

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Spécialité Pharmacotoxicologie



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle
en Vue de l'Obtention du Diplôme

MASTER

Thème

**Évaluation des activités antioxydante et
anti-microbienne des huiles essentielles
de *Cedrus atlantica***

Présenté par :

Kherdouche Thanina & Boukhiba Melissa

Soutenu le : **03 Juillet 2025**

Devant le jury composé de :

M^{me} Sadaoui. K	Présidente	MCA
Mr Belkacem. N	Encadrant	MCA
M^{me} Boudjouan. A	Examinatrice	MCB

Année universitaire : 2024 / 2025



REMERCIEMENT

Nous remercions tout d'abord le bon DIEU le tout puissant qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier vivement :

Notre encadrant Mr BELKACEM NASSIM pour son encadrement bienveillant, ses conseils avisés, sa disponibilité et ses précieuses orientations tout au long de ce projet.

Les memebres de jury d'avoir accepté de participer à la présentation de ce travail.

Toute l'équipe de laboratoire SNV pour leur gentillesse et leur professionnalisme.

La doctorante M^{me} RAHMANI RANIA pour son aide généreuse.

Enfin, nous remercions toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire



DÉDICACE 1

Du profond de mon cœur que je dédie ce travail :

Avant tout, je remercie ALLAH, Le Très-Haut, de m'avoir donné la force, la volonté et la patience nécessaire pour réaliser et achever ce modeste travail.

À ma famille, pour l'éducation digne qu'elle m'a transmise et pour l'amour qui a fait de moi la personne que je suis aujourd'hui.

Particulièrement :

À ma très chère maman et à mon très cher papa

Je vous remercie de tout cœur pour tout ce que vous avez fait pour moi. Votre amour inconditionnel, votre présence constante à mes côtés, votre soutien indéfectible et vos encouragements m'ont toujours porté. Aucune dédicace ne saurait exprimer pleinement l'amour profond et l'immense gratitude que je vous porte pour tous les sacrifices consentis pour mon éducation et mes études, Que Dieu vous accorde santé et longue vie.

À mes deux très chers frères "Messípsa et Samí"

Merci d'avoir toujours été là pour moi, votre présence, vos conseils et votre affection ont été d'un soutien précieux. Que Dieu vous protège et vous garde à mes côtés pour toujours.

À ma très chère amie Lydia, Un immense merci pour ta présence, ton soutien sincère tout au long de ce parcours.

THANINA ♥

DÉDICACE 2

Avant toute chose, je rends grâce à Dieu, le Tout-Puissant, pour sa bénédiction, sa miséricorde et la force qu'Il m'a donnée pour mener à bien ce travail.

À moi-même

Pour la persévérance, les sacrifices et la confiance que j'ai su garder tout au long de ce parcours.

À ma grand-mère

Ma deuxième mère, mon pilier, ma lumière. Grâce à toi, je suis celle que je suis aujourd'hui. Ton amour, tes conseils et ton éducation m'ont forgée. Ce travail est dédié à ta sagesse, ton courage et ton immense générosité. Merci d'avoir cru en moi, même dans les moments où moi je doutais.

À mes parents

Pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices silencieux et leur soutien sans faille. Vos encouragements ont été la clé de mon épanouissement.

À mes chères sœurs "Dahbia, Amel, Lilia, Zahra et Emily"

Mes alliées de cœur, merci pour votre présence, vos mots réconfortants et votre affection sincère.

À mon frère "Lhacen"

Pour son amour fraternel, sa protection et sa fierté discrète.

À ma meilleure amie *Tafsouth*, pour son amitié précieuse, son écoute et son soutien indéfectible dans les moments de doute comme dans les moments de joie.

À ma binôme *Thanina*, pour cette belle collaboration, ta patience, ton engagement et ton soutien moral. Ensemble, nous avons franchi chaque étape avec détermination et solidarité.

Merci à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à ce travail.

Melissa

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I : Revue Bibliographique

I.1. Généralités sur le genre *Cedrus*.....3

I.1.1. Présentation de *Cedrus atlantica*.....3

I.1.2. Taxonomie et classification botanique3

I.1.3. Description des principales espèces du genre *Cedrus*.....4

I.1.4. Caractéristiques botaniques des différentes parties de *Cedrus atlantica*.....4

I.2. Historique et répartition géographique de *Cedrus atlantica*.....6

I.2.1. Aire de distribution.....6

I.2.2. Aire d'introduction.....7

I.3. Phytochimie de *C. atlantica*.....7

I.3.1. Composition chimique des huiles essentielles.....7

I.4. Propriétés biologiques et thérapeutiques de *Cedrus atlantica*.....7

I.4.1. Activité antioxydante.....10

I.4.2. Activité antimicrobienne.....10

I.4.3. Autres activités biologiques.....11

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel.....12

II.1. Matériel végétal.....12

II.2. Méthodes.....13

II.2.1. Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*.....13

II.2.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
de l'huile essentielle des épinettes de *Cedrus atlantica*.....14

II.3. Évaluation de l'activité antioxydante.....16

II.4. Activité antimicrobienne.....21

II.4.1. Préparation des échantillons.....22

II.4.2. Préparation de milieu de culture.....22

II.4.3. Méthode de diffusion sur disques.....23

II.4.4. Méthode de microdilution sur microplaques.....23

II.5. Analyse statistique.....	24
--------------------------------	----

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Rendement de l'extraction.....	25
---------------------------------------	----

III.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de l'huile essentielle de <i>Cedrus atlantica</i>	25
--	----

III.3. Activité antioxydante.....	31
-----------------------------------	----

III.4. Activité antimicrobienne.....	34
--------------------------------------	----

Conclusion et perspectives.....	40
---------------------------------	----

Références bibliographiques.....	41
----------------------------------	----

Résumé	
--------	--

Liste des abréviations

ABTS : Acide 2, 2-azinobis-3-éthylbensothiazoline-6-sulfonique.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ATCC : American Type Culture Collection.

BHA : Butyle hydroxytoluène.

BMH : Bouillon Muller Hinton.

CAT : Capacité antioxydante totale.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

DMSO : Dimethyl sulfoxyde.

DPPH : 2,2 diphenyl- 1- picrylhydrazyle.

DZI : Diamètres des zones d'inhibition.

ERO : Espèces Réactives Oxygénées.

FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power.

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

GMH : Gélose Muller Hinton.

Gram⁺ : Gram positif.

Gram⁻ : Gram négatif.

GSC : Gélose Sabouraud-Chloramphénicol.

HE : Huile essentielle.

HECA : Huile essentielle de *Cedrus atlantica*.

ha : Hectares

IAx : Indice arithmétique.

IC50 : Concentration Inhibitrice de 50% des radicaux libre.

5-Lox : 5-Lipoxygénase.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

pH : potentiel hydrogène.

UCF/ml : Unité formant colonie/ millilitre.

µEq Vit C/g : Micro équivalent vitamine C par gramme.

TPTZ : 2, 4, 6-tris 2-pyridyl-1, 3, 5-s-triazine.

TR : Temps de rétention.

Vit C : Vitamine C.

Liste des figures

Figure N°	Titre de la figure	Page
01	Cèdre de l'Atlas (<i>Cedrus atlantica</i> M).	3
02	Parties botaniques de <i>Cedrus atlantica</i> .	5
03	Répartition actuelle du cèdre de l'Atlas.	6
04	Photographie originale de <i>Cedrus atlantica</i> dans la forêt d'Akfadou (ADEKAR).	12
05	Schéma d'extraction par hydrodistillation.	13
06	Étapes du traitement de la plante de la récolte jusqu'à l'extraction.	14
07	Mécanisme de piégeage du DPPH [•] par un antioxydant (AH).	16
08	Protocole de l'activité de piégeage du radical DPPH [•] .	17
09	Structure de 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acide) (ABTS ^{•+}).	18
10	Protocole de la préparation du radical ABTS ^{•+} .	19
11	Protocole de l'activité de piégeage du radical ABTS ^{•+} .	19
12	Réaction pour le test FRAP.	20
13	Chromatogramme de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) : (A)- de l'huile essentielle des épines de <i>Cedrus atlantica</i> ; (B)- des hydrocarbures n-alcanes de C9 à C20.	26
14	Spectres de masse des composants volatiles isolés des épines de <i>Cedrus atlantica</i> .	29
15	Structures chimiques des composés volatiles isolés des de l'huile essentielle de <i>Cedrus atlantica</i>	30
16	Pourcentages d'inhibition du radical DPPH [•] par : (A) les standards (Vit C et BHA) ; (B) L'HE des épines de <i>Cedrus atlantica</i> .	31
17	Valeurs des IC ₅₀ du DPPH [•] de l'HE et des standards.	32
18	Pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{•+} par : (A) les standards (Vit C et BHA) ; (B) L'HE des épines de <i>Cedrus atlantica</i> .	32
19	Valeurs des IC ₅₀ de l'ABTS ^{•+} de l'HE et des standards.	33
20	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test FRAP.	33
21	Résultats de la méthode de diffusion sur disques.	36
22	Résultats de la méthode microdilution sur microplaques.	38
23	Résultats de l'activité bactéricide de l'huile essentielle et la pénicilline G sur les souches bactériennes testées.	39

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre du tableau	Page
I	Caractères biologiques des quatre espèces du cèdre.	4
II	Répartition des composants chimiques dans les huiles essentielles de <i>Cedrus atlantica</i> .	8
III	Caractéristiques et rendement d'extraction de l'huile essentielle des épinettes de <i>Cedrus atlantica</i> (Adekar, Algérie).	25
IV	Composition chimique de l'huile essentielle des épinettes de <i>Cedrus atlantica</i> .	27
V	Diamètres des zones d'inhibition de l'HE et des antibiotiques sur les micro-organismes testés.	35
VI	Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de l'huile essentielle et de la pénicilline G vis-à-vis des souches bactériennes testées.	37

Introduction

Introduction

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), environ 65 à 80% de la population dans les pays en développement dépendent essentiellement des plantes médicinales traditionnelles pour leurs soins primaires, dont la valeur marchande annuelle mondiale des produits dérivés à partir de celles-ci, dépasse les cent milliards de dollars, et qui subit de plus en plus une croissance marquée (**Habibou et al., 2019**).

Il existe un intérêt croissant pour la découverte de nouveaux dérivés de plantes, notamment en tant qu'agents antioxydants et anti-microbiens (**El Hachlafi et al., 2023**). En effet, plusieurs chercheurs ont constaté que le stress oxydatif et les atteintes cellulaires, liés aux radicaux libres, jouent un rôle clé dans l'apparition de nombreuses maladies chroniques tels que les maladies cardiovasculaires et inflammatoires, le diabète ou encore le cancer (**Al-Dabbas et al., 2006 ; Kumar et al., 2014 ; Basli et al., 2017**).

Il est également démontré que l'usage excessif des antibiotiques, ainsi que leur mauvais emploi, contribuent à l'apparition de différentes stratégies de résistance. Face à cela, plusieurs investigations sont orientées vers la recherche de nouvelles molécules alternatives, où les plantes médicinales constituent une source majeure de substances bioactives dans le développement de nouvelles thérapies pour de nombreuses maladies infectieuses (**Bouyahya et al., 2017**).

Parmi les plantes médicinales, se trouve le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti), qui est une espèce résineuse de Pinacées, originaire des montagnes de l'Atlas algérien et marocain, connue pour son bois noble et son huile essentielle (HE) qui possède diverses activités biologiques (**Fidah et al., 2016**). En effet, les HEs extraites du bois de *Cedrus atlantica* sont reconnues pour leur utilisation en aromathérapie, notamment en raison des bienfaits cliniques traditionnellement associés aux systèmes génito-urinaires, musculo-squelettiques et cutanés (**Moustaid et al., 2015**). Elles ont également révélé des propriétés biologiques prometteuses telles qu'antioxydantes, anti-inflammatoires, insecticides et antimicrobiennes (**Martin et al., 2023**). Néanmoins, aucune étude bibliographique n'a rapporté les effets antioxydants et antimicrobiens des HEs issues des épines du cèdre de l'Atlas.

C'est dans ce cadre que nous avons initié cette étude visant à évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des HEs extraites des épines de *Cedrus atlantica*, récoltées

Introduction

dans la région d'Adekar " LAC NOIR", dans la wilaya de Béjaïa, en mois de mars 2025. Pour cela, on s'est fixé les objectifs suivants :

- ✓ Extraction de l'HE des épines de *Cedrus atlantica* par hydrodistillation.
- ✓ Analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) des composés chimiques de l'HE.
- ✓ Évaluation de l'activité antioxydante de l'HE par trois tests, à savoir : l'activité de piégeage des deux radicaux DPPH[•] et ABTS^{•+}, ainsi que le pouvoir réducteur d'ions ferriques (FRAP),
- ✓ Enfin, l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'HE par la méthode de diffusion sur disques et la méthode de microdilution sur microplaques.

Chapitre I :
Revue
Bibliographique



I.1. Généralités sur le genre *Cedrus*

I.1.1. Présentation de *Cedrus atlantica*

Le cèdre, connu sous le nom de « cedros » en grec et « *Cedrus* » en latin, a été utilisé pour désigner plusieurs espèces de genévriers, notamment le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) (René, 1964).

Cet arbre monoïque est célèbre pour sa longévité. Certains spécimens mesurés à 2000 mètres d'altitude dans le Moyen Atlas ont plus de 1200 ans (M'hirit et Benzyane, 2006). Il est également considéré comme l'une des espèces d'arbres les plus importantes économiquement et écologiquement dans les montagnes méditerranéennes (Bouyahia et al., 2023).

Le Cèdre de l'Atlas porte plusieurs noms (Demarteau et al., 2007 ; Benouaklil et al., 2017) :

➤ **Nom botanique** : *Cedrus atlantica*.

Nom local en arabe : Arz el Atlas.

➤ **Nom local en berbère** : Idil.

➤ **Nom en français** : cèdre de l'Atlas.

➤ **Nom en anglais** : Atlas cedar.

I.1.2. Taxonomie et classification botanique

Cedrus atlantica se classe botaniquement comme suit (Quèzel et Santa 1962 ; M'hirit et Benzyane, 2006 ; Demarteau et al., 2007) :

Règne : Plantae.

Embranchement : Spermatophytes (plantes à graines).

Sous-embranchement : Gymnospermes (plantes à ovules).

Classe : Vectrices.

Ordre : Coniférales

Sous-ordre : Abiétales.

Famille : Pinaceae.

Sous-famille : Abietaeae.

Genre : *Cedrus*.

Espèce : *Cedrus atlantica*.



Figure 01 : Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* M) (Nam, 2014).

I.1.3. Description des principales espèces du genre *Cedrus*

Le genre *Cedrus*, qui appartient à la famille des Pinaceae (Benouaklil et al., 2017) et à la sous-famille des Abietae (Addar et al., 2016), est un groupe d'arbres ancien et largement répandu depuis l'ère tertiaire. La classification exacte des différentes sortes de cèdres a longtemps été débattue. Initialement considérés comme une seule espèce (*Cedrus libanotica* Link) (M'hirit et Benzyane, 2006), et par la suite, ils ont été divisés en quatre espèces distinctes, répondant à des critères biogéographiques (Saab et al., 2008 ; Fidah et al., 2016) :

- Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* Manetti), en Algérie et au Maroc.
- Le cèdre du Liban (*Cedrus libani* Richard), au Liban, Syrie et en Turquie.
- Le cèdre de Chypre (*Cedrus brevifolia* Henry), sur l'île de Chypre.
- Le cèdre de l'Himalaya (*Cedrus deodara* Loudon), dans les montagnes de l'Himalaya.

Les caractères biologiques de ces différentes espèces sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau I : Caractères biologiques des quatre espèces du cèdre (Demarteau et al., 2007) .

Espèces	<i>C. atlantica</i>	<i>C. libani</i>	<i>C. brevifolia</i>	<i>C. deodora</i>
Taille des aiguilles (cm)	1 à 2,5	1 à 3,5	0,5 à 1,5	2 à 6
Cônes :				
- longueur (cm)	5 à 8	8 à 12	5 à 10	7 à 3
- diamètres (cm)	2,5 à 3,5	3 à 6	3 à 6	5 à 9
Graines :				
- longueur (cm)	0,8 à 1,3	1 à 1,4	0,8 à 1,4	1 à 1,5
- envergure (cm)	2,5 à 3,5	3,5 à 4	3 à 4	3,5 à 4,5
Epoque de pollinisation	mi-septembre	mi-septembre	début septembre	début septembre
Durée de maturité	2 ans	2 ans	2 ans	1 an

1.1.4. Caractéristiques botaniques des différentes parties de *Cedrus atlantica*

Ports : le cèdre de l'Atlas dispose d'un port impressionnant, conique et sous forme de pyramide lorsqu'il est jeune, cependant à mesure qu'il mûrit il s'étale et donne un aspect sinueux et tabulaire, qui atteint des hauteurs de 25 à 35 mètres à l'âge adulte (Figure 02) (Debazac, 1964 ; Hainry et colombet, 2009).

Cônes : verts avant de mûrir et deviennent bruns avec une longueur allant de 5 jusqu'à 8 cm. Ils prennent environ 2 ans pour arriver à maturité (Ez- Zriouli et al., 2023). Les cônes mâles et femelles sont séparés mais portés par le même spécimen, de sorte qu'ils portent chacun deux

sacs polliniques à leur face inférieure des écailles et deux ovules à la face supérieure (**Figure 02**) (Demarteau et *al.*, 2007).

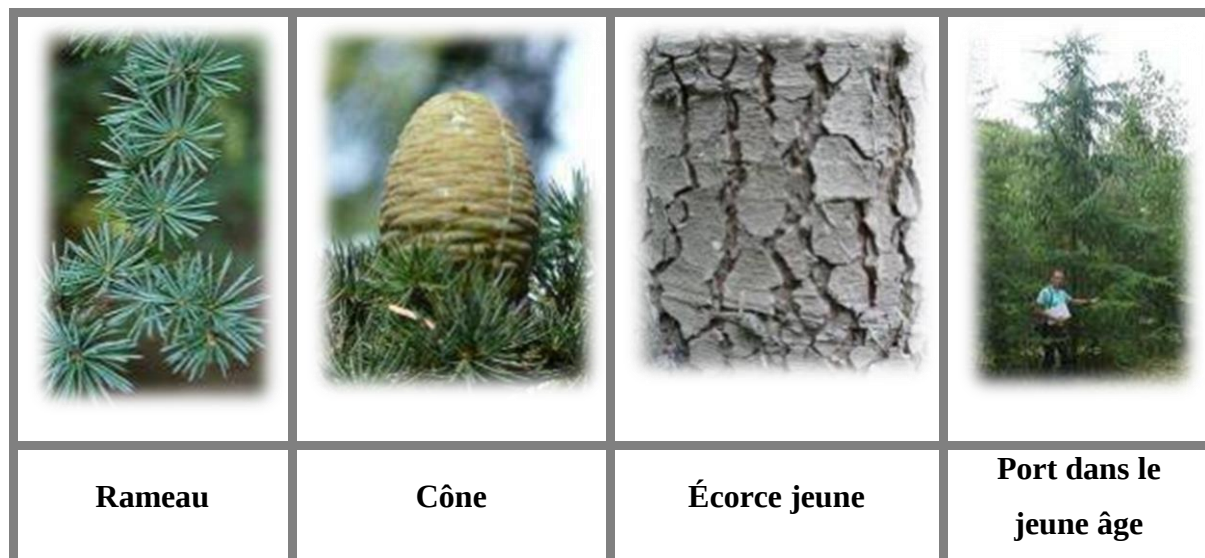


Figure 02 : Parties botaniques de *Cedrus atlantica* (Hainry et Colombet, 2009).

Rameaux : longs, appelés auxiblastes, se démarquent par leurs feuilles disposées individuellement, par contre les rameaux courts ou mésoblastes présentent des feuilles disposées en rosettes (**Figure 02**) (Coombes, 1992 ; Toth, 2005 ; M'hirit et Benzyane, 2006 ; Demarteau et *al.*, 2007).

Écorces : épaisses, gris clair et lisses lorsqu'elles sont jeunes ; mais avec l'âge, elles se couvrent de crevasses sinueuses et de petites écailles (**Figure 02**) (M'hirit et Benzyane, 2006 ; Hainry et Colombet, 2009).

Feuilles : persistantes, avec généralement une durée de vie d'environ 3 ans et se distinguent par leurs formes fines et pointues (aiguilles). Elles sont raides et peuvent être d'une couleur vert bleu ou verte et groupées au sommet, formant des rosettes avec de petits bouquets contenant 30 à 40 feuilles, mesurant chacune entre 1 à 2 cm de longueur (M'hirit et Benzyane, 2006 ; Demarteau et *al.*, 2007).

Fruits : cônes de la taille d'un œuf qui se forment rapidement, mais ne seront mûrs qu'à l'automne de la troisième année, composés de nombreuses écailles, brun violacé mesurant entre 5 et 8 cm de longueur, souvent tronqués au sommet, lisses et avec une texture très résineuse (Toth, 1980 ; M'hirit et benzyane, 2006 ; Riou- Nivert, 2007).

Fleurs : présents sous forme de gros chatons ovoïdes, mesurant 2 à 3 cm de long et de 1 à 1,5 cm de large et se forment à l'extrémité des rameaux (M'hirit et benzyane, 2006).

Racines : structure racinaire développée et pivotante, permettant ainsi une bonne stabilité et alimentation pour l'arbre (M'hirit et benzyane, 2006 ; Tassin, 2012).

Graines : marron-rougeâtre avec une forme subtriangulaire mesurant entre 10 et 15 mm de long. Elles sont dispersées dans les 2 à 3 semaines suivant le déclenchement du processus. Elles se caractérisent par leur texture tendre, leur forte teneur en résine et la présence d'une large aile (Debazac, 1964 ; Toth, 1971 ; Demarteau et al., 2007).

I.2. Historique et répartition géographique de *Cedrus atlantica*

I.2.1. Aire naturelle de distribution

Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) est un arbre endémique des régions montagneuses d'Afrique du Nord (Moukrim et al., 2020). Son aire de répartition naturelle s'étend sur deux blocs au Maroc (16 000 ha dans la région du Rif et 116 000 ha dans les régions du Moyen Atlas et du Haut Atlas), et en Algérie (environ 3 000 ha dans les régions de l'Atlas tellien et l'Atlas saharien, où les peuplements sont très dispersés) (Harfouche et Nadjahi, 2003).

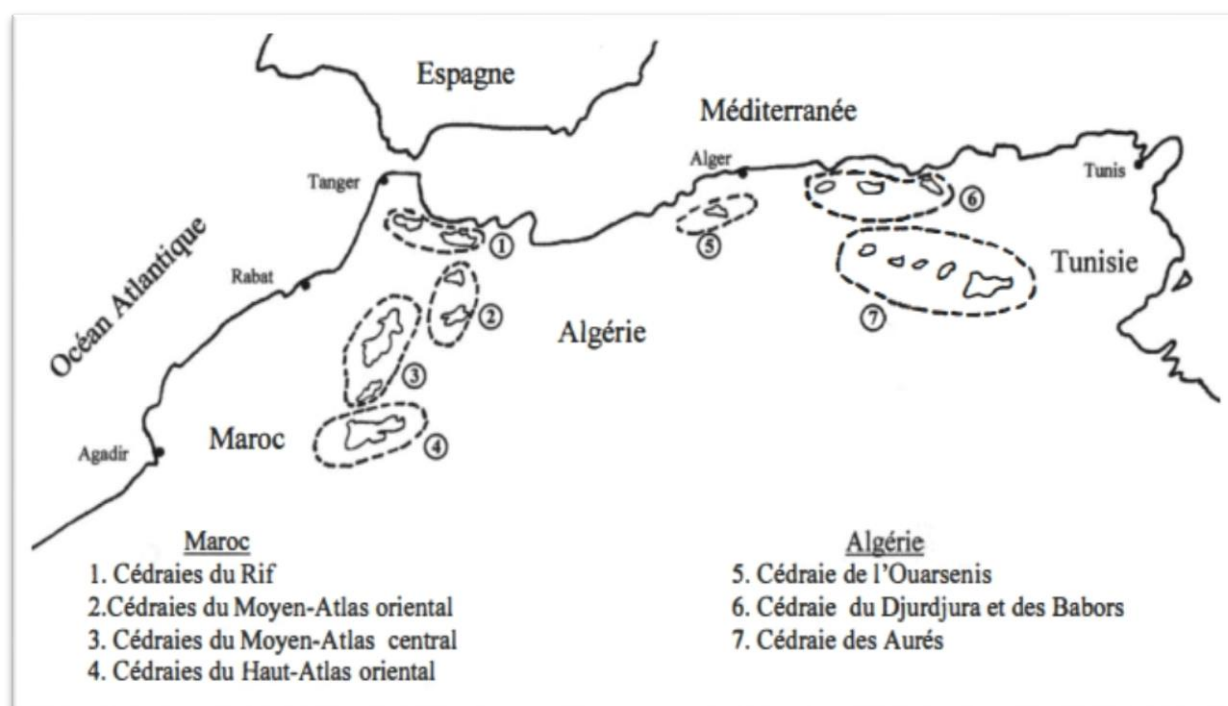


Figure 03 : Répartition actuelle du cèdre de l'Atlas (M'hirit, 1999).

I.2.2. Aire d'introduction

Cedrus atlantica est également présent dans d'autres pays où il a été introduit par l'Homme au cours des derniers siècles (**Demarteau et al., 2007**), d'abord comme plante ornementale, puis pour le reboisement (**Mhirit, 1999**). Il a été introduit dans plusieurs pays, notamment : la France en 1862 (**Toth, 1994**), l'Italie en 1846, la Bulgarie en 1876, la Hongrie en 1994 (**Demarteau et al., 2007**), ainsi que dans certains états américains comme la Pennsylvanie, New York et sur la côte pacifique (**Mhirit, 1999**).

I.3. Phytochimie de *C. atlantica*

I.3.1. Composition chimique des huiles essentielles

Les HEs sont des composés volatils des plantes, responsables de leurs arômes (**Derwich et al., 2010**). Celles extraites du cèdre sont des sources naturelles précieuses, utilisées en parfumerie, cosmétique, comme additifs aromatiques pour les aliments et produits d'hygiène, ainsi que pour leurs vertus médicinales (**Aberchane et al., 2001 ; Satrani et al., 2006 ; Saab et al., 2018**). Différentes parties sont exploitées pour leur extraction, notamment les fleurs, aiguilles, graines, tiges, écorce et bois (**Saab et al., 2018**). Elles peuvent être obtenues par entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation, expression, extraction aux solvants (**Bouyahia et al., 2023**).

Plusieurs études ont été portées sur la phytochimie des huiles essentielles de *Cedrus atlantica* provenant de ses différentes parties, résumées dans le **Tableau II**.

I.4. Propriétés biologiques et thérapeutiques de *Cedrus atlantica*

L'HE de *C. atlantica* Manetti possède des propriétés pharmacologiques prometteuses avec différents effets biologiques tels que des activités antioxydantes, anti-microbiennes (**Kačániová et al., 2022**), anti-inflammatoires, analgésiques, antibactériennes, insecticides (**Martins et al., 2015**), anticancéreuses (**Saab et al., 2012**), antihyperglycémiques (**Ameggouz et al., 2025**), anti-tummorales (**Huang et al., 2020**), antivirales (**Ez Zriouli et al., 2023**), et molluscicides (**Lahlou et al., 2003**).

Tableau II : Répartition des composants chimiques dans les huiles essentielles de *Cedrus atlantica*.

Classes des composés chimiques	Principaux composants obtenus	Parties de la plante (Source)	Méthode d'extraction	Références
Hydrocarbures monoterpéniques	α -pinène, β -pinène (composants majoritaires) suivi de myrcène, limonène, camphène α -phellandrène, β -phellandrène, p- cimène et ocimène.	Aiguilles	Hydrodistillation	Yassaa et al., 2000 ; Lamri et al., 2001 ; Lahlou, 2003 ; Paoli et al., 2011 ; Fidah et al., 2016 ; Ez-Zriouli et al., 2023.
	α -pinène et β -pinène.	Écorce, Graine	Hydrodistillation	Fidah et al., 2016 ; Uwineza et al., 2018 Bennouna et al., 2019.
	Myrcène, limonène, camphène et α -phellandrène.	Bois, Parties aériennes	Hydrodistillation	Yassa, 2000 ; Paoli et al., 2011 ; Bennouna et al., 2019.
Hydrocarbures sesquiterpéniques	α -himachalène, β -himachalène, γ -himachalène, longifolène, humulène, capaène, caryophyllène, germacrène D, α -cadinène, β -farnésène, α -muroolène et β -calacorène.	Bois, parties aériennes	Hydrodistillation, Distillation à la vapeur d'eau	Lahlou 2003, Aberchane et al., 2004 ; Derwich et al., 2010, Paoli et al., 2011 ; Benouaklil et al., 2017 ; Ainane et al., 2018 ; Jouadi et al ., 2021 ; Idrissi et al., 2024.

Alcools	1-épicubénol, himachallol, linalool, isocédranol, tumérol, cédrool et cédranol.	Bois, aiguilles	Hydrodistolation	Yassa et al., 2000 ; Uwineza et al., 2018, Fidah et al., 2019 ; Zriouli et al., 2023.
Oxydes	Caryophyllène oxyde, oxyde himachaléne, cedroxyde et diterpènes oxygénés.	Bois, Graines	Hydrodistillation	Boudaren et al., 2004 ; Bennouna et al., 2019 ; Fidah et al., 2019 ; Ez-Zriouli et al., 2023.
Cétones	Déodarone, thujopsanone, atlantone et cédranone.	Bois, Écorce	Hydrodistolation, Distillation à la vapeur d'eau	Chalchat et al., 1994 ; Satrani et al., 2006 ; Fidah et al., 2016 ; Huang et al., 2020.
Esters et aldéhydes	Méthyl ester d'acide copalique, benzyl benzoate, hexyl isobutyrate, bronyl acétate et Z- β - santalol acétate.	Bois, Graines	Hydrodistolation,	Fidah et al., 2016 ; Bouyahia et al., 2019 ; Fidah et al., 2019.

I.4.1. Activité antioxydante

Selon les travaux de **Kačániová et al., (2022)**, les HEs issues du goudron du bois de *C. atlantica* revèlent une forte activité antioxydante. Elles se caractérisent par leur capacité à piéger les radicaux libres DPPH[•] (**Naimi et al., 2015 ; Fadel et al., 2016**), ABTS^{•+} et par leur puissant pouvoir réducteur des ions ferriques (**Jaouadi et al., 2021 ; El Hachlafi et al., 2023**). Ces propriétés sont en grande partie dues à leur teneur notable en sesquiterpénoïdes (isomères de l'himachalène) reconnaissables pour leur action antioxydante (**Skanderi et Chouitah, 2020**) et en monoterpènes, qui forment un groupe important de molécules antioxydantes grâce à leurs groupes fonctionnels (alcools) et à la présence de doubles liaisons conjuguées dans leur structure terpénique (**Jaouadi et al., 2021**). Elles sont également dues à leur richesse en hydrocarbures sesquiterpéniques, en sesquiterpènes oxygénés et en composés phénoliques, ayant un impact déterminant dans la prévention de l'oxydation des lipides, de l'ADN et d'autres macromolécules. Ils contribuent ainsi à minimiser les effets nuisibles causés par la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**El Hachlafi et al., 2023**).

I.4.2. Activité antimicrobienne

L'HE de *Cedrus atlantica* (HECA) démontre une activité antimicrobienne considérable, avec une action inhibitrice envers divers micro-organismes (**Moustaid et al., 2025**). Il a été prouvé à travers une étude menée par **Aberchane et al., (2003)**, que l'HE extraite du bois du cèdre de l'Atlas attaqué par *Ungulina officinalis* inhibe la croissance d'*Escherichia coli* (*E. coli*), *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), et *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Dans une autre étude réalisée par **Kacániová et al., (2022)**, l'activité antimicrobienne a été testée en analysant l'effet de l'HECA sur des bactéries Gram positifs, Gram négatifs, formant des biofilms, ainsi que sur des champignons filamenteux microscopiques. Les résultats confirment que l'efficacité de l'HECA varie selon les micro-organismes testés, indiquant que les bactéries Gram positifs étant plus sensibles que les bactéries Gram négatifs. Selon **Zrira et Ghanmi, (2016)**, l'activité antimicrobienne a été mise en évidence dans les hydrocarbures monoterpéniques et les terpinènes, exerçant un effet anti-bactérien modéré à élevé contre les bactéries Gram-positifs.

I.4.3. Autres activités biologiques

a)- Activité antihyperglycémique

L'HECA présente un potentiel thérapeutique important pour le développement de produits naturels conçus pour réguler le diabète, et en particulier le diabète de type 2, en

exerçant un effet inhibiteur actif sur certaines enzymes digestives essentielles, à savoir l' α -amylase pancréatique et l' α -glucosidase intestinale, qui participent dans le processus de dégradation des polysaccharides en glucose facilement absorbé par l'intestin grêle. En réduisant cette absorption, elle contribue au contrôle de la glycémie postprandiale (**Ameggouz et al., 2025**).

b) - Activité anti-inflammatoire

Une étude récente a révélé que l'HECA possède une activité anti-inflammatoire significative et une action inhibitrice remarquable sur l'enzyme 5-Lox (**El Hachalfi et al., 2023**). De plus, elle se démontre efficace dans les deux étapes de la réponse inflammatoire stimulée par la carragénine, grâce à ses propriétés analgésiques et anti-inflammatoires. Ces effets sont attribués à la présence de composants bioactifs dans l'huile, notamment le bêta-himachalène (**Al Kamaly et al., 2022**).

c)- Activité analgésique

L'activité analgésique de l'HECA est obtenue par l'inhalation de ses composés actifs, ce qui réduit la douleur comportementale par l'activation des systèmes opioïdérique, sérotoninergique, noradrénergique et dopaminergique. Cet effet réduit également l'hypersensibilité, soit par la libération d'opioïdes endogènes, de sérotonine, de norépinéphrine et/ou de dopamine qui se lient à leurs récepteurs spécifiques, soit par une interaction directe avec ces récepteurs (**Martins et al., 2015**).

Chapitre II :

Matériel

Et

Méthodes



La partie pratique a été réalisée essentiellement au sein du laboratoire de biologie physico-chimique de l'université de Béjaïa. Elle vise à étudier la composition chimique et à évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'HE extraite des épines de *C. atlantica manetti* ; espèce appartenant à la famille des Pinaceae.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel végétal

Les épines de *C. atlantica manetti* (**Figure 04**), ont été récoltées en mois de mars 2025, à une altitude de 1600 m dans la forêt d'AKFADOU "LAC NOIR" ou "AGUELMIM ABERKANE", située en Kabylie (36°41'49.9"N, 4°36'07.7"E) dans la wilaya de Béjaïa, dans un endroit loin de toute source de pollution. L'identification botanique de l'espèce étudiée a été effectuée en utilisant la flore de Quézel et Santa (**Quézel et Santa 1962, 1963**). Après la récolte des épines, elles ont été nettoyées et rincées à l'eau courante afin d'éliminer toute poussière ou particules ; puis séchées pendant un mois à l'abri de la lumière, et à température ambiante.



Figure 04 : Photographie originale de *C. atlantica* dans la forêt d'Akfadou (ADEKAR).

II.2. Méthodes

II.2.1. Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*

A) -Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode de référence utilisée pour extraire les HEs, tout en assurant leur contrôle de qualité. Elle repose sur un principe de distillation hétérogène : la plante est immergée dans l'eau, puis le tout est chauffé jusqu'à ébullition, généralement à pression atmosphérique (**Figure 05**). Sous l'effet de la chaleur, les cellules végétales éclatent, libérant ainsi les entités volatiles qu'elles contiennent. Ces dernières sont entraînées par la vapeur d'eau pour former un mélange azéotropique composé d'eau et d'HE. L'hydrodistillation peut être réalisée avec ou sans récupération de l'eau aromatique (Cohobage) produite lors de la décantation (**Fadel et al., 2016 ; Annemer et al., 2023**).

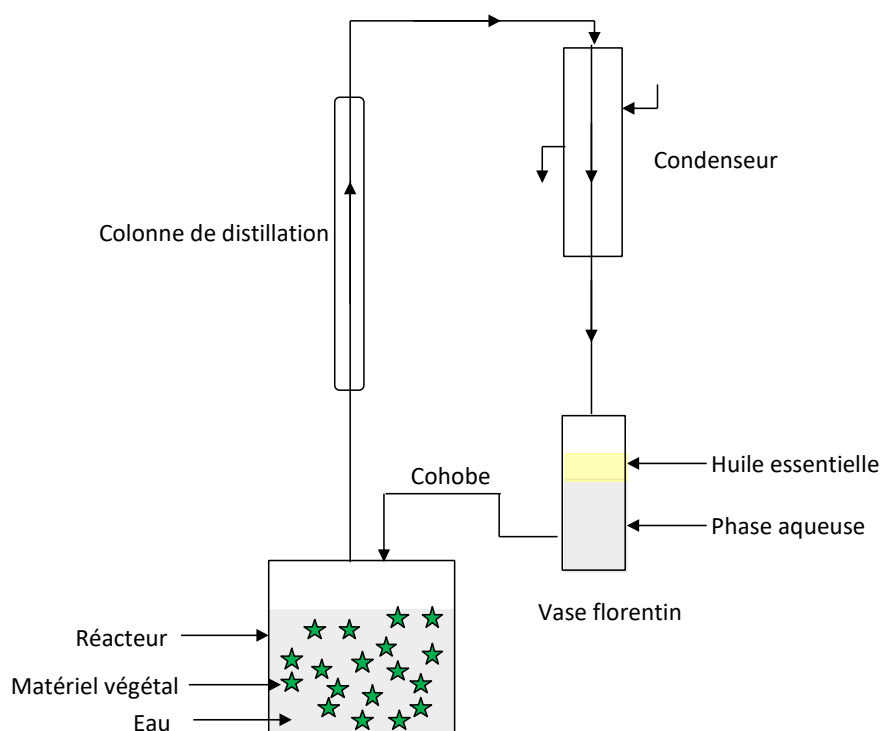


Figure 05 : Schéma d'extraction par hydrodistillation (**Farhat, 2010**).

Après séchage des épinettes de *C. atlantica*, on effectue un broyage à l'aide d'un broyeur électrique. Puis, dans un ballon de 2 L, une quantité de la poudre (639 g) est mélangée avec 1400 mL d'eau distillée qui est soumise, par la suite, à une hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger pendant 2,5 h (**Boudarene et al., 2004**). Il en résulte deux phases distinctes :

la phase organique (HE) et la phase aqueuse (l'hydrolat ou l'eau aromatique). L'HE est, ensuite, récupérée par décantation, et le sulfate de sodium anhydre a été ajouté pour éliminer toute contamination en eau, puis stockée à 4°C dans un flacon ambré hermétiquement fermé jusqu'à son utilisation (**Figure 06**).

Le rendement en HE a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = (V_o/M_i) \times 100$$

Où V_o et M_i sont ; respectivement, le volume d'HE obtenue et le poids initial des épinettes.

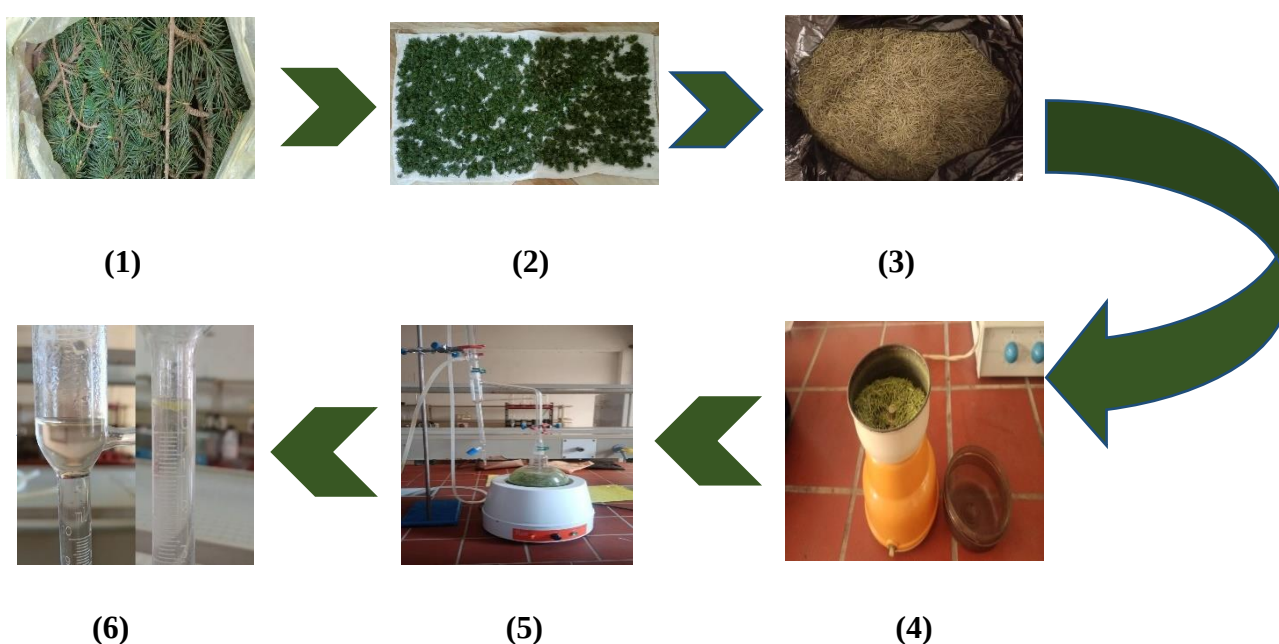


Figure 06 : Étapes du traitement de la plante de la récolte jusqu'à l'extraction. (1) Épinettes de cèdre récoltées (fraîches), (2) Séchage, (3) Épinettes de cèdre séchées, (4) Broyage, (5) Hydrodistillation, (6) Huile essentielle de *C. atlantica*.

II.2.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de l'huile essentielle des épinettes de *Cedrus atlantica*

L'analyse par GC-MS des HEs des épinettes de *C. atlantica* a été réalisée en utilisant un chromatographe VarianChrompack (CP-3800), qui est couplé à un spectromètre de masse MS/MS-200 (Saturn, Netherlands), disposant d'un injecteur automatique en mode split et d'un détecteur à ionisation de flamme. Une colonne capillaire DB-5 GC a été utilisée munie des dimensions suivantes : 30m × 0,25 mm, ainsi qu'une épaisseur de film de 0,25 µm, constituée

de 95% de polysiloxane diméthyle et de 5% de diphényl. L'hélium a été utilisé comme gaz vecteur avec un débit de 1mL/min.

Un volume d'environ 1 µL d'HE dilué au préalable dans 1 mL d'hexane de qualité GC a été injecté dans ce système pour l'analyse. Un programme de température linéaire a été appliqué : Départ d'une température initiale de 60°C (temps de maintien : 1 min) puis augmenté jusqu'à 250°C (temps de maintien : 3 min) à une vitesse de chauffage de 3°C/min (**Belkacem et al., 2021**). En outre, un mélange d'hydrocarbures n-alcanes allant de **C9** jusqu'à **C20** a été analysé par GC-MS dans les mêmes conditions chromatographiques.

Les temps de rétention mesurés ont été enregistrés puis utilisés pour calculer l'indice arithmétique (IAX) pour chaque composé identifié de l'HE, selon l'équation de Van den Dool et Kratz :

$$IAX = 100 n + 100 (t_x - t_n) / (t_{n+1} - t_n)$$

Où :

t_{n+1} et **t_n** : sont les temps de rétention de référence des n-alcane hydrocarbures éluant immédiatement avant et après le composé "X".

t_x : est le temps de rétention du composé "X".

La caractérisation des composés chimiques séparés de l'HE analysée a été réalisée en comparant leurs indices de rétention arithmétiques (indices de Kovats) aux valeurs publiées dans la littérature (principalement dans la bibliothèque d'Adams) (**Adams, 2007**), ainsi qu'en comparant leurs spectres de masse avec ceux présents dans la banque de données du logiciel de l'instrument (Bibliothèques TerpeneThermoQuest, General ThermoQuest, General purpose et NIST).

Le pourcentage de chaque composé de l'HE a été obtenu en intégrant la surface sous la courbe de chaque pic, en supposant une réponse uniforme pour tous les composés (**Adams, 2007**).

II.3. Évaluation de l'activité antioxydante

Dans la présente étude, la capacité antioxydante de l'HE des épines de *C. atlantica* a été déterminée par trois méthodes : celle utilisant le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH[•]), la méthode du radical-cation (ABTS^{•+}) ainsi que le pouvoir réducteur du fer (FRAP).

A) -Test de piégeage du radical DPPH[•]

Le DPPH[•] est un radical libre stable, commercialement disponible, qui est présent sous forme monomérique, à l'état solide ainsi qu'en solution. Il est reconnaissable à sa couleur violette foncée. Contrairement à d'autres radicaux comme l'ABTS^{•+}, il ne nécessite pas de préparation préalable avant utilisation. Le test repose sur la capacité des antioxydants à réduire le DPPH[•] (Prior *et al.*, 2005).

• Principe

La couleur violette intense du DPPH[•] provient de la délocalisation de son électron, ce qui se traduit par une bande d'absorption autour de 517 nm dans l'éthanol. Lorsqu'on le mélange à un composé capable de donner un atome d'hydrogène (noté AH), le DPPH[•] est réduit : sa couleur violette s'estompe pour virer au jaune (Figure 07), indiquant ainsi une activité antioxydante (Alam *et al.*, 2013).

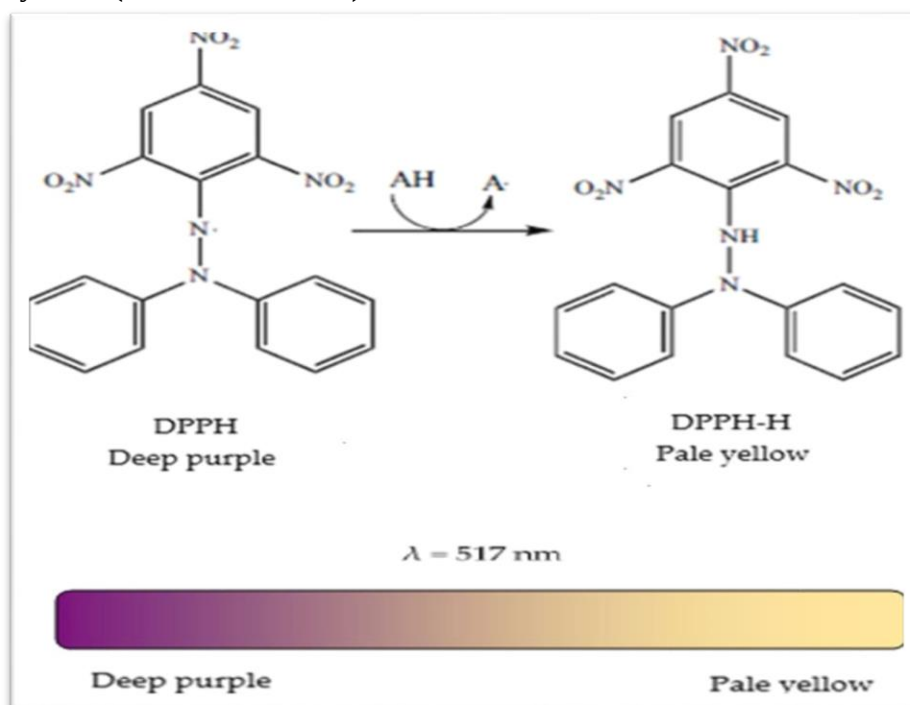


Figure 07 : Mécanisme de piégeage du DPPH[•] par un antioxydant (AH) (Munteanu et Apetrei, 2021).

➤ Mode opératoire

L'effet scavenging de l'HE des épines de *C. atlantica* vis-à-vis du radical DPPH• a été réalisé selon le protocole de **Shirwaikar et al., (2006)**, représenté dans la **Figure 08**. Ce test a été effectué sur des microplaques à 96 puits.

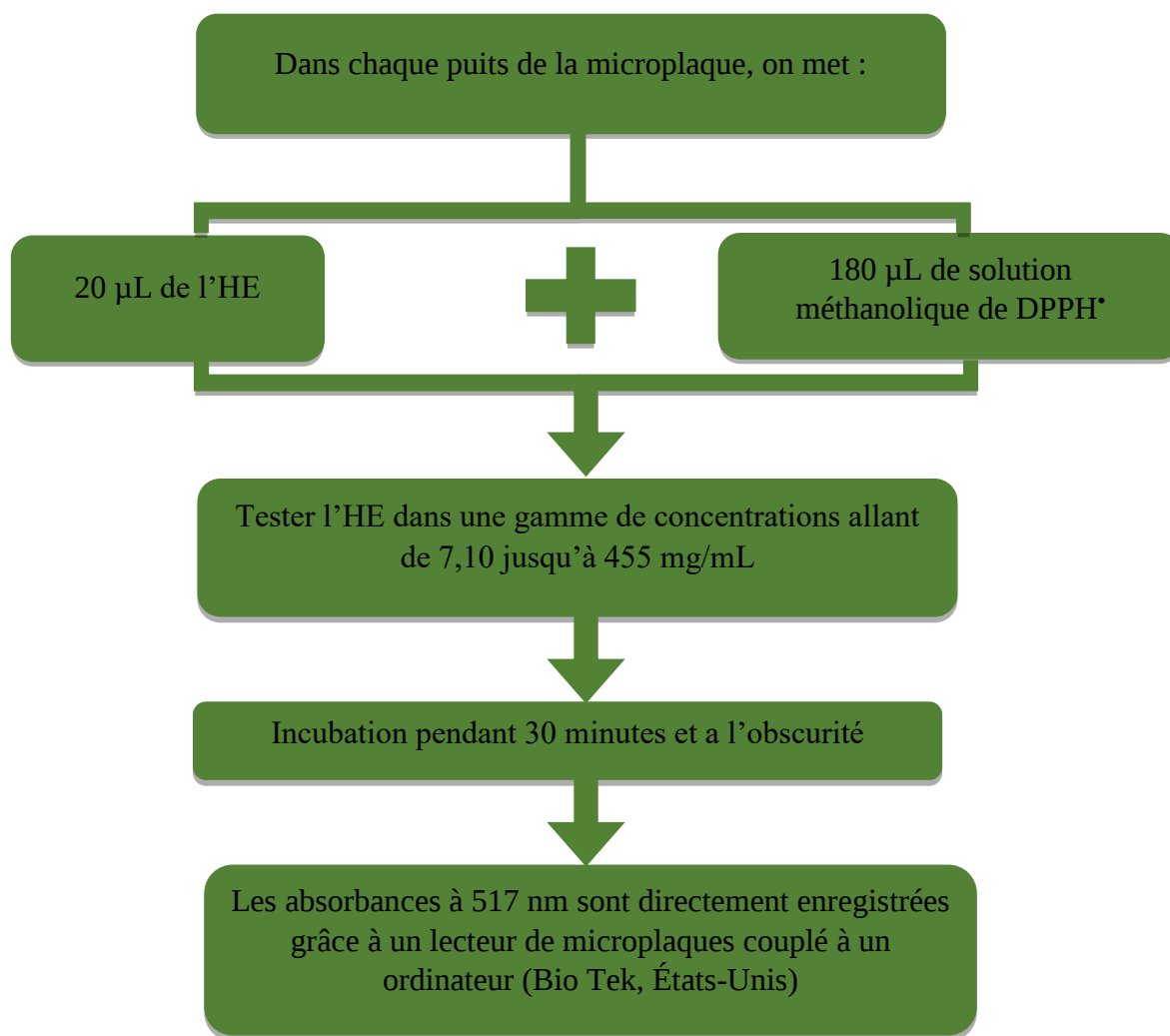


Figure 08 : Protocole de l'activité de piégeage du radical DPPH• (**Shirwaikar et al., 2006**).

NB :

- ❖ Un blanc (Contrôle positif) a été préparé en mélangeant 20 µL de l'éthanol avec 180 µL de DPPH•.
- ❖ Le butylhydroxyanisole (BHA) et la vitamine C (Vit C) ont été utilisés comme standards dans les mêmes conditions à une gamme de concentrations allant de 1,56 jusqu'à 200 µg/mL.

➤ Expression des résultats

A la fin de la durée d'incubation, les absorbances à 517 nm sont lues et le pourcentage de l'activité de piégeage du radical DPPH[•] a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de l'activité de piégeage du radical DPPH}^{\bullet} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100$$

Où :

Ac : Absorbance du contrôle.

Ae : Absorbance de l'échantillon.

B) - Test de piégeage du radical ABTS^{•+}

Le test ABTS a été mis au point pour la première fois en 1993 par Miler et son équipe. Il s'agit d'une méthode simple et efficace permettant d'évaluer la capacité antioxydante totale (CAT) d'un échantillon (Munteanu et Apetrei, 2021).

• Principe

Dans ce test, l'ABTS est transformé en un radical cationique (ABTS^{•+}) (Figure 09), par oxydation à l'aide de radicaux pyroxyles ou d'autres agents oxydants. Ce radical présente une couleur intense. La capacité antioxydante, est mesurée comme la capacité des composés testés à réduire la couleur en réagissant directement avec le radical ABTS^{•+}. Les résultats des composés analysés sont ensuite comparés à une référence standard, généralement le Trolox, un analogue de la vitamine E (Prior et al., 2005).

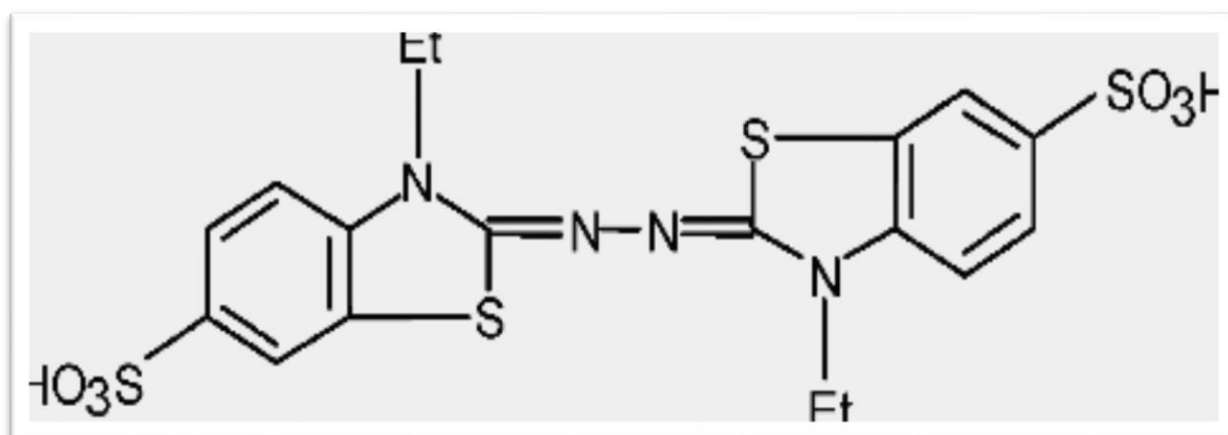


Figure 09 : Structure de 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{•+}) (Prior et al., 2005)..

➤ Mode opératoire

L'activité de piégeage du radical-cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$ de notre HE a été déterminée selon le protocole **Re et al., (1999)** et **Le et al., (2007)** ; les étapes de cette méthode sont représentées dans la **Figure 10** et la **Figure 11** :

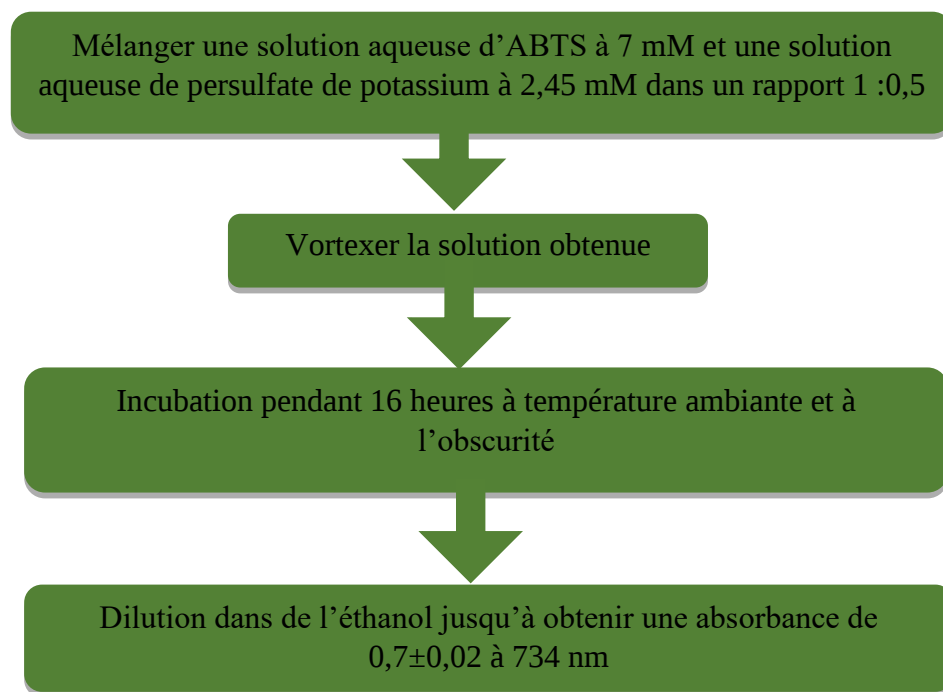


Figure 10 : Protocole de la préparation du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (**Re et al., 1999**).

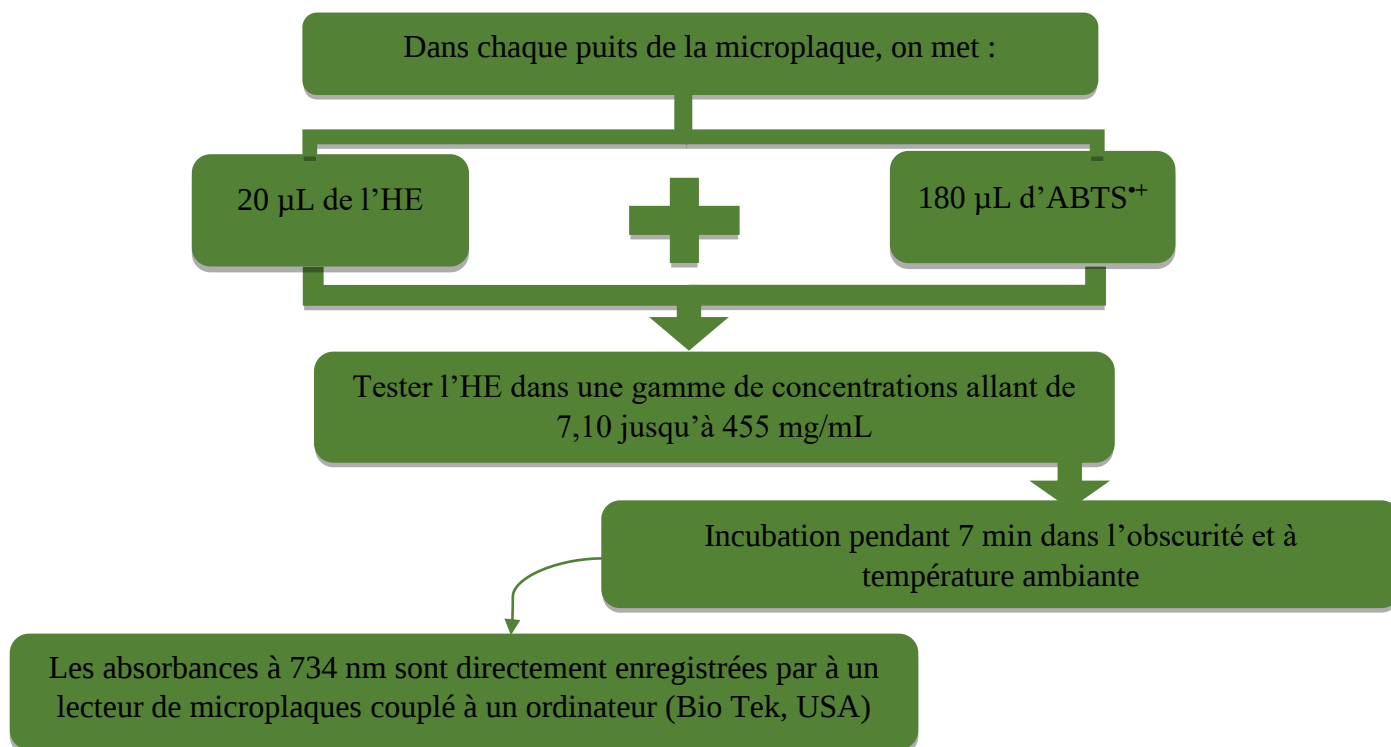


Figure 11 : Protocole de l'activité de piégeage du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ (**Le et al., 2007**).

NB :

- ❖ Un blanc (Contrôle positif) a été préparé en mélangeant 20 µl de l'éthanol avec 180 µl d'ABTS^{•+}.
- ❖ Le butylhydroxyanisole (BHA) et la vitamine C (Vit C) ont été utilisés comme standards dans les mêmes conditions à une gamme de concentrations allant de 1,56 jusqu'à 200 µg/mL.

➤ Expression des résultats

A la fin de la durée d'incubation, les absorbances à 734 nm sont lues et le pourcentage de l'activité de piégeage du radical ABTS^{•+} a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de l'activité de piégeage du radical ABTS}^{\bullet+} = [(Ac - Ae) / Ac] \times 100$$

Où :

Ac : Absorbance du contrôle.

Ae : Absorbance de l'échantillon.

C)- Essai du pouvoir réducteur ferrique (FRAP)

C'est une méthode simple et rapide qui offre des résultats constants et fiables lorsqu'elle est répétée dans les mêmes conditions (**Benzie et Strain, 1996**). Elle repose sur la capacité des réducteurs à transformer le fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) (**Figure 12**), ce qui entraîne la formation d'un composé bleu appelé bleu de prusse (**Prior et al., 2005 ; Bougandoura et Bendimerad, 2013**).

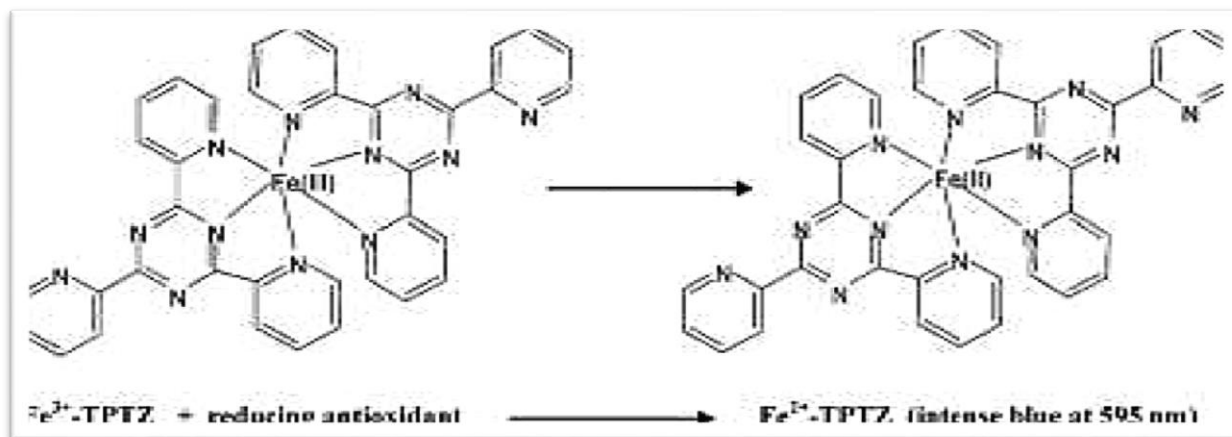


Figure 12 : Réaction pour le test FRAP (**Prior et al., 2005**).

➤ Mode opératoire

Selon le protocole de **Benzie et strain, (1996)**, la solution FRAP est préparée avec un rapport 10:1:1, en mélangeant un tampon d'acétate de sodium (300 mM, pH=3,6) avec le 2, 4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ, 10 mM dans 40 mM de HCl) et du chlorure ferrique (20 mM) ; puis incubation à l'obscurité et à 37°C.

Le pouvoir réducteur ferrique (FRAP) de notre HE a été déterminé selon le protocole de **Thaipong et al., (2006)**. Un volume de 150 µL de l'HE, adéquatement dilué, a été ajouté à 2850 µL d'une solution FRAP préalablement préparée. Après une incubation pendant 15 min et à 37°C, l'absorbance a été mesurée à 593 nm.

➤ Expression des résultats

Les résultats ont été exprimés en micro-équivalent vitamine C par gramme d'HE (µEq Vit C/g HE) obtenus à partir d'une courbe standard tracée en utilisant la vitamine C comme un standard aux concentrations allant de 6,25 jusqu'à 200 µg/mL.

II.4. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'HE contre les souches microbiennes choisies pour le test a été déterminée par deux méthodes : La méthode de diffusion sur disques et la méthode de microdilution sur microplaques.

Les micro-organismes de référence utilisés sont :

- Bactérie à Gram négatif (Gram⁻) : *Escherichia coli* ATCC 8739
- Bactéries à Gram positif (Gram⁺) : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Listeria monocytogenes* ATCC 19114.
- Levure : *Candida albicans* ATCC 10231.

Des antibiotiques et un antifongique ont également été utilisés comme contrôle positif :

- Céfazoline (Céphalosporines).
- Benzyl pénicilline sodique (pénicilline G).
- Gentamicine.
- Mytricine (Amphotéricine B).

II.4.1. Préparation des échantillons

- **Revivification des souches**

Les souches précédemment identifiées et conservées sur des milieux spécifiques (gélose inclinées) ont été revivifiées dans un bouillon nutritif.

La revivification consiste à transférer quelques colonies des souches conservées dans des tubes à essai stérile contenant du bouillon nutritif préalablement préparé. Après une incubation de 24 h, la croissance est évaluée par l'apparition d'un trouble dans le milieu. Le milieu Sabouraud-chloramphénicol a été utilisé pour la levure.

- **Préparation de la solution étalon 0,5 MC Farland**

Pour préparer la solution étalon 0,5 MC Farland, on mélange 50 μ L de chlorure de baryum anhydre (BaCl_2) à 1,175% avec 9,95 mL d'acide sulfurique (H_2SO_4) à 1%. L'absorbance de ce mélange doit être comprise entre 0,08 à 0,1 à une longueur d'onde de 625 nm. Cet étalon est utilisé pour comparer et ajuster la turbidité de la suspension microbienne. Ensuite, les suspensions microbiennes ont été diluées dans le BMH pour atteindre une concentration de 5×10^6 UFC/mL, puis utilisées dans les 15 min suivant leur préparation (Abu-Lafi et al., 2017).

- **Préparation des suspensions microbiennes**

Après revivification, pour chaque souche ; une suspension microbienne a été préparée et cela en prélevant quelques colonies à partir de cultures sur gélose incubées pendant une nuit à 37°C à l'aide d'un écouvillon puis les transférer dans un tube contenant une solution saline aqueuse stérile (NaCl 0,85%). Ensuite, la turbidité de la suspension a été ajustée à 0,5 selon l'échelle de MC Farland, correspondant à une concentration approximative de 10^8 unités formant colonies par millilitre (UFC/mL) (Ferraro, 2009).

II.4.2. Préparation de milieu de culture

Dans notre étude ; trois milieux ont été utilisés : La Gélose Sabouraud-Chloramphénicol (GSC), la Gélose Muller Hinton (GMH) et le Bouillon Muller Hinton (BMH), qui sont préparés selon le protocole décrit dans le flacon original :

Gélose Sabouraud Chloramphénicol (GSC) : Dissoudre 65.5 g de la gélose Sabouraud-Chloramphénicol dans 1L d'eau distillée. Faire bouillir sous agitation constante pendant au moins une minute, puis répartir en flacons. Ensuite autoclaver à 121°C pendant 12 min, et verser

le milieu dans des boîtes de pétri stériles, laisser solidifier, puis stocker les boîtes à l'envers à 4°C jusqu'à utilisation.

Gélose Muller Hinton (GMH) : Dissoudre 38 g de la gélose Muller-Hinton dans 1 L d'eau distillée. Faire bouillir en agitant jusqu'à ce que la solution soit complètement dissoute, ajuster le pH à $7,4 \pm 0,2$. Ensuite stériliser par autoclavage à 121°C pendant 12 min, et verser le milieu dans des boîtes de pétri stériles, laisser solidifier, puis stocker les boîtes à l'envers à 4°C jusqu'à utilisation.

Bouillon Muller Hinton (BMH) : La préparation se fait de la même manière que pour le milieu de Gélose Muller Hinton (GMH), en solubilisant 21 g de poudre de Muller-Hinton dans 1L d'eau distillée.

II.4.3. Méthode de diffusion sur disques

La méthode de diffusion sur disques a été réalisée selon le protocole de **Jorgensen et Turnidge, (2015)** ; où des disques de papier filtre de 8 mm de diamètre ont été imprégnés avec 20 µL de l'HE des épines de *C. atlantica*, et ont été déposés à l'aide d'une pince stérile sur la surface du milieu gélosé qui avait été ensemencé au préalable par les micro-organismes testés, séparément, à l'aide d'un écouvillon stérile en coton. Des témoins positifs sont également préparés en déposant des disques contenant des antibiotiques de référence (Gentamicine 10 µg/disque, Céphalosporines 30 µg/disque et Pénicilline G 10 UI/disque) ; et l'antifongique (Amphotéricine B 100 µg/disque) contre la levure. Les boîtes de pétri ont été laissées à l'air ambiant pendant 15 min, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 h. La sensibilité des souches vis-à-vis de l'HE a été évaluée à la fin de la durée d'incubation et cela en mesurant les diamètres des zones d'inhibition (DZI) en utilisant le pied à coulisse.

II.4.4. Méthode de microdilution sur microplaques

Pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI), la méthode de microdilution sur microplaques a été utilisée (**Abu-Lafi et al., 2017**). Un volume de 16 µL de l'HE 50%, diluée dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), a été transféré dans le premier puits d'une microplaque stérile à 96 puits contenant 184 µL de bouillon Muller-Hinton (BMH) suivie d'une série de dilutions par deux (1/2) pour obtenir une gamme de concentration finale comprise entre 0,125% jusqu'à 2% de l'HE avec un volume de 100 µL dans chaque puits. Ensuite, 100 µL de chaque suspension bactérienne ont été ajoutées. Les plaques ont été incubées à 37°C

pendant 18 à 24 h. Le DMSO, sans l'HE, aux concentrations testées de 0,125% jusqu'à 2%, a été utilisé comme contrôle négatif. La concentration la plus faible qui ne présente aucune croissance bactérienne visible est considérée comme étant la **CMI (Jorgensen et Turnidge, 2015)**. Les concentrations minimales bactéricides (CMB) ont été déterminées en prélevant 50 µL des puits ne montrant pas de croissance, puis les ensemercer sur gélose Muller-Hinton. Après incubation à 37°C pendant 18 à 24 h, la plus faible concentration qui ne montre aucune croissance bactérienne a été considérée comme la **CMB**. Par ailleurs la pénicilline a été utilisée comme contrôle positif aux concentrations allant de 0,97 à 500 UI/ml.

II.5. Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne $\pm$ écart-type. Les IC₅₀ ont été déterminées à l'aide du logiciel Graph Pad Prism (Version 5). Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour $P \leq 0,05$.

Chapitre III :

Résultats

Et

Discussion

III.1. Rendement de l'extraction

L'hydrodistillation des épines de *Cedrus atlantica* a permis d'obtenir une HE de couleur jaune pâle, avec un rendement de **0,0182% (v/m)** (**Tableau III**).

Tableau III : Caractéristiques et rendement d'extraction de l'huile essentielle des épines de *Cedrus atlantica* (Adekar, Algérie).

Partie de la plante	Région de la récolte	Méthode d'extraction	Couleur de l'HE	Masse volumique de l'HE	Rendement (v/m)
Épines de <i>Cedrus atlantica</i>	Adekar, Lac Noir	Hydrodistillation	Jaune pâle	0,91 g/mL	0,0182±0.0009%

Ce rendement est nettement inférieur à ceux rapportés dans la littérature, notamment dans les études de **Derwich et al., (2010)** et de **Benouaklil et al., (2017)**, qui ont constaté des rendements respectifs de **0,12% (v/m)** pour des échantillons récoltés à Chréa (Blida, Algérie) ; et de **1,82% (v/m)** pour ceux de Boulmane (Maroc). En comparaison avec d'autres parties de la plante, telles que le bois et les graines, les rendements sont également supérieurs allant de **1,2% à 9,19% (v/m)** (**Boudarene et al., 2004 ; Fidah et al., 2016 ; Zrira et Ghanmi, 2016 ; Benouaklil et al., 2017**). Ces variations de rendement en HE peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs tels que la période de la récolte (avant la floraison), la partie de la plante, l'origine géographique, le géotype, les conditions climatiques, les précipitations et les pratiques de récolte. Tous ces éléments peuvent influencer le rendement en HE (**Benouaklil et al., 2017 ; Jaouadi et al., 2021**).

III.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*

La composition chimique de l'HE hydrodistillée à partir des épines de *Cedrus atlantica*, déterminée par GC-MS, est présentée dans la **Figure 13A**. Par ailleurs, le profil GC-MS du mélange des hydrocarbures n-alcanes (**Figure 13B**) a servi pour calculer l'indice arithmétique (IAx) de chaque composé de l'HE selon l'équation de Van den Dool et Kratz (**Tableau IV**).

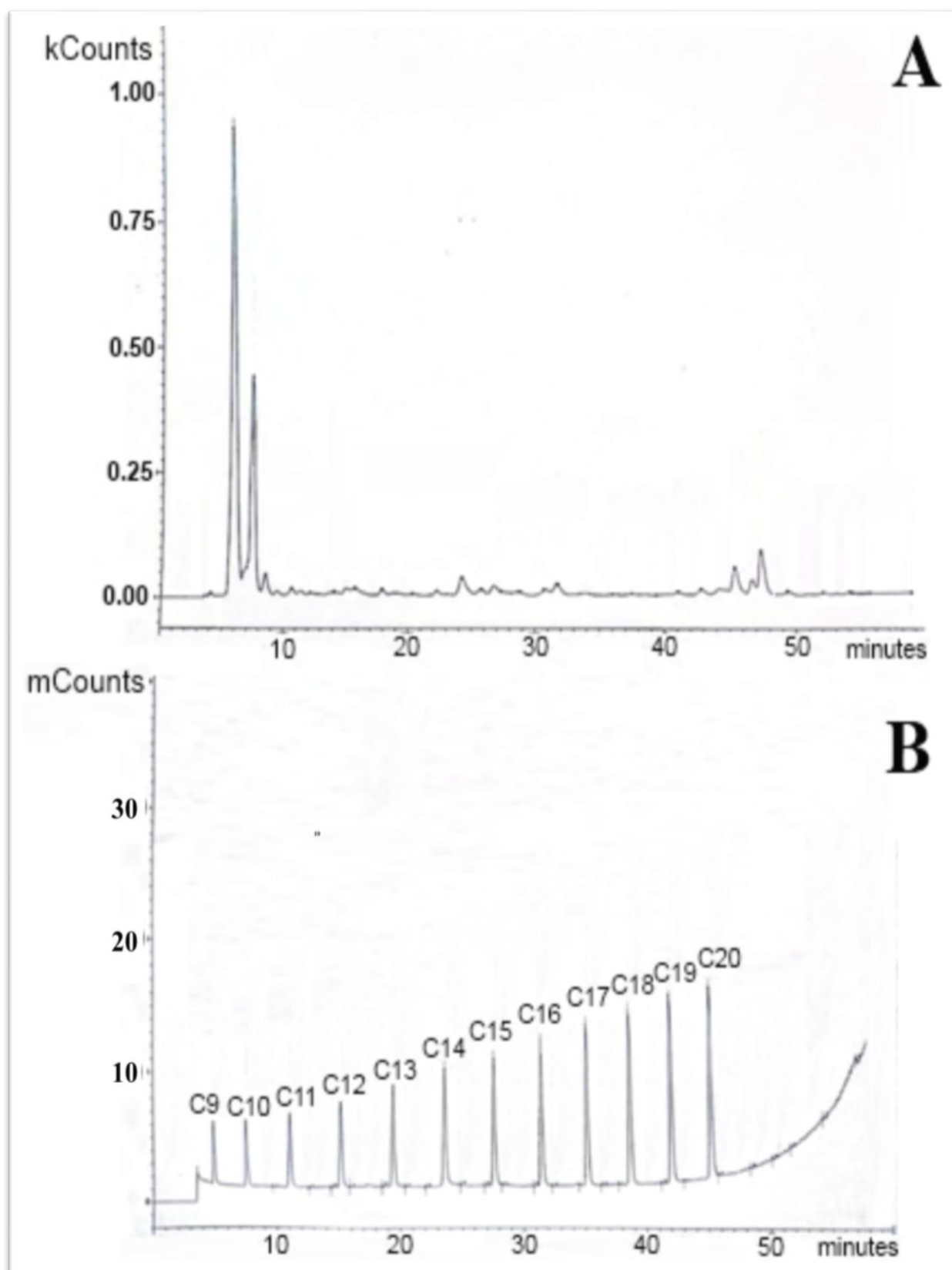
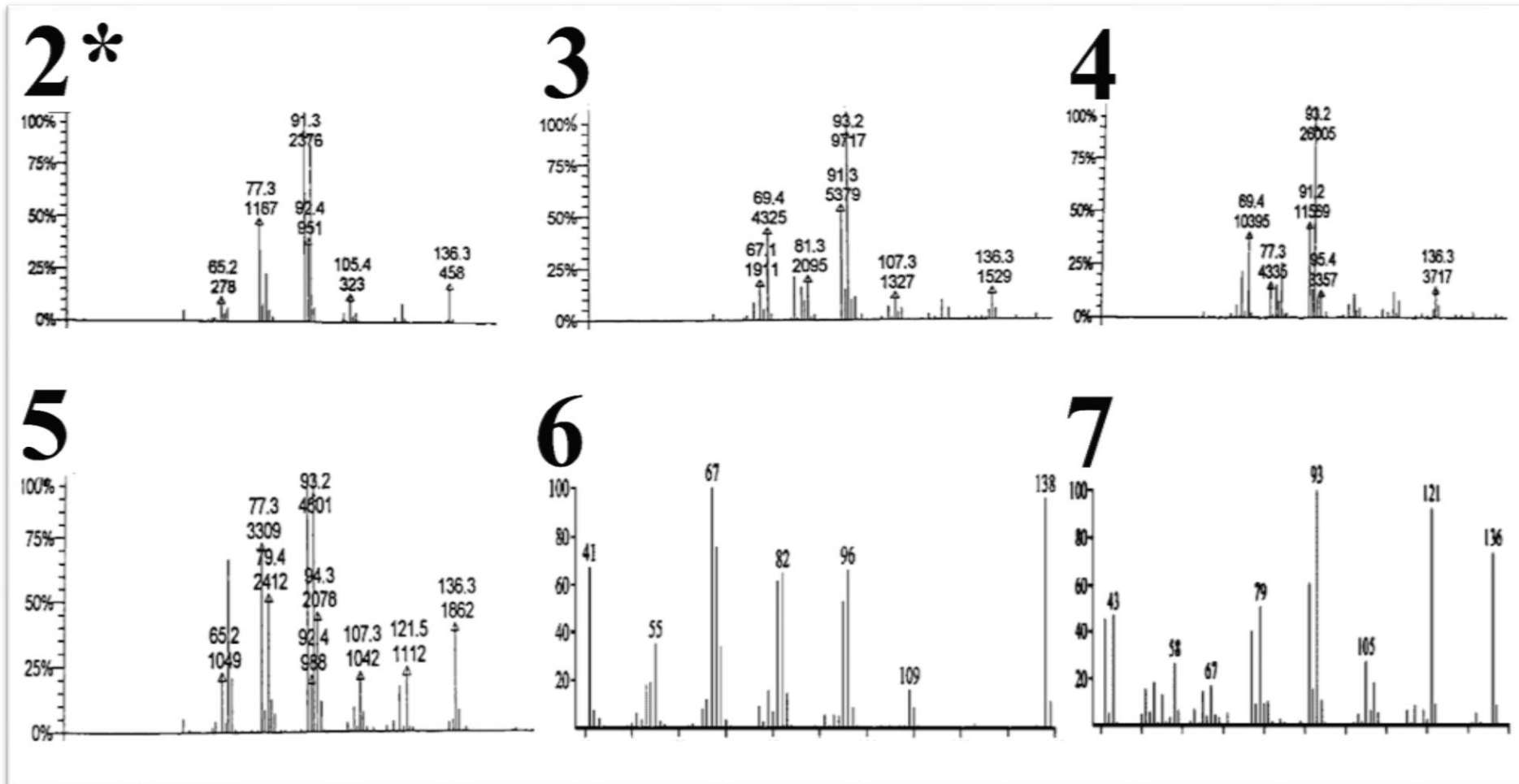


Figure 13 : Chromatogramme de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) :**(A)**- de l'huile essentielle des épinés de *Cedrus atlantica* ; **(B)**- des hydrocarbures n-alcanes de C9 à C20.

Tableau IV : Composition chimique de l'huile essentielle des épinettes de *Cedrus atlantica*.

Pic N°	TR (min)	IAx	Composés	Surface	Pourcentage%
1	4,062	835,93	NI	181747	0,32
2	5,657	927,58	α -Pinène	27160000	48,30
3	6,789	969,67	Sabinène	281970	0,51
4	7,301	988,53	Myrcène	11790000	20,95
5	8,473	1024,33	β -Phellandrène	11380000	20,22
6	9,475	1052,50	Trans Dehydro-Naphtalène	206882	0,36
7	10,661	1085,83	Terpinolène	255028	0,45
8	15,023	1194,62	α -Campholénol	327289	0,58
9	15,727	1211,49	Linalool formate	607410	1,07
10	17,905	1263,08	NI	261696	0,46
11	22,220	1366,05	NI	225096	0,40
12	24,217	1414,42	Caryophyllène	557314	1
13	45,499	1974	Sclarène	657975	1,16
14	46,765	2055	Abietatriène	342696	0,60
15	47,517	2087	Abietadiène	2041000	3,62
				56276103	100%
			Hydrocarbures monoterpéniques		90,43%
			Hydrocarbures sesquiterpéniques		1%
			NI : Non identifiés		1,18%
			Autres composés		7,39%
			Total des composés identifiés		98,82%

Douze composants ont été séparés et identifiés grâce à leurs indices de rétention arithmétiques (IAx) et à leurs spectres de masse (**Figure 14 et 15**). En effet, le total des composés identifiés représente un pourcentage conséquent de l'ordre de **98,82%** de l'ensemble des composants de l'HE (**Tableau IV**). Cette analyse a démontré que l'HE de *Cedrus atlantica* se caractérise par une teneur prédominante en hydrocarbures monoterpéniques (**90,43%**), et une très faible teneur en hydrocarbures sesquiterpéniques, représentés essentiellement par le caryophyllène avec un pourcentage de **1%**. Par ailleurs, l' α -pinène, qui représente **48,30%** des hydrocarbures monoterpéniques, est le composé le plus abondant, suivi du myrcène (**22,95%**), du β -phellandrène (**20,22%**) et d'autres monoterpènes présents à de faibles teneurs, tels que le sabinène (**0,51%**) et le terpinolène (**0,45%**). Des traces d'hydrocarbures aromatiques polycycliques, représentés par le trans-dehydro-naphtalène, ont été détectées (**0,36%**), ainsi que des monoterpènes oxygénés et des esters terpéniques représentés, respectivement, par des traces de l' α -campholénol (**0,58%**) et le linalool formate (**1,07%**). Enfin, la présence de diterpènes a été mise en évidence, en incluant le sclarène (**1,16%**), l'abietatriène (**0,60%**) et l'abietadiène (**3,62%**).



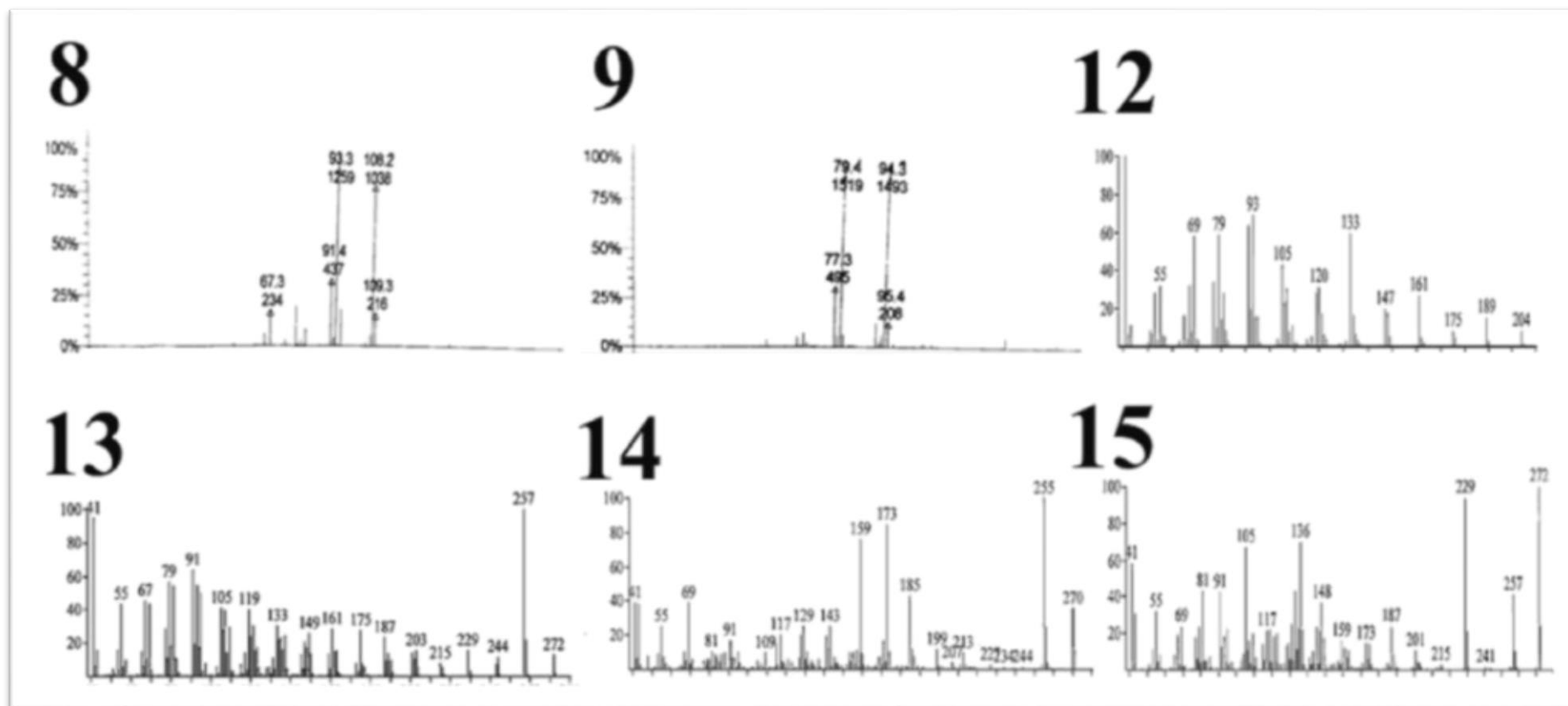


Figure 14 : Spectres de masse des composants volatiles isolés de l'HE des épines de *Cedrus atlantica*.

*Le numéro de chaque spectre de masse correspond au numéro de chaque pic des différents composants de l'HE présentés dans le Tableau IV.

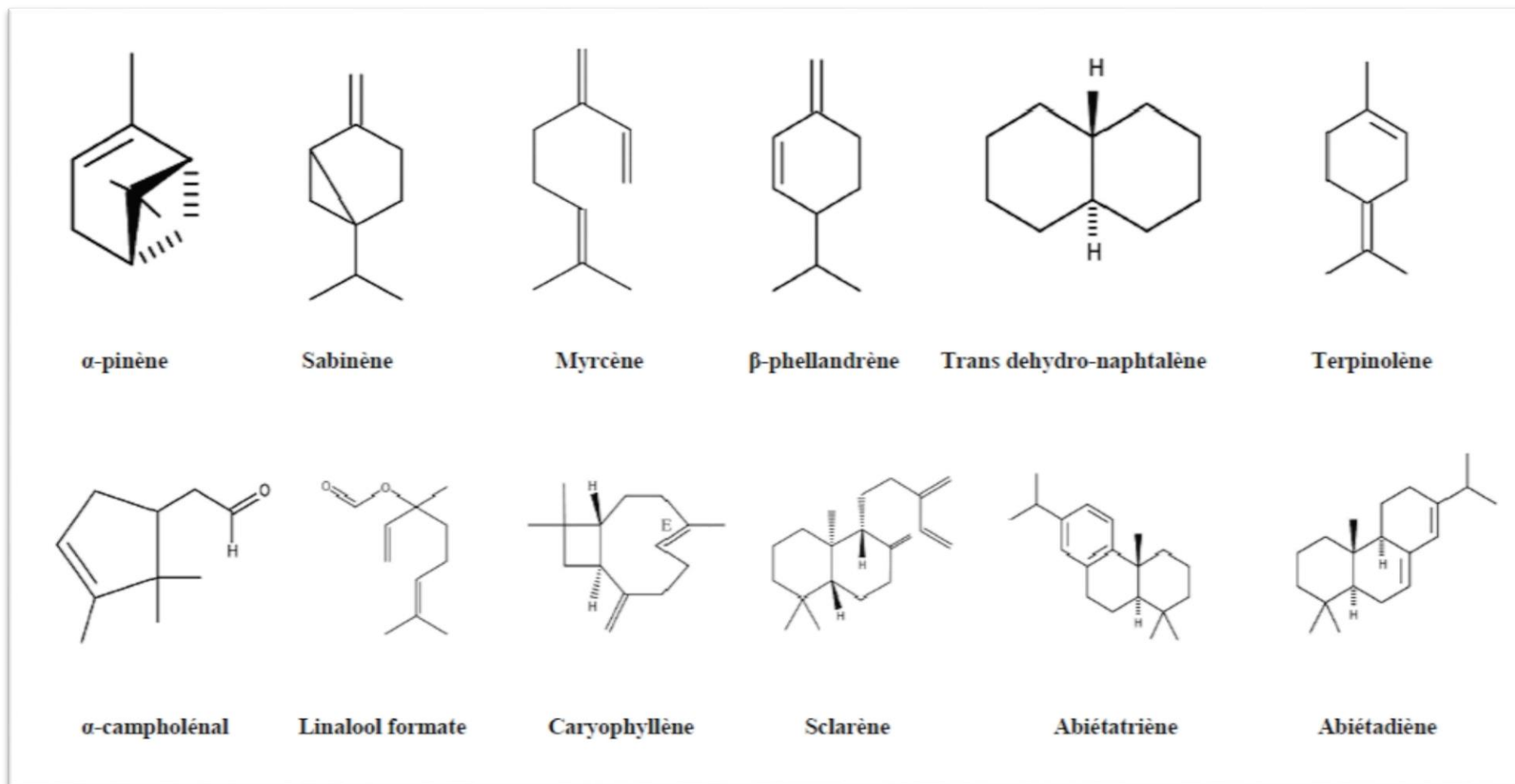


Figure 15 : Structures chimiques des composés volatiles isolés des de l'huile essentielle de *Cedrus atlantica* (Adams, 2017).

D'autre part, les travaux de **Lahlou et al., (2003)**, portant sur les HEs issues des épines de *C. atlantica* du Maroc, ont mis en évidence une similarité marquée dans la composition chimique, dominée également par des monoterpènes tels que l' α -pinène (**34,1%**) et le myrcène (**17,2%**). En revanche, lorsqu'on s'intéresse aux HEs obtenus à partir du bois de *C. atlantica* marocain, comme le rapporte l'étude de **Fidah et al., (2016)**, le profile chimique observé diffère nettement. Celui-ci se caractérise par une prédominance de cétones, avec notamment l'E- γ -atlantone (**19,73%**), le 5-isocedranol (**11,68**), le 9-iso-thujopsanone (**4,45%**), la cèdranone (**4,13%**) et le Z- α -atlantone (**4,02%**). Ces divergences de composition peuvent résulter de plusieurs facteurs, à savoir, la période de la récolte, les conditions climatiques, la nature de l'organe végétal utilisé, le stade de développement de la plante, son âge, des éléments génétiques et environnementaux, la localisation géographique, les précipitations ainsi que le régime de récolte (**Benouaklil et al., 2017**).

III.3. Activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée par trois tests : le piégeage des radicaux libres DPPH $\cdot$ et ABTS $^{++}$ et l'essai du pouvoir réducteur ferrique (FRAP).

Les résultats de l'activité anti-radicalaire DPPH $\cdot$ sont présentés dans la **Figure 16** ci-dessous.

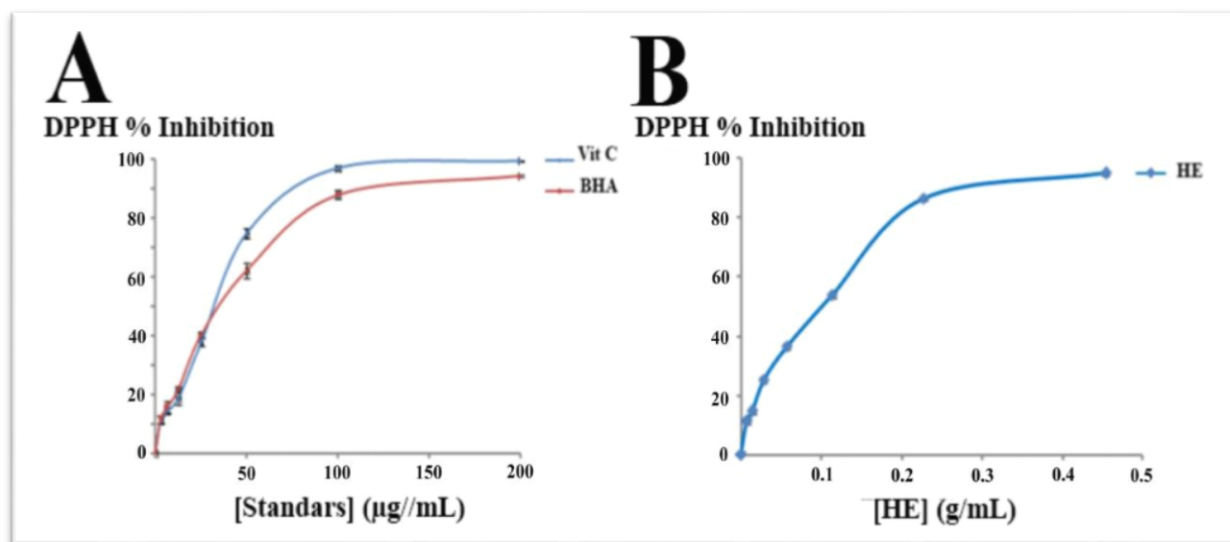


Figure 16 : Pourcentages d'inhibition du radical DPPH $\cdot$ par : (A) les standards (Vit C et BHA) ; (B) L'HE des épines de *Cedrus atlantica*.

Les résultats illustrés dans la **Figure 16B** montrent que l'HE extraite des épinettes de *C. atlantica* est faible pour réduire les radicaux libres DPPH[•] avec une IC₅₀ très élevée de l'ordre de **140,53 ± 9,11 mg/mL (Figure 17)** ; et un pourcentage d'inhibition de **95,04 ± 2,50%** atteint à une concentration de 0,455 g/mL. A l'inverse, les standards utilisés (**Figure 16A**), la vitamine C et la BHA, ont montré une activité de piégeage du radical DPPH[•] très élevée par rapport à l'HE avec des valeurs d'IC₅₀ de l'ordre de **34,05 ± 1,43** et **39,77 ± 2,86 µg/mL** ($P < 0.05$), respectivement (**Figure 17**).

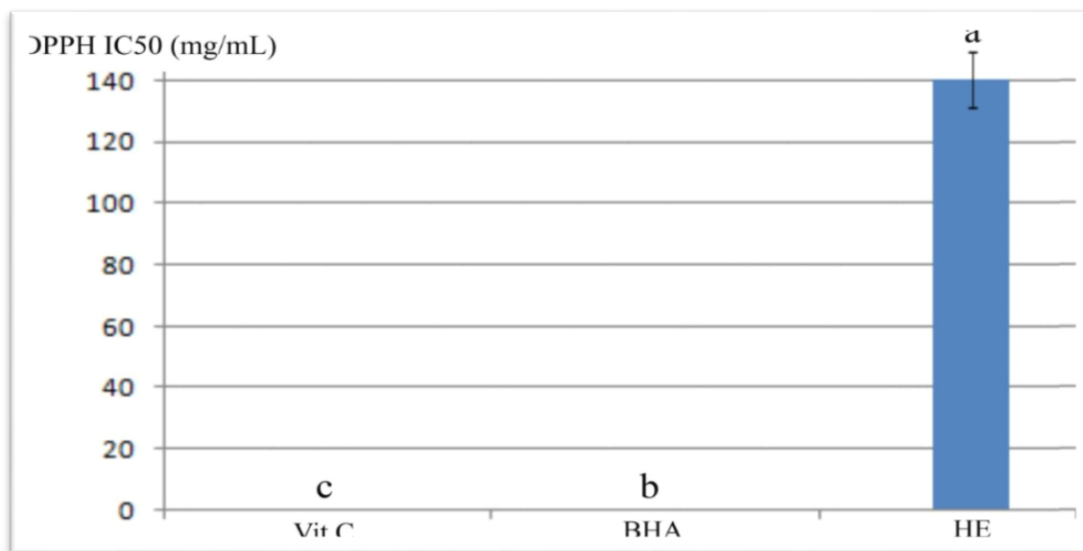


Figure 17 : Valeurs des IC₅₀ du DPPH[•] de l'HE et des standards. Les valeurs suivies d'une lettre différente sont significativement différentes ($P < 0,05$).

Ces résultats sont semblables à ceux obtenus dans l'activité anti-radicalaires ABTS^{•+} présentés dans la **Figure 18** ci-dessous.

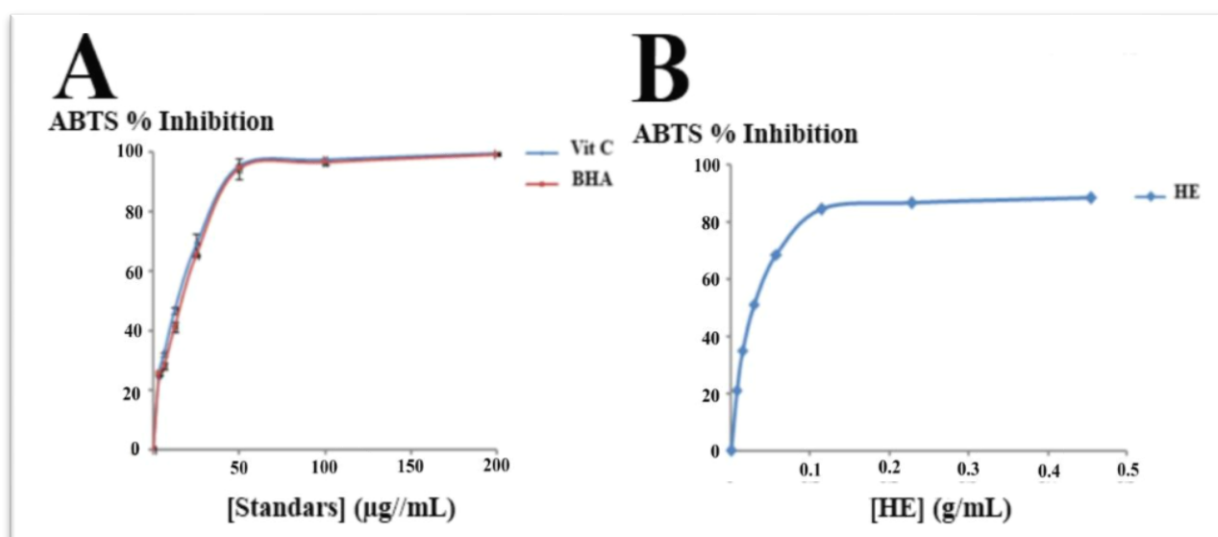


Figure 18 : Pourcentages d'inhibition du radical ABTS^{•+} par : (A) les standards (Vit C et BHA) ; (B) L'HE des épinettes de *Cedrus atlantica*.

D'après la **Figure 18B**, l'HE des épines de *C. atlantica* est également faible pour le piégeage du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ avec une valeur d' IC_{50} de $21,28 \pm 1,45 \text{ mg/mL}$ (**Figure 19**) ; et un pourcentage d'inhibition de $88,25 \pm 0,36 \%$ obtenu à une concentration de $0,455 \text{ g/mL}$. A titre comparatif aux standards (vitamine C et BHA) illustrés dans la **Figure 18A**, les valeurs d' IC_{50} sont très faibles de l'ordre de $5,37 \pm 0,10$ et $6,02 \pm 0,08 \mu\text{g/mL}$ ($P < 0,05$), respectivement (**Figure 19**) ; signifiant qu'ils possèdent une capacité puissante à neutraliser le radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$.

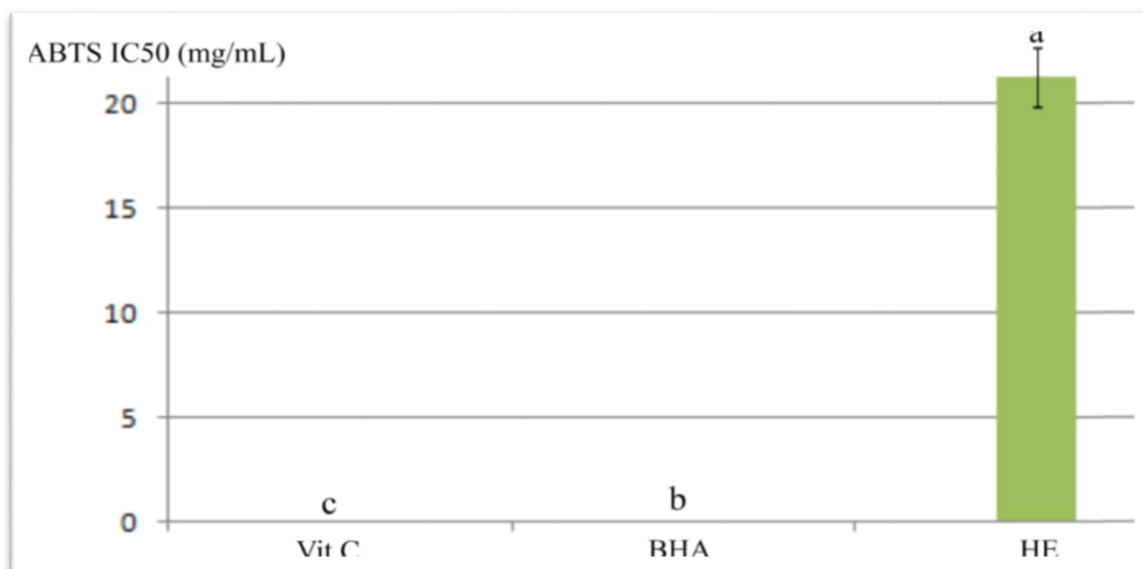


Figure 19 : Valeurs des IC_{50} de l' $\text{ABTS}^{\bullet+}$ de l'HE et des standards.

Les valeurs suivies d'une lettre différente étaient significativement différentes ($P < 0,05$).

Dans cette étude, le test FRAP est également utilisé pour déterminer la capacité antioxydante de l'HE dont les résultats ont été exprimés en $\mu\text{Eq Vit C/g d'HE}$; et déterminés en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec l'acide ascorbique (**Figure 20**).

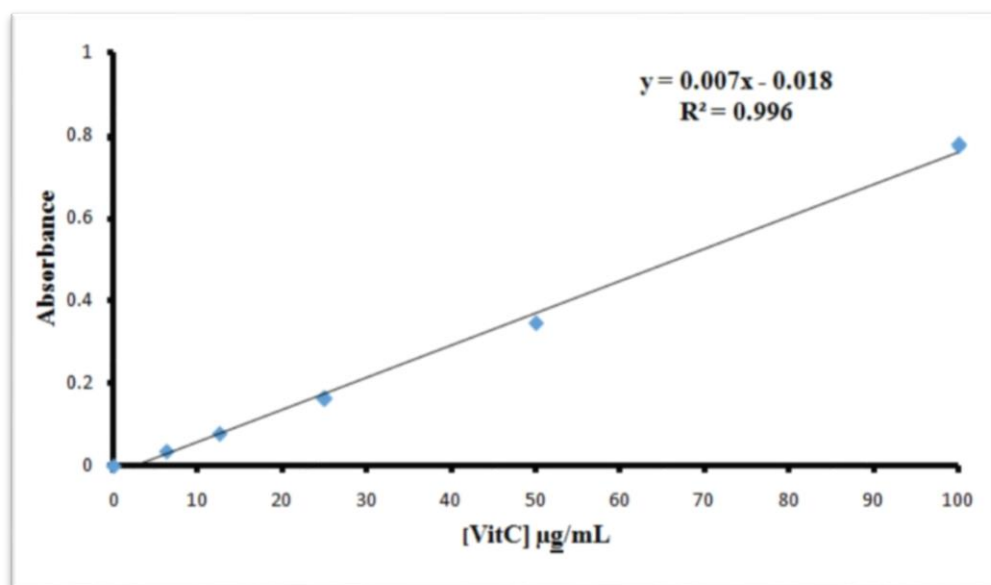


Figure 20 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique pour le test FRAP.

Une valeur de l'ordre de $457,22 \pm 2,71 \mu\text{Eq Vit C/g d'HE}$ a été enregistrée dans ce test, indiquant que l'HE possède un faible pouvoir réducteur des ions ferriques. Ces résultats confirment ceux obtenus avec les tests anti-radicalaires (DPPH[•] et ABTS^{•+}).

L'analyse des résultats expérimentaux de notre étude a permis de conclure que l'HE testée présente une faible activité antioxydante, et ce, avec les trois tests utilisés (DPPH[•], ABTS^{•+} et FRAP). Cependant, il n'existe aucun rapport publié dans la littérature concernant l'activité antioxydante de l'HE extraite à partir des épines de *C. atlantica*. En revanche, certaines études, sur l'HE issue du bois de cèdre du Maroc, ont démontré qu'elle possède une forte activité anti-oxydante dans l'inhibition des radicaux DPPH[•] et ABTS^{•+} avec des valeurs d'IC₅₀ de **54,19 et 95.5 $\mu\text{g/mL}$** , respectivement (El Hachlafi et al., 2023). En plus, dans les travaux menés par Jaouadi et al., (2021), le test FRAP a également montré un pouvoir réducteur élevé qui évolue en fonction de la concentration utilisée. Par ailleurs, une autre étude portée sur l'HE extraite à partir des branches de *C. atlantica* a révélé une activité antioxydante plus faible pour réduire les radicaux libres DPPH[•] comparativement aux résultats de notre échantillon avec une IC₅₀ très élevée de l'ordre de **315,85 $\pm$ 0,97 mg/mL** ; et un pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•] de **66,19 $\pm$ 4,32%** atteint à une concentration de 1000 mg/mL (Inaam et al., 2015). Cette variation des résultats pourrait être attribuée à la différence de concentration et la nature des composés chimiques présents dans les HEs extraites des différentes parties de la plante, notamment la prédominance des hydrocarbures sesquiterpéniques et des sesquiterpènes oxygénés qui contribuent à une forte activité antioxydante (El Hachlafi et al., 2023).

III.4. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'HE extraite des épines de *C. atlantica* a été évaluée par la méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé favorable à la croissance des micro-organismes. En effet, l'HE a été testée sur trois souches bactériennes (deux à Gram⁺ et une à Gram⁻), ainsi qu'une levure.

Les DZI autour des disques, exprimés en millimètres, sont présentés dans le tableau ci-dessous (**Tableau V**).

Tableau V : Diamètres des zones d'inhibition de l'HE et des antibiotiques sur les micro-organismes testés.

Micro-organismes	Type	Gram	Sensibilité à l'HE	Diamètre de la zone d'inhibition de l'HE	Diamètre de la zone d'inhibition des antibiotiques utilisés
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Bactérie	Gram ⁻	-	0 mm	G= 25 mm C= 31mm P= 0 mm
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Bactérie	Gram ⁺	+	12 mm	G= 30 mm C= 50 mm P= 55 mm
<i>Listeria monocytogene</i> ATCC 19114	Bactérie	Gram ⁺	++	17 mm	G= 30 mm C= 50 mm P= 55 mm
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Levure	/	-	0 mm	A= 19 mm

NB :**G** : Gentamicine

- : Résistance

C : Céphalosporine

+ : Sensible

P : Pénicilline G++ : Très sensible**A** : Amphotéricine

La lecture des résultats s'est faite selon les normes d'écrites par **Fertout-Mouri et al., (2016)** :

- **DZI de 0 à 8 mm** : Bactérie résistante (-).
- **DZI de 9 à 14 mm** : Bactérie sensible (+).
- **DZI de 15 à 19 mm** : Bactérie très sensible (++)
- **DZI > 20 mm** : Bactérie extrêmement sensible (+++).

D'après les résultats obtenus, on constate que les DZI se diffèrent d'un micro-organisme à un autre (**Figure 21**).

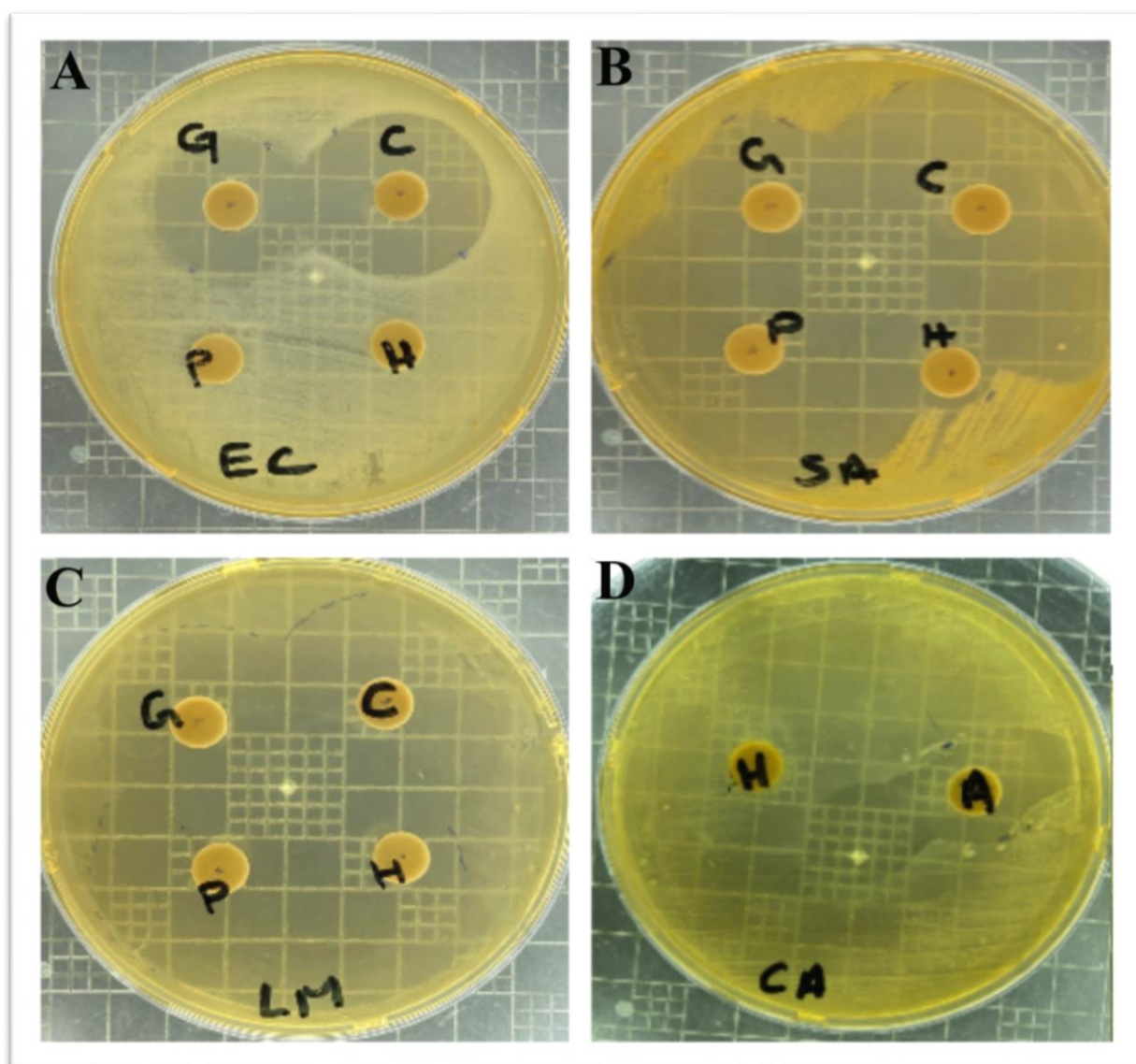


Figure 21 : Résultats de la méthode de diffusion sur disques. (A= EC : *Escherichia coli* ; B= SA : *Staphylococcus aureus* ; C= LM : *Listeria monocytogenes* ; D= CA : *Candida albicans*.) (P : Pénicilline ; C : Céphalosporine ; G : Gentamicine ; A : Amphotéricine B ; H : Huile essentielle).

Ces derniers sont comparés à l'échelle de **Fertout-Mouri et al., (2016)**, indiquant que l'HE s'est révélée inefficace contre la souche bactérienne à Gram⁻ (*Escherichia coli* ATCC 8739), ainsi que vis-à-vis de la levure (*Candida albicans* ATCC 10231) avec aucune zone d'inhibition remarquable autour du disque. En revanche une activité anti-bactérienne a été observée contre les deux bactéries à Gram⁺ à savoir, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Listeria monocytogenes* ATCC 19114 qui ont montré une sensibilité à l'HE avec un DZI de **12** et **17 mm**, respectivement. Cela suggère que notre HE a un mécanisme anti-bactérien plutôt qu'anti-fongique selon les souches testées ; et plus particulièrement sur les souches bactériennes à Gram⁺. En comparant nos résultats avec ceux de **Benouaklil et al., (2017)** et de **Kačániová**

et al., (2022), on note que notre étude est en concordance avec les résultats rapportés indiquant que certaines HE présentent une meilleure efficacité contre les bactéries à Gram⁺ que contre celles à Gram⁻, cela peut s'expliquer par le fait que la cible principale des HEs est principalement la paroi et la membrane cellulaire (**EL Hachlafi et al., 2023**). En effet, il est connu que les bactéries à Gram⁻ présentent généralement une plus grande résistance que les bactéries à Gram⁺, en grande partie en raison de la complexité de leur membrane externe. Les bactéries Gram⁻ sont caractérisées par la présence d'une fine couche de peptidoglycane située entre la membrane plasmique et une membrane externe contenant une grande quantité de lipopolysaccharides et des protéines formant ainsi une barrière quasi imperméable aux agents antimicrobiens. À l'inverse, les bactéries à Gram⁺ possèdent une paroi plus rudimentaire, caractérisée par une couche épaisse de peptidoglycane exposée à l'extérieur favorisant ainsi le contact direct avec les composés actifs des HEs (**Fertout-Mouri et al., 2016**).

Dans une deuxième partie, la méthode de microdilution sur microplaque a été utilisée pour déterminer les CMI et CMB de notre HE vis-à-vis des souches sensibles dans la première méthode de diffusion sur disque. Cette méthode a été appliquée sur les deux souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 et *Listeria monocytogenes* ATCC 19114. Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau VI** et la **Figure 22**.

Tableau VI : Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides de l'huile essentielle et de la pénicilline G vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Échantillons	<i>Listeria monocytogenes</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB
Huile essentielle	0,5 %	2%	1 %	2%
Pénicilline G	62,5 UI/mL	62,5 UI/mL	1,95 UI/mL	15,62 UI/mL

D'après les résultats (**Figure 23** et **Tableau VI**), l'antibiotique pénicilline G, a montré une bonne efficacité contre *Listeria monocytogenes* avec des valeurs de CMI et CMB de **62,54 UI/mL** ; et aussi contre *Staphylococcus aureus* avec une CMI de **1,95 UI /mL** et une CMB de **15,62 UI/mL**. Ces valeurs montrent que la pénicilline G est très active sur ces deux souches et à de faibles concentrations. Egalement, l'HE s'est révélée active contre les bactéries testées, avec des valeurs de CMI et CMB de l'ordre de **0,5** et **2%** pour *Listeria monocytogenes*, et **1** et **2 %** pour *Staphylococcus aureus*, respectivement.

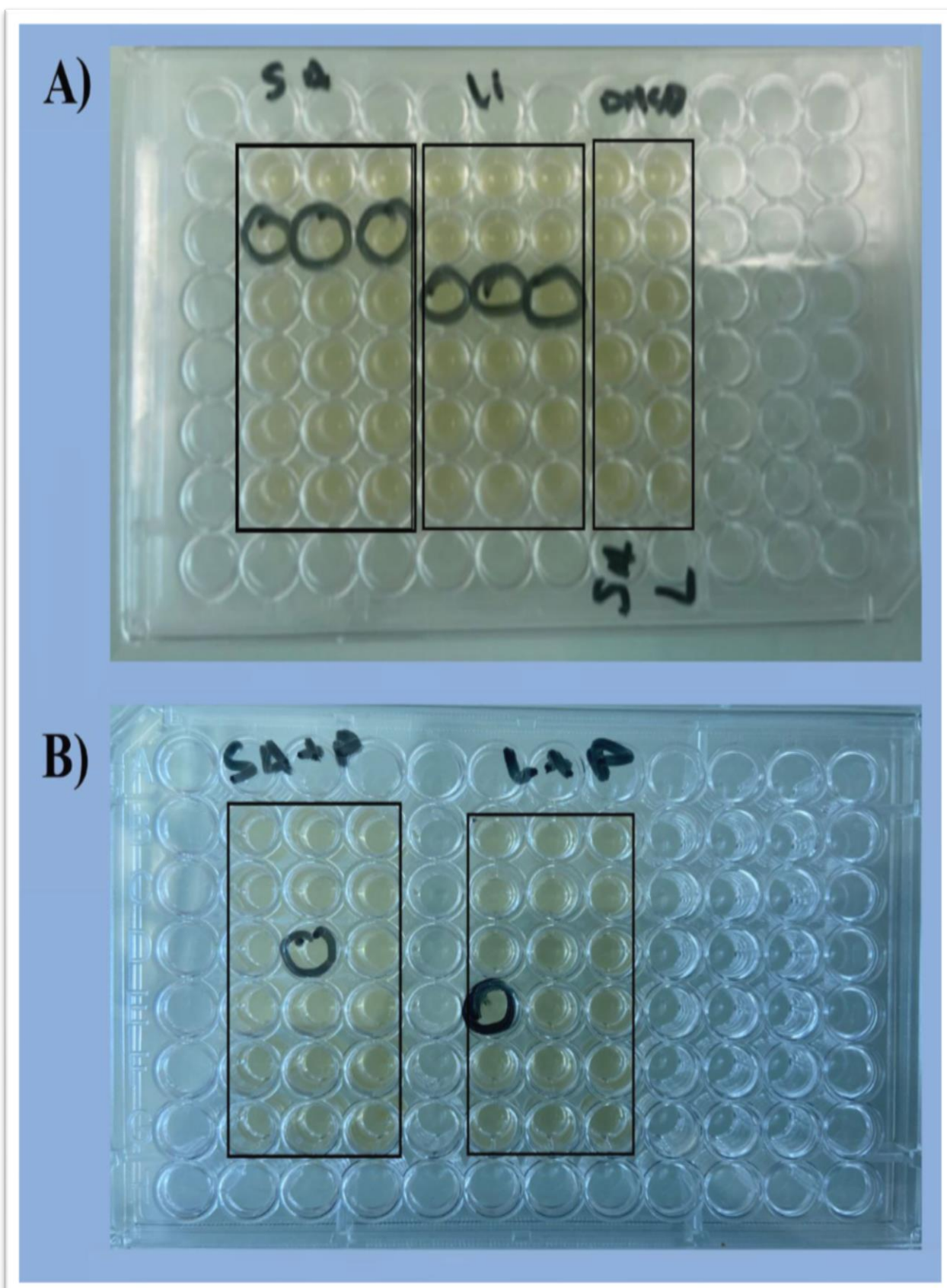


Figure 22 : Résultats de la méthode microdilution sur microplaques. (SA= *Staphylococcus aureus* ; Li et L= *Listeria monocytogenes*).

D'après la **Figure 22**, il est important de souligner que le contrôle négatif (DMSO), testé aux mêmes concentrations, n'a montré aucun effet sur la croissance de ces deux souches bactériennes.

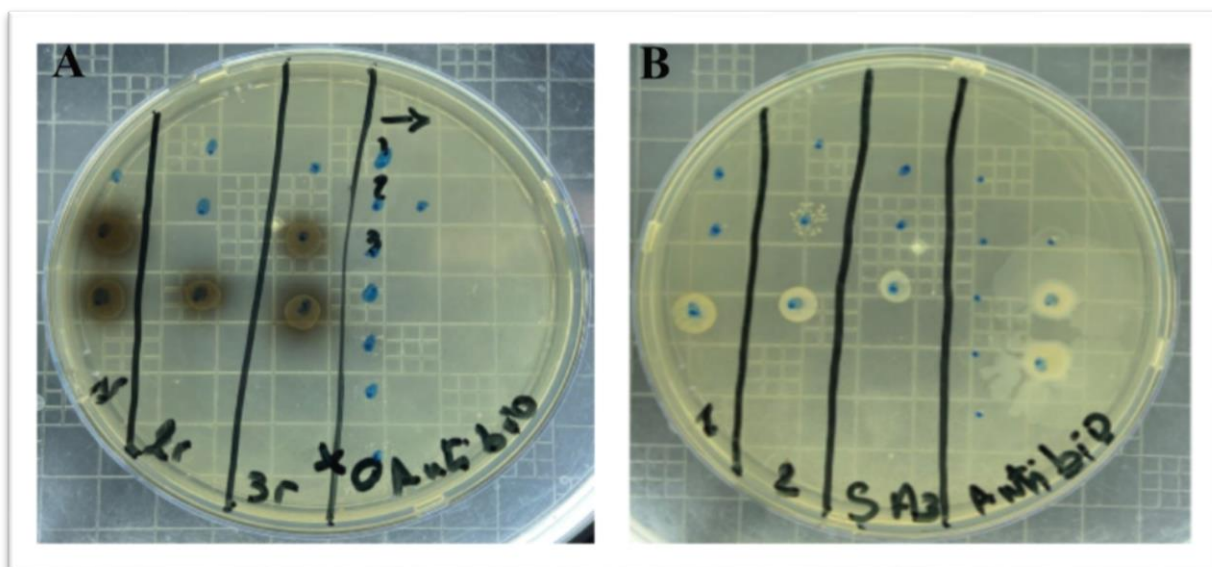


Figure 23 : Résultats de l'activité bactéricide de l'huile essentielle et la pénicilline G sur les souches bactériennes testées : (A) **Li** : *Listeria monocytogenes* ; (B) **SA** : *Staphylococcus aureus*.

Ces résultats suggèrent que l'effet antimicrobien de l'HE est principalement attribué à son composé majoritaire l' α -pinène, qui est un hydrocarbure monoterpénique. Une seule étude portée sur l'HE des épines de *C. atalantica* du Maroc par **Derwich et al., (2010)** a montré que l' α -pinène est le composé prédominant, et que les HE riches en hydrocarbures monoterpéniques présentent une activité moyenne à forte contre les bactéries Gram⁺. A noter également que certains composés mineurs de l'HE participent par un effet synergique avec les autres composants (**Burt, 2004**). Toutefois grâce à l'hydrophobicité des composants de l'HE, ces derniers sont capables de s'intégrer avec les lipides des membranes cellulaires bactériennes et des mitochondries, provoquant une fuite des ions et des constituants cellulaires en augmentant la perméabilité membranaire, menant à la mort de la cellule (**Benouaklil et al., 2017**).

Conclusion

Et

Perspectives

Conclusion

Dans la présente étude, la composition chimique de l'HE hydrodistillée à partir des épinettes de *Cedrus atlantica*, ainsi que ses activités antioxydantes et antimicrobiennes ont été réalisées ; et nous a permis d'aboutir aux résultats suivants :

- Le rendement en HE a été faible par rapport à ceux rapportés dans la littérature.
- L'analyse par GC-MS des composés chimiques présents dans l'HE du cèdre de l'Atlas obtenue par hydrodistillation, a révélé l'abondance remarquable des hydrocarbures monoterpéniques culminant à 90,43% avec prédominance de l' α -pinène (48,30%) et de myrcène (20,22%). En revanche, les teneurs en hydrocarbures sesquiterpéniques demeurent très faibles, de l'ordre de 1%.
- L'évaluation des propriétés antioxydantes menées à l'aide de trois tests (DPPH[•], ABTS^{•+} et FRAP) a démontré que l'HE des épinettes du cèdre possède une activité anti-radicalaire faible avec des IC₅₀ de $140,53 \pm 9,11$ mg/mL pour le DPPH et de $21,28 \pm 1,45$ mg/mL pour l'ABTS ainsi qu'un faible pouvoir réducteur des ions ferriques avec une valeur de $457,22 \pm 2,71$ μ Eq Vit C/g d'HE.
- Par ailleurs, l'activité antimicrobienne de l'HE des épinettes de *C. atlantica* a été évaluée sur trois bactéries à Gram positifs et négatifs ainsi qu'une levure et cela par deux méthodes ; la méthode de diffusion sur disque où l'HE s'est révélée inefficace contre la souche bactérienne à Gram négatif (*Escherichia coli*), et également sur la levure (*Candida albicans*), tandis qu'elle est efficace sur les bactéries Gram positifs. Dans la méthode de microdilution sur microplaques testée sur deux souches bactériennes, les résultats indiquent que l'HE est active contre les bactéries testées (*Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*) avec des valeurs de CMI et CMB allant de 0,5 à 2 %.

En perspective, ces résultats nous ont permis d'avoir une simple esquisse dans le domaine de la recherche des antioxydants et des antimicrobiens naturels. Il serait très intéressant d'effectuer des tests *in vivo* afin de confirmer l'efficacité des HEs identifiées.

Références

Bibliographiques

- Aberchane M. Fechtal M. (2004).** Analysis of Moroccan Atlas Cedarwood Oil (*Cedrus atlantica* Manetti). *Journal of Essential Oil Research.*, 16(6) : 542-547.
- Aberchane M. Fechtal M. Chaouch A. Bouayoune T. (2001).** Influence de la durée et de la technique d'extract sur le rendement et la qualité des huiles essentielles du cèdre de l'atlas (*Cedrus atlantica* Manetti) ;(34), 110-118.
- Addar A. Khedache Z. Righi H. Dahmani-Megrerouche M. (2016).** Suivi de la régénération naturelle du Cèdre de l'Atlas dans les premiers stades de développement dans quelques stations du massif forestier de Chréa (Atlas blidéen, Algérie). *Revue d'Écologie* ; 71(4) : pp 367-384 .doi : <https://doi.org/10.3406/revec.2016.1858>.
- Ainane A. Benhima R. Khammour F. Elkouali M. Talbi M. Abba E. Cherroud S. Ainane T. (2018).** Composition chimique et activité insecticide de cinq huiles essentielles : *Cedrus atlantica*, *Citrus limonum*, *Eucalyptus globules*, *Rosmarinus officinalis* et *Syzygium aromaticum*, 67-79.
- Aberchane M. Satrani B. Fechtal M. Chaouch A. (2003).** Effet de l'infection du bois de cèdre de l'Atlas par *Trametes pini* et *Ungulina officinalis* sur la composition chimique et l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles. *Acta Botanica Gallica*; 150(2):223–229.
- Al Kamaly O. Saleh A. Al Sfouk A. Alanazi A. S. Parvez M. K. Ousaaaid D. Assouguem A. Mechchate H. Bouhrim M. (2022).** *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex Carrière essential oil alleviates pain and inflammation with no toxicity in rodents. *Processes* ; 10:581.
- Ameggouz M. Drioua S. El-Guourrami O. Azalmad H. Metni K E B. Zahidi A. Doukkali A. Satrani B. Benzeid H. (2025).** *In vitro* evaluation of stem extracts and essential oils from sawdust of *Cedrus atlantica* (Endl.) G. Manetti ex Carrière for their photoprotective and antihyperglycemic activities. *Tropical Journal of Natural Product Research* ; 9(2) :826–832.
- Annemer S. Ez Zoubi Y. Satrani B. Stambouli H. Assouguem A. Ullah R. Ali E A. Ercisli S. Marc R. A. Bouayoun T. Farah A. (2023).** Simultaneous Hydrodistillation of *Cedrus atlantica* Manetti and *Salvia rosmarinus* Spenn: Optimization of Anti-Wood-Decay Fungal Activity Using Mixture Design Methodology. *ACS Omega*. Jul 12 ; 8(30) :27030-27043.
- Adams R. P. (2007).** Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, Allured Publishing Corporation.

Alam M. n. Bristi N. j. Rafiquzzaman M. (2013). <<< Review on in Vivo and in Vitro Methods Evaluation of Antioxidant Activity ». *Saudi Pharmaceutical Journal : SPJ : The Official Publication of the Saudi Pharmaceutical Society* 21(2). <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>.

Abu-Lafi S. Al-Natsheh M. S. Yaghmoor R. Al-Rimawi F. (2017). "Enrichment of phenolic compounds from olive mill wastewater and in vitro evaluation of their antimicrobial activities." *Evid Based Complementary Altern Med.* 2017.

Al-Dabbas M. M. Suganuma T. Kitahara K. Hou D. X. Fujii M. (2006). "Cytotoxic, antioxidant and antibacterial activities of *Varthemia iphionoides* Boiss. extracts." *Journal. Ethnopharmacol* 108(2) : 287-293.

-B-

Benouaklil F. Hamaidi-Chergui F. Hamaidi M. S. Saidi F. (2017). "Chemical composition and antimicrobial properties of Algerian *Cedrus atlantica m.* Essential oils." *AgroBiologia ;* 7(1) : 355-362.

Bouyahia C. Benbouzid M. El Hajjaji S. Slaoui M. Bentata F. Labhilili M. Bouyahya A. (2023). The effect of extraction methods on the yields, chemical composition and antifungal activity of sawdust *Cedrus atlantica Manetti* essential oils; Vol. 10, No. 2, 297–312. <https://doi.org/10.21448/ijsm.1047122>.

Bennouna F. M. Lachkar S. El Abed S. Koraichi S. I. (2019). "*Cedrus atlantica* essential oil: Antimicrobial activity and effect on the physicochemical properties of cedar wood surface." *Moroccan Journal of Biology ;* (16) : 35-45.

Boudarene L. Baaliouamer A. Meklati B. Scharff C. (2004). Composition of the Seed Oils from Algerian *Cedrus atlantica G. Manetti*, *Journal of Essential Oil Research ;* 16 :1, 61-63, DOI : 10.1080/10412905.2004.9698651.

Belkacem N. Khettal B. Hudaib M. Bustanji Y. Abu-Irmaileh B. Amrine C. S. M. (2021). "Antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activities of *Cedrus atlantica* organic extracts and essential oil." *European journal of Integrative Medicine.* 42 : 101292.

Benzie I. F. Strain J. J. (1996). "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power” : the FRAP assay." *Analytical biochemistry* 239(1) : 70-76.

Bougandoura N. Bendimerad N. (2013). Evaluation de l’activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta* (L.) Briq. *Revue « Nature & Technologie ».* B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09. Pages 14 à 19.

Basli A. Belkacem N. Amrani I. (2017). Health Benefits of Phenolic Compounds Against Cancers. Phenolic Compounds-Biological Activity. M. Soto-Hernández, InTech : 193210.

Burt S. (2004). Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*.94 : 223– 253.

-C-

Chalchat J. C. Garry R. P. Miehet A. Benjilali B. (1994). Essential oil components in sawdust of *Cedrus atlantica* from Morocco. *Journal of Essential Oil Research*; 6(3): 323-325.

Coombes A. J. (1992). Arbres 500 espèces.320 p.

-D-

Demarteau M. Francois L. Cheddadi R. Roche E. (2007). Réponses de *Cedrus atlantica* aux changements climatiques passés et futurs, 31 : 105 – 146.

Debazac E. F. (1964). Manuel des conifères. Nancy, École nationale des Eaux et Forêts. 172p.

Derwich E. Benziane Z. Boukir A. (2010). Chemical composition and In vitro antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 12 : 381–385.

-E-

Ez-Zriouli R. El Yacoubi H. Imtara H. Mesfioui A. ElHessni A. Al Kamaly O. Zuhair A. S. Nasr F. A. Benziane O. Z. Rochdi A. (2019). Chemical Composition, Antioxydant and Antibacterial Activities and Acute Toxicity of *Cedrus atlantica*, *Chenopodium ambrosioides* and *Eucalyptus camaldulensis* Essential Oils. *Molecules*. 28(7) : 2974. <https://doi.org/10.3390/molecules28072974>.

El Hachlafi N. Mrabti H. N. Al-Mijalli S. H. Jeddi M. Abdallah E. M. Benkhaira N. Hadni H. Assaggaf H. Qasem A. Goh K. W. AL-Farga A. Bouyahya A. Fikri-Benbrahim K. (2023). Antioxidant, volatile compounds ; antimicrobial, anti-inflammatory, and dermatoprotective properties of *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex Carrière essential oil: *In vitro* and *in silico* investigations. *Molecules* ; 28 :5913.

-F-

Fidah A. Salhi N. Rahouti M. Kabouchi B. Ziani M. Aberchane M. Famiri M. (2016). Natural durability of *Cedrus atlantica* wood related to the bioactivity of 3 its essential oil against wood decayin fungi, 18(4). DOI : 10.4067/S0718-221X2016005000049.

Fidah A. M. Rahouti B. Kabouchi A. F. (2019). Durable woods and antifungal activity of their essential oils: Case of *Tetraclinis articulata* (Vahl) masters and *Cedrus atlantica manetti*. Essential Oils-Oils of Nature, *IntechOpen*.

Fadel H. Benayache F. Benayache S. (2016). Antioxidant Properties of Four Algerian Medicinal and Aromatic Plants : *Juniperus oxycedrus* L., *Juniperus phoenicea* L., *Marrubium vulgare* L., and *Cedrus atlantica* (Manetti ex Endl.). *Der Pharmacia Lettre*, 8(3), 72–79.

Fertou-Mouri N. Latreche A. Mehdadi Z. Bengherraz Z. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*, Vol. 85, pp. 253-262.

-H-

Hainry D. Colombet M. (2009). Bilan des introductions et perspectives d'utilisation du Cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*) en Bretagne. *CRPF de Bretagne*. 10p.

Harfouche A. Nedjahi A. (2003). Prospections écologiques et sylvicoles dans les cédraies du Belezma et de l'Aurès à la recherche de peuplements semenciers et d'arbres plus. *Revue forestière française*, 55 (2), pp.113-122. ff10.4267/2042/5162ff. ffhal-03449359ff.

Huang F. Chang K. Lee S. Sheu G. Li S. Weng J. Hsiao C. Tsai N. (2020). Extract Derived from *Cedrus atlantica* Acts as an Antitumor Agent on *Hepatocellular Carcinoma* Growth In Vitro and In Vivo, 25, 4608 ; doi : 10.3390/molecules25204608.

Habibou H. H. Idrissa M. Khalid I. (2019). Activité antioxydante des extraits méthanoliques de différents organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr. *European scientific journal* ; 1857- 7431.

-I-

Idrissi A. M. Mahraz M. A. Drioua S. Assouguem A. Ali E. A. Ibrahim M. A. Mehta C. M. Lahlali R. Tlemcani S. Moussaoui F. En-nabety G. El outassi N. Lahkimi A. (2024). Phytochemical investigation and evaluation of antioxidant and antidiabetic activities in aqueous extracts of *Cedrus atlantica*, 22. <https://doi.org/10.1515/chem-2024-0121>.

Inaam E. m. Sara H. Saadia L. Mohamed E. Abdeslam L. (2015). "Study of antioxidant activity of essential oils extracted from Moroccan medicinal and aromatic plants." *European Journal of Medicinal Plants*. 10(2) :1-12.

-J-

Jaouadi I. Cherrad S. Bouyahya A. Koursaoui L. Satrani B. Ghanmi M. Chaouch A. (2021). Chemical variability and antioxidant activity of *Cedrus atlantica* Manetti essential oils isolated from wood tar and sawdust ; 14,1878-5352. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103441>.

Jorgensen J H. Turnidge J D. (2015). Susceptibility test methods : dilution and disk diffusion methods. *Manual of clinical microbiology* : 1253-1273.

-K-

Kačániová M. Galovičová L. Valková V. Duranová H. Štefániková J. Cmíková N. Vukic M. Vukovic N. L owałczewski P. Ł. (2022). Chemical composition, antioxidant, in vitro and in situ antimicrobial, antibiofilm, and anti-insect activity of *Cedrus atlantica* essential oil. *Plants* ; 11:358.

Kumar S. Pandey S. Pandey A. K. (2014). "In vitro antibacterial, antioxidant, and cytotoxic activities of *Parthenium hysterophorus* and characterization of extracts by LC-MS analysis." *BioMed Res. Int.* 2014.

-L-

Lahlou M. (2003). Composition and molluscicidal properties of essential oils from five Moroccan Pinaceae species, *Pharmaceutical biology*,;41:3,207-210.DOI:10.1076/phbi.[41.3.207.15097](https://doi.org/10.1076/phbi.41.3.207.15097).

Lamiri A. Lhaloui S. Benjilali B. Berrada M. (2001). Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say), "*Field Crops Res*". 71(1) : 9-15.

Le K. Chiu F. Ng K. (2007). "Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*." *Food Chem.* 105(1) : 353-363.

-M-

Mhirit O. (1999). Le cèdre de l'Atlas à travers le réseau *Silva mediterranea* "cèdre". Bilan et perspectives. *Forêt Méditerranéenne* ; (3), pp.91-100. fhal-03557945ff.

Moukrim S. Lahssini S. Rifai N. Menzou K. Mharzi-Alaoui H. Labbaci A. Rhazi M. Wahby I. El Madihi M. Rhazi L. (2020). Modélisation de la distribution potentielle de *Cedrus atlantica* Manetti au Maroc et impacts du changement climatique. *Bois et forêts des tropiques*, 344: 3-16. Doi: <https://doi.org/10.19182/bft2020.344.a31888>.

M'hirit O. benzyane M. (2006). Le cèdre de l'Atlas : mémoire du temps. *Ed Mardaga, Casablanca.*

Martins D. F. Emer A. A. Batisti A. P. Donatello N. Carlesso M. G. Mazzardo-Martins L. Venzke D. Micke G. A. Pizzolatti M. G. Piovezan A. P. dos Santos A. R. S. (2015). Inhalation of *Cedrus atlantica* essential oil alleviates pain behavior through activation of descending pain modulation pathways in a mouse model of postoperative pain. *Journal of Ethnopharmacology* ; 175: 30–38.

Moustaid W. Saffaj T. Annemer S. Assouguem A. Ullah R. Ali E. A. Ercisli S. Marc R. A. Farah A. (2023). Simultaneous Hydrodistillation of Healthy *Cedrus atlantica* Manetti and Infected by *Trametes pini* and *Ungulina officinalis* : Effect on Antibacterial Activity Utilizing a Mixture-Design Method. *ACS Omega* ; 8 : 31899–31913.

Munteanu I. G. Apetrei C. (2021). «Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity : A Review ». *International Journal of Molecular Sciences* 22 (7) : 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>.

-N-

Nam A. M. (2014). Contribution de la RMN 13C à l'analyse des huiles végétales, huiles essentielles et résines (*Olea europaea*, *Pinus halepensis* et *Cedrus atlantica*). Autre. Université Pascal Paoli, Français. NNT : 2014CORT0001. tel-01124008.

Naimi F. Boustia D. Balouiri M. Meskaoui A. E. (2015). Antioxidant and free radical-scavenging properties of seeds flavonoids extract of *Cedrus atlantica* Manetti, *Linum usitatissimum* L. and *Ocimum basilicum* L. species. *J Appl Pharm Sci*; 5(08): 095-099.

-P-

Paoli M. Nam A. Castola V. Casanova J. Bighelli A. (2011). Chemical Variability of the Wood Essential Oil of *Cedrus atlantica* Manetti from Corsica ; Vol. 8.

Prior R. L. Xianli W. Karen S. (2005). << Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (10) : 4290-4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>.

-Q-

Quézel P. Santa S. (1962, 1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, 2 Tomes, Editions CNRS, Paris.

-R-

Riou-nivert P. (2007). Fiche extraite de la Flore forestière française. Région méditerranéenne. *Forêt-entreprise* ; (3)174 : 14-16.

René R. (1964). A propos de "cèdres". *Revue forestière française* ; 3 :183-187.

Re R. Pellegrini N. Proteggente A. Pannala A. Yang M. Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine* : 26(9-10), 1231-1237.

-S-

Saab A. Gambari R. Sacchetti G. Guerrini A. Lampronti I. Tacchini M. El Samrani A. Medawar S. Makhoul H. Tannoury M. Abboud J. Diab-Assaf M. Kijjoa A. Tundis R. Aoun J. Efferth T. (2018). Propriétés phytochimiques et pharmacologiques des huiles essentielles de l'espèce *Cedrus*, *Natural Product Research* ; 32 :12, 1415-1427. DOI : 10.1080/14786419.2017.1346648.

Satrani B. Aberchane M. Farah A. Chaouch A. Talbi M. (2006). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation fractionnée du bois de *Cedrus atlantica* Manetti, *Acta Botanica Gallica*; 153:1, 97-104, DOI:10.1080/12538078.2006.10515524.

Saab A. Harb F. Koenig W A. (2008). Essential oils components in the leaves of *Cedrus libani* and *Cedrus deodara*. *Minerva Biotechnologica* ; 20 : 00-00.

Skanderi I. Chouitah O. (2020). Chemical characterization and antioxidant activity of *Cedrus atlantica* Manetti tar (Atlas cedar tar). *French-Ukrainian Journal of Chemistry* ; 8(2).

Saab A. M. Lampronti I. Borgatti M. Finotti A. Harb F. Safi S. Gambari R. (2012). *In vitro* evaluation of the anti-proliferative activities of the wood essential oils of three *Cedrus* species against K562 human chronic myelogenous leukaemia cells, *Natural Product. Research* ; 26: 2227–2231, doi: 10.1080/14786419.2011.643885.

Shirwaikar A. Rajendran K. Punitha I. S. R. (2006). "In vitro antioxidant studies on the benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine." *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 29(9) : 1906-1910.

-T-

Toth J. (1980). Le cèdre dans quelques pays du pourtour méditerranéen et dans deux autres pays a grande importance forestière. *Forêt méditerranéenne* ; 8(1) : 23-30.

Tassin C. (2012). *Paysages végétaux du domaine méditerranéen : bassin méditerranéen, Californie, Chili central, Afrique du Sud, Australie méridionale.* 304p.

Toth J. (1971). Le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica* en France). *Bulletin de la vulgarisation forestière* ; 4 : 5-19.

Toth J. (2005). Le cèdre de France : Etude approfondie de l'espèce. 208 p.

Thaipong K. U. Boonprakob K. Crosby L. Cisneros-Zevallos. Byrne D. H. (2006). "Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts." *Journal of Food Composition and Analysis.* 19(6-7) : 669-675.

-U-

Uwineza M. S. El yousfi B. Lamiri A. (2018). Antifungal activities of essential oils of *Mentha pulegium*, *Eugenia aromatica* and *Cedrus atlantica* on *Fusarium culmorum* and *Bipolaris sorokiniana* *in vitro* ; 12 : 19-32.

-Y-

Yassaa N. Meklati B. Y. Cecinato A. (2000). Evaluation of monoterpenic biogenic volatile organic compounds in ambient air around Eucalyptus globulus, *Pinus halepensis* and *Cedrus atlantica* tree growing in Algiers city area by chiral and achiral capillary gas chromatography, 2809-2816.

-Z-

Zrira S. Ghanmi M. (2016). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica* (Cedarwood oil). *Journal of Essential Oil Bearing Plants* ; 19(5) :1267-1272.

Résumé :

L'objectif principal de cette étude est de rechercher de nouvelles molécules à potentiel antioxydant et antimicrobien à partir de la plante médicinale *Cedrus atlantica Manetti*, une espèce forestière endémique appartenant à la famille des Pinaceae. Pour cela, une analyse qualitative et quantitative de l'huile essentielle hydrodistillée à partir de ses épines a été réalisée par GC-MS. Ensuite, les activités biologiques de cette huile ont été évaluées à travers des tests d'activité antioxydante (piégeage des radicaux libres DPPH[•] et ABTS^{•+}, ainsi que le pouvoir réducteur des ions ferriques FRAP) et des essais d'activité antimicrobienne. Les résultats de l'analyse GC-MS ont montré que l'huile essentielle est majoritairement composée d'hydrocarbures monoterpéniques (90,43%), alors que la teneur en hydrocarbures sesquiterpéniques est faible (1 %). Sur le plan biologique, l'huile des épines de *Cedrus atlantica* a révélé une faible capacité antioxydante dans les trois tests effectués. Quant à l'activité antimicrobienne, l'huile essentielle testée a exhibé une meilleure efficacité contre les bactéries à Gram⁺, et aucun effet remarquable vis-à-vis des souches à Gram⁻ et la levure. Ceci, nous incite à entreprendre des investigations scientifiques plus poussées afin de mieux exploiter les propriétés biologiques de cette plante.

Mots-clés : *Cedrus atlantica*, huile essentielle, GC-MS, activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract :

The main objective of this study is to identify new antioxidant and antimicrobial compounds from the medicinal plant *Cedrus atlantica Manetti*, an endemic forest species belonging to the Pinaceae family. To achieve this, a qualitative and quantitative analysis of the essential oil hydrodistilled from its needles was carried out using GC-MS. Then the biological activities of this oil were evaluated through antioxidant activity tests (radical scavenging assays using DPPH[•] and ABTS^{•+}, as well as ferric reducing antioxidant power FRAP) and antimicrobial activity assays. The GC-MS analysis revealed that the essential oil is mainly composed of monoterpene hydrocarbons (90.43%), while the content of sesquiterpene hydrocarbons is low (1%). Biologically, the needle oil of *Cedrus atlantica* showed low antioxidant capacity in all three tests. Concerning antimicrobial activity, the tested essential oil exhibited a better efficacy against Gram⁺ bacteria, while no significant effect was observed against Gram⁻ strains and yeast. These results encourage us to undertake further in-depth scientific investigation, in order to better exploit the biological properties of this plant.

Keywords : *Cedrus atlantica*, essential oil, GC-MS, antioxidant activity, antimicrobial activity.

المخلص :

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو البحث عن جزيئات جديدة ذات قدرة محتملة مضادة للأكسدة ومضادة للميكروبات، انطلاقاً من النبتة الطبية أرز الأطلس، وهي نوع غابي متوطن ينتمي إلى العائلة الصنوبرية. لتحقيق هذا الهدف، تم إجراء تحليل نوعي وكمي للزيت العطري المستخلص عن طريق التقطير المائي من الأوراق باستخدام تقنية الكروماتوجرافيا الغاز/مطياف الكتلة (GC-MS). بعد ذلك، تم تقييم الأنشطة البيولوجية لهذا الزيت من خلال اختبارات النشاط المضاد للأكسدة (تثبيط الجذور الحرة DPPH[•] و ABTS^{•+}، بالإضافة إلى اختبار القدرة الاختزالية لأيونات الحديد FRAP)، إلى جانب اختبارات النشاط المضاد للميكروبات. أظهرت نتائج تحليل GC-MS أن الزيت العطري يتكون بشكل أساسي من الهيدروكربونات الأحادية التربين (90.43%)، بينما كانت نسبة الهيدروكربونات الثنائية التربين منخفضة (1%). أما من الناحية البيولوجية، فقد أظهر زيت أوراق أرز الأطلس نشاط مضاد للأكسدة ضعيف. وفيما يتعلق بالنشاط المضاد للميكروبات، فقد أظهر الزيت العطري فعالية أفضل ضد البكتيريا موجبة الجرام، وغياب أي تأثير ملحوظ بالنسبة للبكتيريا سالبة الجرام والخميرة. وهذا يدفعنا إلى إجراء المزيد من الدراسات العلمية الإكتشاف الخصائص البيولوجية لهذا النبات بشكل أفضل.

الكلمات المفتاحية: أرز الأطلس، الزيت العطري، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات.