

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



DOMAINE : SCIENCES DE LA MATIERE

FILIERE : CHIMIE

MEMOIRE DE MASTER

SPECIALITE : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

THEME

**PREPARATION ET CARACTERISATION DE FORMULATIONS
PHARMACEUTIQUES A BASE D'EXTRAITS DE *THYMUS NUMIDICUS*
ET DE *LAVANDULA STOECHAS***

Présenté par : **ADLANI
BAIK**

**Ghenima
Dyhia**

Soutenu publiquement, le **15 /07/2019**, *devant le Jury composé de :*

AYATI Fadila	MCB	UMMTO	Président
FERNANE Farida	Professeur	UMMTO	Encadreur
BELMAHDI Lila	MAA	UMMTO	Examineur
BENCHOULAK Mounir	MAA	UMMTO	Examineur

Remerciements

Nous tenons à remercier avant tout le bon dieu pour la force, la patience et le courage qui nous a donné pour accomplir ce modeste travail.

Nous remercions très sincèrement notre promotrice Madame **FERNANE** Farida professeur au département chimie de l'**UMMTU** pour nous avoir confié ce travail et de nous avoir donné les moyens de le réaliser et de son extrême gentillesse.

Nous tenons également à remercier Madame **AYATI** Fadila, maître de conférence classe **B** à l'**UMMTU** d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance.

Nous témoignons également notre reconnaissance à Madame **BELMAHDI** Lila, maître assistante Classe **A** à l'**UMMTU** pour avoir accepté d'évaluer notre travail.

Nous tenons aussi à exprimer toute notre gratitude à Monsieur **BENCHOUAK** Mounir, Maître assistant Classe **A** d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nos vifs remerciements au personnel du laboratoire chimie pharmaceutique de l'**UMMTU** (Tounsia)

Finalement nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dyhia et Ghenima

Dédicaces

Avec ma grande gratitude et mes sincères sentiments, je dédie ce modeste travail à :

Mes très chers parents, pour la qualité de l'éducation qu'ils m'ont conférée et les vertus qu'ils ont cherché à développer en moi. Je leur exprime ici toute mon affection, tout mon amour et toute ma gratitude pour m'avoir encouragé et soutenu tout au long de mes études, et aujourd'hui encore. Qu'ils voient en ce travail l'aboutissement de leurs efforts.

Mes chères sœurs (Amel et Fatma),

Mes chers frères (Nabil, Hamid et Madjid),

Mes chers neveux (Massyl, Moumouh, Amina et Iyna)

Mes chères cousines (Malika, Fatima et djidji),

Ma chère binôme et sœur Ghenima pour les instants de joie partagés en sa compagnie, sa gentillesse et tous les sentiments qu'elle me témoigne ainsi qu'à sa famille et son fiancé qui nous a toujours servi,

Tous mes proches et amis particulièrement (Djini, Marie, Zahina, Ouiza, Aziz, Arezki, Katia, Massika, Soumer) pour les instants de joie partagés en leur compagnie, leur gentillesse et tous les sentiments qu'ils me témoignent. Qu'ils soient assurés de toute ma reconnaissance et de mon amitié la plus sincère.

Dyphia

Dédicaces

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance...

C'est tout simplement que je dédie ce travail...

A mon père..., mon frère..., ma sœur...

Que le bon dieu le plus puissant vous accueille dans son vaste paradis et vous accorde Janat al Firdaws

A ma chère maman

Qui j'appelle « Mamati », qui m'a soutenu et encouragé durant toutes ces années d'études... Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A mon marie

Djamal...qui m'a offert toutes les richesses du monde ...

L'achèvement de ce travail n'aurait pas été possible sans son amour inconditionnel, son soutien et sa patience.

A mes très chers beaux-parents, mes frères et sœur chacun par son nom

Hemma Dahbia, vava Mohand, dada Meziane, Foucef, Achour et leurs femmes, Nassima, Naïma, Rezika, Rebiha et leurs époux...

A ma binôme

Dyhia...à qui je dis merci pour tous les moments qu'on a vécus ensemble durant ces années, tu es une vraie sœur pour moi...

A toutes mes amies chacune par son nom Marie, Zatia, Massika, Zahina...

Ghenima

Résumé

Notre travail a porté sur la préparation et la caractérisation de formulation pharmaceutiques à base d'extraits de *Lavandula stoechas* et *Thymus numidicus*. Ces deux plantes aromatiques appartenant à la famille des lamiacées sont récoltées au niveau de deux localités de la wilaya de Tizi-Ouzou. A savoir Makouda pour l'espèce *Thymus numidicus*, Redjaouna et Beni douala pour *Lavandula stoechas*.

En premier lieu nous avons procédé à l'extraction et la caractérisation des différents extraits à savoir les huiles essentielles, les flavonoïdes et les tanins. Les huiles essentielles ont été extraites par hydrodistillation de type cleverger. Les flavonoïdes et les tanins ont été extraits par usage de techniques et solvants préconisés.

L'analyse de la composition chimique par CG/SM a permis de classer ces huiles en chémotype carvacrol (27,66 à 36,29 %) et linalol (17,23 à 33,62 %) pour le *Thymus numidicus* et chémotype fenchone (20,49 à 32,18 %) et camphre (15 à 23,07 %) pour *Lavandula stoechas*.

Les résultats du dosage UV effectué sur les flavonoïdes ont révélés que les feuilles de *Lavandula stoechas* sont riches en flavonoïdes comparées aux sommités. De plus le *Thymus numidicus* est riche en flavonoïdes comparativement à *Lavandula stoechas*.

A la base des résultats de l'activité antibactérienne effectuée, nous avons envisagés la formulation des crèmes, pommades dermiques et des suppositoires à action antimicrobienne à base des différents extraits en utilisant des excipients adéquats. La caractérisation des différentes formulations a été faite selon la disponibilité des produits et du matériel.

Mots clés : *Lavandula stoechas*, *Thymus numidicus*, flavonoïdes, tanins, huiles essentielles, activité antibactérienne, crèmes, pommades, suppositoires.

Abstract

Our work is focused on preparation and characterization of pharmaceutical formulations based on extracts of *Lavandula stoechas* and *Thymus numidicus*. These two aromatic plants belonging to the lamiaceae family harvested at two localities of TIZI-OUZOU. Namely Makouda for the species *Thymus numidicus*, Redjaouna and Beni douala for the *Lavandula stoechas*.

First we proceeded on extraction and characterization of various extracts namely the essential oil, flavonoids and tannins. The essential oil is extracted by Clevenger hydrodistillation. The flavonoids and tannins have been extracted using techniques and solvents recommended.

Result of GC/MS analysis give possible to classify these essential oils in chemotype carvacrol (27,66 à 36,29 %) and linalol (17,23 à 33,62 %) for *Thymus numidicus*, fenchone (20,49 à 32,18 %) and camphor (15 à 23,07 %) for *Lavandula stoechas*.

Result of UV analysis performed on flavonoids extracts revealed that *Lavandula stoechas*'s leaves are rich in flavonoids compared to the top tips. However *Thymus numidicus* is riched on flavonoids than *Lavandula stoechas*.

On the basis of antibacterial activity result, we have considered the formulation of antimicrobial creams, dermal ointments and suppositories based on the various extracts using suitable excipients. The characterization of the different formulations was done according to products and equipment available.

Key words: *Lavandula stoechas*, *Thymus numidicus*, flavonoids, tannins, essential oils, antibacterial activity, creams, ointments, suppositories.

Sommaire

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

Introduction générale.....	1
Chapitre 1 : Synthèse bibliographique.	
1- Famille des lamiacées	3
1-1- Espèce <i>Lavandula stoechas</i>.....	3
1-1-1- Présentation et description	3
1-1-2- Usage et propriétés thérapeutiques.....	3
1-2- Espèce <i>Thymus Numidicus</i>	3
1-1-1- Présentation et description	3
1-1-2- Usage et propriétés thérapeutiques	4
2- Huiles essentielles	4
2-1- Composition chimique.....	4
2-2- Techniques d'extraction des huiles essentielles	5
2-3- Analyse physico-chimiques des huiles essentielles	5
3- Les métabolites secondaires	6
3-1- Polyphénols	6
3-1-1- Flavonoïdes.....	6
3-1-2- Tanins	7
3-2- Techniques d'extraction des métabolites secondaires	8
3-2-1- Macération.....	8
3-2-2- Décoction.....	8
3-2-3- Infusion.....	8
3-3- Caractérisation des extraits de métabolites secondaires	8
4- Formulations pharmaceutiques à base de plantes	8
4-1- Formes cutanées	9
4-1-1- Pommade	9
4-1-2- Crème	9
4-1-1-1- Tensioactifs.....	10
4-1-1-2- Notion de la HLB	10
4-1-1-3- Caractéristiques d'excipients couramment utilisés	10
4-1-2- Avantages et inconvénients des formes cutanées	11
4-2- Formes rectales	11
4-2-1- Suppositoire.....	11
4-2-2- Critères de choix des excipient	11
4-2-3- Caractéristiques des excipients utilisés pour la formulation des suppositoires	11
4-2-4- Avantages et inconvénients des formes rectales	12

Chapitre 2- Matériel et méthodes

1- Présentation du matériel végétal	13
2- Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal.....	14
3- Extraction des huiles essentielles de <i>L.Stoechas</i> et <i>T.Numidicus</i>	14
4- Caractérisation de l'huile essentielle extraite	15
4-1- Tests organoleptiques	15
4-2- Paramètres physicochimiques	15
4-2-1- Densité relative	15
4-2-2- Indice de réfraction.....	16
4-3- Evaluation de la composition chimique des HE par CG/SM	16
5- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles	17
6- Extraction des flavonoïdes et des tanins	18
6-1- Matériel végétal	18
6-2- Protocole d'extraction des flavonoïdes	18
6-3- Protocole d'extraction des tanins.....	19
6-4- Evaluation du rendement d'extraction en flavonoïdes et tanins.....	19
6-4-1- Caractérisation des extraits de flavonoïdes et tanins	19
6-4-1-1- Caractères organoleptiques.....	19
6-4-1-2- Dosage des flavonoïdes totaux	19
6-4-1-3- Spectroscopie Infrarouge	20
7- Formulations pharmaceutiques	20
7-1- Suppositoires	20
7-1-1- Préparation des suppositoires	21
7-1-2- Tests de contrôle sur les suppositoires	22
7-1-1-1- Tests organoleptiques.....	22
7-1-1-2- Uniformité de masse des suppositoires	22
7-1-1-3- Test de désagrégation.....	22
7-2- Pommades.....	22
7-2-1- Préparation des pommades	22
7-2-2- Tests de contrôle des pommades formulées	23
7-2-2-1- Caractères macroscopiques	23
7-2-2-2- Homogénéité	23
7-2-2-3- Mesure du pH.....	23
7-2-2-4- Examen microscopique.....	24
7-3- Crèmes.....	24
7-3-1- Contrôle qualité des crèmes préparées	26
7-3-1-1- Caractères organoleptiques	26
7-3-1-2- Mesure du pH	26
7-3-1-3- Examen microscopique.....	26

Chapitre 3 : Résultats et discussion

1- Taux d'humidité du matériel végétal.....	27
2- Rendement en huile essentielle	28
2-1- Espèce <i>Lavandula Stoechas</i>	28
2-2- Espèce <i>Thymus numidicus</i>	29
3- Caractérisation des huiles essentielles extraites	29
3-1- Tests organoleptiques.....	29
3-2- Paramètres physicochimiques.....	30
3-3- Résultats de l'analyse CG/MS des huiles essentielles	30
4- Activité antibactérienne des huiles essentielles	34
5- Rendements d'extraction en flavonoïdes et tanins	36
5-1- Espèce <i>Lavandula stoechas</i>	36
5-2- Espèce <i>Thymus Numidicus</i>	37
6- Caractérisation des extraits de flavonoïdes et tanins	38
6-1- Caractères organoleptiques	38
6-2- Dosage des flavonoïdes	38
6-3- Résultats de l'analyse IR	39
7- Formulations pharmaceutiques.....	42
7-1- Contrôle physico-chimique des Suppositoires	42
7-2- Contrôle des suppositoires	42
7-2-1- Tests organoleptiques	42
7-2-2- Uniformité de masses	43
7-2-3- Temps de désagrégation.....	43
7-3- Contrôle physico-chimique des pommades	44
7-3-1- Caractères macroscopiques, homogénéité et pH	44
7-3-2- Caractères microscopiques	45
7-4- Contrôle physico-chimique des crèmes	45
7-4-1- Examen macroscopique, homogénéité et pH	45
7-4-2- Examen microscopique	47

Conclusion et perspectives	49
---	-----------

Glossaire

Références bibliographiques

Annexes

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Isoprène (2-méthylbuta-1,3-diène)	4
Figure 2 : Phénylpropanoïdes rencontrés dans les huiles essentielles.....	5
Figure 3 : Structure de base des flavonoïdes	6
Figure 4 : Exemple de tanins hydrolysables (Pentagalloylglucose).....	7
Figure 5 : Structure de base des tanins condensés.....	7
Figure 6 - Espèce <i>Lavandula stoechas</i>	13
Figure 7 - Espèce <i>Thymus numidicus</i>	13
Figure 8 - Montage d'hydrodistillation type Clevenger	15
Figure 9 - Teneurs moyennes en eau et en matière sèche (MS) des échantillons de <i>L. stoechas</i> récoltés à Beni douala et Redjaouna	27
Figure 10 – Teneurs moyennes en eau et en matière sèche (MS) du <i>T. numidicus</i>	27
Figure 11 - Rendements en huile essentielle des échantillons de <i>Lavandula Stoechas</i> récoltés à Beni Douala et Redjaouna durant trois périodes différentes	28
Figure 12 - Rendements en huile essentielle des échantillons de <i>Lavandula stoechas</i> récoltés au niveau de Makouda durant trois périodes différentes.....	29
Figure 13 – Résultats de l'activité antibactérienne des HE de <i>T. numidicus</i> et de <i>L. stoechas</i> sur A : <i>E. coli</i> et B : <i>S. aureus</i>	34
Figure 14 - Rendements d'extraction en flavonoïdes de l'espèce <i>L.stoechas</i>	36
Figure 15 - Rendements d'extraction en tanins de l'espèce <i>L.stoechas</i>	36
Figure 16 - Rendements d'extraction en flavonoïdes de l'espèce <i>T.numidicus</i>	37
Figure 17 - Rendements d'extraction en tanins de l'espèce <i>T.numidicus</i>	37
Figure 18 - courbe d'étalonnage de quercitine	38
Figure 19 - Teneur en flavonoïdes dans <i>L. stoechas</i> et <i>T. numidicus</i>	38
Figure 20 - Examen microscopique des pommades préparées à base de A : flavonoïdes <i>L. soechas</i> , B : tanins <i>L. soechas</i> , C : flavonoïdes <i>T. numidicus</i> , D : tanins <i>T. numidicus</i> , E : huile essentielle <i>T. numidicus</i>	45
Figure 21 - Photos des observations microscopiques effectuées sur les crèmes formulées (Grossissement de l'objectif x100	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1- Données géographiques et climatiques et des trois régions de récolte	13
Tableau 2 – Souches bactériennes utilisées.....	17
Tableau 3 - Gamme d'étalonnage de la solution de Quercétine.....	20
Tableau 4- Matières premières et matériel pour la formulation des suppositoires	21
Tableau 5- Composition en masse des suppositoires préparés.....	21
Tableau 6- Matières premières et matériel pour la formulation des pommades	23
Tableau 7- Composition en masse des pommades préparées.....	23
Tableau 8- Matières premières et matériel pour la formulation des crèmes	24
Tableau 9- Composition massique des différentes crèmes formulées	24
Tableau 10- Composition des crèmes (placébos	25
Tableau 11 – Valeurs moyennes de la densité et indice de réfraction mesurées pour l'huile essentielle de <i>L.stoechas</i>	30
Tableau 12 - Valeurs moyennes de la densité et indice de réfraction mesurées pour l'huile essentielle de <i>T. numidicus</i>	30
Tableau 13 – Composition chimique de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> récoltée au niveau de Redjaouna à différentes périodes.....	31
Tableau 14 – Composition chimique de l'huile essentielle de <i>L.Stoechas</i> récoltée au niveau de Beni Douala à différentes périodes.....	32
Tableau 15 – Composition chimique de l'huile essentielle de <i>T. numidicus</i> récoltée au niveau de Makouda à différentes périodes.....	33
Tableau 16 - Diamètres des zones d'inhibition enregistrés avec l'huile essentielle de <i>T.numidicus</i> et <i>L. stoechas</i>	35
Tableau 17 - Caractères organoleptiques des extraits de flavonoïdes et tanins obtenus pour les espèces <i>L.stoechas</i> et <i>T.numidicus</i>	38
Tableau 18 - Données des spectres infrarouge pour les flavonoïdes extraits du <i>T. numidicus</i> (plante sèche) récoltée mois de Mai 2019 et les tanins extraits du <i>T. numidicus</i> (plante fraîche) récoltée mois de Mai 2019	40
Tableau 19 - Données des spectres infrarouge pour les tanins extraits du <i>L. stoechas</i> (plante fraîche et sèche) récoltée mois de Mai 2019	41
Tableau 20 - Facteurs de déplacement et masses et des suppositoires obtenus pour une base hydrophobe.....	42

Tableau 21 – Résultats des tests organoleptiques sur les différents suppositoires formulés	43
Tableau 22 - Résultats du contrôle de qualité des pommades formulées à base des différents extraits	44
Tableau 23 - Résultats du contrôle de qualité des crèmes formulées à base des différents extraits	46

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR: Association Française de Normalisation

CG/SM : Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

E. coli : Escherichia coli

E/H : Eau dans l'huile

HE: Huile Essentielle

HEs: Huiles Essentielles

H /E : Huile dans l'eau

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

HLB: Balance hydrophile lipophile

IR : Infrarouge

ISO: International Organization for Standardization

L.: *Lavandula*

LC/SM : Chromatographie en phase Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse

LPS : lipopolysaccharides

PA: Principe Actif

pH: potentiel hydrogène

S.aureus : Staphylocoque aureus

T. : *Thymus*

UV : Ultra-violet

Introduction générale

Introduction Générale

La Phytothérapie est une science à la fois ancestrale et moderne. Le terme provient du grec et signifie "soigner par les plantes". Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle fondée sur l'utilisation ancestrale des plantes. Les plantes médicinales renferment de nombreuses substances actives qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques. Ces substances ont fait objets d'études scientifiques et reproduites industriellement pour être incorporées de nos jours dans de nombreux médicaments.

Depuis plusieurs années, de nombreux produits de phytothérapie sont mis sur le marché et présentés sous différentes formes galéniques : comprimés, gélules, ampoules...

La qualité de la plante utilisée : plante fraîche, plante sèche, issue de l'Agriculture Biologique ou non conditionne sa teneur et sa richesse en actifs. De plus, un produit à base de plante, doit, pour avoir une efficacité optimale, restituer toute la complexité moléculaire du végétal qui est à l'origine de son activité thérapeutique. Une attention particulière doit donc être portée au procédé utilisé pour l'extraction des composés.

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : méditerranéenne, Saharienne et une flore paléo tropical, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques (**Gaussen et Leroy 1982**). Parmi cette végétation, on retrouve les plantes aromatiques utilisées pour l'aromatisation des aliments, les arts culinaires et les vertus médicinales.

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne on s'est intéressé à deux espèces de la famille des lamiacées. Il s'agit du *Thymus Numidicus* récolté au niveau de Makouda et de *Lavandula Stoechas* récolté au niveau de Beni douala et Redjaouna.

Notre travail fait suite aux travaux antérieurs encadrés par le Professeur FERNANE Farida au sein de l'université Mouloud MAMMERI. Le principal objectif de notre travail réside dans la préparation et la caractérisation de formulations pharmaceutiques (crèmes, pommades et suppositoires) à base d'huiles essentielles, tanins et flavonoïdes extraits de *Lavandula Stoechas* et *Thymus Numidicus* récoltés dans des endroits et à des périodes différentes.

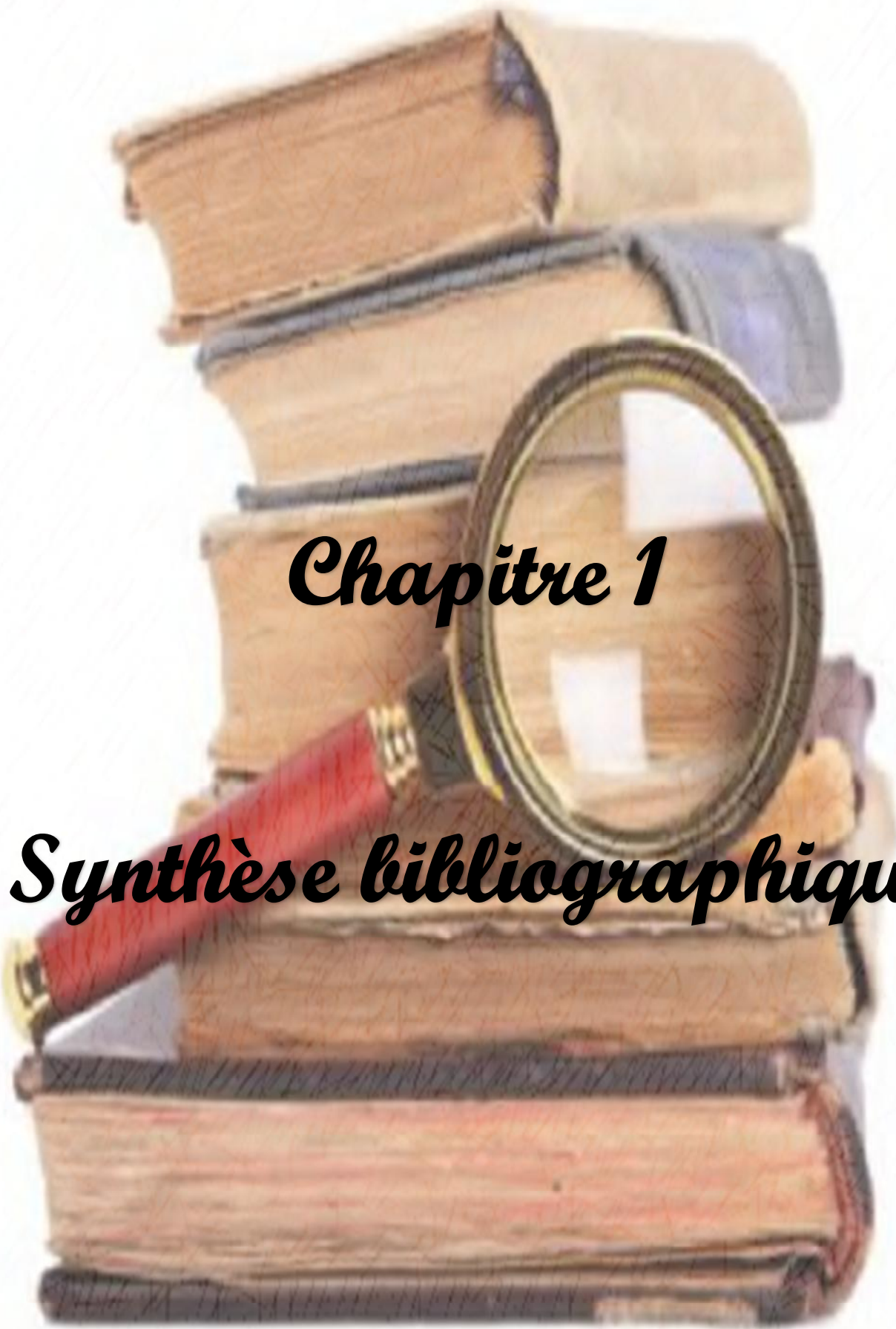
Le présent manuscrit est composé essentiellement de trois chapitres répartis comme suit :

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique sur les deux plantes étudiées, les métabolites secondaires qu'elles renferment ainsi qu'un aperçu sur les différentes formulations pharmaceutiques envisagées.

Le second chapitre est consacré à la présentation du matériel et méthodes utilisés pour la conduite de nos expériences. A savoir l'extraction et la caractérisation des métabolites secondaires ainsi que les différentes formulations envisagées.

Le dernier chapitre présente l'ensemble des résultats obtenus et leurs interprétations.

Enfin, une conclusion générale dans laquelle les résultats obtenus seront passés en revue. Elle est notifiée par des perspectives à venir pour une éventuelle poursuite de nos travaux afin de valoriser nos résultats obtenus sur les deux plantes médicinales.

A stack of five old, thick books with worn, brown leather covers. A magnifying glass with a brass frame and a red, textured handle is positioned over the books. The handle of the magnifying glass is a red quill pen with gold-colored rings. The background is a light, textured surface.

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

1- Famille des lamiacées

Les lamiacées, parfois appelées labiées ou labiacées, sont une famille de plantes dicotylédones (**Encyclopédie des plantes**). Cette famille contient 258 genres et 6900 espèces particulièrement répandues depuis le Bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale (**Belmont 2013**).

Parmi les espèces de cette famille, nous nous intéressons à *Lavandula Stoechas* et *Thymus Numidicus*.

1-1- Espèce *Lavandula stoechas*

1-1-1- Présentation et description

Le terme *Lavandula* dérive du latin "lavare " qui signifie "laver" (**Menaceur 2015**). *Lavandula stoechas* est communément appelée "lavande française", "lavande des stoechades", "lavande maritime", "lavande papillon" ou "lavande à toupet" (**Kodifa 2017**). Son nom vernaculaire en arabe est "El halhal" et en Kabyle "Amzir"(**Tedjani 2016**).

Le genre *Lavandula* est composé d'environ 39 espèces (**Lamiae et al. 2016**). *Lavandula Stoechas* est un sous-arbrisseau de 20 à 60 cm de haut possédant des tiges et feuilles persistantes (**Duygu et al. 2017**). C'est une plante tendre, qui préfère les endroits ensoleillés et les sols calcaires. En Algérie, *L.stoechas* est couramment rencontrée dans les garrigues et les forêts du Tell et du littoral (**Menaceur 2015**).

1-1-2- Usage et propriétés thérapeutiques

Lavandula Stoechas est utilisée pour traiter l'épilepsie et les maux de tête et possède des propriétés antispasmodiques, antimicrobiennes, antioxydantes, insecticides (**Dif et al. 2016, Gainard 2016**), anti-inflammatoires, expectorantes et antidépresseurs (**Lamiae et al. 2016**). Elle a été également utilisée pour régulariser le taux de glycémie dans le sang (**Menaceur 2015**).

1-2- Espèce *Thymus Numidicus*

1-2-1- Présentation et description

Le terme *thymus* signifie en latin " parfumer" et en grec "courage" (**Benayache 2013**). Son nom vernaculaire en arabe est "Zâatar"(**Kabouche 2005**).

Le genre *thymus* est composé d'environ 110 espèces (**Dimitrios et al. 2015**). C'est un petit arbrisseau qui ne dépasse pas les 20 cm. Ses feuilles florales nettement plus larges comportent des fleurs roses sessiles ou presque pelouse (**Touhami 2017**).

En Algérie, *T.numidicus* est répartie le long du territoire national. Du Nord Algérois à l'Atlas saharien et du Constantinois à l'Oranais (**Touhami 2017**).

1-2-2- Usage et propriétés thérapeutiques

Le *Thymus Numidicus* est utilisé par voie orale pour traiter les perturbations gastro-intestinales, la toux due au froid, la bronchite, l'angine (Zeghib 2013), les douleurs dentaires et les affections de la bouche (aphtes, gingivites) ainsi que les maladies de la peau (acné, eczéma, varicelle...). Il possède des propriétés antiseptiques, antifongiques, désinfectantes (Magazine scientifique) et antioxydantes (Djeddi et al. 2015).

2- Huiles essentielles

Selon la pharmacopée européenne, l'huile essentielle est définie comme "Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition" (Hélène 2013).

Les huiles essentielles sont largement répandues chez les végétaux. Elles peuvent être stockées dans tous les organes, les sommités fleuries, les feuilles, les fruits, les écorces et les graines (Taleb-Toudert 2015).

2-1- Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes dont trois groupes de composés ont été décrits. Le principal groupe est composé de terpènes et terpénoïdes, majoritairement des mono terpènes et des sesquiterpènes. Les autres groupes comprennent les composés aromatiques et les composés d'origine variée (Bayala 2014).

- **Les terpènes et les terpénoïdes :** Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (Ouis 2015) (Figure 1).

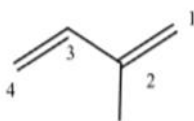


Figure 1- Isoprène 2-méthylbuta-1,3-diène (Ouis 2015).

Selon le nombre d'unités associées : on distingue : les mono terpènes en C_{10} , les sesquiterpènes en C_{15} , les di terpènes en C_{20} ...etc.

- **Les composés aromatiques :** Ce sont des dérivés du phénylpropane (C_6-C_3). Ils sont moins abondants que les terpènes (Bayala 2014) (figure 2).

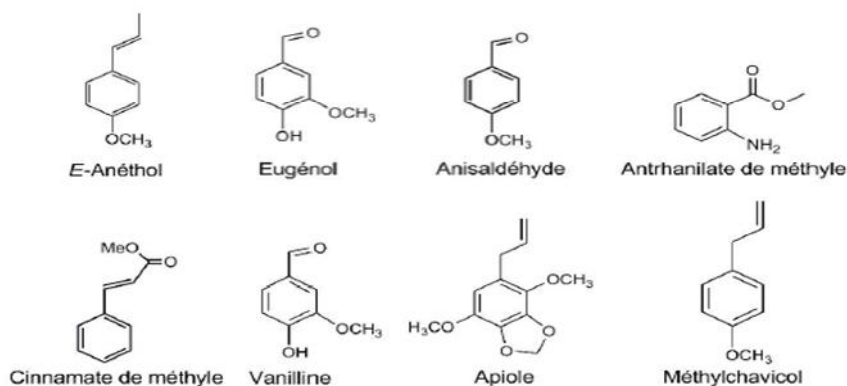


Figure 2 - Phénylpropanoïdes rencontrés dans les huiles essentielles (Chenni 2016)

- **Les composés d'origine variée :** En général, les composés d'origine variée, de faible masse moléculaire, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions (Chenni 2016).

2-2- Techniques d'extraction des huiles essentielles

Une variété de techniques est utilisée pour extraire les huiles essentielles à partir du matériel végétal.

L'extraction par distillation se fait en exploitant la volatilité des composés aromatiques pour les séparer. Il existe plusieurs techniques de distillation dont l'hydro distillation, simple ou type Clevenger et l'hydro distillation par entraînement à la vapeur d'eau.

D'autres méthodes d'extraction ont également été mises au point comme l'hydro diffusion et l'extraction aux fluides comme le CO₂ supercritique (Taleb-Toudert 2015).

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et la plus anciennement utilisée. Son principe consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau puis l'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique (Luicita Lagunez 2006).

2-3- Analyse physico-chimiques des huiles essentielles

L'analyse des huiles essentielles peut être effectuée par diverses techniques plus ou moins élaborées.

La chromatographie en phase gazeuse sur phases stationnaires polaires ou apolaires couplées avec une détection par spectrométrie de masse est une technique de référence qui présente de nombreuses applications dans les domaines de l'agroalimentaire (aliments, eau), des produits pétroliers (carburants, matières synthétiques) et des produits naturels (parfumerie, cosmétique, médecine...etc). Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (CPG/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe (Gaborieau 2015).

Les principaux référentiels tels que la Pharmacopée Européenne, ISO, AFNOR, définissent la qualité des huiles essentielles en recourant à des méthodes beaucoup plus simples telles que (Gaborieau 2015) :

- **Indices physiques** : densité relative, indice de réfraction, solubilité dans l'alcool...
- **Indices chimiques** : indice d'acide, indice d'esters, indice de peroxyde...

3- Métabolites secondaires

L'une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques, ils accumulent fréquemment des métabolites dits "secondaires" qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que le domaine pharmaceutique ou l'agroalimentaire (Jean-Jacques et al. 2005).

3-1- Polyphénols

Les polyphénols regroupent un vaste ensemble de plus de 8000 molécules décrites dans la littérature (Gomez et al. 2006). Ils englobent une gamme considérable de composés possédant un cycle aromatique portant un ou plusieurs groupements hydroxyles. La classification des polyphénols est basée sur le nombre de carbone constitutifs en conjugaison avec la structure du squelette phénolique de base dont on peut citer, les flavonoïdes, les tanins, les saponines...etc (Michael et al. 2000).

3-1-1- Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent la classe polyphénolique la plus importante, avec plus de 5000 composés déjà décrits (Gomez et al. 2006). Ils sont largement répandus dans le règne végétal et sont omniprésents dans les racines, les feuilles et les fleurs de la plante (Scheidemann et al. 1997). Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base en C_{15} ($C_6-C_3-C_6$) (Ikan 1991) (Figure 3).

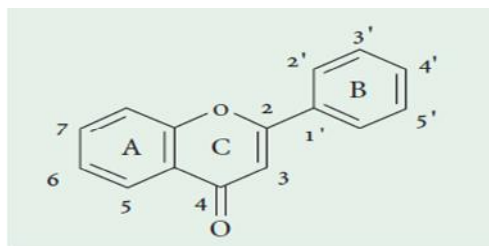


Figure 3- Structure de base des flavonoïdes (Ghedira 2005)

Les flavonoïdes constituent un groupe de substances très important qui présente un grand intérêt dans beaucoup de domaines. Leurs propriétés inhibitrices, antivirales, antibactériennes (Yazag 2011), antioxydantes (Djeridane et al. 2006) et anti-inflammatoires (Esra et al. 2003) les

prédestinent à des utilisations dans les industries pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques.

3-1-2- Tanins

Ce sont des substances d'origine végétale, qui possèdent la propriété de tanner la peau. Ils sont répandus dans tout le règne végétal et l'on en trouve des quantités importantes dans les écorces, les racines, les feuilles et les fruits (**Donatien 2009**).

Les tanins se divisent selon leurs structures en deux groupes distincts: les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

- **Tanins hydrolysables**

Ce sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose (**Hadri 2015**) (Figure 4).

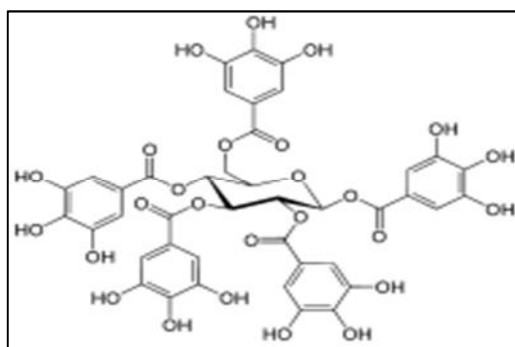


Figure 4 - Exemple de tanins hydrolysables(Pentagalloylglucose)

[Jean-Jacques et al. 2005]

- **Tanins condensés**

Appelés aussi pro anthocyanidines ou procyanidines. Ce sont des composés qui ne possèdent pas de sucre dans leur molécule. Leur structure est voisine de celle des flavonoïdes non hydrolysables résultant de la polymérisation d'unités flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (**Hadri 2015**) (figure 5).

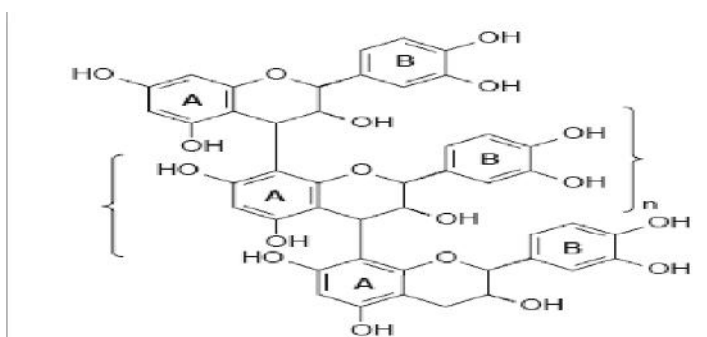


Figure 5- Structure de base des tanins condensés (**Djeffell 2017**)

Sur le plan thérapeutique, les tanins ont des propriétés astringentes prononcées qui hâtent la guérison des blessures et des muqueuses enflammées. Ils sont utilisés, en usage externe, pour traiter les ulcères variqueux, les hémorroïdes et les brûlures et comme bains de bouche pour le traitement de l'inflammation. En usage interne ils traitent la diarrhée et l'hypersécrétion des muqueuses intestinales (Sereme et al 2008).

3-2- Techniques d'extraction des métabolites secondaires

3-2-1- Macération

La macération est une méthode d'extraction solide-liquide discontinue qui consiste à faire tremper une substance dans un solvant froid ou chaud pour en extraire les espèces solides ou liquides présentes dans cette substance (Yazag 2011).

3-2-2- Décoction

Elle consiste à chauffer la partie de la plante avec de l'eau, jusqu'à ce que cette dernière soit bouillante, pour en extraire les substances actives (Kalla 2012).

3-2-3- Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple. Elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées bien trempées afin d'extraire leurs substances actives (Benzeggouta 2015).

3-3- Caractérisation des extraits de métabolites secondaires

L'évaluation de la composition chimique des extraits de tanins et flavonoïdes peut être réalisée par différentes techniques analytiques spectroscopiques et/ou chromatographiques (Chenni 2010).

- Techniques chromatographiques : Parmi lesquelles nous pouvons citer la chromatographie sur colonne, sur couche mince ou sur papier. Ainsi que la chromatographie liquide (HPLC et LC/MS) (Chenni 2010).
- Techniques spectroscopiques : Les plus couramment citées sont la spectroscopie infrarouge (IR), la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN) et la spectrométrie de masse (SM).

4- Formulations pharmaceutiques à base d'extraits de Plantes

Les préparations à base de plantes sont obtenues par traitement de substances végétales, tel que l'extraction, la distillation, le fractionnement et la purification. Elles comprennent les substances végétales concassées ou pulvérisées, les extraits, les huiles essentielles, obtenus par pression et les exsudats traités (Salamon 1994).

Le choix de la forme galénique à base de parties ou d'extraits de plantes médicinales se détermine en fonction des compositions chimiques, du but thérapeutique et de la spécificité des différentes formulations pharmaceutiques (**Thomas 2014**).

En effet, à la base des compositions chimiques et des résultats des activités antimicrobiennes, antifongiques et antivirales effectuées sur différents extraits des plantes médicinales il serait possible d'envisager les formulations pharmaceutiques les plus adéquates.

Dans le cadre de notre présent travail, nous avons envisagé la formulation des crèmes dermiques, des suppositoires et des pommades à base des différents extraits (Flavonoïdes, tanins et huiles essentielles).

4-1- Formes cutanées

Elles sont appliquées sur la peau ou certaines muqueuses afin d'exercer une action locale ou de réaliser la pénétration percutanée des principes actifs. Parmi ces formes, nous distinguons : les pommades et les crèmes.

4-1-1- Pommades

Ce sont des préparations semi-solides composées d'un excipient monophasé hydrophile ou lipophile dans lequel peuvent être dispersées ou dissoutes des substances liquides ou solides (**Gravlo 2017**). Parmi les excipients les plus couramment utilisés pour formuler les pommades nous pouvons citer la vaseline blanche.

La vaseline, également appelée gelée de pétrole, est obtenue à partir de la fraction lourde du pétrole. La vaseline est un mélange purifié d'hydrocarbures saturés à longue chaîne, solide et liquide. Elle est formée principalement d'alcanes, de formule générale (C_nH_{2n+2}) (**Lassine 2011**).

Sa consistance lui permet d'être utilisée seule ou associée à d'autres excipients. Elle est insoluble dans l'eau, peu soluble dans les alcools comme le méthanol ou l'éthanol et faiblement soluble dans l'acétone. Elle possède une très grande inertie chimique. C'est une substance apolaire qui favorise la pénétration des molécules au niveau cutané par son fort pouvoir occlusif (**Gravlo 2017**).

4-1-2- Crèmes

Dans le langage courant, on les appelle crèmes, mais en réalité il s'agit d'émulsions épaissies (**Gravlo 2017**). Ce sont des préparations multiphasiques de consistance crémeuse.

Elles sont généralement constituées d'une phase lipophile et d'une phase hydrophile. Afin de stabiliser ces deux phases, on utilise un ou plusieurs tensioactifs et un agent épaississant (**Denis 2012**).

4-1-2-1- Tensioactifs

Ce sont des composés amphiphiles caractérisés par la présence dans leur molécule de deux parties: l'une hydrophile ou polaire et l'autre lipophile ou apolaire.

En présence de deux phases liquides non miscibles, ils viennent se placer à l'interface où ils s'orientent de telle sorte que la partie hydrophile se trouve dans l'eau et la partie lipophile dans l'huile (**Le Hir 1974**).

4-1-2-2- Notion de HLB (Balance Hydrophile Lipophile)

La balance Hydrophile-Lipophile (HLB) est une caractéristique physique qui indique pour chaque tensioactif l'importance de la partie hydrophile par rapport à la lipophile. Par convention et avec des unités arbitraires, nous distinguons les intervalles suivants (**Le Hir 1974**) :

- $HLB > 7$ tensioactif à tendance hydrophile
- $HLB < 7$ tensioactif à tendance lipophile

4-1-2-3- Caractéristiques d'excipients couramment utilisés**- Huile d'amande douce**

Elle est obtenue par pression à froid de l'amande décortiquée et broyée. Elle est oxydable, coûteuse, et utilisée pour ses propriétés adoucissantes en dermocosmétologie (**Dekar 2007**).

- Huile de vaseline

Elle est obtenue par traitement approprié de certaines fractions d'un pétrole brut convenable. C'est un liquide incolore, inodore, inerte, insipide très légèrement visqueux de masse volumique 0.9g/ml. Elle est non miscible à l'eau et aux alcools (**Formes pharmaceutiques**).

- Tween 80

C'est un ester de sorbitane polyoxyéthyléné ou polysorbate, Il est liquide, soluble dans l'eau. Il est utilisé comme émulsionnant orientant l'émulsion H/E ou comme dispersant des huiles essentielles (**Formes pharmaceutiques**).

- Span 60

C'est un ester de sorbitane. Il se présente sous forme de granulés. Il oriente l'émulsion dans le sens E/H. Il est miscible aux huiles, et permet d'augmenter la pénétration des principes actifs (PA).

4-1-3- Avantages et inconvénients des formes cutanées

- **Avantages**

- ✓ Pas d'effet de premier passage hépatique.
- ✓ Action aussi bien locale que systémique.

- **Inconvénients**

- ✓ Sensibilisation cutanée possible.
- ✓ Accumulation possible de l'huile essentielle ou d'un excipient dans la peau ou l'organisme (**Laëtitia 2015**).

4-2- Formes rectales

Elles permettent une action locale ou systémique du principe actif (**Pharmacopée européenne**).

4-2-1- Suppositoires

Ce sont des préparations unidoses solides. Leur forme, volume et consistance sont adaptés à l'administration par voie rectale. Ils contiennent une ou plusieurs substances actives dispersées ou dissoutes dans une base appropriée qui est, suivant le cas, soluble ou dispersible dans l'eau ou fond à la température du corps (**Pharmacopée européenne**).

4-2-2- Critères de choix des excipients

Lors de la formulation des suppositoires, les critères permettant le choix des excipients adéquats se basent essentiellement sur (**Kaloustian et al 2012**):

- ✓ Innocuité et bonne tolérance par la muqueuse rectale.
- ✓ Inertie vis-à-vis des principes actifs incorporés.
- ✓ Consistance convenable : ni trop mou ; ni trop cassant.
- ✓ Bonne conservation.

4-2-3- Caractéristiques des excipients utilisés pour la formulation des suppositoires

Parmi les excipients les plus préconisés pour la formulation des suppositoires, nous pouvons citer la Suppocire.

- ✓ La suppocire possède un grand pouvoir d'absorption des liquides,
- ✓ C'est un excipient à suppositoire très ferme, appréciable pour la fabrication des suppositoires à base d'huiles essentielles,
- ✓ Elle présente peu de risque de surfusion (**Formes pharmaceutiques**).

4-2-4- Avantages et inconvénients des formes rectales

- **Avantages**

- ✓ Principe actif irritant pour la muqueuse gastrique.
- ✓ Facilité d'utilisation pour les nourrissons.
- ✓ Résorption rapide du principe actif car le rectum est très vascularisé (**Montagnac 2011**).

- **Inconvénients**

- ✓ C'est une forme souvent mal tolérée par les patients
- ✓ Forme nécessitant une conservation au frais.
- ✓ Forme provoquant des effets laxatifs (**Montagnac 2011**).



Chapitre 2



Matériel et méthodes



1- Présentation du matériel végétal

Le matériel végétal a été récolté sur trois périodes différentes, début Avril, Mai et Juin 2019.

La récolte de l'espèce *Lavandula Stoechas* a été réalisée sur deux localités de la wilaya de Tizi-Ouzou. Il s'agit de Beni douala située à environ 17 km au sud-est de Tizi- Ouzou et Redjaouna située à 7 km de Tizi-Ouzou.

La récolte de l'espèce *Thymus Numidicus* a été effectuée au niveau de Makouda, située à environ 19 km au nord-ouest de la wilaya de Tizi-Ouzou.

Les conditions géographiques et climatiques des sites de récolte sont regroupées dans le tableau 1.

Tableau 1- Données géographiques et climatiques et des trois régions de récolte

Région	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Climat
Beni douala	780	36° 37' 00" Nord	4° 04' 00" Est	Climat méditerranéen avec été sec et hiver rigoureux
Redjaouna	650	36° 43' 57" Nord	4° 02' 59" Est	Climat méditerranéen chaud en été et humide en hiver
Makouda	370	36° 47' 31" Nord	4° 03' 45" Est	Climat méditerranéen chaud et sec en été, humide et pluvieux en hiver

Une identification botanique a été effectuée par des Botaniciens du laboratoire de recherche en ressources naturelles de la faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'UMMTO.



Figure 6- *Lavandula stoechas*



Figure 7- *Thymus numidicus*

Nous avons effectué des extractions de l'huile essentielle sur les deux parties aériennes pour *Lavandula Stoechas* (feuilles et sommités fleuries) et sur toute la partie aérienne pour *Thymus Numidicus*.

2- Evaluation du taux d'humidité du matériel végétal

Les échantillons des espèces récoltées ont été séchés à l'air libre et à l'abri de la lumière. Au préalable, le taux d'humidité de chacun des échantillons a été évalué selon la technique décrite ci-dessous (Twidell et al. 2002).

Le taux d'humidité, ou la teneur en eau, est définie comme étant la perte de masse subie par la matière végétale soumise à une opération de séchage ou à une dessiccation par évaporation (Twidell et al. 2002).

Afin d'évaluer le taux d'humidité du matériel végétal, nous avons adopté la technique de dessiccation par évaporation : Une masse m_1 de matière végétale est soumise à une dessiccation à l'étuve à une température de 105°C jusqu'à masse m_2 constante.

Le taux d'humidité est évalué à l'aide de la formule suivante (Twidell et al. 2002) :

$$H(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad (1)$$

Avec :

H : teneur en eau (%)

m_1 : masse de l'échantillon avant dessiccation (g)

m_2 : masse de l'échantillon après dessiccation (g)

3- Extraction des huiles essentielles de *L.Stoechas* et *T.Numidicus*

L'huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation de 60g de matière végétale dans 500ml d'eau pendant 2h en utilisant un appareil de type Clevenger (figure 8). L'opération d'extraction est refaite plusieurs fois en rechargeant de nouvelles quantités de matière végétale et eau.

L'huile essentielle obtenue est débarrassée des gouttelettes d'eau par ajout de cristaux de sulfate de sodium anhydre. Puis elle a été stockée à l'obscurité à 4°C (Djeddi et al 2015).



Figure 8 - Montage d'hydrodistillation type Clevenger

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse totale du matériel végétal utilisé. Il est évalué à l'aide de la formule suivante :

$$R_{HE}(\%) = \frac{M_{HE}}{M_s} \times 100\% \quad (2)$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle (en %).

M_{HE} : Masse d'huile essentielle obtenue (en g).

M_s : Masse de la matière végétale sèche (en g).

4- Caractérisation de l'huile essentielle extraite

4-1- Tests organoleptiques

Ces tests consistent en la détermination de l'aspect, la couleur et l'odeur de l'huile essentielle extraite (**Pharmacopée Européenne**).

4-2- Paramètres physicochimiques

4-2-1- Densité relative

La densité relative d'une huile essentielle est le rapport entre la masse d'un volume de cette huile à celle du même volume d'eau distillée pris à 20°C (**Randia Roger 2010**).

Elle est évaluée, en se servant de l'équation suivante :

$$d_{TA} = \frac{m_{HE} - m_{pv}}{m_e - m_{pv}} \quad (3)$$

d_{TA} : Densité relative à température ambiante.

m_{pv} : Masse du pycnomètre à vide (en g).

m_e : Masse du pycnomètre rempli d'eau (en g).

m_{HE} : Masse de l'huile essentielle (en g).

La température à laquelle la mesure de la densité a été effectuée était de 24°C. Donc pour l'évaluer à 20°C nous nous sommes servis de l'équation (4) (**Messara 2012**):

$$d_{20} = \frac{d_{TA}}{0,9982} + 0,0007(T_A - 20) \quad (4)$$

Avec :

0,9982 g/ml représente la masse volumique de l'eau distillée à 20°C ;

0,0007 est un facteur correctif ;

T_A température ambiante (°C).

4-2-2- Indice de réfraction

L'indice de réfraction, souvent noté n , est une grandeur sans dimension caractéristique d'un milieu, décrivant le comportement de la lumière dans celui-ci. Il dépend de la longueur d'onde de mesure mais aussi des caractéristiques de l'environnement (notamment pression et température).

L'indice de réfraction d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air au sinus de l'angle de réfraction dans le milieu considéré (**Pharmacopée Européenne**).

Sauf indication contraire, l'indice de réfraction est évalué à $(20 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ et rapporté à la raie D du sodium ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$). Le symbole est alors n_D^{20} (**Pharmacopée Européenne**).

L'indice de réfraction à une température de référence T , n_D^T , est évalué à l'aide de l'équation suivante:

$$n_D^T = n_D^{T'} + 0,0004(T' - T) \quad (5)$$

Avec

T : température de référence égale à 20°C.

$n_D^{T'}$: Valeur de l'indice de réfraction à la température T'

T' : Température de l'échantillon d'HE au moment de la mesure ($T' = 24^\circ\text{C}$)

4-3- Evaluation de la composition chimique des huiles essentielles par CG/SM

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM) des échantillons d'huile essentielle ont été conduites sur un équipement de type Trace GC Ultra couplé à un spectromètre de masse DSQ II et un passeur automatique d'échantillon Triplus fournis par la Société Thermo Fisher Scientific (France). La séparation

est faite sur une colonne capillaire TR-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm) Thermo (France). La méthode d'analyse est inspirée de NGUYEN *et al.* 2015:

Un microlitre d'échantillon est injecté en mode splitless à 200°C. La température du four est fixée à 50°C pendant 5 minutes puis augmentée (à 7°C/min) jusqu'à 330°C (plateau de 3 min). L'hélium est utilisé comme gaz vecteur à 1mL/min. La ligne de transfert est chauffée à 280°C et l'ionisation en mode impact électronique est faite à 220°C avec une énergie de 70eV et une détection en mode full-scan pour les masses (m/z) comprises entre 50 et 700 UMA à une vitesse de 3000uma/sec (4.18 scan par seconde).

Les chromatogrammes et les spectres de masses sont analysables avec le Logiciel Xcalibur (Thermo, France). L'identification des composés a été faite par comparaison des spectres de masse du chromatogramme avec ceux présents dans la base de données NIST.05.

5- Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

L'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et *Thymus numidicus* extraites a été déterminée par la méthode de l'aromatogramme. Les tests ont été effectués au niveau du laboratoire de Chimie de la Faculté des Sciences de l'UMMTO.

Les souches bactériennes utilisées sont énumérées dans le tableau 2. Elles nous ont été fournies gracieusement par le laboratoire microbiologique de l'hôpital Neddar Mohamed de Tizi-Ouzou.

Tableau 2 – Souches bactériennes utilisées

Bactérie	Gram	Référence
Escherichia Coli	Négatif	ATCC 25922
Staphylococcus	Positif	ATCC 25923

Le milieu de culture est un milieu Gélose Mueller-Hinton

Les étapes suivies pour la technique de l'aromatogramme par diffusion des disques sont élucidées comme suit (Rahal *et al.* 2014):

- 1- Préparation du milieu de culture : Faire couler la gélose fondue au bain marie dans des boîtes Pétri sur une épaisseur de 4mm. Laisser la gélose se solidifier avant l'emploi.
- 2- Préparation de l'inoculum : Racler à l'aide d'un écouvillon quelques colonies bien isolées à partir d'une culture pure de 18 à 24h. Décharger l'écouvillon dans 4 ml d'eau physiologique stérile à 0.9%.
- 3- Ensemencement : Cette opération passe par les étapes suivantes :

- Tromper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne déjà préparé et l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube à essai afin de le décharger au maximum de l'eau ;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface de la gélose du haut vers le bas en stries serrées. Refaire l'opération deux fois en tournant la boîte de 60°. Terminer l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- 4- Application des disques : Des disques propres stériles et secs sont placés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée. Après cette opération on ajoute sur chaque disque de 6mm de diamètre une quantité d'huile essentielle (10 µl) à l'aide d'une micropipette.
- 5- Incubation : L'incubation a eu lieu à 37°C pendant 24h.

6- Extraction des flavonoïdes et des tanins

6-1-Matériel végétal

Dans la perspective d'évaluer l'effet de l'humidité sur le rendement d'extraction des flavonoïdes et tanins, nous avons opté pour des extractions sur la matière végétale fraîche et sèche.

Pour le *Thymus Numidicus*, nous avons utilisé à la fois toute la partie aérienne. Par contre pour *Lavandula Stoechas* nous avons utilisé séparément les feuilles et les sommités fleuries pour l'extraction des flavonoïdes et toute la partie aérienne pour l'extraction des tanins.

6-2-Protocole d'extraction des flavonoïdes

Une quantité de 30 g de poudre végétale est macérée dans 100 ml de méthanol pendant 72 h. Après filtration, le méthanol est évaporé sous vide à 60°C.

Le résidu sec obtenu est ensuite traité avec 50 ml d'eau tiède pour l'obtention d'un extrait aqueux. Nous avons mis en œuvre une série d'extraction liquide-liquide dans des ampoules à décanter par des solvants non miscibles à l'extrait aqueux. Cette opération permet la séparation d'un ou de plusieurs constituants compte tenu de leur rapport de miscibilité vis à vis de solvants de polarité différentes (**Feknous et al 2013**).

Les extractions liquides-liquide sont conduites comme suit :

- Addition de 3x30 ml de chloroforme qui élimine la chlorophylle et les lipides.
- L'ajout de 3x30 ml d'éther diéthylique pour extraire les génines et les flavonoïdes libres.
- Addition de 3x30 ml d'acétate d'éthyle permettant l'élimination des monosides et l'entraînement de la majorité des hétérosides flavoniques.

- L'ajout de 3x30 ml de butanol permettant la récupération de la phase alcoolique.

Cette dernière phase contenant les flavonoïdes est ensuite récupérée dans un ballon préalablement taré. Elle est ensuite soumise à une évaporation du butanol sous vide à 55 °C pour l'obtention du résidu sec. C'est l'extrait des flavonoïdes qui sera alors pesé (Feknous et al. 2013).

6-3- Protocole d'extraction des tanins

Une masse de 30 g de poudre végétale a été dégraissée par macération dans 100 ml d'éther de pétrole pendant 24 h. Après filtration, le marc est récupéré alors que la chlorophylle et les lipides sont éliminés.

Le marc récupéré est ensuite repris avec 50 ml d'éther diéthylique. Puis filtré pour éliminer les phénols, les catéchines et l'acide oxybutyrique.

Le marc est repris une seconde fois avec 100 ml de méthanol puis filtré dans un ballon préalablement taré.

Le filtrat méthanolique est soumis à une évaporation sous vide pour obtenir un résidu sec. C'est un extrait pur de tanins qui sera ensuite pesé (Feknous et al. 2013).

6-4- Evaluation du rendement d'extraction en flavonoïdes et tanins

Le rendement en flavonoïdes et en tanins extraits est évalué à l'aide de la formule suivante (François 2010):

$$R_d = \frac{m_1}{m_0} \times 100\% \quad (6)$$

R_d : Rendement en extrait (en %).

m_1 : Masse de l'extrait sec (en g).

m_0 : Masse de matière végétale utilisée initialement (en g).

6-4-1- Caractérisation des extraits de flavonoïdes et tanins

6-4-1-1- Caractères organoleptiques

L'aspect, l'odeur et la couleur des extraits ont été identifiés.

6-4-1-2- Dosage des flavonoïdes totaux

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de *Lavandula stoechas* et *Thymus numidicus* est réalisée par la méthode décrite par (Bahrun et al. 1996).

➤ Mode opératoire

- Mettre 1ml d'extrait de *Lavandula stoechas* et *Thymus numidicus* dans un tube à essai ; ajouter 1ml de solution méthanolique de chlorure d'aluminium à 2% ; laisser incubé 15min à température ambiante.

- Lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-Visible (Zuzi spectrophotometer) à 430 nm.

La teneur en flavonoïdes dans nos extraits a été calculée à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire, établie avec des concentrations précises de quercétine comme standard de référence (0.018-0.06 mg/ml) dans les mêmes conditions que les extraits. Les résultats ont été exprimé en (mgEQ/ g extrait).

La solution mère de quercétine de concentration 0,12 mg/ml est obtenue en diluant 6 mg de quercétine en poudre dans 50 ml de méthanol (Tableau 3).

Tableau 3 - Gamme d'étalonnage de la solution de Quercétine

Concentration (mg/ml)	0.018	0.024	0.03	0.042	0.06
Volume prélevé de la solution mère de Quercétine (ml)	0,3	0,4	0,5	0,7	1
Volume d'eau distillée (ml)	0,7	0,6	0,5	0,3	0

6-4-1-3- Spectroscopie Infrarouge

Notre analyse a été effectuée par un appareil spectroscopique de marque SHIMADZU IR affinité-1S.

Afin de mettre en évidence les groupements fonctionnels constitutifs des polyphénols testés, nous avons eu recours à la spectroscopie IR en utilisant la méthode ATR qui est une méthode d'analyse rapide, simple et précise.

➤ Principe de la méthode

Le principe consiste à mettre en contact un cristal (ZnSe ou diamant) avec l'échantillon à analyser. Le faisceau IR se propage dans le cristal ; si l'indice de réfraction de ce dernier est supérieur à celui de l'échantillon, alors le faisceau subit des réflexions totales au-delà d'un certain angle d'incidence à l'interface échantillon/cristal à l'exception d'une onde dite onde évanescente qui est responsable du spectre IR observé (Benaïssa 2011).

7- Formulations pharmaceutiques

Après avoir effectué l'étude antibactérienne des huiles essentielles des deux plantes et en s'inspirant des travaux expérimentaux effectués (Messara 2012, Bourkache 2016 et Chioukh 2017) sur l'activité antibactérienne des flavonoïdes et tanins, nous avons envisagé de réaliser plusieurs formulations pharmaceutiques.

A la base des données de la littérature et de la disponibilité du matériel et réactifs nous avons opté pour la formulation de crèmes dermiques, suppositoires et pommades à base des différents extraits obtenus pour les deux plantes *Thymus Numidicus* et *Lavandula Stoechas*. A savoir les extraits d'huiles essentielles et les extraits secs de Flavonoïdes et de tanins.

7-1-Suppositoires

7-1-1- Préparation des suppositoires

Nous listons dans les tableaux 4 et 5 le matériel et matière première ainsi que la composition en masse des suppositoires à préparer.

Tableau 4- Matières premières et matériel pour la formulation des suppositoires

Matière première	Matériel
-Suppocire (fournie par SAIDAL) -Extraits secs de Flavonoïdes -Extraits secs de Tanins -Huiles essentielles	-Bain marie -Mortier et pilon -Balance analytique KERN instrument -Alvéoles (pour 6 suppositoires de 1g) -Thermomètre -Chronomètre -Plaque chauffante de marque Heidolph

Tableau 5- Composition en masse des suppositoires préparés

Extraits	Plantes	Quantité d'extrait + Quantité d'excipients (g)
Tanins	<i>L.stoechas</i>	0,1 g de tanins + 10,04 g de Suppocire
	<i>T.numidicus</i>	
Flavonoïdes	<i>L.stoechas</i>	0,1 g de flavonoïdes+ 10,04 g de Suppocire
	<i>T.numidicus</i>	
HE	<i>T.numidicus</i>	0,06 g d'HE + 6 g de suppocire

Au préalable, le facteur de déplacement pour les différentes substances actives (extraits de tanins, flavonoïdes et huile essentielle) a été évalué selon les protocoles suivants (Saoudi 2014) :

1- Suppositoires placebos à base de Suppocire (base hydrophobe):

- Introduire une quantité de Suppocire dans le mortier,
- Faire fondre au bain marie à 50°C,
- Verser dans les alvéoles.
- Mettre au frais (à 4°C) pendant 10 min, racler et démouler,
- Peser les suppositoires un à un.

2- Suppositoires à base de Suppocire et substance active (SA) (Saoudi 2014) :

- Peser les quantités nécessaires de Suppocire et de Substance Active (SA),
- Verser 2/3 de la quantité de Suppocire dans le mortier et le placer au bain marie à 50°C,

- Verser le tiers restant de Suppocire dans un autre mortier, triturer avec la substance active jusqu'à obtention d'une pâte,
- Verser la pâte dans le mortier contenant 2/3 de Suppocire déjà fondu,
- Remuer à l'aide d'une baguette en verre jusqu'à homogénéisation du mélange,
- Retirer du bain marie et laisser quelques minutes,
- Verser la préparation dans les alvéoles,
- Placer au frais (à 4°C) pendant 10 min, racler et démouler,
- Peser les suppositoires un à un.

Le facteur de déplacement F, est évalué à l'aide de l'équation suivante :

$$F = \frac{X-(Y-P)}{P} \quad (7)$$

Avec :

- P : Quantité de Substance Active (SA) dans tous les suppositoires.
- Y : Masse totale des suppositoires obtenus.
- X : Masse totale des suppositoires placebos.

7-1-2- Tests de contrôle sur les suppositoires

7-1-1-1- Tests organoleptiques

Il s'agit d'effectuer une observation sur les surfaces des suppositoires préparés. La surface des suppositoires doit être unie, lisse, brillante, sans fissuration et ne doit pas présenter de cristallisation des principes actifs (Le Hir 1974).

7-1-1-2- Uniformité de masse des suppositoires

Les suppositoires obtenus doivent avoir une masse proche de la moyenne afin de garantir une administration homogène au cours du temps.

==Selon la pharmacopée, nous pesons individuellement 20 suppositoires. Les masses individuelles doivent se trouver dans les limites de $\pm 5\%$ de la masse moyenne avec cependant une tolérance de $\pm 10\%$ pour deux unités (Le Hir 1974).

7-1-1-3- Test de fragmentation

Nous avons étudié le comportement des échantillons de suppositoires vis-à-vis d'une solution aqueuse tamponnée à pH 7,4 en évaluant le temps minimal de fusion de chacun des suppositoires placés séparément (Ramtani 2014). Les béciers sont placés dans un bain marie dont la température est maintenu à 37°C.

Cet essai est destiné à déterminer la capacité du suppositoire à fondre en peu de temps

7-2- Pommades

7-2-1- Préparation des pommades

Nous listons dans les tableaux 6 et 7 le matériel et matière première ainsi que la composition en masse des pommades à préparer.

Tableau 6- Matières premières et matériel pour la formulation des pommades

Matière première	Matériel
-Vaseline blanche (fournie par SAIDAL) -Extraits secs de Flavonoïdes -Extraits secs de Tanins -Huiles essentielles	-Pilon et mortier en agate -Balance analytique KERN instrument -Microscope photonique de marque PHYWE -pH mètre de marque Hanna Instrument

Tableau 7- Composition en masse des pommades préparées

Extraits	Plantes	Quantité d'extrait + Quantité d'excipients (g)
Tanins	<i>L.stoechas</i>	0,2 g de tanins + 5 g de vaseline blanche
	<i>T.numidicus</i>	
Flavonoïdes	<i>L.stoechas</i>	0,2 g de flavonoïdes + 5 g de vaseline blanche
	<i>T.numidicus</i>	
HE	<i>T.numidicus</i>	0,2 g HE + 5g de vaseline blanche

Nous avons suivi le protocole décrit par **Sanogo et al. (2006)** pour la formulation des cinq pommades. Le protocole est résumé comme suit :

- Peser les quantités requises d'extrait et de vaseline,
- Triturer l'extrait à l'aide d'un pilon dans un mortier en agate,
- Ajouter la vaseline blanche petit à petit et triturer jusqu'à obtention d'une pommade homogène,
- Détacher la pommade à l'aide d'une spatule,
- Placer la pommade dans des pots appropriés.

7-2-2- Tests de contrôle des pommades formulées

7-1-1-4- Caractères macroscopiques

Les caractères macroscopiques se basent sur l'observation de la couleur, la consistance et l'odeur de chacune des cinq pommades (**Salomon 1994**).

7-1-1-5- Homogénéité

Nous avons vérifié l'homogénéité des pommades en les étalant en couche mince sur une surface plane à l'aide d'une spatule. La répartition régulière ou non des extraits dans les excipients a été notée (**Salomon 1994**).

7-1-1-6- Mesure du pH

Le pH a été déterminé en mesurant celui d'une dilution au dixième, de chacune des pommades, dans de l'eau distillée chaude (Sanogo et al. 2006).

Au préalable, le pH des excipients et des extraits est mesuré dans les mêmes conditions.

7-1-1-7- Examen microscopique

L'examen microscopique permet d'apprécier la bonne adhésion des excipients et extraits à l'intérieur de la pommade formulée. En effet, la répartition granulométrique doit être la plus homogène possible (Salomon 1994).

Ce test a été effectué par observation au microscope optique de l'homogénéité d'une petite quantité de pommade placée entre lame et lamelle.

7-2- Crèmes

Nous listons dans le tableau 8 les matières premières et le matériel utilisés pour la préparation des crèmes.

Tableau 8- Matières premières et matériel pour la formulation des crèmes

Matière Première	Matériel
-Huiles essentielles	-Balance analytique KERN instrument
-Huile de vaseline	-Agitateur à hélice de marque Heidolph
-Huile d'amande douce	-Thermomètre
-Tween 80	-pH-mètre de marque HANNA instruments
-Span 60	-Microscope photonique de marque PHYWE

Nous avons préparé 50g de crème de type huile dans l'eau (H/E). De ce fait, les masses des constituants des émulsions (crèmes) préparées sont :

Huile Essentielle	0.5g
Phase huileuse.....	10g
Mélange de tensioactifs (Tween 80 et Span 60).....	5g
Phase aqueuse.....	35g

La composition massique des six crèmes formulées est mentionnée dans le tableau 9.

Tableau 9- Composition massique des différentes crèmes formulées

Crème N°	PA	Phase huileuse	Tensioactifs		Phase aqueuse
			Tween 80	Span 60	

1	HE <i>T. numidicus</i>	10g huile de vaseline	3,37 g	1,63 g	35g eau distillée
2		10g huile d'amande douce	3,4 g	1,6 g	
3		5g huile de vaseline + 5g huile d'amande douce	2,94 g	2,06g	
4	HE <i>L.stoechas</i>	10g huile de vaseline	3,37 g	1,63 g	
5		10g huile d'amande douce	3,4 g	1,6 g	
6		5g huile de vaseline + 5g huile d'amande douce	2,94 g	2,06 g	

Parallèlement, nous avons préparés trois émulsions témoins : essais placebos sans PA en utilisant l'huile d'amande, l'huile de vaseline et un mélange des deux huiles. Le tableau 10 rassemble les masses des excipients utilisés :

Tableau 10- Composition des crèmes (placébos)

Masse (g) N° Echantillon	Huile d'amande douce (g)	Huile de vaseline (g)	Tween [®] 80 (g)	Span [®] 60 (g)	Eau déméralisée (g)
1	10	0	3,4	1,6	35
2	0	10	3,37	1,63	35
3	5	5	2,94	2,06	35

Les masses respectives des tensioactifs sont calculées à la base de la méthode du HLB ($HLB_{\text{tween 80}}=15$, $HLB_{\text{span60}}=4.7$) (**Le Hir 1974**).

HLB requise de l'huile d'amande douce et l'huile de vaseline sont respectivement (8 et 12).

Nous avons suivi la procédure de préparation des crèmes décrite par (**Martine 2004**) basée sur les étapes suivantes :

- Introduire la phase aqueuse externe (eau + Tween 80) dans un bécher en verre, la phase huileuse interne (huile d'amande et/ou huile de vaseline + Span 60) contenant le PA dans un autre bécher identique,
- Les deux béchers, avec leurs phases respectives, sont ensuite placés dans un bain marie réglé à 82°C.

Lorsque les phases huileuse et aqueuse auront atteint respectivement une température d'environ 70°C et 75°C, nous procéderons à l'émulsification proprement dite:

- A l'aide de l'agitateur à hélices : la phase huileuse est ajoutée goutte à goutte, sous agitation (500 tours/ min) à la phase aqueuse maintenue dans le bain-marie. Entre le début et la fin de cette addition (environ 15 min), la température passe progressivement de 75°C à 65°C environ,
- A la fin de l'addition de la phase interne, la préparation est retirée du bain-marie et laissée à l'air libre afin de permettre son refroidissement progressif qui dure 40min,
- Pour éviter les inclusions d'air et la cassure de l'émulsion pendant la phase de refroidissement, la vitesse d'agitation doit être réduite à 305 tours/min pendant les 20 premières minutes puis, à 160 tours/min pendant les 20 dernières minutes.
- Les crèmes obtenues sont conservées au frais à 4°C dans des flacons appropriés à l'abri de la lumière et de l'humidité.

7-2-1- Contrôle qualité des crèmes préparées

7-2-1-1- Caractères organoleptiques

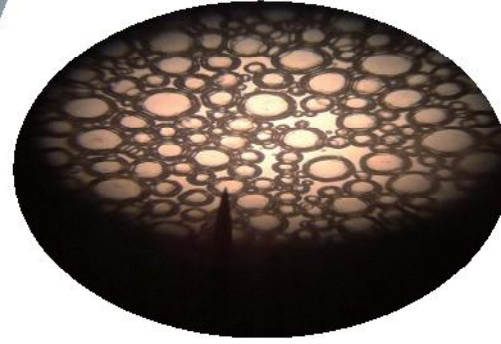
L'examen macroscopique des crèmes et l'évaluation de leurs caractères organoleptiques (couleur, consistance, odeur et homogénéité) sont en général d'une importance capitale, ils permettent d'indiquer la présence ou non de phénomènes de déstabilisation (**martine 2004**).

7-2-1-2- Mesure du pH

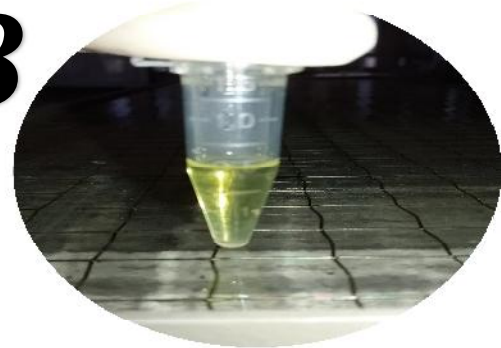
Nous avons mesuré le pH des crèmes en plongeant l'électrode du pH-mètre dans les préparations à examiner après une dilution à 10% dans de l'eau distillée (**Le Hir 1974**).

7-2-1-3- Examen microscopique

L'examen microscopique permet d'apprécier la taille des particules. La répartition granulométrique doit être la plus homogène possible (**Laurine 2018**).



Chapitre 3



Résultats et discussion



1- Taux d'humidité du matériel végétal

Les valeurs moyennes de la teneur en eau et matière sèche (MS) des feuilles et sommités des échantillons de l'espèce *Lavandula Steochas* récoltés à Beni Douala et Redjaouna sont représentées dans la figure 9.

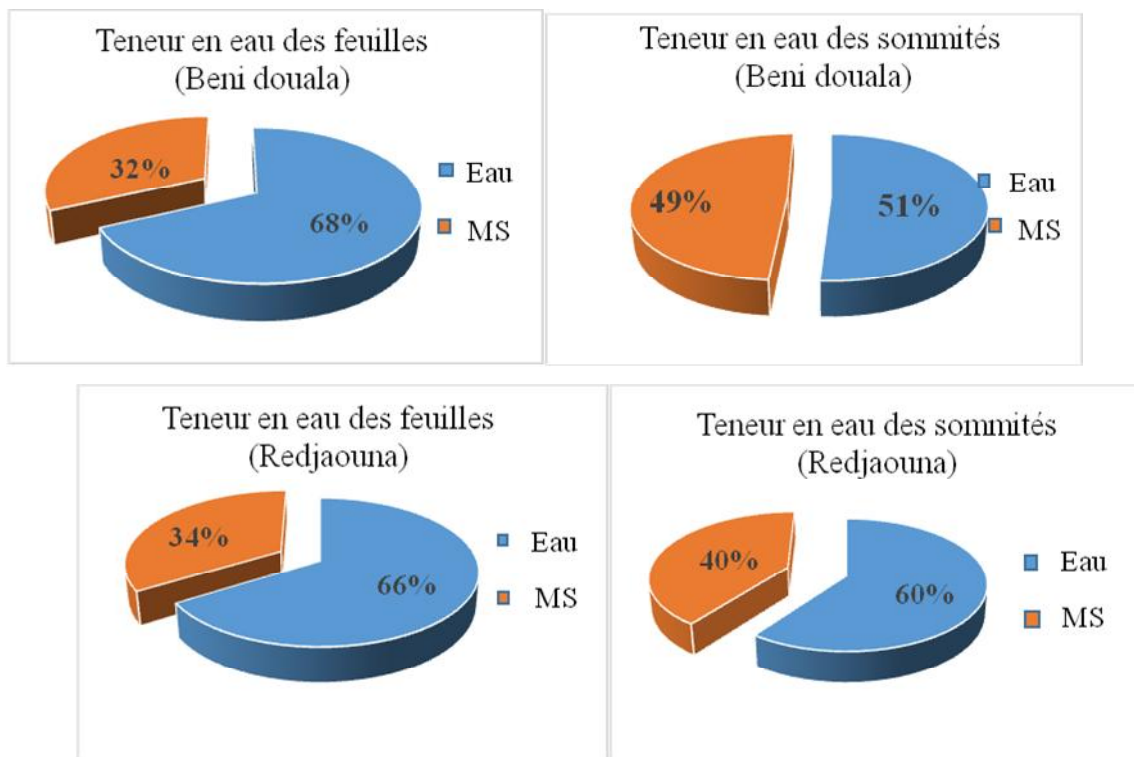


Figure 9- Teneurs moyennes en eau et en matière sèche (MS) des échantillons de *Lavandula Stoechas* récoltés à Beni douala et Redjaouna

Les valeurs moyennes de la teneur en eau et matière sèche (MS) des feuilles des échantillons de l'espèce *Thymus Numidicus* récoltée à Makouda sont représentées dans la figure 10.



Figure 10 – Teneurs moyennes en eau et en matière sèche (MS) du *Thymus Numidicus*.

Les figures 9 et 10 montrent que la teneur en eau des échantillons des deux espèces représente plus de la moitié du poids du végétal.

En effet, plusieurs facteurs peuvent influencer la teneur en eau et en matière sèche des plantes. Nous pouvons citer entre autre la nature des fibres, l'âge des plantes, la composition chimique du sol et la durée de conservation du végétal après récolte (Lamiae et al. 2016).

2- Rendement en huile essentielle

2-1- Espèce *Lavandula Stoechas*

Les résultats obtenus pour le rendement d'extraction en huile essentielle de *L. stoechas* sur les trois périodes de récolte et au niveau des deux régions sont rassemblés sur la figure 11 sous forme d'histogramme.

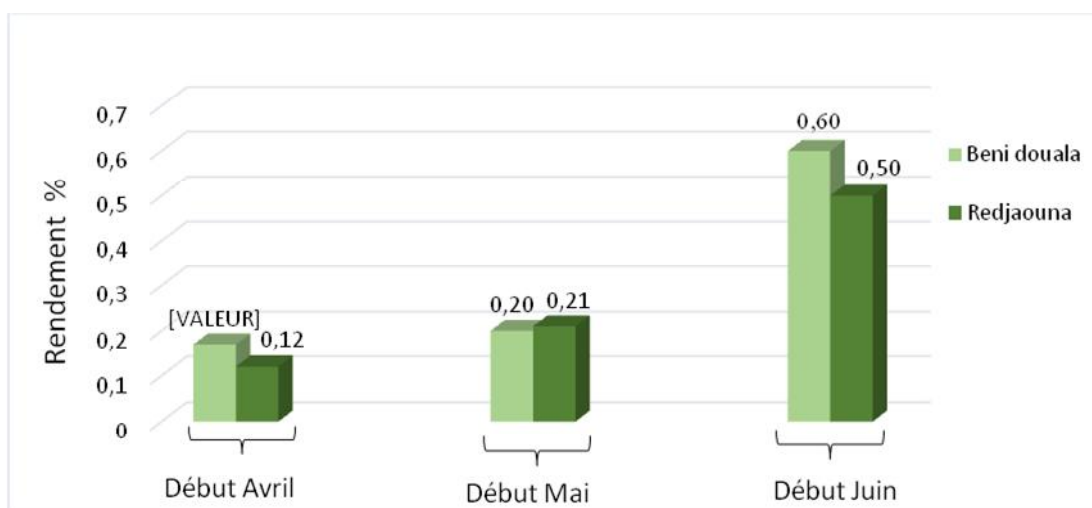


Figure 11 -Rendements en huile essentielle des échantillons de *Lavandula Stoechas* récoltés à Beni Douala et Redjaouna durant trois périodes différentes

Les résultats présentés dans la figure 11 montrent que les meilleurs rendements en huile essentielle de *L.stoechas* sont enregistrés pour le mois de juin.Ce résultat peut être attribué à l'effet de la période de récolte, au cycle végétatif de la plante ainsi qu'aux conditions climatiques (Benayache 2013).

Concernant l'effet de la région de récolte sur le rendement en huile essentielle, les résultats présentés par la figure 11 montrent que Beni douala affiche de meilleurs rendement que Redjaouna notamment pour les mois d'Avril et Juin.

Toutefois, nous notons que les rendements atteints demeurent faibles par rapport à ceux annoncés lors des travaux précédents (Benabdekader 2012 , Messara 2012 ; Bourkache 2016).

2-2- Espèce *Thymus numidicus*

Les résultats obtenus pour le rendement d'extraction en huile essentielle des parties aériennes de *Thymus numidicus* récoltées sur trois mois différents sont regroupés sur la figure 12.

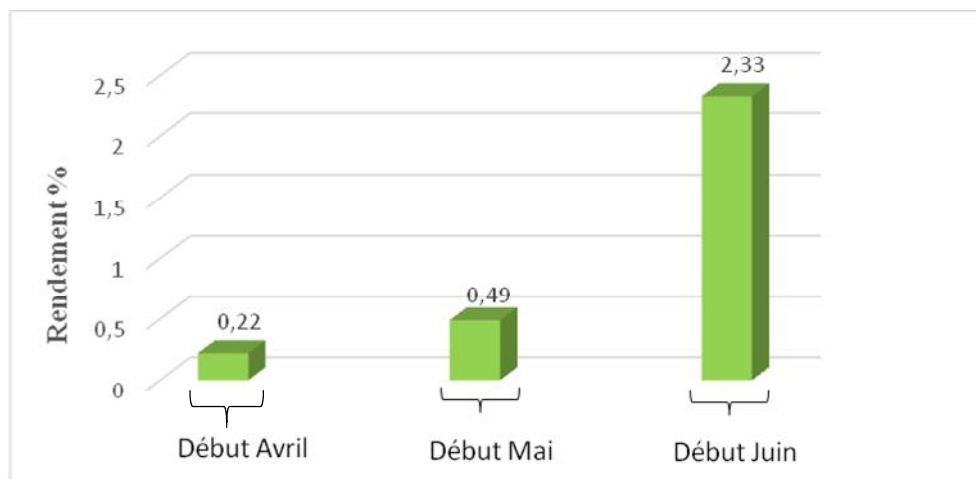


Figure 12-Rendements en huile essentielle des échantillons de *T. numidicus* récoltés au niveau de Makouda durant trois mois différents

La figure 12 montre que le *Thymus numidicus* affiche un meilleur rendement en huile essentielle pour le mois de Juin (2,33%). Cette valeur de rendement enregistrée est supérieure à celles annoncées dans la littérature : **Messara 2018**(1,58%), **Benayache 2013**(1,2%).

D'après les résultats obtenus, nous constatons que les variations des rendements en huiles essentielles des deux espèces *Lavandula Stoechas* et *Thymus Numidicus*, sont liées à plusieurs facteurs des quels nous pouvons citer : le genre, l'espèce, le mois de récolte, la nature du sol, les variations saisonnières, technique et temps d'extraction ainsi que le cycle végétatif de la plante...(Bousbia 2011 ; Touhami2017).

3- Caractérisation des huiles essentielles extraites

3-1- Tests organoleptiques

L'huile essentielle de *Lavandulas stoechas* obtenue est limpide de couleur jaune claire et d'une odeur fortement aromatique.

Celle de *Thymus numidicus* est un liquide visqueux, limpide de couleur jaune foncée et d'une odeur très intense.

3-2- Paramètres physicochimiques

Les valeurs moyennes de densité et indice de réfraction des huiles essentielles extraites des espèces *L. stoechas* et *T.numidicus* sont résumées dans les tableaux 11 et 12.

Tableau 11 – Valeurs moyennes de la densité et indice de réfraction mesurés pour l’huile essentielle de *L.stoechas*

	Beni douala	Redjaouna	Données de la Pharmacopée
Densité relative à 20°C	0,862	0,863	0,878-0,892
Indice de réfraction à 20°C	1,483	1,482	1,455-1,466

Tableau 12 - Valeurs moyennes de la densité et indice de réfraction mesurés pour l’huile essentielle de *T. numidicus*

	Makouda	Données de la Pharmacopée
Densité relative à 20°C	0,915	0,915-0,935
Indice de réfraction à 20°C	1,504	1,490-1,505

Les résultats affichés dans les tableaux 11 et 12 semblent comparables aux données de la pharmacopée européenne. Ceci indique que nos huiles essentielles sont bien tolérées pour des usages thérapeutiques à des proportions précises.

3-3- Résultats de l’analyse CG/SM des huiles essentielles

Les chromatogrammes et les spectres de masses obtenues pour les huiles essentielles issues des différentes récoltes sont rassemblés en Annexe 1.

Les composés annotés à la base des données de NIST.05 nous permettent de dresser les tableaux 13, 14 et 15 quand à la composition chimique des huiles essentielles de *L. stoechas* des régions de Redjaouna et Beni Doula ainsi que *T. numidicus* de Makouda.

Tableau 13 – Composition chimique de l'huile essentielle de *L. stoechas* récoltée au niveau de Redjaouna à différents mois

Composés chimiques	Temps de rétention (min)	Composition % (récolte Avril)	Composition % (récolte Mai)	Composition % (récolte Juin)
Camphene	8,82	1,01	1,57	1,59
Eucalyptol	11,14	10,79	9,37	10,1
Fenchone	12,79	30,4	26,74	20,49
Fenchol, exo	13,48	1,65	1,51	0,96
Camphor	14,27	22,15	23,07	0,52
Borneol	14,71	1,78	1,77	1,62
Myrtenol	15,23	1,64	1,55	-
Frenchylacetate	15,55	1,81	1,61	0,9
Bornylacetate	17,01	6,25	5,91	4,63
(-)-trans-Pinocarylate	17,76	2,58	2,67	3,12
Germacrene D-4-ol	21,03	0,4	0,78	1,57
δ -Cadinene	21,38	0,83	0,91	1,59
Viridiflorol	22,84	1,79	1,74	2,06
Cubenol	23,09	0,9	0,94	1,09
Bicyclo[4.4.0]dec-2-ene-4-ol,2methyl-9-(prop-1-en-3-ol-2-yl)	26,51	1,63	2,35	3,79
Terpenol	-	-	-	1,6

Chapitre 3 Résultats et Discussion

Tableau 14 – Composition chimique de l’huile essentielle de *L.Stoechas* récoltée au niveau de Beni Douala à différents mois

Composés chimiques	Temps de rétention (min)	Composition % (récolte Avril)	Composition % (récolte Mai)	Composition % (récolte Juin)
Camphène	8,78	0,62	2,82	0,42
Eucalyptol	11,13	2,82	12,75	8,02
Fenchone	12,75	28,13	32,18	21,54
Fenchol, exo-	13,46	1,28	1,5	0,77
Camphor	14,2	15	20,35	22,29
Isoborneol	14,7	1,17	3,17	1,07
Myrtenol	15,22	1,59	1,49	1,48
Frenchylacetate	15,56	2,17	1,68	1,6
Bornylacetate	17	5,21	4,48	3,89
(-)-trans-Pinocarvylacetate	17,77	2,8	1,78	2,62
Germacrene D-4-ol	21,07	1,22	0,85	1,69
Tau-Cadinol	21,42	1,53	0,81	-
Viridiflorol	22,89	3,48	1,51	1,98
Globulol	23,05	1,23	1,33	1,15
Bicyclo/4.4.0/dec-2-ene-4-ol,2methyl-9-(prop-1-en-3-ol-2-yl)	26,63	2,77	1,15	4,37
δ-Cadinol	-	-	-	1,58

L’huile essentielle de *Lavandula stoechas* récoltée au niveau de Redjaouna et Beni douala renferme 16 composés dont 2 constituants sont majoritaires (fenchone et camphre).

- **Pour la récolte de mois d’Avril :**

Pour l’huile essentielle de *L. stoechas* de la région Redjaouna : le fenchone représente un rendement majoritaire de (30,4%), le camphre occupe la deuxième position avec un pourcentage de (22,15%) suivi de l’eucalyptol (10,79%).

Concernant l’huile essentielle de *L. stoechas* de la région Beni douala le fenchone représente un rendement majoritaire de (28,13%), le camphre occupe la deuxième position avec un pourcentage de (15 %).

- **Pour le mois de Mai :**

Pour l'huile essentielle de *L. stoechas* de la région Redjaouna : le fenchone est le plus dominant avec un pourcentage de (26,74 %), le camphre occupe la deuxième place avec un pourcentage de (23,07 %) suivi de l'eucalyptol (9,37 %).

Concernant l'huile essentielle de *L. stoechas* de la région Beni douala le fenchone est plus dominant avec un pourcentage de (32,18 %), le camphre occupe la deuxième place avec un pourcentage (20,35 %) suivi de l'eucalyptol (12,75 %).

- **Pour le mois de Juin :**

Pour l'huile essentielle de *L. stoechas* de la région Redjaouna : les composés majoritaires sont le Fenchone (20,49%) et l'eucalyptol (10,1%).

Concernant l'huile essentielle de *L. stoechas* de la région Beni douala les composés majoritaires sont le camphre (22,29 %) et le Fenchone (21,54 %).

L'étude de la variation de la composition chimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* étudiée révèle que la composition de ces dernières est influencée par la localité et le mois de récolte. Toutefois la variation dans la composition quantitative en différents composés majoritaires en fonction du mois de récolte renforce l'hypothèse de photodégradation de composés en profit d'autres (Messara 2018).

Tableau 15 – Composition chimique de l'huile essentielle de *T. numidicus* récoltée au niveau de Makouda à différentes périodes

Composés chimiques	Temps de rétention (min)	Composition % (récolte Avril)	Composition % (récolte Mai)	Composition % (récolte Juin)
1 R- α -Pinene	8,32	0,2	-	5,56
B-Pinene	10,18	3,32	2,83	5,31
β -Cymene	11,01	12,13	15,59	7,67
t-Terpinene	11,84	14,52	13,97	9,4
Linalol	13	17,23	9,79	33,62
Thymol methylether	15,83	2,19	1,03	-
Nerol	16,45	0,95	0,51	-
Thymol	17,27	4,99	7,41	2,1
Carvacrol	17,59	27,66	36,29	27,83
α -Gurjunene	19,38	0,66	-	-
Caryophyllene	19,67	2,87	1,67	-
Germacrene D	20,8	0,15	0,87	1,11
β -Bisabolene	21,15	1,77	0,56	0,57
δ -Cadinene	21,39	0,5	-	-
Perillol	15,89	-	-	0,79
β -Caryophyllene	19,65	-	-	1,48
A-Thujene	8,24	-	3,65	-

L'huile essentielle de *Thymus numidicus* renferme 17 composés dont 4 constituants sont majoritaires (Carvacrol, linalol, t-terpinene et B-cymene).

- **Pour le mois d'avril :**

Le carvacrol est plus dominant avec un pourcentage de (27,66 %), tandis que le linalol occupe une deuxième place avec un pourcentage de (17,23 %) suivi par le t-terpinene avec une teneur de (14,52 %) et le B-cymene avec (12,13 %).

- **Pour le mois de Mai :**

Le carvacrol représente un rendement majoritaire de (36,29 %), le B-cymene occupe une deuxième place avec une teneur de (15,59 %), suivi par le t-terpinene (13,97 %) et le linalol avec un pourcentage de (9,79 %).

- **Pour le mois de Juin :**

Les composés majoritaires sont le linalol (33,62 %), le carvacrol (27,83 %), le t-terpene (9,4 %) et le B-cymene avec (7,67 %).

Nous remarquons que la teneur des composés majoritaires présents dans l'HE de *T. numidicus* varie selon la période de récolte.

En vue des résultats de la CG/SM présentés dans les tableaux (13, 14, 15) nous constatons que la composition chimique des huiles essentielles dépend de l'espèce, du genre, de la région et de le mois de récolte. Cette influence du point de vue qualitatif et quantitatif peut être due à de nombreux facteurs tels que : chémotype, le cycle végétatif et les paramètres écologiques (Saidj 2007, Bendif 2017, Messara 2018).

4- Activité antibactérienne des huiles essentielles

Les résultats de l'activité antibactérienne sont résumés sur la figure 13 et résumés dans le tableau 16.

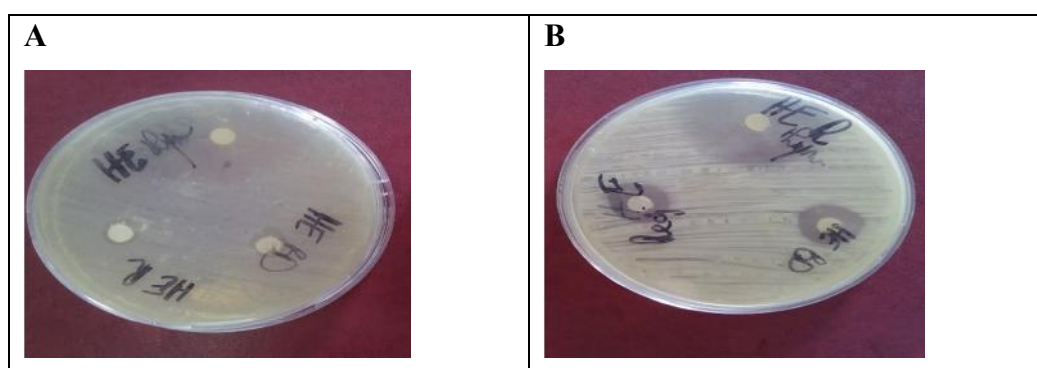


Figure 13 –Résultats de l'activité antibactérienne des HE de *T. numidicus* et de *L. stoechas* sur **A** :*E. coli* et **B** :*S. aureus*

Tableau 16 - Diamètres des zones d'inhibition enregistrés avec l'huile essentielle de *T.numidicus* et *L. stoechas*

Souches bactériennes		Diamètres d'inhibition (mm)		
		<i>L.stoechas</i> (Beni douala)	<i>L.stoechas</i> (Redjaouna)	<i>T.numidicus</i> (Makouda)
Gram -	<i>E. coli</i>	11	9	50
Gram +	<i>S. aureus</i>	16	12	43

La lecture a été effectuée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition qui peut être symbolisé par des signes selon la sensibilité des souches vis-à-vis des huiles essentielles (Touhami 2017) :

- ✓ Non sensible (-) ou résistante (R) : diamètre < 8mm
- ✓ Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm
- ✓ Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm
- ✓ Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm

Comme le montrent la figure 13 et le tableau 16, l'huile essentielle de *Thymus numidicus* présente une excellente inhibition vis-à-vis des souches testées. En effet les diamètres observés pour *E. coli* et *s. aureus* sont respectivement de 50 et 43 mm.

En revanche l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* exerce une activité inhibitrice modérée vis-à-vis de la croissance des bactéries à Gram- vu que le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 15mm. Cependant, elle montre une sensibilité remarquable vis-à-vis des bactéries à Gram+.

En effet, les bactéries à Gram positif+ sont plus sensibles à l'action des huiles essentielles que celle à Gram négatif. Par ailleurs, la paroi des bactéries à Gram+ est riche en protéines tandis que celle des souches Gram-est assemblée en lipopolysaccharides (LPS). Ainsi la membrane extérieure de ces dernières constitue une barrière de perméabilité efficace (Basli et al. 2012).

Le LPS, grâce à ses charges négatives de surface, empêche la diffusion des molécules hydrophobes, et les protéines excluent le passage des molécules hydrophiles de poids moléculaire élevé. Alors que les bactéries Gram+ sont moins protégées contre les agents antibactériens (Basli et al. 2012).

5- Rendements d'extraction en flavonoïdes et tanins

5-1- Espèce *Lavandula stoechas*

Les résultats de rendements en flavonoïdes et tanins relatifs à l'espèce *L. stoechas* sont représentés sous forme d'histogramme par les figures 14 et 15.

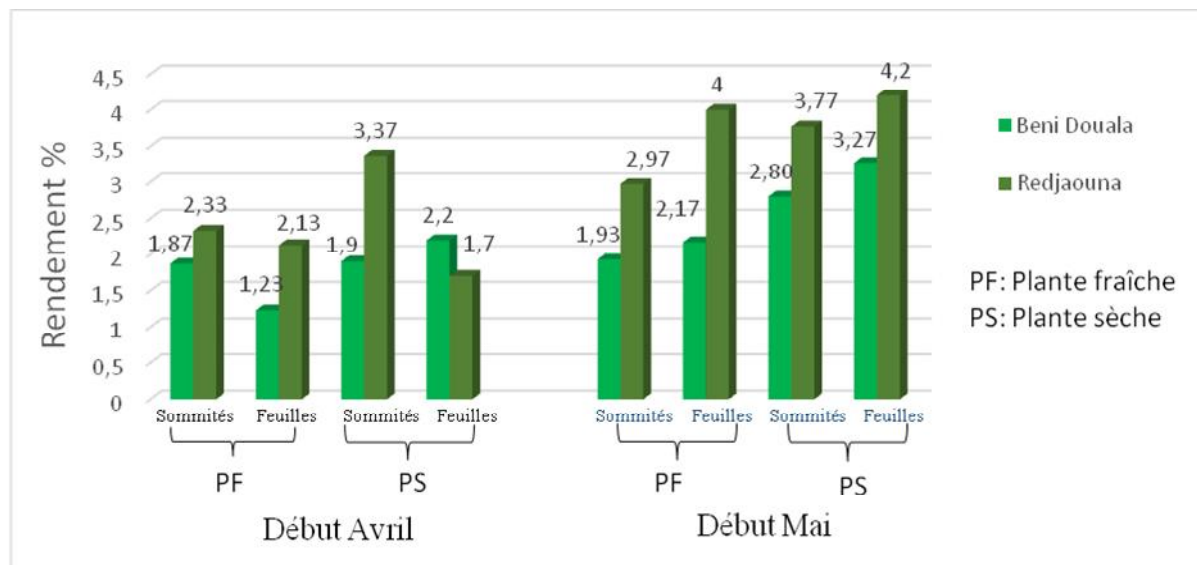


Figure 14 -Rendements d'extraction en flavonoïdes de l'espèce *L.stoechas*

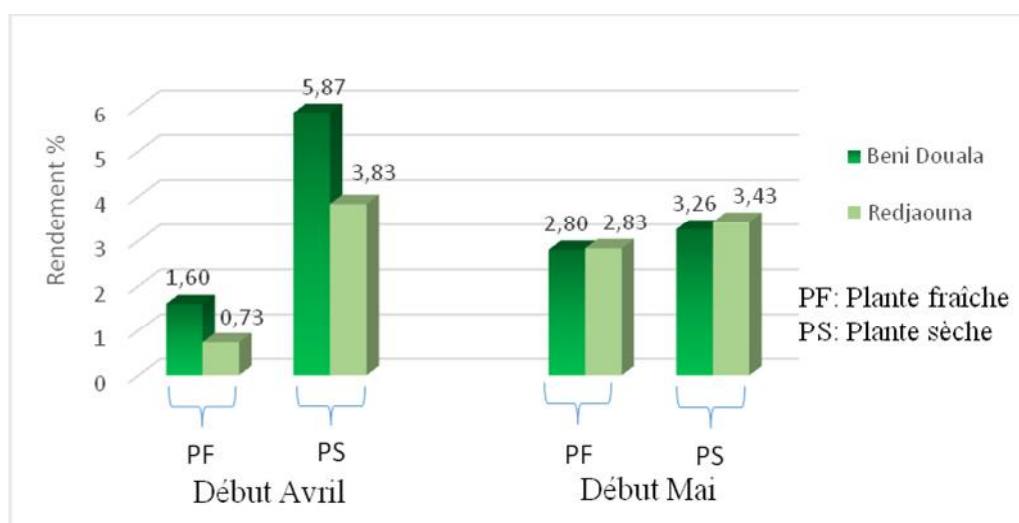


Figure 15 -Rendements d'extraction en tanins de l'espèce *L.stoechas*.

D'après les résultats présentés sur les figures 14 et 15, nous constatons que :

Pour les extraits de flavonoïdes, les rendements des plantes sèches est supérieur à celui des plantes fraîches. Et que ceux des feuilles demeurent relativement supérieurs à ceux des sommités. Aussi, il semble que les rendements enregistrés pour la région de Redjaouna sont supérieurs à ceux de Béni Douala notamment pour le mois de Mai.

Pour les extraits de tanins, nous pouvons émettre les mêmes constatations à quelques différences près.

5-2- Espèce *Thymus Numidicus*

Les résultats de rendements en flavonoïdes et tanins relatifs à l'espèce *T.numidicus* sont représentés sous forme d'histogramme par les figures 16 et 17.

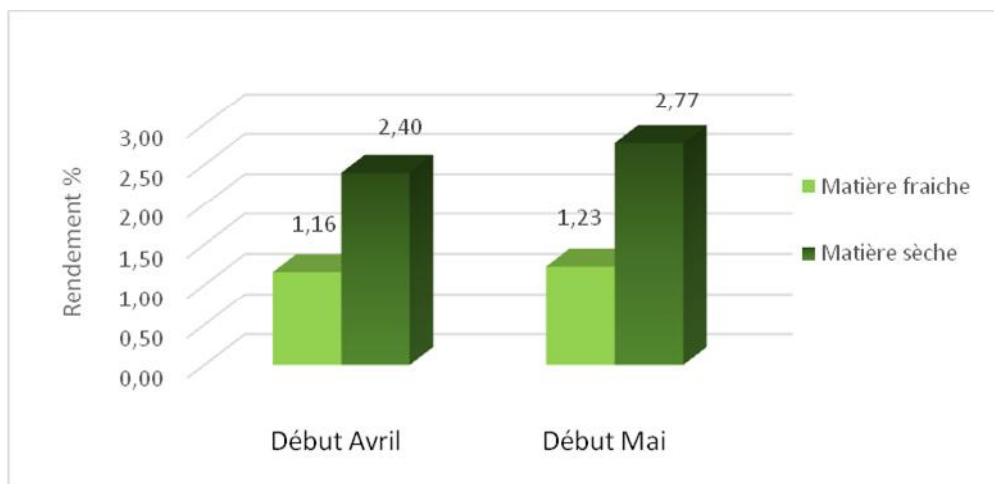


Figure 16 - Rendements d'extraction en flavonoïdes de l'espèce *T.numidicus*

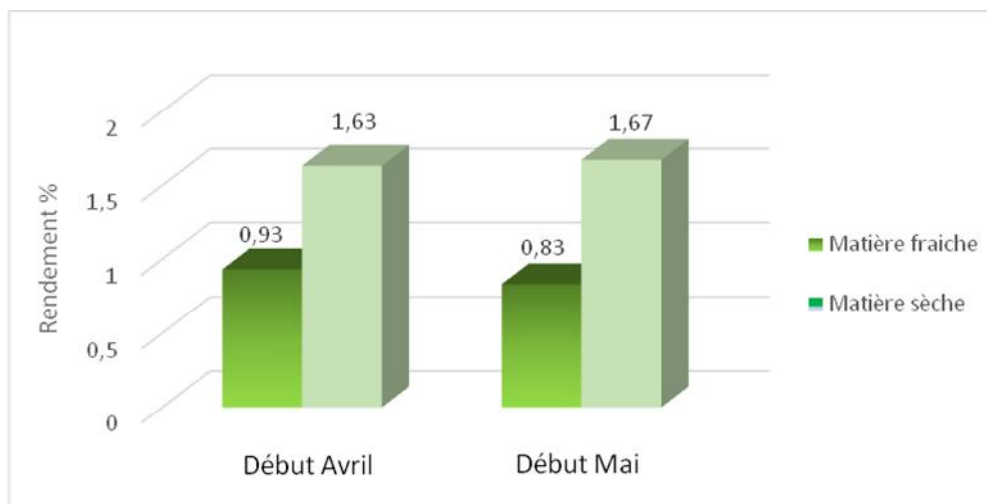


Figure 17 -Rendements d'extraction en tanins de l'espèce *T. numidicus*

D'après les résultats obtenus, nous constatons que :

- Pour les flavonoïdes :
 - ✓ R % plante sèche > R % plante fraîche
 - ✓ R % de mois de mai > R % de mois d'avril
- Pour les tanins :
 - ✓ R % plante sèche > R % plante fraîche

✓ R % de mois de mai > R % de mois d'avril

Ces rendements enregistrés dépendent d'une part de la durée d'extraction et du rapport solide/liquide matière végétale/solvant (Telli et al. 2010). D'autre part de la région de récolte, des conditions climatiques, de l'organe étudié (sommités et feuilles), de la maturité de la plante et de la période de récolte (Miliauskas et al. 2004).

6- Caractérisation des extraits de flavonoïdes et tanins

6-1- Caractères organoleptiques

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 17.

Tableau 17 - Caractères organoleptiques des extraits de flavonoïdes et tanins obtenus pour les espèces *L.stoechas* et *T.numidicus*

Extrait	Plante	Aspect	Couleur	Odeur
Flavonoïdes	<i>L.stoechas</i>	Poudre	Vert foncé	lavande
	<i>T.numidicus</i>	Poudre	Vert	Thym
Tanins	<i>L.stoechas</i>	Poudre	Vert	Lavande
	<i>T.numidicus</i>	Poudre	Vert	Thym

6-2- Dosage des flavonoïdes

Les analyses quantitatives des phénols totaux, ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage ($y = 0.0351x$), établie par la quercitine comme standard de référence (figure 18). Les valeurs obtenues sont exprimées en mg EQ/ g extrait (figure 19).

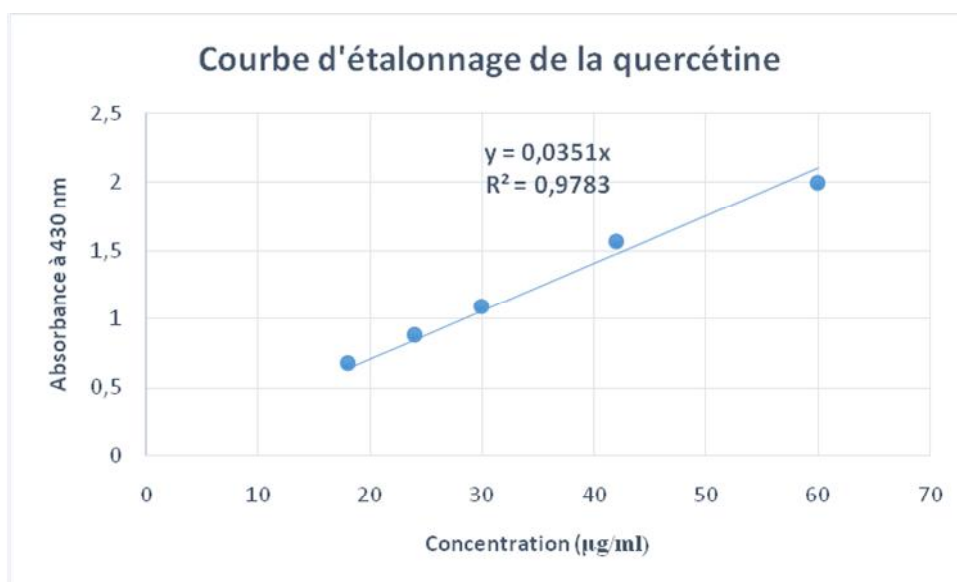


Figure 18 - courbe d'étalonnage de quercitine

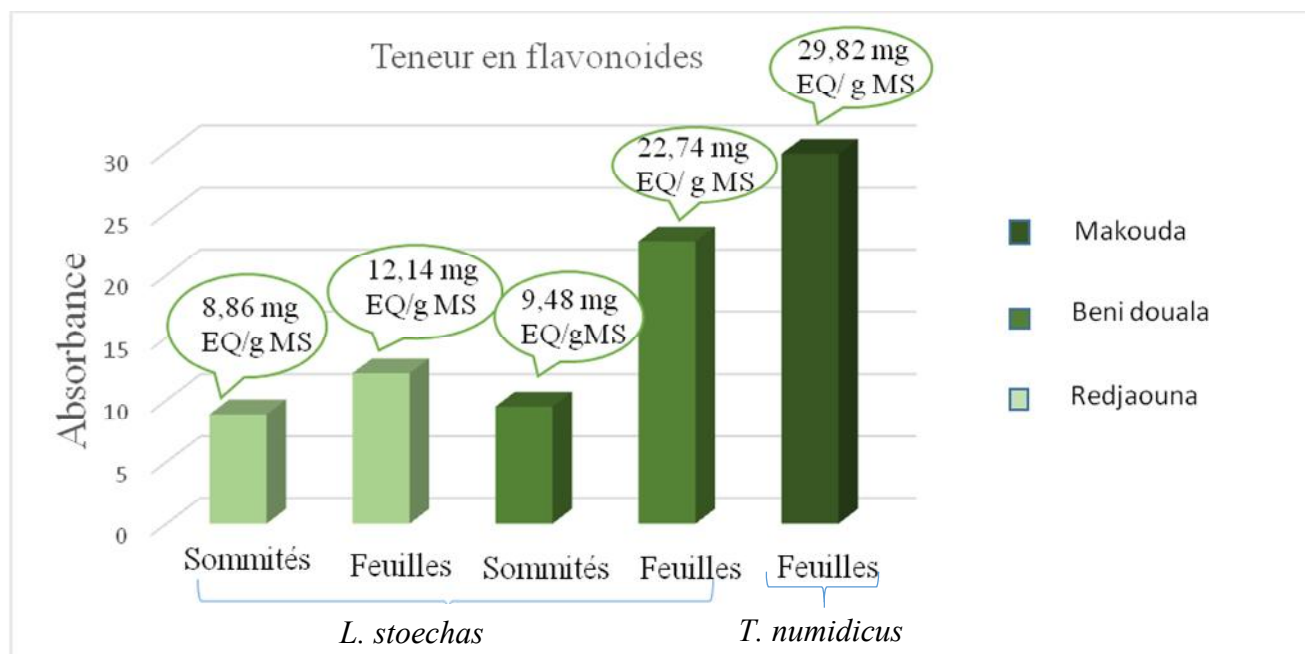


Figure 19- Teneur en flavonoïdes dans *L. stoechas* et *T. numidicus*

Les résultats représentés sur la figure (19) montrent que la teneur en flavonoïdes des feuilles de *L. stoechas* de la région de Beni Douala est (22.74 mg EQ/g extrait) nettement supérieure à celle de Redjaouna (12.14 mg EQ/g extrait) et que la teneur en flavonoïdes des feuilles de *T. numidicus* (29.82 mg EQ/g extrait) est supérieure à celle de *L. Stoechas*.

Toutefois, nous constatons que, quel que soit la région, la teneur en flavonoïdes des feuilles demeure supérieure à celle des sommités. Ceci peut être due au fait que les flavonoïdes sont synthétisés au niveau du chloroplaste et participent à la phase lumineuse de la photosynthèse comme transporteurs d'électrons qui a lieu dans les feuilles (**Bendif 2017**).

Par ailleurs, les variations enregistrées dans la teneur en flavonoïdes pour *L. stoechas* et *T. numidicus* dépendent essentiellement des conditions géographiques, saisonnières, pluviométriques ainsi que les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante (**Park et al. 2003**), la durée de conservation. Mais peuvent aussi être d'origine génétique (**Benabdelkader 2014**).

6-3- Résultats de l'analyse IR :

Les résultats de l'analyse Infra Rouge nous renseignent sur la complexité de la composition chimique des différents extraits obtenus. Les principales bandes d'absorption détectées sont résumées en annexe 2.

Interprétation des résultats :

➤ Flavonoïdes et tanins *T. numidicus* (plante sèche) :

Les bandes d'absorption relatives aux extraits de *T. numidicus* sont représentées dans le tableau 18.

Tableau 18 - Données des spectres infrarouge pour les flavonoïdes extraits du *T. numidicus* (plante sèche) récoltée mois de Mai 2019 et les tanins extraits du *T. numidicus* (plante fraîche) récoltée mois de Mai 2019.

Echantillon	Bandes d'absorption	Fonctions attribuées	Intensité du pic
1	3685,97	Alcool (-OH)	Moyenne
	2968,45	Acide (-COOH)	Moyenne
	1712,79	Cétone saturée (C=O)	Fine et intense
2	1458,18	Alcane (CH ₂)	Moyenne
	1251,8	Ether (C-O)	Moyenne
		Ester (C-O)	
	993,34	Alcène (CH-CH ₂)	Faible
	3421,72	Alcool (-OH)	Large et intense
	2935,66	Alcane (-CH ₂)	Moyenne
	1687,71	Alcène (C=C)	Moyenne et intense
	1458,18	Alcane (CH ₂)	Faible

1 : Flavonoïdes extraits du *T. numidicus* (plante sèche) récoltée mois de Mai 2019.

2 : Tanins extraits du *T. numidicus* (plante fraîche) récoltée mois de Mai 2019.

Le spectre IR de l'échantillon 1 montre une bande d'absorption fine et intense à 1712.79 cm^{-1} due au groupement carboxyle (C=O) présent dans la structure des flavonoïdes.

Le spectre IR de l'échantillon 2 montre une bande d'absorption large et intense à 3421.72 cm^{-1} due au groupement (O—H) présent dans la structure des tanins.

➤ Tanins de *L. stoechas* plante fraîche et sèche :

Les bandes d'absorption relatives aux extraits de tanins obtenus des feuilles fraîches et sèche de *L. stoechas* récoltés de Redjaouna et Beni douala sont regroupées dans le tableau suivant :

Chapitre 3 Résultats et Discussion

Tableau 19 - Données des spectres infrarouge pour les tanins extraits du *L. stoechas* (plante fraîche et sèche) récoltée mois de Mai 2019.

Echantillon	Bandes d'absorption	Fonctions attribuées	Intensité du pic
3	3425,58	Alcool (-OH)	Large et faible
		Acide (-COOH)	
	2933,73	Alcane (-CH ₂)	Fine et moyennement intense
	1689,64	Alcène (C=C)	Fine et intense
	1074,35	Alcool primaire	Large et intense
		Ether (C-O)	
	1049,28	Ether (C-O)	Large et intense
4	3350,35	Alcool (O-H)	Large et moyennement intense
		Alcène (C=C)	
	2935,66	Acide (-COOH)	Moyenne
	1687,71	Alcène (C=C)	Large et intense
	1456,26	Aromatique (C=C)	Moyenne
5	3439,08	Alcool (-OH)	Large et très intense
	2937,59	Acide (-COOH)	Faible
	1687,71	Acide (-COOH)	Large et moyennement intense
	1653	Alcène (C=C)	Large et moyennement intense
	1043,49	Ether (C-O)	Faible
6	3481,51	Alcool (-OH)	Large et intense
	1687,71	Alcène (C=C)	Large et intense
	1649,14	Alcène (C=C)	Large et très intense
	1273,02	Ether (C-O)	Faible
		Ester (C-O)	
		Acide (-COOH)	
	1035,77	Ether (C-O)	Faible

3 : Tanins de la région Redjaouna (plante sèche) récoltée mois de Mai 2019

4 : Tanins de la région Beni douala (plante sèche) récoltée mois de Mai 2019

5 : Tanins de la région Redjaouna (plante fraîche) récoltée mois de Mai 2019

6 : Tanins de la région Beni douala (plante fraîche) récoltée mois de Mai 2019

Les spectres IR des poudres de tanins extraits des feuilles sèches de *L. stoechas* de Redjaouna et Béni douala montrent des bandes d'absorption intenses respectivement : 1689.64 et 1687.71 cm⁻¹ qui correspondent à la présence d'une double liaison (C=C) du noyau aromatique et une bande large et intense lue respectivement à 1074.35 cm⁻¹ et 3350.35 cm⁻¹ attribuée au groupement hydroxyle (O—H) des tanins.

Chapitre 3 Résultats et Discussion

Les spectres IR des tanins extraits des feuilles fraîches de *L. stoechas* de Redjaoua et Benidouala montrent des bandes d'absorption intenses détectées respectivement à 1653 cm^{-1} et 1649.14 cm^{-1} correspondant à la présence d'une double liaison ($\text{C}=\text{C}$) du noyau aromatique. Ainsi qu'une bande large et intense détectée respectivement à 3439.08 cm^{-1} et 3481.51 cm^{-1} liée au groupement hydroxyle ($\text{O}-\text{H}$) des tanins.

7- Formulations pharmaceutiques

7-1- Contrôle physico-chimique des Suppositoires

Le facteur de déplacement a été calculé pour la base hydrophobe (Suppocire), les résultats bruts obtenus sont présentés en annexe 3 et résumés dans le tableau 20.

Tableau 20 - Facteurs de déplacement et masses et des suppositoires obtenus pour une base hydrophobe

	Mt = X (g)	P (g)	Y (g)	F
Tanins (<i>L. stoechas</i>)	9,3986	0,1	9,3882	1,104
Tanins (<i>T. numidicus</i>)	9,3986	0,1	9,3962	1,024
Flavonoïdes (<i>L. stoechas</i>)	9,3986	0,1	9,4644	0,342
Flavonoïdes (<i>T. numidicus</i>)	9,3986	0,1	9,4518	0,450
HE (<i>T. numidicus</i>)	5,5679	0,06	5,5827	0,852

Les résultats présentés sur le tableau 20, montrent que le facteur de déplacement est proche de l'unité dans le cas des tanins des deux plantes ainsi que pour l'HE du *T. numidicus*. Par contre ces valeurs sont nettement inférieures à 1 pour le cas des flavonoïdes extraits des deux plantes.

De ce fait, nous pouvons déduire que le PA ne déplace pratiquement pas l'excipient. Donc il ne serait pas nécessaire de tenir compte de ce facteur lors de la fabrication de différents suppositoires. Ainsi la différence entre les valeurs des facteurs de déplacement des différents extraits peut être due à la différence de leur densité pour la même base (Suppocire).

7-2- Contrôle des suppositoires

7-2-1- Tests organoleptiques

Les résultats des tests organoleptiques sur les différents suppositoires formulés sont regroupés dans le tableau 21.

Chapitre 3 Résultats et Discussion

Les résultats présentés dans le tableau 21 montrent que les suppositoires formulés ont une couleur caractéristique de chacun des extraits incorporés.

Les meilleures notations visuelles sont marquées pour les suppositoires à base des tanins extraits des deux plantes ainsi que les flavonoïdes de *L.stoechas*. Tandis que les suppositoires à base des flavonoïdes de *T.numidicus* et de l'huile essentielle présentaient des petites fissures cela peut être dû à la mauvaise manipulation (refroidissement trop brutal, un démoulage prématuré ou trop tardif et un mauvais raclage) (Le Hir 1974).

Tableau 21– Résultats des tests organoleptiques sur les différents suppositoires formulés

Suppositoires			
Extrait	Plante	Couleur	Aspect
Placébo		Blanche	aspect lisse sans fissuration sans grumeaux
Tanins	<i>L.stoechas</i>	Jaune	aspect lisse sans fissuration sans grumeaux
	<i>T.numidicus</i>	Vert foncé	aspect lisse sans fissuration sans grumeaux
Flavonoïdes	<i>L.stoechas</i>	Jaune clair	aspect lisse sans fissuration sans grumeaux
	<i>T.numidicus</i>	Vert	aspect lisse avec des petites fissures sans grumeaux
HE	<i>T.numidicus</i>	Blanche	aspect lisse avec des petites fissures sans grumeaux

7-2-2- Uniformité de masses

Les différentes masses des suppositoires sont résumées dans le tableau présenté en annexe 3.

Nous observons que les masses moyennes des différents suppositoires préparés à base de l'HE et des extraits secs sont proches, ce qui indique une bonne homogénéité des formulations. En effet, toutes les masses évaluées sont incluses dans l'intervalle [$M_{moy} - 5\%$; $M_{moy} + 5\%$] préconisé par la pharmacopée (**Pharmacopée Européenne**).

7-2-3- Temps de fragmentation

Les temps de fragmentation des différents suppositoires formulés à base des différents extraits sont résumés en annexe 3.

Nous constatons que tous les suppositoires formulés ont un temps de fragmentations très court qui varie de 3 à 8 min. Parmi ces suppositoires, il est à noter que les suppositoires formulés à base des extraits de flavonoïdes et de tanins de *L. stoechas* présentent les meilleurs temps de fragmentation.

7-3- Contrôle physico-chimique des pommades

Nous avons préparé au total cinq pommades à base des différents extraits (flavonoïdes, tanins et HE).

7-3-1- Caractères macroscopiques, homogénéité et pH

Les résultats de la caractérisation organoleptique, de l'homogénéité et de la mesure du pH des pommades formulées sont regroupés dans le tableau 22.

Tableau 22- Résultats du contrôle de qualité des pommades formulées à base des différents extraits

Pommades						
Extrait	Plante	Couleur	Odeur	Consistance	Homogénéité	pH
Tanins	<i>L. stoechas</i>	Vert foncé	lavande	Semi solide	Bonne	4,97
	<i>T. numidicus</i>	Jaune verdâtre	Thym	Semi solide	Très bonne	5,76
Flavonoïdes	<i>L. stoechas</i>	vert clair	lavande	Semi solide	Bonne	5,18
	<i>T. numidicus</i>	vert clair	Thym	Semi solide	peu homogène	5,17
HE	<i>T. numidicus</i>	Blanche	Thym	Molle	Très bonne	5,62

Nous constatons que la pommade préparée à base de l'huile essentielle de *T. Numidicus* présente les meilleures caractéristiques organoleptiques.

Les pommades préparées à base des tanins extraits de *L. stoechas* et de *T. numidicus* ont une odeur caractéristique des deux plantes, une consistance semi solide et des couleurs différentes. Tandis que les pommades préparées à base des flavonoïdes extraits de *L. stoechas* et de *T. numidicus* présentent une odeur caractéristique des deux plantes, une consistance semi solide et des couleurs identiques.

Les pommades obtenues avec les tanins extraits des deux plantes, l'HE de *T. numidicus* et les flavonoïdes extraits de *L. stoechas* présentent une bonne homogénéité. Tandis que celle préparée avec les flavonoïdes extraits du *T. numidicus* présente une mauvaise homogénéité due probablement à l'hétérogénéité de la granulométrie des particules de ces extraits.

Les valeurs du pH enregistrées pour les différentes pommades se situent dans l'intervalle de pH recommandé pour les pommades dermiques (4.2 - 5.8) (**sanogo et al. 2006**).

7-3-2- Caractères microscopiques

Les observations au microscope photonique des cinq pommades formulées à base des différents extraits sont représentées sur la figure 20.

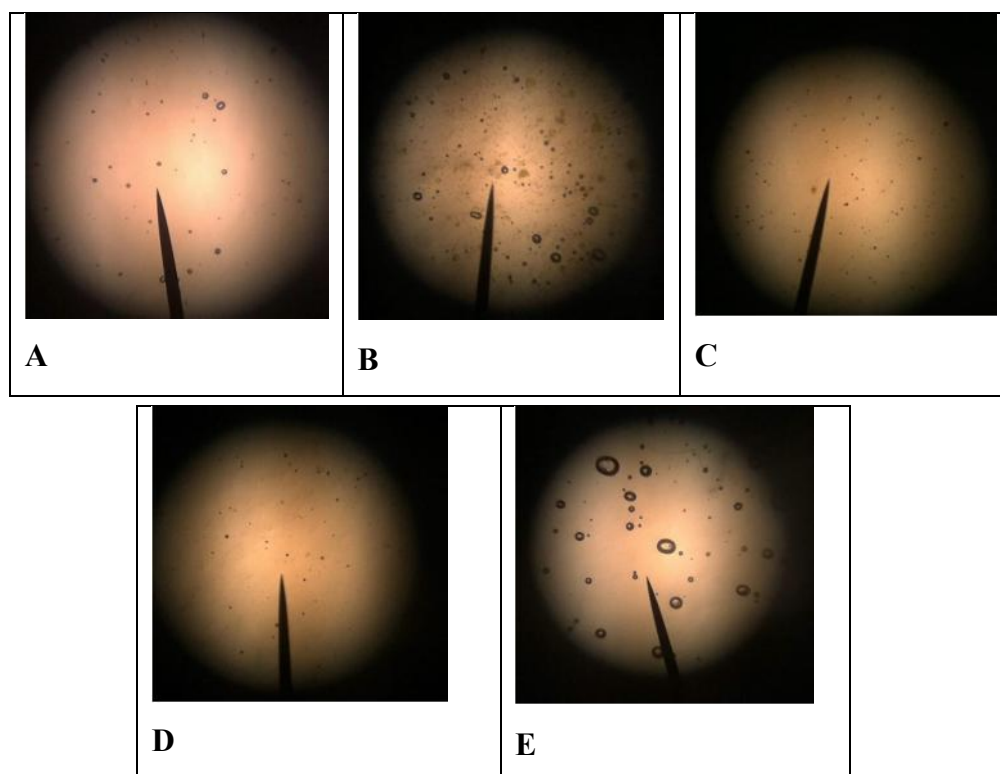


Figure 20- Examen microscopique des pommades préparées à base de **A** : flavonoïdes *L. soechas*, **B** : tanins *L. soechas*, **C** : flavonoïdes *T. numidicus*, **D** : tanins *T. numidicus*, **E** : huile essentielle *T. numidicus*.

La figure 20 montre que la répartition granulométrique des particules (flavonoïdes et tanins) dans les pommades **A** et **B**, est hétérogène. Tandis que les pommades **C** et **D** ont une bonne répartition granulométrique des extraits dont la taille des particules est petite. Concernant la pommade **E**, la taille des gouttelettes d'huile essentielle est hétérogène donc nous pouvons conclure que la dispersion n'est pas homogène.

7-4- Contrôle physico-chimique des crèmes

7-4-1- Examen macroscopique, homogénéité et pH

Les résultats de la caractérisation organoleptique, de l'homogénéité et de la mesure du pH des crèmes formulées sont regroupés dans le tableau 23.

Chapitre 3 Résultats et Discussion

Tableau 23- Résultats du contrôle de qualité des crèmes formulées à base des différents extraits

Formule	Couleur	Odeur	Consistance	Homogénéité	pH
1	Blanche	Inodore	Crémeuse	Bonne	6,74
2	Blanche	Thym	Crémeuse	Bonne	6,66
3	Blanche	Lavande	Crémeuse	Très bonne	6,73
4	Blanche	Inodore	Crémeuse	Bonne	6,88
5	Blanche	Thym	trop consistante	Très bonne	6,95
6	Blanche	Lavande	Fluide	Phénomène de crémage	6,86
7	Blanche	Inodore	Fluide	Phénomène de crémage	6,98
8	Blanche	Thym	trop consistante	Très bonne	6,73
9	Blanche	Lavande	Fluide	Phénomène de crémage	6,82

1 : Crème témoin préparée avec l'huile d'amande douce

2 : Crème à base de l'HE de *T.numidicus* et huile d'amande douce

3 : Crème à base de l'HE de *L.stoechas* et huile d'amande douce

4 : Crème témoin préparée avec l'huile de vaseline

5 : Crème à base de l'HE de *T.numidicus* et huile de vaseline

6 : Crème à base de l'HE de *L.stoechas* et huile de vaseline

7 : Crème témoin préparée avec l'huile d'amande douce + huile de vaseline

8 : Crème à base de l'HE de *T.numidicus* et huile d'amande douce + huile de vaseline

9 : Crème à base de l'HE de *L.stoechas* et huile d'amande douce + huile de vaseline

La couleur de toutes les formulations est blanche avec une forte odeur caractéristique des huiles essentielles de *L. stoechas* et *T. numidicus*.

La consistance des formulations 2 et 3 est estimée bonne. Ceci est dû probablement aux propriétés de l'excipient utilisé (huile d'amande douce). Du fait qu'elle est riche en corps gras qui sont onctueux au toucher et améliorent la texture des préparations dans lesquels sont incorporés (**Tremolière et al. 1984**).

Tandis que, les formulations 5 et 8 étaient trop consistantes. Ceci probablement lié à l'irrégularité de la vitesse d'agitation constatée durant la conduite de l'opération de formulation. En effet, l'agitateur à hélices avait une défaillance d'ordre technique.

Alors que, les formulations 6 et 9 étaient fluides. Leur consistance peut être expliquée par l'effet de l'association de l'huile d'amande douce et l'huile de vaseline. Ceci est dû à la différence de polarité entre les deux huiles vu que l'huile de vaseline n'est pas riche en acide gras ce qui explique la mauvaise homogénéité.

Les formulations 6 et 9 présentent une instabilité engendrant un phénomène de crémage. Tandis que les formulations 2, 3, 5 et 8 présentent une bonne stabilité. Le phénomène de crémage constaté est sans doute lié à la faible densité de la phase huileuse (phase dispersée) ainsi qu'aux forces d'attraction intermoléculaires (**Laurine Caullet 2018**).

Les mesures du pH montrent que toutes les formulations sont presque neutres, pH entre 6.66 et 6.98. Ce pH est assez proche du pH cutané ce qui expliquerait leur bonne tolérance cutanée.

7-4-2- Examen microscopique

Les photos des observations microscopiques effectuées sur les crèmes formulées sont rassemblées dans la figure 21.

Les photos montrent la présence de deux phases au sein des crèmes formulées. Une phase continue (phase aqueuse) et une phase discontinue dont les gouttelettes d'huiles essentielles des deux plantes sont emprisonnées dans la phase huileuse (huile d'amande et /ou huile de vaseline) ainsi qu'une distribution de taille des gouttelettes d'huiles très variée. En effet, les gouttelettes sont nombreuses et de tailles variables, donc nous pouvons supposer la formation d'une émulsion polydispersée.

Nous remarquons pour les formulations 2 et 9, la présence de phénomènes de floculation qui résultent de l'agrégation des gouttelettes dispersées dans la phase continue sous l'action d'interactions attractives telles que les forces de Van Der Waals (**Laurine Caullet 2018**).

Nous constatons une bonne distribution des gouttelettes pour les formules (1, 3, 4, 5, 6, 7, 8).

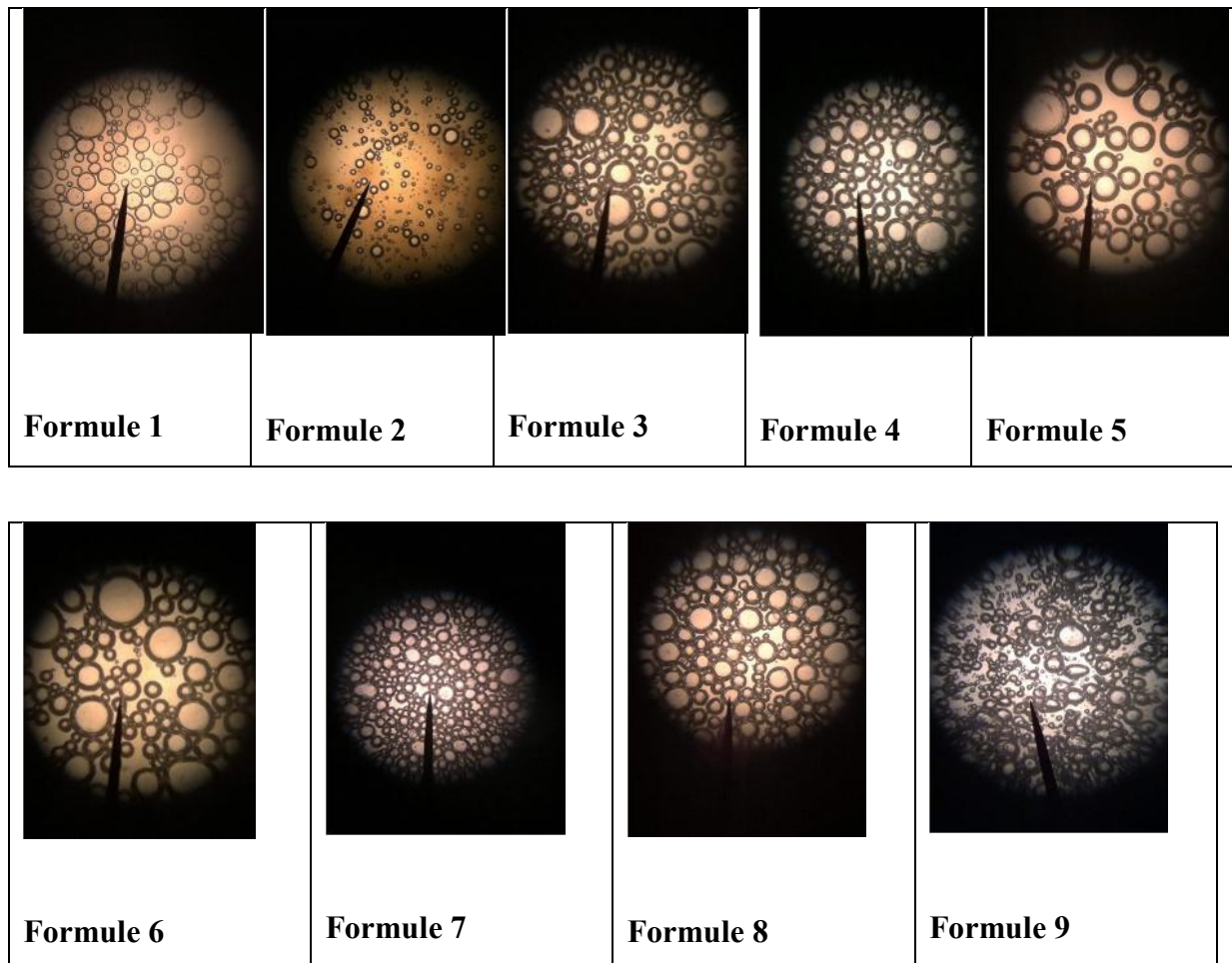


Figure 21 - Photos des observations microscopiques effectuées sur les crèmes formulées
(Grossissement de l'objectif x100)

Conclusion générale

Conclusion Générale et Perspectives

L'objectif de notre étude était la préparation et la caractérisation de formulations pharmaceutiques à base des extraits de plantes médicinales de la Kabylie.

Notre étude a porté sur les deux espèces *Lavandula stoechas* et *Thymus numidicus* provenant de différentes localités de Tizi-Ouzou.

Les échantillons des plantes récoltées possèdent une teneur en eau assez importante d'où la nécessité d'effectuer une opération de séchage avant l'extraction des huiles essentielles ou des métabolites secondaires.

L'évaluation du rendement d'extraction en huiles essentielles, flavonoïdes et tanins montre une variabilité importante qui dépend des conditions géographiques, de la période de récolte, de l'organe étudié (sommités et feuilles) et de la maturité de la plante.

Les résultats de la caractérisation par CG/SM des huiles essentielles extraites de *Lavandula stoechas* et *Thymus numidicus* montrent que la composition chimique est affectée par l'espèce de la plante, la localité de récolte ainsi que les conditions géographiques et météorologiques.

En effet, le chémotype de l'huile essentielle du *Thymus numidicus* est de type carvacrol (27,66 à 36,29 %) et linalol (17,23 à 33,62 %). Celui de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* est de type fenchone (20,49 à 32,18 %) et camphre (15 à 23,07 %) pour les récoltes de Beni douala et de Redjaouna.

Les résultats de l'étude antibactérienne montrent que l'huile essentielle de *Thymus numidicus* possède une excellente action inhibitrice vis-à-vis des deux bactéries à Gram positif (staphylococcus) et Gram négatif (*Escherichia coli*).

A travers les résultats présentés dans cette étude, nous avons constaté que l'espèce *Thymus numidicus* possède un meilleur rendement en huiles essentielles, tanins et flavonoïdes ainsi qu'un large spectre d'activité antimicrobienne par rapport à l'espèce *Lavandula stoechas*.

Les préparations pharmaceutiques formulées ont pour but de traiter les infections microbiennes. Les résultats des tests de contrôle qualité effectués sur les différentes formulations confirment les caractéristiques suivantes :

- Des caractères organoleptiques jugés acceptables en se référant à la pharmacopée européenne.
- Un pH assez proche de celui cutané, ce qui expliquerait leur bonne tolérance cutanée.

Parmi les deux excipients utilisés pour la formulation des crèmes dermiques à base des huiles essentielles, l'huile d'amande douce semble la mieux recommandée pour la formulation des crèmes.

Par ailleurs, notre travail expérimental mérite d'être complété par :

- La détermination de la composition chimique des flavonoïdes et des tanins par l'analyse LC/SM serait intéressante.
- Evaluation des CMI et CMB des huiles essentielles.
- Contrôle de la qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques formulées.

Les résultats présentés dans ce modeste travail ne constituent qu'une étape préliminaire dans la recherche de substances naturelles biologiquement actives. Des essais de formulations pharmaceutiques à partir des extraits de la *Lavandula Stoechas* et *Thymus Numidicus* peuvent constituer un créneau très prometteur à l'avenir pour les industries pharmaceutiques et cosmétiques en Algérie.

GLOSSAIRE

Antibactérien : Qui détruit les bactéries

Antifongique : Se dit d'un médicament qui agit contre les infections provoquées par les champignons ou les levures parasites.

Anti-inflammatoire : qui fait dégonfler et diminuer l'irritation. La plus part des antiinflammatoires sont aussi des antidouleurs.

Antioxydant : Produit qui empêche l'oxydation de la matière.

Antiseptique : se dit d'un agent, d'un médicament propre à prévenir les infections.

Antispasmodique : se dit d'un médicament qui calme les spasmes (contraction musculaire brusque).

Dicotylédone : C'est une plante angiosperme dont la graine dispose, comme son nom l'indique, de deux cotylédons.

Eczéma : syndrome caractérisant plusieurs maladies cutanées, d'origine immunallergique mais de mécanismes variables, se manifestant, dans sa forme aigue, par des lésions rouges.

Epilepsie : C'est une maladie neurologique qui se traduit par une activité électrique anormale du cerveau. Les causes sont dans certains cas génétiques, mais dans la plupart des cas elles ne sont pas identifiées.

Expectorant : qui calme la toux et favorise l'expulsion des sécrétions bronchiques.

Insecticides : Pouvoir de tuer des insectes.

Ulcère variqueux : C'est une plaie cutanée qui apparaît généralement au niveau des jambes, chez les patients ou des patientes souffrant de troubles circulatoires d'origine veineuse.

Bactéries : organismes vivants unicellulaires et procaryotes présents dans tous les milieux. Elles ont une taille moyenne de 0,5 à 2 µm de large et 2 à 6 µm de long.

Staphylococcus aureus : Bactérie à Gram positif. Elle pousse dans les milieux usuels à une température optimale de 37°C et à un pH optimum de 7,5 et peut être à l'origine d'infections cutanées superficielles ou profondes.

Escherichia coli : Bacille à gram négatif. Sa taille varie en fonction des conditions de croissance. Cette bactérie peut croître dans des conditions aérobies ou anaérobies.

GLOSSAIRE

Gélose de Mueller-Hinton : Reconnue comme étant le milieu de référence pour l'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques et aux sulfamides (**Jean loup et al 1992**). Elle est constituée de :

Pour 1 litre de milieu :

- Hydrolysât acide de caséine 17,5 g
- Infusion de viande.....2,0 g
- Amidon soluble 1,5 g
- Agar agar bactériologique.....17,0 g
- pH du milieu à 25°C : $7,3 \pm 0,2$.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

B

- Bahrun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J. Cazin M., Cazin J.C and Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*. 46 :1086-1089.
- Basli. A, Chibane. M, Madani. K, Oukil. N (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie* (10) pp 2–9.
- Bayala Bagora (2014). Etude des propriétés anti oxydantes, anti-inflammatoires, anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal.
- Belmont Maud (2013). *Lavandula angustifolia* M., *Lavandula Latifolia* M., *Lavandula x intermedia* E : Etudes botaniques , chimique et therapeutique. Thèse de Doctorat. Université JOSEPH FOURIER. Grenoble. pp 15.
- Benabdelkader Tarek (2012). Biodiversité, Bioactivité et Biosynthèse des Composes Terpéniques Volatils des Lavandes Ailées, *Lavandula stoechas* Senu Lato, un Complexe d'Espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique. Thèse de Doctorat. Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger, Algérie & de l'Université Jean-Monet de Saint-Etienne, France.
- Benaissa akila (2011). Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant synthétique et d'un tensioactif. Thèse de doctorat. Université Mentouri, Constantine.
- Benayache Samir (2013). Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus* Poiret. Mémoire de Magister en Chimie Organique. Université CONSTANTINE 1. pp 5.
- Bendif Hamdi (2017). Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr. Thèse de doctorat. Ecole Normale Supérieure de Kouba-ALGER.

Références bibliographiques

- Benzeggouta Naïrouz (2015). Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées. Thèse de Doctorat. Université Mentouri-Constantine.
- Bourkache kathia et Ramdani Saida (2016). Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et des tanins extraits de la lavande stoechas. Mémoire de Master, UMMTO.
- Bousbia Nabil (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger.

C

- Chenni Mohammed (2016). Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic « *Ocimum basilicum* L.» extraite par hydro-distillation et par micro-ondes. Thèse de doctorat. Université de Constantine 1.
- Chioukh Saloua et Djaroun Fatiha(2017). Formulation de pommades dermiques à base d'extraits de lavandula stoechas. Mémoire de Master. UMMTO

D

- Dekar souad 2007. Influence de quelques principes actifs sur les propriétés physico chimiques des glycérides hémisynthétiques. Mémoire de Magister en chimie appliquée. Université Ferhat Abbas- SETIF.
- Denis Wouessi Djewe (2012). Cours de pharmacie galénique : Formes galéniques administrées par voie cutanée. Université Joseph Fourier de Grenoble.
- Dif, M. Benyahia, F. Toumi Benali , M. Rahmani, S. Bouazza (2016).Phenolic content and antioxidant activity of three algerian species of lavenders. Lavoisier SAS, pp 1-6.
- Dimitrios Georgiou, Samah Djeddi, Helen Skaltsa (2015). Secondary metabolites from *Thymus numidicus* Poiret. *Biochemical Systematics and Ecology* 59 pp 104-106.
- Djeddi Samah, Elina Yannakopoulou, Kyriakos Papadopoulos, Helen Skaltsa. (2015). Activités anti-radicalaires de l'huile essentielle et des extraits bruts de *Thymus numidicus* Poiret, Algérie. *Afrique SCIENCE* 11(2) pp 58-65.
- Djefjel Hana Latifa (2017). Contribution à l'étude phytochimique de quelques métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes, alcaloïdes) du calice de *Carlina acaulis*

Références bibliographiques

de la région de Tlemcen. Mémoire de master en biologie. Université AboubekrBelkaid de Tlemcen.

- Djeridane, M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocke, N. Vidal (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food Chemistry, vol.97, issue.4, pp.654-660.
- Donatien Kone (2009). Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes - extraction, identification d'alcaloïdes caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.
- Duygu Bayrak, Gulden Okmen, Ali Arslan (2017).The Biological Activities of Lavansula Stoechas L. against Food Pathogens. International Journal of Secondary Metabolite, vol 4: 3 pp 270-279.

E

- Encyclopédie des plantes : <https://www.aujardin.info/plantes/famille-lamiaceae.php>
- Esra Kupeli, Erdem Yesilada (2003). Anti-inflammatory and antinociceptive activity of taxoids and lignans from the heartwood of Taxus baccata L. Journal of Ethnopharmacology, vol.89, issue.2-3, pp.265-270.

F

- Feknous .S, Saidi.F, Mohammed Said.R. (2013). Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (Melissa officinalis L.). Revue « Nature & Technologie ». A- Sciences fondamentales et Engineering, n° 11. Pages 07 à 13.
- François Nsemi Muanda. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat. Ecole doctorale SESAMES.

G

- Gaborieau Benoit (2015). Etat des lieux sur l'aromathérapie dans les officines: enquête sectorielle dans le département de la Vienne. Thèse de doctorat. Université de POITIERS, France.

Références bibliographiques

- Gainard Audrey (2016). Lavandes et Lavandin, utilisation en aromathérapie. Enquête auprès des pharmaciens d'officine. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux. France.
- Gaussen, H., Leroy, H.F., 1982. Précis de botanique, végétaux supérieurs, 2eme Ed., 426
- Ghedira.K (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. Laboratoire de Pharmacognosie, Tunisie. Phytothérapie Numéro 4: 162-169 Springer.
- Gomez-Caravaca, M.Gomez-Romero, D.Arreaez-Roman, A.Segura-Carretero, A.Fernandez-Gutiérrez (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, vol.41, issue.4, pp.1220-1234
- Gravlo Laure (2017). Reformulation d'un produit historique : la pommade mercier. Thèse de Doctorat en pharmacie. Université de Marseille, France.

H

- Hadri Nassira (2015). Etude phytochimique et activité antioxydante d'extraits de plantes *Dedum Villosum* L (Orpin.) et *Anabasis Articulata* Moq. (Forsk). Thèse de doctorat. Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen.
- Hélène Lehmann (2013). Le médicament à base de plantes en europe, statut, enregistrement, contrôles. Thèse de Doctorat. Université de Strasbourg.

I

- Ikan Raphel (1991). « Natural product ». Academic Press, INC.A laboratory guide. (2^eed.) pp 1-3.

J

- Jean-Jacques Macheix, Annie Fleuriet, Christian Jay-Allemand (2005). Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Edition : Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes.
- Jean loup avril, henry dabernat, françoisdenis et henrimonteil (1992). Bactériologie clinique 2^{ème} édition, édition marketingparis.

Références bibliographiques

K

- Kabouche Ahmed (2005). Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae. Thèse de doctorat. Université MENTOURI-CONSTANTINE. Faculté des sciences exactes.
- Kabouche.Z, Boutaghane.N, Laggoune.S, Kabouche.A, Ait-Kaki.Z, Benlabed.K (2005). Comparative antibacterial activity of five lamaiceae essential oils from Algeria. The international journal of aromatherapy 15. Pp 129-133.
- Kalla Ali (2012). Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : Pituranthos scoparius, Rantherium adpressum et Traganum nudatum. Thèse de Doctorat en Sciences. Option : phytochimie. Université MENTOURI – CONSTANTINE.
- Kaloustian J. et Hadji-Minaglou F. (2012). Pharmacie galénique. La Connaissance Des Huiles Essentielles□: Qualitologie et Aromathérapie, pp129–153.
- Kodifa Nabil (2017). Analyse de quelques paramètres éco-morphométriques chez trois espèces de Lavande : cas de la wilaya de Tlemcen. Mémoire de master en Foresterie. Université de TLEMCEM. pp 8
- Krief Sabrina (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de Doctorat. Museum National d'Histoire Naturelle - MNHN PARIS.

L

- Lamiae Bachiri, Ghizlane Echchegadda, Jamal Ibijbijen, Laila Nassiri (2016). Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : « Lavandula stoechas L. et Lavandula dentata L.».European Scientific Journal. Edition vol.12, No.30 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857-7431.
- Laëtitia Muther (2015). Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant. Thèse de Doctorat. Faculté de pharmacie. Université d'Auvergne.
- Lassine Daouda (2011). Formulation de pommade antalgique et anti-inflammatoire à base de Securidaca longepedunculata Fresen (Polygalaceae). Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Bamako.

Références bibliographiques

- Le Hir, J.C. Chaumeil et D. Brossard (2009). Pharmacie galénique ; bonnes pratiques de fabrication des médicaments (9e édition).
- Luicita Lagunez Rivera (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de TOULOUSE, France.
- Formes pharmaceutiques (Tome 3). Les excipients, adjuvants, colorants et aromatisants. <https://fr.slideshare.net/fibustier/chapitre-6-l-excipients>

M

- Magazine scientifique : Top Santé ; <https://www.topsante.com/medecines-douces/phytotherapie/thym>
- Martine Tchaida (2004). Essais de mises au point de formulation de crèmes et laits corporels à base du beurre de karité du Burkina Faso. Thèse de doctorat. Université de Ouagadougou, Burkina Faso.
- Menaceur Fouad (2015). Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigeron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier. Thèse de Doctorat en Science Agronomique. Ecole nationale supérieure agronomique El-HARRACH – ALGER. pp 35
- Messara Yasmine (2018). Valorisation des activités biologiques, thérapeutiques et environnementales des plantes médicinales de la Kabylie. Thèse de doctorat. UMMTO
- Michael Antolovich, Paul Prenzler, Kevin Robards and Danielle Ryan (2000). Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. THE ANALYST, pp989 -1009
- Miliauskas, P.R. Venskutonis, T.A. van Beek (2014). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry 85, pp 231–237.
- Montagnac (2010/2011). Les Formes Pharmaceutiques. Cours de pharmacie galénique.

N

- Nguyen T.K.O, Jamali A., Lanoue A., Gontier E. and Dauwe R (2005). Unravelling the architecture and dynamics of tropane alkaloid biosynthesis pathways using metabolite correlation networks. Phytochemistry, 116:94-103.

Références bibliographiques

O

- Ouis Naouel (2015). Etude chimique et biologique des huiles essentielles de Corlandre, de Fenouil et de Persil. Thèse de Doctorat. Université d'ORAN 1, faculté des sciences exactes et appliquées.

P

- Park H. J. et Cha H. C. 2003. Flavonoids from leaves and exocarps of the grape Kyoho Korean journal of biological society, (7) pp 327-330.
- Pharmacopée européenne 6^e édition (2008).

R

- Rahal, A. Benslimani, H. Tali-Maamar. M. F. K. Missoum. A. Aboun. H. Amari (2014). Standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale (Médecine humaine. 7^{ème} édition.
- Ramtani Samira et Madi Chafika (2014). Élaboration d'un suppositoire à base de PCL/PEG chargé d'ibuprofène. Mémoire de Master en génie des procédés. Université Abderrahmane MIRA-Bejaïa.
- Randia Roger (2010). Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar « *Cinnamosma fragrans* », Alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo, Madagascar.

S

- Salamon Kone (1994). Contribution à la formulation de pommades dermiques à base d'extraits de plantes à propriétés antifongiques et antibactériennes. Thèse de Doctorat. Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali E.N.M.P.
- Sanogo R., Konipo.A, Maiga A., Arama A., Diallo D., Bougoudogo F. (2006). Formulation D'une Pommade Dermique à Base D'extraits De Mitracarpus scaber (ZUCC). Pharm. Méd. Trad. Afr, Vol.XIV.pp.159-17.
- Saoudi Nesrine et Talantikite Zakia (2014). Formulation et évaluation d'un suppositoire de camptothécine. Mémoire de Master. Spécialité : Science et technologie du médicament. Université A. Mira-Bejaia.

Références bibliographiques

- Scheidemann.P and Wetzel.A (1997).Identification and characterization of flavonoids in the root exudate of Robinia pseudoacacia. Trees, 11(5) pp 316-321.
- Sereme A, Millogo-Rasolodimby J, Guinko S, Nacro.M. (2008). Propriétés thérapeutiques des plantes à tanins du Burkina Faso, Pharmacopée et Médecine traditionnelle Africaines, 15 pp 41 – 49.

T

- Taleb-Toudert Karima (2015). Extraction et caractérisation des HE de 10 plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leur effet sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de Doctorat. UMMTO.
- T.Dob, D.Dahmane, M.Agli et C.Chelghoum (2006). Essential Oil Composition of *Lavandula stoechas* from Algeria. Pharmaceutical biology, 44 :1, pp 60-64.
- Tedjani Karim (2016). Lexique des plantes/ Français- Kabyle : <http://www.nouara-algerie.com/2016/06/lexique-des-plantes-francais-kabyle.html>
- Telli. A, Mahboub. N, Boudjeneh. S, Siboukeur O. E. K et Moulti-mati. F (2010). Optimisation des conditions d'extraction des polyphenols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) Variété Ghars. Vol. 2, pp 107-114.
- Thomas Boulanger (2014). Les Formes Pharmaceutiques et les voies d'administration. Cours de Pharmacie Galénique.
- Touhami Aicha (2017). Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar ANNABA.
- Trémolières, J. Serville, Y. Jacotot, R. et Dupin, H. (1984). Les bases de l'alimentation. In manuel d'alimentation humaine Tome 1.Ed. ESF.
- Twidell E. K. Wagner J.J. et Thiex Nancy J (2002). Use a Microwave Oven to determine moisture content of frages ExEx8077. Extension Extra. Paper 282.

Y

- Yazag Kamel et Baik fatima (2011). Extraction et caractérisation physico-chimiques des flavonoïdes des feuilles de Citrus Lemon. Mémoire de fin de cycle. Option : Génie chimique. Université Abderrahmane MIRA de Bejaïa.

Références bibliographiques

Z

- Zeghib Assia (2013). Etude phytochimique et activités antioxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémique du genre Thymus. Thèse de Doctorat en Sciences. Université de CONSTANTINE 1. Faculté des Sciences exactes.

Annexes

Annexe 1

RT: 7.61 - 30.65

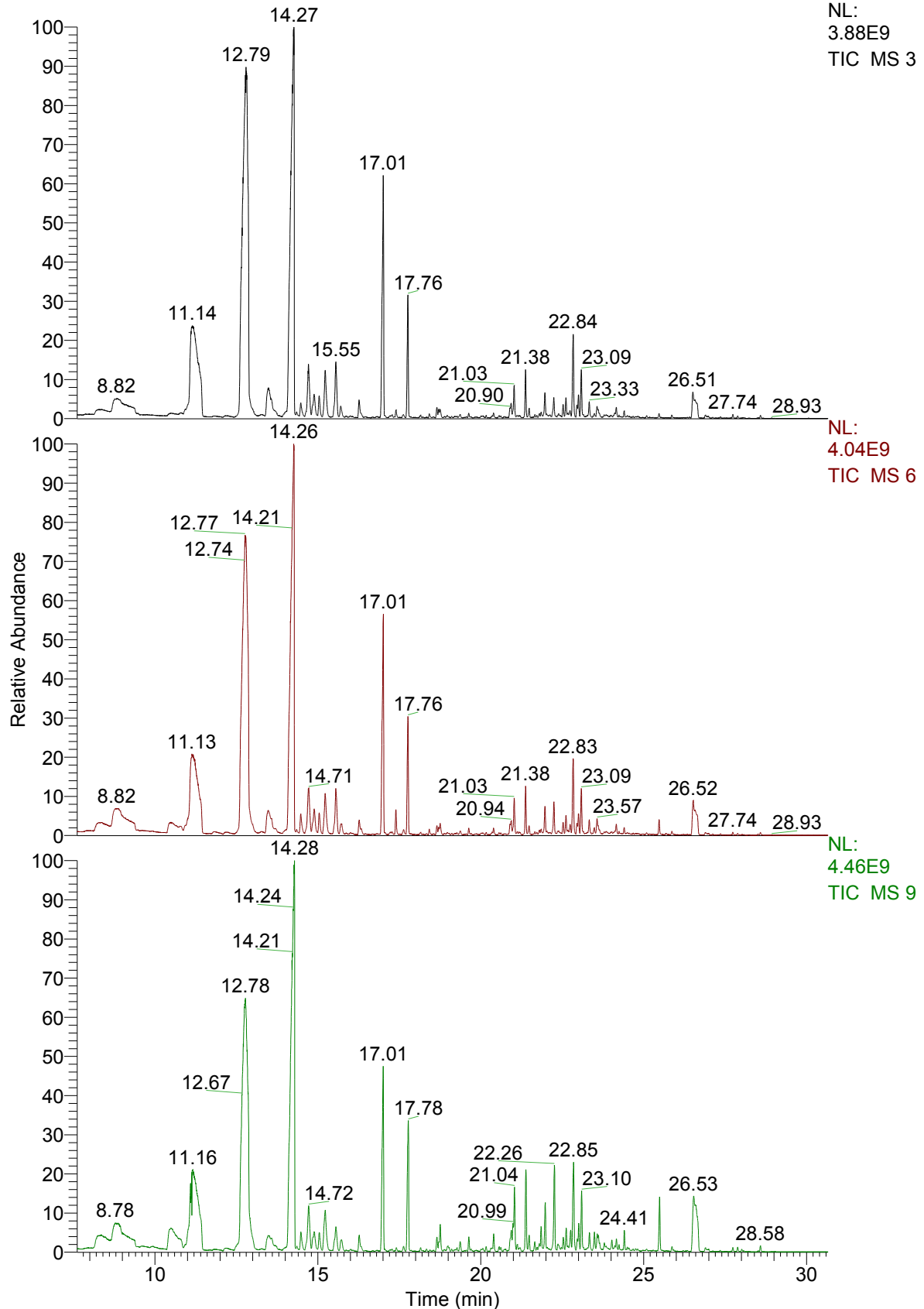


Figure 1- Chromatogrammes de l'huile essentielle des parties aériennes d'échantillons de *Lavandula Stoechas* récoltés à Redjaouna pour différents mois (MS3 : Avril2019 ; MS6 : Mai2019 et MS9 : Juin 2019)

Annexe 1

RT: 7.61 - 30.65

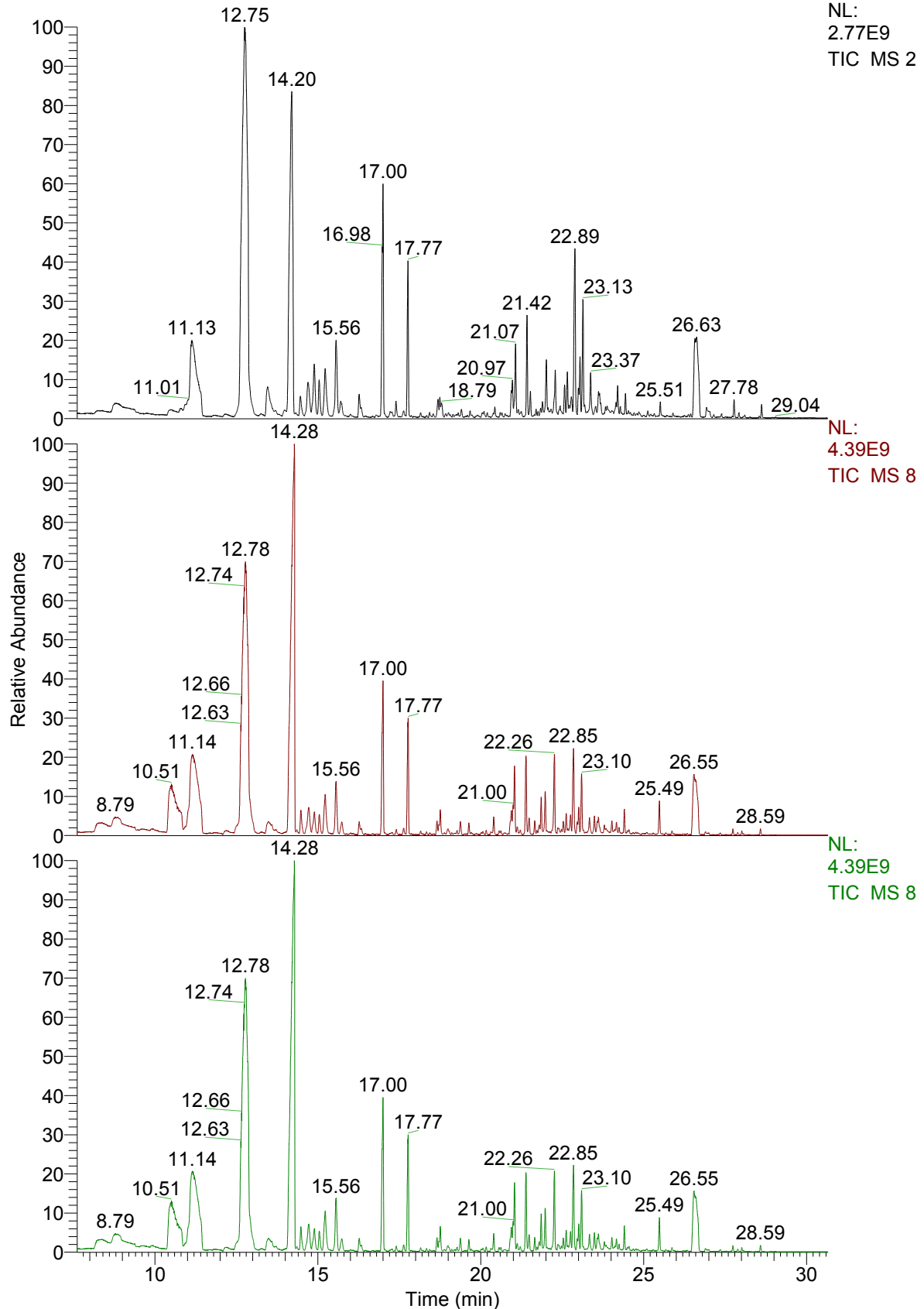


Figure 2- Chromatogrammes de l'huile essentielle des parties aériennes d'échantillons de *Lavandula Stoechas* récoltés à Beni Douala pour différents mois (MS2 : Avril2019 ; MS5 : Mai2019 et MS8 : Juin 2019)

Annexe 1

RT: 7.61 - 30.65

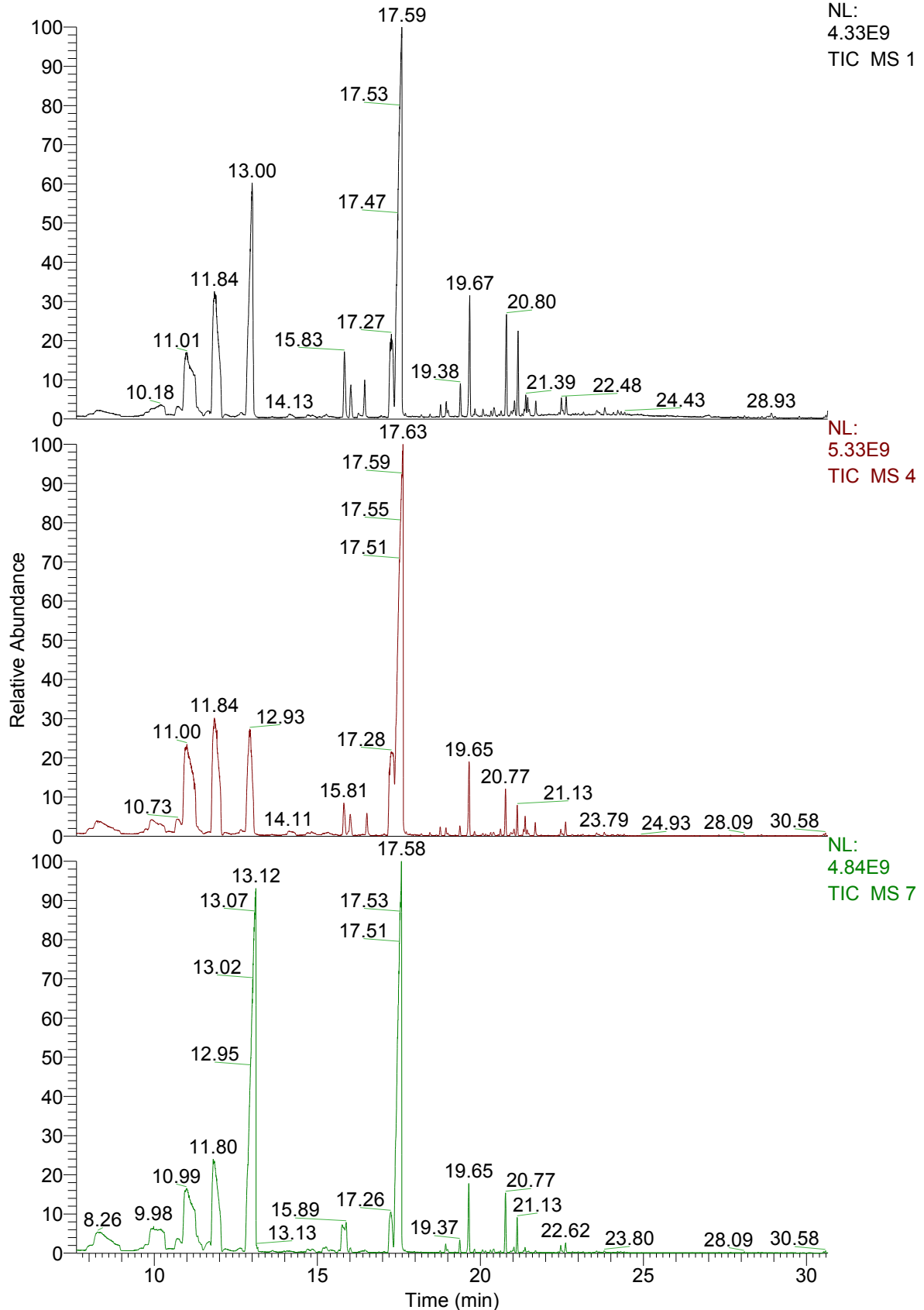
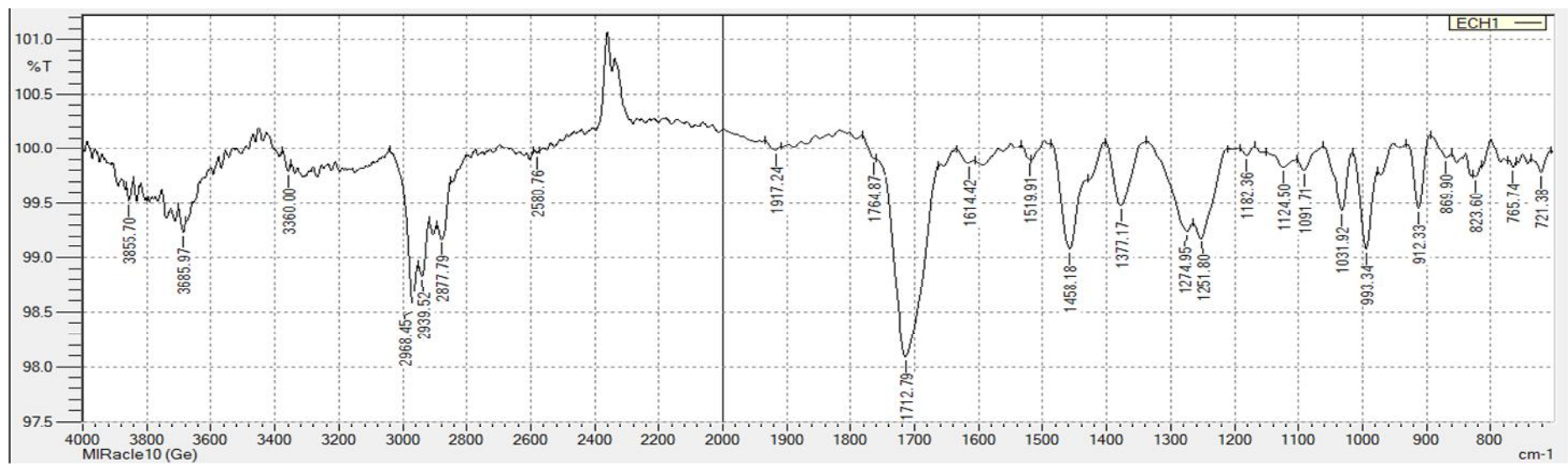
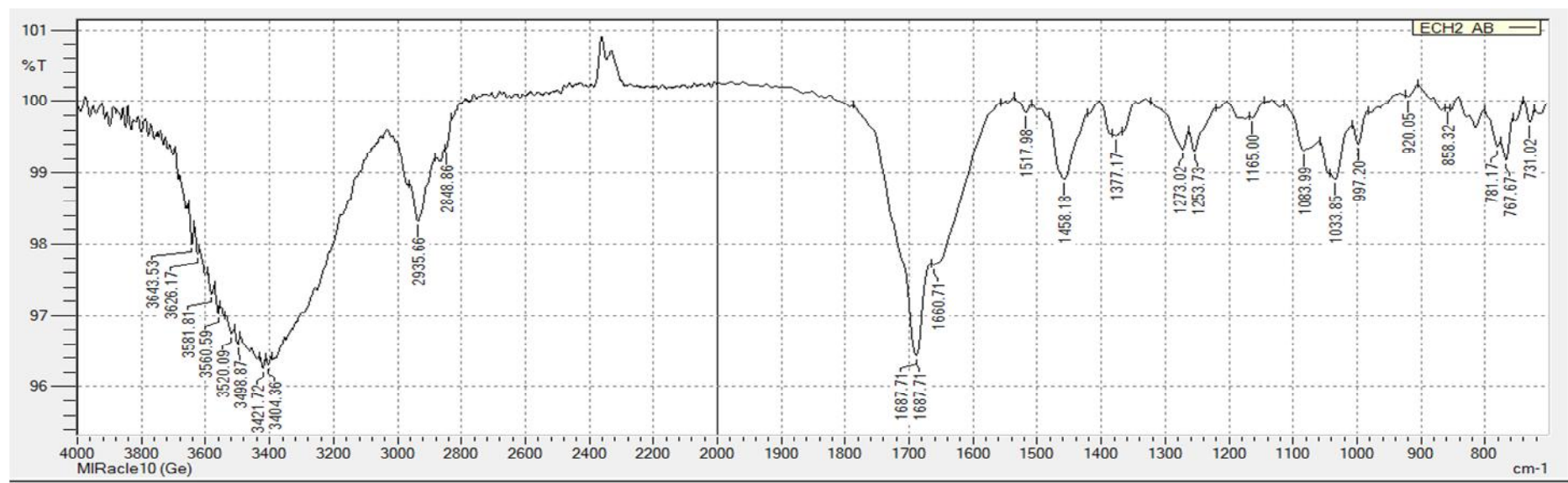


Figure 3- Chromatogrammes de l'huile essentielle des parties aériennes d'échantillons de *Thymus Numidicus* récoltés à Makouda pour différents mois (MS1 : Avril2019 ; MS4 : Mai2019 et MS7 : Juin 2019)

Annexe 2

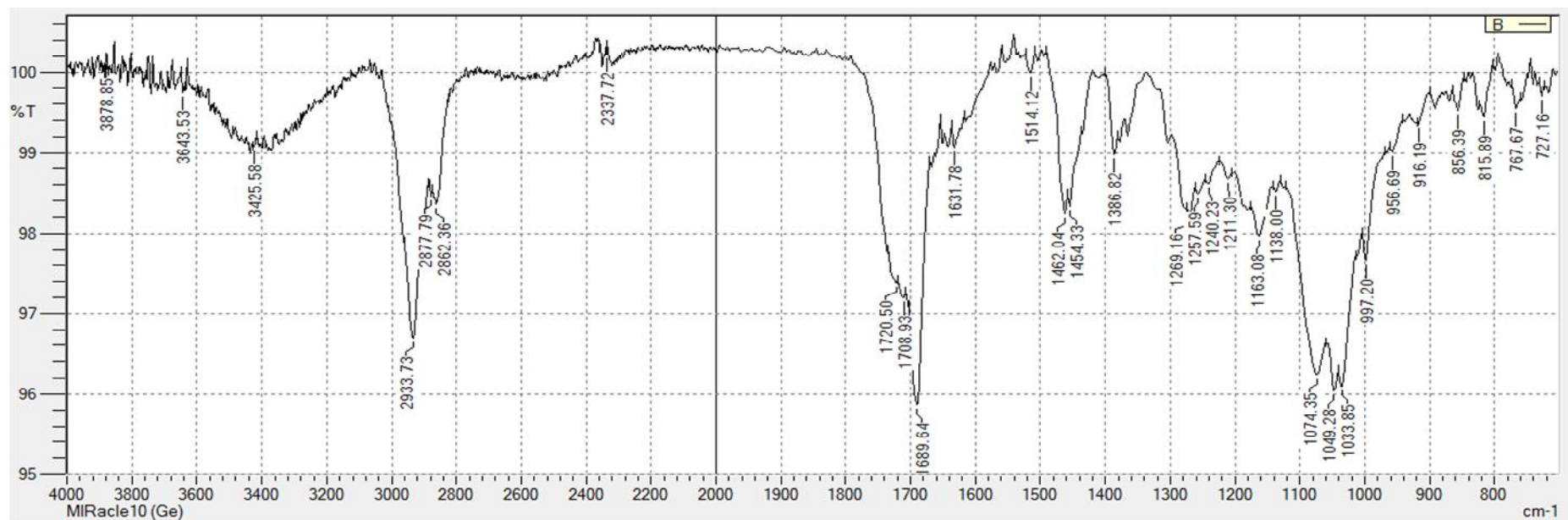


Spectre IR de l'échantillon numéro 1

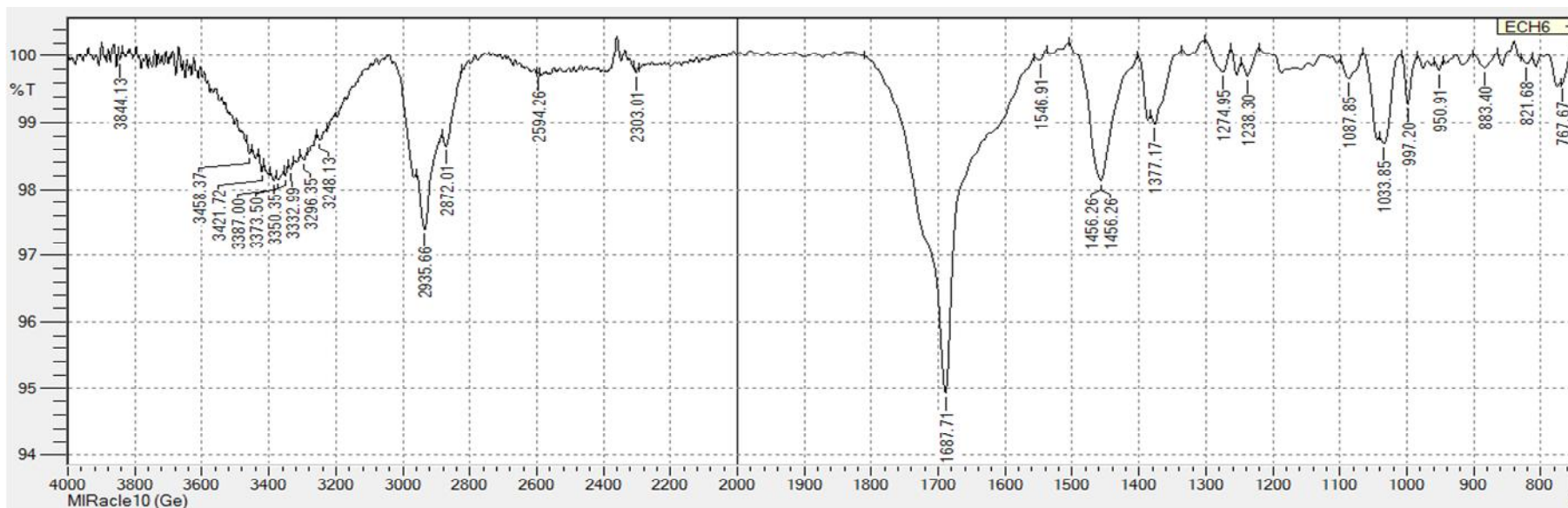


Spectre IR de l'échantillon numéro 2

Annexe 2

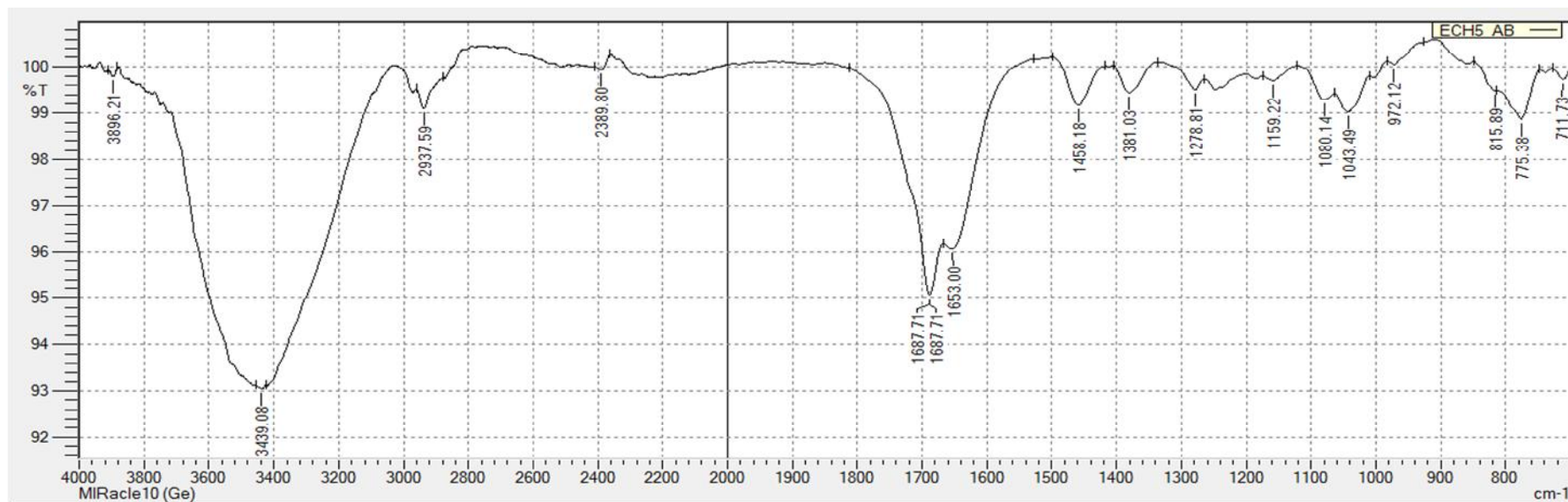


Spectre IR de l'échantillon numéro 3

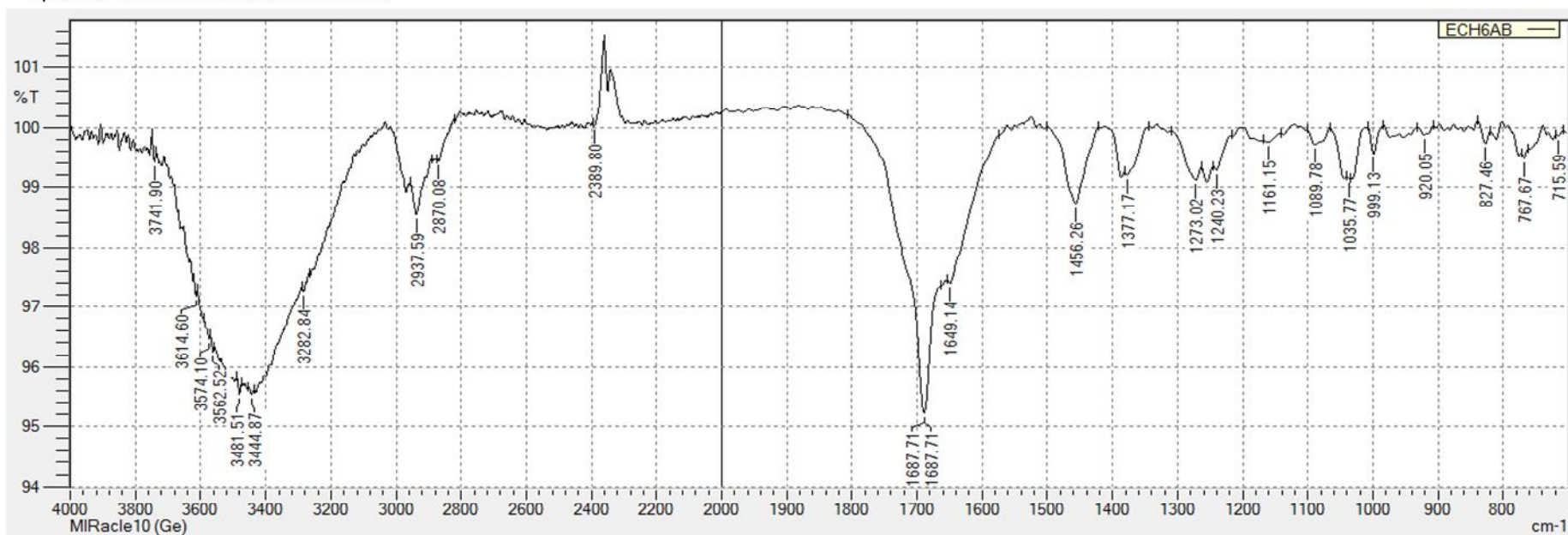


Spectre IR de l'échantillon numéro 4

Annexe 2



Spectre IR de l'échantillon numéro 5



Spectre IR de l'échantillon numéro 6

Annexe 3

Les différentes masses des suppositoires (suppo) sont données dans les tableaux ci-dessous :

Suppositoires placébos à base de la Suppocire	
M1 (g)	0,9393
M2 (g)	0,9306
M3 (g)	0,9173
M4 (g)	0,9463
M5 (g)	0,9333
M6 (g)	0,9256
M7 (g)	0,9554
M8 (g)	0,9639
M9 (g)	0,9344
M10 (g)	0,9525
Mtot (g)	9,3986
Mmoy (g)	0,9398

Suppositoires placébos à base de Suppocire	
M1 (g)	0,9275
M2 (g)	0,9383
M3 (g)	0,9265
M4 (g)	0,9268
M5 (g)	0,9228
M6 (g)	0,9260
Mtot (g)	5,5679
Mmoy (g)	0,9279

Suppositoires à base des extraits de flavonoïdes <i>T.numidicus</i>	
M1 (g)	0,9384
M2 (g)	0,9449
M3 (g)	0,9553
M4 (g)	0,937
M5 (g)	0,9451
M6 (g)	0,9433
M7 (g)	0,9517
M8 (g)	0,944
M9 (g)	0,9464
M10 (g)	0,9457
Mtot (g)	9,4518
Mmoy (g)	0,9451

Suppositoires à base des extraits de tanins de <i>T.numidicus</i>	
M1 (g)	0,9453
M2 (g)	0,9376
M3 (g)	0,9429
M4 (g)	0,9394
M5 (g)	0,9382
M6 (g)	0,9436
M7 (g)	0,9407
M8 (g)	0,9309
M9 (g)	0,9326
M10 (g)	0,9450
Mtot (g)	9,3962
Mmoy (g)	0,9396

Suppositoires à base des extraits de flavonoïdes de <i>L.stoechas</i>	
M1 (g)	0,9545
M2 (g)	0,9459
M3 (g)	0,9523
M4 (g)	0,9534
M5 (g)	0,9392
M6 (g)	0,9406
M7 (g)	0,9398
M8 (g)	0,9439
M9 (g)	0,9484
M10 (g)	0,9464
Mtot (g)	9,4644
Mmoy (g)	0,9464

Suppositoires à base des extraits de tanins de <i>L.stoechas</i>	
M1 (g)	0,9416
M2 (g)	0,939
M3 (g)	0,9396
M4 (g)	0,9395
M5 (g)	0,9453
M6 (g)	0,9378
M7 (g)	0,9357
M8 (g)	0,9413
M9 (g)	0,9394
M10 (g)	0,929
Mtot (g)	9,3882
Mmoy (g)	0,9388

Annexe 3

➤ Temps de désagréation des suppositoires formulés

PA	Extraits de Tanins de <i>L.stoechas</i>									
Suppo N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Temps	8min 27s	4min 8s	4min 43s	3min 19s	4min 41s	4min 42s	4min 43s	4min 42s	4min 24s	4min 36s

PA	Extraits de Flavonoïdes de <i>L.stoechas</i>									
suppo N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Temps	4 min 14s	4 min 3s	4 min 2s	4 min 47s	5 min 24s	5 min 47s	4min 14s	5min 29s	5min 3s	7min 7s

PA	Extraits de Tanins de <i>T.numidicus</i>									
suppo N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Temps	7min 17s	5min 18s	6min 12s	5min 29s	5min 11s	7min 7s	6min 3s	6min 1s	6min 35s	5min 19s

PA	Extraits de Flavonoïdes de <i>T.numidicus</i>									
suppo N°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Temps	4min 41s	4min 20s	5min 49s	5min 12s	5min 58s	5min 38s	5min 32s	6min 24s	7min 26s	4min 00

PA	HE de <i>T. numidicus</i>					
suppo N°	1	2	3	4	5	6
Temps	7min 02s	6min 44s	4 min 49s	4min 07s	5min 05s	5min 57s

- Protocole de préparation de la solution tampon phosphate

Dans un récipient en verre, des masses de 0, 6g de KH_2PO_4 , 6, 4g de Na_2HPO_4 , 5, 85 de NaCl ont été rajoutées à 1L d'eau distillée selon la pharmacopée européenne, ensuite nous avons mesuré un pH = 7, 37 de la solution obtenue à l'aide d'un pH-mètre (HANNA). En fin à l'aide d'une burette, nous avons ajusté la valeur du pH par l'ajout d'une solution de NaOH (1N) jusqu'à une valeur de 7, 4 (**Ramtani 2014**).