



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

UNIVERSITE SAAD DAHLEB FACULTE DES



SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Spécialité : biotechnologie génomique végétale

**Evaluation des propriétés pharmaceutiques des extraits de
Melaleuca alternifolia et *Boswellia carterii* vers l'élaboration
de produit biopharmaceutique**

Présenté par :

BENAZOUT Aya Dounia

ZEBAIER Kaouther

Soutenue le 10/07/2025

Devant le jury :

Dr AYADI .R

MCA

Présidente

Dr AMARA .N

MA

Examinateuse

Dr BOULESNAM S.L

Docteur

Encadrante

REMERCIEMENTS

الحمد لله

Nous tenons tout d'abord à remercier notre DIEU tout puissant, source de force, de patience et de sagesse, qui ont permis l'achèvement de ce projet dans des bonnes conditions.

Nous souhaitons exprimer notre sincère reconnaissance à notre encadrante, Dr Boulesnam S.L Pour son soutien inestimable, sa présence constante, ses recommandations judicieuses et sa bienveillance pendant toute la rédaction de ce mémoire. Sa discipline scientifique et son appui minutieux ont largement favorisé l'accomplissement de ce travail.

Nous tenons à remercier Mr. SEMRI. A et Mme LAMIA pour son aide, sa disponibilité et son dévouement Merci infiniment pour tout.

Aussi nous remercions également Dr AYADI.R Présidente du jury, pour l'honneur envers le rôle qu'elle tient en tant que présidente de ce travail. Dr AMARA. N. Examinatrice de jury de l'honneur qu'elles me font en acceptant d'évaluer notre travail et de leurs remarques enrichissantes.

Nous tenons également à remercier une autre fois Dr AYADI. R., qui nous a encadrées durant ces deux dernières années. Son implication, sa présence régulière et la qualité de son enseignement ont été des piliers importants de notre formation. Son suivi a été une réelle source de motivation pour nous.

Nous remercions aussi l'ensemble des professionnels, techniciens et partenaires qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet en m'apportant un appui technique .

Nous remercions l'ensemble du personnel des laboratoires de notre l'université et de BIOEXTRAPAMAL pour leur accueil chaleureux, leur soutien logistique et leur aide précieuse durant la formation, Nous tenons également à préciser que nos sincères gratitude à nos professeurs et aux enseignants-chercheurs de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Blida 1. Merci pour vos enseignements de qualité.

Enfin, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers nos familles, spécialement nos parents , pour leur amour indéfectible, leur appui moral continu et leurs encouragements tout au long de notre trajectoire. Nous n'oublions pas nos chers(es) collègues et nos amis(es), pour leur présence inestimable, leur soutien attentif et leurs encouragements quotidiens.

Nous vous remercions tous et toutes du plus profond de nos cœurs.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à moi-même, pour la patience, la persévérance et la détermination dont j'ai fait preuve tout au long de ce parcours parfois semé d'embûches. Ce travail est le fruit de nombreuses heures de réflexion, d'efforts et de remise en question, et je suis fière d'avoir su aller jusqu'au bout.

Je dédie ce mémoire à mes parents, pour leur soutien inconditionnel, leur amour et leurs encouragements tout au long de mon parcours.

À ma maman

Pour ton amour inépuisable, ton soutien silencieux, et ta foi inébranlable en moi, même lorsque moi-même j'en doutais. Tu es ma force, mon refuge, et mon inspiration. Ce travail, je te le dédie de tout cœur.

A mon père

Pour ta force tranquille, ta sagesse discrète et ton soutien indéfectible,

Pour tous les sacrifices que tu as faits dans l'ombre, sans jamais rien attendre en retour, Pour ton exemple, ton amour, et tes prières silencieuses.

Ce mémoire est aussi le fruit de ton dévouement. Je te le dédie avec tout mon respect et ma gratitude.

À mes frères, Ahmed et Mohammed,

Pour votre affection, vos encouragements et votre présence constante, Merci d'avoir été là, dans les bons comme dans les moments difficiles.

À mon binôme et mes amies à ma grande famille Merci pour les sous rires, le partage et le soutien durant tous ces moments de doute. Merci d'avoir été là, avec vos mots bienveillants et votre énergie lumineuse dans ce long voyage.

A Mr.FLIT pour votre présence a ton aide Votre complicité et encouragements durons mon parcours .

À ma promotrice , Dr. BOULESNAME SL.

Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour votre confiance, votre soutien généreux et éclairé, ainsi que pour la justesse de vos conseils et la bienveillance discrète dont vous avez toujours fait preuve.

À toutes les personnes rencontrées sur ce parcours, que ce soit dans l'ombre ou la lumière, à travers un mot, un sourire, une pensée ou un silence : merci du plus profond de mon cœur. Ce mémoire est le reflet de toutes vos actions d'amour. C'est un acte de confiance, de reconnaissance, de ténacité. Et je souhaite que chaque terme, chaque feuillett, contienne un peu de cette clarté que vous m'avez donnée.



DOUNIA AYA

LISTE DES ABREVIATIONS

AT :Arbre a thé

ES : Encens

MSR : Macérât

ATCC : American Type Culture Collection (organisme fournissant des souches microbiennes standardisées)

BHIb : Brain Heart Infusion broth(bouillon cœur-cerveau, milieu de culture enrichi)

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (utilisé dans les tests d'antioxydants)

FIC : Fractional Inhibitory Concentration (Concentration Inhibitrice Fractionnaire)

FICI : Fractional Inhibitory Concentration Index (Indice de Concentration Inhibitrice Fractionnaire)

GC-MS : Gas Chromatography–Mass Spectrometry (Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse)

HE : Huile essentiell

S9 : Fraction métabolique contenant des enzymes hépatiques (utilisée dans le test d'Ames)

SMILES:

- C : carbone (aliphatique, majuscule)
- c : carbone aromatique (minuscule)
- N : azote
- O : oxygène
- S : soufre
- P : phosphore
- F, Cl, Br, I : fluor, chlore, brome, iodé

Les liaisons entre atomes sont indiquées par des symboles :

- - : liaison simple (souvent omise)
- = : liaison double
- # : liaison triple • : liaison aromatique

Liste des figures

Figure 1: structure chimique des monoterpènes (Dominick V. Spracklen,et al 2008)	3
Figure 2:structure chimique des sesquiterpènes (Xing-Chung Cheng et al 1994).....	4
Figure 3:Structure chimique des phénoles (David R. Lide, 2008)	4
Figure 4:Formule chimique des (Jacques Metzger et al 2024)	5
Figure 5:Formule chimiques des aldéhydes (Justus von liebig 1835)	5
Figure 6:: Description morphologique des feuilles et fleurs des <i>Boswellia</i> (Birdwood, G.C.M. 1887)	7
Figure 7:Gomme de l'encens (Zhao A.- (2022)).....	8
Figure 8:arbuste de <i>Melaleuca alternifolia</i> (Jain, M. - 2016)	12
Figure 9:Fleurs de <i>Melaleuca alternifolia</i> ((Maiden & Betche) Cheel, 1924).....	12
Figure 10:Etapes d'extraction de l'huile essentiel de <i>Boswellia carteri</i>	16
Figure 11: Etapes de Macération <i>Ziziphus spina christi</i> dans <i>Simmondsia chinensis</i>	18
Figure 12:Repiquage des souches bactériennes	20
Figure 13:Les étapes de méthode de diffusion sur puits	21
Figure 14: Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boite de Pétri (Zaika, 1988).	21
Figure 15:Préparation du test CMI dans la microplaqué	22
Figure 16:Protocole du test antibactérien Biofilm	24
Figure 17:Protocole préparatif du test anti-inflammatoire	25
Figure 18:Le test d'AMES avec du métabolisme	28
Figure 19:Protocole préparatif du test anti oxydant.....	29
Figure 20:préparation du sérum.....	31
Figure 21:macération à froid de l'encens	31
Figure 22:Rendement L'huile essentielle de <i>Boswellia carterii</i>	32
Figure 23:Rendement du Macérât de <i>Ziziphus spina christi</i> dans <i>Simmondsia chinensis</i> ..	32
Figure 24:les composés majeurs dans l'huile essentielle de <i>Boswellia carterii</i>	35
Figure 25:Diamètres de zone d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'encens.	38
Figure 26:Diamètres de zone d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle l'arbre à thé	39
Figure 27 :diamètres de zone d'inhibition de l'activité antimicrobienne de MSR	41
Figure 28:résultats des plaques de la CMI des huiles testées	44
Figure 29:Résultats du test biofilm en tubes	46
Figure 30:Évaluation de l'effet anti-inflammatoire des huiles sur la dénaturation des protéines sériques.....	48
Figure 31:Contrôle positif et négatif (a) du test (b).....	49
Figure 32:Les colonies bactériennes de chaque huile sans S9 mix	50
Figure 33:Résultat des colonies bactérienne avec la fraction S9mix	51
Figure 34:pourcentage d'inhibition de l'activité oxydante en fonction des concentration des extraits et détermination de IC50	53
Figure 35:Diagramme Bioavailability Radar (WLOGP vs TPSA).....	56
Figure 36:Cibles moléculaires des molécules bioactives <i>Boswellia carterii</i>	58
Figure 37:Cibles moléculaires des molécules bioactives <i>Melaleuca alternifolia</i>	59

Figure 38:Sérum	62
Figure 39:Spray	63

Liste des tableaux

Tableau 1: Profil phytochimique de Boswellia carterii.....	8
Tableau 2:biomolécules de Melaleuca alternifolia	12
Tableau 3:Etape d'extraction par hydrodistillation.....	17
Tableau 4:Protocole de macérât pour Ziziphus spina christi	18
Tableau 5:Microorganismes testées	20
Tableau 6:Le rendement des huiles	33
Tableau 7:Propriétés physicochimiques de l'huile essentielle ES.....	34
Tableau 8:Propriétés physicochimiques de l'huile essentielle AT	34
Tableau 9:résultats de l'activité antimicrobienne aux différentes concentrations de l'huile essentielle de ES.....	37
Tableau 10:résultats de l'activité antimicrobienne aux différentes concentrations de l'huile essentielle de AT	39
Tableau 11:résultats de l'activité antimicrobienne aux différentes concentrations de l'huile essentielle de MSR	41
Tableau 12:résultats de l'activité antifongique pour le Mélange des huiles(AT ES MSR)	43
Tableau 13:Résultats de CMI des huiles testés.....	44

Résumé

Notre étude vise à valoriser les extraits végétaux et huiles essentielles dans le développement des produits biopharmaceutiques. L'objectif principal est de formuler des produits dermocaustiques bioactifs à base de composés naturels, tout en évaluant leur efficacité biologique, leur tolérance, et leur mécanisme d'action à travers une approche expérimentale et computationnelle. Des extraits issus de *Boswellia carterii* et *Melaleuca alternifolia* ont été intégrés dans différentes formulations biopharmaceutiques et soumis à une série d'analyses phyto-chimiques et biologiques. L'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique a été réalisée *in vitro* par la méthode de diffusion en milieu gélosé, permettant de déterminer la capacité des extraits à inhiber la croissance de souches pathogènes. Une étude complémentaire sur la formation du biofilm en tubes a été menée pour analyser l'effet des extraits sur l'adhésion bactérienne, révélant une inhibition significative du biofilm. L'activité antioxydante des extraits a été mesurée selon une méthode quantitative par puits, révélant des performances variables selon la nature de l'extrait et la dilution, avec certains composés montrant une forte capacité à neutraliser les radicaux libres. Un test de mutagénicité (test d'Ames) a été réalisé, démontrant l'absence d'effet génotoxique des extraits utilisés, ce qui valide leur usage potentiel en cosmétique.

Une analyse approfondie de la composition phytochimique des huiles essentielles a été effectuée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-MS). Enfin, une étude *in silico* a été conduite afin de modéliser les interactions entre les principales molécules actives et des cibles biologiques cutanées, comme les enzymes inflammatoires ou les récepteurs impliqués dans l'oxydation et les infections microbiennes. Cette simulation a permis de prédire la stabilité, l'affinité de liaison et les mécanismes d'action des composés à l'échelle moléculaire, renforçant les données expérimentales.

Mots clés : huiles essentielles, *Boswellia carterii* ; *Melaleuca alternifolia*, activité antimicrobienne, activité antioxydante ; activité anti-inflammatoire ; test d'Ames ; GC-MS ; interaction moléculaire (synérgie), biofilm

Abstract

Our study aims to promote the use of plant extracts and essential oils in the development of biopharmaceutical products. The main objective is to formulate bioactive dermocosmetic products based on natural compounds, while assessing their biological efficacy, tolerance, and mechanism of action through both experimental and computational approaches.

Extracts from *Boswellia carterii* and *Melaleuca alternifolia* were incorporated into various biopharmaceutical formulations and subjected to a series of phytochemical and biological analyses. The antibacterial and antifungal activities were evaluated **in vitro** using the agar diffusion method, allowing the determination of the extracts' ability to inhibit the growth of pathogenic strains. A complementary study on biofilm formation in tubes was carried out to analyze the effect of the extracts on bacterial adhesion, revealing significant biofilm inhibition, which highlights their potential in preventing persistent skin infections. The antioxidant activity of the extracts was measured using a quantitative well diffusion method, showing variable results depending on the nature of the extract and its dilution, with some compounds exhibiting strong free radical scavenging ability. To assess the biological safety of the formulations, a mutagenicity assay (Ames test) was conducted, demonstrating the absence of genotoxic effects of the tested extracts, thereby supporting their potential use in cosmetics. An in-depth chemical composition analysis of the essential oils was performed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), enabling the identification of the main active molecules responsible for the observed biological activities. Finally, an *in silico* study was carried out to model the interactions between the main active compounds and cutaneous biological targets such as inflammatory enzymes and receptors involved in oxidation and microbial infections. This simulation allowed for the prediction of the stability, binding affinity, and mechanisms of action of the compounds at the molecular level, reinforcing the experimental findings.

Keywords

Essential oils, *Boswellia carterii*; *Melaleuca alternifolia*, antimicrobial activity, antioxidant activity; anti-inflammatory activity; Ames test; GC-MS; molecular interaction (synergy), biofilm

ملخص

يهدف هذا البحث إلى إبراز قيمة المستخلصات النباتية والزيوت الأساسية في تطوير منتجات بيوصيدلانية وفعالة وأمنة. يتمثل الهدف الرئيسي في ترطيب منتجات جلدية تجميلية نشطة بيولوجياً تعتمد على مركبات طبيعية، مع تقييم فعاليتها البيولوجية، وتحملها، وأالية عملها من خلال منهجية تجريبية راحسوبية.

في تركيبات *Boswellia carterii* و *Melaleuca alternifoli* في هذا السياق، تم دمج مستخلصات من البيولوجية. تم تقييم النشاط المضاد بيوصيدلانية مختلفة وخضعت هذه التركيبات لسلسلة من التحاليل الفيتكيمياتية للبكتيريا والفطريات داخل المختبر باستخدام طريقة الانتشار على وسط الأجار، لتحديد قدرة المستخلصات على تثبيط نمو السلالات الممرضة. كما أجريت دراسة إضافية على تكوين الأغشية الحيوية داخل الأنابيب لتحليل تأثير المستخلصات على التصاق البكتيريا، وأظهرت النتائج تثبيطاً ملحوظاً لتكوين الأغشية الحيوية، مما يعزز من فاعليتها في الوقاية من الالتهابات الجلدية المزمنة.

بالتوالي، تم قياس النشاط المضاد للأكسدة للمستخلصات باستخدام طريقة آبار كمية، حيث أظهرت النتائج تفاوتاً في الفعالية حسب نوع المستخلص وتركيزه، مع بروز بعض المركبات ذات قدرة عالية على تحديد الجنور الحرة

، وأظهرت النتائج عدم (Ames) اختبار ولتقييم السلامة البيولوجية للتركيبات، تم إجراء اختبار السمية الجينية. وجود تأثير مطفر للمستخلصات المستخدمة، مما يدعم إمكانية استخدامها في مستحضرات التجميل

كما تم إجراء تحليل عميق للمكونات الكيميائية للزيوت الأساسية باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية المقترنة، مما مكّن من تحديد المركبات النشطة الرئيسية المسؤولة عن الأنشطة البيولوجية (GC-MS) بمطياف الكثافة الملحوظة

لنمذجة التفاعلات بين المركبات النشطة الرئيسية والأهداف (in silico) وأخيراً، تم إجراء دراسة حاسوبية البيولوجية الجلدية مثل الإنزيمات الالتهابية والمستقبلات المرتبطة بالأكسدة والعدوى الميكروبية. وقد مكّنت هذه المحاكاة من التنبؤ بالثبات الجزيئي، وقوّة الارتباط، وأالية عمل المركبات على المستوى الجزيئي، مما يعزز النتائج التجريبية

الكلمات المفتاحية

، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط *Boswellia carterii*؛ *Melaleuca alternifolia* الزيوت الأساسية؛ الكروماتوغرافيا الغازية - (Ames) اختبار المضاد للأكسدة؛ النشاط المضاد للالتهابات؛ اختبار السمية الجينية؛ التفاعل الجزيئي ، الغشاء الحيوي(GC-MS) مطياف الكثافة

Table de matière

Remerciement

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des Figuers

Liste des tableaux

Résumé Résumé en arabeAbstract

Introduction..... 1

Chapitre I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Les principales molécules actives des huiles essentielles	3
I.1.1. Les monoterpènes	3
I.1.2. Les sesquiterpènes	3
I.1.3. Les alcools monoterpéniques	4
I.1.4. Les phénols.....	4
I.1.5. Les cétones	4
I.1.6. Les aldéhydes	5
I.1.7. Les oxydes	5
I.2. <i>Boswellia carterii</i>	6
I.2.1. Classification botanique et taxonomie	6
I.2.2. Description morphologique et botanique	6
I.2.3. Profil Phytochimique de <i>Boswellia carterii</i>	8
I.2.4. Activités biologiques	9
I.3. <i>Melaleuca alternifolia</i>	10
I.3.1. Classification botanique et taxonomie	11
I.3.2. Description morphologique et botanique	11
I.3.3. Profil Phytochimique de <i>Melaleuca alternifolia</i>	12
I.3.4. Activités biologiques.....	13
I.4. Les formulations biopharmaceutiques.....	14
I.4.1. Les crèmes hydratantes biologiques	14
I.4.2. Les sérum.....	14
I.4.3. Les sérum huileux	14
I.4.4. Les lotions toniques	15

I.4.5. Les masques	15
Chapitre II	
Matériels et Méthodes	
II.1 Préparation du matériel végétal	16
 II.1.1. Extraction des huiles essentielles	16
 II.1.2. Détermination et calcul du rendement.....	19
II.2. L'Analyse Chimiques par Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).....	19
II.3. Activités biologiques	20
 2.3.1. Activité antimicrobienne	20
 II.3.2. Activité anti-inflammatoire.....	24
 II.3.3. Evaluation du potentiel mutagène.....	25
 II.3.4 Evaluation anti oxydante.....	28
II.4. Évaluation in silico du potentiel pharmacologique des composés actifs de <i>Boswellia carteri</i> et <i>Melaleuca alternifolia</i>.....	30
II.5. Formulation du produit biopharmaceutique a base de.....	30
Chapitre III	
Résultats et discussions	
III.1. Rendement des huiles.....	32
 III.1.1. Rendement du macérât <i>Ziziphus spina christi</i> dans <i>Simmondsia chinensis</i>..	32
III.2. Caractéristiques chimiques et organoleptiques	33
III.3. Activités biologiques.....	36
 III.3.1. Activité antimicrobienne.....	36
 III.3.2. Activité anti Inflammatoire	48
 III.3.3 Evaluation du potentiel mutagène.....	49
III.5. Analyse pharmacocénétique.....	56
III.6. Prédiction des cibles moléculaires des molécules bioactives de <i>Boswellia carterii</i>	57
III.7. Prédiction des cibles moléculaires des molécules bioactives de <i>Melaleuca alternifolia</i>.....	58
III.8. Analyse comparative et synergie potentielle entre <i>Boswellia carterii</i> et <i>Melaleuca alternifolia</i>.....	59
III.9. Les produits élaborés à partir des extraits végétaux	61
Conclusion	64

Références

Annaexes

introduction

Introduction

L'intérêt croissant pour les produits cosmétiques naturels et biologiques s'inscrit dans une dynamique mondiale de retour aux soins plus respectueux de la santé humaine et de l'environnement. Parmi ces produits, les huiles essentielles et les extraits végétaux occupent une place centrale, notamment en raison de leurs multiples propriétés biologiques, telles que les activités antimicrobienne, antioxydante et non mutagène. Ces propriétés leur confèrent une valeur ajoutée dans la formulation de produits dermocosmétiques innovants et sûrs (Nazzaro et al., 2013 ; Burt, 2004).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils extraits de différentes parties de plantes aromatiques. Leurs composants majoritaires, tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes et les phénols, sont reconnus pour leurs effets thérapeutiques et cosmétiques variés (Sharifi-Rad et al., 2020). Leur efficacité a été démontrée contre une large gamme de micro-organismes, ce qui suscite un intérêt croissant pour leur intégration dans les formulations cosmétiques naturelles, en particulier dans le contexte de la résistance microbienne aux conservateurs chimiques de synthèse (Raut & Karuppayil, 2014).

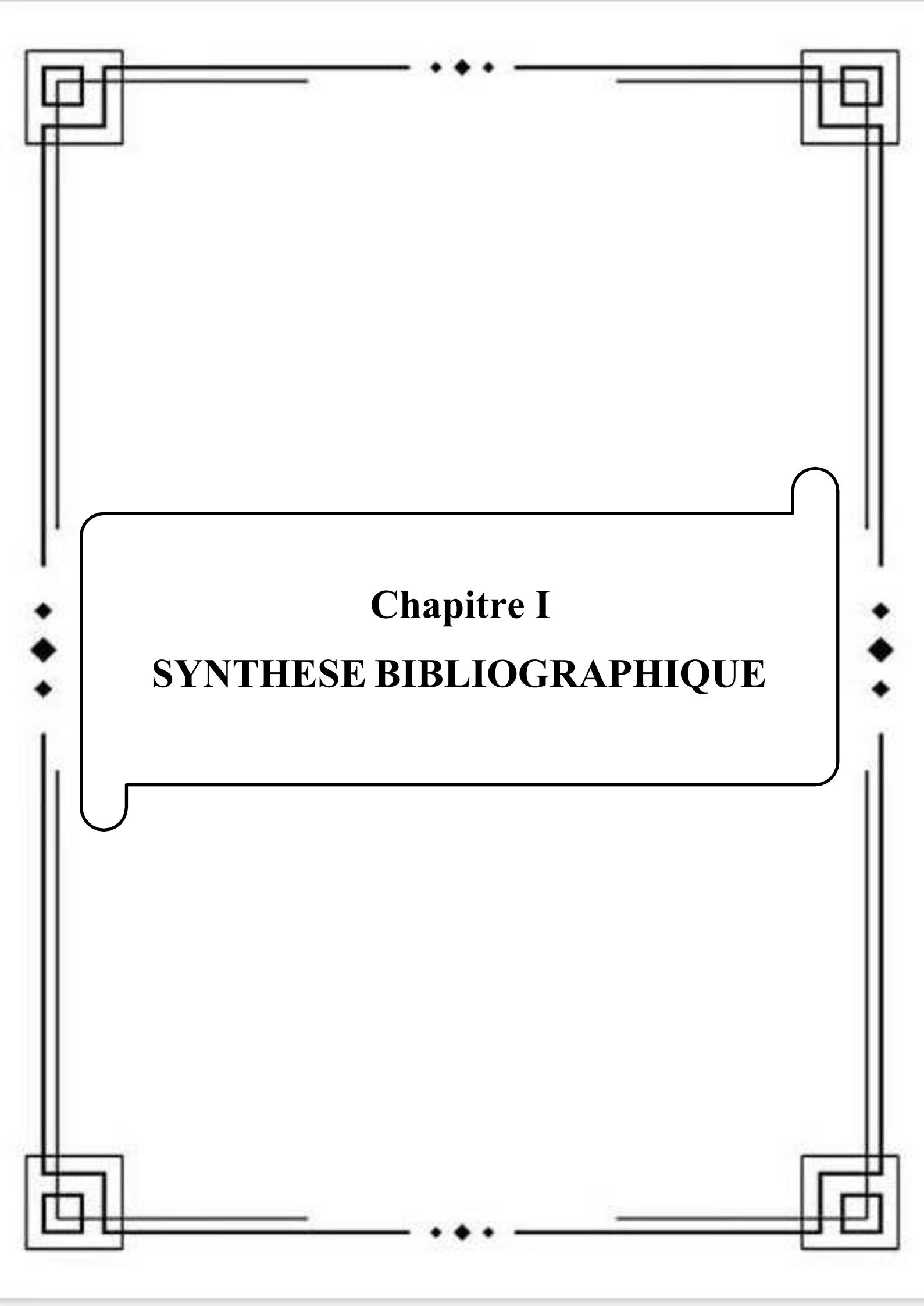
Parallèlement, le marché des cosmétiques biologiques connaît une croissance remarquable, portée par une demande accrue des consommateurs pour des produits plus sûrs, éthiques et écologiques. Cette tendance favorise la recherche de nouvelles méthodes de formulation utilisant des ingrédients issus de l'agriculture biologique, sans additifs nocifs, et respectant les normes internationales telles que COSMOS ou ECOCERT (Martins et al., 2022).

Dans ce contexte, l'étude et la valorisation des extraits naturels à potentiel biologique élevé deviennent un enjeu majeur en dermatopharmacie. L'optimisation de leur incorporation dans des matrices cosmétiques adaptées repose sur une compréhension approfondie de leur composition chimique, de leur stabilité, ainsi que de leur mode d'action biologique, en vue d'assurer à la fois efficacité et innocuité pour la peau (Dantas Silva et al., 2021).

Ainsi, La présente étude s'inscrit dans une approche biopharmaceutique intégrée, visant à explorer les effets pharmacologiques conjoints de *Boswellia carterii* et *Melaleuca alternifolia*, à travers une évaluation combinée de leurs activités biologiques : antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire, antifongique. Elle

INTRODUCTION

repose sur une série d'analyses expérimentales *in vitro* : extraction ciblée des composés bioactifs (hydrodistillation pour *l'encens* et *l'arbre à thé*), caractérisation chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), test DPPH pour l'évaluation du pouvoir antioxydant, analyse de l'activité antibactérienne (diffusion sur gélose, inhibition de biofilms), test d'Ames pour la mutagénicité. En complément, une approche *in silico* a été intégrée afin d'explorer le profil pharmacocinétique des principales molécules identifiées (ADME-Tox) ainsi que leur affinité de liaison avec des cibles biologiques clés impliquées dans l'inflammation, le stress oxydatif et les mécanismes bactériens



Chapitre I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Les principales molécules actives des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) constituent une catégorie de produits naturels complexes, riches en composés volatils qui leur confèrent diverses propriétés biologiques. Leur efficacité, qu'elle soit pharmacologique, cosmétique ou conservatrice, est principalement liée à la diversité et à la nature de leurs constituants chimiques, dont les plus significatifs appartiennent à plusieurs grandes classes bioactives. (Bakkali, et al (2008)

I.1.1. Les monoterpènes

Représentent les hydrocarbures les plus couramment trouvés dans les huiles essentielles. Ils se distinguent par leur faible poids moléculaire et leur grande volatilité. Des composés tels que le limonène et l' α -pinène sont reconnus pour leurs activités antiseptiques, anti-inflammatoires et antioxydantes. Par exemple, le limonène, majoritaire dans les huiles d'agrumes, a démontré des effets protecteurs contre le stress oxydatif, tandis que l' α -pinène, présent dans le romarin, possède des propriétés décongestionnantes et anti-inflammatoires (Bakkali et al., 2008). **Formule chimique :** C₁₀H₁₆ (Bakkali, et al 2008)

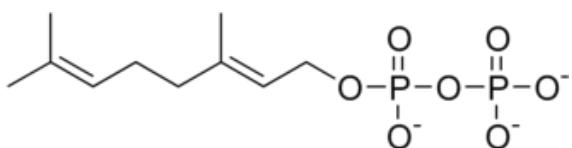


Figure 1: Structure chimique des monoterpènes (Dominick V. Spracklen, et al 2008)

I.1.2. Les sesquiterpènes

Comme le β -caryophyllène, sont des molécules plus lourdes et moins volatiles, connues pour leur stabilité chimique. Ce dernier est particulièrement reconnu pour son interaction avec les récepteurs cannabinoïdes de type 2 (CB2), lui conférant des propriétés anti-inflammatoires notables, ce qui en fait un constituant d'intérêt dans les formulations à visée thérapeutique (Russo, 2011).

Formule chimique : C₁₅H₂₄ (Russo, R., et al. (2011)

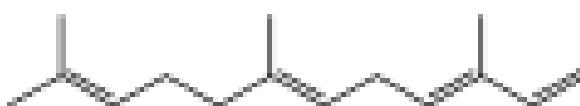


Figure 2:Structure chimique des sesquiterpènes (Xing-Chung Cheng et al 1994)

I.1.3. Les alcools monoterpéniques

Tels que le linalol, le géraniol ou le menthol, sont des composés à activité antimicrobienne marquée, tout en étant généralement bien tolérés par la peau. Le linalol, présent dans la lavande, est reconnu pour ses effets calmants et sédatifs, tandis que le géraniol, extrait notamment du géranium, est largement utilisé pour ses actions antifongiques et tonifiantes (Burt, 2004).

Formule chimique : C₁₀H₁₈O (Peana, A. T., et al. (2002))

I.1.4. Les phénols

Comme le thymol, le carvacrol et l'eugénol, qui comptent parmi les composés les plus puissamment antimicrobiens des huiles essentielles. Ces molécules, bien que très efficaces, présentent une certaine cytotoxicité à fortes doses et nécessitent une utilisation contrôlée dans les produits cosmétiques ou thérapeutiques. Elles sont capables d'altérer la perméabilité des membranes microbien, ce qui explique leur large spectre d'action (Nostro et al., 2004).

Formule chimique : C₆H₅OH (Marchese, A., et al. (2016))

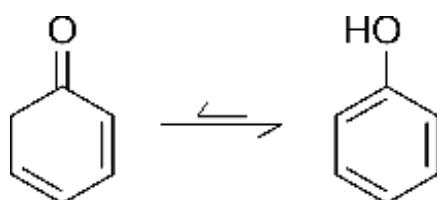


Figure 3:Structure chimique des phénoles (David R. Lide, 2008)

I.1.5. Les cétones

Telles que la menthone, le camphre ou la verbénone, sont impliquées dans des effets cicatrisants, mucolytiques et parfois neuroactifs. Bien que certaines soient bénéfiques, d'autres peuvent présenter une neurotoxicité potentielle, ce qui impose leur usage avec précaution dans les formulations destinées à l'usage prolongé (Jäger et al., 1992).

Formule chimique : C=O sur carbone secondaire (Lawrence, B. M. (2007).)

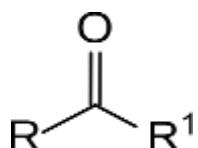


Figure 4:Formule chimique des (Jacques Metzger et al 2024)

I.1.6. Les aldéhydes

Tels que le citral ou le cinnamaldéhyde, sont également dotés d'un fort pouvoir antimicrobien. Le citral, abondant dans les huiles de citronnelle, exerce un effet inhibiteur notable sur de nombreuses souches bactériennes, tandis que le cinnamaldéhyde, extrait de la cannelle, est reconnu pour ses effets fongicides puissants (Helander et al., 1998).

Formule chimique : CHO (Höferl, M., Krist, S., & Buchbauer, G. (2009)

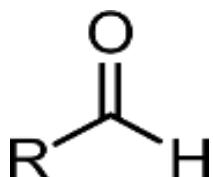


Figure 5:Formule chimiques des aldéhydes (Justus von liebig 1835)

I.1.7. Les oxydes

Notamment le 1,8-cinéole ou eucalyptol, jouent un rôle essentiel dans les affections respiratoires. Ce composé, présent dans l'Eucalyptus globulus, possède des propriétés expectorantes et anti-inflammatoires bien documentées, justifiant son usage dans les préparations destinées à soulager les voies respiratoires (Juergens et al., 2003)

Formule chimique brute : C₁₀H₁₈O (Juergens, U. R., Stöber, M., Vetter, H. (2003).)

I.2. *Boswellia carterii*

Boswellia carterii Birdw, en français : *oliban / encense*, en arabe : لبان الذكر / لبان الصمغ العربي et en anglais : *frankincense*. Le nom « *Birdw.* » fait référence au botaniste britannique *James Birdwood*, qui a décrit l'espèce. D'autres Synonymes botaniques :

- *Boswellia sacra* var. *carterii* (Mabberley, D.J. 2017).

Les *Boswellia* produisent une résine aromatique appelée encens, récoltée à partir de l'écorce. Ces arbres sont originaires des zones arides de la corne de l'Afrique (Somalie, Ethiopie) et de certaines régions d'Arabie (Yémen, Oman), notamment elles sont bien adaptées à des conditions climatiques rigoureuses, souvent observées dans des zones semi-désertiques (*Miller, A.G., & Morris, M. (1988)*)

L'encens est utilisé depuis des siècles dans diverses cultures pour ses propriétés aromatiques et rituelles (*Miller, A.G., & Morris, M. - 1988*)

I.2.1. Classification botanique et taxonomie

- **Règne** : *Plantae*
- **Division (phylum)**: *Tracheophyta*
- **Classe** : *Magnoliopsida* (ou *Dicotyledonae*)
- **Ordre** : *Sapindales*
- **Famille** : *Burseraceae*
- **Genre** : *Boswellia*
- **Espèce** : *Boswellia carterii* (*Miller, A.G., & Morris, M. (1988)*).

I.2.2. Description morphologique et botanique

Elles se présentent sous forme d'arbres ou d'arbustes à feuillage persistant.

Le feuillage des *Boswellia* est généralement composé de feuilles pennées, alternes et parfois coriaces. Les fleurs sont petites, de couleur blanche ou jaune, et se regroupent en panicules terminales. Des capsules faisant office de fruits, renferment les graines de *Boswellia* (*Daly 2010*) (Figure 2.1).



Figure 6:: Description morphologique des feuilles et fleurs des Boswellia (Birdwood, G.C.M. 1887)

La gomme oléorésine de l'encens est un liquide blanchâtre et visqueux qui s'écoule le long du tronc incisé, sous forme de larmes (Figure 2.2). Une sève laiteuse éxsude via les canaux d'arbre résulte l'oxydation et l'évaporation des composés volatiles après quelques jours, la résine durcit et se forme d'un solide translucide.

(Mark Barton Frank – 2009)

Consolidant progressivement la masse. L'huile essentielle qui en est tirée est un liquide fluide, incolore à jaune très pâle. Son parfum balsamique, boisé, résineux, présente une caractéristique note citronnée, sans être excessive (Tisserand R. & Young R. 2006).



Figure 7:Comme de l'encens (Zhao A.- (2022)).

I.2.3. Profil Phytochimique de *Boswellia carterii*

La composition phytochimique est illustrée dans le tableau 2.1 :

Tableau 1: Profil phytochimique de *Boswellia carterii*

Composition	Propriétés et mode d'action	Référence
Acide boswellique (Boswellic Acid)	L'acide boswellique est un triterpène pentacyclique présent en grande quantité dans la résine de Boswellia. Il est reconnu pour ses propriétés anti-inflammatoires, notamment dans le traitement de maladies chroniques comme l'arthrite. Il agit en inhibant des enzymes clés telles que la 5-lipoxygénase, réduisant ainsi la production de leucotriènes, des médiateurs inflammatoires puissants	(Smith, 2020).
Acides lupaniques (Lupane Triterpenes)	Les acides lupaniques, tels que l'acide β -bétulinique, sont connus pour leurs propriétés anticancéreuses et anti-inflammatoires. Ces composés agissent en induisant l'apoptose dans les cellules cancéreuses tout en inhibant les cytokines pro-inflammatoires	(Johnson & Lee, 2019).

Composés terpéniques (Monoterpènes et Sesquiterpènes)	Les monoterpenes comme l'α-pinène et le limonène, ainsi que les sesquiterpènes, sont largement présents dans l'encens. Ils sont utilisés pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques et calmantes. Ces molécules agissent également comme agents détoxifiants pour le système respiratoire.	(Ahmed et al., 2021).
Flavonoïdes	Les flavonoïdes présents dans l'encens offrent une protection antioxydante significative. Ils neutralisent les radicaux libres, réduisant ainsi le stress oxydatif et prévenant les dommages cellulaires. Ces propriétés jouent un rôle clé dans la prévention de nombreuses maladies dégénératives	(Kumar & Singh, 2022).

I.2.4. Activités biologiques

I.2.4.1. Activité Anti-inflammatoire

Des cembranoïdes alcooliques extraits de la résine de *Boswellia carterii* ont montré des propriétés anti-inflammatoires notables en réduisant la production de NO dans les cellules RAW 264.7 activées par le LPS (*Jiaguo Liu et al., 2021*)

Notamment, les composés tels que les saponines et les triterpènes réduisent les inflammations cutanées et apaisent les irritations. Ces effets sont particulièrement bénéfiques pour les peaux sensibles ou sujettes aux affections inflammatoires, réduction des rougeurs et amélioration des conditions inflammatoires comme l'eczéma. (*Jiaguo Liu et al., 2021*)

I.2.4.2. Activité Antimicrobienne

L'encens montre une action antimicrobienne significative contre différentes espèces microbiennes. Elle inhibe le développement de bactéries Gram-positives comme *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, ainsi que des levures comme *Candida albicans* et spécifiquement contre *Bacillus cereus*. (Borotová, P. -2023)

I.2.4.3. Activité antioxydante :

L'huile essentielle de cette espèce contient certains composés bioactifs capables de lutter efficacement contre le stress oxydatif. Elle neutralise les radicaux libres responsables sur l'activité oxydante tels que le DPPH et ABTS, son activité est notamment comparable à celle d'antioxydants de référence comme le Trolox (Sohaib Hourfane – 2022)

I.2.4.4. Activité antifongique :

Elle présente un bon potentiel antipathogène spécifiquement antifongique. Grâce à sa richesse de certaines biomolécules elle a une capacité d'empêcher des champignons fréquents comme *Candida albican* ((Sabra, S. M.- 2014)

I.3. *Melaleuca alternifolia*

Premièrement décrit par Maiden & Betche (1905) sous le nom *Melaleuca linariifolia* var. *alternifolia*. Puis reclassé comme *Melaleuca alternifolia* par Cheel en 1925. Son nom vernaculaire en français : *Arbre à thé*, en arabe : شجرة الشاي et en anglais : *Tea tree*. Elle est également connue par des Noms vernaculaires étrangers tels que : *Narrow-leaved paperbark*, *Narrow-leaved tea-tree*, *Narrow-leaved ti-tree*, *Snow-in-summer* (Maiden, J.H. (1905).

. D'autres synonymes botaniques :

- *Melaleuca linariifolia* var. *alternifolia*
- *Myrtus alternifolia* (Maiden, J.H., & Betche, E. (1905).

Cette plante est originaire d'Australie et de Nouvelle-Zélande. Elle se retrouve aujourd'hui répartie à travers plusieurs régions du monde, notamment en Australie, en Asie, en Afrique et en Europe. Il s'agit d'une plante vivace à croissance

rapide, pouvant atteindre jusqu'à 8 mètres de hauteur. Elle s'adapte bien aux expositions en plein soleil ou à mi-ombre, tout en ayant un faible besoin en eau. Sa multiplication peut se faire par semis ou par bouturage (*Watt, P. A - 2003*).

I.3.1. Classification botanique et taxonomie

- **Règne** : Plantae
- **Division** : Magnoliophyta
- **Classe** : Magnoliopsida
- **Ordre** : Myrales
- **Famille** : Myrtaceae
- **Genre** : Melaleuca
- **Espèce** : *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel

I.3.2. Description morphologique et botanique

L'Arbre à thé est un arbuste persistant à la végétation buissonnante et compacte. Il est pourvu de longues feuilles très fines et aromatiques d'un beau vert foncé (**Figure 3.1**)

Ses fleurs mellifères et filamenteuses sont groupées en épis ou en goupillons. Elles présentent une magnifique et resplendissante couleur blanche et sont munies de longues étamines saillantes, une floraison estivale et abondante qui ressemble beaucoup à celle des Callistémens. Les fruits du tea tree sont des capsules ligneuses groupées le long des tiges. (**Figure 3.2**)



Figure 8:arbuste de *Melaleuca alternifolia* (Jain, M. - 2016)



Figure 9:Fleurs de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche Cheel, 2024)

)

1.3.3. Profil Phytochimique de *Melaleuca alternifolia*

La composition chimique de l'espèce est illustrée dans le tableau

Tableau 2:Biomolécules de *Melaleuca alternifolia*

Composition	Pourcentage	Propriétés et mode d'action
Terpinène-4-ol	30–48 %	Composé majeur de l'huile essentielle, il est reconnu pour ses propriétés antibactériennes et anti-inflammatoires. Il est particulièrement efficace contre les bactéries responsables de l'acné, telles que <i>Cutibacterium acnes</i> , et aide à réduire les rougeurs et les inflammations cutanées.
α-Terpinéol	2–5 %	Cet alcool monoterpénique possède des propriétés antiseptiques et contribue à l'effet purifiant de l'huile essentielle. Il est utilisé dans des produits ciblant les peaux grasses ou sujettes aux imperfections.

1,8-Cinéole (eucalyptol)	10 %	Bien que présent en faible quantité, ce composé offre des effets rafraîchissants et apaisants, utiles dans les soins capillaires pour les cuires chevelus sensibles ou sujets aux pellicules
γ -Terpinène et α -Terpinène		Ces monoterpènes hydrocarburés renforcent les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle et participent à son efficacité dans les produits de soin de la peau.

Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (2006). Sharifi-Rad, M., et al.

(2017)

I.3.4. Activités biologiques

I.3.4.1. Activité anti-inflammatoire

Un potentiel thérapeutique contre l'activité anti-inflammatoire par cette huile essentielle grâce à son composé actif, le terpinen-4-ol, en outre sa capacité rapide et notable de cicatrisation. (*Kaur P - 2025*)

I.3.4.2. Activité antimicrobienne

L'huile essentielle de cet espèce est significativement active contre divers micro-organismes telles que les bactéries Gram-positives (par ex : *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*), les bactéries Gram-négatives (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*), et également les levures pathogènes comme *Candida albicans*. ((*Hammer KA. 2006–2003*)

I.3.4.3. Activité antioxydante

Une activité anti-oxydante notable a été démontré dans plusieurs études récentes. L'huile de *M. alternifolia* a une bonne capacité de piégeage des radicaux libres qui sont responsables de l'oxydation telles que les radicaux organiques azotés comme le DPPH, et les radicaux inorganiques comme les Hydroxyles. (*Kumar A - 2018*)

I.4. Les formulations biopharmaceutiques

I.4.1. Les crèmes hydratantes biologiques

Les crèmes hydratantes bio sont généralement formulées sous forme d'émulsions huile-dans-eau (O/W), idéales pour l'usage facial en raison de leur texture légère et non grasse. La phase aqueuse est composée d'hydrolats, tandis que la phase huileuse contient des huiles végétales biologiques. Les émulsifiants naturels assurent la stabilité du mélange, lequel est préparé par chauffage séparé des phases à 70 °C puis émulsification sous agitation. Les actifs thermosensibles tels que l'aloë vera ou la vitamine E sont ajoutés en phase de refroidissement. Le pH est ajusté entre 5.0 et 5.5 pour respecter le pH physiologique de la peau du visage. Ce type de formulation offre une hydratation optimale tout en étant respectueux de la barrière cutanée. (Lodén & Maibach, 2012)

I.4.2. Les sérum

Les sérum bio sont des formules concentrées en actifs hydrosolubles, présentées sous forme de solutions aqueuses ou de gels légers. Ils sont formulés à base d'hydrolats floraux ou d'eaux purifiées, épaisse par des agents naturels. Des principes actifs comme l'acide hyaluronique, la vitamine C ou les extraits de plantes y sont incorporés pour cibler des fonctions précises telles que l'éclat, l'hydratation ou la régénération cellulaire. Un conservateur naturel est ajouté pour éviter toute contamination microbienne. Le pH est maintenu autour de 5.5 afin de garantir la compatibilité avec la peau du visage. Ces formules sont très bien tolérées et adaptées aux peaux sensibles. (Herman et al., 2013 ; Pires et al., 2019.)

I.4.3. Les sérum huileux

Les sérum huileux sont des formules sans phase aqueuse, composées exclusivement des huiles végétales et essentielles. Ce type de formulation permet de nourrir intensément la peau, de renforcer sa barrière lipidique et de fournir des actifs liposolubles. Les huiles utilisées (comme l'argan, le jojoba ou la rose musquée) sont sélectionnées pour leur affinité avec la peau et leur richesse en acides gras essentiels. (Boukhatem et al., 2014)

I.4.4. Les lotions toniques

Elles sont des solutions aqueuses légères composées principalement d'hydrolats floraux et d'extraits végétaux, avec des agents humectants comme la glycérine. Elles servent à rééquilibrer le pH de la peau après le nettoyage, à resserrer les pores et à préparer la peau à recevoir les soins suivants. La formulation inclut aussi des conservateurs naturels pour garantir la sécurité du produit. Ce type de produit est particulièrement bien toléré par tous les types de peaux, même les plus sensibles. (Saraf & Saraf, 2010.)

I.4.5. Les masques

Les masques bio sont élaborés soit sous forme de gels ou de crèmes enrichis en actifs naturels. Les masques à l'argile sont reconnus pour leurs propriétés absorbantes, purifiantes et détoxifiantes. Ils sont souvent mélangés à des hydrolats et des extraits végétaux pour renforcer leur efficacité. Les masques crème intègrent une base émulsionnée, des huiles végétales, des agents filmogènes et des extraits actifs. Ce type de soin permet un nettoyage en profondeur tout en respectant la nature de la peau. (Mohd et al., 2017.)

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Notre travail a été réalisé afin d'explorer les vertus de *Boswellia carterii* et *Melaleuca alternifolia* dans le but de l'élaboration d'un produit biopharmaceutique.

L'extraction a été effectuée au niveau de Laboratoire de BIO.EXTRAPAMAL,Oued Alleug,Blida, les activités biologiques a été réalisée au niveau des laboratoires de Projet de Fin d'étude (PFE) département de Biologie, faculté des sciences de la nature et de vie, Blida.

La caractérisation phytochimique a été réalisé au niveau de centre de recherche Analyse Physicochimique (CRAPC).

II.1 Préparation du matériel végétal :

Le matériel d'étude est constitué de deux espèces provenant de deux familles différentes:

Boswellia carterii et *Melaleuca alternifolia*

II.1.1. Extraction des huiles essentielles

➤ Extraction par hydrodistillation

A/*Boswellia carterii* :

Une hydro distillation est assurée grâce à un appareil de type alambic à vapeur (Distillation par entraînement à la vapeur d'eau ou l'alambic) (figure 2.1)



Figure 10:Etapes d'extraction de l'huile essentielle de *Boswellia carterii*

A: Montage de l'appareil de distillation **B:** Ajout de la matière végétale dans l'appareil **C:** Ajout de l'eau
D : Récupération du distillat **E:** Collecte du distillat dans un bêcher **F :** Séparation de la phase huileuse **J :** Mise en flacon de l'huile essentielle

Une quantité de 500g gomme-résine et imprégnée d'eau distillée (4L), l'approche techniques est illustrée sur le tableau 2.1 :

Tableau 3:Etape d'extraction par hydrodistillation

Etapes	Description
Préparation de la Matière Première	Utiliser 500g de gomme-résine de Boswellia. Concasser/Broyer impérativement la résine en petits morceaux (granules) pour optimiser l'extraction, sans la réduire en poudre fine qui pourrait coller.
Chargement de l'Alambic	Placer la résine concassée dans la cuve ou le panier de l'alambic. Ajouter suffisamment d'eau distillée ou déminéralisée dans la chaudière pour générer de la vapeur pendant toute la durée de la distillation (sans que la résine ne soit immergée si c'est un alambic à vapeur directe) enverrons 4L
Hydrodistillation	Chauffer l'alambic pour générer de la vapeur qui traversera la résine. Activer le système de refroidissement du condenseur pour liquéfier la vapeur et l'huile essentielle. Maintenir une chauffe constante et douce. La distillation est généralement longue (3 à 4 heures) pour extraire toutes les fractions de l'huile.
Collecte et Séparation	Le mélange d'huile essentielle et d'hydrolat s'écoulera dans un Florentin (séparateur d'essences). L'huile essentielle de Boswellia, plus légère que l'eau, flottera à la surface et pourra être récupérée délicatement

Camarda, et al.,2007.

B/ *Melaleuca alternifolia*

L'huile essentiel de *Melaleuca alternifolia* utilisée dans ces expérimentations est fourni par la boite biopharmaceutique Frey & Lau GmbH d'où l'extraction est faite par la méthode hydro distillation.

➤ Macération :

Afin d'exploité le maximum de potentiel synergique de l'activité biologique des deux huiles essentielles, on les a combinées a un macérat de *Ziziphus spina christi* (figure 2.2)

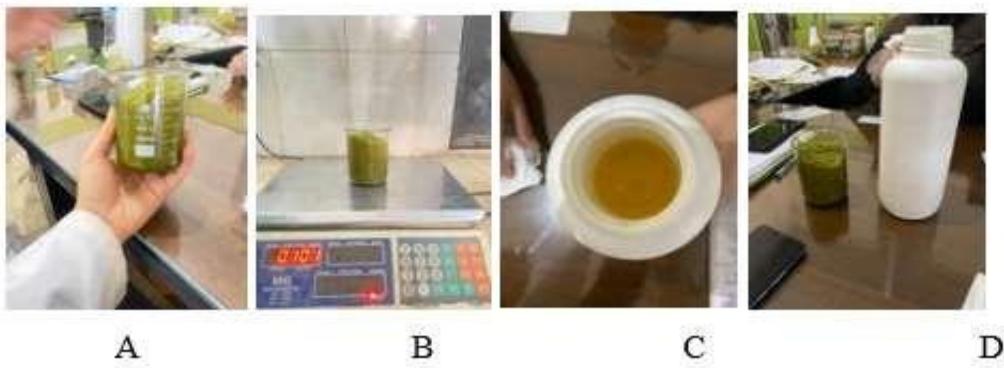


Figure 11: Etapes de Macération *Ziziphus spina christi* dans *Simmondsia chinensis*

A : Préparation de la matière végétale

B : Pesée de la matière végétale

C : Ajout du *Simmondsia chinensis* dans le récipient

D : Début de la macération dans le flacon

Tableau 4: Protocole de macérât pour *Ziziphus spina christi*

Etapes	Description
Broyage	Réduire les parties sèches en poudre grossière à l'aide d'un mortier ou d'un moulin adapté.
Préparation du macérat	Peser la poudre de Ziziphus (100 g). Verser la poudre dans un bocal en verre propre et stérilisé. Ajouter l'huile de jojoba (<i>Simmondsia chinensis</i>) pour recouvrir totalement la poudre (rapport classique : 1:3 à 1:5, soit 300 à 500mL d'huile pour 100 g de plante). Mélanger soigneusement pour bien enrober la poudre.
Macération	Fermer hermétiquement le bocal. Laisser macérer à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 4 à 6 semaines. Agiter doucement le bocal chaque jour pour favoriser l'extraction des principes actifs.
Filtration	Après la période de macération, filtrer le mélange à l'aide d'un papier whatman pour séparer l'huile des résidus végétaux. Presser les résidus pour extraire un maximum d'huile.
Conditionnement	Transvaser le macérat dans un flacon en verre teinté, propre et sec. Conserver à l'abri de la lumière et de la chaleur.

II.1.2. Détermination et calcul du rendement

➤ *Boswellia carteri*

Le rendement est la quantité maximale d'huile essentielle que donne une masse donnée de végétal pendant une période donnée. C'est le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue sur la masse du matériel végétal utilisé.

On a calculé le rendement en utilisant la relation suivante :

$$R (\%) = \text{Masse (HE) / Masse (M V)} \times 100$$

R (%): Rendement en pourcentage

Masse (HE) : masse de l'huile essentielle.

Masse (MV) : masse du matériel végétal. (Merabet, 2018)

➤ Rendement du macérât de *Ziziphus spina christi*

$$R\% = (V_i / V_f) \times 100$$

(R%): Rendement en pourcentage

Vf: Volume final obtenu après macération (mL)

Vi: Volume initial de solvant (huile de jojoba , en mL)

II.2. L'Analyse Chimiques par Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS)

Les analyses en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) ont été réalisées à l'aide d'un appareil de type Shimadzu TQ-8030 MC/W/0, au sein du Centre de Recherche en Analyse Physico-Chimique (CRAPC) de Tipaza. L'appareil est équipé d'un détecteur de masse et d'une colonne capillaire en silice fondue de 30 mètres de long, avec un diamètre interne de 0,25 mm et une épaisseur de film de 0,25 µm. Le programme de température de la colonne est établi de 50 °C à 250 °C, avec une montée progressive de 2 °C/min sur une durée totale de 43,33 minutes. La température de l'injecteur et celle du détecteur sont toutes deux fixées à 250 °C. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium, avec un débit de 0,5 mL/min. Un volume de 0,5 µL d'huile essentielle, préalablement diluée à 10 % dans un solvant approprié, a été injecté pour l'analyse.

II.3. Activités biologiques :

2.3.1. Activité antimicrobienne :

Le matériel microbiologique est constitué de quatre souches bactériennes de référence et une souche phagique (Tableau 2.3) :

Tableau 5:Microorganismes testées

Les souches microbiennes testées	Nom de souche	Origine	
Souches bactériennes	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Gram +
	<i>Echerichia coli</i>	ATCC 8739	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	Gram -
	(<i>E. fécales</i>)	ATCC 25922	Gram +
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	Gram -
Souche fongique	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC16404	Champignons Mycéliens

➤ Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 24 heure afin d'obtenir une culture et des colonies isolées.



Figure 12:Repiquage des souches bactéries

➤ Méthode de diffusion sur gélose

La méthode de diffusion sur gélose par puits a été adoptée pour évaluer qualitativement l'activité microbienne des différentes huiles testées. Cette méthode consiste à distribuer les extraits dans des puits creusés dans la gélose ensemencée (figure 2.4), permettant la diffusion radiale des substances et la formation éventuelle de zones (Balouiri. 2016).

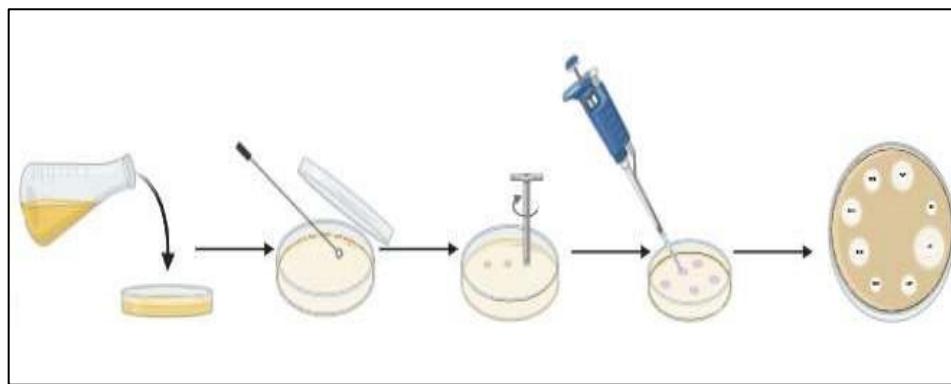


Figure 13:Les étapes de méthode de diffusion sur puits

L'activité inhibitrice des différents composés sur la croissance du mycélium des agents phytopathogènes est déterminée en mesurant la croissance radiale du champignon sur le milieu de culture, La mêmes opérations ont été effectuées avec souche fongique *aspergillus sp* (figure 2.5).

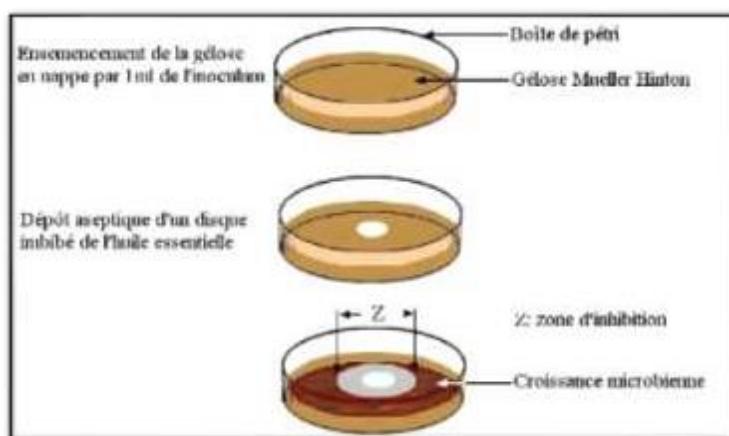


Figure 14: Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri (Zaika, 1988).

❖ Concentration Minimale Inhibitrice et effet synergique

Elle est définie comme la plus faible concentration d'un antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible d'un micro-organisme après une incubation standardisée

Plusieurs méthodes peuvent être employées pour mesurer la CMI, parmi lesquelles la microdilution en milieu liquide (microplaques 96 puits) reste la plus répandue en raison de sa fiabilité, sa sensibilité, et sa standardisation (*CLSI, 2020*)

La figure 2.6 illustre la démarche technique procédées :

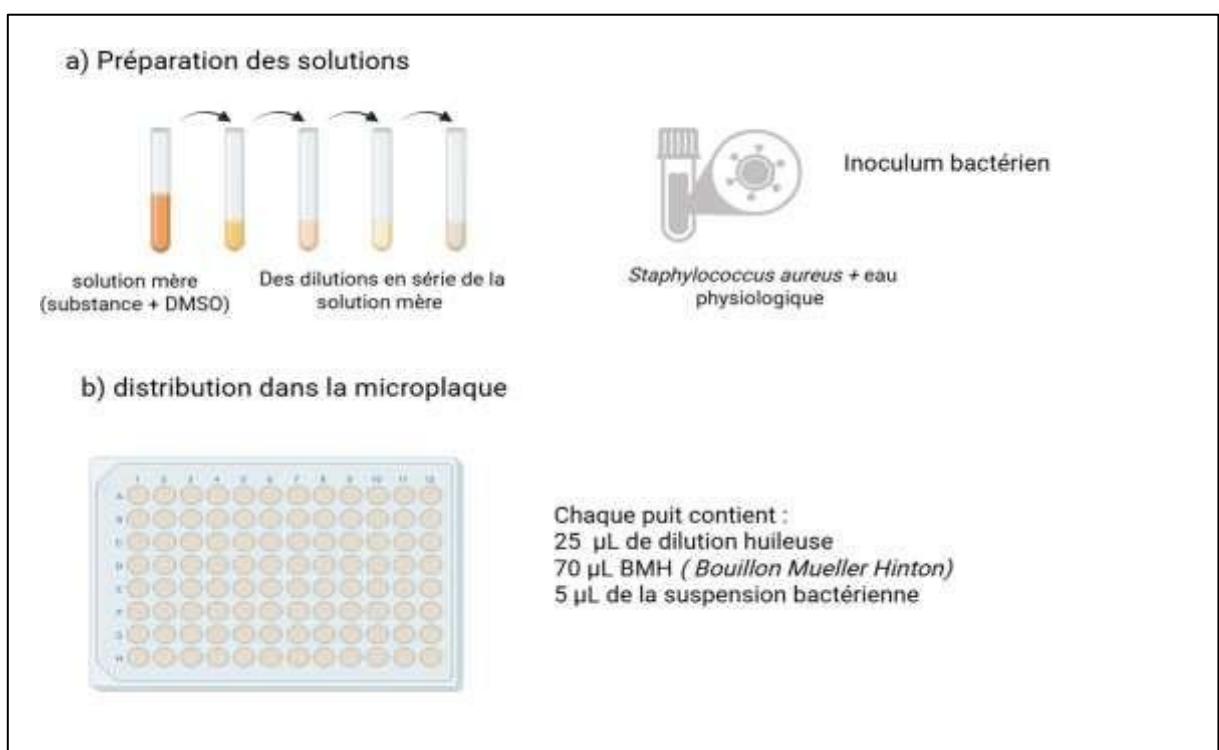


Figure 15:Préparation du test CMI dans la microplaqué

La microplaqué sera incubé pour 24H à 35-37°C, la lecture des résultats sera visuellement ou à l'aide d'un lecteur ELISA.

La CMI est la plus faible concentration où aucune croissance visible n'est observée (milieu reste clair) (*CLSI. 2023*).

- **Évaluation de la synergie par la méthode "Checkerboard"**

La méthode "*checkerboard*" (ou méthode en damier) est utilisée pour évaluer les interactions entre les extraits végétaux. Elle permet de détecter les effets synergiques, additifs, indifférents ou antagonistes des combinaisons.

Cette méthode repose sur la détermination de la CMI de chaque composé seul, puis en présence combinée selon différentes concentrations.

Les résultats sont interprétés par le calcul de l'Indice de Fraction Inhibitrice (FIC Index), qui indique le type d'interaction. (*Odds, F. C. (2003)*).

$$\text{FIC A} = \text{CMI A en combinaison} / \text{CMI A seul}$$

$$\text{FIC B} = \text{CMI B en combinaison} / \text{CMI B seul}$$

$$\text{FIC index} = \text{FIC A} + \text{FIC B}$$

Interprétation
FIC $\leq 0,5$: Synergie
FIC $> 0,5-1$: Addition
FIC $> 1-4$: Indifférence
FIC > 4 : Antagonisme

➤ **Action sur les biofilms microbiens :**

Ce test permet d'évaluer qualitativement l'action des huiles testées sur la capacité d'une souche bactérienne à former un biofilm en milieu statique dans un tube, il repose sur la culture bactérienne dans un tube contenant un milieu nutritif, suivi d'une coloration pour détecter la formation du biofilm (*CHATANE Ines et ZIADI Chaima., 2017*).

La figure 2.7 illustre les étapes essentielles de ce test :

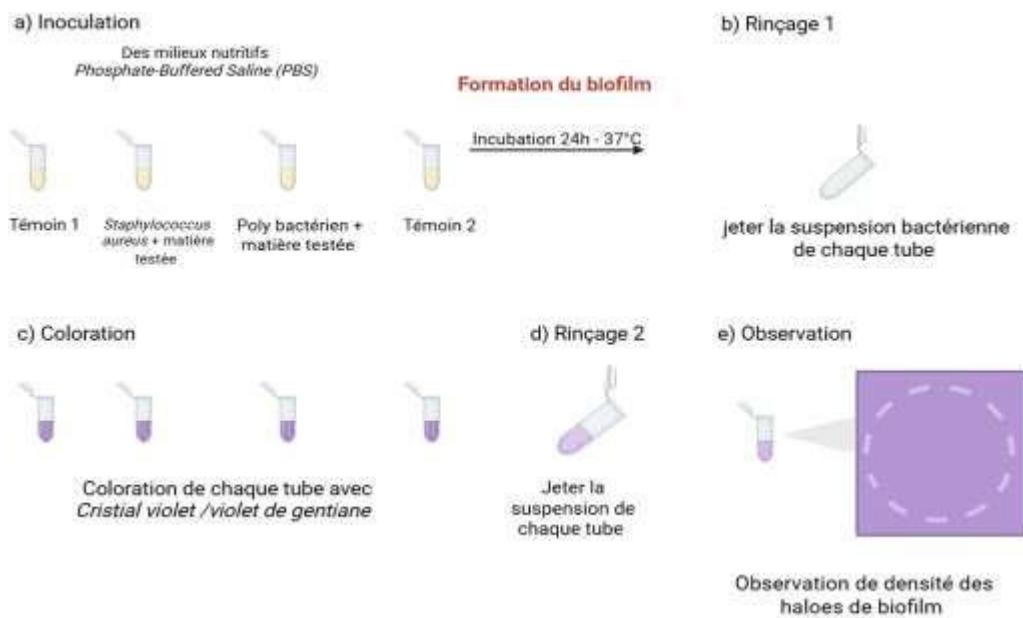


Figure 16: Protocole du test antibactérien Biofilm.

II.3.2. Activité anti-inflammatoire

Pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits naturels étudiés, à savoir les huiles essentielles de *Boswellia* (encens) et de *Melaleuca alternifolia* (arbre à thé), nous avons utilisé le test d'inhibition de la dénaturation des protéines sériques humaines. Ce test repose sur le principe selon lequel la dénaturation des protéines, notamment l'albumine humaine, par la chaleur (54 °C) induit une structure altérée semblable à celle observée lors d'une inflammation. Les extraits testés ont été répartis dans des micro-plaques à 96 puits, puis mélangés à une solution d'albumine à 0,2 %, incubés à 37 °C, puis chauffés à 54 °C pendant 5 minutes. Après refroidissement, l'absorbance a été mesurée à 660 nm afin de déterminer le pourcentage d'inhibition de la dénaturation (Figure 2.8). Un pourcentage élevé indique une activité anti-inflammatoire potentielle. (Kandikattu *et al* ,2013).

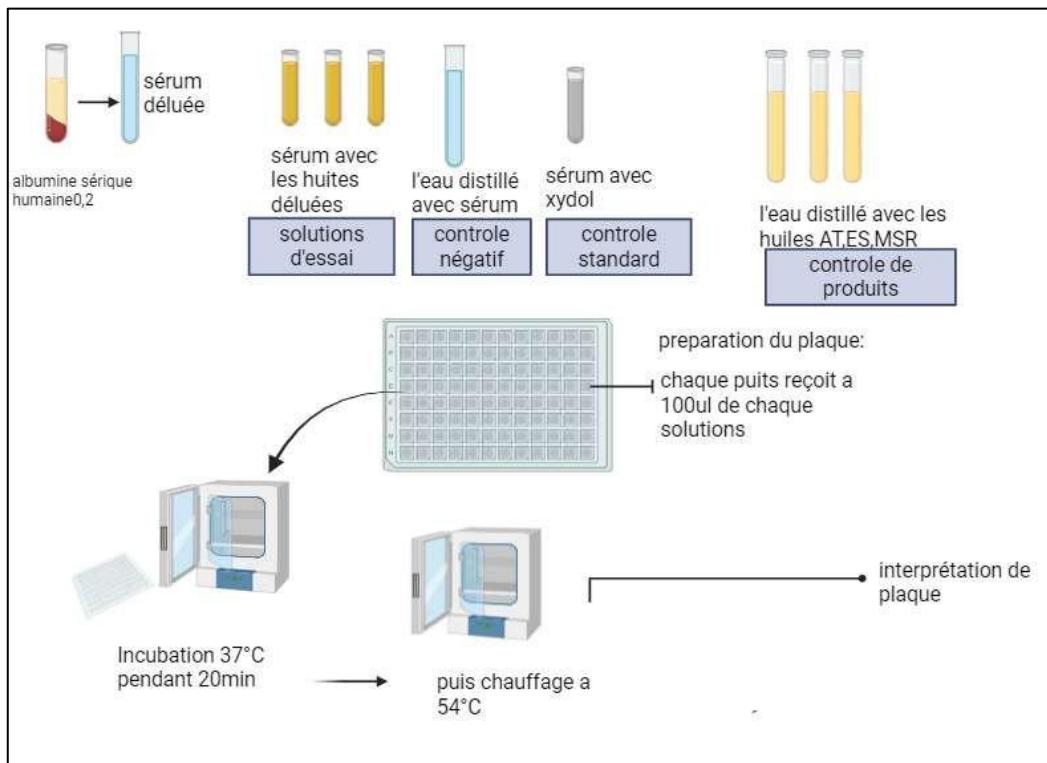


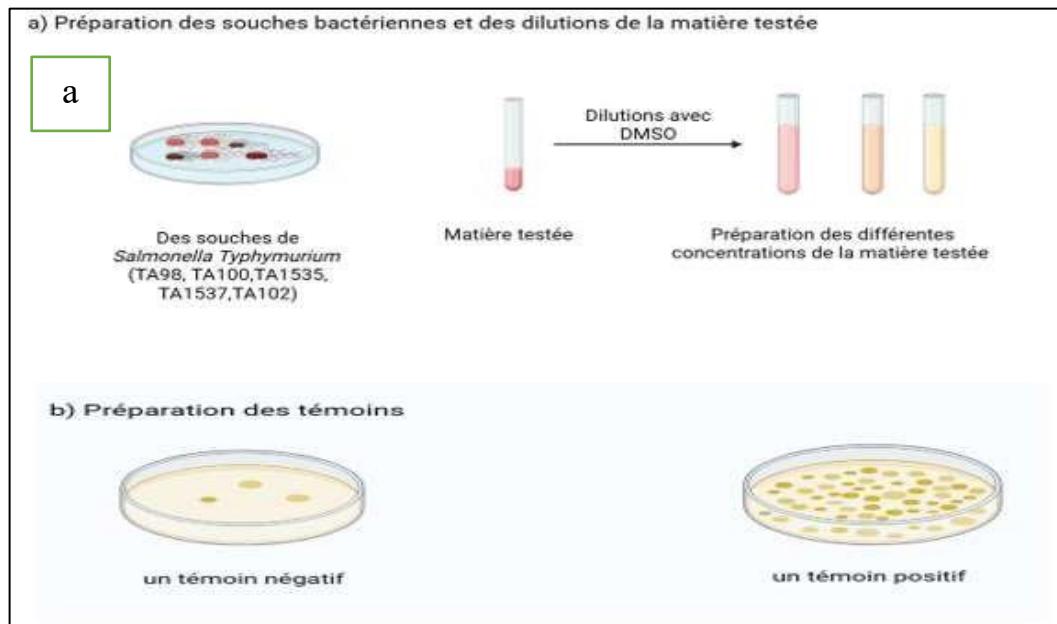
Figure 17: Protocole préparatif du test anti-inflammatoire

Le taux d'inhibition de la dénaturation thermique de BSA à 72°C est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = [100 - \frac{(\text{DO de la solution d'essai} - \text{DO de contrôles des produits})}{\text{DO de test contrôle}}] \times 100$$

II.3.3. Evaluation du potentiel mutagène

La mutagénicité des huiles combinées est cernée par le test d'Ames, celui-ci est un test de mutagenèse consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium*. Les souches utilisées dans le test sont des souches porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation His⁻ rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, la modification génétique His⁻ réversent spontanément vers His⁺ et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries His⁻ à des agents mutagènes. Ainsi, le test d'Ames permet de quantifier l'induction de ces mutations réverses His⁺. Michel De Méo - Septembre 1997



Dans la figure 2.9.a on observe la préparation des souches bactériennes de *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102), qui sont incapables de synthétiser l'histidine, et la préparation de différentes dilutions de la matière testée à l'aide du solvant DMSO (Diméthylsulfoxyde) comme suit :

L'encens : solution mère : 2%
0.125%

Dilutions en série : 1% - 0.5 % - 0.25 % - 0.125%

L'arbre à thé : solution mère : 1%
0.06%

Dilutions en série : 0.5% - 0.25% - 0.125% - 0.06%

Macérat : solution mère : 4%

Dilutions en série : 2% - 1% - 0.5% - 0.25%

la préparation des témoins nécessaires à l'interprétation du test : un témoin négatif (absence de colonies, indiquant une absence de mutation spontanée ou d'effet mutagène) et un témoin positif (présence abondante de colonies, indiquant une activité mutagène connue)



Après les étapes appliquées dans le protocole illustré dans **la figure 2.9.b** on dit que la mutagénicité des huiles est proportionnelle au nombre de colonies observées, donc s'il y a un grand nombre de colonies sur la plaque du test par rapport au contrôle, on dit que ces huiles sont mutagènes. Sagar Aryal 2022

Le S9 mix est une fraction enzymatique portée d'un foie du rat après une centrifugation (**Figure 2.9.c**). Il contient des réactifs du métabolisme. La mutagenicité de certaines substances peut être activée après le métabolisme uniquement (Maron, D.M., & Ames, B.N. - 1983).

Dans le cas où le nombre de colonie est élevée après l'ajout du S9 mix cela correspond à l'huile testée devient mutagène après le métabolisme. Cependant si aucune augmentation significative dans le nombre des colonies cela montre que la substance n'est jamais toxique (Maron, D.M., & Ames, B.N. - 1983).

c

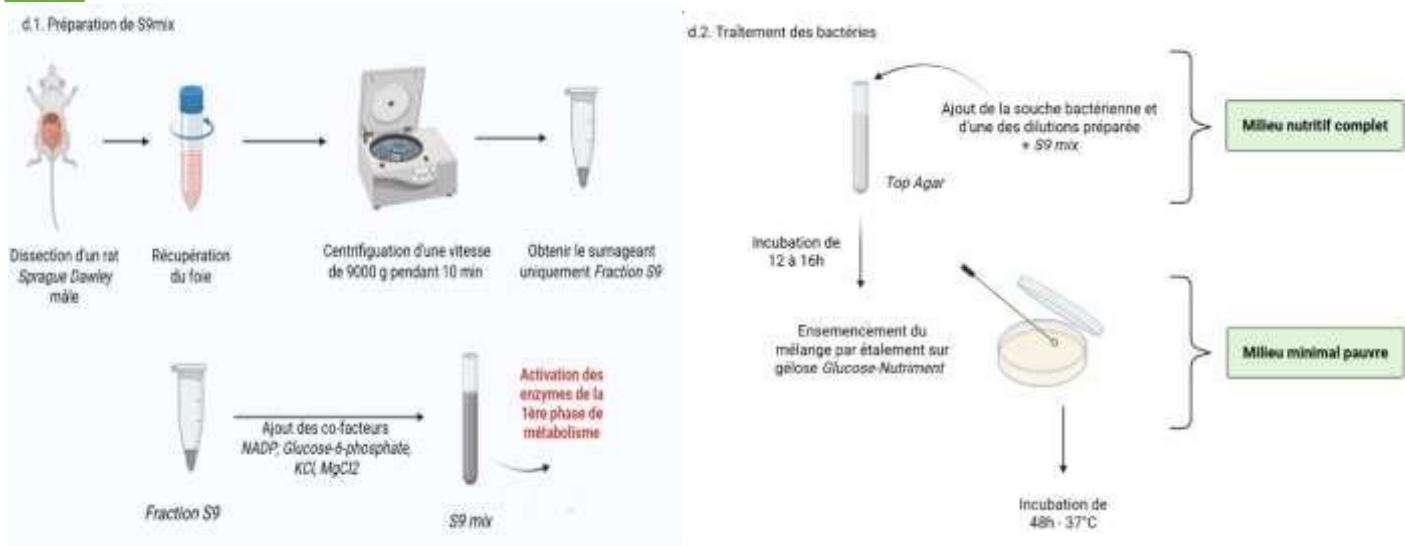


Figure 18:Le test d'AMES avec du métabolisme

II.3.4 Evaluation anti oxydante

Le test DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

Le test *DPPH* (*2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle*) représente une technique de colorimétrie fréquemment employée pour mesurer l'activité antioxydante d'un composé ou d'un extrait.

Il repose sur la capacité des antioxydants à piéger le radical libre DPPH•, un radical stable de teinte violette. Ce dernier est réduit et sa couleur se transforme en jaune clair, provoquant une réduction quantifiable de l'absorbance à 517 nm.

Principe

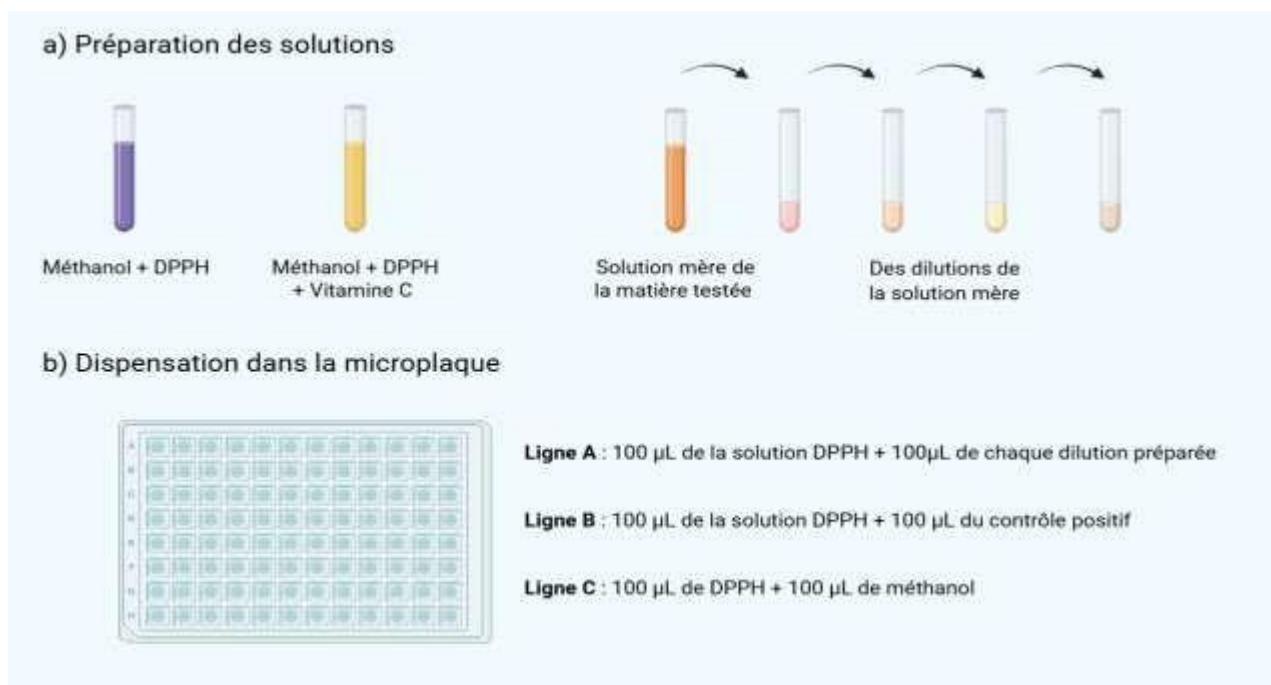


Figure 19: Protocole préparatif du test anti oxydant

L'incubation de la plaque sera à l'obscurité pendant 30 min dans une température ambiante (25°C) (*Brand-Williams et al., 1995*). A l'aide d'un lecteur de microplaqué on mesure l'absorbance à 517nm (*Molyneux, 2004*)

L'activité antioxydante sera calculé en utilisant cette formule

$$\% \text{ Inhibition} = [(\text{Abs témoin} - \text{Abs échantillon}) / \text{Abs témoin}] \times 100$$

Abs = Absorbance (*Blois, 1958*)

Plus le % d'inhibition est élevé, plus l'échantillon est considéré comme antioxydant.
(Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995))

II.4. Évaluation *in silico* du potentiel pharmacologique des composés actifs de *Boswellia carteri* et *Melaleuca alternifolia*

Dans le cadre de cette recherche, une méthode *in silico* a été adoptée afin d'analyser les propriétés pharmacocinétiques des composés bioactifs majeurs issus de *Boswellia carteri* et *Melaleuca alternifolia*. L'évaluation a été effectuée à l'aide des plateformes ADMETlab 3.0 et SwissADME, qui permettent de prédire de manière fiable les caractéristiques ADMET (absorption, distribution, métabolisme, excrétion et toxicité), ainsi que les cibles moléculaires associées. Les molécules étudiées ont été sélectionnées à partir de bases de données spécialisées telles que PubChem. Leurs structures chimiques ont été obtenues sous les formats .sdf ou .mol, puis converties en format SMILES pour les besoins de l'analyse.

Tableau 2.3 : Molécules bioactives identifiées dans *Boswellia carteri* et *Melaleuca alternifolia*

SMILES	Composé	Origine
CC1=CCC2CC1C2(C)C	α-Pinène (27.73%)	ES
CC1=CCC(CC1)C(=C)C	Limonène (14.96%)	ES
CC1=CC=CC=C1C(C)C	o-Cymène (4.94%)	ES
C/C/1=C\CCC(=C)[C@H]2CC([C@@H]2CC1)(C)C	Caryophyllène (environ 6.96% cumulé)	ES
CC1=C[C@H]2[C@@H](CC1)C(=CC[C@H]2C(C)C)C	α-Amorphène	ES
CC1=CCC(CC1)(C(C)C)O	Terpinen-4-ol	AT
CC1(C2CCC(O1)(CC2)C)C	1,8-Cinéole 7	AT
CC1=CCC(=C(C)C)CC1	Terpinolène	AT

II.5. Formulation du produit biopharmaceutique à base de

a) Formulation de sérum

Un sérum huileux a été formulé à partir d'un macérât de *Ziziphus spina-christi* préparé dans l'huile végétale de *Simmondsia chinensis* (jojoba). Le macérât a été obtenu de volume de 250 mL. Ce macérât a été utilisé pour la formulation du sérum. Deux huiles essentielles (*Boswellia carteri* et *Melaleuca alternifolia*) ont été incorporées à raison de 1 % du volume total, sélectionnées selon les . Les huiles

essentielles ont été ajoutées directement au macérât, puis le mélange a été agité manuellement jusqu'à obtention d'une solution homogène. Le sérum a été conservé dans des flacons en verre ambré, à température ambiante et à l'abri de la lumière, afin de préserver sa stabilité. (**Figure 2 .11**)



Figure 20:préparation du sérum

b) Formulation de spray

Pour la préparation de l'extrait aqueux de la gomme d'encens ,une macération à froid a été réalisée. (100 g) de gomme résineuse ont été préalablement broyés en petits morceaux, puis immersés dans un litre (1 L) d'hydrolat à température ambiante, en respectant un rapport de 1:10, conformément aux protocoles rapportés par Meins *et al.*,2000 et Al-Yasiry & Kiczorowska.,2016. Le mélange a été maintenu à l'abri de la lumière et agité occasionnellement durant 48 heures. Après macération, la solution a été filtrée à l'aide d'une gaze stérile afin de séparer les fractions insolubles et récupérer l'extrait aqueux (Figure 2 .12)



Figure 21:macération à froid de l'encens

Chapitre III

Résultats et discussions

III.1. Rendement des huiles

L'huile essentielle a été extraite des gomme-résine de *Boswellia carterii* par un hydro distillateur. Nous avons récupéré 18ml, le rendement obtenu était de 3.24% (figure3.1).



Figure 22:Rendement L'huile essentielle de *Boswellia carterii*

III.1.1. Rendement du macérât *Ziziphus spina christi* dans *Simmondsia chinensis*

Le macérât présente une couleur vert olive à brun clair, en fonction de la concentration de la poudre de sidr et de la durée de la macération. Cette teinte provient des pigments chlorophylliens et des composés polyphénoliques extraits des feuilles , avec une odeur légèrement herbacée, avec des notes terreuses et boisées caractéristiques du sidr . Nous avons récupéré 250ml , le rendement obtenu était de 71%.



Figure 23:Rendement du Macérât de *Ziziphus spina christi* dans *Simmondsia chinensis*

Le rendement en huile essentielle et du Macérât a été calculé en fonction de la quantité des matières végétales . Le rendement obtenu par hydrodistillation des gomme-résine de *Boswellia carterii* est d'environ **3.24%** et **71%** pour Macérât de *Ziziphus spina christi* dans *Simmondsia chinensis* comme le montre. Il est important de noter que la plus grande quantité d'huile essentielle extraite est obtenue au cours de la première heure. **Tableau 3.1 :**

Tableau 6:Le rendement des huiles

Espèces	Rendement (%)
<i>Boswellia carterii</i>	3.24%
Macérât de <i>Ziziphus spina christi</i> dans <i>Simmondsia chinensis</i>	71%

L'extraction de l'huile essentielle à partir de 500 g de gomme-résine de *Boswellia carteri* par hydrodistillation a permis d'obtenir un rendement de 3,24 %, soit 16,2 g d'huile essentielle. Ce rendement est en accord avec les valeurs rapportées dans la littérature, qui varient généralement entre 3 % et 10 % selon l'origine de la résine, sa fraîcheur, ainsi que les conditions opératoires appliquées (Bayala, 2014 ; Camarda 2007).

Le faible rendement observé pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs : une qualité moyenne de la résine utilisée, une perte éventuelle lors de la manipulation ou encore une durée de distillation insuffisante. Néanmoins, la valeur obtenue reste dans la plage des rendements standards rapportés pour cette espèce, ce qui témoigne de l'efficacité relative du procédé utilisé.

III.2. Caractéristiques chimiques et organoleptiques

1. Propriété organoliptiques

Nous avons obtenu une huile de couleur jaune pâle avec une odeur chaude (figure 3.1), résineuse avec des notes balsamiques et légèrement citronnées.

. L'huile est de couleur jaune pâle à incolore, avec un aspect fluide et une odeur caractéristique chaude, résineuse, boisée et citronnée. Sa bonne miscibilité à l'éthanol renforce sa pureté et sa compatibilité pour des formulations pharmaceutiques ou cosmétiques. Ces résultats confirment la qualité de l'huile extraite et sa conformité aux standards de l'huile essentielle de *Boswellia carteri*. **Tableau7**

Tableau 7:Propriétés physicochimiques de l'huile essentielle ES

Critère	Description
Densité	0,84 à 0,87 g/mL à 20°C
Couleur	Jaune pâle à incolore
Aspect	Liquide fluide
Odeur	Chaud, résineuse, boisée, citronnée
Miscibilité à l'éthanol	Bonne

2. Huile essentielle d'arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*)

L'huile est incolore à jaune très pâle, de consistance fluide et non visqueuse, avec une odeur fraîche, camphrée et médicinale très caractéristique. Elle est également bien miscible à l'éthanol, ce qui confirme son potentiel pour une utilisation en aromathérapie ou dans les produits antiseptiques. Ces résultats confirment l'identité de l'huile extraite et sa conformité avec les données bibliographiques **Tableau8**

Tableau 8:Propriétés physicochimiques de l'huile essentielle AT

Critère	Description
Densité	0,885 à 0,906 g/mL à 20°C
Miscibilité à l'éthanol	Bonne
Couleur	Incolore à jaune très pâle
Aspect	Liquide fluide, non visqueux
Odeur	fraîche, camphrée, médicinale, très caractéristique et pénétrante

Caractérisation phytochimique

La chromatographie en phase gazeuse (GC) permet de séparer les composés volatils présents dans une huile essentielle en fonction de leur temps de rétention (ES), c'est-à-dire le temps nécessaire à chaque molécule pour parcourir la colonne chromatographique (figure 3.3). Une fois séparés, ces composés sont identifiés par spectrométrie de masse (MS), qui analyse leur spectre de fragmentation. Ce spectre est ensuite comparé à une bibliothèque de données de référence, ce qui permet de déterminer la nature chimique des constituants. (Figure 3.3)

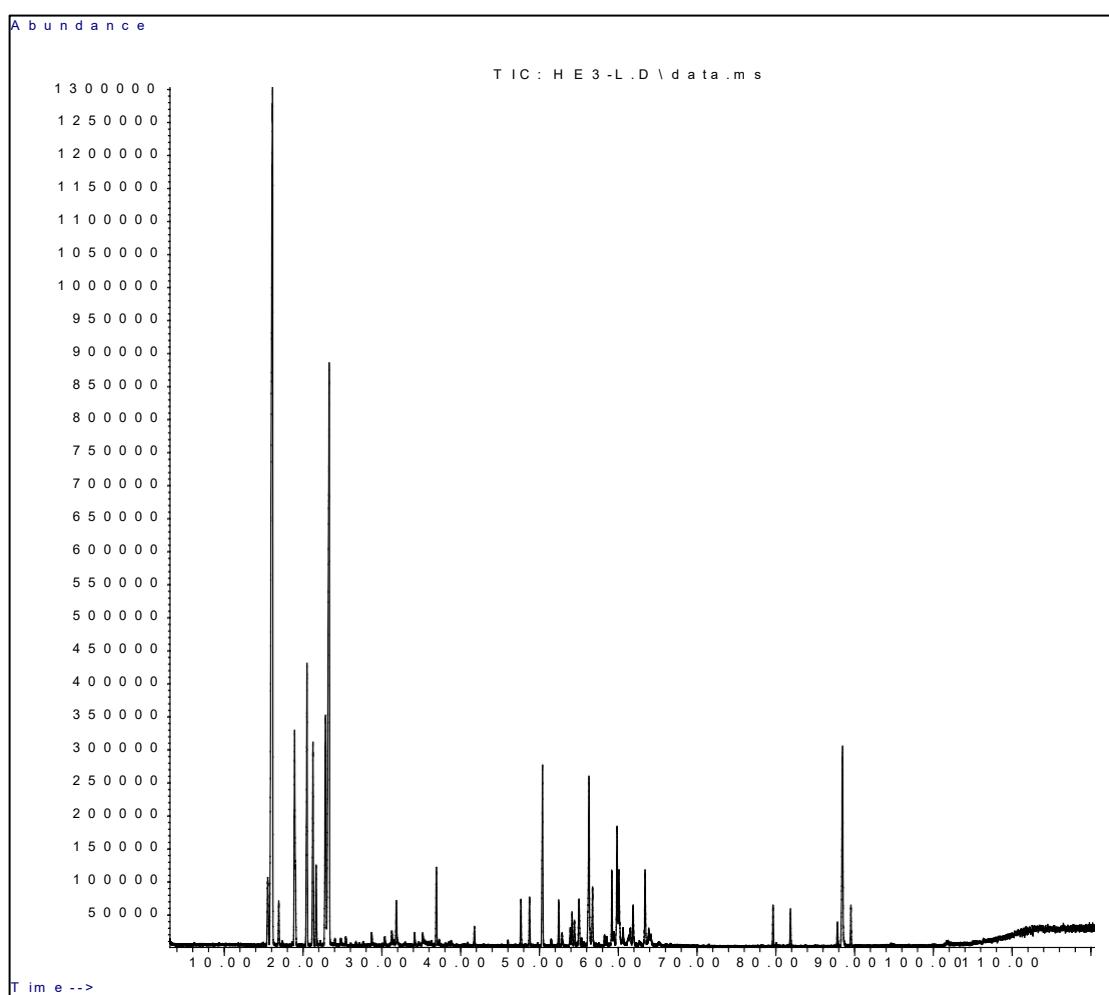


Figure 24:les composés majeurs dans l'huile essentielle de *Boswellia carterii*

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle a révélé une composition dominée par les monoterpènes cycliques, avec l' α -pinène (27,73 %, RT = 16,123) en tête. Ce composé est bien connu pour ses propriétés anti-inflammatoires et

antimicrobiennes, notamment via la modulation des cytokines pro-inflammatoires et l'inhibition de l'infiltration leucocytaire (Gómez-Serranillos ,2021). Le dl-limonène (14,96 %, RT = 23,309), deuxième composé majoritaire, possède également des activités antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses, en partie par inhibition du stress oxydatif et de la peroxydation lipidique (Sun, 2007). Le camphène (4,48 %) est un autre monoterpène présent, auquel on attribue une activité antibactérienne contre plusieurs souches pathogènes (Bakkali., 2008).

Parmi les composés secondaires, on note la présence du β -pinène (4,84 %) et de l' α -cymène (4,94 %), tous deux impliqués dans des effets antimicrobiens et anti-inflammatoires modérés (de Lira Mota. 2012). Du côté des sesquiterpènes, la présence marquée du trans-caryophyllène (1,44 % à 3,14 % selon les pics) est particulièrement significative. Ce composé est un agoniste sélectif du récepteur CB2, ce qui lui confère un puissant effet anti-inflammatoire, sans effet psychotrope (Gertsch., 2008). Il est ainsi considéré comme un candidat naturel prometteur pour le traitement de l'inflammation chronique. L' α -amorphène (3,63 %) a été identifié à des taux modérés et présente des propriétés antifongiques et anti-inflammatoires, bien que moins documentées (Rasooli., 2006).

La combinaison de ces composés, notamment les monoterpènes volatils à action rapide et les sesquiterpènes plus stables à action prolongée, suggère un effet synergique intéressant. Ce profil chimique pourrait expliquer les résultats biologiques observés *in vitro* sur les modèles inflammatoires, et soutient l'utilisation potentielle de cette huile essentielle dans les soins dermatologiques à visée anti-inflammatoire et antiseptique.

III.3. Activités biologiques

III.3.1. Activité antimicrobienne :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (HE) a été réalisée sur plusieurs souches bactériennes de référence afin de déterminer leur efficacité potentielle. Pour ce faire, différentes concentrations des huiles ont été testées seules ou en mélange, et les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés. Les tableaux suivants présentent les résultats obtenus pour les huiles essentielles

testées, notamment celle d'encens (ES) et de l'arbre à thé (AT) et le Macérât (MSR), sur les souches bactériennes ciblées.

Les résultats pour l'activité de *Boswellia carterii* montrent que *Staphylococcus aureus* est très sensible à l'huile essentielle (HE) pure, avec un diamètre d'inhibition de 20 mm, mais cette sensibilité diminue fortement lorsque l'HE est diluée à 2/3, atteignant seulement 4 mm. *Escherichia coli* présente une faible sensibilité à l'HE pure (3 mm), mais une légère augmentation est observée à la dilution 1/3 (6 mm), suivie d'une diminution à 2 mm à 2/3. *Enterococcus faecalis* réagit favorablement à toutes les concentrations testées, bien que l'effet antimicrobien décroisse progressivement avec la dilution de l'HE. En revanche, *Klebsiella pneumoniae* ne montre une sensibilité que vis-à-vis des mélanges, avec des diamètres d'inhibition faibles, suggérant une résistance plus marquée ou une action limitée de l'HE sur cette souche (figure 25).

Tableau 9: résultats de l'activité antimicrobienne aux différentes concentrations de l'huile essentielle de ES

souches	Diamètres		
	Concentrations		
	HE .seul	$\Sigma 1/3$	$\Sigma 2/3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	20 ±1mm	/	4 ±1 mm
<i>Escherichia coli</i>	3±1mm	6±1mm	2±1mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18±1mm	4±1mm	8±1mm
<i>Enterococcus faecalis</i>	18±1mm	14±1mm	10±1mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	/	2±1mm	4±1mm



Figure 25:Diamètres de zone d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'encens.

Les résultats indiquent que l'huile essentielle (HE) de *Boswellia carterii* présente une forte activité contre *Staphylococcus aureus*, une bactérie Gram positive, avec un diamètre d'inhibition de 20 mm pour l'HE pure, ce qui est cohérent avec les travaux de Camarda et al. (2007) et Gadir et al. (2020) qui rapportent une bonne efficacité de cette HE sur les cocci Gram positifs. L'activité décroît fortement avec la dilution, traduisant un effet dose-dépendant. *Enterococcus faecalis* montre également une sensibilité notable à toutes les concentrations, bien qu'en diminution progressive, ce qui confirme les propriétés antimicrobiennes des composés comme l'incensole et l'acide boswellique. En revanche, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, toutes deux Gram négatives, se révèlent nettement moins sensibles, probablement en raison de la structure de leur membrane externe, moins perméable aux composants lipophiles des HE (Bassolé & Juliani, 2012). Ces résultats suggèrent que l'HE de *B. carterii* est plus active sur les bactéries Gram positives, avec une efficacité fortement liée à la concentration.

L'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* présente une activité antimicrobienne modérée à forte sur *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* et *Klebsiella pneumoniae*. Les mélanges dilués ($\Sigma 1/3$ et $\Sigma 2/3$) semblent parfois plus efficaces que l'HE pure, notamment pour *Escherichia coli*, qui montre un diamètre d'inhibition de 6 mm à $\Sigma 2/3$ contre seulement 2 mm avec l'HE pure. Il convient de noter que *Pseudomonas aeruginosa* n'a pas été testé avec les mélanges, ce qui limite l'analyse comparative pour cette souche. (Figure 26)

Tableau 10: résultats de l'activité antimicrobienne aux différentes concentrations de l'huile essentielle de AT

souches	Les diamètres		
	Concentrations		
	HE .seul	$\Sigma 1/3$	$\Sigma 2/3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	12±1mm	/	6±1mm
<i>Escherichia coli</i>	2±1mm	/	6±1mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10±1mm	/	/
<i>Enterococcus faecalis</i>	12±1mm	14±1mm	2±1mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10±1mm	8±1mm	7±1mm

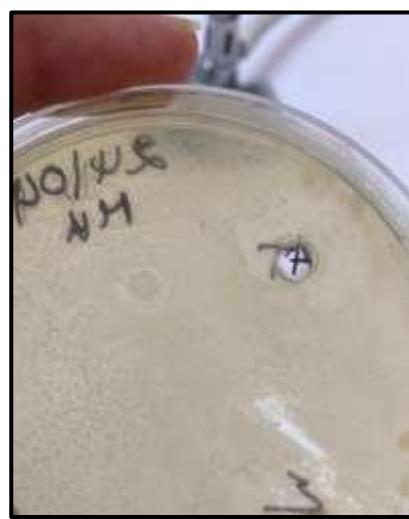


Figure 26:Diamètres de zone d'inhibition de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle l'arbre à thé

L'huile essentielle (HE) de *Melaleuca alternifolia* présente une activité antimicrobienne modérée à forte, notamment sur les bactéries Gram positives comme

Staphylococcus aureus et Enterococcus faecalis, mais également sur certaines souches Gram négatives comme Klebsiella pneumoniae et Escherichia coli. Ces observations concordent avec les travaux de Carson et al. (2006) et Hammer et al. (1999), qui ont montré que les principaux composants de cette HE, notamment le terpinen-4-ol, altèrent l'intégrité des membranes bactériennes. Une efficacité particulière est observée avec E. coli, où les mélanges dilués (notamment $\Sigma 2/3$) sont plus actifs (6 mm) que l'HE pure (2 mm), suggérant une possible synergie entre les composés volatils à concentration modérée ou une meilleure diffusion des actifs à travers la membrane externe des bactéries Gram négatives (Bassolé & Juliani, 2012 ; Langeveld et al., 2014). L'activité contre K. pneumoniae est également notable, bien que généralement cette souche soit considérée comme résistante aux HE. Enfin, l'absence de données sur Pseudomonas aeruginosa pour les mélanges limite l'évaluation complète, mais l'HE pure montre une certaine efficacité, en accord avec les observations de Mondello et al. (2003), qui indiquent une activité possible mais souvent modérée contre cette souche notoirement résistante.

L'activité antimicrobienne du Macérât de *Ziziphus spina christi* dans *Simmondsia chinensis* est globalement plus faible dans cette série de résultats, à l'exception d'*Enterococcus faecalis*, qui conserve une bonne sensibilité, en particulier à la dilution $\Sigma 1/3$ (14 mm). En revanche, *Staphylococcus aureus* voit son pouvoir d'inhibition fortement diminuer avec la dilution, passant de 12 mm à seulement 2mm. Quant à *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*, elles ne sont sensibles qu'aux mélanges, et de manière modérée, ce qui suggère une efficacité réduite de l'HE contre ces bactéries dans ces conditions (Figure3.6)

Tableau 11: résultats de l'activité antimicrobienne aux différentes concentrations de l'huile essentielle de MSR

souches	Les diamètres		
	Concentrations		
	Huile seul	$\Sigma 1/3$	$\Sigma 2/3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	12±1mm	/	2±1mm
<i>Echerichia coli</i>	/	/	3±1mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	/	/	/
<i>Enterococcus faecalis</i>	/	14±1mm	2±1mm
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	/	2±1mm	2±1mm



Figure 27 : diamètres de zone d'inhibition de l'activité antimicrobienne de MSR

Le macérât de *Ziziphus spina-christi* dans *Simmondsia chinensis* présente une activité antimicrobienne globalement modeste, avec une efficacité marquée uniquement sur *Enterococcus faecalis*, notamment à la dilution $\Sigma 1/3$ (14 mm). Cette

sensibilité soutenue est cohérente avec les études rapportant que *Z. spina-christi* contient des saponines, flavonoïdes et tanins aux propriétés antimicrobiennes, particulièrement efficaces contre les bactéries Gram positives (Ali et al., 2012 ; Aljeldah, 2021). En revanche, l'activité contre *Staphylococcus aureus* diminue fortement à mesure que le macérât est dilué, passant de 12 mm à 2 mm, ce qui indique une dépendance claire à la concentration en principes actifs. Cette diminution peut aussi être attribuée à la faible concentration des composés bioactifs transférés dans l'huile porteuse *S. chinensis*, qui est elle-même peu antimicrobienne.

Par ailleurs, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*, toutes deux Gram négatives, ne montrent qu'une faible sensibilité, et uniquement dans les mélanges, ce qui rejoint les observations de Suleiman et al. (2010), selon lesquelles les extraits de *Z. spina-christi* ont une activité limitée sur ces souches, probablement en raison de la barrière lipopolysaccharidique typique des bactéries Gram négatives. L'action modérée du macérât pourrait aussi être influencée par la nature du solvant huileux utilisé (*S. chinensis*, c'est-à-dire l'huile de jojoba), qui pourrait affecter la biodisponibilité des principes actifs (Benzie & Wachtel-Galor, 2011)

Les huiles essentielles testées présentent une activité antimicrobienne variable selon la souche bactérienne et la concentration. L'efficacité est généralement plus marquée sur les bactéries Gram positives (comme *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*) que sur les Gram négatives (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*). Les mélanges ou dilutions peuvent parfois améliorer l'efficacité contre certaines souches, mais la tendance générale est une diminution de l'activité avec la dilution.

• Activité antifongique

L'évaluation de l'activité antifongique du mélange d'huiles essentielles (AT, ES, MSR) sur la souche *Aspergillus sp* a révélé une inhibition remarquable, avec un diamètre de 36 mm. Ce résultat indique une très forte efficacité antifongique du mélange testé. La figure associée au tableau 3.7 montre clairement une zone d'inhibition nette autour du puits contenant le mélange, confirmant visuellement cette activité. Ce pouvoir antifongique suggère un potentiel intéressant du mélange pour des applications antimicrobiennes ciblant les champignons pathogènes (tableau 3.7).

Tableau 12:résultats de l'activité antifongique pour le Mélange des huiles(AT ES MSR)

souche fongiques	Mélange des huiles	Figure
	Les diamètres	
<i>Aspergillus sp</i>	36mm	

L'évaluation antifongique du mélange d'huiles (AT, ES, MSR) contre *Aspergillus sp.* a révélé une inhibition très significative, avec un diamètre de 36 mm. Ce résultat dépasse largement les seuils couramment rapportés pour une activité antifongique forte (Raut & Karuppayil, 2014), indiquant une synergie probable entre les composants volatils des huiles utilisées. En particulier, le terpinen-4-ol de *M. alternifolia* et l'acide boswellique de *B. carterii* sont connus pour altérer la perméabilité membranaire et inhiber la croissance fongique (Patnaik et al., 1997 ; Camarda et al., 2007). Le macérât de *Z. spina-christi*, bien que moins puissant seul, peut avoir contribué à cette synergie grâce à ses flavonoïdes antifongiques (Aljeldah, 2021).

La présence d'une large zone d'inhibition nette, confirmée visuellement sur la figure associée au tableau 3.7, soutient la conclusion d'une activité antifongique puissante. Ces résultats suggèrent que le mélange testé pourrait constituer une alternative naturelle prometteuse aux antifongiques de synthèse pour la lutte contre *Aspergillus sp.*, un genre impliqué dans diverses mycoses humaines et détériorations alimentaires.

Concentration Minimale Inhibitrice et effet synergique

Après avoir analyser l'activité antimicrobienne sur nos huiles par le biais du test CMI, on a pu déterminer la plus faible concentration inhibitrice de cette activité de chaque huile utilisée.

Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 3.7 :

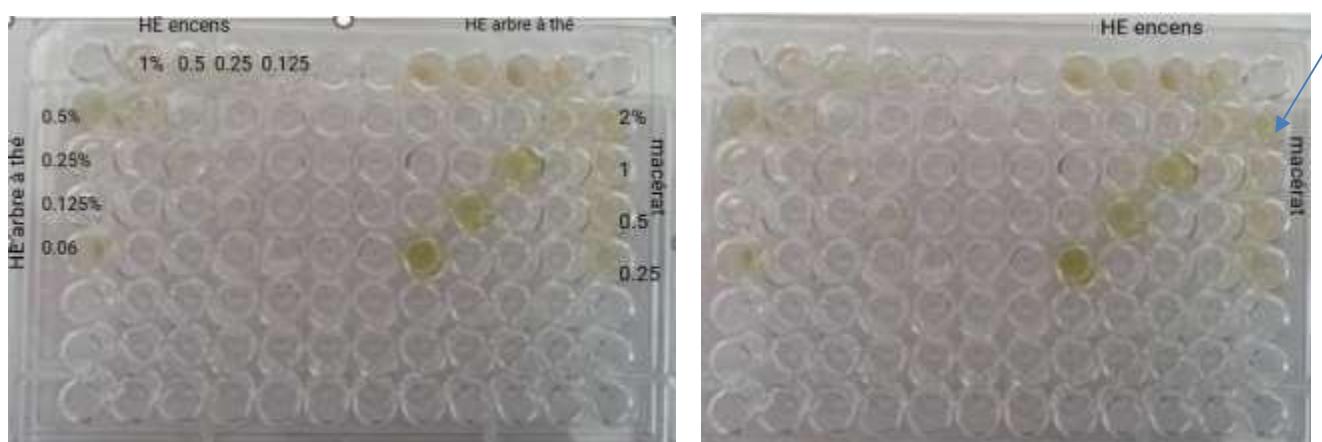


Figure 28:résultats des plaques de la CMI des huiles testées

En gardant le même ordre des concentrations de chaque huile dans la 2^{ème} plaque on interprète comme illustré dans le tableau 3.8 :

Tableau 13:Résultats de CMI des huiles testés

L'huile	La CMI
Encens	0,5 %
Arbre à thé	1 %
Macérat	0,5 %

Une dilution de 0,5 % chez l'encens et le macérat indique que ces substances sont efficaces à une faible concentration en comparaison de la concentration de l'huile essentielle de l'arbre à thé 1% cela confirme que cette huile nécessite un pourcentage plus élevé.

On détermine une synergie entre l'encens et l'arbre à thé, L'encens et le macérat dans avec un FICI = 1. Cependant elle est marquée dans le 1^{er} puit chez l'arbre à thé et le macérat, après avoir calculer selon la formule précédente on trouve le FICI = 0.5.

Ces valeurs démontrent que la synergie entre ces substances la plus efficace est celui de l'HE de l'arbre à thé et le macérat.

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle d'encens et le macérat présentent une activité antimicrobienne notable dès une faible concentration de 0,5 %,

tandis que l'huile essentielle d'arbre à thé requiert une concentration plus élevée de 1 % pour produire un effet similaire. Ces observations concordent avec les travaux de Nazzaro et al. (2013), qui ont souligné que certaines huiles essentielles peuvent agir efficacement à de faibles concentrations grâce à la richesse de leurs composés bioactifs tels que les terpénoïdes et les phénols. Cette efficacité à faible dose peut également s'expliquer par la nature lipophile des composants de l'encens et du macérat, favorisant leur diffusion à travers les membranes bactériennes.

Concernant l'évaluation de la synergie à travers la méthode du checkerboard, les valeurs du FICI (Fractional Inhibitory Concentration Index) ont permis de distinguer différentes interactions. La combinaison entre l'huile essentielle d'arbre à thé et le macérat a révélé un FICI de 0,5, ce qui, selon Odds (2003), indique une synergie significative entre les deux agents. Cette interaction synergique pourrait être due à une complémentarité dans leurs mécanismes d'action. En effet, selon Carson et al. (2006), l'huile essentielle d'arbre à thé agit principalement en perturbant l'intégrité des membranes cellulaires bactériennes, tandis que le macérat, riche en composés phénoliques, pourrait inhiber des enzymes essentielles au métabolisme microbien, rendant les cellules plus vulnérables à l'action membranaire de l'arbre à thé.

En revanche, les combinaisons entre l'encens et le macérat ou entre l'encens et l'arbre à thé ont présenté un FICI de 1, ce qui correspond à un effet additif. Selon Bassolé et Juliani (2022), un effet additif suggère que les substances testées conservent leur efficacité individuelle sans potentialisation mutuelle, tout en évitant une interaction antagoniste. Cela confirme la compatibilité de ces huiles sans gain d'efficacité particulier, mais avec un intérêt pour des formulations combinées stables et tolérables.

Ainsi, la combinaison la plus efficace dans notre étude reste celle de l'arbre à thé et du macérat, suggérant une synergie prometteuse pour le développement de formulations antimicrobiennes naturelles optimisées à faible dose.

- Action sur les biofilms microbiens :

L'évaluation de ce test nous a permis d'avoir les résultats suivants :

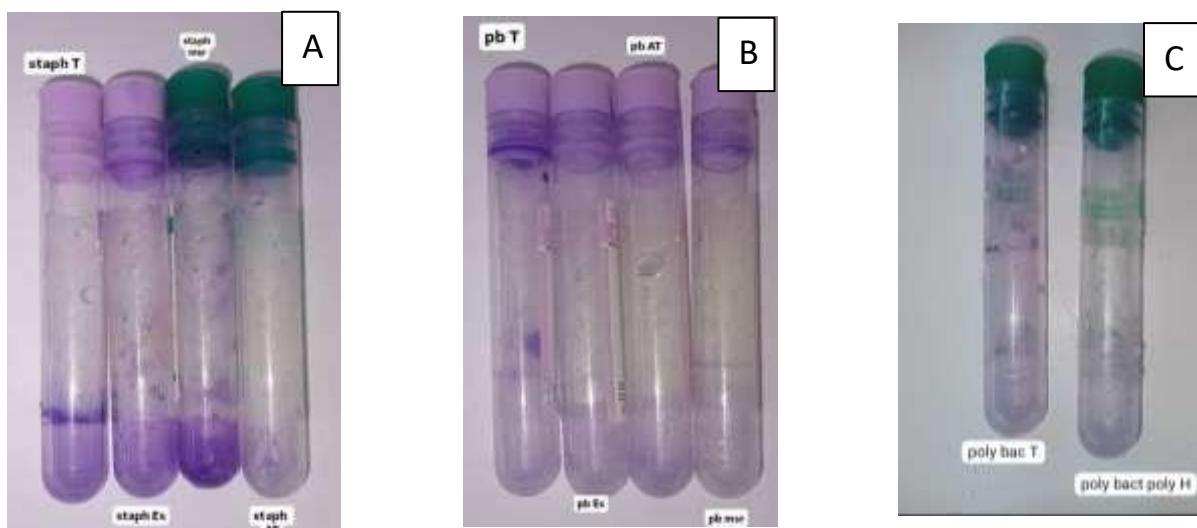


Figure 29:Résultats du test biofilm en tubes

A : Résultats des les huiles essentielles uniquement réalisés sur La *staphylococcus aureus*

B : Résultats des les huiles essentielles uniquement réalisés sur le poly bactérien

C : Résultats de la synthèse des huiles réalisés sur les microrganismes

AT = Arbre à thé ES = Encens MCR = macérat

Staph = *staphylococcus aureus* poly bac = poly bactérien poly H = la synthèse huileuse T= Témoin

Selon la Figure 3.8.A on observe un halo légèrement violet chez l'encens et l'arbre à thé montrant une faible formation d'un halo biofilm . Néanmoins une couche épaisse et foncée chez le macérat du Sedr ce qui résulte une forte production du biofilm.

La figure 3.8.B montre une faible coloration des haloes chez toutes les huiles ce qui met en évidence une synthèse atténuée du biofilm.

La formation évidente des haloes du biofilm concernant le macérat en comparaison des autres huiles *arbre à thé* et *encens* le biofilm est marqué plus terne ; ce qui indique une activité anti bactérienne élevée des huiles essentielles *d'arbre à thé* et *encens* cependant une bioactivité légèrement réduite du *sedre*

La figure 3.8.C démontre une formation vraiment nulle des haloës chez le mélange des huiles par rapport au témoin bactérien cela indique une forte activité antibactérienne chez la synergie de nos substances

Une légère pellicule violette est observée autour des puits contenant l'encens et l'huile essentielle d'arbre à thé, traduisant une faible formation de biofilm. Cette observation suggère une activité antibactérienne modérée contre la souche testée. En revanche, une couche violette épaisse et foncée est visible autour du macérat de *Ziziphus lotus* indiquant une production accrue de biofilm et, par conséquent, une moindre efficacité antibactérienne à cette concentration.

Ces résultats sont en accord avec ceux de Hamoudi et al. (2021), qui ont démontré une inhibition significative du biofilm par l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* (arbre à thé), grâce à sa richesse en terpinen-4-ol, connu pour perturber la communication intercellulaire bactérienne (quorum sensing). De même, Bouyahya et al. (2017) ont rapporté que l'huile d'encens (*Boswellia carterii*) présente une activité antibiofilm modérée à travers l'inhibition de l'adhésion bactérienne, due à la présence de monoterpènes.

Une atténuation générale de la coloration des haloës chez toutes les huiles, ce qui confirme une inhibition partielle du processus de formation du biofilm. Cela pourrait être attribué à une réduction de la production de polysaccharides extracellulaires, comme le suggère Kerekes et al. (2019), qui ont mis en évidence que certaines huiles essentielles interfèrent avec les étapes précoce d'adhésion bactérienne.

Une absence presque totale d'halo autour du mélange des huiles essentielles, en comparaison avec le témoin bactérien, soulignant une inhibition complète de la formation du biofilm. Cette synergie apparente entre les substances est cohérente avec les travaux de Bassolé et Juliani (2012), qui expliquent que les combinaisons d'huiles essentielles peuvent exercer un effet synergique via une action simultanée sur plusieurs cibles bactériennes, amplifiant leur efficacité antimicrobienne.

Ainsi, les huiles d'arbre à thé et d'encens démontrent une activité antibactérienne marquée, tandis que le macérat de sedr présente une bioactivité plus

faible, voire inefficace dans certaines conditions. Cependant, leur association synergiquement potentialise l'effet antibactérien, inhibant efficacement la formation du biofilm. Ces résultats sont prometteurs pour le développement de formulations naturelles anti-biofilm dans les domaines pharmaceutique et cosmétique.

III.3.2. Activité anti Inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire in vitro des huiles essentielles de *Boswellia carterii* et *Melaleuca alternifolia* et le Macérât de *Ziziphus spina christi* dans *Simmondsia chinensis* a été évaluée par les pourcentages d'inhibition de la dénaturation du albumine .Les résultats sont représentés dans la figure3.9 :

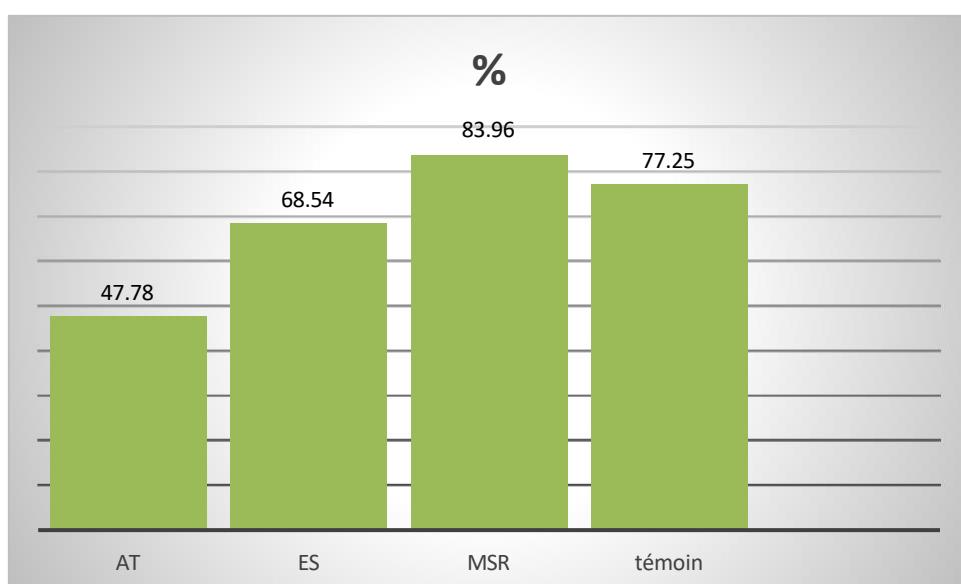


Figure 30:Évaluation de l'effet anti-inflammatoire des huiles sur la dénaturation des protéines sériques.

L'analyse de l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles (AT), (ES) et de (MSR) a révélé des effets variés. montre que le macérât de *Ziziphus spina-christi* (MSR) présente l'activité anti-inflammatoire la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition de 83,96 %, dépassant même celui du témoin (77,25 %). L'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* (68,54 %) et celle de *Boswellia carterii* (47,78 %) montrent également une inhibition notable. Ces données indiquent que le macérât joue un rôle central dans l'effet anti-inflammatoire global. Ainsi, dans une formulation synergique, sa présence pourrait renforcer l'efficacité des autres extraits. Ce potentiel peut être attribué à sa richesse en composés bioactifs tels que les flavonoïdes et les

saponines (Bashir et al., 2020 ; Al-Taweel et al., 2021), qui agissent en complémentarité avec les terpènes et acides boswelliques présents dans les huiles essentielles (Carson et al., 2006 ; Siddiqui, 2011).

II.3.3 Evaluation du potentiel mutagène

Le test de génotoxicité Ames

Selon les figures (3.A, 3.B, 3.C) on observe que les résultats obtenus de ce test sans la fraction du foie ressemblent à celui du témoin négatif qui contient des colonies bactériennes presque nulles. On interprète que les concentrations testées de nos huiles n'ont causé aucune mutation inverse cela met en évidence que ces substances n'ont pas d'une activité mutagène

Témoins

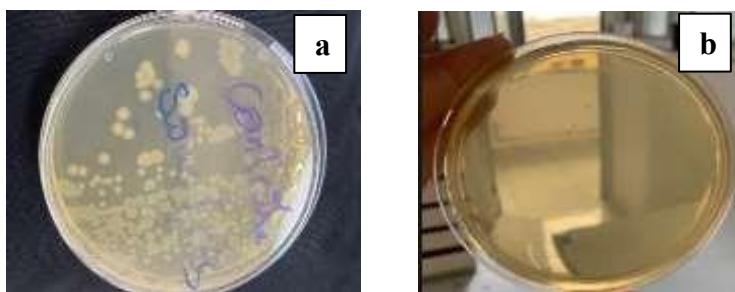


Figure 31:Contrôle positif et négatif (a) du test (b)

Les résultats du test d'Ames réalisés en l'absence d'activation métabolique (sans fraction S9) révèlent une absence notable de colonies bactériennes révertantes, similaires à celles observées dans le témoin négatif. Ce dernier, ne contenant aucun agent mutagène, permet d'établir une base de comparaison fiable. L'absence de prolifération bactérienne indique que les différentes concentrations testées des huiles essentielles et du macérat étudiés n'ont induit aucune mutation génique de type réversion chez la souche de *Salmonella typhimurium* utilisée.

A : Résultat de l'arbre à thé sans S9mix

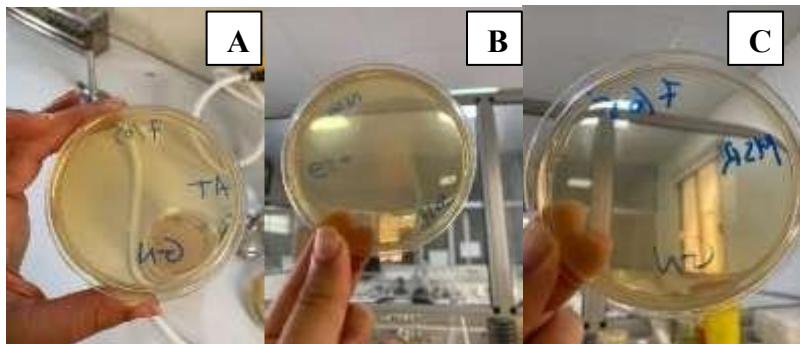


Figure 32:Les colonies bactériennes de chaque huile sans S9 mix

B : Résultat de l'encens sans S9mix

C : Résultat du macérat sans S9mix

Ces observations suggèrent donc que ni l'encens, ni l'arbre à thé, ni le macérap du Sedr ne présentent une activité mutagène manifeste dans les conditions expérimentales appliquées. Cela rejoint les résultats rapportés par Maron et Ames (1983), qui soulignent l'importance de la stabilité génotoxique des extraits naturels, notamment en l'absence de métabolisme hépatique simulé.

Par ailleurs, l'absence d'effet mutagène peut être corrélée à la richesse de ces extraits en composés antioxydants (comme les terpènes ou les flavonoïdes), connus pour leur capacité à piéger les radicaux libres, réduisant ainsi les dommages oxydatifs à l'ADN (Kaur et al., 2003). Ceci renforce l'hypothèse selon laquelle les substances testées, en plus de leur potentiel antimicrobien ou anti-biofilm, présentent un profil toxicologique rassurant vis-à-vis du risque de mutagénicité.



Figure 33: Résultat des colonies bactérienne avec la fraction S9mix

3.D : Résultat de l'arbre à thé après le métabolisme

3.E : Résultat de l'encens après le métabolisme

3.F : Résultat du macérat après le métabolisme

Selon les (Figures 3.12) on observe visuellement que le nombre des colonies dans les boites de pétri des huiles testées avec la fraction S9mix est notamment diminué relativement du nombre des colonies bactériennes du témoin positif; cela indique que les substances testées ont une activité mutagène négative après le métabolisme

On interprète que nos huile essentielles encens et macérat sont des substances inoffensives au niveau génétique avant ou après le métabolisme

Ces résultats suggèrent que les huiles essentielles d'encens et le macérat de *Ziziphus lotus* ne possèdent pas d'activité mutagène, ni sous forme native ni après biotransformation hépatique simulée par la fraction S9 mix. Cela indique que ces extraits naturels sont potentiellement sûrs d'un point de vue génotoxique, conformément aux critères du test d'Ames. En effet, selon Maron et Ames (1983), une substance est considérée comme mutagène lorsqu'elle entraîne une augmentation significative du nombre de colonies revertantes comparativement au témoin négatif. Ce n'est pas le cas ici.

Par conséquent, les extraits étudiés peuvent être qualifiés de non mutagènes dans les conditions expérimentales appliquées, ce qui renforce leur profil de sécurité en tant qu'agents thérapeutiques ou cosmétiques. Cette absence d'effet génotoxique a également été rapportée dans d'autres études concernant des extraits végétaux riches

en composés phénoliques et terpéniques, lesquels jouent souvent un rôle protecteur vis-à-vis des dommages oxydatifs à l'ADN (Tavares et al., 2014).

III.3.4.Evaluation de l'activité anti oxydante

Les résultats obtenus de la lecture visuelle de la microplaque indiquent :

Une décoloration progressive dans les derniers puits de l'encens donc cette huile a un effet antioxydant modérée

On observe des valeurs stables entre 0.5 et 0.6 chez l'encens, ce qui indique une activité un peu faible par rapport à l'arbre à thé qui a des variations remarquables entre ses dilutions, notamment son activité anti oxydante est fortement élevée dans certaine concentration (puit E2 = 0.12 et puit F2 = 0.15). Relativement le macérat montre des résultats moyens entre 0.4 et 0.7. En particulier le plus il est dilué le plus son activité augmente

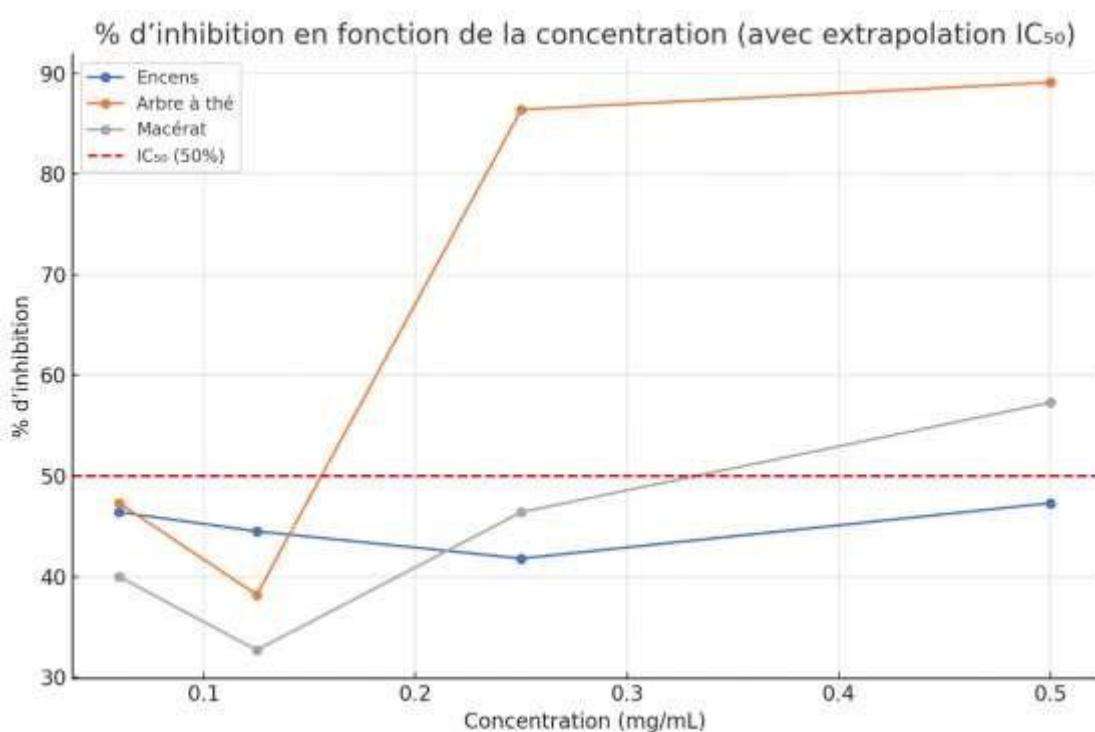


Figure 34: Pourcentage d'inhibition de l'activité oxydante en fonction des concentrations des extraits et détermination de IC₅₀

À faible concentration (0.06 mg/mL), tous les extraits présentent déjà une activité inhibitrice notable, avec des valeurs respectives de 46.4 % pour l'encens, 47.3 % pour l'arbre à thé, et 40.0 % pour le macérat. Cela suggère une efficacité relative même à faible dilution, notamment pour les deux huiles essentielles.

En augmentant la concentration, des variations spécifiques à chaque extrait sont observées. L'huile essentielle d'arbre à thé montre une activité inhibitrice très élevée à 0.25 et 0.5 mg/mL, atteignant respectivement 86.4 % et 89.1 %, ce qui indique une réponse dose-dépendante marquée. En revanche, une chute brutale de l'inhibition est notée à 0.125 mg/mL (38.2 %), ce qui pourrait être attribué à une variation expérimentale, une instabilité à cette concentration, ou à une saturation d'effet à dose intermédiaire.

L'huile d'encens présente une inhibition relativement constante et modérée, oscillant entre 41.8 % et 47.3 %, sans réelle tendance dose-dépendante marquée. Cela pourrait suggérer que son activité atteint un plateau rapidement ou qu'elle agit par un mécanisme indépendant de la concentration.

Le macérat, quant à lui, montre une croissance plus progressive de l'activité inhibitrice, passant de 32.7 % à 57.3 % entre 0.125 et 0.5 mg/mL. Cela révèle une réponse plus classique à l'augmentation de la concentration, bien que ses performances restent inférieures à celles de l'huile d'arbre à thé.

A partir des résultats et selon la formule ci-dessous

$$IC_{50} = C_1 + (I_2 - I_1) \times (C_2 - C_1)$$

C₁, I₁ = concentration et % d'inhibition juste en dessous de 50 %

C₂, I₂ = concentration et % d'inhibition juste au-dessus de 50 %

On trouve :

- IC₅₀ (Encens) = > 0.5 mg/mL
- IC₅₀ (Arbre à thé) ≈ 0.041 mg/mL
- IC₅₀ (Macérat) = 0.3326 mg/mL

L'huile essentielle de l'arbre à thé contient la plus faible valeur parmi les 3 huiles cela indique q'une concentration légère suffit pour hiniber 50% du radical DPPH.

Cependant le macérat a eu une valeur intermédiaire ce qui explique qu'elle a besoin d'une quantité plus élevée que l'AT pour l'hinibition du radical.

L'encens a été déterminer par la plus forte valeur en indiquant que cette huile a une activité antioxydante est négligeable

Les pourcentages d'inhibition du DPPH obtenus pour l'encens varient entre 41.8 % et 47.3 %, sans atteindre le seuil de 50 % à aucune dilution testée. De ce fait, l'IC₅₀ est estimée à une concentration > 0.5 mg/mL, ce qui traduit une faible activité antioxydante.

Ces résultats concordent avec ceux de Koruji et al. (2017) qui ont rapporté que l'huile essentielle de Boswellia carteri présente une activité antioxydante relativement

modeste, attribuée à la faible teneur en composés phénoliques. En effet, contrairement à d'autres huiles riches en terpénoïdes oxygénés ou phénols, l'encens contient principalement des monoterpènes comme l' α -pinène, dont l'activité antioxydante est limitée (Ni et al., 2012).

L'huile d'arbre à thé a montré des taux d'inhibition élevés aux deux premières dilutions : 89.1 % (0.5 mg/mL) et 86.4 % (0.25 mg/mL), puis une chute à 38.2 % à 0.125 mg/mL, ce qui indique une forte activité à des concentrations modérées. Le calcul de l' IC_{50} donne une valeur approximative de 0.041 mg/mL, soit la plus faible parmi les trois huiles testées, ce qui souligne son efficacité antioxydante remarquable.

Ces observations sont en accord avec les travaux de Hammer et al. (2006), qui ont souligné l'importante activité antioxydante de cette huile, principalement liée à la présence de terpinen-4-ol, un composé majoritaire bien connu pour ses propriétés radicalaires. De plus, Brophy et al. (1989) ont démontré que cette huile possède une capacité notable à neutraliser les radicaux libres, renforçant son usage thérapeutique dans des formulations anti-âge et protectrices.

Le macérat présente une activité intermédiaire, avec un pourcentage d'inhibition progressif allant de 32.7 % à 57.3 %, et une IC_{50} calculée à 0.3326 mg/mL. Ce résultat reflète une capacité modérée d'élimination du DPPH, indiquant qu'une dose plus importante est nécessaire pour atteindre un effet équivalent à celui de l'arbre à thé.

Des recherches antérieures, notamment celles de Bouaziz et al. (2014) et Benammar et al. (2012), ont mis en évidence que les extraits lipidiques de *Ziziphus lotus* contiennent des composés phénoliques et flavonoïdes actifs, capables de piéger les radicaux libres, mais à une intensité inférieure à celle des huiles essentielles concentrées. Le processus de macération, bien que bénéfique pour l'extraction douce, peut toutefois limiter la concentration des molécules actives par rapport à une distillation directe.

III.5. Analyse pharmacocénétique

Les composés bioactifs extraits de *Boswellia carterii* et *Melaleuca alternifolia* présentent un profil pharmacocinétique optimal, tant pour une administration systémique que pour une application cutanée. Leur faible polarité (TPSA < 20 Å²) combinée à une forte lipophilie (logP élevé) assure une excellente perméabilité membranaire, favorisant à la fois une bonne absorption intestinale (HIA+) et un franchissement efficace de la barrière hémato-encéphalique (BBB+), comme le confirme leur localisation dans les zones blanche et jaune du modèle BOILED-Egg (Daina et al., 2017). Tous les composés sont non-substrats de la glycoprotéine-P (PGP-), une caractéristique essentielle permettant d'éviter l'efflux actif médié par cette pompe, ce qui favorise une meilleure rétention intracellulaire et tissulaire (Sharom, 2008 ; Varma et al., 2005). Cela est particulièrement pertinent en application cutanée, où la combinaison d'un logP élevé et d'une faible TPSA est reconnue pour favoriser la pénétration à travers la couche cornée (Bos & Meinardi, 2000). De plus, l'absence d'interaction avec la P-gp peut améliorer la stabilité locale des composés et limiter les phénomènes de pharmacorésistance ou d'élimination précoce (Chaves et al., 2021). Enfin, la complémentarité structurale des composés – avec des monoterpènes volatils à effet rapide chez *Melaleuca* et des triterpènes polycycliques à libération prolongée chez *Boswellia* – suggère un potentiel de libération séquentielle, combinant action immédiate et effet durable, ce qui confère à ces extraits un intérêt thérapeutique important dans les formulations dermo-pharmacologiques.(Figure3.13)

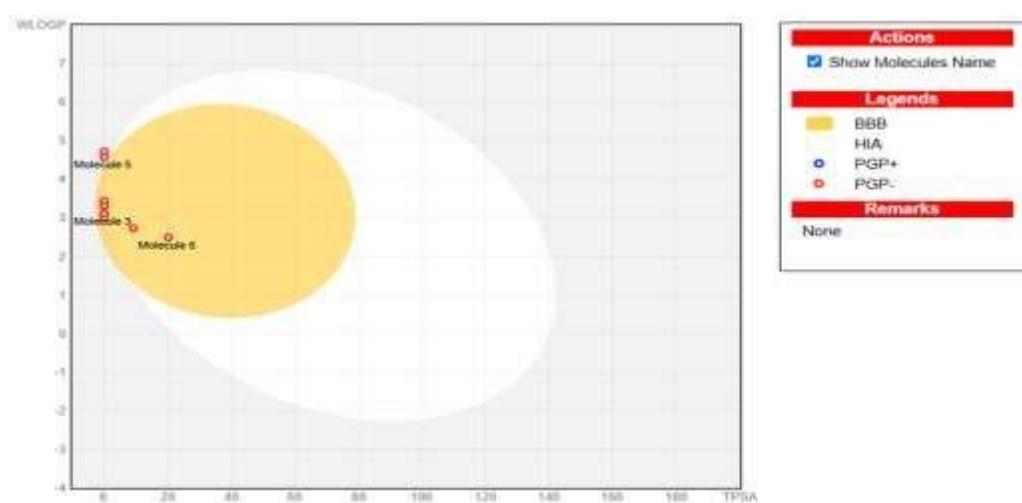


Figure 35:Diagramme Bioavailability Radar (WLOGP vs TPSA)

III.6. Prédiction des cibles moléculaires des molécules bioactives de *Boswellia carterii*

Les composés bioactifs de *Boswellia carterii* présentent un profil de ciblage moléculaire étendu et pluriel, mettant en évidence une interaction privilégiée avec plusieurs classes de protéines impliquées dans des processus physiopathologiques clés. L'analyse croisée des graphes A à E révèle que les récepteurs nucléaires sont les cibles majoritaires (26,7 à 33,3 %), ce qui souligne un rôle central dans la régulation de l'expression génique. Cette interaction suggère des propriétés anticancéreuses, hormonales et métaboliques (Poeckel & Werz, 2006), notamment via l'activation ou l'inhibition de facteurs transcriptionnels sensibles aux ligands.

Les récepteurs couplés aux protéines G (GPCRs) apparaissent également comme des cibles dominantes (20 à 33,3 %), traduisant un engagement fort dans les mécanismes de signalisation cellulaire, de régulation immunitaire et de perception de la douleur (Ammon, 2010). Cette double prédominance (nucléaires et GPCRs) reflète la capacité des composés à moduler à la fois les réponses rapides de signalisation et les réponses transcriptionnelles à long terme.

Par ailleurs, les enzymes, incluant les hydrolases et phosphatases (13,3 % chacune), sont également bien représentées, et impliquées dans la régulation de voies métaboliques et inflammatoires, notamment via l'inhibition de la 5-lipoxygénase, une cible bien connue des acides boswelliques (Safayhi, 1992 ; Goel, 2002). Les cytochromes P450 (6,7 à 13,3 %) indiquent une capacité à interférer avec le métabolisme hépatique des xénobiotiques, renforçant l'idée d'un potentiel détoxifiant (Hostanska, 2002).

Les transporteurs électrochimiques (13,3 à 20 %) et les canaux ioniques (6,7 à 13,3 %) sont également ciblés, mettant en évidence un potentiel neuroprotecteur, en lien avec la régulation du stress oxydatif, des flux ioniques neuronaux et de l'excitabilité cellulaire (Roy et al., 2019). La présence plus marginale de facteurs de transcription et d'oxydoréductases (6,7 %) confirme une action complémentaire sur la transcription et le métabolisme énergétique.

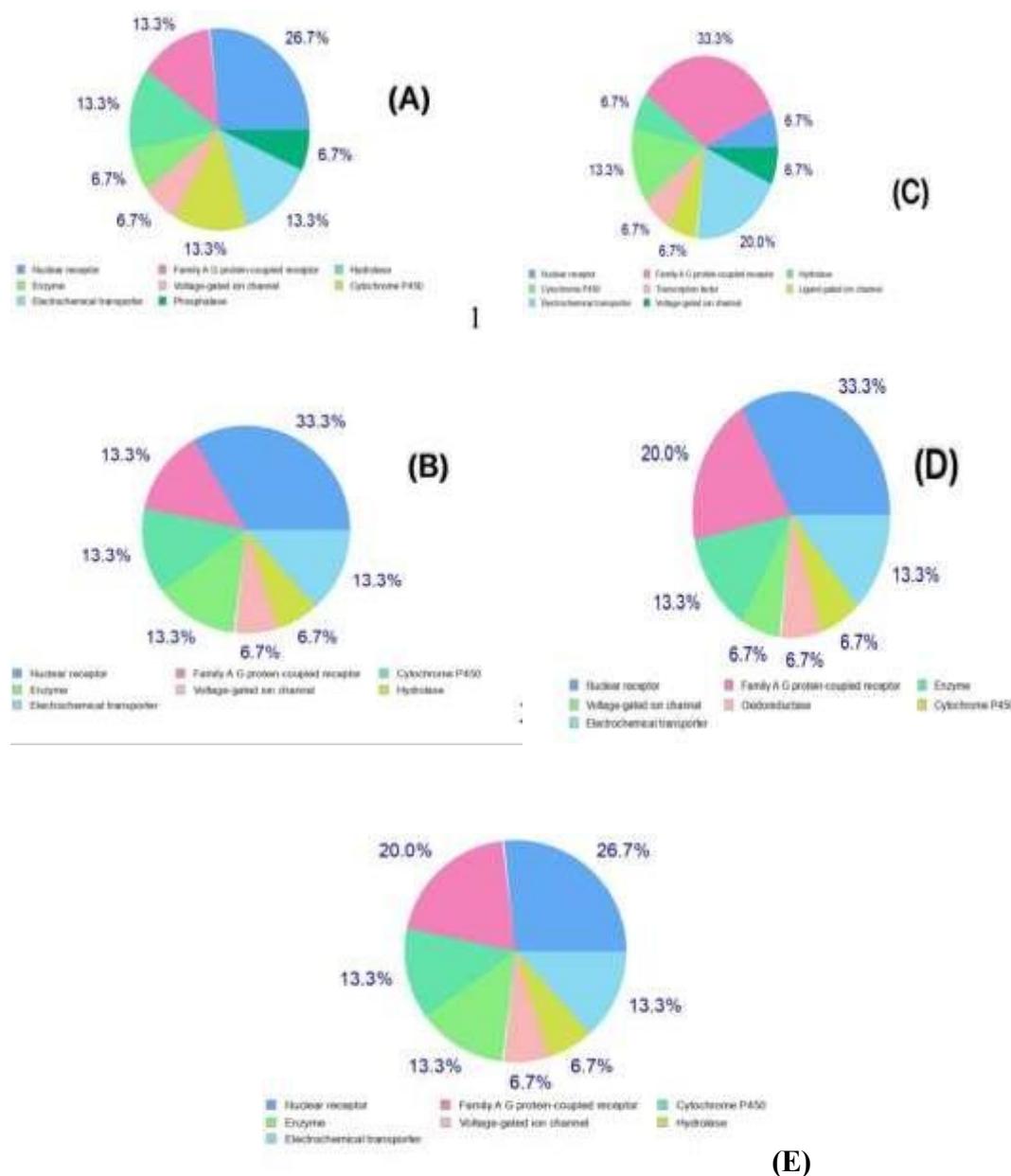


Figure 36:Cibles moléculaires des molécules bioactives *Boswellia carterii*

A : α -Pinène B :Limonène C : Caryophyllène D :o-Cymène E : α -Amorphène

III.7. Prédiction des cibles moléculaires des molécules bioactives de *Melaleuca alternifolia*

La prédiction des cibles moléculaires (figures Graphiques A, B, C) révèle une prédominance constante des récepteurs nucléaires, notamment dans le graphique C où ils atteignent 33,3 %, ce qui confirme leur rôle central dans la régulation de l'expression génique et leur potentiel thérapeutique (Evans & Mangelsdorf, 2014).

Les récepteurs couplés à la protéine G de type A sont également bien représentés, notamment dans A (20,0 %) et C (26,7 %), traduisant leur importance dans la signalisation cellulaire (Hauser et al., 2017). En revanche, le graphique B montre une plus grande diversité avec une répartition équilibrée entre plusieurs classes enzymatiques comme les hydrolases, phosphatases ou oxydoréductases, reflétant une action plus métabolique des composés testés (Ardito et al., 2017 ; Nelson et al., 2004). Cette variation dans la distribution des cibles suggère que les composés bioactifs étudiés pourraient agir via des mécanismes complémentaires ou spécifiques selon le modèle ou la source testée.(Figure3.15)

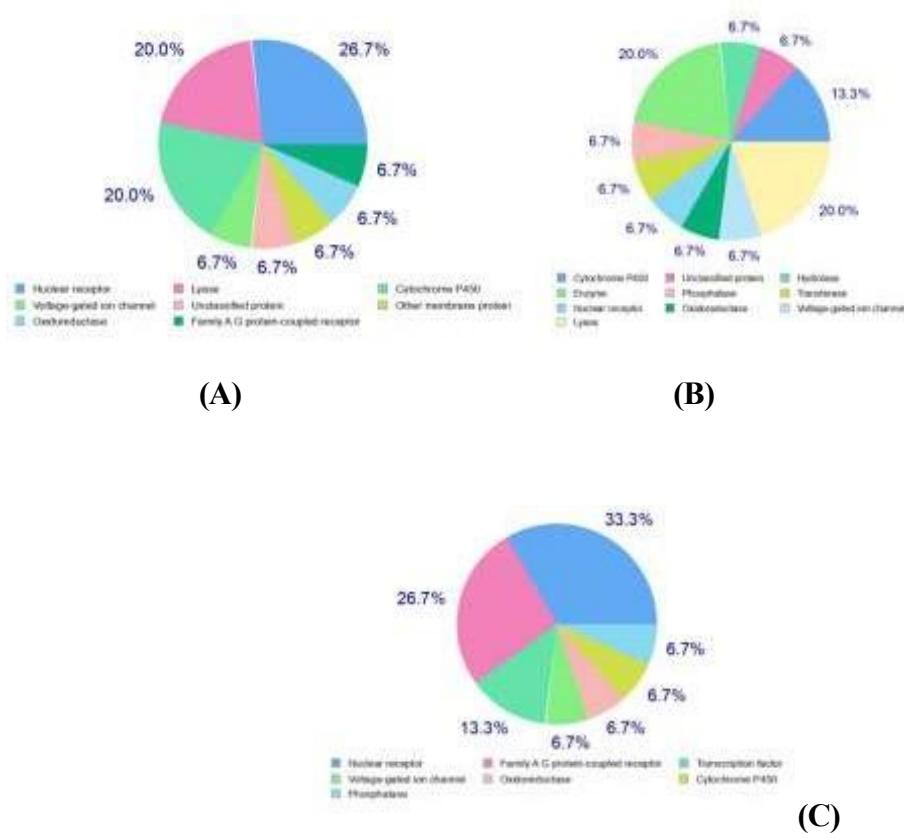


Figure 37:Cibles moléculaires des molécules bioactives *Melaleuca alternifolia*

A : Terpinen-4-ol B : 1,8-Cinéole C : Terpinolène

III.8. Analyse comparative et synergie potentielle entre *Boswellia carterii* et *Melaleuca alternifolia*

L’analyse croisée des profils de ciblage moléculaire des molécules bioactives de *Boswellia carterii* et *Melaleuca alternifolia* révèle des similarités marquées mais

aussi des spécificités qui suggèrent un potentiel synergique intéressant en pharmacologie.

Chez *Boswellia carterii*, les cibles majeures sont les récepteurs nucléaires (jusqu'à 33,3 % dans certains profils) et les récepteurs couplés aux protéines G de type A (Family A GPCRs), avec une distribution relativement équilibrée entre d'autres cibles comme les enzymes, les cytochromes P450 et les transporteurs électrochimiques. Cette plante, riche en acides boswelliques et en sesquiterpènes, est bien connue pour ses effets anti-inflammatoires, immunomodulateurs et antitumoraux (Ammon, 2010 ; Poeckel & Werz, 2006). Les récepteurs nucléaires ciblés peuvent inclure les PPARs et les récepteurs des glucocorticoïdes, impliqués dans la régulation de l'inflammation et du métabolisme lipidique.

En comparaison, *Melaleuca alternifolia* montre également une forte affinité pour les récepteurs nucléaires (26,7 %), mais se distingue par une implication marquée des lyases (jusqu'à 20 %), des canaux ioniques voltage-dépendants et des protéines membranaires non classifiées, ce qui traduit une action plus diversifiée sur le métabolisme enzymatique et la signalisation membranaire. Cette diversité est compatible avec l'activité antimicrobienne large spectre des composants de l'huile essentielle (notamment le terpinen-4-ol), qui interfèrent avec les membranes cellulaires et perturbent l'équilibre ionique des micro-organismes (Hammer et al., 2003 ; Cox et al., 2001).

Les deux plantes partagent donc un noyau commun de ciblage autour des récepteurs nucléaires et des protéines de signalisation (telles que les GPCRs ou les canaux ioniques), mais *Melaleuca* se distingue par une action plus marquée sur les enzymes (lyases, oxydoréductases) et les protéines membranaires non spécifiques, tandis que *Boswellia* privilégie une régulation transcriptionnelle via les récepteurs intracellulaires et les enzymes métaboliques comme le cytochrome P450.

Sur le plan thérapeutique, cette complémentarité ouvre la voie à une synergie potentielle : *Boswellia carterii* pourrait agir en profondeur sur la régulation immunitaire et la transcription des médiateurs inflammatoires, tandis que *Melaleuca alternifolia* exercerait une action périphérique directe sur les membranes pathogènes, les enzymes oxydatifs et les canaux ioniques. Cette association pourrait ainsi être exploitée dans des contextes cliniques tels que les infections chroniques, les

inflammations cutanées ou les troubles immunitaires, où un double effet anti-inflammatoire et antimicrobien est recherché.

III.9. Produits élaborés à partir des extraits végétaux

Le sérum obtenu se présente sous la forme d'un liquide limpide, de couleur vert olive, au parfum aromatique subtil dû à la présence des huiles essentielles. La base huileuse, composée du macérât de *Ziziphus spina-christi* dans l'huile de jojoba, confère une excellente stabilité et une bonne affinité avec la peau, grâce aux propriétés émollientes et non comédogènes du support. L'ajout des huiles essentielles à 1 % a permis de renforcer l'activité biologique du sérum : *Melaleuca alternifolia* est reconnue pour son action antimicrobienne et antifongique, tandis que *Boswellia carterii* possède des propriétés anti-inflammatoires et régénérantes (Ali et al., 2015 ; Tisserand & Young, 2014). Aucun phénomène de séparation, de précipitation ou d'altération organoleptique n'a été observé durant les jours suivant la préparation, témoignant d'une bonne compatibilité et d'une stabilité satisfaisante de la formulation. Cette synergie entre les composés actifs végétaux et les huiles essentielles positionne ce sérum comme un produit à potentiel dermothérapeutique, notamment dans le soin des peaux sensibles, irritées ou sujettes aux imperfections.. (figure3.17)



Figure 38:Sérum

L'extraction aqueuse de la gomme d'encens a permis d'obtenir un extrait limpide de couleur brun clair, avec une viscosité modérée et une légère odeur caractéristique. Ce résultat est en accord avec les travaux de Al-Yasiry & Kiczorowska (2016), qui ont montré que la macération à froid permet une récupération efficace des composés hydrophiles tels que les polysaccharides, certains acides boswelliques solubles, ainsi que des composés volatils légers. La texture légèrement gélatineuse observée après macération est attribuée à la solubilisation partielle des gommes et mucilages présents dans la résine (Meins et al., 2000). Bien que l'extraction aqueuse ne permette pas de récupérer l'intégralité des fractions lipophiles, elle constitue une méthode douce et efficace pour l'obtention d'un extrait destiné à des applications biologiques ou pharmacologiques à visée anti-inflammatoire ou antioxydante. (Figure3.18)



Figure 39:Spray

Conclusion

Conclusion et Perspectives

Cette étude met en lumière la richesse thérapeutique et cosmétique des huiles essentielles de *Boswellia carterii*, *Melaleuca alternifolia*, selon une approche intégrée combinant extraction, caractérisation chimique, évaluation biologique et formulation dermocosmétique. L'analyse chromatographique GC-MS a mis en évidence la prédominance de composés bioactifs tels que l' α -pinène, le terpinen-4-ol et le trans-caryophyllène, reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes.

Les tests antimicrobiens réalisés ont montré une efficacité remarquable contre les bactéries Gram positives, notamment *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*, ainsi qu'une forte activité antifongique contre les souches du genre *Aspergillus sp.* L'association des extraits a permis de révéler un effet synergique notable, en particulier entre l'huile essentielle d'arbre à thé et le macérât, avec un FICI de 0,5, soulignant une action combinée prometteuse. De plus, l'inhibition quasi complète de la formation de biofilm bactérien par les mélanges d'extraits confirme leur potentiel dans la lutte contre les infections persistantes.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH a révélé une efficacité notable, notamment pour l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* ($IC_{50} \approx 0,041$ mg/mL), suivie par le macérât. Concernant la sécurité d'emploi, les tests de génotoxicité (test d'Ames) ont montré l'absence d'activité mutagène, même après biotransformation simulée, ce qui atteste de la non-toxicité des extraits. Enfin, les prédictions pharmacocinétiques in silico (SwissADME) ont mis en évidence une bonne absorption cutanée, une biodisponibilité satisfaisante ainsi qu'un faible potentiel toxique, confirmant la pertinence d'une application topique.

L'ensemble de ces résultats justifie le développement d'une formulation dermocosmétique innovante (sérum et spray), à base de ces extraits naturels, pouvant représenter une alternative sûre, stable et efficace dans le traitement ou la prévention des affections cutanées.

Dans la continuité de ce travail, plusieurs axes de recherche méritent d'être approfondis :

Conclusion

- **Études cliniques** : la réalisation d'essais cliniques chez l'homme permettra de valider l'efficacité et la tolérance des formulations développées dans des conditions réelles d'usage.
- **Optimisation galénique** : des études supplémentaires sur la stabilité à long terme, l'encapsulation des principes actifs (par des nanoparticules ou des liposomes) et la libération contrôlée pourraient améliorer l'efficacité cutanée et la durée d'action.
- **Exploration d'autres pathogènes** : élargir le spectre d'évaluation à d'autres souches microbiennes, notamment multirésistantes, permettrait d'évaluer l'intérêt thérapeutique en contexte infectieux complexe.
- **Analyse mécanistique approfondie** : des investigations moléculaires (transcriptomique, protéomique) pourraient préciser les mécanismes d'action cellulaires et les voies de signalisation ciblées par les composés actifs.
- **Évaluation écologique et économique** : enfin, une approche éco-conçue intégrant l'impact environnemental de la production des extraits et l'évaluation du coût-bénéfice industriel favoriserait une valorisation durable de ces ressources naturelles.

Ces perspectives offrent un cadre stimulant pour le développement de produits dermocosmétiques innovants à base de plantes médicinales, à l'interface entre santé, écologie et innovation pharmaceutique.

Références

Références

- Ali, N.A.A., Sharopov, F.S., Alkhlaif, H., et al. (2015). Chemical composition and biological activities of essential oils from *Boswellia* species. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601–606.
- Aljeldah, M. (2021). Antibacterial and antioxidant activities of *Ziziphus spina-christi* leaf extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(1), 1181–1186.
- Al-Snafi, A. E. (2018). Pharmacological and therapeutic activities of *Ziziphus spina-christi* (L.) Desf. – A review. *Plant Archives*, 18(2), 2217–2225.
- Ammon, H. P. T. (2010). Modulation of the immune system by *Boswellia serrata* extracts and boswellic acids. *Phytomedicine*, 17(11), 862–867.
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl_1), 5–16.
- Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17(4), 3989–4006.
- Bakkali, F. et al. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*.
- Birdwood, G.C.M. (1887). *Boswellia canterii* Birdw., in Köhler's Medizinal-Pflanzen (Atlas zur Pharmacopoea germanica), pl. A-B.
- Bos, J. D., & Meinardi, M. M. H. (2000). The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Experimental Dermatology*, 9(3), 165–169.
- Boukhatem et al. (2014). [Référence incomplète]
- Brosse, J. *La magie des plantes*, p. 215–216.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*.

Références

- Camarda, L., Dayton, T., Di Stefano, V., Pitonzo, R., & Schillaci, D. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of some oleogum resin essential oils from *Boswellia* spp. *Annali di Chimica*, 97(9), 837–844.
- Carson, C. F., Hammer, K. A., & Riley, T. V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 50–62.
- Chaves, C., Remiāo, F., Cisternino, S., & Decleves, X. (2021). P-glycoprotein and brain pharmacoresistance: From molecules to therapies. *Drug Resistance Updates*, 59, 100796.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2020). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 30e édition. CLSI document M100. Wayne, PA.
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, 42717.
- Daly, D.C., Harley, M.M., Martínez Habibe, M.C., & Weeks, A. (2010). *Burseraceae*, dans *Flowering Plants. Eudicots* (Kubitzki, vol. II, pp. 76–104). Berlin : Springer.
- Dantas Silva, A. C., et al. (2021). Natural products in cosmetics: Regulatory aspects and formulations. *Sustainability*, 13(9), 4954.
- Edris, A. E. (2022). Essential oils and nanotechnology for treatment of microbial infections. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106, 1277–1290.
- Gadir, S. A., & Ahmed, M. M. (2020). Antibacterial activity of *Boswellia carterii* essential oil against human pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 14(4), 183–189.
- Goel, A., Kunnumakkara, A. B., & Aggarwal, B. B. (2002). Boswellic acid inhibits growth and metastasis of human colorectal cancer in orthotopic mouse model. *Cancer Research*, 68(24), 10234–10242.

Références

- Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86(6), 985–990.
- Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (2003). Antimicrobial activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil against MRSA. *Journal of Applied Microbiology*.
- Helander, I.M. et al. (1998). Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Herman et al. (2013). [Référence incomplète]
- Hofmann E., Schwarz A., Fink J., Kotzbeck P. (2023). Structural details of human skin. *Modelling the Complexity of Human Skin In Vitro*.
- Hostanska, K., Daum, G., & Saller, R. (2002). Cytostatic and apoptosis-inducing activity of boswellic acids toward malignant cell lines in vitro. *Anticancer Research*, 22(5), 2853–2862.
- Jacques Brosse. *La magie des plantes*, p. 216.
- Jäger, W. et al. (1992). Pharmacokinetic studies of the fragrance compound 1,8-cineole in humans. *Arzneimittel-Forschung*.
- Jain, M. & al. (2016). A review of eucalyptus propagation and conservation.
- Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles. *Clinical Infectious Diseases*, 49(11), 1749–1755.
- Juergens, U.R. et al. (2003). Anti-inflammatory activity of 1.8-cineole in bronchial asthma. *Clinical & Experimental Allergy*.
- Kaur, P., Garg, T., Rath, G. (2024). Incorporation of *Melaleuca alternifolia* essential oil in alginate-chitosan hydrogel. *International Journal of Biological Macromolecules*.

Références

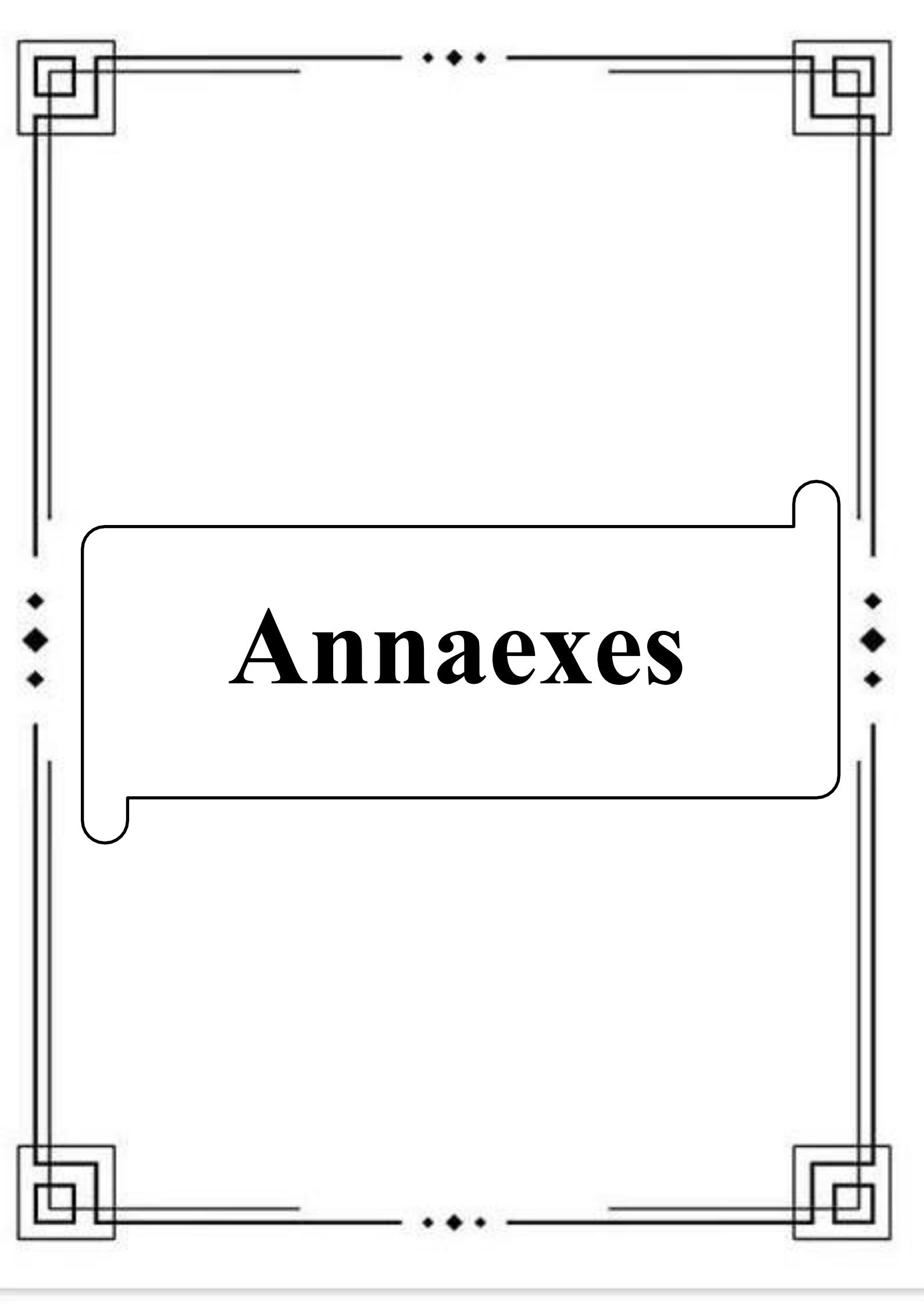
- Kumar A., Sinha M., Saxena J. (2004). Antioxidant activity of *Melaleuca alternifolia* oil. *Journal of Food Science and Technology*.
- Langeveld, W. T., Veldhuizen, E. J. A., & Burt, S. A. (2014). Synergy between essential oil components and antibiotics. *Critical Reviews in Microbiology*, 40(1), 76–94.
- Lodén & Maibach, (2012). [Référence incomplète]
- Maiden & Betche (1905). *Proceedings of the Linnean Society of New South Wales*.
- Mark Barton Frank et al. (2009). [Référence incomplète]
- Maron, D.M., & Ames, B.N. (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, 113, 173–215.
- Martins, A. M., et al. (2022). Formulation and stability of natural cosmetics. *Pharmaceutics*, 14(2), 367.
- Michel De Méo. (1997). *Le test d'Ames ou Mutatest. La Gazette du laboratoire*, no 20.
- Michèle Bilimoff. *Les plantes, les hommes et les dieux*, pp. 92–93.
- Mohd et al. (2017). [Référence incomplète]
- Mondello, F., De Bernardis, F., Girolamo, A., Cassone, A., & Salvatore, G. (2003). In vivo activity of tea tree oil and in vitro synergism with fluconazole. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(5), 1223–1230.
- Mortelmans, K., & Zeiger, E. (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*, 455(1–2), 29–60.
- Nazzaro, F., et al. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Molecules*, 18(6), 7228–7246.
- Nostro, A. et al. (2004). Antibacterial activity of plant extracts on antibiotic-resistant bacteria. *Letters in Applied Microbiology*.

Références

- Pattnaik, S., Subramanyam, V. R., & Kole, C. (1997). Antifungal and antibacterial activity of ten essential oils in vitro. *Microbios*, 89(358), 39–46.
- Petra Borotová et al. (2023). In vitro and in silico evaluations of *Boswellia carterii* dermocosmetic activities. *Cosmetics*, 9(6), 131.
- Pires et al. (2019). [Référence incomplète]
- Poeckel, D., & Werz, O. (2006). Boswellic acids: biological actions and molecular targets. *Current Medicinal Chemistry*, 13(28), 3359–3369.
- Raut, J. S., & Karuppayil, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*, 62, 250–264.
- Roy, N. K., et al. (2019). An update on pharmacological potential of boswellic acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(17), 4101.
- Russo, E.B. (2011). Taming THC: potential cannabis synergy and phytocannabinoid-terpenoid entourage effects. *British Journal of Pharmacology*.
- Sabra, S. M., & Al-Masoudi, N. A. (2014). Antifungal effect of *Boswellia carterii* oil on yeast. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), 64–73.
- Sagar Aryal. (2018). *Ames Test - Introduction, Principle, Procedure, Uses and Interpretation*. Microbiology Info.com.
- Safayhi, H., Rall, B., Sailer, E. R., & Ammon, H. P. T. (1992). Inhibition by boswellic acids of human leukocyte elastase. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 261(3), 1143–1146.
- Saraf & Saraf (2010). [Référence incomplète]
- Sharifi-Rad, J., et al. (2020). Essential oils: Biological activity beyond fragrance. *Molecules*, 25(19), 4591.

Références

- Sharom, F. J. (2008). ABC multidrug transporters in chemoresistance. *Pharmacogenomics*, 9(1), 105–127.
- Sohaib Hourfane et al. (2022). In vitro and in silico evaluations of *Boswellia carterii* resin. *Cosmetics*, 9(6), 131.
- Tisserand, R., & Young, R. (2014). *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals* (2nd ed.). Elsevier.
- Varma, M. V. S., Ashokraj, Y., Dey, C. S., & Panchagnula, R. (2005). P-glycoprotein inhibitors and screening. *Pharmacological Research*, 48(4), 347–359.
- Watt, P. A., Blakeway, F., Mokotedi & Jain, S. M. (2003). Micropropagation of Eucalyptus. *Vegetative Propagation of Eucalyptus nitens*.
- Xiaofeng Zhang, Yanjun Guo, Liying Guo, Hui Jiang, Qianhua Ji. (2018). Evaluation of *Melaleuca alternifolia* oil. *Journal of Food Science and Technology*.
- Zhao A., Zhang Z., Zhou Y., Li X., Li X., Ma B. & Zhang Q. (2022). *Boswellia carterii* extracts for collagenase and elastase inhibition. *Cosmetics*, 9(6), 131.



Annaexes

Annexes

Annexes

Annexes 1 :Composition et préparation de milieu de culture Annexes

Milieu	Composition	Préparation
Muller-Hinton (MH)	Caséine hydrolysée à l'acide Amidon Extrait de viande de bœuf Chlorure de sodium (NaCl) pH final (à 25 °C)	Peser 26 g de poudre MH (milieu déshydraté) pour 1L d'eau distillée. Dissoudre complètement en chauffant doucement avec agitation. Stériliser par autoclave à 120°C pendant 20minutes. Laisser refroidir à 45°C avant de couler dans des boîtes de Petri stériles (20–25 mL/boîte). Stockage : après solidification, conserver les boîtes à 2–8 °C, à l'abri de la lumière.

Annexes 2 :Appareillage

Grands matériaux

Mortier avec pilon	Étuve
Chauffe ballon	Plaque chauffante
Appareil d'hydrodistillation	Agitateur
Réfrigérateur	Bain marie
Balance	Spectrophotomètre
électronique	Autoclave

Petits matériaux

Éprouvette	Anse de platine	Pipettes Pasteurs	Seringue
Flacons en verre	Barreaux Magnétique	Embouts	Portoirs
Bec Bunsen	Micropipettes	Écouvillons stériles	Les flacons
Tubes à essai stérile	tubes sec	plaque de 96 puits	Béchers gradués
Boites de pétri	Spatule	Pince	

Annexes



Balance

Agitateur



Boites de pétri

Annexes



Bec Bunsen



Matériel de dissection



Fois du rat



la dissection



plaque de 96 puits



lecteur de paque

Annexes



Tubes à essai

Annexes 3 :Produits chimiques et les réactifs chimiques

Produits chimiques	réactifs chimiques
Éthanol	DMSO
méthanol	DPPH
Eau distillé	glucose 6 phosphate
Eau physiologie	violet de gentiane
Tampon	p. histidine
phosphate (PBS)	NADPH

Annexes 4 :Analyse de HE de *Melaleuca alternifolia*



SPECIFICATION DE PRODUIT

Product Description: Tea Tree oil

Article No.: P0122787

Valeurs physiques

Aspect (selon FL M-AP-001):	liquide, limpide, jaunâtre
Profil sensoriel (selon FL M-SP-002):	En cas d'utilisation appropriée le profil sensoriel est typique.
Point d'éclair (selon FL ASTM D6450):	63 °C
Densité relative (selon FL EuAB 2.2.5):	0,884 ... 0,894 (d20/4)
Indice de réfraction (selon FL EuAB 2.2.6):	1,468 ... 1,488 (nD20)
Rotation (selon FL EuAB 2.2.7):	+1° ... +11° (a20)

Valeurs microbiologiques

Références:	§ 84 du receuil de méthodes LFBG (Code allemand sur les denrées alimentaires et aliments pour animaux) et norme ISO
Teneur total en germes:	max. 1.000 / g
Lévures:	max. 100 / g
Moississures:	max. 100 / g
Enterobacteriaceae:	max. 10 / g
Germes coliformes:	négatif in 0,1 g
Escherichia coli:	négatif in 1 g
Salmonelles:	négatif in 50 g

Impuretés

Le Règlement (CE) No. 1334/2008 sur les arômes ne définit pas de limites pour les métaux lourds.	
C'est pourquoi nous nous basons sur les limites indiquées dans l'ancienne Directive 88/388 (CEE).	
Arsène (As):	max. 3 ppm
Cadmium (Cd):	max. 1 ppm
Mercurie (Hg):	max. 1 ppm
Plomb (Pb):	max. 10 ppm

Valeurs nutritionnelles

Références:	Codex Alimentarius: „Guidelines on Nutritional Labelling (CAC/GL-2-1985)”; IOFI „Information Letter No. 1438 - Energy value of flavourings”; valeurs moyennes calculées
-------------	---



Ethanol:	0,00 % en poids
	0,00 % en volume
V. énergétique:	0 kcal/100 g
	0 kJ/100 g
Protéines:	0,0 g/100 g
Glucides:	0,0 g/100 g
Sucre:	0,0 g/100 g
Graisse:	0,0 g/100 g
Fibres:	0,0 g/100 g
Sel (NaCl):	0,0 g/100 g

Aptitude pour une nutrition particulière

Ovo-lacto-végétarien ¹ :	Oui
Vegan ² :	Oui
Kosher:	certified

¹ l'article ne contient pas de produits de viande

² l'article ne contient pas de produits animaliers, y inclu le miel

Conditions de stockage

Conditions:	Stocker dans des contenants bien remplis dans un endroit frais et sec à l'abri de la lumière.
Température:	Température de stockage conseillée entre 10-20 °C.
D.L.U.O.:	Si le produit est stocké dans des emballages adaptés, il peut se garder pendant minimum 36 mois. Au-delà de cette période, la qualité du produit est à vérifier avant utilisation.

Nous signalons que les indications sur la microbiologie, les métaux lourds, les valeurs nutritionnelles et l'aptitude du produit à être utilisé dans le cadre de formes d'alimentation particulières ne reposent pas sur des analyses réalisées sur le produit concret, mais qu'il s'agit d'indications établies sur la base des informations des fournisseurs ou de valeurs empiriques générales qui s'appliquent de manière générale pour l'article susmentionné. C'est la raison pour laquelle nous déclinons toute responsabilité vis-à-vis de ces indications, notamment en ce qui concerne leur emploi ou l'emploi de cet article par le client. Au contraire, il incombe au client de les vérifier lui-même au besoin (par ex. en réalisant ses propres analyses) et de s'assurer la capacité de mise sur le marché.

Ce certificat est établi en numérique, valable sans signature.



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



UNIVERSITE SAAD DAHLEB FACULTE DES

SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Spécialité : biotechnologie génomique végétale

Evaluation des propriétés pharmaceutiques des extraits de
Melaleuca alternifolia et *Boswellia carterii* vers l'élaboration
de produit biopharmaceutique

Présenté par :

BENAZOUT Aya Dounia

ZEBAIER Kaouther

Soutenue le 10/07/2025

Devant le jury :

Dr AYADI R

MCA

Présidente

Dr AMARA N

MCA

Examinateuse

Dr BOULESNAM S.L

Docteur

Encadrante

Avis favorable de l'examinatrice AMARA N.

Année universitaire : 2024/2025