènes testés notamment (*Staphylococcus Epidermidis* (60.87mm), *Staphylococcus Aureus*(33.53mm), *Saccharomyces cerevisiae*(31.97mm), *Pseudomonas Aeroginosa* (26.40mm) et *candidat albicans* (25.63mm)) et de faible action inhibitrice de *E. coli*(21mm), *Aspergillus Brasiliensis* (18.53mm) et *Salmonella Typhiriuem* (18.13mm).

L'activité anti-inflammatoires du mélange (90% d'*Eucalyptus globulus* + 10% d'*Artemisia arborescens*) a été évaluée in vivo sur des souris albinos en utilisant différentes concentration (D1= 50% ; D2=25 ; D3=12.5% ; D4=6.25% ; D5=3.125 et D6=1.562%) ainsi qu'un traitement de référence à base de diclofénac. Les résultats obtenus présentent une grande potentialité anti inflammatoire pour le traitement D5 (3.125%).

Mots clés : *Artemisia arborescens*, *Eucalyptus globulus*, huile essentielle, anti microbienne, anti inflammatoire

ملخص

نشاط المضاد للالتهابات والمضاد للميكروبات لمزيج من الزيوت الأساسية لنوعين *Artemisia*

arborescens و *Eucalyptus globulus* نباتيين

في إطار المساهمة في تثمين النباتات المحلية الجزائرية، أجريت هذه الدراسة بهدف تقييم نشاطين

بيولوجيين هما النشاط المضاد للالتهابات والنشاط المضاد للميكروبات لمزيج من الزيوت الأساسية

المستخلصة من نوعين. *Artemisia arborescens* و *Eucalyptus globulus*: نباتيين عطريين

تم استخراج الزيوت الأساسية من الأجزاء الهوائية للنباتين عن طريق التقطير بالبخر، حيث بلغ

مردود *Eucalyptus globulus* و 2% لنبات *Artemisia arborescens* الاستخلاص 0.54%

لنبات

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمزيج الزيوت الأساسية (بنسبة 50% من كل زيت) تجريبياً باس
تخدام طريقة

:الانتشار في وسط غذائي. وقد أظهرت النتائج فعالية مثبتة قوية لنمو بعض السلالات الممرضة مثل

(60.87 *Staphylococcus epidermidis* مم)، (33.53 *Staphylococcus aureus* مم)،

(31.97 *Saccharomyces cerevisiae* مم)، *Pseudomonas aeruginosa* مم)، و (26.40 *Candida*

albicans مم)، في حين أظهرت فعالية ضعيفة ضد (25.63 *Escherichia coli* (21) مم)،

(18.53 و (18.13 *Salmonella typhimurium* مم).

أما النشاط المضاد للالتهابات، فقد تم تقييمه داخل الجسم الحي (in vivo) على فئران ألبينو باستخدام مزيج مكوّن من 90% من *Eucalyptus globulus* و 10% من *Artemisia arborescens* وبتراكيزات مختلفة ، (D1 = 50% ؛ D2 = 25% ؛ D3 = 12.5% ؛ D4 = 6.25% ؛ D5 = 3.125% ؛ D6 = 1.562%) ،

إضافة إلى علاج مرجعي قائم على الديكلوفيناك.

وقد أظهرت النتائج فعالية كبيرة مضادة للالتهابات خاصة عند التركيبي. (3.125%) D5

مضاد، مضاد للالتهاب، *Artemisia arborescens* , *Eucalyptus globulus*: الكلمات المفتاحية
للبكتيري

ABSTRACT

Abstract

Anti-inflammatory and Antimicrobial Activity of a Mixture of Essential Oils from Two Species: *Artemisia arborescens* and *Eucalyptus globulus*

As part of efforts to promote Algerian plant biodiversity, this study was carried out to evaluate two biological activities — anti-inflammatory and antimicrobial — of a mixture of essential oils extracted from two aromatic species: *Artemisia arborescens* and *Eucalyptus globulus*. The essential oils were extracted from the aerial parts of the plants by steam distillation. The yields obtained were 0.54% for *Artemisia arborescens* and 2% for *Eucalyptus globulus*. The antibacterial activity of the essential oil mixture (50% of each oil) was assessed experimentally using the agar diffusion method. The results showed a strong inhibitory effect on the growth of several pathogenic strains,

including: *Staphylococcus epidermidis* (60.87 mm), *Staphylococcus aureus* (33.53 mm), *Saccharomyces cerevisiae* (31.97 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (26.40 mm), and *Candida albicans* (25.63 mm). A weaker inhibitory effect was observed against *Escherichia coli* (21 mm), *Aspergillus brasiliensis* (18.53 mm), and *Salmonella typhimurium* (18.13 mm). The antiinflammatory activity of the mixture (90% *Eucalyptus globulus* + 10% *Artemisia arborescens*) was evaluated in vivo on albino mice using different concentrations

(D1 = 50%; D2 = 25%; D3 = 12.5%; D4 = 6.25%; D5 = 3.125%; D6 = 1.562%), alongside a reference treatment with diclofenac.

The results demonstrated strong anti-inflammatory potential, especially for treatment D5 (3.125%).

Keywords : *Artemisia arborescens*, *Eucalyptus globulus*, essential oil, antiinflammatory, antimicrobial

LISTE DES FIGURES LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : structure d'isoprénoïdes.....	06
Figure 2 : la plante d' <i>Artemisia Arborescens</i>	12
Figure 3 : les feuilles d' <i>Artemisia Arborescens</i>	13
Figure 4 : les tiges d' <i>Artemisia Arborescens</i>	13
Figure 5 : fleurs d' <i>Artemisia arborescens</i>	14
Figure 6 : Les feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	19
Figure 7 : Les fleurs d' <i>Eucalyptus globulus</i>	20
Figure 8 : Les fruits d' <i>Eucalyptus globulus</i>	20
Figure 9 : Les solutions diluées.....	31

Figure 10 : un lot de toxicité.....	32
Figure 11 : gavage de 0.5ml d ' <i>Artemisia Arborescens</i>	33
Figure 12 : préparation d'inoculum des disques d'aromatogramme.....	34
Figure 13 : Les disques d'aromatogramme	34
Figure 14 : Le mélange des huiles essentielles.....	35
Figure 15 : ensemencement des bactéries et dépôts des disques	36
Figure 16 : mesure le volume initial de patte postérieure de souris	36
Figure 17 : injection de la carraghénine.....	38
Figure 18 : Technique de gavage.....	38
Figure 19 : Action des huiles essentielles d ' <i>Eucalyptus globulus et Artemisia arborescens</i> sur la Souche d ' <i>E. Coli</i>	42
Figure 20 : action des huiles essentielles d ' <i>Eucalyptus globulus et Artemisia arborescens</i> sur la souche <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Figure 21 : action des huiles essentielles d ' <i>Eucalyptus globulus et Artemisia arborescens</i> sur la souche <i>Salmonella typhiriuem</i>	43
Figure 22 : action des huiles essentielles d ' <i>Eucalyptus globulus et Artemisia arborescens</i> sur la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43
Figure 23 : action des huiles essentielles d ' <i>Eucalyptus globulus et Artemisia arborescens</i> sur la souche <i>Staphylococcus epidermidis</i>	44

LISTES DES FIGURES

Figure 24 : action des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus et Artemisia arborescens sur la souche <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	44
Figure 25 : action des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus et Artemisia arborescens sur la souche <i>Aspergillus brasiliensis</i>	44
Figure 26 : action des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus et Artemisia arborescens sur la souche <i>Candida albicans</i>	45
Figure 27 : Zones d'inhibition moyennes (mm $\pm$ écart type) induites par le mélange des huiles essentielles (<i>Artemisia arborescens</i> et <i>Eucalyptus globulus</i>) sur les différentes souches microbiennes testées)	46
Figure 28 : pourcentage d'œdème de la patte gauche et patte droite chez des souris NMRI.....	49
Figure 29 : pourcentage de réduction d'œdème de la patte gauche et la patte droite chez les souris NMRI.....	49
Figure 30 : technique utilisée pendant l'activité anti microbienne et anti inflammatoire.....	64
Figure 31 : l'appareillage.....	65
Figure 32 : produits utilisés.....	66

LISTE DES TABLEAUX

LISTES DES TABLEAUX

Tableau 1 : la classification selon APG IV	11
Tableau 2 : Classification dans la systématique botanique APG II	18
Tableau 3 : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées.....	29
Tableau 4 : caractéristiques pour les souches fongiques.....	29
Tableau 5 : les diamètres des zones d'inhibition des souches utilisées.....	44

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES ABREVIATIONS

HE : Huile essentielles.

PEO : Plant essential oil.

ROS : espèces réactives de l'oxygène.

NO : oxyde nitrique.

LPS : Lipopolysaccharide.

INOS : la forme inductible de la synthase de l'oxyde nitrique.

MDR : Multi drug resistant

SOMMAIRE

Remerciements	I
Dédicace	I
Résumé	III
.....	III
ملخص	
Abstract	III
LISTE DES FIGURES	III
LISTES DES TABLEAUX	III
LISTE DES ABREVIATIONS	III
Introduction.....	1
Chapitre 01 : Synthèse bibliographique	4
1. Généralité sur les huiles essentielles	5
1.1 Définition et composition chimique.....	5
1.2 Définition.....	5
1.3 Composition chimique des huiles essentielles	5
a) Composés terpéniques : terpènes et terpénoïdes.....	5
b) Les composés aromatiques	7
c) Composés d'origines diverses	7
1.4 Extraction et méthodes d'obtention des huiles essentielles	7
a) Hydro distillation (ou distillation à la vapeur d'eau)	8
b) Expression à froid	8
c) Extraction par solvant.....	8
d) Extraction au CO ₂ super critique	8
1.5 Facteurs influençant la composition et l'efficacité des huiles essentielles	9
a) L'espèce et le chémotype de la plante.....	9
b) Les conditions de culture	9
c) Le stade de développement et la période de récolte	9
d) La méthode d'extraction	10
e) Le stockage	10
2. Présentation des espèces étudiées	10
2.1 Artemisia Arborescens	10

SOMMAIRE

a) Classification selon APG IV	11
b) Description botanique	12
a) Huiles essentielles	15
b) Flavonoïdes	15
c) Acides phénoliques	15
a) Propriétés anti-inflammatoires	15
b) Propriétés antimicrobiennes	16
2.2 Eucalyptus Globulus	16
a) Description botanique.....	19
a) L'Essence aromatique	21
b) Euglobals	21
3. Activité anti-inflammatoire et antimicrobienne des huiles essentielles	23
3.1 Activité antimicrobienne des huiles essentielles	23
3.2 Activité anti inflammatoire des huiles essentielles	24
Chapitre 02 : Partie expérimentale	27
1. Matériels	28
1.1 Matériel biologique	28
a) Matériel végétal	28
b) Les souris utilisées	29
c) Les souches utilisées	29
1.2 Matériel non biologique	30
2. Méthodes	30
2.1 Extraction des huiles essentielles	30
a) Entrainement à la vapeur.....	31
2.2 Préparation du mélange des huiles essentielles	31
2.3 Test de toxicité	32
3. Etude de l'activité antimicrobienne	33
3.1 Méthodes de tests (diffusion sur disque, dilution en milieu liquide...)	33
a) Repiquage des souches bactériennes	33
4. Etude de l'activité anti inflammatoire in vivo	36
4.1 Induction de l'œdème par la carraghénine	36
4.2 Mode opératoire	37
4.3 Expression des résultats	39
Chapitre 03 : Résultats et discussion	40
1. Rendement des huiles essentielles	41

SOMMAIRE

2. Activité antimicrobienne	42
2.2. Activité antimicrobienne des mélanges des huiles essentielles	45
3. Test de toxicité :	49
4. Activité anti inflammatoire.....	49
4.1 Effet des différents traitements testés.....	51
Conclusion	56
REFERENCES.....	58
Annexes	6

Introduction

L'humanité utilise depuis des milliers d'années diverses plantes présentes dans son environnement pour traiter et guérir un large éventail de maladies. Ces plantes sont un vaste réservoir de composés potentiels liés à des métabolites secondaires, qui ont l'avantage de posséder une grande variété de structures chimiques et un large éventail d'activités biologiques.

L'évaluation de ces activités reste une tâche très fascinante qui pourrait susciter l'intérêt de plusieurs études (Lhuillier, 2007).

L'Algérie est connue par sa diversité d'espèces de plantes médicinales et aromatiques, dont la plupart existent spontanément et sont largement utilisées dans tous les terroirs du pays. Cependant, malgré les 3000 espèces de la flore algérienne appartenant à plusieurs familles végétales, dont 15% sont endémiques, il existe encore peu d'explorations au niveau Phytochimique et pharmacologique. (Mecheri ;2023)

Les huiles essentielles extraites d'*Artemisia arborescens* et d'*Eucalyptus globulus* sont largement étudiées pour leurs activités biologiques remarquables. L'huile essentielle d'*A. arborescens* est principalement riche en cétones mono terpéniques (notamment l'*Artemisia* cétone, la thuyone et le camphre), qui lui confèrent des propriétés antimicrobiennes, antifongiques et anti-inflammatoires puissantes (Tigrine-Kordjani et al., 2010). Toutefois, la thuyone est connue pour sa neurotoxicité potentielle, notamment à fortes doses ou après une exposition prolongée ; elle peut provoquer des effets indésirables tels que des convulsions ou des troubles neurologiques, ce qui limite son usage thérapeutique sans contrôle strict (Pelkonen et al., 2013). De son côté, *Eucalyptus globulus*, riche en 1,8-cinéole (eucalyptol), présente également une activité antibactérienne, notamment contre des souches telles que *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, en plus de son effet reconnu comme anti-inflammatoire et expectorant (Zoubiri et al., 2014). Plusieurs études ont mis en évidence un effet synergique entre différents composés volatils de ces huiles, amplifiant ainsi leur efficacité contre des pathogènes microbiens ou dans la modulation de l'inflammation (Boudarene et al., 2017).

Dans cette optique, le mélange des huiles essentielles d'*Artemisia arborescens* (famille des Asteraceae) et d'*Eucalyptus globulus* (famille des Myrtaceae) constitue un exemple pertinent d'association visant à exploiter un effet synergique. L'huile d'*A. arborescens*, riche en cétones telles que la thuyone, et celle d'*E. globulus*, connue pour sa

forte teneur en eucalyptol (1,8-cinéole), possèdent individuellement des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes bien établies. Leur combinaison pourrait conduire à une potentialisation de l'activité biologique, notamment dans le cadre de la lutte contre les inflammations et certaines souches pathogènes, tout en réduisant la toxicité potentielle liée à une dose élevée d'un seul composant

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'effet anti-inflammatoire et antimicrobien du mélange des huiles essentielles *d'Artemisia arborescens* et *d'Eucalyptus globulus*, extraites par entraînement à la vapeur d'eau. Ce mélange a été choisi en raison des propriétés pharmacologiques reconnues de chacune de ces huiles, et dans le but de mettre en évidence un éventuel effet synergique entre leurs composés bioactifs. L'étude vise également à comparer l'efficacité de ce mélange à celle d'un traitement de référence (diclofénac) et à différentes concentrations, afin de déterminer la dose optimale présentant la meilleure activité biologique tout en minimisant les risques de toxicité, notamment liés à la présence de la thuyone. Ce travail s'inscrit dans une perspective de valorisation des ressources végétales locales comme alternatives naturelles aux agents anti-inflammatoires de synthèse. Le mémoire est structuré en trois parties principales :

- La première partie est dédiée à une synthèse bibliographique, qui présente les caractéristiques botaniques, chimiques et biologiques des deux espèces étudiées, ainsi que les applications thérapeutiques connues de leurs huiles essentielles
- La deuxième partie concerne la description du matériel et des méthodes, englobant le matériel biologique utilisé, ainsi que les techniques expérimentales adoptées.
- La troisième partie est consacrée à la présentation, l'analyse et la discussion des résultats obtenus lors de l'étude expérimentale.

Chapitre 01
Synthèse
bibliographique

1. Généralité sur les huiles essentielles

1.1 Définition et composition chimique

1.2 Définition

Les huiles essentielles (HE) résultent de la combinaison complexe de substances volatiles, odorantes et lipophiles provenant de plantes aromatiques. Elles sont habituellement obtenues par hydro distillation, distillation à la vapeur d'eau ou pression à froid pour les zestes d'agrumes. Elles sont localisées dans des endroits spécifiques, tels que les glandes sécrétrices, les poches ou les canaux excréteurs des plantes (Bakkali et al., 2008)

Les huiles essentielles, identifiées par leur appellation latine correspondant à l'espèce botanique, se caractérisent par leur couleur, leur arôme, leur densité et leur chémotype (familles biochimiques). Chacune présente des attributs sensoriels et pharmacologiques distincts, influencés par la partie de la plante exploitée (racines, feuilles, fleurs ou graines), le procédé d'extraction (distillation à la vapeur d'eau ou expression) et, surtout, le chémotype, c'est-à-dire la composition en principes actifs qui conditionne leurs effets physiologiques principaux (Ben Miri, 2025).

1.3 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles constituent des mélanges complexes de molécules volatiles, principalement issues de deux grandes familles chimiques selon leur origine biogénétique : les composés terpéniques — comprenant les terpènes et leurs dérivés oxygénés — et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. On y retrouve également, en faibles proportions, d'autres substances comme les alcools, aldéhydes, cétones et esters. L'ensemble de ces composés se distingue par un faible poids moléculaire, ce qui leur confère leur caractère volatil et leur permet de diffuser facilement dans l'air. (Bruneton.1999)

a) Composés terpéniques : terpènes et terpénoïdes

Les terpènes sont une classe de molécules organiques, qui représentent l'une des plus grandes classes de produits naturels avec de larges fonctions écologiques en tant que

chimioattractants, éléments de base biochimiques, antimicrobiens et insecticides et présentent d'autres actions défensives unites dans la molécule : héli-terpènes, monoterpènes, diterpènes, sesquiterpènes, etc.

Les terpènes sont en grande partie responsables des arômes et des saveurs riches et diversifiés de) le myrcène étant fréquemment abondant (singh et Sharma,2015). Chimiquement, les terpènes peuvent être classés en fonction du nombre d'unités isoprène C_5H_8 « figure 1 » matière végétale de cannabis, en particulier des fleurs femelles et représentent environ 0,8 % à 2 % du poids sec (Aizpurua-Olaizola et al., 2016 ; Hazekamp et al.,2016). Ces hydrocarbures volatils naturels comprennent principalement deux sous-classes chimiques : les monoterpènes et les sesquiterpènes

Les terpénoïdes, également appelés isoprénoïdes, sont des dérivés des terpènes dont la structure est modifiée par l'ajout de groupes fonctionnels tels que des alcools, aldéhydes, cétones, esters ou oxydes, ce qui les classe dans différentes familles chimiques (Dewick, 2009)

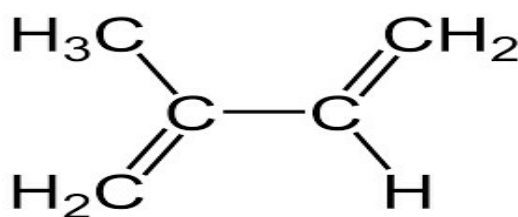


Figure 1 : structure d'isoprénoïdes.

Voici quelques constituants majeurs qu'on retrouve fréquemment dans les huiles essentielles, classés selon leur famille chimique (Bakkali F. et al. (2008) :

- ✓ **Monoterpènes ($C_{10}H_{16}$)** : Hydrocarbures volatils simples, très répandus dans les huiles essentielles. Exemples :
 - **Limonène** (présent dans l'huile essentielle d'orange douce).
- ✓ **Sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$)** : Hydrocarbures volatils simples, très répandus dans les huiles essentielles. Exemples :
 - **α -pinène** (dans l'huile de pin, eucalyptus).
- ✓ **Alcools terpéniques** : Possèdent souvent des propriétés antimicrobiennes et cicatrisantes.

Exemples :

- **Linalol** (dans le lavandin, la lavande vraie)
- ✓ **Aldéhydes aromatiques ou aliphatiques** : Molécules très odorantes, parfois irritantes.

Exemples :

- **Citral** (dans la citronnelle, le lemon-grass).
- ✓ **Cétones** : Actives, parfois neurotoxiques à forte dose, mais utiles à faible dose.

Exemples :

- **Menthone** (dans la menthe)
- ✓ **Esters** : Odeur douce et propriétés calmantes. Exemples :
 - **Acétate de linalyle** (lavande)
- ✓ **Oxydes** : Propriétés expectorantes et décongestionnantes. Exemple :
 - **1,8-cinéole (eucalyptol)** : très présent dans l'eucalyptus, le romarin, le laurier.

b) Les composés aromatiques

Les composés aromatiques, issus du phénylpropane, sont généralement présents en quantités moindres comparés aux terpènes et à leurs dérivés oxygénés. Les formes les plus fréquemment rencontrées dans cette catégorie sont les allylphénols et les propenylphénols (Dewick, 2009)

c) Composés d'origines diverses

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances volatiles produites par les plantes. Bien qu'elles soient principalement constituées de composés terpéniques (monoterpènes et sesquiterpènes), elles peuvent également contenir une grande variété de molécules d'origine diverse telles que des alcools, des cétones, des esters, des aldéhydes, des phénols, ainsi que des composés azotés et soufrés. Cette diversité chimique contribue à la richesse de leurs propriétés biologiques, notamment antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydantes et antifongiques (Shao et al., 2020 ; Bakkali et al., 2008)

1.4 Extraction et méthodes d'obtention des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits naturels obtenus à partir de plantes aromatiques, riches en composés volatils. Leur extraction nécessite des méthodes spécifiques adaptées à la nature de la plante et à la stabilité des constituants. Ces méthodes visent à préserver les

propriétés physico-chimiques et biologiques des composés actifs présents dans les huiles essentielles. (Bakkali et al., 2008)

a) Hydro distillation (ou distillation à la vapeur d'eau)

La méthode d'hydro distillation est la plus ancienne et la plus largement utilisée. Elle consiste à faire passer de la vapeur d'eau à travers les parties de la plante contenant des glandes sécrétrices d'huile essentielle. La vapeur entraîne les composés volatils qui sont ensuite condensés. Le mélange obtenu se sépare en deux phases : une phase aqueuse et une phase huileuse (l'huile essentielle), grâce à la différence de densité. Cette technique est particulièrement adaptée aux plantes telles que la lavande, le romarin ou l'eucalyptus. (Guenther, 1972 ; European Pharmacopoeia, 2020)

1.5 Facteurs influençant la composition et l'efficacité des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles n'est jamais totalement fixe. Elle dépend de nombreux facteurs internes et externes qui peuvent modifier significativement leur efficacité biologique et leurs propriétés thérapeutiques. Ces variations doivent être bien prises en compte, notamment lors des études pharmacologiques ou en usage industriel. (Bakkali et al., 2008).

a) L'espèce et le chémotype de la plante

- i. Chaque plante peut produire plusieurs types d'huiles essentielles selon son chémotype, c'est-à-dire sa composition dominante en molécules actives. Par exemple, *Thymus vulgaris* peut produire une huile riche en thymol, en carvacrol ou en linalol, selon les conditions génétiques et environnementales. Ces différences influencent fortement l'activité antimicrobienne ou anti-inflammatoire des huiles. (Piccaglia & Marotti, 1993)

b) Les conditions de culture

- i. Des facteurs comme la nature du sol, l'ensoleillement, la température, l'altitude ou encore les pratiques agricoles (engrais, irrigation, traitements chimiques) influencent la biosynthèse des métabolites secondaires. Par conséquent, la quantité et la qualité des huiles essentielles peuvent varier d'une région à une autre, voire d'un champ à un autre. (Chemat et al., 2012).

c) La méthode d'extraction

Comme mentionné précédemment, le choix de la méthode d'extraction influence non seulement le rendement, mais aussi la qualité de l'huile essentielle obtenue. Une distillation prolongée peut entraîner la dégradation de certains composés thermosensibles, tandis que l'extraction par CO₂ supercritique préserve mieux les molécules actives. (Chemat et al. 2012) **e) Le stockage**

La lumière, l'oxygène, l'humidité, la température et la durée de conservation peuvent altérer les huiles essentielles. Une mauvaise conservation entraîne l'oxydation ou l'évaporation de certains constituants volatils, réduisant ainsi l'efficacité et la sécurité d'utilisation de l'huile. (Burt, 2004)

2. Présentation des espèces étudiées

2.1 *Artemisia Arborescens*

Artemisia arborescens (L.) est une espèce aromatique de la famille des Asteraceae, largement distribuée dans le bassin méditerranéen. Elle est reconnue pour sa richesse en composés volatils, notamment les cétones et les monoterpènes oxygénés, qui lui confèrent des propriétés biologiques intéressantes, telles que des activités antimicrobienne, antioxydante et antiinflammatoire (Abderrahim et al, 2010)

2.1.1 Habitat

Artemisia arborescens (L.) est une espèce méditerranéenne qui trouve en Algérie un habitat favorable dans plusieurs régions littorales et sublittorales. Elle pousse principalement sur les sols calcaires, rocailloux et bien drainés, souvent dans les maquis, les garrigues, ainsi que sur les falaises côtières. Cette espèce est bien adaptée aux conditions

climatiques semiarides à tempérées, caractérisées par des hivers doux et humides et des étés chauds et secs. En Algérie, elle est présente notamment dans les régions du Tell, y compris les zones côtières comme Tipaza, Oran, Mostaganem, ainsi que dans certaines parties de l'Atlas tellien (Quézel et al., 1962 ; Meddour et al., 2016). *Artemisia arborescens* préfère les expositions ensoleillées et peut supporter des conditions édaphiques pauvres, ce qui explique sa présence sur les terrains pierreux et escarpés.

2.1.2 Nomenclature et systématique

Cette plante, que l'on retrouve sur les collines, les falaises en bord de mer, dans les forêts denses ainsi que sur les terrains rocheux, est couramment appelée "**Chadjret Meriem**" ou "**Echiba**" dans le langage populaire algérien (Abderrahim et al., 2019). Au Liban, elle est connue sous différents noms tels que "**Daqn al-Sheikh**", "**Shaybah**" et "**Rihan Abyad**". Les anglophones l'appellent généralement « **Absinthe Arborée**" ou "**Armoise Arborée**" (Beyrouthy et al., 2011).

a) Classification selon APG IV

D'après le système de classification phylogénétique du groupe **Angiosperme Phylogeny Group IV (APG IV, 2016)**, basé sur des informations moléculaires provenant de l'ADN chloroplastique et nucléaire, voici la classification actuelle d'*Artemisia arborescens*. APG IV (2016).

Tableau 1 : la classification selon APG IV

Rang taxonomies	Classification
Domaine	Eukaryota
Règne (royaume)	Plantae
Clade 1	Angiospermes (plantes à fleurs)
Clade 2	Eudicotylédones (Eudicots)
Clade 3	Core Eudicots
Clade 4	Asterids
Clade 5	Campanulids (Euasterids II)

Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae (Compositae)
Sous- Famille	Asteroideae
Tribu	Anthemideae
Genre	Artemisia
Espèce	<i>Artemisia arborescens</i> L.

b) Description botanique

Artemisia arborescens (L.) est un arbuste vivace, appartenant à la famille des Asteraceae, pouvant atteindre une hauteur de 0,5 à 2 mètres. Il présente un port buissonnant dense, avec une teinte argentée caractéristique due à la présence de poils fins qui recouvrent toute la plante, conférant à l'ensemble un aspect soyeux et pubescent (Lamarck, & De Candolle. 1805). « Figure 2 »



Figure 2 : la plante d'*Artemisia Arborescens*

Les feuilles, alternes, sont profondément divisées, deux à trois fois pennatiséquées, de couleur gris-vert à argentée. Elles dégagent une forte odeur aromatique lorsqu'elles sont froissées, une caractéristique typique des espèces du genre *Artemisia* (TABBI & BENHAMED. 2022). « Figure 3 »



Figure 3 : les feuilles d'*Artemisia Arborescens*

Les tiges d'*Artemisia arborescens* sont ligneuses à la base, devenant progressivement herbacées vers le sommet. Elles sont striées et couvertes de poils soyeux, contribuant à la texture générale de la plante (Azzouz & Belhamra. 2015). « Figure 4 »



Figure 4 : les tiges d'*Artemisia Arborescens*.

La floraison produit de petits capitules globuleux de couleur jaune pâle, regroupés en panicules lâches. Chaque capitule est composé de fleurs tubulées hermaphrodites au centre, entourées de fleurs femelles périphériques, ce qui est typique des Asteraceae (Lallemand, 2003). Cette espèce est généralement reconnaissable grâce à ses feuilles profondément découpées et son aspect argenté caractéristique « Figure 5 »



Figure 5 : fleurs d'*Artemisia arborescens*.

2.1.3 Utilisation traditionnelle d'*Artemisia arborescens*

Artemisia arborescens, ou armoise arborescente, est une plante médicinale largement utilisée dans les pratiques traditionnelles de guérison, notamment dans les régions méditerranéennes et d'Afrique du Nord. En plus de ses applications pour les troubles digestifs et anti-inflammatoires, cette plante est employée de manière diverse dans les médecines populaires pour ses multiples effets thérapeutiques.

- ✓ **Traitement des troubles respiratoires :** *Artemisia arborescens* est utilisée traditionnellement pour traiter les affections respiratoires telles que la toux, la bronchite, et l'asthme. En infusion, elle est administrée pour ses propriétés expectorantes, qui aident à dégager les voies respiratoires. Cette utilisation s'explique par la présence de composés aromatiques qui favorisent l'élimination des mucosités (Serralheiro. Et al.,2014). Des fumigations à base de la plante sont

également employées pour désinfecter l'air et soulager les symptômes respiratoires (Boughedir, et al.,2015).

- ✓ **Usage dans le traitement des troubles menstruels** : Les propriétés antispasmodiques d'*Artemisia arborescens* sont également utilisées pour traiter les troubles menstruels chez les femmes. En infusions ou en décoctions, la plante est employée pour soulager les crampes abdominales et les douleurs menstruelles, notamment grâce à son action de relaxation sur les muscles lisses de l'utérus (Benkhniue, et al.,2016). Elle est aussi utilisée pour réguler le cycle menstruel et pour traiter les rétentions de fluides et les gonflements.

2.1.4 Composition chimique

Artemisia arborescens est riche en divers composés bioactifs, principalement des huiles essentielles, des flavonoïdes, des acides phénoliques et des terpènes. La composition chimique de cette plante varie en fonction de son environnement et des méthodes d'extraction utilisées.

Cependant, plusieurs études ont permis d'identifier les principaux composants actifs de ses extraits.

a) Huiles essentielles

Artemisia arborescens contient une huile essentielle à forte teneur en mono terpènes et sesquiterpènes, dont le principal composé est le 1,8-cinéole (eucalyptol), suivi du camphre, de l'alpha-thujone et de la bêta-thujone. Ces composants sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante et de ses propriétés médicinales, telles que l'activité antimicrobienne et anti-inflammatoire (Lahlou ;2004) et (Dudai et al.,2002) **b) Flavonoïdes**

La plante est également riche en flavonoïdes, comme la quercétine, le kaempférol et la rutin. Ces composés possèdent des propriétés anti oxydantes et anti-inflammatoires, et contribuent à la protection cellulaire contre les dommages oxydatifs. (Zargari, 1992) **c) Acides phénoliques**

Artemisia arborescens contient des acides phénoliques tels que l'acide rosmarinique

et l'acide caféique, qui possèdent également des propriétés anti oxydantes et anti-inflammatoires. Ces acides sont souvent impliqués dans les mécanismes de défense de la plante (Boudjelal ; et al 2014)

2.1.5 Propriétés pharmacologiques

a) Propriétés anti-inflammatoires

Artemisia arborescens a montré des effets anti-inflammatoires dans plusieurs études grâce à ses extraits de feuilles et à ses huiles essentielles. Ces effets sont principalement dus à la présence de composés phénoliques, comme l'acide rosmarinique et l'acide caféique, ainsi qu'à des flavonoïdes tels que la quercétine et le kaempférol, qui sont bien connus pour leurs capacités à réduire l'inflammation en inhibant les médiateurs inflammatoires (Lahlou,2004), Boudjelal, et al. 2014).

Les extraits d'*Artemisia arborescens* ont montré une réduction significative des niveaux de prostaglandines et des cytokines inflammatoires comme le **TNF- α** et l'**IL-1 β** , des marqueurs importants dans les processus inflammatoires. Ces propriétés sont souvent attribuées à l'action synergique de ses composants bioactifs (Nouri, et al.,2016)

b) Propriétés antimicrobiennes

L'activité antimicrobienne d'*Artemisia arborescens* a été largement documentée, notamment grâce à ses huiles essentielles. Les études montrent qu'elles possèdent une activité notable contre une large gamme de micro-organismes, notamment des bactéries Grampositives et Gram-négatives, ainsi que des champignons et des levures.

Les principaux composés responsables de cette activité sont les mono terpènes comme le 1,8-cinéole (eucalyptol), le camphre, ainsi que les sesquiterpènes. Ces composés agissent en altérant la membrane cellulaire des micro-organismes, ce qui les rend plus vulnérables à l'attaque d'autres agents antimicrobiens (Dudai, et al. (2002) ; Bouyahya, et al. 2018)).

Les extraits d'*Artemisia arborescens* ont montré des effets antimicrobiens particulièrement efficaces contre des pathogènes tels que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Candida albicans* (Zargari .1992). Les propriétés antifongiques et antibactériennes sont d'autant plus intéressantes pour leur potentiel dans le développement de nouveaux

médicaments naturels contre les infections résistantes aux antibiotiques (Gershenzon & Croteau.1995).

2.2 *Eucalyptus Globulus*

L'*Eucalyptus*, qui fait partie de la famille des Myrtaceae, est une famille de plantes dicotylédones. Ces dernières, généralement oléagineuses et constituant à la fois des arbres et des arbustes, se développent principalement en Australie. Parmi les genres que l'on peut mentionner : *Eucalyptus* (Bruneton, 1999), les genres sylvestres à l'échelle mondiale incluent approximativement 600 à 700 espèces et taxons (Warot, 2006). L'*Eucalyptus*, une espèce largement cultivée et en pleine expansion dans de nombreux pays, a connu une propagation rapide en Algérie entre 1860 et 1870 (Daroui, 2012). C'est un élément adéquat pour la production de papier (Takahashi, 2004).

2.2.1 Habitat

Les *Eucalyptus* ou genre *Eucalyptus* sont des arbres à feuilles persistantes de la famille des myrtacées. L'espèce *Eucalyptus globulus* est originaire du continent australien, on la retrouve aussi spontanément en Nouvelle Guinée et dans plusieurs îles de l'archipel indonésien. Elle fait partie de nombreuses espèces qui ont été introduites dans divers pays, y compris dans le sud de la France. (Rombi et Robert., 2007)

Introduite en Algérie en 1854, l'*Eucalyptus* se propage jusqu'aux régions les plus arides (quasi désertiques) et même sur les côtes humides (BELOUED, 1998). Il est capable de supporter le froid et de se développer sur des terrains secs, siliceux calcaires, humides ou argileux, salins ou pas, à proximité ou à distance de la mer (MERROUCHE et al, 2016).

2.2.2 Utilisation traditionnelle

L'*Eucalyptus globulus* a de nombreuses applications :

- ✓ **Application médicale** : il sert d'antiseptique et d'antifongique, et dans certaines situations de maladies abdominales (Baba Issa, 2000).
- ✓ **Applications comestibles** : les graines renferment près de 55% d'huile, ce qui procure un avantage considérable. Huile alimentaire (Daneshard et al, 1980).
- ✓ **Autre usage** : les fruits de cet arbre sont utilisés dans des contextes culinaires et

médicinaux. Riche en huile de densité active, il sert également au tannage du cuir. Cet arbre fournit du bois et favorise l'artisanat, et différents types d'eucalyptus constituent une excellente source de fourrage. On peut également l'utiliser pour d'autres applications telles que : le traitement de la grippe et de la toux. Il est aussi employé comme antiseptique, parfum, arôme et solvant industriel. (Batish et al,2008)

2.2.3 Synonyme et nomenclature

- Synonymes : gommier bleu, *Eucalyptus globuleux*, herbe de fièvre, *Eucalyptus officinal*
- Nomenclature : On le désigne par plusieurs appellations en français, telles que : eucalyptus, arbre de la fièvre, gommier bleu ; en anglais : Blue gum tree et en arabe : kalitus (Goetz et Ghadira, 2012). Il est important de noter particulièrement ces noms. Langues vernaculaires en Algérie, notre pays : « Calitouss, le nom le plus célèbre en Algérie », Calibtus et Kafor sont des appellations fréquemment utilisées à travers diverses régions de l'Algérie (Mokaddem, 2012).

2.2.4 Classification selon APG IV

Tableau 2 : Classification dans la systématique botanique : (Daroui Mokaddem,2012).

D'après la classification scientifique APG II :

Règne	Classification
Embranchment	Spermatophyte
S /s embranchment	Angiosperme
Class	Eudicote
Sous-classe	Rosides
Ordre	Myrtale
Genre	Eucalyptus
Espèce	Globulus

Noms communs	Gommier, Gommier bleu, Arbre au Koala, Arbre à la fièvre (Winter, 2015),
Nom vernaculaire	شجرة الكينا وتيلاكس : Arabe Français : <i>Eucalyptus globulus</i> Kalytous (Kesbi, 2011)

a) Description botanique

L'*Eucalyptus globulus* est un arbre pouvant atteindre 30 à 35 mètres de hauteur, doté d'un tronc droit, lisse et de couleur grisâtre. Il présente des branches également dressées (Metro, 1970).

- ✓ **Les feuilles** : Les jeunes feuilles, de couleur bleuâtre, sont disposées en face l'une de l'autre et étroitement fixées à la tige.

Les feuilles adultes de cette plante sont d'un vert profond, disposées en alternance et retombantes (Metro, 1970). (Figure 6)



Figure 6 : Les feuilles d'Eucalyptus globulus

- ✓ **Les fleurs :** Ces plantes possèdent un grand nombre d'étamines qui peuvent présenter des teintes blanches, crème, jaunes, roses ou rouges. Initialement, les étamines sont contenues dans un boîtier scellé par un opercule créé par la fusion des pétales et des sépales. Les opercules peuvent présenter diverses formes, même pour un sujet identique. Quand les étamines se développent elles s'épanouissent pour donner naissance à la fleur suite à l'ouverture des opercules (Metro, 1970). (Figure 7)



Figure 7 : Les fleurs d'Eucalyptus globulus

- ✓ **Les fruits** : Les fruits mûrs présentent une forme conique, sont secs et de teinte brunâtre. Ils possèdent aussi des valves qui s'ouvrent pour libérer les graines lorsqu'elles tombent au sol (Metro, 1970) (Figure 8)



Figure 8 : Les fruits d'Eucalyptus globulus

- ✓ **Les racines** : La plupart des eucalyptus possèdent également des organes de sauvegarde souterrains appelés lignotubes. Ces lignotubes se présentent sous forme de renflements à la base du collet racinaire ; ce sont des massifs cellulaires indifférenciés contenant des réserves glucidiques comme l'amidon (Nelon, 1968).

2.2.5 Composition chimique

Comme pour la majorité des espèces du genre, les recherches publiées se sont principalement concentrées sur l'huile essentielle extraite des feuilles. On remarque également la présence d'une B-dicétone à chaîne longitudinale aux caractéristiques antioxydantes, de triterpènes issus de l'acide ursolique, de tanins galliques, de proanthocyanidols, ainsi que des composés polys phénoliques et des terpénoïdes aromatiques : les euglobal. (Rombi et Robert. 2007)

a) L'Essence aromatique

Sa proportion fluctue entre 0,5 et 3,5 %. Lorsque le 1,8-cinéole (ou eucalyptol) constitue plus de 70% de la composition, il est généralement associé à une centaine d'autres composants terpéniques : des carbures et des alcools monos terpéniques, des sesquiterpènes, des cétones et des esters, ainsi que des hydrocarbures.

Les taux peuvent fluctuer : ils peuvent varier de traces à 12 % pour le limonène, 9 % pour l' α -pinène, moins de 1,5 % pour le B-pinène et l' α -phellandrène, moins de 0,3 % pour le sabinène et moins de 0,1 % pour le camphre.

L'huile essentielle non rectifiée contient des aldéhydes aliphatiques. Polyphénols. Outre les acides-phénols ordinaires (comme l'acide gallique, gentisique, caféique, férulique...), un certain nombre de flavonoïdes sont identifiés : des hétérosides de flavonols (tels que le rutoside, le quercitroside et l'hypéroside) ainsi que des esters de flavones méthylées présents dans la cire épicuticulaire.

b) Euglobals

Ces composés benzo-tétrahydropyraniques ou dihydroxanthéniques, principalement présents dans les bourgeons, sont le résultat d'une cycloaddition entre une acétogénine dialdéhydrique de type phloroglucinol et un mono- ou sesquiterpène (comme les phellandrènes, le sabinène, le bicyclo-germacrène). On trouve parmi ces structures l'euglobal G1, le macrocarpal A et l'eucalyptone. (Rombi et Robert. 2007)

2.2.6 Propriétés pharmacologiques

Depuis l'antiquité, les huiles essentielles (HE) d'*Eucalyptus globulus* ont été employées comme traitement, en particulier pour combattre les affections respiratoires. Elles possèdent de multiples vertus thérapeutiques : antipyrétiques, antiseptiques, astringentes et hémostatiques, antiparasitaires, antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires et antitumorales (Boukhatem et al, 2017 ; Salehi et al, 2019). Par ailleurs,

elles peuvent être utilisées pour la conservation des aliments ou comme insecticide biologique contre les moustiques et les mouches domestiques (Koziol, 2015). En cas de brûlures ou blessures, ces dernières peuvent favoriser la guérison, aidé à refermer les plaies et contribuer aussi à apaiser les douleurs musculaires et rhumatismales (Koziol, 2015). Elles sont également employées, en tant que purificateur d'air dans les hôpitaux pour lutter contre les infections nosocomiales et les contaminations par voie aérienne (Boukhatem et al, 2017). Dans les affections respiratoires et bronchiques, lorsque l'HE parvient aux poumons, elle stimule les cellules sécrétrices pulmonaires, apaise l'irritation au niveau des zones réflexogènes, atténue la toux et joue un rôle d'expectorant et de mucolytique (Wichtl et Anton, 2003).

3. Activité anti-inflammatoire et antimicrobienne des huiles essentielles

3.1 Activité antimicrobienne des huiles essentielles

3.1..1 Généralités

Les bactéries multi résistantes (MDR) représentent un danger majeur pour la santé à l'échelle mondiale. Un grand nombre d'infections que nous rencontrons actuellement sont compliquées à soigner avec les antibiotiques actuels, qui voient leur efficacité diminuer rapidement face à l'apparition de bactéries résistantes. (Alos, 2015).

L'identification de nouveaux agents antibactériens capables de combattre les bactéries résistantes aux antibiotiques est une priorité dans le secteur de la recherche scientifique (Martinez et Baquero, 2014). Dans ce secteur, divers composés naturels issus de la végétation se sont révélés être des instruments thérapeutiques potentiellement puissants (AlvarezMartinez et al., 2020a, 2020b ; Kokoska et al., 2019). En réaction à des facteurs environnementaux tels que les assauts d'herbivores, le stress abiotique ou les interactions entre espèces, les plantes génèrent une mine de métabolites secondaires.

On attribue largement l'activité antimicrobienne des extraits végétaux à leur concentration en composés phénoliques, surtout les flavonoïdes et leurs dérivés. Ce groupe de polyphénols a la capacité d'interagir avec les bicouches lipidiques, ce qui peut altérer la fonctionnalité de la membrane plasmique. Presque tous les extraits de plantes partagent ce mécanisme. Les polyphénols, en interagissant avec les membranes plasmiques bactériennes, peuvent provoquer une multitude d'effets qui participent à leur pouvoir antibactérien. (

Daglia ,2012 et Cushnie et al.,2011)

3.1..2 Mécanismes d'action des extraits végétaux

De nombreux travaux indiquent que les extraits végétaux et les polyphénols peuvent interférer avec la structure de la membrane plasmique des bactéries, entraînant l'apparition de pores, des fuites, une charge électrique, une déviation de la polarité, un accroissement de la perméabilité, un changement de fluidité, le déplacement des protéines membranaires et d'autres manifestations qui sont à l'origine de l'effet antibactérien. Par exemple, les polyphénols comme les catéchines galloyles ont la capacité de s'insérer dans les membranes, d'arriver à une localisation au sein de la palissade lipidique et d'engendrer des modifications biophysiques significatives dans sa structure. Ces modifications peuvent bloquer la création de biofilms, limiter la sécrétion d'une portion du protéome externe et disperser l'équipement de biosynthèse de la paroi cellulaire qui est à l'origine de la résistance aux antibiotiques bêtalactamines (Palacios et al, 2014). Les polyphénols dérivés de la mélasse de betterave sucrière pourraient provoquer des dégâts considérables à la membrane cytoplasmique bactérienne, engendrant une fuite et une dissociation de la membrane par rapport à la paroi cellulaire. Il semblerait que les actions antimicrobiennes des polyphénols qui agissent sur les membranes se concentrent sur la perturbation de la membrane plasmique due à l'accumulation de groupes hydroxyle.

L'accumulation entraîne une modification de l'hydrophobicité et de la charge superficielle de la membrane, ce qui provoque la ségrégation des lipides, des ruptures locales, la formation de pores et des fuites, parmi d'autres effets perturbateurs. (Borges et al., 2013; Chen et al., 2017; Taguri et al., 2004).

3.2 Activité anti inflammatoire des huiles essentielles

3.2..1 Généralités

L'inflammation est un mécanisme immunitaire sophistiqué qui se déclenche en tant que réaction défensive lorsque l'organisme est assailli par différents agents inflammatoires, comme les infections virales et bactériennes, les éléments physico-chimiques et les objets étrangers. Selon (Chen et al. (2018), l'inflammation se manifeste par des symptômes tels que la rougeur, le gonflement, la production de chaleur, la douleur corporelle, le

dysfonctionnement localisé et le syndrome de réponse inflammatoire systémique (qui comprend notamment la fièvre et la leucocytose).

Ainsi, on considère généralement l'inflammation comme un processus défensif naturel qui accroît la capacité de l'organisme à résister aux maladies (Medzhitov, 2010). Toutefois, la réaction inflammatoire comprend généralement une suite de mécanismes cellulaires et moléculaires, comme la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires et la production d'espèces réactives à l'oxygène (ROS).

Une inflammation non contrôlée peut altérer l'équilibre habituel entre les réactions cellulaires et les événements moléculaires. Les cellules immunitaires sont constamment activées par les cytokines qui circulent dans l'organisme. L'inflammation aiguë a le potentiel de se transformer en inflammation chronique et est liée à une augmentation des risques de plusieurs pathologies, y compris le cancer, les affections cardiovasculaires et le diabète (Chen et al., 2018).

L'usage prolongé de médicaments anti-inflammatoires, comme l'aspirine et l'ibuprofène, peut avoir plusieurs répercussions sur les fonctions physiologiques normales des tissus sains, dont le système digestif, le système circulatoire, les os et les reins. Ces effets demeurent une source d'inquiétude importante.

Les huiles essentielles végétales (**PEO : plant essentiel oïl**) obtenues à partir de fleurs, de feuilles, de tiges et de fruits renferment des terpènes, des lipides, des aldéhydes, des alcools ainsi que d'autres éléments. Les PEO sont couramment employées dans les domaines de la médecine et de la santé, et ce pour diverses raisons telles que leurs propriétés antibactériennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, antitumorales, entre autres

3.2..2 Mécanismes d'action des extraits végétales :

Des recherches *in vivo* ont identifié les gènes cruciaux et les processus moléculaires liés aux effets anti-inflammatoires et antidouleur des PEO.

Toutefois, peu d'essais cliniques ont examiné les effets anti-inflammatoires et analgésiques des PEO. Voici les contraintes que présente la réalisation d'essais cliniques :

PEO contiennent des éléments bioactifs distincts et des facteurs tels que l'emplacement, la variété, la croissance et les conditions d'extraction influencent le profil bioactif des PEO. Par exemple, l'huile essentielle extraite de *Lavandula angustifolia* Mill.

Récoltée au début de la période de floraison pourrait inhiber considérablement la production de cytokines pro-inflammatoires comparativement à l'huile essentielle dérivée de *Lavandula angustifolia* Mill. Prélevée en fin de cycle floral. (Pandur et al., 2021).

Les PEO freinent essentiellement l'émergence et la progression de l'inflammation par les voies ci-après :

- ✓ En diminuant l'expression de l'ARNm ou des protéines cytokiniques proinflammatoires comme l'interleukine (IL)-1 β , l'IL-6 et le Facteur de nécrose tumorale (TNF), ce qui permet de réduire l'inflammation liée à une lésion. De plus, PEO provoquent un effet anti-inflammatoire en stimulant l'expression de l'ARNm et de la protéine de cytokines anti-inflammatoires telles que l'IL-10.
- ✓ En freinant l'action de la cyclo-oxygénase (COX) et de l'oxogène liquide (LOX) dans le processus métabolique de l'acide arachidonique et en diminuant la production de dérivés de l'acide arachidonique (notamment Prostaglandines (PGL 2), cela contribue à atténuer le déclin de la réponse inflammatoire.
- ✓ Inhibe l'expression de la synthase d'oxyde nitrique (iNOS) et la tyrosinase, ou réduit l'excès des espèces réactifs d'oxygène (ROS) pour minimiser les dégâts provoqués par les radicaux libres.
- ✓ Atténue l'œdème des tissus et facilite la guérison des blessures provoquées par l'infection liée à l'inflammation.
- ✓ Intervenir sur les canaux ioniques ou d'autres réponses du système immunitaire.

L'augmentation de l'expression des cytokines pro-inflammatoires et des médiateurs inflammatoires au sein des cellules intensifie la réaction inflammatoire. L'excès des ROS libéré provoque un stress oxydatif qui perturbe la croissance, la différenciation et l'apoptose des cellules, ainsi que d'autres mécanismes de régulation physiologique. Les cellules immunitaires constamment stimulées génèrent des cytokines pro-inflammatoires et des agents inflammatoires (qui contrôlent la réaction inflammatoire via les voies de signalisation NF- κ B et protéine activée par les mitogènes kinases AMPK) et encouragent la synthèse de protéines pro-apoptotiques sur le lieu de la blessure (pour déclencher l'apoptose par le biais de la caspase3 ; la voie apoptotique par le biais de la caspase-3).

Les PEO ont un effet anti-inflammatoire en agissant sur plusieurs cibles clés des voies

de signalisation, ce qui entrave la transmission et l'escalade de la cascade inflammatoire. Les PEO sont influencées par quatre voies, y compris les voies : Récepteurs de type Toll (TLR), facteur nucléaire $\text{NF-}\kappa\text{B}$, MAPK et les voies de signalisation de l'inflammasome qui contient le domaine pyrin de la famille des récepteurs (NLRP3). Ces voies sont liées à la libération de cytokines et de médiateurs inflammatoires. Les PEO modulent la différenciation cellulaire, la prolifération et l'apoptose par le biais des voies de signalisation JAK/STAT. Ils agissent en réponse aux blessures cellulaires provoquées par l'inflammation, grâce à la voie de signalisation du facteur nucléaire érythroïde 2/élément de réponse antioxydant (Nrf-2/ARE). (Rahman et al., 2021)



Chapitre 02

Partie expérimentale

Notre travail a été effectué au sein de deux laboratoires, laboratoire d'animalerie du groupe SAIDAL-Médéa qui s'occupe de l'activité anti-inflammatoire de mélange de deux huiles essentielles. La détermination de l'activité antimicrobienne du même mélange a été réalisée au niveau

laboratoire de contrôle de qualité, département microbiologie de SAIDAL-Médéa pendant un mois.

La durée totale de notre stage s'est réalisée en de deux mois : un premier mois consacré à la recherche des huiles essentielles et à leur extraction, et un second mois effectué au sein de l'entreprise SAIDAL, où nous avons pu découvrir et initier aux pratiques industrielles et aux procédés pharmaceutiques dans le cadre de l'étude des propriétés biologiques espèces étudiées.

1. Matériels

1.1 Matériel biologique

Le matériel biologique désigne l'ensemble des éléments d'origine vivante utilisés pour l'étude, l'expérimentation, (Alberts. Et al.2014)

a) Matériel végétal

b) Les souris utilisées

Les caractéristiques des souris utilisées pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire sont citées cidessous

- **Souche:** NMRI (Naval Medical Research Institute), Souris albinos
- **Origine :** développée initialement par le Naval Medical Research Institute (USA)
- **Poids moyen :** 22g a 30g à l'âge adulte
- **Age :** 6 à 8 semaines
- **Sexe :** mâles et femelles
- **Etat de santé :** Animaux sains, exempts de pathogènes spécifiques (SPF)
- **Habitat :** Maintenu dans des cages en polypropylène, en conditions standard (température $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, humidité $50 \pm 10 \%$, cycle lumière/obscurité de 12 h/ 12 h)
- **Nourriture :** Alimentation standard pour rongeurs et eau ad libitum

c) Les souches utilisées

Les différentes souches microbiennes utilisées pour l'étude de l'activité antimicrobienne sont

montrées dans les tableaux 3 et 4

Tableau 3 : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

Famille	Espèce	Gram	Référence
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 8739
<i>Micrococcaceae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	Négatif	ATCC 14028
<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 9027
<i>staphylococcaceae</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Positif	ATCC 12228

Tableau 4 : caractéristiques pour les souches fongiques

Famille	Espèce	Référence
<i>Saccharomycetaceae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 9763
<i>Saccharomycetaceae</i>	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Trichocomaceae</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404

1.2 Matériel non biologique

2. Méthodes

2.1 Extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. La sélection de la technique la plus appropriée se réalise en tenant compte du type de matière végétale à traiter, des propriétés physicochimiques de l'essence à extraire, de l'utilisation prévue pour l'extrait et de l'arôme initial au fur et à mesure de l'extraction parmi eux la distillation par entraînement à la vapeur. (Bouacha et al.,2017).

Cette méthode a été utilisée pour les deux espèces au niveau de l'entreprise Bio. Extrapamal de Mr. Chikhi (extraction des huiles essentielles et végétales) pour l'espèce *Artemisia arborescens*, et par l'entreprise Vie bio (extraction des huiles essentielles et des huiles végétales) pour l'espèce *Eucalyptus globulus*.

a) Entraînement à la vapeur

Il s'agit de la seule distillation recommandée par la Pharmacopée française, car elle réduit au minimum les modifications hydrolytiques (en particulier celles des esters). Cette méthode n'établit pas un contact direct entre l'eau et la matière végétale à traiter de la vapeur d'eau.

Une chaudière fournit de la chaleur qui traverse la matière végétale placée au-dessus d'une grille. Lors du processus de passage de la vapeur à travers le matériau, les cellules se rompent et libèrent l'huile essentielle qui est ensuite vaporisée par la chaleur, créant ainsi un mélange d' « eau + huile essentielle ».

Le mélange est ensuite transporté vers le condenseur et l'essencier avant d'être divisé en une phase aqueuse et une phase organique. (Tlili et al.,2005)

Cette méthode repose sur l'exploitation de la gravité pour extraire et concentrer le mélange « vapeur d'eau - huile essentielle » diffusé dans la matière végétale.

2.2 Préparation du mélange des huiles essentielles

La préparation du mélange des huiles essentielles a débuté par l'élaboration d'une solution de Tween 80 à 1 %, obtenue en ajoutant 1 ml de Tween 80 à 99 ml d'eau distillée. Ce mélange a été agité soigneusement jusqu'à homogénéisation complète. Par la suite, la quantité nécessaire d'huiles

essentielles a été prélevée selon un ratio prédéfini de 90 % d'*Eucalyptus globulus* et 10 % d'*Artemisia arborescens*. Une quantité équivalente de Tween 80 a été ajoutée aux huiles essentielles afin d'améliorer leur dispersion. La solution aqueuse précédemment préparée a ensuite été incorporée progressivement, sous agitation continue, pour assurer une bonne émulsification. Une homogénéisation finale a permis d'obtenir une solution stable et uniforme. Enfin, différentes dilutions de cette préparation ont été réalisées, correspondant aux concentrations suivantes : D1=50 %, D2= 25

%, D3=12,5 %, D4=6,25 %, D5=3,125 % et D6=1,562 %. (Figure 9)



Figure 9 : Les solutions diluées

2.3 Test de toxicité

Dans le but d'évaluer la toxicité de l'huile essentielle d'*Artemisia Arborescens* un essai a été mené sur cinq souris adultes pendant 5 jour, fournies par SAIDAL, une entreprise pharmaceutique algérienne. Une administration orale unique de 0,5 ml d'huile essentielle a été effectuée (gavage). (Les figures 10-11)



Figure 10 : un lot de toxicité



Figure 11 : gavage de 0.5ml d'*Artemisia Arborescens*

3. Etude de l'activité antimicrobienne

Cette étude doit être menée dans des conditions d'asepsie rigoureuses afin de prévenir toute contamination. Par ailleurs, les équipements, les solutions et les milieux de culture doivent être stérilisés à l'autoclave. Cette étude a été réalisée pour le mélange des deux huiles essentielles à des concentrations 50/50.

3.1 Méthodes de tests (diffusion sur disque, dilution en milieu liquide...)

a) Les milieux utilisés

- Le milieu Mueller-Hinton est préparé pour le repiquage des souches bactériennes et l'évaluation de l'activité antibactérienne.
- La gélose Sabouraud, milieu sélectif pour la culture des champignons, est principalement employée pour l'isolement des dermatophytes, des levures ainsi que de divers champignons pathogènes et non pathogènes.
- Le bouillon nutritif est utilisé pour la réactivation et le maintien des souches bactériennes.

b) Repiquage des souches bactériennes

- Les différentes souches bactériennes ont été repiquées sur gélose nutritive en boîte de Pétri selon la méthode des stries, à l'aide d'une anse de platine stérile. Elles ont ensuite été incubées à 37 °C dans une étuve pendant 18 à 24 heures, permettant d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées, utilisées pour la préparation de l'inoculum bactérien.

c) Préparation d'inoculum

- Dans un premier temps, une suspension bactérienne d'opacité 0,5 McFarland a été préparée à partir de jeunes cultures pures (**18 heures**). (Figure 12)

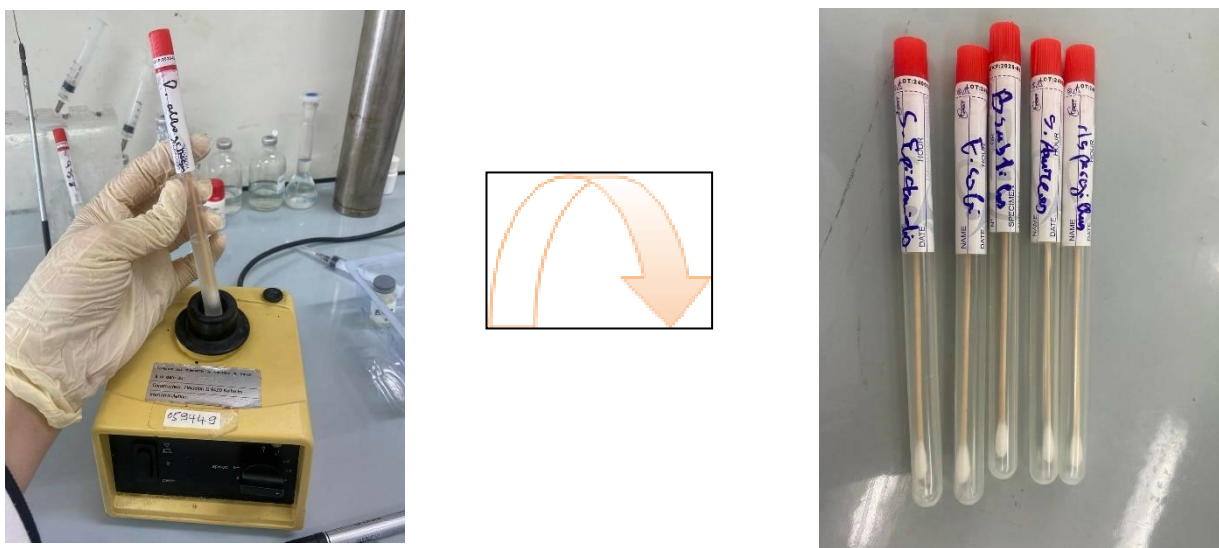


Figure 12 : préparation d'inoculum

d) Préparation des disques d'aromatogramme

- Les disques, découpés dans du papier Whatman avec un diamètre de 8 à 9 mm, sont placés dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave, puis conservés jusqu'à leur utilisation. (Figure 13)



Figure 13 : Les disques d'aromatogramme

e) Préparations d'extrait

- L'extrait a été préparé avec un mélange de deux huiles essentielles (*Artemisia arborescens* et *Eucalyptus globulus*) (Figure 14) sont réalisées à préparer avec des huiles pures selon les concentrations suivantes :
- 50% d'*Artemisia arborescens*

- 50% d'*Eucalyptus globulus*

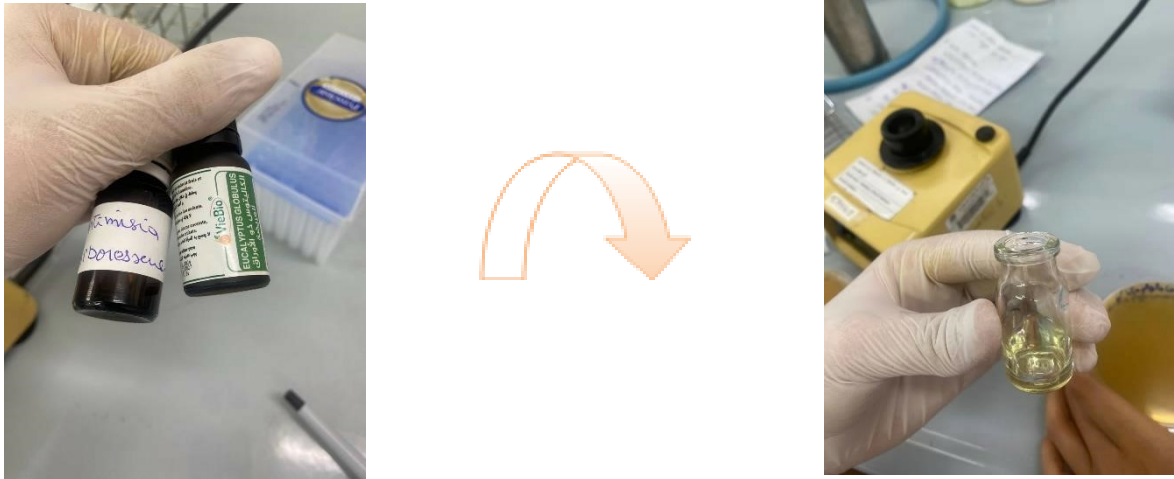


Figure 14 : Le mélange des huiles essentielles

f) Ensemencement des souches

- La culture se fait dans un milieu stérile en présence de bec benzène.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, en veillant à éviter toute contamination du manipulateur et de la paillasse.
- L'essorer en le pressant fermement contre la paroi interne du tube, en le tournant, afin d'éliminer l'excès de suspension bactérienne.
- Frotter l'écouvillon sur toute la surface de la gélose sèche, en effectuant des mouvements de haut en bas pour assurer une répartition homogène.
- Répéter l'opération trois fois en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque passage, tout en faisant pivoter l'écouvillon sur lui-même. Terminer l'ensemencement en frottant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- On trempe le disque dans l'extrait jusqu'à ce qu'il absorbe la quantité appropriée, puis on le met dans la boîte de Pétri.
- Les disques sont disposés sur la surface du milieu à l'aide d'une pince stérilisée au bec benzène (1 disque de l'extrait) pour chaque boîte de Pétri.

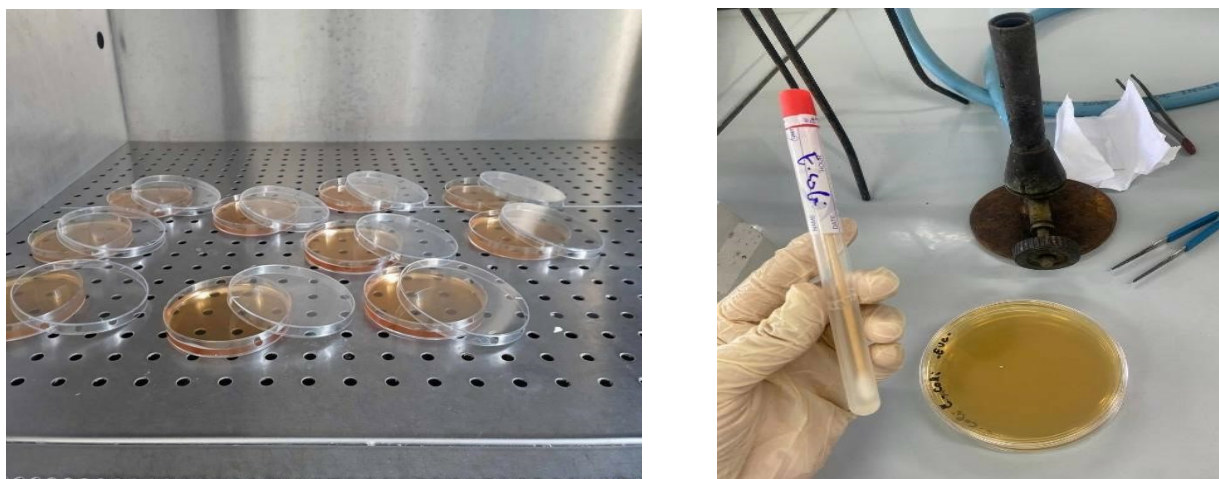


Figure 15 : ensemencement des bactéries et dépôts des disques

g) Incubation et lecture

Après incubation de 24h pour les bactéries et 48 heures pour les champignons à 37°C dans l'étuve, Les résultats sont observés, en mesurant les diamètres de la zone d'inhibition en millimètres (Boudjouref, 2011), ils ont classé les zones d'inhibitions de la croissance en cinq classes :

- $D \geq 30\text{mm}$: Très fortement inhibitrice. (Extrêmement sensible)
- $20\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$: Fortement inhibitrice. (Très sensible)
- $16\text{mm} \leq D \leq 20\text{mm}$: Modérément inhibitrice. (Sensible)
- $11\text{mm} \leq D \leq 16\text{mm}$: Légèrement inhibitrice.
- $D < 9\text{mm}$: Non inhibitrice. (Résistante). (Ponce et al., 2003)

4. Etude de l'activité anti inflammatoire in vivo

L'activité anti-inflammatoire est réalisée selon la méthode de (Winter et al, 1972). L'inflammation est induite par l'induction de l'œdème de la patte postérieure de la souris par un agent chimique qui est la carraghénine à 1 %.

4.1 Induction de l'œdème par la carraghénine

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration des

doses différentes du mélange des huiles essentielles et du produit de référence utilisé (diclofénac du SAIDAL

Médéa)

Les souris utilisées pour cette étude sont de souche NMRI (Naval Medical Research Institute) ils proviennent de l'élevage de l'animalerie du SAIDAL Médéa. Les expériences ont été réalisées chez des souris adultes, de poids compris entre 17g et 25g et ils ont été répartis au hasard en 8 lots homogènes de 3 souris, les souris ont jeuné pendant la nuit (18heures) avant l'expérimentation.

4.2 Mode opératoire

▪ Préparation de la carraghénine :

La préparation de la solution carraghénine à 1% a été faite par une dilution de 0.05g de la carraghénine dans 5ml d'eau physiologique

X 5ml d'eau physiologique

100ml d'eau physiologique

▪ On constitue 7 lots de 3 souris chacun :

➤ **T0** : On mesure pour chaque souris le volume initial (V0) de la patte postérieure.

(Figure 16)

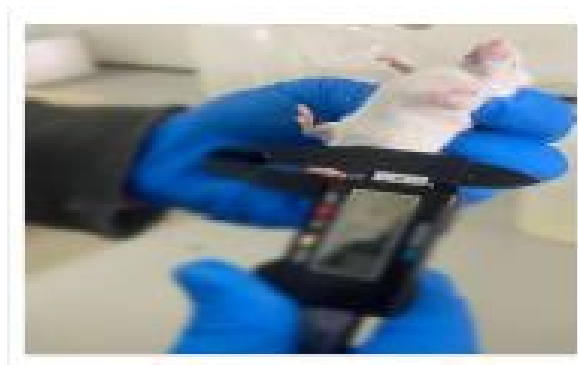


Figure 16 : mesure le volume initial de patte postérieure de souris

➤ 0.05ML de solution à 1% de carraghénine a été injecté à chaque souris sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche (Figure 17).

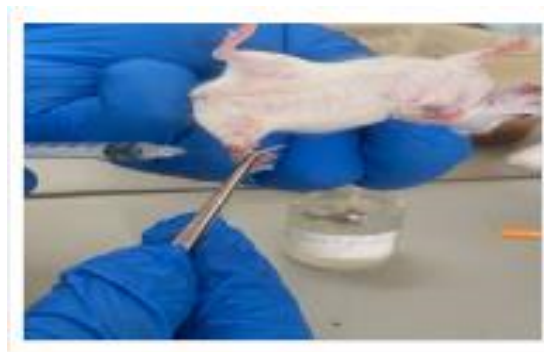


Figure 17 : injection de la carraghénine

➤ **T 30min** : les produits ont été reçus par gavage (Figure 18).



Figure 18 : Technique de gavage

- **Un lot témoin** : on reçoit l'eau distillée.
- **Un lot essai n°1** : le groupe de référence ont reçu le diclofénac 0.5ml (7.5%).
- **Un lot essai n°2** : on reçoit 0.5ml du mélange des huiles essentielles de 50% par gavage.
- **Un lot essai n°3** : on reçoit 0.5ml du mélange des huiles essentielles de 25% par gavage.
- **Un lot essai n°4** : on reçoit 0.5ml du mélange des huiles essentielles de 12.5% par gavage.
- **Un lot essai n°5** : on reçoit 0.5ml du mélange des huiles essentielles de 6.25% par gavage.
- **Un lot essai n°6** : on reçoit 0.5ml du mélange des huiles essentielles de 3.125% par gavage.

- **Un lot essai n°7** : on reçoit 0.5ml du mélange des huiles essentielles de 1.156% par gavage.

La patte postérieure droite n'est pas traitée ; elle est considérée comme témoin. L'évolution de l'œdème de la patte postérieure gauche par rapport à la patte postérieure droite a été déterminée à 15min, 30min, 45 min, 60 min après l'injection de la carraghénine (Alaoui et al, 1998).

4.3 Expression des résultats

Nous avons calculé pour chaque lot, la moyenne de l'augmentation de l'œdème selon la formule :

$$\text{Poids pate gauche (PPG)} - \text{Poids pate droite (PPD)}$$

Le pourcentage d'augmentation d'œdème permet de mettre en évidence la formation d'œdème, il est défini par la formule suivante

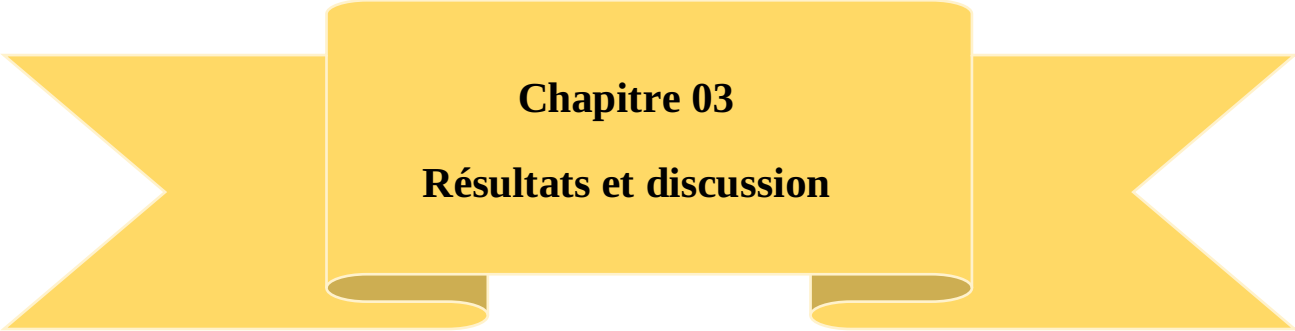
$$\% \text{d'œdème} = \left(\frac{V_t - V_0}{V_0} \right) \times 100$$

V₀ : volume ou l'épaisseur de la patte droite

V_t : volume ou l'épaisseur donné après l'injection (15 min, 30 min, 45 min et 60min)

- Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation pour chaque lot traité par les différents pourcentages du mélange et le médicament de référence, a été calculé en comparant la moyenne de l'augmentation de l'inflammation avec celle du lot témoin traité par l'eau distillée.
- Le pourcentage d'inhibition de l'inflammation est calculé selon la formule suivante reportée par (Saénz et al, 1998)

$$\% d' Inhibition = \frac{M (PPG - PPD)_{lot t \acute{e} moin} - M (PPG - PPD)_{lot trait \acute{e}}}{M (PPG - PPD)_{lot t \acute{e} moin}} \times 100$$

A large yellow ribbon graphic with a central rectangular box containing the chapter title.

Chapitre 03

Résultats et discussion

1. Rendement des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle constitue un paramètre clé pour évaluer la richesse aromatique d'une plante et sa rentabilité potentielle pour un usage thérapeutique ou industriel. Il est exprimé en pourcentage de la masse d'huile obtenue par rapport à la masse de matière végétale fraîche utilisée. Dans le cadre de cette étude, l'extraction par hydro distillation a été réalisée à partir des parties aériennes (feuilles, tiges) d'*Artemisia arborescens*, et des feuilles d'*Eucalyptus globulus* fraîches. Le rendement des huiles essentielles à partir de la partie aérienne fraîche d'*Artemisia arborescens* est de 0,54 %.

Dans certaines études, des rendements relativement élevés ont été enregistrés pour cette espèce. En effet (Kennedy et al ;2011) ont obtenu un rendement atteignant 1,2 % lors de l'extraction par entraînement à la vapeur lors du stade floraison (juin-juillet) en Crète (Grèce). De même, Lo Presti et al (2007) ont rapporté un rendement de 0,87 % pour l'espèce collecté auprès de Bejaïa (Algeria) en avril 2008. Ces résultats indiquent que, dans certaines conditions optimales, le rendement en huile essentielle peut dépasser largement les valeurs généralement considérées comme moyennes. Marongiu et al, (2004) ont montré que des échantillons récoltés en janvier au stade végétatif et en juillet-août au stade de floraison en Sicile (Italie) donnaient des rendements en huile essentielle variables (0,6–1,5 %), avec des différences marquées selon le stade

En ce qui concerne l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* le rendement obtenu à partir de feuilles fraîches, est de 2,0 %.

Ce résultat est cohérent avec les données de la littérature, qui rapportent des rendements en huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* variant généralement entre 1,0 % et 3,5 %, selon les conditions de culture, la période de récolte et la méthode d'extraction utilisée (Moura et al., 2012)

Le rendement élevé de l'*Eucalyptus globulus* peut être attribué à sa forte concentration en composés volatils, notamment le 1,8-cinéole, qui constitue le principal composant de son huile essentielle et un composé abondamment présent chez les espèces du genre *Eucalyptus* (Batish et al., 2008). De plus, la haute densité de glandes à huile situées dans les feuilles de cette espèce contribue significativement à l'efficacité de l'extraction (Figueiredo et al., 2008)

Le rendement en huile essentielle varie selon plusieurs paramètres. Par exemple, il dépend fortement des conditions de culture, de la maturité des feuilles, de la saison de récolte ainsi que de l'origine géographique (Elaissi et al., 2011).

D'autres facteurs influencent également le rendement, parmi lesquels : La nature de l'organe végétal utilisé (feuilles seules ou parties aériennes complètes) (Figueiredo et al., 2008), la fraîcheur de la matière végétale (Hajlaoui et al., 2009), Les conditions de distillation : durée, température, et type d'appareil (Boutekedjiret et al., 2003), La densité des glandes sécrétrices contenant les composés volatils (Figueiredo et al., 2008), Les conditions agro-climatiques : nature du sol, altitude, saison, et ensoleillement (Zheljzakov et al., 2012).

2. Activité antimicrobienne

2.1. Activité antimicrobienne des huiles essentielles des deux espèces étudiées

Nous avons procédé à l'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne de nos huiles essentielles sur cinq bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus epidermidis*) et trois champignons (*Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus brasiliensis*, *Candida albicans*), en utilisant la technique de l'aromatogramme.

Nous rappelons que la sensibilité au mélange des huiles essentielle a été évaluée par le diamètre des zones d'inhibition comme suit : non inhibitrice (résistante) pour le diamètre moins de 9 mm, légèrement inhibitrice (peu sensible) pour un diamètre entre 11-16 mm, modérément inhibitrice(sensible) pour un diamètre entre 16-20 mm, fortement inhibitrice (très sensible) pour un diamètre entre 20-29mm, et très fortement inhibitrice (extrêmement sensible) pour le diamètre supérieur à 30 mm

Les résultats obtenus sont montrés dans les figures 19,20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, et dans le tableau 5)

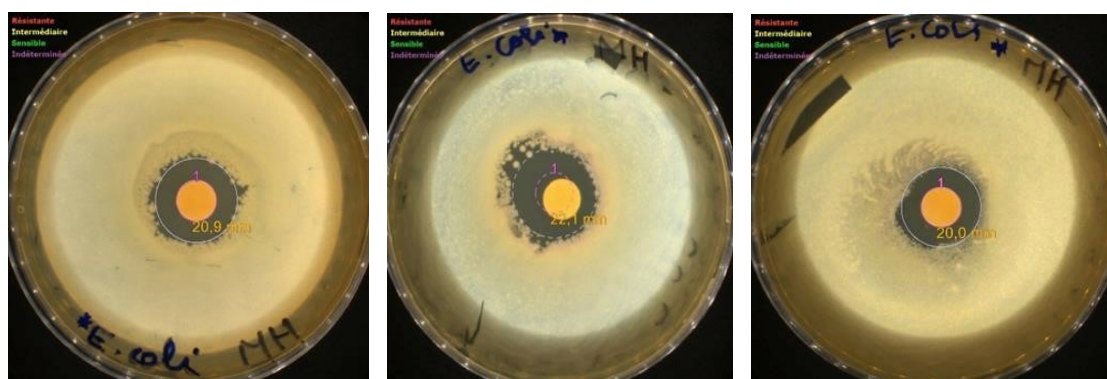


Figure 19 : Action des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Artemisia arborescens* sur la souche d'*E. Coli*

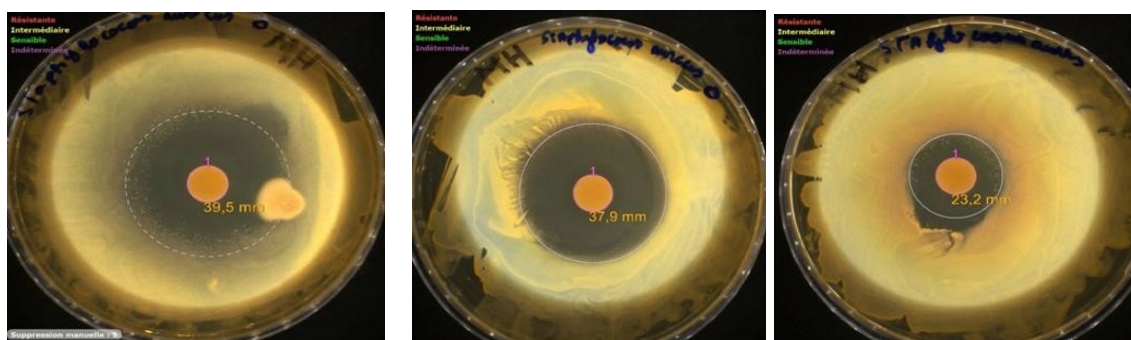


Figure 20 : action des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Artemisia arborescens* sur la souche *Staphylococcus aureus*

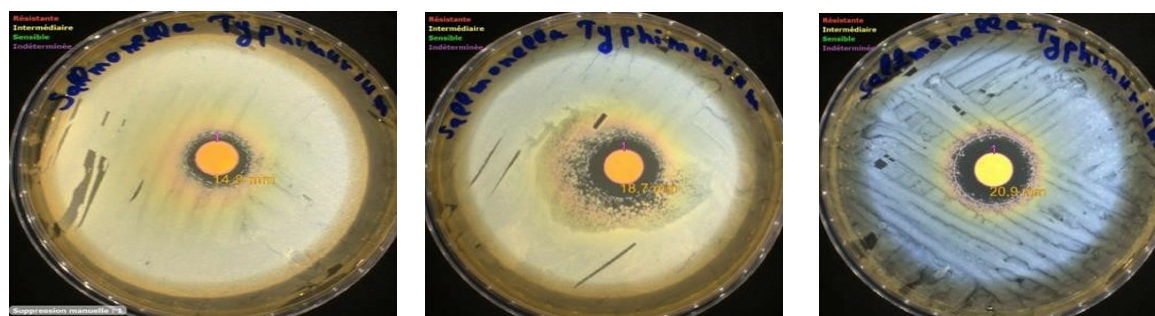


Figure 21 : action des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Artemisia arborescens* sur la souche *Salmonella typhimurium*

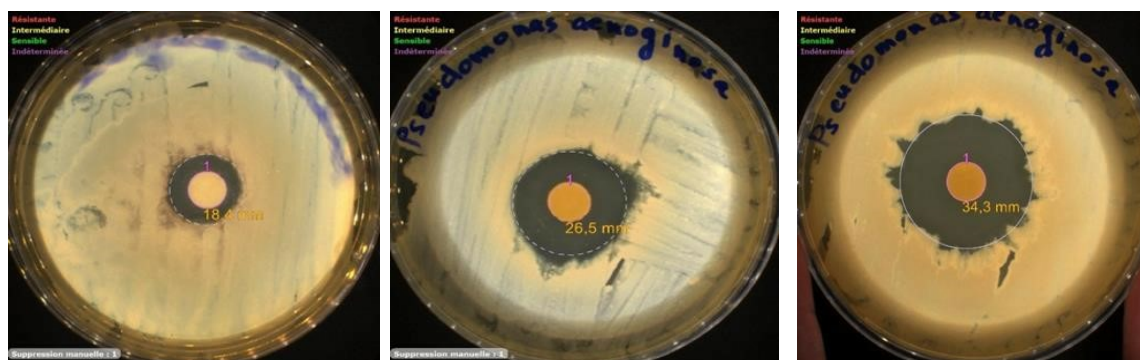


Figure 22 : action des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Artemisia arborescens* sur la souche *Pseudomonas aeruginosa*

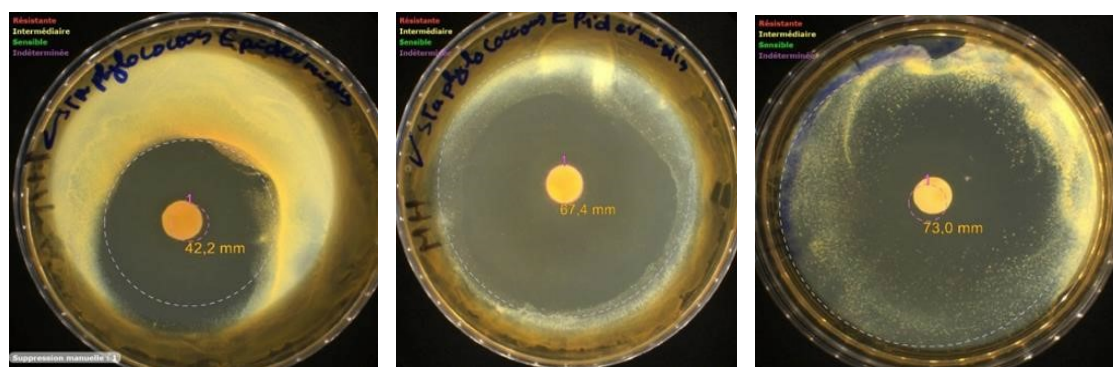


Figure 23 : action des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Artemisia arborescens* sur la souche *Staphylococcus epidermidis*

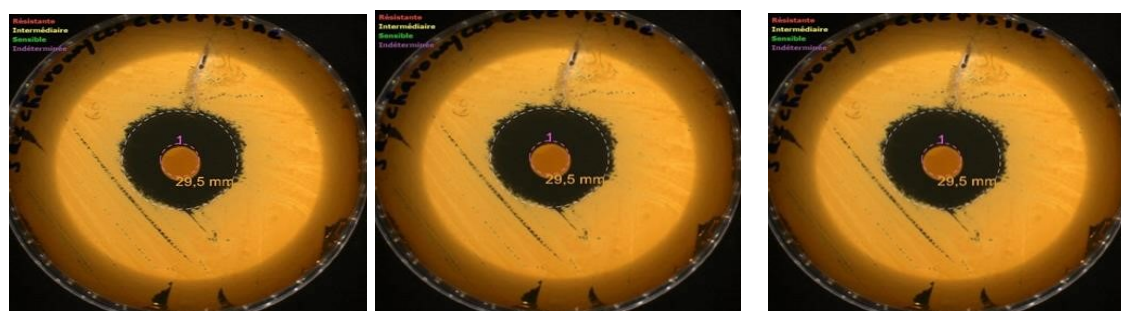


Figure 24 : action des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Artemisia arborescens* sur la souche *Saccharomyces cerevisiae*.

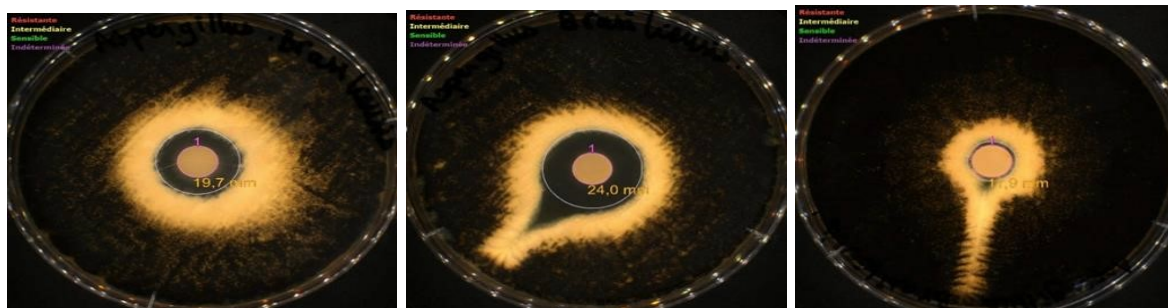


Figure 25 : action des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Artemisia arborescens* sur la souche *Aspergillus brasiliensis*

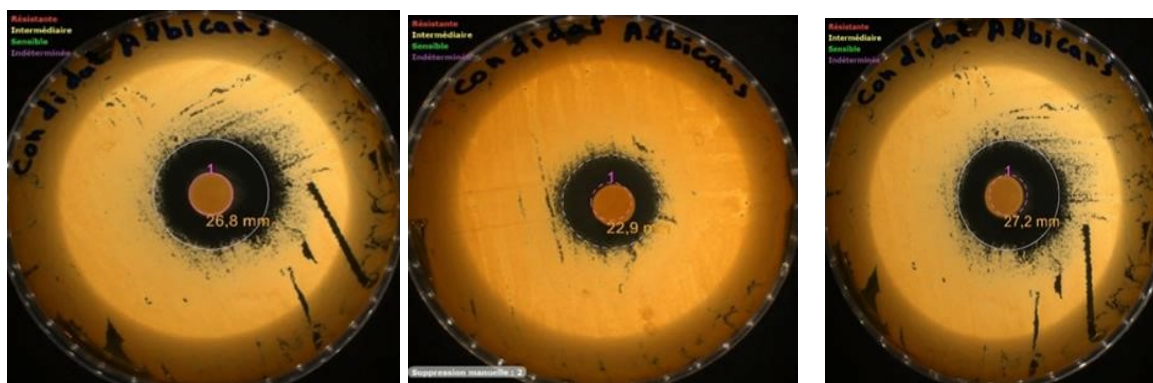


Figure 26 : action des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Artemisia arborescens* sur la souche *Candida albicans*.

2.2. Activité antimicrobienne des mélanges des huiles essentielles

L'activité antimicrobienne d'un mélange de deux huiles essentielles (90%*Eucalyptus globulus* et 10% *Artemisia arborescens*) a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur disque. Une seule dose du mélange a été appliquée sur les disques, et trois tests distincts ont été réalisés contre les différentes souches microbiologiques. Les valeurs moyennes des diamètres des zones d'inhibition sont présentés en millimètres (mm). (**Tableau 5**)

Tableau 5 : les diamètres des zones d'inhibition des souches utilisées

HE testé	Mélange des deux HE (90 % d'Eucalyptus Globulus et 10 % d'Artemisia arborescens)
Germes testé	Zone inhibition Moyenne (mm)
<i>E. coli</i>	21 ±1.05
<i>Staphylococcus aureus</i>	33.53±8.98
<i>Salmonella typhiruem</i>	18.13±3.09
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26.40±7.95
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	60.87±16.40
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	31.97±3.07
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	18.53±6.13
<i>Candida albicans</i>	25.63±2.38

• : Souches extrêmement sensibles ● : Souche très sensible ● : Souche sensible

D'après les résultats représentés dans les figures nous constatons que le mélange des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et d'*Artemisia arborescens* se caractérise par une bonne activité antimicrobienne vis-à-vis les souches testées. Nous distinguons aussi que *Staphylococcus epidermidis*(60.87mm) et *aureus*(33.53mm) (Gram+) et *saccharomyces cerevisiae* (31.97) sont les souches hyper sensibles parmi les souches testés. (Figure 20, 23, 24)

Les deux souches *E. Coli* (21mm), *Pseudomonas aeruginosa*(26.40mm), (Gram-) et *Candida albicans* (25.63mm), (champignons) sont peu sensibles. (Figure 19,22,26) En revanche, *Salmonella typhiruem*(18.13mm) (Gram-) et *Aspergillus brasiliensis* (champignons), (18.53mm), sont les

souches la moins sensible par rapport aux autres souches. (Figure 21,25)

L'analyse des zones d'inhibition obtenues lors des tests a permis d'évaluer l'activité antimicrobienne du mélange étudié contre plusieurs micro-organismes, aussi bien bactériens que fongiques.

Concernant les bactéries Gram négatives, une activité modérée a été observée contre *Escherichia coli*, avec une zone d'inhibition très sensible de **(21 mm±1, 05)**. Ce résultat indique que le mélange possède un effet antibactérien, bien que limité, sur cette souche reconnue pour sa relative résistance aux agents antimicrobiens. De même, une activité sensible a été constatée face à *Salmonella typhimurium* **(18,13 mm±6,13)**, confirmant une efficacité restreinte contre cette espèce pathogène. En revanche, le mélange a démontré une action très sensible contre *Pseudomonas aeruginosa* **(26,40 mm±7,95)**, une bactérie fréquemment associée à des infections opportunistes et particulièrement difficile à traiter en raison de sa résistance naturelle à de nombreux antibiotiques. Ce résultat est donc jugé encourageant.

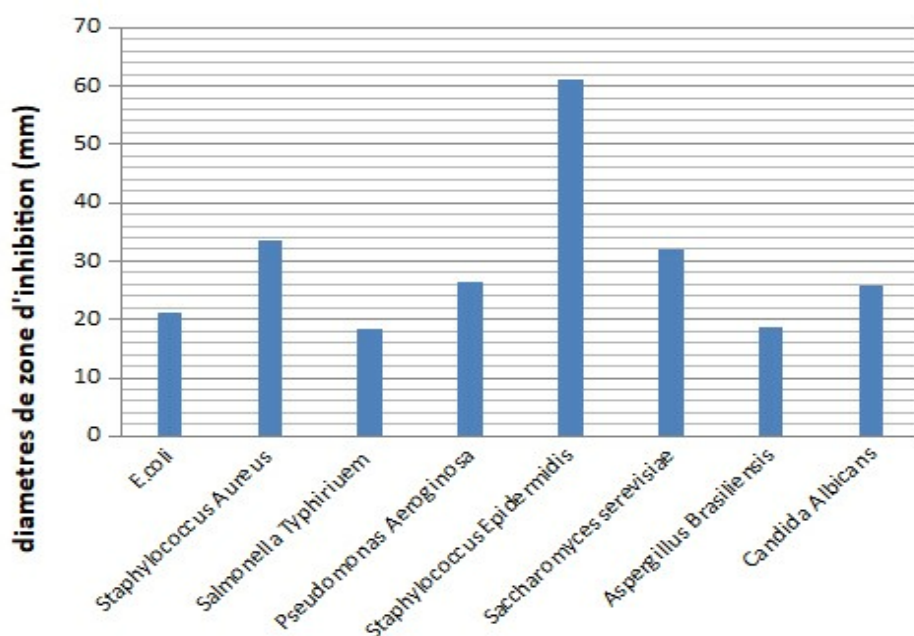


Figure 27 : Diamètres des zones d'inhibition moyennes (mm ± écart type) induites par le mélange des huiles essentielles (*Artemisia arborescens* et *Eucalyptus globulus*) sur les différentes souches microbiennes testées

En ce qui concerne les bactéries Gram positives, l'activité du mélange s'est révélée globalement plus importante. Une bonne inhibition a été relevée contre *Staphylococcus aureus* (**33,53 mm±8,98**), une espèce pathogène majeure impliquée dans des infections cutanées et systémiques. Une efficacité remarquable a été observée contre *Staphylococcus epidermidis*, avec une zone d'inhibition extrêmement sensible (**60,87 mm±16,40**), ce qui souligne un excellent potentiel antimicrobien contre cette souche opportuniste.

L'évaluation de l'activité antifongique a également donné des résultats intéressants. Le mélange a montré une efficacité notable contre *Saccharomyces cerevisiae* (**31,97 mm±3,07**), mettant en évidence un potentiel antifongique appréciable. Une activité sensible a également été observée contre *Candida albicans* (**25,63 mm±2,38**), un pathogène impliqué dans les infections à candidose, confirmant l'intérêt du mélange dans la lutte contre ce type d'infections. En revanche, l'effet antifongique s'est avéré sensible contre *Aspergillus brasiliensis* (**18,53 mm±6,13**), un champignon filamenteux, suggérant une activité moindre contre ce type de moisissures.

Dans l'ensemble, ces résultats indiquent que le mélange étudié présente une activité antimicrobienne particulièrement efficace contre les bactéries Gram positives, ainsi qu'une action antifongique intéressante, notamment vis-à-vis des levures pathogènes.

La structure de leur membrane externe confère aux bactéries Gram négatives une résistance intrinsèque aux antimicrobiens. (Nikaido, 2003). Dans cette recherche, on a noté une activité modérée contre *Escherichia coli* (**21 mm**) et *Pseudomonas aeruginosa* (**26,4 mm**). On connaît ce dernier pour sa résistance multiple naturelle, ce qui justifie la réaction mesurée malgré l'activité manifeste (Poole, 2004). En ce qui concerne *Salmonella typhimurium* (**18,13 mm**), l'activité est restée faible, une situation qui peut être attribuée à sa faculté d'exprimer des pompes d'efflux et autres mécanismes de résistance (Martins et al, 2013).

La raison pour laquelle l'efficacité contre les bactéries Gram négatives est assez restreinte peut-être due au fait que la majorité des composés actifs contenus dans les huiles essentielles sont plus performants face aux parois épaisses et perméables des bactéries Gram positives (Burt, 2004). Les résultats concernant les bactéries Gram positives sont particulièrement prometteurs, en particulier pour ce qui est de *Staphylococcus aureus* (**33,53 mm**) et *Staphylococcus epidermidis* (**60,87 mm**). Ce résultat est particulièrement marquant puisqu'il indique une sensibilité remarquable, confirmant les informations de la littérature concernant l'efficacité des huiles essentielles riches en 1,8-cinéole (principalement présentes dans *Eucalyptus globulus*) contre les staphylocoques (Dorman et al., 2000 ; Soković et al, 2010).

Il est probable que l'efficacité accrue soit due aux composants bioactifs, en particulier le 1,8-cinéole de *Eucalyptus globulus* et les sesquiterpènes de *Artemisia arborescens* (Bachir et al., 2012). Cette synergie est bénéfique contre les bactéries Gram positives, en particulier celles liées aux infections de la peau et systémiques.

En termes d'activité antifongique, le mélange a démontré une efficacité marquée contre *Saccharomyces cerevisiae* (**31,97 mm**) ainsi que *Candida albicans* (**25,63 mm**), un agent pathogène associé aux infections fongiques chez l'homme. Ces conclusions concordent avec les recherches précédentes qui ont démontré l'efficacité antifongique des huiles essentielles d'*Artemisia* et d'*Eucalyptus*, particulièrement contre *Candida spp.* (Soković et al., 2009 ; Mahboubi & Kazempour, 2014). Toutefois, l'impact sur *Aspergillus brasiliensis* (**18,53 mm**) a été restreint, ce qui met en évidence la résistance accrue des champignons filamenteux face aux huiles essentielles (Pinto et al, 2009).

L'identification de nouveaux antibiotiques pour combattre les bactéries résistantes à plusieurs médicaments est une préoccupation globale majeure. Il est possible que certains composés phytochimiques augmentent l'efficacité des antibiotiques en créant une synergie avec ces derniers, même s'ils sont inactifs individuellement. Cette synergie est fondée sur divers mécanismes, qui viennent compléter leur activité antimicrobienne propre. Selon des recherches récentes, les extraits végétaux possèdent des qualités antimicrobiennes qui varient en fonction du profil de résistance des bactéries. (Atef et al., 2019).

3. Test de toxicité:

Pour vérifier la toxicité des huiles essentielles une observation a été réalisée sur des animaux après un gavage. Nous avons noté un taux de mortalité intégral (100 %) dans les 48 heures qui ont suivi l'administration. Avant leur mort, les souris ont montré des indices cliniques significatifs, tels qu'une décoloration (cyanose) autour du cou et sous la mâchoire, indiquant une grave détresse respiratoire ou un problème circulatoire urgent.

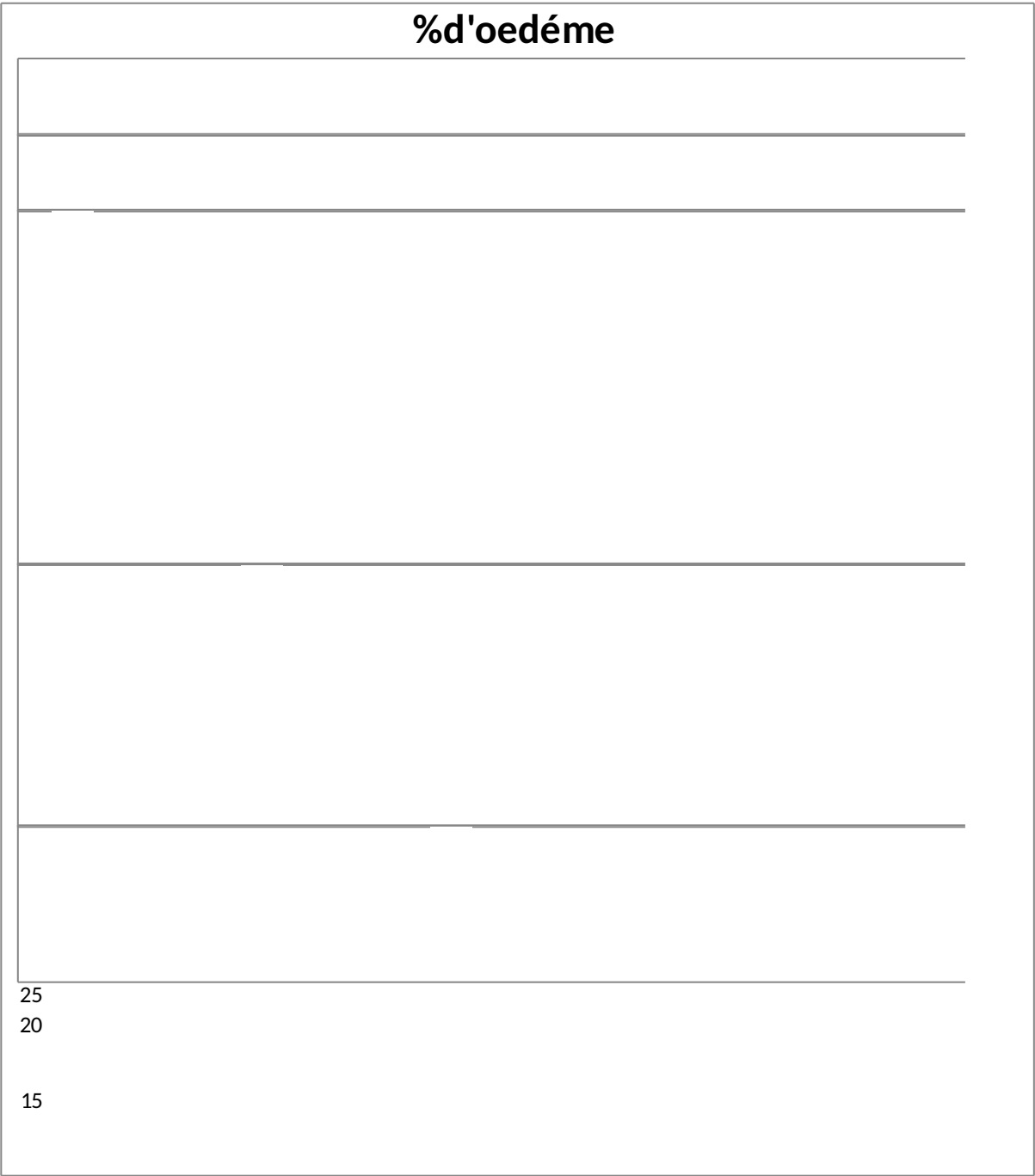
Ces résultats montrent que l'huile essentielle d'*Artemisia arborescens*, à la quantité testée (50%), a une toxicité aiguë notable. On pourrait attribuer cette toxicité à certains éléments neurotoxiques connus de cette espèce, en particulier les cétones monos terpéniques telles que la thuyone, mentionnée dans des publications pour ses effets toxiques. (Delétré et al., 2015)

La mort des souris dans les minutes ou les heures suivant l'administration a été liée à des traitements à haute concentration (D1 (50%) ; D2 (25%) et D3 (12.5%)) indiquant un niveau de toxicité significatif à des concentrations supérieures à 12,5 %. Cette découverte souligne l'importance du

dosage qui doit être bien équilibré afin de maximiser l'efficacité tout en minimisant les effets secondaires.

4. Activité anti inflammatoire

La réaction inflammatoire au niveau des pattes postérieures gauches de toutes les souris, se manifeste par l'apparition d'un œdème plantaire exprimé en pourcentage. Les résultats de réduction de cet œdème sous l'effet des huiles essentielles et du produit de référence (le Diclofénac) sont montrés dans les figures (28,29)



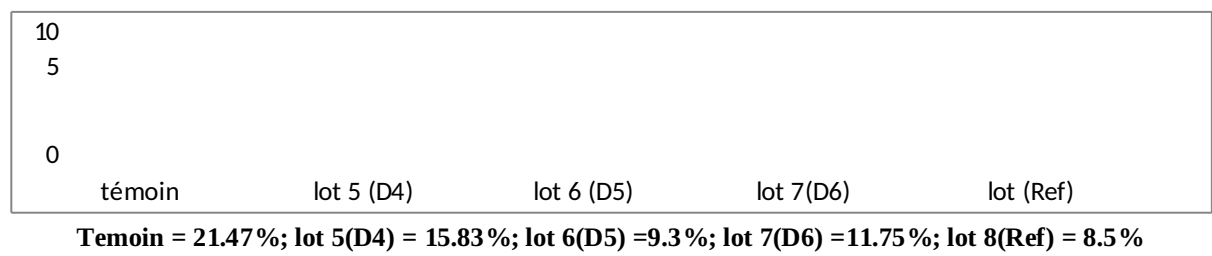
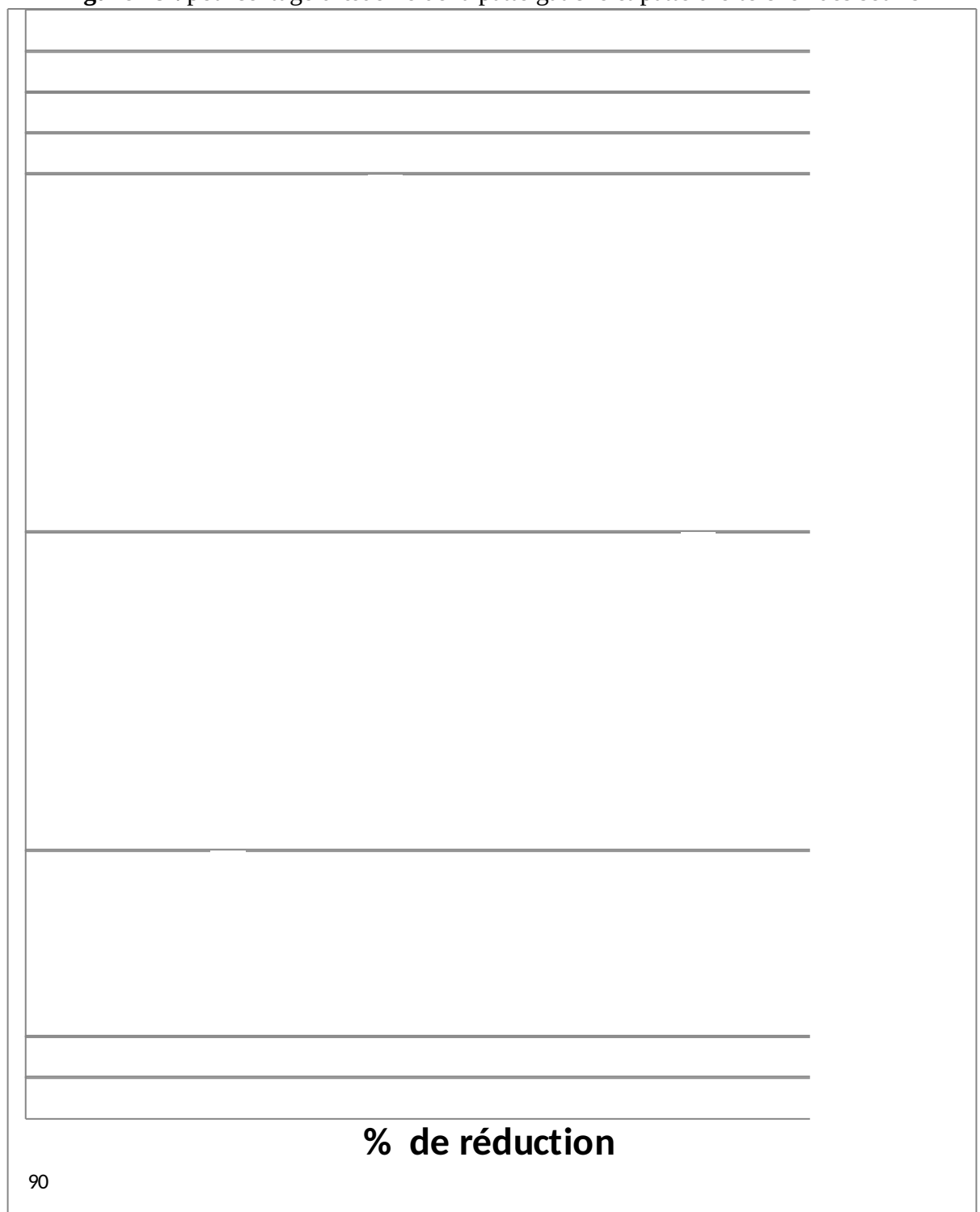


Figure 28 : pourcentage d’œdème de la patte gauche et patte droite chez des souris NMRI.



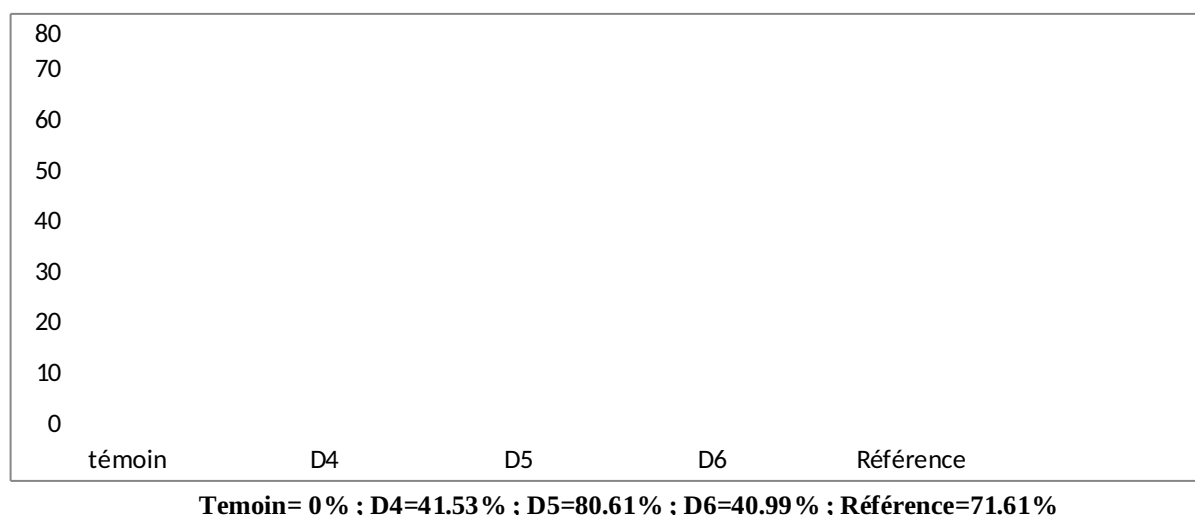


Figure 29 : pourcentage de réduction d'œdème de la patte gauche et la patte droite chez les souris NMRI.

L'étude visait principalement à examiner l'effet anti-inflammatoire d'un mélange de deux huiles essentielles (*Artemisia arborescens* et *Eucalyptus globulus*) à diverses concentrations, en le comparant avec un médicament anti-inflammatoire standard (Diclofénac), en recourant au modèle d'œdème induit par la carraghénine chez la souris NMRI.

Les observations ont révélé que l'administration de carraghénine a provoqué une inflammation notable chez les souris de référence, avec un œdème moyen s'élevant à 18.42 %, (figure 29) ce qui atteste de la pertinence du modèle inflammatoire employé.

4.1 Effet des différents traitements testés

Les résultats obtenus sont montrés dans les tableaux suivants :

✓ Lot 01 : le témoin (injection d'eau physiologique)

N° de souris	Le poids Des souris	La pête postérieure droite	Juste après l'injection	Après 15 mn d'injection	Après 30mn	Après 45mn	Après 60mn
1	17	1.14	1.50	1.41	1.38	1.32	1.28

2	18	1.18	1.49	1.40	1.37	1.35	1.32
3	19	1.18	1.69	1.56	1.45	1.38	1.36

✓ **Lot 02** : le traitement D1 (50%)

N° de souris	Le poids	La pâte postérieure droite	Juste après l'injection	Après 15mn du gavage	Après 30mn	Après 45mn	Après 60mn
1	17g	1.2	1.58	1.33	La mort des souris		
2	22g	1.25	1.76	1.40			
3	19g	1.22	1.66	1.36			

✓ **Lot 03** : le traitement D2 (25%)

N° de souris	Le poids	La pâte postérieure droite	Juste après l'injection	Après 15mn du gavage	Après 30mn	Après 45mn	Après 60mn
1	17g	1.2	1.58	1.33	La mort des souris		
2	22g	1.25	1.76	1.40			
3	19g	1.22	1.66	1.36			

✓ **Lot 04** : le traitement D3 (12.5%)

N° de souris	Le poids	La pâte postérieure droite	Juste après l'injection	Après 15 mn du gavage	Après 30mn	Après 45mn	Après 60mn
1	17g	1.21	1.38	1.28	La mort des souris.		
2	19g	1.25	1.76	1.40			
3	19g	1.17	1.66	1.29			

✓ **Lot 05** : le traitement D4 (6.125%)

N° de souris	Le poids	La pâte postérieure droite	Juste après l'injection	Après 15 mn du gavage	Après 30mn	Après 45mn	Après 60mn
1	23g	1.22	1.68	1.50	1.28	1.25	1.23
2	17g	1.02	1.43	1.21	1.19	1.08	1.05
3	17g	1.15	1.50	1.45	1.33	1.26	1.18

✓ **Lot 06** : le traitement D5 (3.125%)

N° de souris	Le poids	La pâte postérieure droite	Juste après l'injection	Après 15 mn du gavage	Après 30mn	Après 45mn	Après 60mn
1	18g	1.15	1.54	1.21	1.19	1.18	1.17
2	18g	1.18	1.66	1.23	1.21	1.20	1.19
3	18g	1.15	1.38	1.25	1.23	1.21	1.17

✓ **Lot 07** : le traitement D6 (1.562 %)

N° de souris	Le poids	La pâte avant	Juste après l'injection	Après 15 mn du gavage	Après 30mn	Après 45mn	Après 60mn
1	24g	1.20	1.35	1.50	1.44	1.27	1.23
2	25g	1.25	1.42	1.52	1.30	1.28	1.26
3	25g	1.16	1.39	1.43	1.30	1.27	1.20

✓ **Lot 08** : l'injection du diclofénac

N° de souris	Le poids	La pâte avant	Juste après l'injection	Après 15 mn du gavage	Après 30mn	Après 45mn	Après 60mn
1	20g	1.10	1.36	1.30	1.25	1.18	1.11
2	17g	1.19	1.50	1.25	1.22	1.21	1.20
3	17g	1.18	1.36	1.26	1.23	1.19	1.19

Le traitement le plus efficace était D5 (90% d *Eucalyptus globulus* + 10 d *Artemisia arborescens* a une concentration de 3,125%), qui a réduit l'œdème de plus de 80% par rapport au contrôle. Étant donné l'absence totale de toxicité observée (d'après le test de toxicité qu'on fait au niveau du laboratoire de toxicologie du groupe SAIDAL Médéa) ce résultat suggère un fort potentiel anti-inflammatoire à cette concentration.

Le Diclofénac (traitement de référence) a permis une diminution significative de l'œdème, atteignant environ 71.61%, confirmant son efficacité et permettant la validité du protocole expérimental.

Le traitement D4 (90% d *Eucalyptus globulus* + 10 d *Artemisia arborescens* a une concentration de 6,25%) a démontré une réduction modérée de l'œdème d'environ 42%, mais il est toujours moins efficace que traitement D5. Cela pourrait s'expliquer par un effet dose-dépendant inversé, où une concentration plus faible entraîne une meilleure réponse thérapeutique.

Bien que non toxique le traitement D6 (90% d *Eucalyptus globulus* + 10 d *Artemisia arborescens* a une concentration de 1,562%) a montré une réduction de l'œdème d'environ 40%, indiquant une activité modérée qui est inférieure à celle de traitement D5 et du Diclofénac.

Dans le cadre de la recherche de synergies entre huiles essentielles à propriétés anti-inflammatoires, plusieurs études ont mis en évidence l'efficacité renforcée de certains mélanges. À titre comparatif, le mélange des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Rosmarinus officinalis*, étudié par Ben Hsouna et al. (2014), a démontré une activité anti-inflammatoire synergique notable. Testé sur un modèle d'œdème de la patte induit par la carraghénine chez le rat, ce mélange a montré une inhibition significative de l'inflammation, comparable à celle de l'indométacine (anti-inflammatoire de référence). L'effet inhibiteur observé a été attribué à la richesse en composés bioactifs tels que le carvacrol, le 1,8-cinéole et le camphre, capables d'agir sur plusieurs médiateurs inflammatoires

comme les prostaglandines, l'oxyde nitrique (NO) et certaines cytokines pro-inflammatoires. Ces résultats suggèrent que l'association de deux huiles essentielles aux profils chimiques complémentaires permettrait une action plus large et plus efficace contre les processus inflammatoires, ce qui appuie l'intérêt de notre propre combinaison à base d'*Artemisia arborescens* et d'*Eucalyptus globulus*

Dans une autre étude, le mélange des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et de *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) a également montré une activité anti-inflammatoire intéressante. Selon Adams et al. (2006), cette combinaison a permis de réduire significativement la production de NO et de TNF α (Tumor Necrosis Factor alpha) dans des macrophages activés par le Lipopolysaccharide (LPS), suggérant une modulation des voies inflammatoires par les monoterpènes oxygénés (comme le 1,8cinéole) et les alcools terpéniques (comme le terpinen-4-ol). La synergie entre ces composés permettrait une meilleure régulation de la réponse immunitaire sans toxicité importante, ce qui conforte l'intérêt des combinaisons naturelles d'huiles essentielles à visée anti-inflammatoire.

Les huiles essentielles ont démontré une activité anti-inflammatoire prometteuse dans plusieurs études in vivo. Elles sont utilisées dans la prise en charge de diverses affections inflammatoires telles que la polyarthrite rhumatoïde, les migraines et certaines formes d'anxiété (Bahr et al., 2018 ; Ahmadifard et al., 2020). Leur application locale ou par inhalation permet de soulager la douleur et la tension. Cependant, les mécanismes exacts responsables de cet effet anti-inflammatoire restent encore peu élucidés, ce qui justifie la nécessité de recherches supplémentaires, notamment cliniques et épidémiologiques. Des essais cliniques ont, par exemple, montré l'efficacité des bains de bouche à base d'huiles essentielles dans la réduction de la plaque dentaire et de la parodontite chronique. De plus, certaines études, comme celle de Jafari et al. (2017), ont mis en évidence une diminution des marqueurs inflammatoires (TNF- α , CRP) chez des patients diabétiques traités par des capsules d'huile essentielle de *Cuminum cyminum*. Néanmoins, il demeure essentiel de mieux comprendre l'absorption, la digestion et l'impact global des PEO chez l'homme (Jünger et al., 2020 ; Navarra et al., 2015), ainsi que de développer de nouveaux modèles expérimentaux pour appuyer leur utilisation clinique

Conclusion

CONCLUSION

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressées à l'évaluation des activités antimicrobiennes, et antiinflammatoires des huiles essentielles de deux espèces *Artemisia arborescens* et *Eucalyptus globulus*. Le mélange de ces deux huiles essentielles a été étudié aussi

L'activité antimicrobienne a été évaluée selon la méthode de diffusion sur un milieu nutritif. Les résultats obtenus ont montré que les souches *Staphylococcus epidermidis* et *aureus* (Gram+) et *Saccharomyces cerevisiae* se caractérisent par la plus forte sensibilité avec des moyennes de diamètre d'inhibition de (60.87 ± 16.40 ; 33.53 ± 8.98 ; 31.97 ± 3.07). Une sensibilité plus faible a été noté par les deux souches bactériennes *E. Coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-) et la souche fongique *Candida albicans* (21 ± 1.05 ; 25.63 ± 2.38 ; 26.40 ± 7.95) ; la faible sensibilité a été distinguée par *Salmonella typhiriuem* (Gram-) et *Aspergillus brasiliensis* montrant des moyennes de diamètres d'inhibition de 18.13 ± 3.09 et de 18.53 ± 3.09 respectivement. Ces résultats ont confirmé la puissance de notre mélange et la capacité à inhiber la croissance de divers microorganismes pathogènes.

Pour l'activité anti-inflammatoire nos résultats montrent que le mélange d'huile essentielle d'*Artemisia arborescens* et d'*Eucalyptus globulus* possède une activité anti-inflammatoire significative, surtout à une concentration de 3,125 % (D5), où l'effet thérapeutique est maximal et non toxique. Ces résultats sont encourageants et soutiennent des recherches supplémentaires, telles que celles sur le mécanisme d'action, les tests in vitro et la création de formulations thérapeutiques appropriées. Ces découvertes renforcent l'idée que les huiles essentielles pourraient jouer un rôle dans le développement de nouveaux traitements antimicrobiens, et même prévenir, traiter les différentes maladies inflammatoires en toutes sécurité.

Cette valorisation des HE ouvre la voie à de nouvelles perspectives dans la médecine

En définitive, l'avancement continu de la création de produits basés sur les huiles essentielles, pourrait fournir des réponses innovantes pour le traitement des infections mortelles

REFERENCES

REFERENCES

- Lhuillier, S. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Toulouse : Éditions Terres
- Bayer, E., Schreiber, K., & Werner, H. (1990). Plantes médicinales et industrie pharmaceutique. In : Plantes médicinales et phytothérapie, 24(2), 106–110.
- Mecheri, R. (2023). Contribution à l'étude phytochimique des extraits d'une plante médicinale (*Zilla spinosa* L.). Éditions universitaires européennes.
- Boudjelal, A., Henchiri, C., Sari, M., Sarri, D., Hendel, N., Benkhalel, A., & Ruberto, G. (2013). Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (Algeria): An ethnopharmacology survey. *Journal of Ethnopharmacology*, 148(2), 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.04.050>
- Tigrine-Kordjani, N., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2010). Chemical composition of essential oil from *Artemisia arborescens* L. growing wild in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 22(3), 249–251.
- Pelkonen, O., Abass, K., & Wiesner, J. (2013). Thujone and thujone-containing herbal medicinal and botanical products: Toxicological assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 65(1), 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.11.006>
- Zoubiri, S., Baaliouamer, A., & Seba, N. (2014). Chemical composition and biological activities of *Eucalyptus globulus* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 58, 164–170. . <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.04.011>
- Boudarene, L., Boussahel, R., & Boulekbache-Makhlouf, L. (2017). Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. *Revue des Bioressources*, 7(2), 27–34.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Ben Miri, Y. (2025). Essential Oils: Chemical Composition and Diverse Biological Activities – A Comprehensive Review. *Journal of Aromatherapy Science*,
- Jean Bruneton. (Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 1999)
- Singh, A., & Sharma, P. K. (2015). Terpenes and terpenoids: The aroma of cannabis. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), 515–523
- Aizpurua-Olaizola, O., Soydaner, U., Öztürk, E., Schibano, D., Simsir, Y., Navarro, P., ... & Usobiaga, A. (2016). Evolution of the cannabinoid and terpene content during the growth of *Cannabis sativa* plants. *Journal of Natural Products*, 79(2), 324–331. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00949>
- Hazekamp, A., Tejkalová, K., & Papadimitriou, S. (2016). Cannabis: From Cultivar to Chemovar II—A Metabolomics Approach to Cannabis Classification. *Cannabis and Cannabinoid Research*, 1(1), 202–215. <https://doi.org/10.1089/can.2016.0017>

REFERENCES

- (Bakkali F. et al. (2008). Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>)
- Dewick, P. M. (2009). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach (3rd ed.). Wiley.
- Shao, F., et al. (2020). Research progress on extraction methods, biological functions and applications of plant essential oils. Feed Research, 45(15), 119–123.
- Guenther, E. (1972). The Essential Oils, Vol. 1. Van Nostrand Reinhold Company.
- European Pharmacopoeia Commission. (2020). European Pharmacopoeia (10^e éd.). Strasbourg, France : Conseil de l'Europe. Monographie n° 0390
- Chemat, F, Vian, M.A., & Cravotto, G. (2012). Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. International Journal of Molecular Sciences, 13(7), 8615–8627. <https://doi.org/10.3390/ijms13078615>
- Bakkali, F. et al. (2008). Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Piccaglia, R. & Marotti, M. (1993). Characterization of several aromatic plants grown in Northern Italy. Flavour and Fragrance Journal, 8(3), 115–122.
- Chemat, F. et al. (2012). Green Extraction of Natural Products. International Journal of Molecular Sciences, 13(7), 8615–8627.
- Lawrence, B.M. (1995). The nature of essential oils. Perfumer & Flavorist, 20, 23–51.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. International Journal of Food Microbiology, 94(3), 223–253.
- Abderrahim, A., Tigrine-Kordjani, N., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2010). Chemical composition of essential oil from *Artemisia arborescens* L. growing wild in Algeria. Journal of Essential Oil Research, 22(3), 249–251.
- (Quézel, P. & Santa, S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Paris.
- Meddour, R., Belhamra, M., & Benabadji, N. (2016). "Étude écologique et phytosociologique de la flore médicinale de la région de Mostaganem (Algérie)". Revue Agriculture, 8(1), 36-48
- "An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV." Botanical Journal of the Linnean Society, 181(1): 1–20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>

REFERENCES

- Lamarck, J.-B., & De Candolle, A. P. (1805). Flore française, 2e édition, tome 3. Paris : Chez l'auteur.
- TABBI, A., & BENHAMED, K. (2022). "Activité antibactérienne des extraits d'*Artemisia arborescens* en combinaison avec les antibiotiques". Journal of Medicinal Plants Research, 17(8), 98-106.
- Azzouz, H., & Belhamra, M. (2015). "Phyto chemical properties and morphological characterization of *Artemisia arborescens* L.". Flora Mediterranean, 25(3), 45-53.
- Lallemant, C. (2003). "Étude taxonomique et floristique des espèces du genre *Artemisia* dans le sud de la France". Bulletin de la Société Botanique de France, 150(1), 22-27.
- Serralheiro, M.L. et al. (2014). "Essential oils of *Artemisia* species and their biological properties." Journal of Essential Oil Research, 26(2), 97-103.
- Boughedir, M. et al. (2015). "Antimicrobial activity of *Artemisia arborescens* and its use in the treatment of respiratory infections." Phytotherapy Research, 29(7), 1063-1070.
- Haddouchi, F. et al. (2010). "Vermifuge activity of *Artemisia arborescens* in the treatment of intestinal worms in Algeria." African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines, 7(2), 125-128.
- Benkhighe, S. et al. (2016). "Antispasmodic effects of *Artemisia arborescens* on uterine smooth muscle." Pharmacology & Toxicology, 118(6), 451-457.
- Lahlou, M. (2004). "Chemical Composition and Biological Activities of the Essential Oils of *Artemisia* Species." Fitoterapia, 75(4), 33-38.
- Dudai, N., et al. (2002). "Essential Oils of *Artemisia arborescens* and *Artemisia herba-alba* from Israel: Chemical Composition and Antimicrobial Activity." Journal of Essential Oil Research, 14(4), 260-263.
- Zargari, A. (1992). Medicinal Plants of Iran. Tehran University Press.
- Boudjelal, A., et al. (2014). "Antioxidant and Antimicrobial Activity of the Extracts and Essential Oils from *Artemisia arborescens* L." Pharmacognosy Magazine, 10(38), 88-94.
- <http://dspace.univ-tissemsilt.dz/bitstream/handle/123456789/2318/MM540-001.pdf>
- . (LIVRE 120 PLANTES MEDICINALES « composition, mode d'action, et intérêt thérapeutiques » -Edition Alpen 9, avenue albert ii 98000 Monaco-)
- <http://dspace.univ-bouira.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/5449/1/Effet%20insecticide%20des%20huiles%20essentielles%20de%20l%E2%80%99Eucalyptus%20globulus%20L.et%20Globularia%20alypum%20L%20sur%20Tribolium%20castaneum%20Herbest.pdf>
- <http://dspace.univ-tissemsilt.dz/bitstream/handle/123456789/2318/MM540-001.pdf>
- <http://dspace.univ-tissemsilt.dz/bitstream/handle/123456789/2318/MM540-001.pdf>
- [file:///C:/Users/HP/Downloads/M570.673%20ECOLOGIE%20OK%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/HP/Downloads/M570.673%20ECOLOGIE%20OK%20(2).pdf)
- (LIVRE 120 PLANTES MEDICINALES « composition, mode d'action, et intérêt thérapeutiques » -Edition Alpen 9, avenue albert ii 98000 Monaco-)
- <http://e-biblio.univ>

- mosta.dz/bitstream/handle/123456789/21320/yasaad%202022.pdf?sequence=1
- [file:///C:/Users/HP/Downloads/M570.673%20ECOLOGIE%20OK%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/HP/Downloads/M570.673%20ECOLOGIE%20OK%20(2).pdf)
 - <https://bucket.theses-algerie.com/files/repositories-dz/1993978973991998.pdf>
 - « Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action - ScienceDirect ».
 - <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711321001690>
 - Zhao, Qian, Liyun Zhu, Sunan Wang, Yongsheng Gao, et Fei Jin. « Molecular mechanism of the anti-inflammatory effects of plant essential oils: A systematic review ». *Journal of Ethnopharmacology* 301 (30 janvier 2023) :115829. ➤
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115829>
 - Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action – ScienceDirect
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711321001690>
 - Molecular mechanism of the anti-inflammatory effects of plant essential oils: A systematic review – pumped (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36252876/>)
 - [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711321001690*](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711321001690)
 - **Ponce, A G., Fritz, R., De valle, C., Roura, S I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u. Technol.* 36: 679-684.
 - Kennedy DO, Wightman EL. Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*. 2011 ; 2(1) :32-50
 - M. Lo Presti, M.L. Crupi, B.d'A. Zellner, G. Dugo, L. Mondello (2007). Characterization of *Artemisia arborescens* L. (Asteraceae) eaf-derived essential oil from Southern Italy, *J. Essent. Oil Res.* 19, 218-224.
 - Moura, J. B., Rodrigues, K. A., Silva, C. F., & Santos, D. A. (2012). Yield and composition of essential oil of *Eucalyptus globulus* grown in different seasons and extracted by hydro distillation. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 22(5), 861–867
 - Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. (2008). *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256(12), 2166–2174. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>
 - Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(4), 213–226. <https://doi.org/10.1002/ffj.1875>
 - Elaissi, A., Farhat, F., Chemli, R., & Khouja, M. L. (2011). Chemical composition of 8 *Eucalyptus* species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11, 1–15. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-11-3>

REFERENCES

- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. C. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(4), 213–226. <https://doi.org/10.1002/ffj.1875>
- Hajlaoui, H., Trabelsi, N., Noumi, E., Snoussi, M., Fallah, H., & Bakhrouf, A. (2009). Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha piperita*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(12), 2227–2238.
- Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M. (2003). Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(6), 481–484. <https://doi.org/10.1002/ffj.1230>
- Zheljazkov, V. D., Cantrell, C. L., Astatkie, T., & Jeliazkova, E. (2012). Effect of plant species and distillation time on essential oil yield and composition of essential oils. *Journal of Oleo Science*, 61(4), 195–202.
- Ben Hsouna, A., Hamdi, N., & Ben Halima, N. (2014). Synergistic anti-inflammatory and antioxidant effects of essential oil mixtures from *Thymus* and *Rosmarinus* species. *Industrial Crops and Products*, 62, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.001>
- Adams, T. B., Cohen, S. M., Doull, J., Feron, V. J., Goodman, J. I., Marnett, L. J., ... & Portoghese, P. S. (2006). Essential oils: antimicrobial and anti-inflammatory activity in combination. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 45(3), 265–27

Annexes

Annexes

✓ Matériel utilisé :

Verrerie	Produits chimiques	Appareilles
• Becher - Deux Seringues gradué de 0.1 ml et 5ml - Seringue du gavage. • Seringue du gavage. • Boîte de pétri • Mini flacon en verre	• Le milieu Mueller-Hinton est préparé pour le repiquage des souches bactériennes • La gélose Sabouraud, milieu sélectif pour la culture des champignons • Le bouillon nutritif pour la réactivation et le maintien des souches bactériennes • Eau distillée • Huile essentielle d'<i>Artemisia arborescens</i> • Huile essentielle <i>Eucalyptus globulus</i>	• Agitateur - Bain marie - Balance Max 220g • - Balance de marque GEBERTINI • Pied à coulisse. • Mini flacon en verre

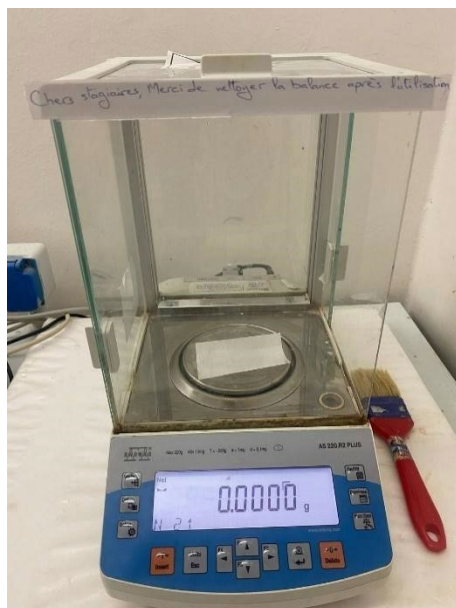


Le gavage.



Les souches microbiennes + les disques

Figure 31 : technique utilisée pendant l'activité anti inflammatoire et anti microbiennes



Balance de marque GEBERTINI.



La pied à coulisse.



Agitateur



Balance max 220g

Figure 32 : l'appareillage



Tween 80.



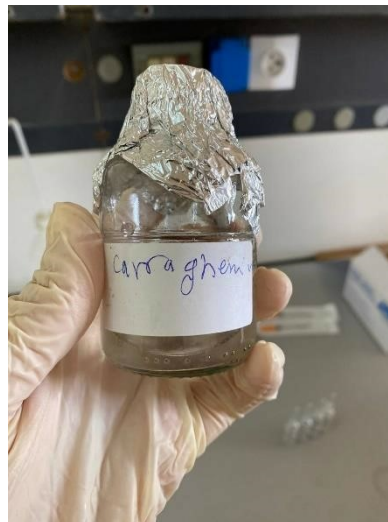
Milieu de culture (MH).



Milieu de culture (SAB).



Les huiles essentielles



Carraghénine 1%



Diclofénac (solution)

Figure 33 : produit utilisé



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES ET BIOLOGIQUE

Département : Biotechnologie et Agro-écologie

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme du Master Académique

Spécialité : Biotechnologie

Option : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Thème

Activité anti inflammatoire et anti microbienne d'un mélange des huiles essentielles
de deux espèces

« *Artemisia arborescens* » et « *Eucalyptus globulus* »

Soutenue le : 03/07/2025

Présenté par :

• Aich Djamil • Klalib Roumaisa • Annabi Nour el Yasmine

Devant le jury composé de :

Mme Tadjine. N

MCA. USD Blida 1

présidente

Mme Semmar.I

Examinatrice

MAA. USD Blida 1

Mme Ghanai. R

Promotrice

MCB. USD Blida 1

Année universitaire : 2024/2025

Dr Tadjine. N
[Signature]

