

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. M. OULHADJ - Bouira
Faculté des Sciences et des Sciences Appliquées
Département de Génie des Procédés



Mémoire

Présenté par

BENTAHAR Abla

LAMRI Nabila

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière: GENIE DES PROCÉDES
Spécialité : Génie Pharmaceutique

**Extraction des huiles essentielles de deux plantes médicinales
(*Rosmarinus officinalis L* et *Teucrium polium L*) et formulation
des pommades antimicrobienne.**

Soutenu le 09 /10 / 2018

Devant le jury composé de :

AIT ALI	Salima	UAMO, Bouira	Président
HADIOUCHE	Dalila	UAMO, Bouira	promotrice
ELHEIT	Zineb	UAMO, Bouira	Assistance .
ZAABAR	Aida	UAMO, Bouira	Examinatrice
AOUDJIT	Farid.	UAMO, Bouira	Examineur

Remerciement



Nous remercions notre bon Dieu qui nous a donné le courage et la volenté de poursuivre nos études,

Nous tenons à remercier notre promotrice Madame HADIOUCHE Dalila, pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements a Madame EL-HEIT Zineb, pour sa compréhension, sa disponibilité, de son savoir faire ses conseils judicieux et toute l'aide Qu'elle nous a rapportée. Nos mercis de tout cœur.

Nous tenons à présenter nos profondes gratitudes et nos sincères remerciements aux membres de jury : Madame AIT ALI Salima, Madame ZAABAR Aida et Monsieur AOUDJIT Farid d'avoir acceptés d'examiner ce mémoire.

Nous tenons à remercier chaleureusement tous le personnel du laboratoire de département Génie des Procèdes pour leur aide et leurs orientations.

Nos sincères remerciements vont également à tous les personnels du laboratoire d'Analyse de l'Hôpital Mohamed ElBACHIR d'Ain Bessam pour leurs aides.

Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de nos très vifs remerciements

Merci A tous.



****ABLA *NABILA****

Dédicace



A l'aide de dieu 'Allah' tout puissant qui ma tracé le chemin de ma vie,

J'ai pu réaliser ce travail

Aux deux être les plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour pour nous couvrir de leur amour, mes parents : A mon très cher père Abdelkader et à ma Très Chère mère Fatima que DIEU te bénisse pour ton aide et ton soutien durant tout mon cycle d'étude, que Dieu L'amené dans son vaste paradis Je t'aime énormément.

A mes très chers frères Saad, Ahmed, Mohamed et mes très chères sœurs : Asma, Chahira, Sabrina, et son mari, wasila, et son mari, et ses enfant

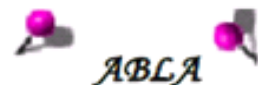
A ma belle mère Hadda, ma grande mère Masouda, mes très Chers oncles et mes très chères tantes

A toutes mes très chères cousines : Hadjira, Nabila, Rabéa, Ibtissame, Oumnia, Zolikhha

Karima, Hanan, Imen,

A mes fidèles Amis: Nacira, Fatma, Lynda, Sadjia, Nabila, Zineb, Asma, et

Atout mes amies et mes collègues d'études



Dédicace

A l'aide de dieu 'Allah' tout puissant qui ma tracé le chemin de ma vie,

J'ai pu réaliser ce travail

A ma famille spécialement aux personne les plus chères de monde mon père Mohamed et ma mère Fatma qui sont la lumière de mes yeux, lambre de mes pas et le bonheur de ma vie.

A mon Chère frère : Ali

A mes chères sœurs : Aicha, Zahra, Horia, Razika, et leurs enfants

Adeham, Hadi, Adem, Mohamed, Yacine, Maroua, Chaima,

Amar, Isehak, Zakariya, Sohaib.

Meriem, Souad, Djamila, Rifka, Madjeda, Chafika, Nesrine.

Atout mes amies et mes collègues d'études.

A tous ceux qui ont contribué de près au de loin pour que ce travail soit Possible.



 **Nabila** 

Sommaire	
Liste des figures	
Liste des Photos	
Liste des Tableaux	
Introduction Générale	01
CHAPITRE I : Généralités sur les plantes médicinales	
I. Généralités	03
I.1. Aperçu sur des plantes médicinales	03
I.2.Définition	04
I.3.Principe actif	05
I.4. Eléments actifs des plantes médicinales	06
I.5 : Exemples des plantes médicinales	08
I.6. Présentation des lamiacées étudiées	10
I.6.1. Famille des Lamiaceae	10
I.6.1.1.Présentation	10
I.6. Présentation des lamiacées sélectionnée	11
I.6.2.1.1. Romarin	11
I.6.2.2. Teucrium polium	16
CHAPITRE II : Les Huiles essentielles	
II.1. Rappel Bibliographique sur les huiles essentielles	21
II.1.1. Définition	21
II.1.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante	21
II.1.3. Caractères physico-chimiques des HEs	22
II.1.4. Composition chimique des Huiles essentielles	23
II.1.4.1. Terpènes	23
II.1.4.2. Composée aromatique	25

II.1.5. Procédés d'extraction des huiles essentielles	25
II.1.6. Propriétés fondamentales des huiles essentielles	28
II.1.7. Effet thérapeutique des huiles essentielles	29
II.1.8. Toxicité des huiles essentielles	32
II.1.9. Principales utilisations des huiles essentielles	33
II.1.10. Contrôle des huiles essentielles	35
II.2. Lutte biologique	35 44
II.2.1. Généralités sur les souches testées	35
II.2.1.1. Bactéries à Gram négatif	35
II.2.1.2. Bactéries à Gram positif	36
II.2.2. Activité antimicrobienne	38
II.2.3. Activités biologique des huiles essentielles	38
II.2.3.1. Propriétés antibactériennes	38
II.2.4. Mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles et poly	39
II.2.5. Les principales techniques de détermination de l'activité antimicrobienne	40
CHAPITRE III : CHAPITRE III : Méthodes et Matérielles	
III.1. Critères de choix de la plante	41
III.2. Présentation et situation de la zone de récolte	41
III.3. Matériel	42
III.3.1. Matériel végétal	42
III.3.2. Matériels biologique	43
III.4. Caractérisation physico-chimique des plantes étudiées	44

III.4.1.Extraction des huiles essentielles	44
III.4.2. Protocol d'extraction	45
III.4.3. Conservation des huiles essentielles	47
III.4.4. Détermination du rendement d'extraction	48
III.5. Caractérisation des HEs de <i>Rosmarinus officinalis</i> L et <i>Teucrium polium</i> L	48
III.5.1. Caractérisation sensorielles et des analyses physicochimiques	48
III.5.1.1.Caractérisation sensorielles	48
III.5.1.2. Evaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles	48
III.5.1.2.1. Analyses chimiques	48
III.5.1.2.1.1. Indice de saponification (IS)(mg de KOH/g d'huile)	48
III.5.1.2.1.2. Indice d'iode(II)	50
III.5.1.2.1.3. l'indice d'acide	51
III.5.1.2.4.Indice d'ester(IE)	52
III.6. Analyse physique	53
III.6.1. Mesure de pH	53
III.6.2. L'indice de réfraction	53
III.6.3. La perte à la dessiccation	54
III.6.4. Indice de gonflement	55
III.7. Screening phytochimique	55
III.7.1. Recherche de l'alkaloïde	55
III.7.2. Recherche des composée poly phénoliques	56
III.7.2.1. Recherche des tanins	56
III.7.2.2. Tanins cat chiques	56
III.7.2.3. Tanins galliques	57
III.7.3. Recherche des flavonoïdes	57
III.7.3.1. Flavonoïdes (anthocyanes)	57
III.7.3.2 : Réaction cyanhydrique (cyanidine)	57

III.7.4 : Recherche des dérivés anthracéniques	58
III.7.4.1 : Détermination des quinones	58
III.7.5. Détermination des glucosides	58
III.7.6. Détermination des saponines	58
III.7.7. Détermination des éléments réducteurs	59
III.7.8. Détermination des mucilages	59
III.7.9. Coumarines	59
III.8. Principe de méthode de préparation	60
III.8.1. Mode opératoire	60
III.8.2. Préparation de l'inoculum	61
III.8.3. Préparation des disques	62
III.8.4. Expression des résultats	63
III.9. Préparation de forme semi-solide (formulation d'une pommade antimicrobienne)	64
III.9.1. Contrôle de qualité de la matière première	64
III.9.1.1 : Vaseline	64
III.9.1.2 : Acidité	65
III.9.1.3 : Analyse de l'acide salicylique	65
III.9.1.4 : Analyse de tetraborate de sodium	66
III.10 : Formulation des pommades	66
III.10.1 : Réalisation de pommade 1	66
III.10.2 : Réalisation de pommade 02	67
III.10.3 : Préparation de pommade 3	68

III.11.les essais sur les patients volontaires	69
Chapitre .IV. Résultats et discussion	
IV.1. Analyses des huiles essentielles	72
IV.1.1. Rendement d'extraction	73
IV.1.2. Propriétés sensorielles et indices physicochimiques	73
IV.2. Les Analyse physico-chimique	74
IV. 2.1. 1es Analyse physique	74
L IV. 2.1.1. La perte à la dessiccation	74
IV. 2.1.2. Indice de gonflement	75
IV. 2. 1.3. Indice de réfraction	75
IV.2. 1.4. Le pH	76
IV. 2. 2. Les Analyse chimique	77
IV.2 .2 .1. Indice d'acide	77
IV.2.2.3. Indice de Saponification (IS)	78
IV.2.2.4. Indice d'ester	79
IV.2.2.5. Indice d'iode (II)	80
IV.3. Screening phytochimique	81
IV.4. L'activité antimicrobienne	86
IV .5. Analyse de pommade	90
IV.5.1. Analyse macroscopique	90
IV.6. Activité antibactérienne	94
IV.7. Les Application Cutanés	95
IV.7.1. Essai sur la région partie dans le thorax	96
IV.7.2. Essai sur la région partie entre les doigts de pied	96
Conclusion générales	97

Liste des figures

Figure	page
Figure. I. 1: Plantes aromatiques et médicinales les plus utilisées au quotidien	4
Figure. I.2: Squelette de base d'acide rosmarinique, principe actif majeur des plantes de la famille de Lamiacées	5
Figure. I.3 : Tige principale et rameau feuillé à fleurs du romarin	12
Figure. I.4 : Feuilles, et des fleurs du romarin cultivé de jardin	13
Figure. I.5 : Huile essentielle de romarin	15
Figure. I.6 : Les feuilles, et des fleurs du <i>Teucrium polium</i> L	17
Figure. I.7: Répartition géographique de <i>Teucrium</i> en Algérie	18
Figure. I.8: Huile essentielle de <i>Teucrium polium</i>	19
Figure .II.1: Poils sécréteurs	22
Figure.II.2: Exemples de structures de mono-et sesquiterpènes	24
Figure.II.3: Exemples de structures des composées aromatique	25
Figure. II.4 : Etapes de l'obtention d'une huile essentielle	26
Figure. II.5: Montage d'Hydrodistillation	27
Figure.II.6 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau	28
Figure .II.7: Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne	40
Figure. II. 8: Illustration de la méthode d'aromatogramme.	41

Liste des figures

Figure.III.1: Carte de localisation des stations de récoltes	42
Figure.III.2 : Partie aérienne de <i>Rosmarinus officinalis</i> (A) et <i>Teucrium poluim</i> (B).	43
Figure.III.3 : Séchage des plantes	44
Figure.III.4 : Montage d'Hydrodistillation (Clevenger)	46
Figure. III.5: Décantation	47
Figure.III.6: Huiles essentielles	47
Figure.III.7: Etapes d'extraction d'huile essentielle	48
Figure.III.8 : Indice de saponification	51
Figure.III.9 : Indice d'iode	52
Figure.III.10 : Indice d'acide.	53
Figure.III.10: pH mètre	55
Figure.III.11: Réfractomètre.	56
Figure.III.12 : Dessiccateur	56
Figure.III.13 : Indice de gonflement	57
Figure.III.14: Milieu culture Muller-Hinton.	62
Figure.III.15: Préparation du matériel	63
Figure.III.16: Préparation d'inoculum.	63
Figure.III.17: Ensemencement des souches.	64
Figure.III.18: Dépôt des disques.	65
Figure.III.19: Aromatogramme	66
Figure.III.20: Réalisation de la pommade 1	69
Figure.III.20: Réalisation de la pommade 2	70
Figure.III.21: Réalisation de la pommade1	71

Liste des figures

Figure.III.23: Maladie d'un chloasma (tache pigmentaire)	71
Figure.III.24: Maladie de mycoses du pied.	72
Figure. IV.1: Rendement des plantes	74
Figure. IV.2: Valeurs de la perte à la dessiccation	75
Figure. IV.3: Résultats de l'indice de gonflement	76
Figure IV.4: Résultats de l'indice de réfraction	77
Figure IV.5: Résultats de pH	77
Figure IV.6: Résultats de l'indice d'acide	78
Figure IV.7: Résultats de l'indice de saponification	79
Figure IV.8: Résultats d'ester	80
Figure IV.9: Résultats de l'indice d'iode	87
Figure. IV.10: Effet bactéricide sur les Souches bactériennes <i>Staphylococcus aureus</i>	88
Figure IV. 11: Résultat de zone d'inhibition pour la souche <i>Staphylococcus aureus</i>	88
Figure. IV.12: Effet bactéricide sur les Souches bactériennes <i>Escherichia coli</i> .	89
Figure IV.13: Résultats de zone d'inhibition pour la souche <i>Escherichia coli</i>	92
Figure. IV.16: Photo Effet des pommades formulée sur les souches bactériennes E. coli et <i>Staphylococcus aureus</i>	93
Figure. IV.17: Résultats de Zone d'inhibition pour E. coli	94
Figure. IV.18: Résultats de Zone d'inhibition pour <i>Staphylococcus aureus</i>	95
Figure. IV.19: Résultats de l'application cutanée pour la pommade 01	95
Figure. IV.20: Résultats de l'application cutanée pour la pommade 03	96

Liste des figures

Liste des Tableaux

Tableaux	pages
Tableau. I.1 : Exemple des plantes médicinales	08
Tableau. I.2 : Classification taxonomique botanique de Romarin	12
Tableau I.3 : Composants majoritaires d'huiles essentielles de l'espèce <i>Rosmarinus</i>	14
Tableau. I.4 : Composants majoritaires d'huiles essentielles de l'espèce <i>Teucrium polium</i> .	17
Tableau. II.1 : L'utilisation thérapeutique des huiles essentielles.	30
Tableau .II.2 : les souches testées pendant l'évaluation des activités antimicrobiennes	37
Tableau III.1 : localisation des plante a étudier Après récolté les plantes	43
Tableau III.2 : Le séchage des plantes.	44
Tableau.III.3 : test de solubilité de la vaseline	67
Tableau.III.4 : composition de pommade 01	68
Tableau.III.5 : composition de pommade 02	69
Tableau.III.6 : composition de pommade 03	70
Tableau IV .1 : résultats de rendement.	72
Tableau IV. 2 : Caractérisques organoleptiques des huiles essentielles des plantes étudiées	73

Liste des Tableaux

Tableau IV.3 : les pertes à la dessiccation sur les échantillons	74
Tableau IV.4 : les résultats de l'indice de gonflement.	75
Tableau IV.5 : les résultats de l'indice de réfraction	75
. Tableau IV.6 : Les résultats de pH.	76
Tableau IV.7 : Les résultats de l'indice d'acide.	77
Tableau IV.8 : Les résultats de l'indice de saponification	78
Tableau IV.9 : Les résultats d'indice d'ester	79
Tableau IV.10 : Les résultats d'indice d'iode.	80
Tableau .IV.11 : Résultats de <i>Teucruim poluim</i> .	81
Tableau .IV.12 : Résultats de <i>Rosmarinus officinalis</i> .	84
Tableau IV.13 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition d'huile essentielle de <i>Romarin</i> et de <i>Teucrium polium</i> et d' <i>éther d'éthylique</i> .	87
Tableau IV.14 : les pommades réalisées avec le codage	90
Tableau.VI.15 : Montre l'aspect des différentes pommades formulé.	91
Tableau IV.16 : Résumée les couleurs des différentes pommades réalisées	91
Tableau IV.17 : Représente l'odeur des pommades qu'on a réalisées.	92
Tableau IV .18 : Résume les différents pH mesurés.	92
Tableau. IV.19 : Résultats pour PHE Rm.	93
Tableau. IV.20 : Résultats pour PHETC.P.	94
Tableau. IV.21 : Résultats pour PPTC.P	94

Liste des Tableaux

Tableau IV .22 : Activité antibactérienne des pommades.	95

Introduction Générale



Introduction générale

Depuis la nuit des temps, l'homme est habitué à utiliser les plantes pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Les produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée aux différents secteurs d'activité tels que : le cosmétique, la pharmacie, l'agroalimentaire, et l'industrie.

En 2007, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes par manque d'accès aux médicaments prescrits mais aussi parce que les plantes ont pu démontrer une réelle efficacité. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. En effet, environ de 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques [1].

L'Algérie, par sa situation géographique au centre de la méditerranée, abrite une végétation riche et diversifiée. Un grand nombre de plantes aromatiques y poussent spontanément dont les Lamiaceae qui sont riches en huiles volatiles. Une proportion importante de ces plantes est polymorphe.

Notre travail a été motivé d'abord, par le souci de valoriser et de promouvoir les plantes médicinales de l'Algérie afin de faciliter l'accès des populations à des remèdes traditionnels améliorés à moindre coût. Mais aussi par la nécessité de la valorisation de quelques Lamiaceae algériennes, par la recherche des composés qui peuvent avoir une utilisation thérapeutique. Il s'agit de renforcer la connaissance phytochimique de ces extraits de plantes et de mettre en évidence des traceurs spécifiques pour chacune des plantes en vue de l'utilisation ultérieure de leurs extraits dans l'industrie.

Les espèces que nous avons étudiées sont : *Teucrium polium* L et *Rosmarinus officinalis* L qui relèvent toutes les deux de la famille des Lamiaceae. Ces plantes sont surtout connues en phytothérapie traditionnelle par leurs propriétés remarquables, leur richesse en produits du métabolisme secondaire et particulièrement en huiles essentielles et polyphénols.

Teucrium polium L ou la germandrée tomenteuse «Kayatta ou Djaâda, Gattaba» est une plante méditerranéenne. Cette espèce est connue par sa richesse en métabolites secondaires tels que les huiles essentielles et les polyphénols [2].

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) est un arbrisseau de la famille des Lamiaceae, répandu sur toutes les rives de la méditerranée. Il est dominant dans les communautés arbustives post-feu, principalement dans les sols calcaires. Il s'agit d'un germe à semences

Introduction générale

obligatoire et à floraison abondante. Son caractère ensoleillé et son effort de reproduction élevé lui permettent de coloniser les paysages découverts.

Les deux espèces *T. polium* et *romarin* sont considérées parmi les espèces peut être les plus utilisées en médecine traditionnelle dans la région de Bouira. C'est dans cette optique que se situe notre étude dont les objectifs principaux se résument dans les volets suivants :

- valoriser les composés des Lamiaceae étudiés par l'extraction des huiles essentielles, à partir des plantes.
- caractérisation quantitative et qualitative de la composition chimique des huiles essentielles, Par des analyses physico-chimiques.
- évaluation des activités biologiques des huiles essentielles des plantes choisies.

Ce travail sera présenté comme suit :

Dans le premier chapitre, nous présentons une analyse bibliographique décrivant les notions essentielles liées au contexte global de notre travail (les plantes médicinales, classification et intérêt des métabolites secondaires, utilisations et travaux antérieurs réalisés sur les espèces étudiées et l'activité biologique).

Au niveau de la seconde chapitre nous décrivons le matériel et les méthodes utilisées dans ce travail notamment :

- les tests de criblages phytochimique des plantes choisis.
- l'extraction des huiles essentielles, par l'hydro distillation (clivenger).
- l'analyse physico-chimique.
- l'étude de l'activité antimicrobienne des HEs par la méthode de diffusion des disques.
- formulations des trois pommades antiseptiques.
- l'étude de l'activité antimicrobienne des pommades par la méthode de diffusion des disques.
- l'application des pommades sur des volontaires sains et des volontaires malades

Dans le quatrième chapitre nous analysons les résultats obtenus puis nous discutons leur signification par rapport aux données de la littérature.

Au terme de ce mémoire, nous présenterons une conclusion générale dans laquelle nous rappellerons les principaux résultats obtenus.

CHAPITRE I :

Généralités sur les plantes Médicinales



Chapitre I: Généralités sur les plantes médicinales**I. Généralités****I.1. Aperçu sur l'utilisation des plantes médicinales**

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (médicaments). L'utilisation des plantes médicinales est ancienne que l'humanité elle-même, il existe de nombreuses preuves dont des documents écrits, des monuments conservés et même des médicaments à base de plantes. La conscience de l'utilisation des plantes médicinales est le résultat de nombreuses années de luttes contre des maladies grâce auxquelles l'homme a appris à consommer des drogues dans les écorces, les graines, les fruits et d'autres parties des plantes ; la science a inclus dans la pharmacothérapie moderne une gamme de médicaments d'origine végétale connus par les civilisations anciennes et utilisés tout au long des millénaires. Selon l'OMS, environ 80 % de la population mondiale dépend essentiellement de la médecine traditionnelle et l'utilisation d'extraits végétaux associée principalement au traitement traditionnel [3].

Des nombreuses plantes médicinales sont appliquées par automédication ou sur la recommandation d'un médecin ou d'un pharmacien. Elles sont utilisées indépendamment ou en combinaison avec des médicaments synthétiques. Pour une thérapie adéquate et appliquée avec succès, il est important de connaître l'effet pharmacologique de leurs composants.

En Algérie, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées principalement dans les zones rurales par les personnes âgées et qui ont encore l'expérience de certaines recettes à base de plantes.

Les grands types d'usage des plantes médicinales et aromatiques par l'homme sont cosmétiques (adouçissantes, cicatrisantes, capillaires, pigmentaires et anti ecchymose), aromatiques, alimentaires, industriels (tinctoriales, fibres textiles, insecticides) et médicinales.

En Algérie, pays très riche dans sa biodiversité florale, la médecine traditionnelle y a sa place malgré l'absence de complémentarité de la phytothérapie

à la médecine. Botanistes, phytochimistes, pharmacologues et médecins sont appelés conjuguer leurs connaissances scientifiques pour que la phytothérapie soit une discipline thérapeutique officielle comme c'est le cas dans plusieurs pays comme la Chine, la Turquie...etc.

En effet, l'action des plantes médicinales viennent de leurs métabolites primaires et secondaires, et sans doute, de la synergie entre les différents composés présents [4].



Figure. I.1. Les plantes aromatiques et médicinales les plus utilisées au quotidien.

I.2. Définition

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses [3,5]. Il est peu fréquent que la plante soit utilisée entière : la plus souvent, il s'agit d'une ou de plusieurs parties définies dans le glossaire des termes de pharmacognosie employés dans la pharmacopée qui peuvent avoir chacune des utilisations différentes. Par extension on appelle souvent « plante médicinale » ou « plante » non seulement l'entité botanique, mais aussi la partie utilisée. « Des plantes ayant des propriétés médicamenteuses peuvent avoir également des usages alimentaires, condimentaires

ou encore servir à la préparation de boissons hygiéniques. Pour ces diverses utilisations, il s'agit soit des mêmes parties de plantes, soit parties différentes [5]. En d'autres termes nous pouvons dire qu'une plante médicinale est une plante dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise au moyen âge, Dans le Code de la Santé Publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale à sens juridique. C'est une plante, non mentionnée en tant que médicinale, qui est en vente libre par les pharmaciens [3].

I.3. Principes actifs

Parmi les originalités majeures des végétaux leurs capacités à reproduire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques, glucides, protides, lipides, ils accumulent fréquemment des métabolites secondaires. Ces derniers, représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire.

Les principes actifs d'une plante n'ont pas les mêmes propriétés (Figure I.2). Exemple type l'oranger; ses fleurs sont sédatives, mais son écorce est apéritive médicinale. Ils sont des composants biochimiques naturellement présents dans une plante et ils lui confèrent son activité thérapeutique. Ils se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale [3].

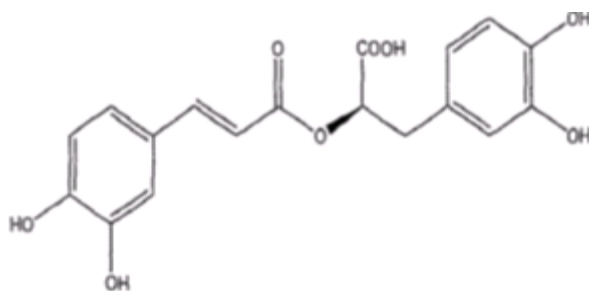


Figure. I.2. Squelette de base d'acide rosmarinique, principe actif majeur des plantes de la famille de Lamiacées [3].

I.4. Eléments actifs des plantes médicinales

Ce n'est que récemment que les éléments actifs à l'origine des actions thérapeutiques des plantes ont été isolés et étudiés. Parmi ces composés, l'homme utilise dans son arsenal thérapeutique principalement des hétérosides, des alcaloïdes, des huiles essentielles et des tanins. Les végétaux nous fournissent aussi des vitamines, des oligoéléments et des antibiotiques [1].

Phénol

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti inflammatoires et antiseptiques [6].

Huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes. Elles sont largement employées en parfumerie.

Les huiles essentielles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoides et possédant un noyau aromatique. Les huiles essentielles ont de multiples propriétés. Ce sont utilisées en raison de leurs propriétés stimulantes ou inhibitrices notamment dans la désinfection et les activités cellulaires des plantes ou animaux [6].

Flavonoïdes

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments poly phénoliques qui contribuent à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales et des effets protecteurs sur le foie [6].

Tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé [6], les tanins sont des substances poly-phénoliques de structures variées ayant en commun la propriété de tanner la peau c'est –à-dire de la rendre imputrescible.

Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant [1]. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tannins sont utilisées pour rendre les tissus souples comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure [6].

Anthocyanes

Les anthocyanes sont des substances à propriété vitaminiques P, Elles diminuent la perméabilité des capillaires et augmentent leur résistance, elles sont préconisées dans le traitement de certaines maladies vasculaires : fragilité capillaire, insuffisance veineuse et symptomatologie hémorroïde [1].

Coumarines

Les coumarines se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Les coumarines du marronnier contribuent à fluidifier le sang alors que les furanocoumarines contenu dans le céleri soignent les affections cutanées [6].

Saponines

Les saponines prennent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes.

Les saponines triterpénoïdes, contenues dans la réglisse ont une activité hormonale moindre. Elles sont souvent expectorantes et facilitent l'absorption des aliments [6].

Anthraquinones

Ce sont les principaux constituants de plantes comme le séné (Cassia Senna) et la rhubarbe de Chine (Rheum palmatum) qui, toutes deux, agissent sur la

constipation. Elles ont un effet irritant et laxatif sur le gros intestin provoquent des contractions des parois intestinales et stimulent les évacuations environ dix heures après la prise [6].

Polysaccharides

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble que l'on trouve dans toutes les plantes. Du point de vue de la phytothérapie, les polysaccharides les plus importants sont les mucilages visqueux et les graines. Certains polysaccharides comme les glucomannanes et les pectines sont utilisés en cosmétologie [6].

I.5.Exemples des plantes médicinales

Tableau.I.1 : Exemple des plantes médicinales [7].

Nom commun	Nom local	Nom scientifique	famille	Partie utilisée	Propriétés Utilisée
Menthe pouliot 	Fliyo	<i>Mentha Pulegium L</i>	Lamiaceae	Partie aérienne	antiseptique pulmonaire, expectorant, antispasmodique stomatique, rafraîchissant
Thym 	Ziitra	<i>Thymus Vulgaris</i>	Lamiaceae	Partie aérienne	antiseptique intestinale ; pulmonaire, expectorant, diurétique, stomachique, vermifuge, antispasmodique.

Teucruim Poluim L 	Djaïda	<i>Teucruim</i> <i>Poluim L</i>	Lamiaceae	Partie aérienne	anti- inflammatoires, antipyrétiques, antibactériennes
Citronnelle 	Limon'	<i>Cymbopogo</i> <i>n -citratu</i>	Peaceae	Partie aérienne	Insectifuge, antiseptique
Romarin 	Iklil El- Djabal	<i>Rosmarinus</i> <i>officinalis l</i>	Lamiaceae	Partie aérienne	anti- spasmodique antibactériennes, antioxydants, anti-inflammatoire anti métastatiques

I.6. Présentation des lamiacées étudiées

I.6.1. Famille des Lamiaceae

I.6.1.1. Présentation

La famille des Lamiaceae (labiales) du Latin (Labia) lèvre signifiant que les fleurs ont une forme caractéristique à deux lèvres, comprend environ 6970 espèces réparties en 240 genres. Cette famille est l'une des premières à être distinguées par les botanistes et ceci par la particularité de ses caractères. Ce sont généralement des plantes herbacées odorantes, à tiges quadrangulaires, feuilles en général, opposées sans stipules. Le plus souvent hermaphrodites, les fleurs pentamères, sont généralement réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées simulant souvent des verticilles, ou encore condensées au sommet des tiges, et simulant des épis fruit constitué par 4 akènes plus ou moins soudés par leur face interne. Cette famille est donc caractérisée par :

- ✚ Une corolle gamopétale irrégulière à deux lèvres, la supérieure formée de deux pétales, l'inférieure de trois;
- ✚ quatre étamines dont deux plus longues;
- ✚ Ovaire de deux carpelles recoupés par une cloison et comprenant ainsi quatre loges à une graine chacun (tétrachaine) ;
- ✚ des feuilles opposées et, souvent, une tige de section carrée.

Ces caractères varient selon les genres :

- ✚ corolle presque régulière (Mentha) ;
- ✚ deux étamines (Salvia) ;

Elles sont surtout des plantes méditerranéennes qui ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf la famille des Lamiaceae est très importante dans la flore algérienne, mais certains genres sont de détermination délicate en raison de la variabilité extrême des espèces [4].

I.6.2. Présentation des lamiacées sélectionnée

I.6.2.1. Le romarin

Etymologie

Le nom latin *Rosmarinus* est habituellement interprété comme dérivé "*ros*" de la rosée et "*marinus*" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer [1].

Description botanique

Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L, plante commune à l'état sauvage, est, sans doute, l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on la trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante. Cette plante appartient à la famille des Lamiaceae. Le Romarin peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur. Il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole (petit pied), coriaces, beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. Leur odeur, très camphrée, évoque aussi l'encens. Le romarin se cultive en des lieux secs et chauds, il se multiplie facilement au printemps. La floraison commence dès le mois de mars et se poursuit jusqu'en avril mai. La couleur des fleurs, qui se présentent en grappes assez semblables à des épis, varie du bleu pâle au violet (on trouve plus rarement la variété à fleurs blanches *R. officinalis*). Leur calice qui joue le rôle de protecteur de la fleur est velu, à dents bordées de blanc. Elles portent deux étamines (l'organe mâle) ayant une petite dent vers leur base. La lèvre inférieure de la corolle est profondément divisée, faisant penser au labelle de certaines orchidées. Comme pour la plupart des lamiacées [8].



Figure. I.3. Tige principale et rameau feuillé à fleurs du romarin [1].

Taxinomie

La taxonomie botanique est comme suit :

Tableau. I.2 : Classification taxonomique botanique de Romarin [1].

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Rosmarinus
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.
Période de floraison	Février à Avril
Couleur des fleurs	Bleu / mauve
Exposition	Soleil
Hauteur	150 cm



Figure. I.4. Les feuilles, et Les fleurs du romarin cultivé de jardin.

Distribution géographique

Le romarin se trouve dans toutes les contrées mondiales de l'Europe, plus particulièrement sur le pourtour méditerranéen [7], dans les lieux secs et arides, exposés au soleil. A l'état sauvage, il se trouve sur des sols calcaires [9]. En Algérie, le Romarin officinalis est bien apparente en différentes régions (Oranais, le littoral à Béni Saf, ...). On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre [1].

Huile essentielle et principaux constituants chimiques

La sommité fleurie et les feuilles du romarin contiennent essentiellement des flavonoïdes, des acides phénoliques -en particulier de l'acide rosmarinique (à l'origine de ses actions cholérétique et cholagogue), et une huile essentielle (contenant du pinène, du camphrée, du cinéole, du bornéol et du camphre) à laquelle il doit son action stimulante [1].

La composition chimique de certaines huiles essentielles de Romarin de différents pays est présentée dans le Tableau .I.3

Tableau. I.3. Composants majoritaires d'huiles essentielles de l'espèce *Rosmarinus officinalis* [1].

Composé	Algérie	Tunisie	France	Grèce	Chine	Afrique du sud	Turque
a-pinène	5,4	-	20.8	-	19.43	18.18	9.4
Camphène	7.2	5.9	5.1	-	11.52	6.08	-
1,8-cinéole	12.2	33.1	36.9	12.89	27.23	31.12	50.7
camphre	14.6	18.0	34.2	22.24	14.26	30.12	5.9
Terpinen-4-ol	-	6.0	-	-	-	-	-
Bornéol	10.6	8.0	-	7.37	-	-	6.8
Pipéritone	-	-	-	-	-	-	-
a-terpinéol	5.2	-	-	5.67	-	-	6.8
Carbophylleneoxyde	10.9		-	-	-	-	-
B-pinène	8.5		-	-	6.71	-	-
Camphrène	-	-	-	-	19.43	18.18	-
Linalol	-	-	-	-	-	-	-

En plus de l'huile essentielle, on trouve dans le romarin : 2 à 4% de dérivés triterpéniques tels que l'acide ursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol; des lactones diterpéniques : picrosalvine, dérivés de l'acide carnosolique, rosmanol, rosmadial, des acides phénoliques, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques: l'acide citrique, glycolique et glycérique, des stérols, de la choline, du mucilage [1].

L'huile essentielle de romarin est un liquide incolore ou jaunâtre dont l'odeur est fortement camphré, pénétrante de saveur très aromatique. Les sommités fleuries fournissent plus de 10 à 25 mL/Kg. Le type Algérien renferme plus que :

-0,74% dans la plante sèche

-0,1 % dans les feuilles

-1,4 % dans les fleurs et rameaux

Le Romarin est relativement riche en l'huile essentielle (1 à 5%). Les organes pouvant renfermer l'huile essentielle sont les fleurs et les feuilles mais la plus haute qualité est obtenue à partir de ces dernières.

L'importance de l'huile essentielle de Romarin a été démontrée par un grand nombre d'études publiées décrivant sa composition chimique, ses propriétés biologiques ainsi que ses applications [6].



Figure. I.5. Huile essentielle de romarin.

Propriétés et usage

Le romarin est souvent cultivé pour son huile aromatique et considérée utile pour contrôler l'érosion du sol. Dans la médecine traditionnelle, ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique.

L'infusion des feuilles est tonique, antitussive, carminative, antiasthmaticque, fébrifuge, On le recommande dans les asthénies, les troubles du foie, contre les dyspepsies atoniques ainsi que contre les céphalées et les migraines d'origine nerveuse, les vertiges et les troubles de mémoire Il a été également employé en tant qu'analgésique, antiépileptique, diurétique, ainsi que pour traiter l'ictère et sa fumée a été employée contre la peste.

L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires [1].

I.6.2.2. *Teucrium polium*

Etymologie

Le nom générique des germandrées désigne en Latin "teucrion" en grec "τευκρion" Troie, ou de teucros, prince troyen qui aurait découvert les propriétés médicinales de la plante.

Le genre *Teucrium* fait partir des genres les plus importants de la famille des Lamiaceae. Ce genre est réparti en 340 espèces et variétés environs. D'un point de vue taxonomique, elles sont identifiables grâce à la forme du calice et inflorescence. Il s'agit d'un grand genre qui diffère des autres que dans ses Corolles formées d'une lèvre supérieure fendue et à étamines redressées au-dessus de cette fente, de sorte que la corolle parait n'avoir qu'une lèvre inférieure à cinq lobes.

Un grand nombre de travaux ont été publiés récemment sur la taxonomie de ce genre basé sur des études morphologiques (inflorescences et calice), micro morphologiques (trichomes), mais les relations au sein du groupe restent confuses [4].

Description botanique

C'est une plante tomenteuse, blanchâtre, vivace de 10 à 30 cm moyennement velue à odeur forte et désagréable, les tiges sont nombreuses, ligneuses à la base révolutes, en général à marges, grêles, dressées ascendantes, plus ou moins ramifiées, les feuilles sessiles, oblongues ou linéaires, cunéiformes, crénelées, à bords plus ou moins enroulés régulièrement dentés d'une couleur verte pâle en dessus, blanches en dessous.

Les fleurs jaunâtres et globuleuses ou ovoïdes, courtement, pédonculés, calice petit (3 à 4 mm) en cloche, à dents courtes triangulaires presque égaux, très velus. Corolle à tube ne dépassant pas le calice, velu en dehors, à lobes latéraux linéaires, Le médian ovoïde; les fruits murs et sec d'une couleur noir, légèrement creusés, de rocailleur et sèche. La floraison est en avril à juin ; les fleurs sont d'un jaune doré de 5 mm et la récolte en printemps-été ; commun dans les broussailles et les friches [4].

✚ Taxinomie

Taxinomie botanique de *Teucrium*.

Tableau. I.4. Composants majoritaires d'huiles essentielles de l'espèce *Teucrium polium* [10].

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Teucrium</i>
Espèce	<i>Teucrium polium</i>
Période de floraison	Mai à juin
Couleur des fleurs	blanc
Exposition	Soleil
Hauteur	10-30 cm



Figure. I.6 : Les feuilles, et Les fleurs du *Teucrium polium* L.

✚ Distribution géographique

Une vingtaine de cette espèce poussent spontanément en Algérie, elles prédominent dans la région du Tell. *Teucrium polium* est une espèce rare, très

répondue dans les hauts plateaux algérois, oranais et Constantinois, aussi dans l'Atlas saharien oranais, algérois. Elle se rencontre aussi du sommet de chélia jusque dans l'étage saharien, connue comme étant héliophile. Commun dans l'atlas saharien d'une part, le Tefedest et les montagnes du Hoggar d'autre part; plus rare au Sahara septentrional, au Tassilet des Ajjer, au Tademaït. [10]



Figure. I.7: Répartition géographique de *Teucrium* en Algérie [11].

🌿 Huile essentielle et principaux constituants chimiques

La littérature a montré une variation entre les compositions chimiques en fonction de l'origine géographique de l'espèce. Par exemple, le myrcène (15.3%), le germacrène D (9.0%), l' α -pinène (6.6%) et l' α -cadinol (5.1%) ont été les principaux composants de l'huile essentielle du *Teucrium polium* L. tunisien, les principaux composés rapportés pour *T. polium* de l'Iran ont été l' α -pinène (12.52%), le linalol (10.63%), l'oxyde de caryophyllène (9.69%), le β -pinène (7.09%) et le β -caryophyllène (6,98%)[19]. Les principaux composés de *T. polium* du Nord-Ouest algérien étaient le germacrène D (25.81%), le bicyclogermacrene (13%), le β -pinène (11.69%) et le carvacrol (8.93%) [12]. Le composé majeur de l'huile essentielle *T. polium* jordanien étant le 8-cedren-13-ol (24.8%) [4].



Figure. I.8 : Huile essentielle de *Teucrium polium* [13].

Propriétés et usage

En médecine traditionnelle africaine, cette espèce est utilisée dans les périodes de stress, car il permet de se relaxer, de se détendre, d'être serein et plein d'énergie. Elle permet la relaxation des muscles en augmentant leur force, la diminution de l'anxiété et la lutte contre la fatigue et l'agressivité. De plus, elle favorise le sommeil et permet également de stimuler la mémoire, d'augmenter sa concentration et sa lucidité. Elle possède également une action bénéfique sur la digestion. Ses propriétés antistress et antioxydants permettent de lutter contre le vieillissement de la peau. Elle est aussi bien conseillée pour les personnes stressées, ainsi que les personnes de plus de 50 ans et les sportifs. Ses feuilles sont utilisées en cuisine et à des fins médicinales, en particulier pour le traitement des troubles intestinaux et gastriques. Il a également fait preuve d'un soulagement dans le cas de la douleur viscérale. Bien qu'il soit souvent utilisé pour traiter les troubles de sucre dans le sang (comme le diabète), les études n'ont pas réussi à montrer un intérêt de l'utilisation de *Teucrium polium* pour les diabétiques. La plante est utilisée comme dépuratif et remède des maladies du foie et de l'hypertension et dans le traitement des ulcères gastro duodénaux et de l'hyperlipidémie. Comme les armoises, les germandrées ont autrefois fait l'objet d'un commerce. Elles font partie, avec le cymbopogon, des plantes les plus prisées au Tassili car c'est une plante parfumée très appréciée et recherchée des touaregs, c'est l'aspirine des touaregs (Parfume agréablement le thé), indiquée pour régulariser. Les battements du cœur, Elle est également broutée par les herbivores. *Teucrium polium* L. a été reconnue depuis longtemps en médecine populaire dans le traitement physiopathologique de nombreuses conditions, telles

que les inflammations et les rhumatismes. Son extrait a montré des pouvoirs hypotenseurs, antispasmodiques, antibactériens et antipyrétiques diaphorétique, tonifiant, des effets analgésiques et des effets antioxydants [10].

Chapitre 02 :

Les Huiles Essentielles



Chapitre II: Les huiles essentielles

Depuis les temps les plus reculés le monde végétal offre les éléments nécessaires à la survie de l'espèce humaine. En effet, les plantes demeurent la principale source de principes actifs dont le rôle et l'utilisation sont très variés. Les huiles essentielles isolées à partir de plantes, constituent l'un des principes actifs des plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications [2].

Avant d'entamer l'étude chimique et biologique des huiles essentielles de romarin et Teucrium polium, il nous a paru nécessaire de présenter dans ce deuxième chapitre un rappel bibliographique sur les huiles essentielles.

II.1. Rappel Bibliographique sur les huiles essentielles (HEs)

II.1.1. Définition

Les huiles essentielles sont des liquides très peu colorés, volatils à température ambiante. Elles dégagent une odeur caractéristique et sont, en général plus légères que l'eau tout en possédant des caractéristiques hydrophobes [12].

Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums [14].

La pharmacopée française donne une définition officielle des huiles essentielles : « Produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales : celui par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essences ou de certaines de leurs organes, et celui par expression » [1] Selon les normes AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par Hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ». Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante [8].

II.1.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Toutes les parties des plantes aromatiques, tous leurs organes végétaux, peuvent contenir de l'huile essentielle.

- + **Les fleurs:** oranger, rose, lavande ; le bouton floral (girofle) ou les bractées (ylang-ylang) ;
- + **Les feuilles:** eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin ;
- + **les organes souterrains:** racines (vétiver, angélique), rhizomes (gingembre, acore) ;
- + **les fruits:** fenouil, anis, épicarpes des Citrus ;
- + **les graines :** noix de muscade;
- + **le bois et les écorces:** cannelle, santal, bois de rose.

Les huiles essentielles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (Cellules à huile essentielle, cellules à poils sécréteurs (comme dans la menthe), canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif : protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivore [15].



Figure .II.1.Poils sécréteurs [7].

II.1.3. Caractères physico-chimiques des Huiles essentielles

Les huiles essentielles forment un groupe très homogène, Les principales caractéristiques sont:

- + Liquides à température ambiante ;
- + N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes ;

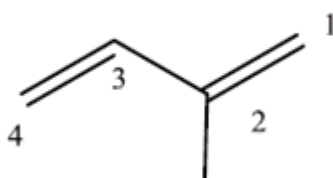
- + Volatiles et très rarement colorées ;
- + Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en Monoterpènes ;
- + Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en Monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en Monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse ;
- + Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau ;
- + Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques ;
- + Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air [14].

II.1.4. Composition chimique des Huiles essentielles [12,16]

La composition chimique des essences est complexe et peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction. Les huiles essentielles sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés : terpéniques et variés.

II.1.4.1. Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités iso préniques. Ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute $(C_5H_8)_n$



Isoprène (2 méthylbuta-1,3-diène)

-Les huiles essentielles contiennent particulièrement des monoterpènes, des sesquiterpènes et peu souvent de diterpènes.

-Les terpènes sont de structure très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques,...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques. A titre indicatif, quelques structures de monoterpènes et sesquiterpène sont représentées sur la figure II.2.

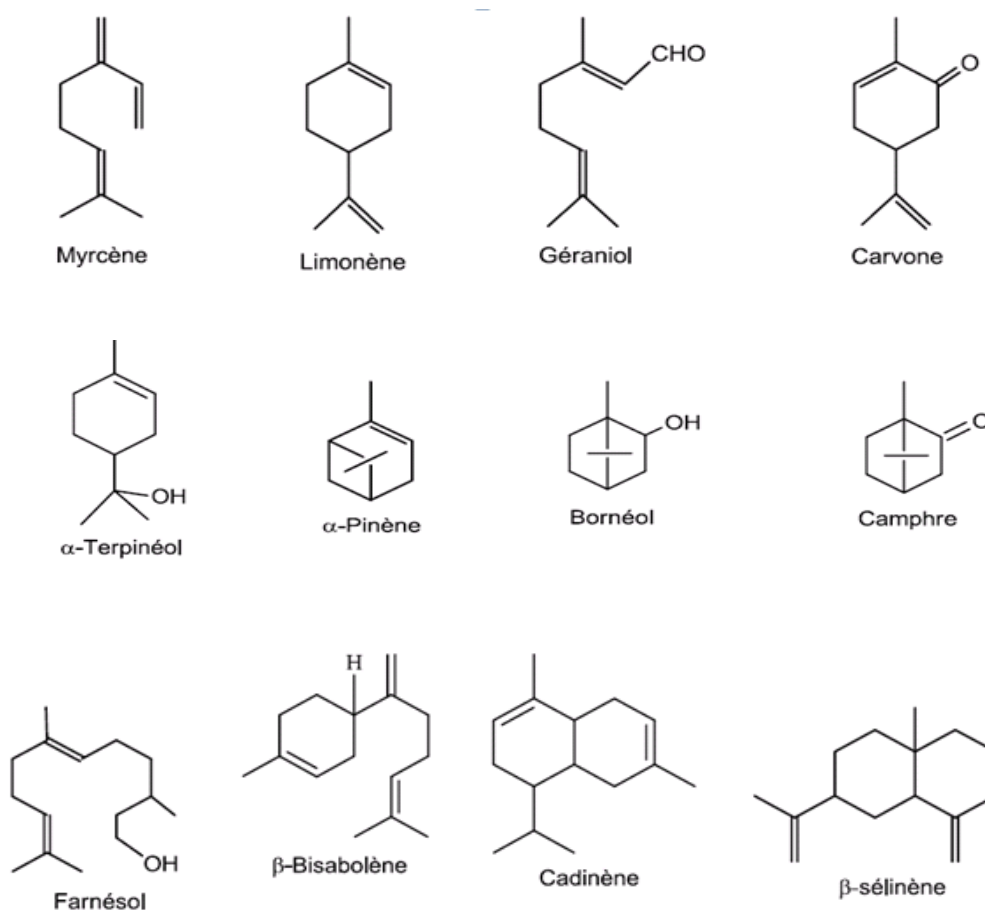


Figure.II.2: Exemples de structures de mono-et sesquiterpènes.

Remarque

A noter que des monoterpènes, à chaîne aliphatique ou cyclique et porteur d'une fonction ester, sont aussi présents dans les essences végétales. l'acétate ou propionate de linalyle, l'acétate de citronellyle, l'acétate de géranyle, l'acétate de menthyle, ou d' α terpényle,...en sont des exemples. D'autres sont dotés d'une fonction phénol comme le thymol, le carvacrol, l'eugénol, ou le 1,8 cinéole (eucalyptol).

II.1.4.2. Composés aromatiques [17]

Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquent que les précédents, Ce sont très souvent des allyles –et des propénylphénols, parfois des aldéhydes on peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C_6-C_1) comme la vanilline ou comme l’anthranilate de méthyle.

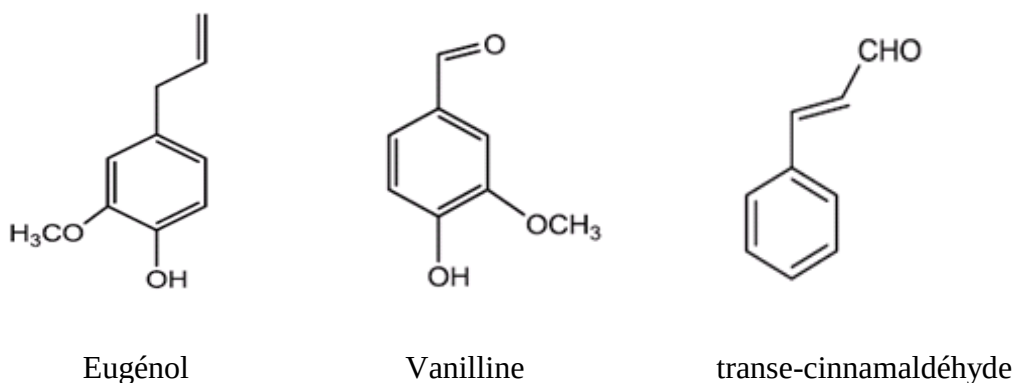


Figure.II.3. Exemples de structures des composé aromatique .

II.1.5. Procédés d’extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi, les différentes techniques d’extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d’une part, tenir compte de ces caractéristiques et d’autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes [1].

Les étapes de l’extraction des huiles essentielles d’origine végétale restent identiques quelque soit le type d’extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d’extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l’huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation comme cela est explicité dans la figure. II.4.

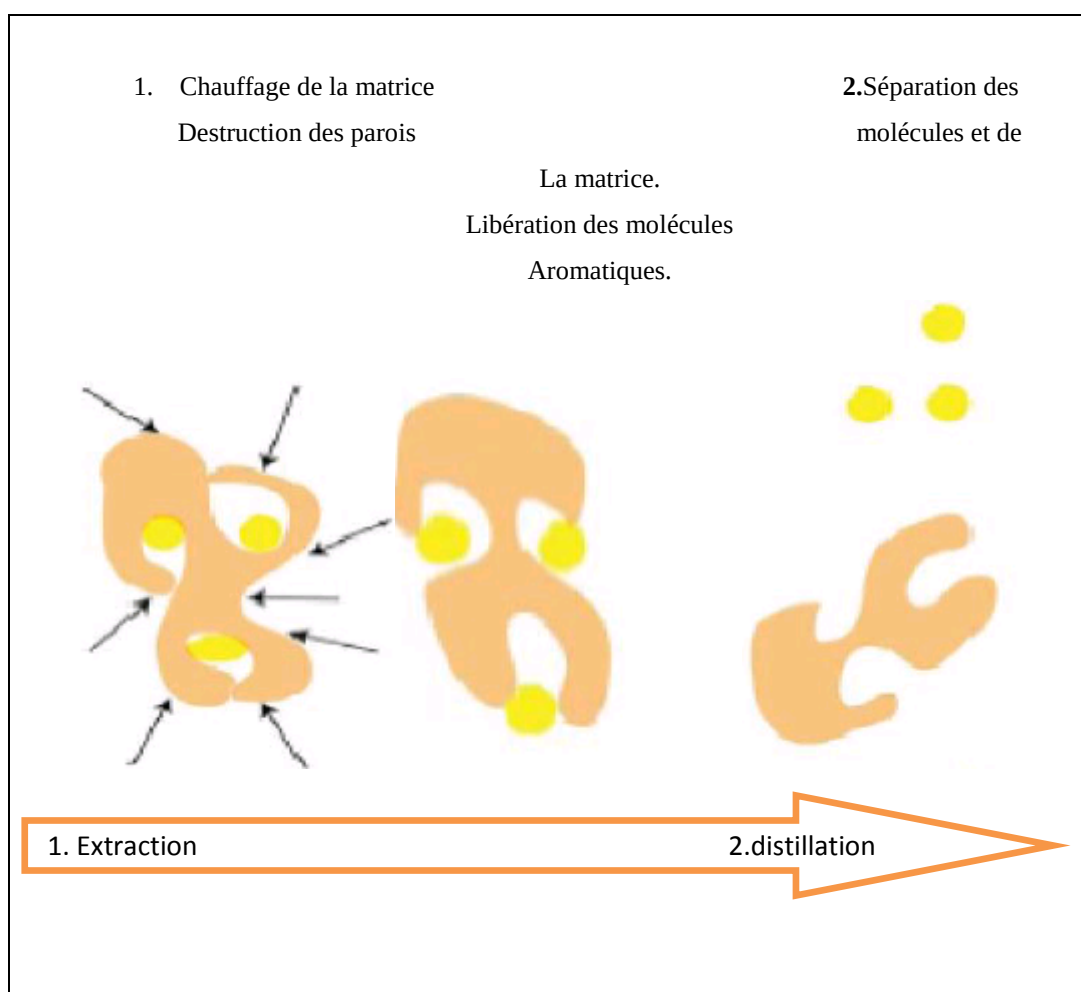


Figure. II.4 : Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle [18].

Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le principe de l'Hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult). Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger [1].

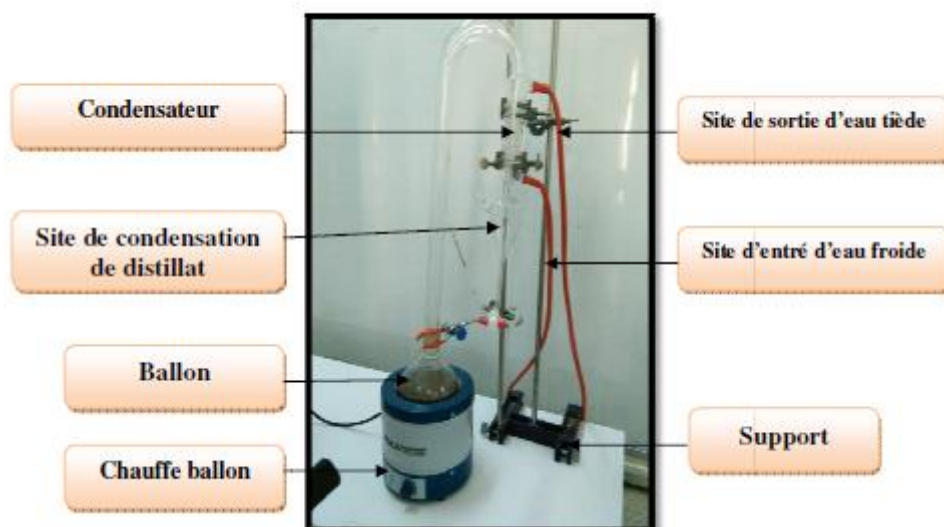


Figure. II.5. Montage d'Hydrodistillation de type Clevenger.

Entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'Hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle » le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle [1].

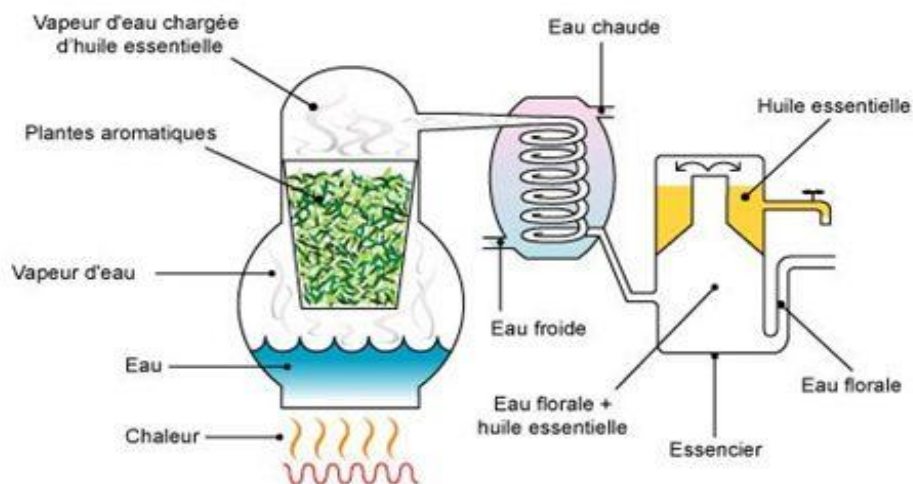


Figure.1I.6. Montage d'entraînement à la vapeur d'eau [5].

II.1.6. Propriétés fondamentales des huiles essentielles

Le rôle physiologique des huiles essentielles est aujourd'hui démontré. Les huiles essentielles ont des propriétés médicinales nombreuses et variées. Chaque huile essentielle ne possède pas qu'une action unique. Elle peut avoir de multiples propriétés : antiseptique, diurétique, tonique, antispasmodique, antirhumatismale, antitussive et autre, et ceci du fait de ses éléments chimiques variés. Si leur composition est complexe, les huiles essentielles sont cependant caractérisées par 2 à 3 composés majoritaires présents relativement en forte concentration de 20 à 70% par rapport aux autres constituants présents parfois sous forme de traces. Ce sont eux qui confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés thérapeutiques. Par exemple, le menthol et la menthone représentent respectivement 59 et 19% de la composition de l'huile essentielle de menthe poivrée ou le carvacrol et le thymol respectivement 30 et 27% de l'origan compact. L'activité de l'huile essentielle dépend donc de sa composition et c'est d'ailleurs ce qui la distingue d'un médicament « classique » lequel se résume souvent qu'à une molécule pour traiter une pathologie. Les molécules aromatiques agissent à différents niveaux et de manières directs ou indirectes. Le composé principal de l'huile essentielle agit sur un trouble mais les éléments secondaires interviennent en synergie ou simplement sur l'état de santé général du patient : stress, fatigue, autre [1].

Propriétés anti-infectieuses et de défense de l'organisme

Dans la mesure où elles sont lipophiles, les huiles essentielles passent facilement les parois cellulaires et cytoplasmiques en provoquant des dommages irréversibles pour ces parois. C'est ce qui leur confère une grande cytotoxicité. Elles augmentent notamment les perméabilités de ces parois [1].

Propriétés anti-inflammatoires

Les aldéhydes sont doués de propriétés actives contre les états inflammatoires. Ainsi, les huiles essentielles qui en sont riches, sont très utilisées par voie interne ou locales, dans les troubles articulaires inflammatoires. Les huiles essentielles d'eucalyptus citronné, de géranium, de gingembre, de giroflier ont un bon pouvoir anti-inflammatoire [1].

Propriétés cicatrisantes

Les huiles essentielles employées contre les affections de la peau ont des propriétés cicatrisantes dues à leur activité physico-chimique et à leur action vasomotrice. Ce sont les huiles essentielles de lavande aspic, palmarosa. Niaouli, ravensare et de romarin [1].

Propriétés à visée neurotrope

Les huiles essentielles agissent sur le système nerveux central. Ce sont des huiles à action sédatrice ou à action stimulante. L'action se fait par stimulation ou inhibition du système nerveux périphérique. Les huiles essentielles sont utilisées pour leur pouvoir analgésique. De nombreuses huiles essentielles ont une action antispasmodique qui leur permet d'avoir une action contre certaines douleurs : gastrique menstruelles, musculaires, céphalées, rhumatismes [1].

II.1.7. Effet thérapeutique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement utilisées en thérapie, les effets thérapeutiques les plus répandues dans les huiles essentielles sont résumées dans le tableau [6].

Tableau. II.1 : L'utilisation thérapeutique des huiles essentielles [7].

Huile essentielle de la plante	Utilisation thérapeutique
 basilic	-Diminue l'anxiété, améliore la concentration de la digestion, soulager les maux de tête.
 citron	Améliore la circulation, soulage-les problèmes respiratoires.
 Camomille	Contre la dépression et les insomnies, soulager Les problèmes de peau.
 Eucalyptus	Soulage les rhumes, problèmes respiratoires, les douleurs.

 Fenouil	Améliore la digestion, soulage la constipation et les nausées, les graines sont galactogènes.
 Jasmin	Soulage les dépressions, les problèmes respiratoires, normalise la circulation et améliore la digestion.
 Lavande	Soulage les insomnies, Les indigestion, Les maux de tête, Les douleurs musculaires.
 Marjolaine douce	Diminue la tension nerveuse, la pression artérielle, Les insomnies, Soulage les rhumes.
 Menthe poivrée	Soulage la fatigue, les irritations cutanées.

Pin 	Aide aux problèmes avec les reins, Soulage les problèmes respiratoires.
 Rose	Soulage les stess, soulage les maux de tête.

II.1.8. Toxicité des huiles essentielles (HEs)

Les huiles essentielles sont des substances puissantes et très actives. Elles représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Néanmoins, il est important de souligner quel 'automédication fréquente et abusive surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe par les essences est nocive. Elle engendre des effets secondaires plus ou moins néfastes dans l'organisme (allergies, coma, épilepsie...etc.) Principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques) [2].

L'accumulation des essences dans l'organisme par des prises répétées peut conduire à des nausées, des céphalées,...L'ingestion de plus de 10 mL d'huile essentielle est neurotoxique et épileptogène par inhibition de l'apport d'oxygène au niveau des tissus encéphaliques [19].

Certains HEs sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol, ou en carvacrol),

allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) ou photo-toxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines). D'autres HEs ont un effet neurotoxiques (les cétones comme l' α -thuyones sont toxiques pour les tissus nerveux) [1].

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible : une DL50 comprise entre 2 et 5 g/kg pour la majorité des huiles couramment utilisées : anis, eucalyptus, girofle ou le plus fréquemment supérieure à 5 g/kg (camomille, citronnelle, lavande, marjolaine, vétiver, etc.). D'autres ont une DL50 inférieure à 1g/kg : l'huile essentielle de boldo (0.13 g/kg, convulsions apparaissent dès 0.07 g/kg) ; l'essence de moutarde (0.34 g/kg) ; l'origan et la sarriette (1.37 g/kg) ; le basilic, l'estragon et l'hysope (1.5 ml/kg).

Tandis que la toxicité chronique est assez mal connue, Reste à savoir que dans leur emploi externe, les risques de toxicité sont fortement réduits.

Les huiles essentielles peuvent provoquer : agitation, tremblements généralisés, coma, hématurie, néphrite aiguë, ivresse, congestion cérébrale et pulmonaire, dépression du tonus sympathique, hallucination, spasmes musculaires etc. Dans certains cas, la neurotoxicose de quelques huiles peut nécessiter l'hospitalisation [1].

II.1.9. Principales utilisations des huiles essentielles

En pharmacie

Le décret n° 2007 -1198 du 3 aout 2007 modifiant l'article D.4211-13 du code de santé publique fixe une liste des huiles essentielles dont la vente au public est réservée aux pharmaciens. Initialement cette liste comportait sept référence ; depuis le aout 2007 elle comporte dix-huit (grande absinthe, petit absinthe, armoise commune armoise blanche, armoise arborescente, thuya du canada au cèdre blanc et cèdre Corée , hysope , sauge officinale tanaïs, thuya ,sassafras ,sabine ,rue).

Les huiles essentielles utilisée en nature ont de nombreux :

-activité antiseptique locale externe ou interne (pulmonaire, rénale) : Huiles essentielles eucalyptus ou huiles essentielles de pine [20].

En parfumerie

C'est le débouché des huiles essentielles, des concrètes absolues et autres résinoïde fournis par ces drogues. L'industrie des cosmétiques et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit parfois à privilégier les formulations de grande diffusion des produits synthétiques [20].

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles essentielles constituent des bases de parfums irremplaçables (exemple: Rose et Jasmin).

A la limite de la pharmacie et des produits d'hygiène, Ces huiles essentielles sont dans les préparations pour bains (bains calmants, bains relaxant) on notera qu'il y'a là une possibilité d'absorption percutanée des constituants terpéniques [21].

Dans les industries agro-alimentaires

Si certaines drogues sont utilisées en nature (épices et aromates), d'autres le sont sous forme d'huiles essentielles ou de résinoïde et d'oléorésine dispersés, en capsule, complexés. Le développement de nouvelles pratiques culinaires (plats préparés, préparation surgelées industrielles, etc.), le goût pour l'exotisme, les qualités gustatives des produits d'une agriculture intensive et d'autres facteurs conduisent à une augmentation rapide de la consommation de ces aromatisants naturels. Tous les segments alimentaires sont consommateurs: boissons, confiseries, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, snacks, produits de boulangerie, sans oublier la nutrition animale.

Depuis le début des années quatre-vingt, la part du naturel dans l'aromatisation des produits alimentaires ne cesse de croître aux dépens des compositions aromatiques de synthèse. à côté des dérivés de transformations des fruits, les huiles essentielles ont vraisemblablement encore une marge de progression prévisible des produits néo naturels (produits de fermentation et de bioconversion) [22].

II.1.10. Contrôle des huiles essentielles

Les pharmacopées prévoient différents essais: évaluation de la miscibilité à l'éthanol, détermination des indices d'acide, d'ester, de carbonyle, éventuellement la recherche des huiles grasses et des huiles essentielles résinifier, détermination du résidu d'évaporation et autre ; elles prévoient aussi des mesures physiques comme l'indice de réfraction, l'angle de rotation optique, la densité relative, parfois le point de solidification. Elles demandent également une analyse de l'huile essentielle par une technique chromatographique [23].

II.2. Lutte biologique

Dans son environnement, l'homme est entouré d'un grand nombre de microorganismes qui colonisent sa peau, ses muqueuses, son tube digestif et même son système respiratoire et son appareil urinaire.

Ces microorganismes constitués par des bactéries, des champignons, des parasites et des virus peuvent être des saprophytes comme la flore digestive ou pathogènes déterminant une infection chez l'hôte.

Certaines espèces microbiennes pathogènes, sont de moins en moins sensibles aux antibiotiques et développent des résistances multiples à ces derniers. Par conséquent, la nécessité de trouver des solutions est à l'ordre du jour.

Les HEs, vu la diversité des molécules qu'elles contiennent, sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques, antimicrobiennes, etc.

En effet, l'activité biologique d'une essence est à mettre en relation avec sa composition chimique et les effets synergiques possibles entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses constituants et non pas seulement à ses composés majoritaires grâce à leur forte action antimicrobienne développée depuis plusieurs années, le recours aux HEs, constitue un sérieux substitut au traitement par les antibiotiques dans les pathologies infectieuses.

De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche portent sur les propriétés antimicrobiennes des HE des plantes aromatiques. [17]

II.2.1. Généralités sur les souches testées

II.2.1.1. Bactéries à Gram négatif

Le genre *Escherichia*

Ce genre appartient à la famille des Enterobacteriaceae. Les entérobactéries sont les hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux, mais aussi de nombreuses souches de cette famille ont été isolées de *colibacille* l'environnement aquatique ou terrestre.

Les bactéries de cette famille se cultivent facilement sur milieux ordinaires et utilisent une très large variété de composés organiques simples comme source d'énergie : sucres, acides aminés, acides organiques. La plupart des entérobactéries pathogènes se multiplient à la température optimale de 37°C. Ce genre comprend cinq (5) espèces, mais *E. coli* (*Escherichia coli*) est la plus importante. *Escherichia coli*, appelée aussi, est une bactérie, présente de façon naturelle dans le tube digestif de l'être humain et de nombreux animaux. Elle est en temps normal non pathogène, c'est-à-dire non responsable d'infection, mais peut le devenir dans certaines conditions.

Dans la plupart des cas, certaines souches entraînent des troubles intestinaux à type de diarrhées, mais *E. Coli* peut aussi coloniser d'autres organes, notamment les voies urinaires chez la femme, à l'origine de la plus grande partie des cystites par passage des bactéries des selles émises au niveau de l'anus vers le périnée et les organes génitaux. *Escherichia Coli* est habituellement bien sensible aux antibiotiques, qui guérissent l'infection sans séquelle. Plus rarement, des infections généralisées ou des méningites sont également possibles [17].

II.2.1.2. Bactéries à Gram positif

Les bactéries Gram positif protègent leur membrane avec une paroi épaisse, le composant majeur de la paroi est polymère complexe de sucres et d'acides aminés, appel muréine ou peptidoglycane .la muréine est un composant essentiel qui donne à la bactérie sa forme et sa rigidité que ce soit chez les bactéries Gram positif ou chez la bactérie Gram négatif. [17]

Les staphylocoques

Les staphylocoques sont des bactéries à Gram positif, de forme sphérique et se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers à la leur nom (staphylos tiré du grec). Ce sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme (air, eau et sol,) et en plus forte densité sur les surfaces cutano-muqueuses des mammifères.

S. aureus est une bactérie impliquée dans des pathologies variées, les staphylocoques sont souvent responsables d'infections contractées dans les hôpitaux le traitement est difficile car de nombreuses souches sont résistantes aux antibiotiques. Selon les services hospitaliers 20 à 50% des souches seraient en effet désormais multi résistantes [24].

Tableau.II.2. les souches testées pendant l'évaluation des activités antimicrobiennes [2].

Substance bactérienne	Espèces	Références	Habitat préférentiel	Pouvoir pathogène
Bactérie à Gram +	Staphylococcus aureus	ATCC25923	Peau, cheveux Nasopharynx Périnée Poussières, air Aliments contaminés	Infections cutanées, plaies, brûlures, abcès Ostéites, ostéomyélites Endocardites Septicémies Infections pulmonaires infections alimentaires, nosocomiales

Bactérie à Gram ⁻	<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	Matières fécales Aliments contaminés Eaux usées	Infections urinaires Plaies Septicémies Infections respiratoires infections alimentaires, nosocomiales Gastro- entérite,
-------------------------------------	-------------------------	-----------	--	--

II.2.2. Activité antimicrobienne [17]

L'essor de la chimie a permis l'apparition de nouvelles substances. Ces dernières sont définies comme étant des substances utilisées pour détruire le micro organismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens et antifongiques. Ces substances synthétiques ont été employées couramment.

Cependant, en raison du souci majeur des consommateurs de denrées sans additifs chimiques, la recherche d'additifs naturels, notamment d'origine végétale, s'est développée particulièrement ces dernières années. Par conséquent, l'utilisation de produits naturels possédant une activité antibactérienne s'avère nécessaire.

En effet, les huiles essentielles (HEs) sont connues pour posséder une activité antimicrobienne et certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants [17].

II.2.3. Activités biologique des huiles essentielles

II.2.3.1. Propriétés antibactériennes

Les H.Es les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux *Labiatae* : origan, thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes

aromatiques à HE riches en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés possèdent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est le plus actif de tous, reconnu pour être non toxique, il est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, friandises et autres préparations. Le thymol et l'eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et, alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : *E-coli*, *Staphylococcus aureus* [25].

II.2.4. Mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles

Le mode d'action des HEs sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé. Compte-tenu de la diversité des molécules présentes dans les huiles essentielles, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires (FigII.7)

Du fait de la variabilité quantitative et qualitative des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo osmotique et une fuite d'ions (K^+)

Certains composés phénoliques des HEs perturbent la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, une partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation. Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN et de l'ARN des protéines et Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K^+) [17].

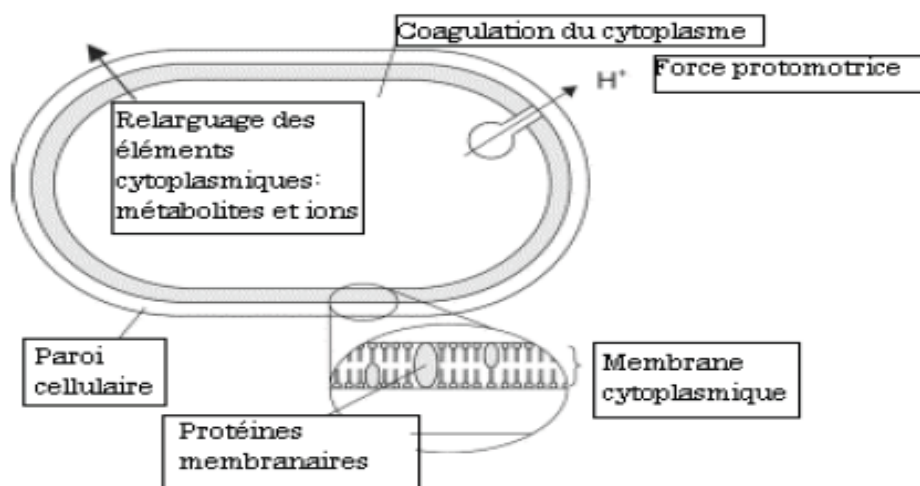


Figure .II.7. Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne [17].

II.2.5. Les principales techniques de détermination de l'activité antimicrobienne des HEs

✚ Aromatogramme

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des H.E. testées, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar¹ réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité donnée d' H.E. Figure .II. 8 [3].

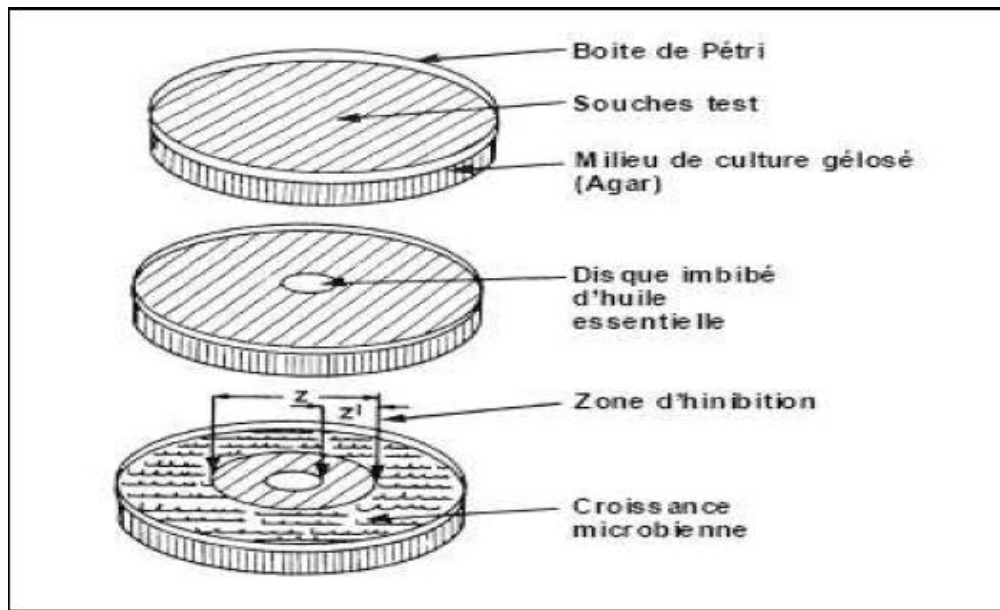


Figure .II. 8. Illustration de la méthode d'aromatogramme [3].

Le choix des bactéries a été porté sur deux souches fréquentes en pathologie Humaine.

Nous avons sélectionnés deux (02) groupes de bactéries :

- ✚ Des bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* ;
- ✚ Une bactérie à Gram positif : *Staphylococcus aureus*.

CHAPITRE III :

Méthodes et Matériels



Chapitre.III : Matériels et Méthodes

III.1.Critères de choix de la plante

Le choix de nos plantes est basé sur une recherche approfondie dans la littérature et une enquête ethnobotanique, au cours de laquelle plusieurs personnes ayant une vaste connaissance de la façon d'utiliser ces plantes ont été interrogées. Ces plantes sont largement utilisées dans la région de Bouira pour son pouvoir curatif et guérisseur.

Les critères de choix dans notre étude sont par rapport à :

- la disponibilité de la plante;
- les utilisations dans la médecine traditionnelle pour le traitement des maladies d'origine microbienne;
- la présence de substances aromatiques (huiles essentielles) avec un rendement satisfaisant ;

III.2. Présentation et situation de la zone de récolte

Dans notre étude, nous avons utilisé comme espèce le Romarin «*Rosmarinus officinalis.L*» et *Teucrium poluim.L*. Les deux plantes ont été récoltées de deux zones différentes de wilaya de Bouira, à savoir Bouira pour *Rosmarinus officinalis.l* et Dira (Bouira) pour *Teucrium poluim.l*.



Figure III.1: Carte de localisation des stations de récoltes [26].

Tableau III.1 : Présentation et situation de la zone de récolte.

La couleur	La plante	La station
	<i>Teucruim poluim.l</i>	Dira(Bouira)
	<i>Rosmarinus officinalis.l</i>	Bouira centre

III.3. Matériel

III.3.1. Matière végétal

Il est constitué de la partie aérienne (feuilles et fleurs) des deux espèces de plantes ; *Rosmarinus officinalis l* et *Teucrium poluim.l* qui ont été récoltées durant le mois d’Avril- Mai 2018.

Les deux plantes étaient sèchement utilisées pour l’extraction des huiles essentielles.

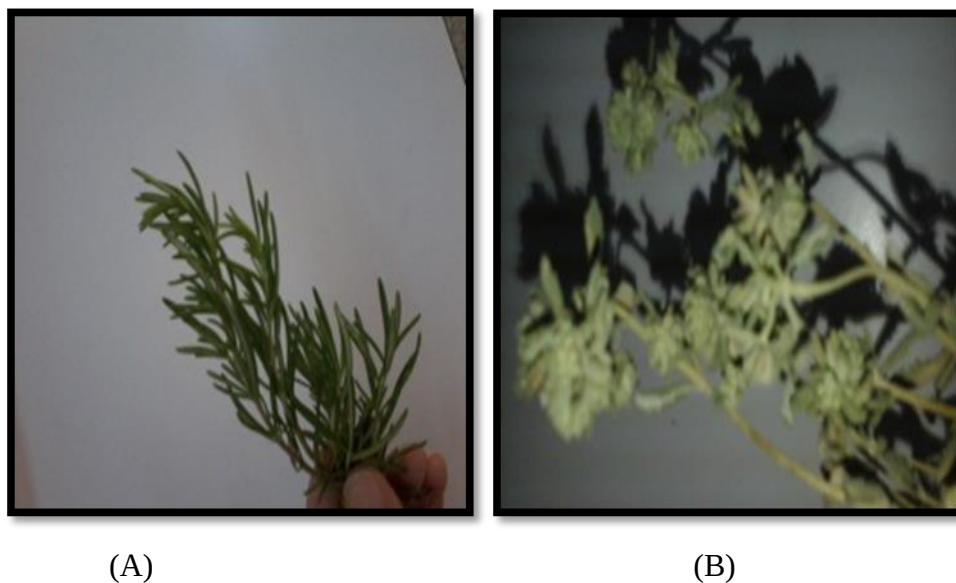


Figure III.2 : Partie aérienne de *Rosmarinus officinalis L* (A) et *Teucrium poluim*(B).

Nous avons procédé au séchage à la température ambiante (20-25°C) pendant environ 10 à 15 jour à l’air libre, jusqu’à la stabilisation de leur masse afin d’éviter d’éventuelles risques d’oxydation des poly-phénols et de préserver au maximum l’intégrité des molécules. Ensuite, les échantillons ont été récupérés dans des sacs propres et stockés à l’abri de la lumière et d’humidité.

Tableau III.2 : Séchage des plantes étudiée.

Plantes étudié	Fraiche	Sèche
Romarin		
Teucrium polium		

**Figure III.3:** Séchage des plantes a étudiée.

III.3.2. Matière biologique

Bactéries pathogènes

Les souches utilisées dans les tests quel font parties des microorganismes, qui sont des pathogènes et des contaminants. Le support microbien est composé d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et qui ont été isolées des produits pathologiques provenant de laboratoire de bactériologie de l'hôpital « Mohamed Elbachir » de Ain Bessem.

Extraits

Nous avons testé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (RM, Teuc.p, éther d'éthylique) qu'on a extrait à partir des feuilles et fleurs de nos plantes.

III.4. Caractérisation physico-chimique des plantes étudiées

III.4.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles des deux plantes *Rosmarinus officinalis*.l et *Teucrium polium*.l a été réalisée au niveau des laboratoires de Génie des procédés au niveau de pole universitaire de Bouira, l'extraction des huiles essentielles a été effectuée par Hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger.

Principe de l'extraction

L'Hydrodistillation consiste à porter à ébullition un mélange {eau + extraits végétaux}. Puis, les vapeurs qui se dégagent seront liquéfiés à l'aide d'un réfrigérant à eau afin de récupérer les huiles essentielles. En effet, les espèces chimiques odorantes que renferment de nombreuses plantes sont faites de molécules peu ou pas solubles dans l'eau mais souvent volatiles.

Initialement mélangées à de l'eau, elles se vaporisent par chauffage en même temps que l'eau et sont entraînées par la vapeur d'eau vers un réfrigérant où elles se liquéfient (ainsi que l'eau). A la sortie du réfrigérant, on recueille un liquide, le distillat ou hydro distillat. Il est en général formé de 2 liquides non miscibles :

-la phase aqueuse

La plus abondante, est constituée d'eau dans laquelle sont dissoute très peu d'espèces odorantes.

-La phase organique (l'huile essentielle) : est constituée des espèces odorantes.

III.4.2. Protocole d'extraction**✚ Etape 01**

100 g de feuilles et fleurs des deux plantes sont hydro distillés.

Quand la température se stabilise, on commence à recueillir le distillat dans un Erlenmeyer.

✚ Etape 02

Nous ajoutons environ 8 g de chlorure de sodium (NaCl) au distillat et 10 ml d'éther d'éthylque. Nous agitons jusqu'à dissolution. Puis, Nous l'a mis dans une ampoule à décanter.

✚ Etape 03

Après agitation et décantation (l'extraction liquide- liquide), nous observ deux phases (organique et aqueuse) la phase organique est supérieur et la phase aqueuse est inférieur, on récupère la phase organique.



Figure III.4 : Montage d'Hydrodistillation (Clevenger).

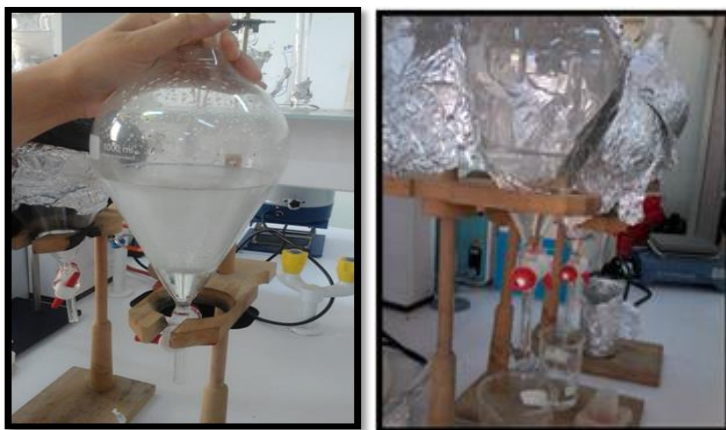


Figure III.5. : La décantation.

✚ Etape 04 : Récupération des Huiles essentielles

Les huiles essentielles sont recueillies et conservées au réfrigérateur à $+4^{\circ}\text{C}$ dans des bouteilles sombres pour les préserver de la chaleur jusqu'à son caractérisation analytique.



Figure III.6. Huiles essentielles

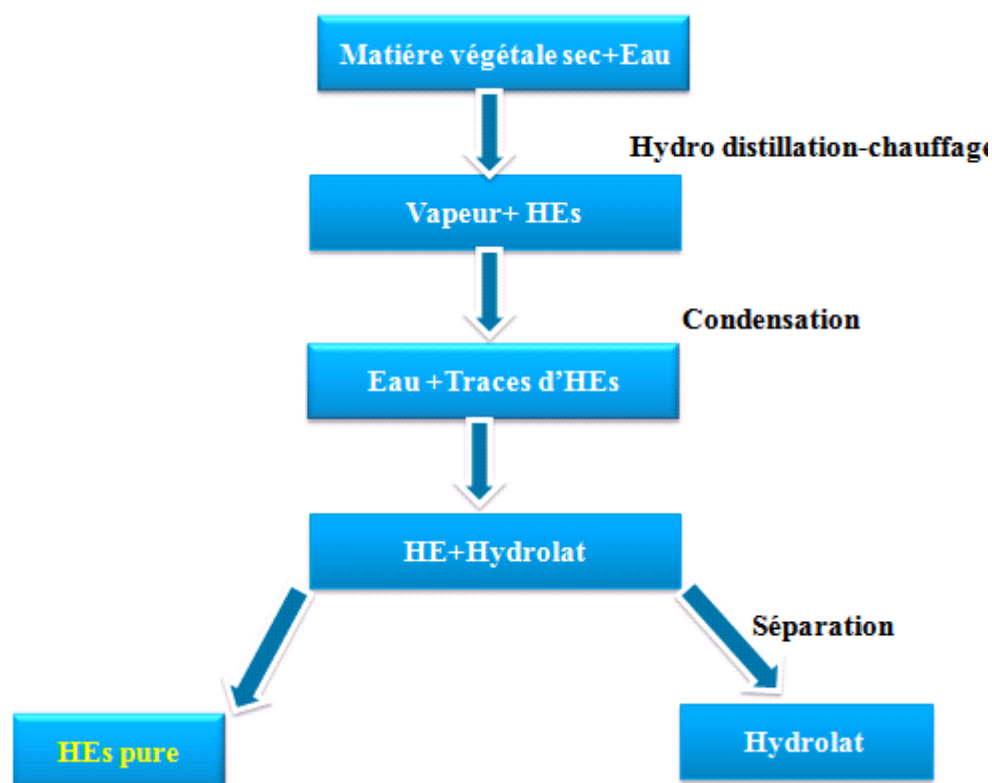


Figure.III.7. Etapes d'extraction d'huile essentielle [27].

III.4.3. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque aux cinq ans, Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque quatre degrés.

Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (norme AFNOR NF T 75-001, 1996) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE (norme NF 75-002, 1996) [28].

III.4.4. Détermination du rendement d'extraction [29].

Le rendement en huile essentielle est définit comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielles obtenue et la masse du matériel végétal à traiter.

$$\text{RHE (\%)} = \text{MHE} / \text{MS.100}$$

RHE : rendement en extrait fixes en g /100g de matière sèche.

MHE : quantité d'extrait récupérée exprimée en g.

MS : quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

III.5. Caractérisation des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis.l* et *Teucrium poluim.l*

III.5.1. Caractères sensorielles et les analyses physicochimiques [1]

Les huiles essentielles doivent répondre à des caractéristiques analytiques qui sont établies par des normes internationales. Pour connaître la qualité de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis.l* et *Teucrium poluim.l*, nous avons procédé à des essais sensorielles et à des mesure de quelques indices physicochimiques.

III.5.1.1.Caractéristiques sensorielles : (AFNOR NF ISO 280 : 1999)

✚ **La couleur:** c'est un paramètre très important. Elle est déterminé à l'œil nu

✚ **L'aspect: Propriétés physicochimiques :** (Normes AFNOR, 1992)

III.5.1.2. Evaluation de quelques indices physicochimiques des huiles essentielles

III.5.1.2.1. Analyses chimiques

III.5.1.2.1.1. Indice de Saponification (IS) (mg de KOH /g d'huile) [29]

C'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaires pour neutraliser" l'acidité libre et saponifier à chaud les esters de 1 g de lipide.

✚ **Equations**

Neutralisation des AG libres : $R-COOH + OH^- \longrightarrow R-COO^- + H_2O$ Excès

Saponification des glycérides à chaud 30 min :



Dosage de KOH restant par Hcl : $OH^- + H^+ \longrightarrow H_2O$ Reste

La valeur de l'indice de saponification nous permet d'estimer les longueurs des chaînes de carbone des acides gras constituant l'huile d'une part, et de calculer les masses moléculaires moyennes des acides gras et des triglycérides qui renferment l'huile. Pour déterminer l'Indice de Saponification, nous avons appliqué la méthode (ISO : 657 - 2002)

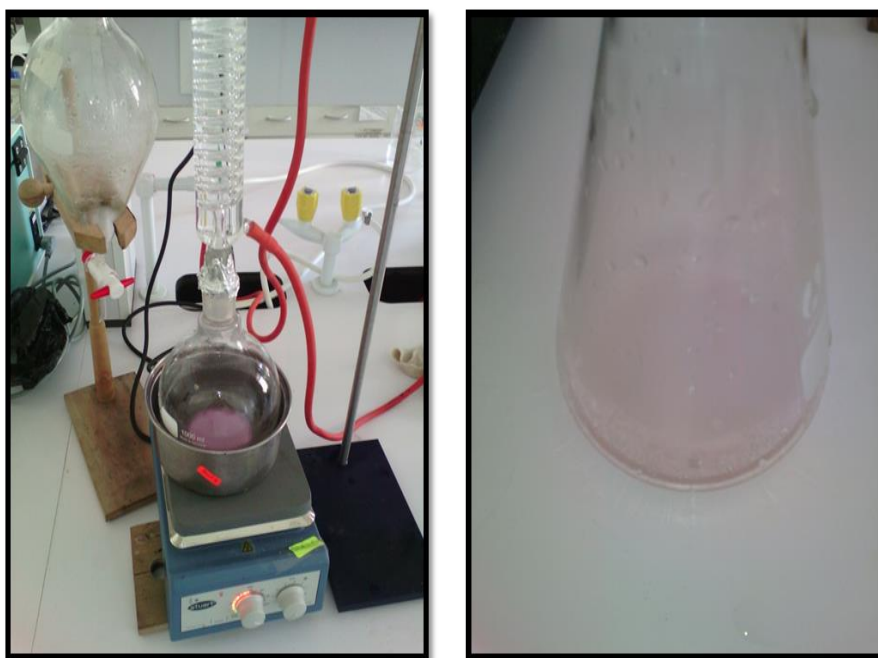


Figure III.8: Mesure l'indice de saponification.

On prend 2 ml d'HE, 20 ml de la solution KOH alcoolique (0.6N), Puis on place un réfrigérant, on met l'ensemble dans un bain marie et on chauffe jusqu'à ébullition pendant 1h jusqu'au 1h 30min, titrer l'échantillon après refroidissement du récipient, avec du HCl (0.5N) jusqu'à disparition complète de la couleur rose, dans les mêmes conditions, un essai à blanc est effectué.

L'indice de Saponification est calculé selon l'équation :

$$IS \text{ [mg de KOH/g]} = [(V_b - V) * N / m] * 56.1$$

V_b: Volume d'HCl 0,5N requis pour titrer le blanc ;

V : Volume d'HCl 0,5N requis pour titrer l'échantillon ;

N : Normalité de la solution d'HCl ;

M : Prise d'essai en grammes.

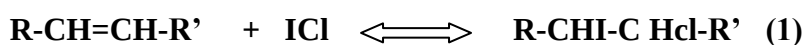
III.5.1.2.1.2. Indice d'iode (II) [29]

L'indice d'iode d'un corps est la masse de di-iode, exprimé en gramme, que l'on peut fixer par addition sur 100 grammes de lipide. Il permet d'évaluer le degré d'insaturation.

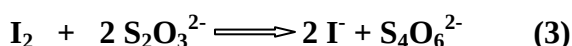
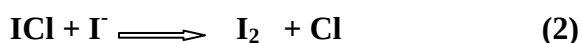
Le principe se base sur le titrage, par le thiosulfate de sodium, de l'excès de réactif de Wijs transformé en iode par l'addition de l'iodure de potassium.

La norme (ISO : 3961-1996) est utilisée pour déterminer l'indice d'iode.

✚ Équations du dosage



Le réactif de Wijs qui n'est pas fixé sur les doubles liaisons est détruit lors de l'addition d'une solution d'iodure de potassium pour former du di iode I_2 , selon la réaction (2) et Le titrage du di iode formé, par une solution connue de thiosulfate, permet de connaître la quantité de matière d'I-Cl réaction (3)



Le Di-iode formé, par une solution connue de thiosulfate, permet de connaître la quantité de matière d'I-Cl réaction (3)



Figure III.9: Indice d'iode.

L'indice d'iode de l'extrait est estimé par le dosage d'iode en excès dans une solution à base de HEs, contenant 5 ml d'alcool, 10 ml d'une solution d'iode à 0.1N alcoolique, 250 ml d'eau distillée, par le thiosulfate de sodium à 0.1N en présence de quelque goutte d'amidon à 0.1N. Parallèlement on réalise un essai à blanc sans ajouter la matière grasse.

III.5.1.2.1.3. L'indice d'acide [1]

L'indice d'acide permet de vérifier la qualité d'une H.E, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage.

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle.

Le test consiste en la neutralisation de la solution d'huile essentielle dissoute dans l'éthanol, à l'aide d'une solution éthanoïque d'hydroxyde de potassium, en utilisant la phénolphthaléine comme indicateur coloré.



Figure.III.10 : l'indice d'acide.

La détermination expérimentale de l'indice d'acide s'effectue par le dosage d'une solution contenant 2 g d'HE, 5 ml d'éthanol et quelques gouttes de phénolphthaléine, par l'hydroxyde de potassium (0.1M).

Noter le volume de solution d'hydroxyde de potassium utilisé.

L'indice d'acide est calculé par la formule : [30]

$$I.A = C * V * 56,11/M$$

Où : IA : Indice d'acide.

V : est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée.

M : est la masse en grammes de la prise d'essai.

C : concentration exacte, en mole par litre de la solution de KOH.

III.5.1.2.1.4.Indices d'Ester (IE) [29]

L'indice d'ester est la masse en milligramme de potasse requise pour la saponification à chaud des esters contenus dans un gramme de corps gras. Il est calculé à partir de l'Indice d'Acide (IA) et l'Indice de Saponification (IS).

L'Indice d'Ester est calculé selon l'équation suivante :

$$IE = IS - IA$$

IS: Indice de Saponification.

IA: Indice d'Acide.

III.6.Analyse physique**III.6.1.Mesure de pH [3]**

pH l'abréviation de potentiel d'hydrogène, mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H⁺) (Appelés aussi couramment protons) en solution. Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre : elle est acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7, basique s'il est supérieur à 7.

 Méthode de mesure

Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un pH-mètre.

III.6.2.L'indice de réfraction [1]

L'indice de réfraction (RI) est utilisé :

- Pour identifier une HE.
- Comme critère de pureté des huiles essentielles.
- Pour vérifier la qualité de la distillation : une distillation trop rapide, à température trop élevée, trop lente abaisse l'indice de réfraction L'indice de réfraction des HE est généralement élevé. Il est supérieur à celui de l'eau à 20 °C = 1.3356.
- L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux

de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.

- Utiliser un réfractomètre permettant la lecture directe d'indices de réfraction situés entre 1.300 et 1.700, l'appareil est ajusté de manière à donner, à la température de 20 °C, une valeur de 1.333 pour l'eau distillée.

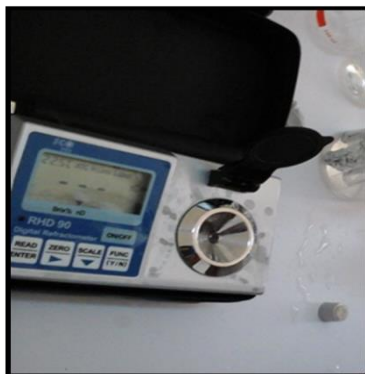


Figure.III.10 : réfractomètre.

III.6.3. la perte à la dessiccation [31]

La perte à la dessiccation est la perte de masse exprimée en pourcentage m/m. c'est la détermination de la perte de poids par dessiccation à l'étuve.



Figure.III.11. le dessiccateur.

$$P_d = (P_1 - P_2) / P_1 \times 100 \quad \text{avec } P_1 : \text{poids initiale}, P_2 : \text{poids finale}$$

On Pesar 10g de feuille, puis on met la quantité au soleil pendant 2h 30min, après sa on Pesar et mettre dans l'étuve à 115 °C pendant 2 h, enfin on Pesar et noter la masse.

III.6.4. Indice de gonflement [32]

L'indice de gonflement est le volume en millilitres occupé par 1 g de drogue, y compris le mucilage qui y adhère, qui a été mis à gonfler dans un liquide aqueux pendant 4 h.

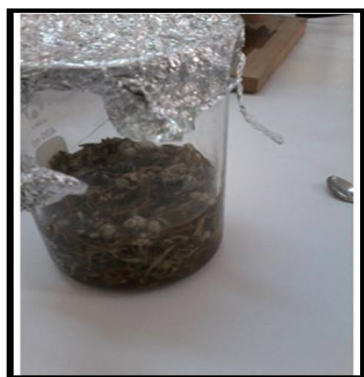


Figure.III.1 : L'indice de gonflement.

Nous Peser une masse de 20 g des feuilles de Romarin et *Teucrium polium* .L, Puis nous met la quantité dans l'étuve pendant 2h à 60 C⁰, refaire l'expérience 4 fois jusqu'à la stabilisation de la masse, Plonger la quantité dans l'eau distillée de façon que l'eau soit couverte tous les fruits pendant une nuit.

Filtrer les à l'aide d'un papier filtre et repeser la masse.

III.7. Screening phytochimique [33-37]

III.7.1. Recherche des alcaloïdes

✚ Principe

La mise en évidence des alcaloïdes consiste à précipiter à l'aide de l'un de six réactifs de précipitation à savoir. Réactif de DRAGENDORFF, réactif de MAYER, réactif de HAGER, réactif de BERTRANDE, réactif de WAGNAR et le réactif de SONNENSCHNEIN.

✚ Extraction

Introduire 10 g de matière végétale pulvérisée dans un Erlenmeyer de 250 ml, et verser 50ml d'acide sulfurique à 10% Agiter et laisser macérer 24 h à température ambiante.

Filtrer sur papier et laver à l'eau de manière à obtenir 50 ml de filtrat.

Prendre un tube à essai et introduire 1 ml de filtrat ; ajouter : 05 gouttes de réactif de Dragendorff : l'apparition d'un précipité rouge indique la présence d'alcaloïdes.

La réaction

$\text{Al (N-)} + \text{K [BiI}_4] \rightarrow \text{Al (N-)} [\text{BiI}_4]$ Précipité rouge

III.7.2. Recherche des composés poly phénoliques

III.7.2.1. Recherche des tanins

Principe

En présence de FeCl_3 a 1% ; les extrais aqueux tanniques se colorent en bleu vert, bleu sombre, ou vert ou forme des précipités.

Extraction

Dans un Erlenmeyer, introduire 10 g de la poudre végétale dans 100 ml d'eau distillée bouillante. Fermer avec un verre de montre. Laisser infuser pendant 15 minutes puis filtrer sur papier et rincer le résidu avec un peu d'eau distillée chaude, de manière à obtenir 100 ml de filtrat.

Introduire dans un tube à essai 5 ml de l'infuse. Ajouter goutte à goutte environ 1ml de solution aqueuse diluée de FeCl_3 a 1% : en présence de tanins il se développe une coloration verdâtre (tanins cat chiques) ou bleu noirâtre (tanins gallique).

III.7.2.2.Tanins catéchiques

A 5ml de l'infuse, ajouter 1ml d'Hcl concentre et porter à ébullition pendant 15 minutes. La présence de tanins cat chiques se confirme par la formation d'un principe rouge soluble dans l'alcool iso amylique.

III.7.2.3.Tanins galliques

A 30ml de l'infuse, ajouter 15ml du réactif de Stiasny et chauffer sur bain marie a 90°C pendant 15 a 30 Minutes dans un ballon muni d'un réfrigérant a reflux : l'apparition d'un précipite indique la présence de tanins cathechiques (tanins condenses). Filtrer. A 2ml de filtrat obtenu, ajouter 0.2g de $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ et 1ml de FeCl_3 a 1%. L3 développement d'une teinte bleu noirâtre indique la présence de tanins galliques (tanins hydrolysables).

III.7.3. Recherche des flavonoïdes

III.7.3.1. Flavonoïdes (anthocyanes)

Principe

En présence de NH_4OH , H_2SO_4 . Les anthocyanes donnent une coloration a 5ml de l'infuse, ajouter 5ml de H_2SO_4 concentré puis 5ml de NH_4OH , Si la coloration s'accroît par acidification, puis vire au bleu violacé en milieu basique, on peut conclure la présence d'anthocyanes.

III.7.3.2. Réaction cyanhydrique (cyanidine)

Principe

En présence d'acide chlorhydrique et de copeaux de zinc, les flavonoïdes donnent les réactions de coloration caractéristique. Dans un tube à essai introduire 5ml d'infuse et ajouter 5ml d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95% eau distillée, HCl concentré à parties égales en volumes) puis quelques copeaux de magnésium ou de zinc et 1ml d'alcool iso amylique.

L'apparition d'une coloration

Rose orangée (flavones) ou rose violacée (flavon2ones) ou rouge (flavones, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool iso amylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins intenses avec les hétérosides flavonoïques, négative avec les chalcones. Les dihydrochalcones, les aurones, les catéchines et les isoflavones. Effectuer les réactions de cyanidine sans ajouter de magnésium et chauffer quelques minutes au bain marie. En présence de leucoanthocyanes, il se développe une coloration rouge cerise ou violacée. Les catéchols donnent une teinte brune rouge.

III.7.4. Recherche des dérivés anthracéniques

III.7.4.1. Détermination des quinones

principe

La coloration plus ou moins rouge de l'extrait chloroformique (1ml) additionné de NH_4OH dilué au demi indique la présence d'anthraquinones libres. En présence de NH_4OH les solutions de quinones pressentent une coloration plus ou moins rouge.

Extraction

- **Extrait chloroformique**

-Traiter 1g de poudre par 10ml de chloroforme et chauffer pendant 3 minutes sur bain marie.

-Filtrer à chaud et compléter à 10 ml avec le même solvant.

Caractérisation

Réaction de Borntrager

Anthracénique libres

A 1 ml de l'extrait chloroformique, ajouter 1 ml de NH_4OH dilué et agiter. La coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthracéniques libres. des résultats négatifs ont été obtenus par la réaction de Borntrager, ce qui montre l'absence des dérivés anthracénique.

III.7.5. Détermination des glucosides

Principe

Réaction avec l'acide sulfurique sur la poudre donne une coloration rouge violette. Mettre deux gouttes de l'acide sulfurique concentré sur une masse de la poudre végétale. En présence des glucosides la masse se colore en rouge brique, puis en violet.

III.7.6. Détermination des saponines

Principe

Par agitation, une mousse persistante dont la hauteur est mesurable apparait dans les solutions de saponines. Porter à ébullition dans 50 ml d'eau distillée 5g de la poudre végétale. Maintenir à ébullition modérée pendant 15 minutes. Après refroidissement, filtrer et ajuster à 50 ml avec de l'eau.

Caractérisation

• **Formation de la mousse persistante**

Introduire dans un tube à essai, 10 ml du décocté précédemment préparé. Agiter le tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes, à raison de deux agitations par seconde. Laisser reposer pendant 15 minutes. Noter la présence de mousse et mesurer la hauteur de la mousse dans le tube.

III.7.7. Détermination des éléments réducteurs

Principe

-Les éléments réducteurs donnent une coloration rouge brique en présence de réactif de Fehling.

-Verser 5 ml de décocté aqueux à 10 % dans une capsule et évaporer à sec au bain marie.

-Ajouter au résidu 1 ml de réactif de Fehling. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de composés réducteurs.

III.7.8. Détermination des mucilages

Principe

-En présence de l'alcool absolu l'apparition de flocons prouve la présence des mucilages,

-Introduire 1 ml de décocté aqueux à 10 % dans un tube à essai, ajouter 5 ml d'alcool absolu.

III.7.9. Coumarines

Caractérisation

Evaporer 5 ml d'extrait éthérique, obtenu par macération pendant 24 h de 1g de poudre dans 20 ml d'éther dans une capsule à l'aire libre. Ajouter 2 ml d'eau chaude, partager la solution entre 2 tubes à essai et ajouter au contenu de l'un des tubes 0,5 ml de NH_4OH à 25 % procéder à l'observation sous UV à 366 nm : une fluorescence intense indique la présence de coumarines.

III.8. Principe de méthode de préparation [2]

La gélose de Mueller Hinton a été formulée à l'origine comme un milieu gélose simple servant à la culture de différents types de bactéries celle-ci est aujourd'hui largement utilisé.



Figure.III.14: Milieu culture Muller-Hinton.

III.8.1. Mode opératoire

1. Préparer le matériel nécessaire comme le bec bunsen, les boîtes de pétries....etc.
 2. Mettre le 1er réactif l'agar dans l'eau chaude, cette étape est plus importants pour préparé un bon milieu.
 - 3- Couler la gélose dans une boîte de pétri
 - 4- Laisser prendre en masse
 - 5-Prélever 2 ou 3 gouttes de la suspension bactérienne, les déposer à la surface de la gélose les étaler avec un râteau
 - 6-S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée, et y déposer les disques de papier de wattman imprégnés dans l'extrait des huiles essentielles.
 - 7-Placer la boîte de pétri à basse température +4°C pendant 15 à 30mn afin de permettre aux disques de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier.
 - 6-Retirer la boîte du réfrigérateur et la placer dans l'incubateur, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendant 24 h
- RQ : les boîtes doivent être placées couvercle en bas

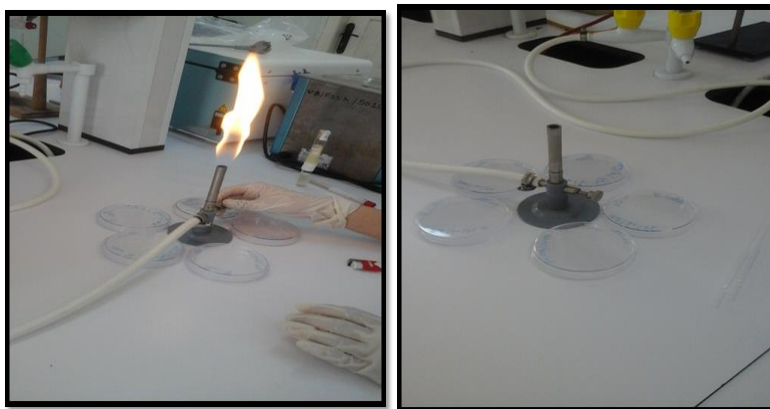
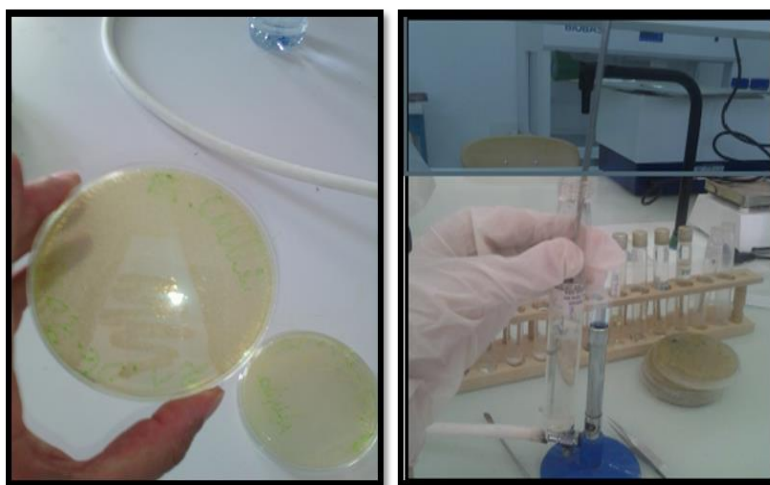


Figure.III.15: Préparation du matériel.

III.8.2. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune, en prélevant 3 à 5 colonies pures bien isolées de chaque espèce étudiée qui sont diluées dans 9 ml à 10 ml d'eau physiologique stérile. L'enrichissement dure pendant 2 à 3 heures.



A : Prélèvement des colonies.

B: Déchargement dans l'eau Physiologique (l'enrichissement)

Figure.III.16: Préparation d'inoculum.

III.8.3. Préparation des disques

Pour la réalisation de l'antibiogramme, les disques sont faits à partir du papier Wattman N°3, ce dernier a été découpé en disque blanc de 7 mm. Après leur stérilisation au four pasteur pendants 20 mn à 160°C, les disques ont été imprégnés dans les HEs extraies auparavant. Ensuite, ils ont été placés dans des boites de pétri.

✚ Ensemencement

A l'aide d'une Ecuillon nous prélevons 1 à 2 ml de Chaque suspension, Contenant des colonies bactériennes étalé en uniforme en nappe sur la surface de la boîte contenant la gélose solidifiée (Muller Hinton), l'excès du liquide et aspiré à l'aide d'une pipette pasteur et rejeté dans un bac d'eau de javel. Les boîtes ainsi ensemencées ont été mises à sécher pendant 15 mn à 37°C.

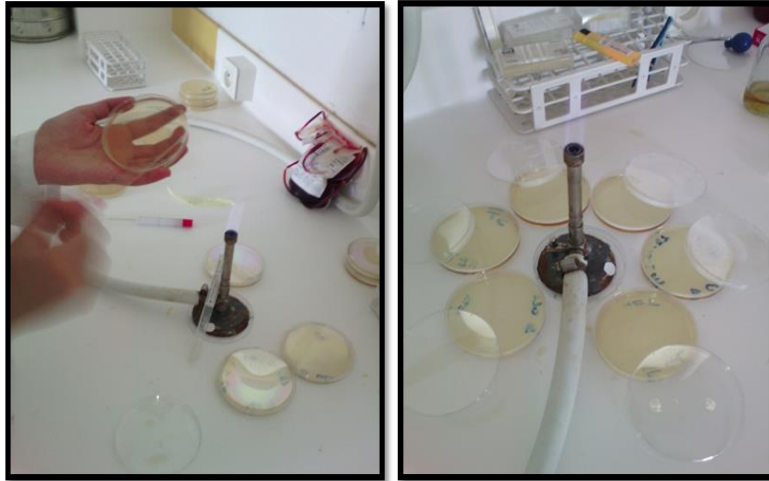


Figure.III.17: Ensemencement des souches.

✚ Dépôt des disques

A l'aide d'une pince stérile, nous prélevons les disques qui sont imbibés avec l'HE des plantes jusqu'à imprégnation total du disque. Les disques ainsi traités sont déposés sur la face de la gélose Muller Hinton inoculée en les appuyant légèrement à l'aide d'une pince stérile, laissons diffuser, puis incuber à 37°C à l'étuve pendant 24 heures.

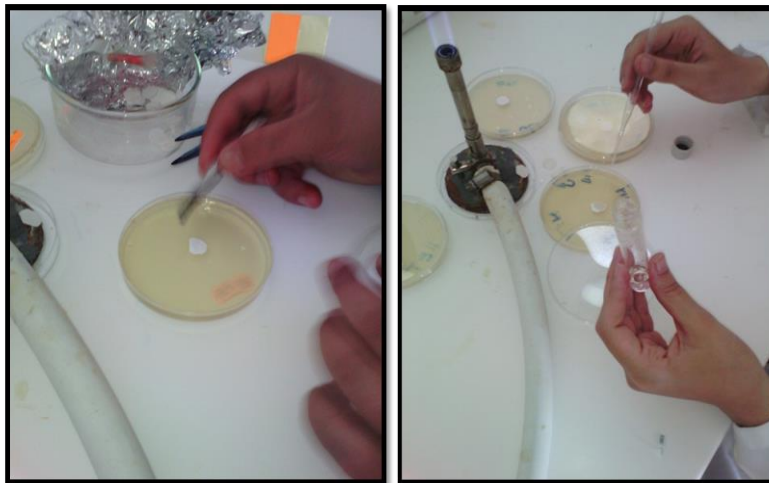


Figure.III.18: Dépôt des disques

III.8.4. Expression des résultats

✚ Expression des résultats

L'activité antimicrobienne a été déterminée en mesurant à l'aide d'un pied à coulisse la zone d'inhibition. (Figure.III.5).

✚ Lecture des résultats

L'activité antimicrobienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibitions de la croissance microbienne autour des disques contenant l'extrait à tester.

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibitions et peut être symbolisés par des croix. La souche ayant un diamètre :

- HE non active $D < 7\text{mm}$: Souches résistante (-).
- HE active $7\text{mm} \leq D \leq 14\text{mm}$: Souches sensible (+).
- HE très active $15\text{mm} \leq D \leq 19\text{mm}$: Souches très sensible (++).
- HE extrêmement active $D > 20\text{mm}$: Souches extrêmes sensible (+++). [38]

Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibitions à l'extérieur de la boîte fermée.

Le Classement des bactéries se fait dans l'une des catégories : sensible ou résistante.

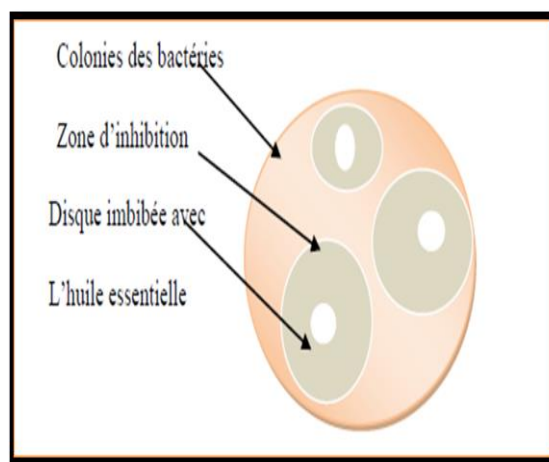


Figure.III.19 : Aromatogramme. [27]

L'action antimicrobienne des HEs. Se déroule en trois phases:[2]

- Attaque de la paroi bactérienne par l'HEs, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaire.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire. et la synthèse des composants de structure.

- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

III.9. Préparation de forme semi-solide (formulation d'une pommade antimicrobienne) [39]

Dans le but de mettre au point une pommade antimicrobienne (médicament traditionnel amélioré), à moindre coût, efficace et accessible à tous, Pour la formulation de la pommade, le matériel utilisé est le suivant : un mortier et un pilon en porcelaine, une spatule, l'HE et Les excipients (vaseline, l'acide salicylique, tetraborate de sodium). Un chauffage a été fait pour la fonte du Vaseline dans un bain-marie.

III.9.1. Contrôle de qualité de la matière première

Avant de formuler une pommade, on va effectuer le contrôle sur la matière première s'impose.

III.9.1.1. Vaseline

Dénomination commune internationale

Vaseline officinale.

Composition

C'est un mélange d'hydrocarbure qu'on obtient par raffinage de diverses fractions lourdes du pétrole pour augmenter sa consistance, on peut ajouter des petites fractions lourdes du pétrole pour augmenter sa consistance, on peut ajouter des petites quantités des paraffines.

Aspect

Substance blanchâtre d'une consistance analogue à celle de l'axonge, translucide en couches minces et légèrement fluorescente quand elle est fondue, insipide (qui n'a aucune saveur), incolore et dégage une faible odeur lors de chauffage.

Solubilité

Tableau.III.3 : test de solubilité de la vaseline.

L'eau	Insoluble
Chloroforme	Soluble
L'acétone	Soluble

III.9.1.2. Acidité

A 10 g de vaseline, ajouter 20 ml d'eau bouillante et agiter rigoureusement pendant une minute, refroidir et décantier. A 10 ml de la phase aqueuse, ajouter 0,1 ml de la solution de phénolphtaléine, la solution est incolore, le virage au rose de l'indicateur ne nécessite plus de 1 ml de NaOH à 0,01 M.

Volume de NaOH utilisé = 0,1 ml (conforme)

III.9.1.3. Analyse de l'acide salicylique

Hydroxyde benzène carboxylique acide.

Apparence

Blanche ou presque blanche, poudre cristalline blanche ou incolore, cristaux aciculaires.

Solubilité

Légèrement soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'éthanol (96%), pour soluble dans le chlorure de méthylène.

Essais

Dissoudre 2,5 g dans 50 ml d'eau R bouillante, refroidir et filtrer.

Aspect de la solution

La solution est limpide et incolore.

III.9.1.4. Analyse de tetraborate de sodium

Apparence

Solide cristalline, d'aspect vitreux, qu'il ne faut pas confondre avec le borax.

Solubilité

Il est insoluble dans l'alcool à 95°.

✚ Identification

Placé dans une flamme, il colore la flamme en jaune à l'instar du sodium, mais aussi en vert (moins visible), à l'instar des autres dérivés du bore.

III.10. Formulation des pommades

III.10.1. Réalisation de pommade 1

Tableau.III.4 : composition de pommade 01

Pommade N° : 01	Composition
PHE Rm	-Huile essentielle de romarin -Acide salicylique -Tetraborate de sodium -Vaseline

✚ Mode opératoire

À l'aide d'un mortier en porcelaine, la quantité de l'acide salicylique et de Tetraborate de sodium ont été triturés jusqu'au avoir un mélange homogène (poudre très fin). Déposer dans un creuset sur bain-marie à 40C⁰, Ajouter la vaseline, L'huile essentielle, mélanger jusqu'à mélange homogène, refroidir ; puis en fait le contrôle sur le produit fini.

- 1-Essai sur le poignet face externe
- 2- Teste bactéricide
- 3- Déterminer le PH
- 4- Triturer entre le pouce et l'index

✚ Remarque

Pour obtenir une meilleure homogénéité, la pommade est fondue à faible température (40°C) et après solidification, elle est retriturerée dans un mortier avant la mise en pots.

Toute la technique de préparation se fait manuellement.



Figure.III.20: réalisation de la pommade1

III.10.2. Réalisation de pommade 02

Tableau.III.5 : composition de pommade 02

Pommade N ⁰ : 2	composition
PHE TC.P	Huile essentielle de <i>teucrium.polium L</i> Acide salicylique Tetraborate de sodium Vaseline



Figure.III.21: réalisation de pommade 2.

✚ Mode opératoire

Appliqué le même mode opératoire que pommade 1

III.10.3. Préparation de pommade 3

Tableau.III.6 : composition de pommade 03

Pommade N ^o : 03	Composition
PP TC.P	-poudre de Teucrium polium -Acide salicylique -Tetraborate de sodium -Vaseline

Mode opératoire

Appliqué le même mode opératoire que pommade 1



Figure.III.22 : réalisation de la pommade3.

III.11. les essais sur les patients volontaires

Les paramètres étudiés de la pommade, les évaluations antimicrobiennes effectuées ainsi que des tests cliniques réalisés sur les patients volontaires atteints de diverses dermatoses ont produit des résultats satisfaisants. et ainsi une efficacité prouvée.

1. Cas : maladie chloasma (tache pigmentaire)

On fait les premiers essais sur une volontaire de maladie chloasma (tache pigmentaire).



Figure.III.23 : maladie d'un chloasma (tache pigmentaire)

2. Cas : maladie de mycoses des pieds [40]

Les mycoses plantaires sont des maladies qui nécessitent d'être traitées car il n'y a pas de guérison spontanée et un très fort risque de contamination des proches et de l'environnement existe quand une mycose est présente.



Figure.III.24 : maladie de mycoses du pied.

Chapitre IV :

Résultats et discussion



Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1. Analyses des huiles essentielles

IV.1.1. Rendement d'extraction

Après l'extraction et l'élimination de toute trace de solvant, le rendement est calculé

Selon la formule ci-dessous.

$$\text{RHE (\%)} = (\text{MHE} / \text{MS}).100$$

Le rendement en huiles essentielles obtenue à partir des parties aériennes (feuilles + fleurs) est de 0.82% pour le Romarin et 0.26% pour le Teucrium polium. Les résultats représentés dans le (tableau IV.1).

Tableau IV.1 : résultats de rendement.

Matière végétale	Masse de la plante (g)	Masse D'HEs (g)	Rendement (%)
Romarin	100	0.82	0.82
Teucrium polium	100	0.26	0.26

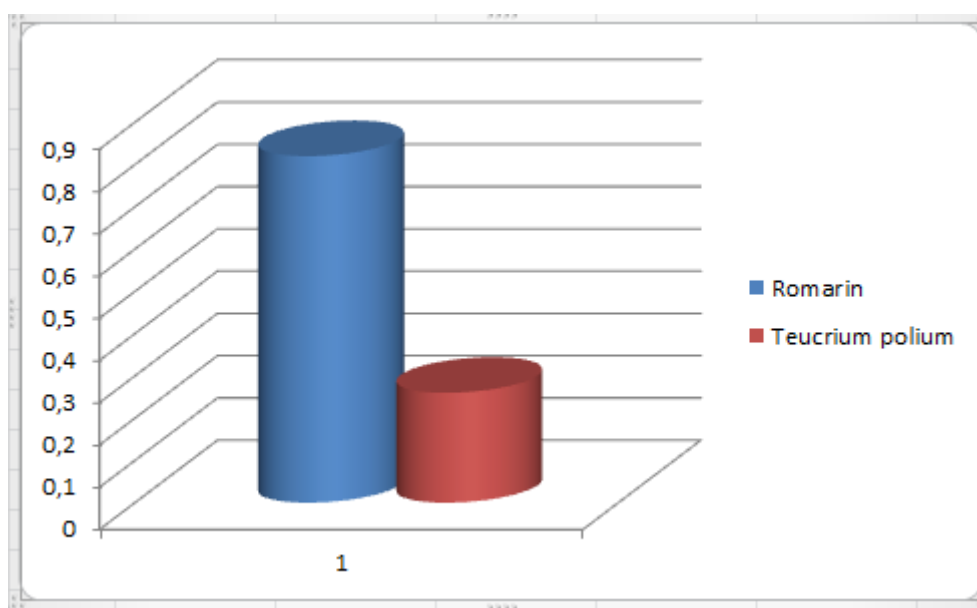


Figure. IV.1 : Rendement des huiles essentielles

Le rendement de *Teucrium* est faible par rapport au rendement de romarin. En effet, le rendement d'extraction, tout comme la qualité d'une HE sont influencés par la nature du sol sur lequel la plantation est effectuée, le matériau des appareils utilisés, la Propreté du matériel, la pression de fonctionnement, la régularité de la chauffe, le refroidissement du distillat et la régularité de sa coulée, la méthode et la durée de distillation....etc.

IV.1.2. Propriétés sensorielles et indices physicochimiques

L'huile essentielle des deux plantes est fractionnée de telle façon qu'on peut déterminer ses propriétés organoleptiques (apparence, couleur, odeur), des propriétés physicochimiques (pH, indice de réfraction, indice d'acide, indice d'ester, l'indice de saponification et l'indice d'iode) qui leur sont propres. C'est grâce à eux qu'il est possible de définir si une huile est de qualité adéquate. Les propriétés organoleptiques des huiles essentielles obtenues des deux espèces suggèrent une huile essentielle de très bonne qualité.

Pour l'HE de *R. officinalis*, c'est une HE d'un aspect liquide huileux, de couleur jaune avec une odeur puissante des fleurs de romarin. Alors que pour l'espèce *Teucrium polium*.L, l'HE a été d'un aspect liquide huileux, de couleur jaune pâle. Les huiles essentielles ont été analysées selon la méthode standard AFNOR. Le tableau regroupe les résultats propres à la mesure de ses constants physicochimiques [1].

Tableau.IV.2 : Caractérisques organoleptiques des huiles essentielles des plantes étudiées

Echantillon	Aspect	Couleur	Odeur
L'AFNOR	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine
Romarin	Liquide mobile	Jaune	Camphrée
<i>Teucrium polium</i> L	Liquide mobile	jaune pâle	désagréable

Notre huiles essentielles est obtenus par Hydrodistillation est la méthode normé pour l'extraction d'une huile essentielle. Les paramètres organoleptiques de nos huiles essentielles sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR [1].

IV.2. Les Analyse physico-chimique

IV. 2.1. 1es Analyse physique

IV. 2.1.1. La perte à la dessiccation

La perte à la dessiccation permettre de déterminer le poids perdu de la matière végétale à l'étuve, le tableau IV.3 résume les résultats obtenus.

Tableau IV.3 : les pertes à la dessiccation sur les échantillons

Echantillon	Perte à la dessiccation
Romarin	35.21%
Teucrium polium.L	36.14%

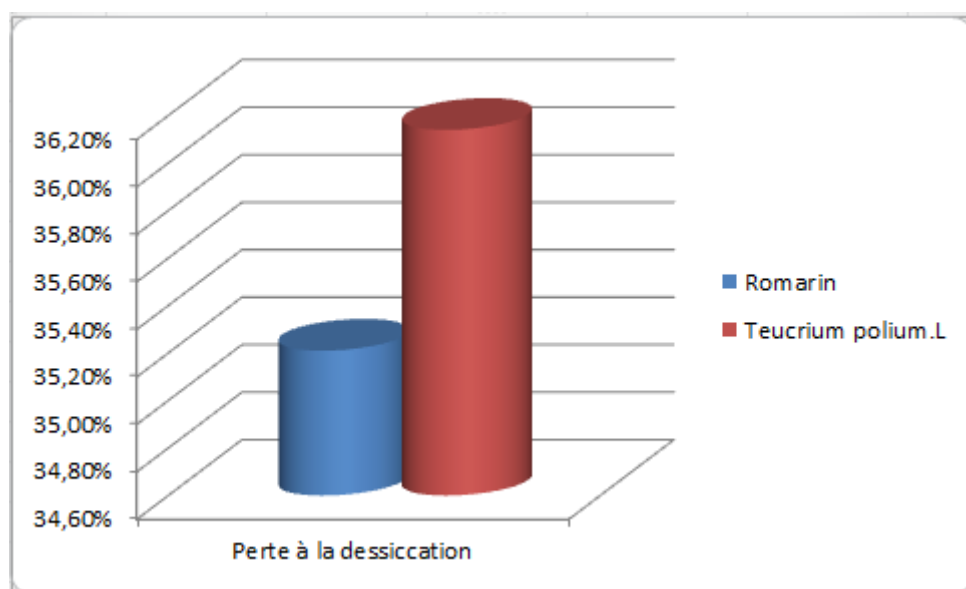


Figure. IV.2 : Les valeurs de la perte à la dessiccation des deux plantes

Les résultats obtenus, montrent que les poudres des plantes ont perdu 35.21% ; 36.14% respectivement pour le Rm, et Teucr.p, de leurs poids massiques lors de la dessiccation. Donc on peut dire que la plante contient un taux élevé d'eau.

IV. 2.1.2. Indice de gonflement

Indice de gonflement permet de déterminer la capacité d'absorption de l'eau par la matière végétale le tableau IV.4 représente les résultats de l'indice de gonflement.

Tableau IV.4 : les résultats de l'indice de gonflement.

Echantillon	L'indice de gonflement ml/g
Romarin	9.0310
Teucrium polium. L	11.0286

On remarque les valeurs de l'indice de gonflement pour le romarin presque 10 cette valeur est inférieure par rapport au l'indice de gonflement de Teucrium, Alors la capacité d'absorber l'eau de Teucr.p supérieure par rapport au Rm.

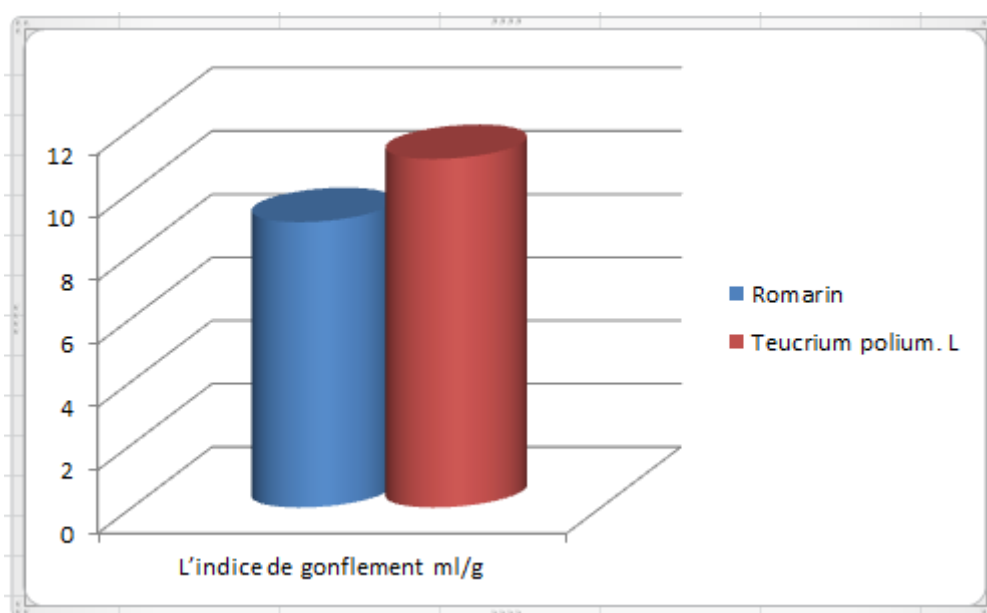


Figure. IV.3 : Les résultats de l'indice de gonflement de deux plantes

IV. 2. 1.3. Indice de réfraction

Tableau IV.5 : les résultats de l'indice de réfraction.

Propriétés	HE de <i>R.m</i>	HE de <i>teucr.p</i>	Valeurs de références	Références
Indice de réfraction	1.469	1.461	1,4670-1,4740	NF ISO 1342

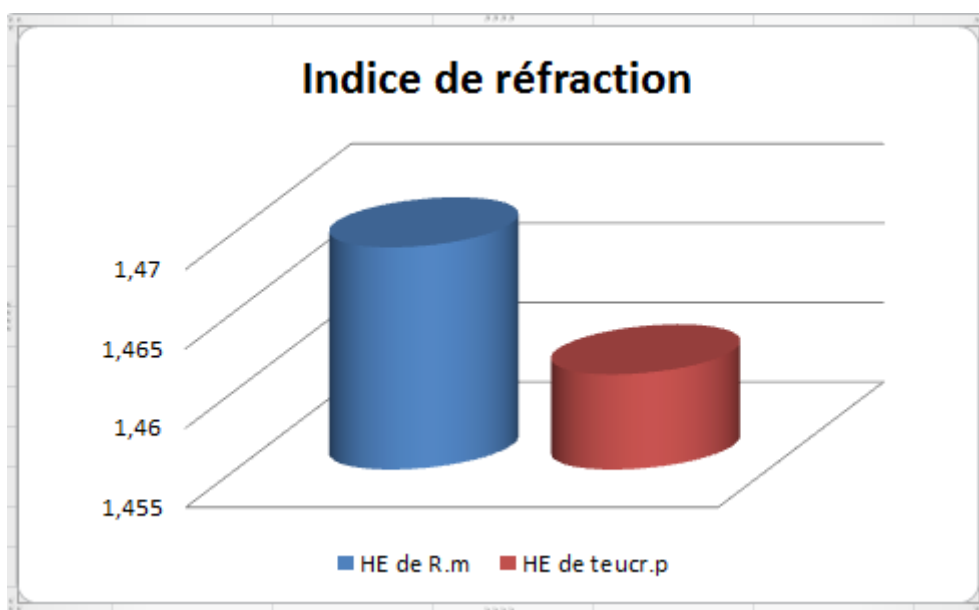


Figure IV.4 : Les résultats de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction est considéré comme un critère de pureté, également utilisé pour identifier des huiles. Chaque substance a son indice de réfraction. En effet, la norme NF ISO 1342 prévoit pour l'huile essentielle l'indice de réfraction compris entre 1,4670 pour les huiles de haute qualité et 1,4740 pour les huiles de moindre qualité). Dans notre cas, cet indice a touché une valeur de +1,469 et +1,461 respectivement pour l'huile obtenue de la plante de *R. officinalis* et *Teucrium .polium* (tableau IV. 5). Donc, il est apparu que nos huiles sont de bonne qualité.

IV.2. 1 .4. Le pH

Tableau IV.6 : les résultats de pH.

Propriété	HE de <i>R.m</i>	HE de <i>teucr.p</i>	Valeurs de références	Références
pH	6,62	7.39	6 - 7	ISO 709:2001

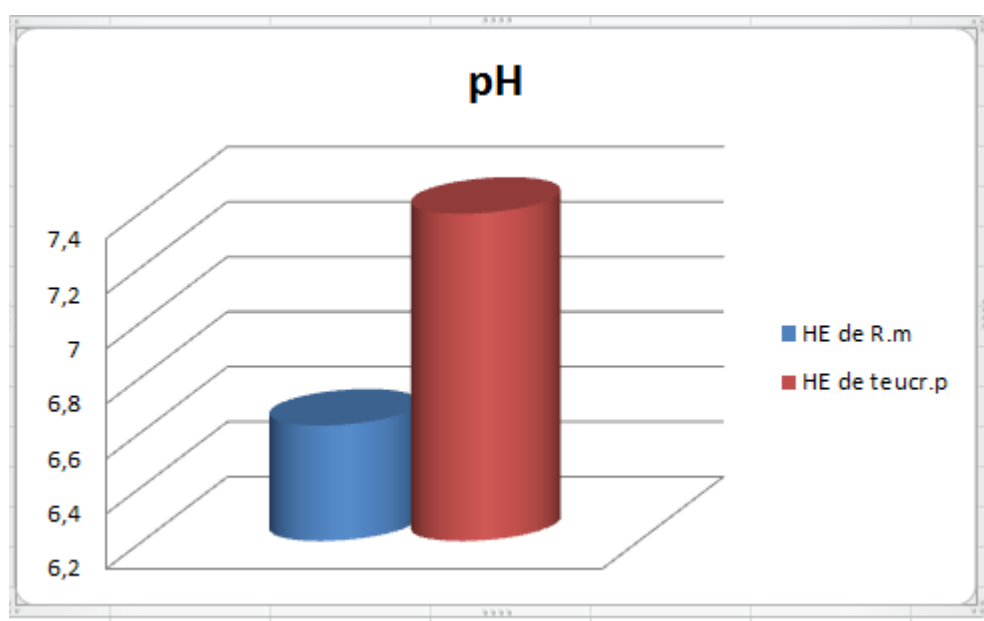


Figure IV.5 : Résultats de pH des HEs.

La mesure du pH a donné une valeur de 6,62 et 7,39 respectivement pour l'HE de *R.offitinalis.L* et *Teucrium. Polium.L*.

IV. 2. 2. Les Analyse chimique

IV.2 .2 .1. Indice d'acide

Tableau IV.7 : les résultats de l'indice d'acide.

Propriété	HE de <i>R.m</i>	HE de <i>teucr.p</i>	Valeurs de références	Références
Indice d'acide	0,8	1,14	0,5 - 2	ISO 709:2001

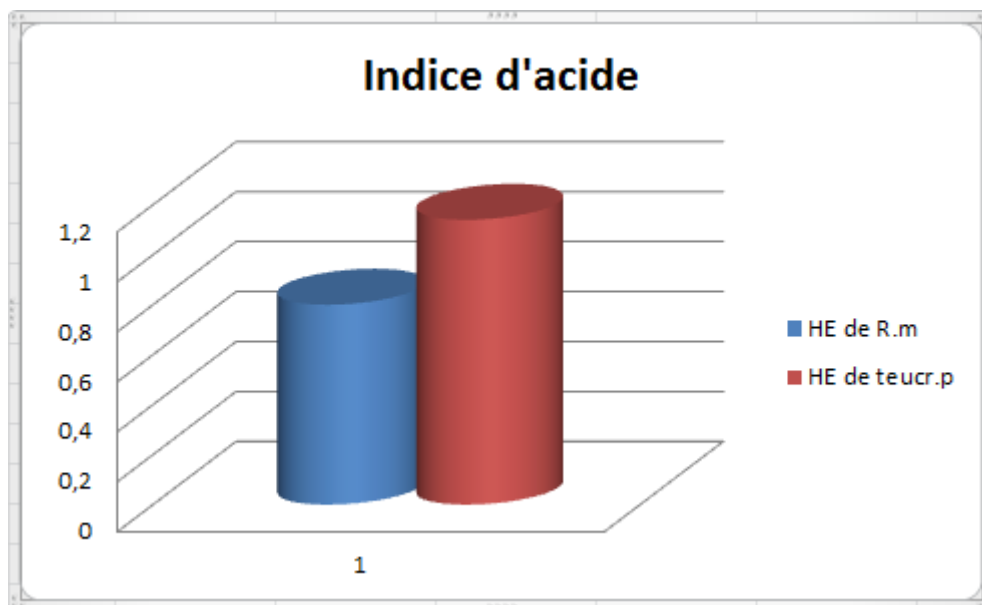


Figure IV.6 : les résultats de l'indice d'acide des HEs.

En réalité, une huile essentielle fraîche contient très peu d'acides libres. L'indice d'acide (IA) doit être le plus petit possible. Notre HE a donné un IA de 0,8 pour le *R. officinalis* et 1.14 pour *Teucrium polium* L. Ce résultat s'explique par le fait que nous avons pris soin de conserver nos HE dans un contenant en verre opaque car il a été établi que la lumière favorise l'altération de la structure de l'huile et la prolifération des acides. De même, un indice d'acide inférieur à 2 est un indicateur d'une bonne conservation de l'huile.

IV.2.2.3. Indice de Saponification (IS)

Tableau IV.8 : les résultats de l'indice de saponification.

Propriétés	HE de <i>R.m</i>	HE de <i>teucr.p</i>
Indice De saponification	182.33	256.66

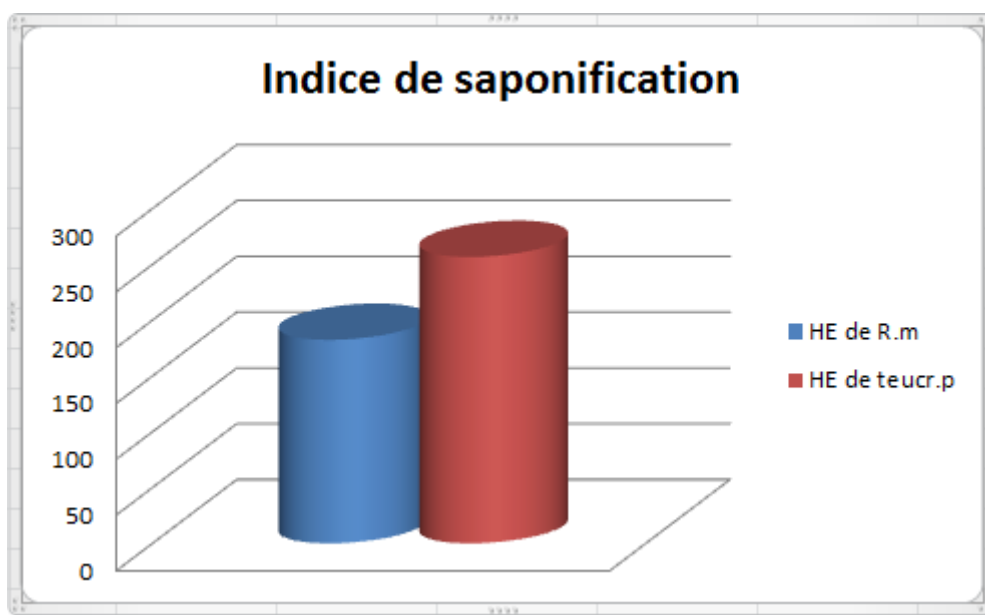


Figure IV.7 : Résultats de l'indice de saponification.

L'Indice de Saponification est par définition la quantité de potasse exprimée en mg nécessaire, Pour transformer en savons les acides gras libres et liés contenus dans 1g de corps gras.

La détermination de cet indice est importante, car il permet de caractériser le poids moléculaire et la longueur moyenne des chaînes grasses auxquelles il est inversement proportionnel (plus le poids moléculaire PM de la longueur moyenne d'acides gras est élevé, plus l'indice de saponification est faible).

Ces résultats montrent que la valeur de saponification est élevée pour HE des deux plants, ce qui indique que les deux plants contiennent une quantité importante de savon, ce qui confirme son utilisation dans le passé comme une lotion capillaire.

IV.2.2.4. Indice d'ester

Tableau IV.9 : les résultats d'indice d'ester

Propriétés	HE de <i>R.m</i>	HE de teucr.p
Indice d'ester	181.53	255.52

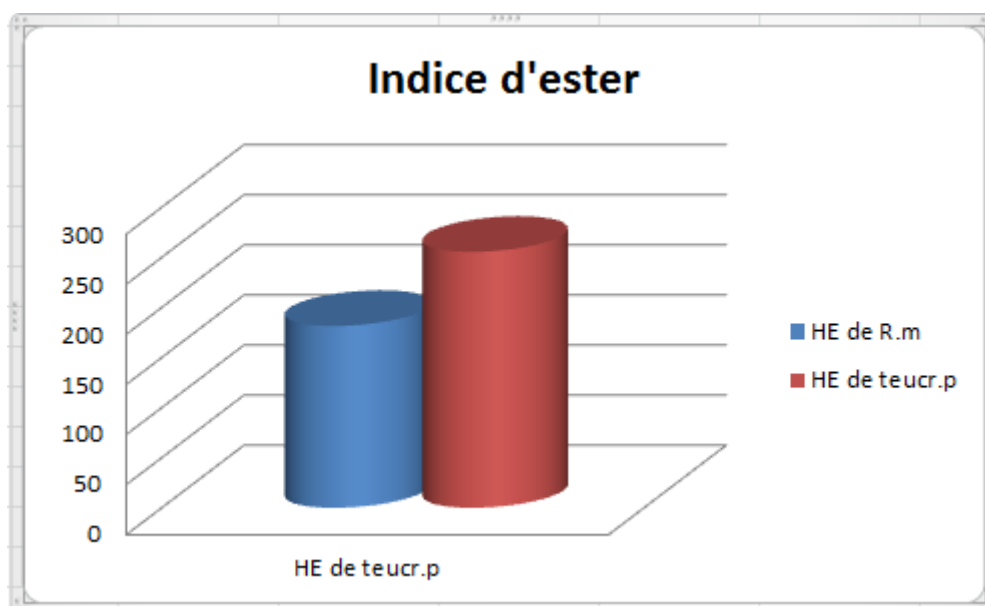


Figure IV.8 : Résultats de l'indice d'ester des HEs.

Plus l'indice d'ester est élevé, la qualité d'une HE sera mieux. Nos HEs révèlent un indice d'ester (IE) de 181.53 pour le *R. officinalis* et 255.52 pour *Teucrium polium* L. Selon les propriétés physico-chimiques, plus la qualité de l'huile est élevée, plus son indice d'ester sera aussi élevé. Par contre, l'indice de réfraction et le pouvoir rotatoire doivent être petits. Quant à l'indice d'acide, il doit toujours être inférieur à 2.

La comparaison de nos résultats à ceux de la norme NF ISO 1342 – Mars 2001 relative à l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) a montré clairement que l'huile essentielle issue de romarin est d'une part conforme à la norme ISO.

IV.2.2.5. Indice d'iode (II)

Tableau IV.10 : les résultats d'indice d'iode.

Propriétés	HE de <i>R.m</i>	HE de teucr.p	Valeurs de références	Références
Indice d'iode	3.08	0.57	0 - 50	Vaitilingom (2007)

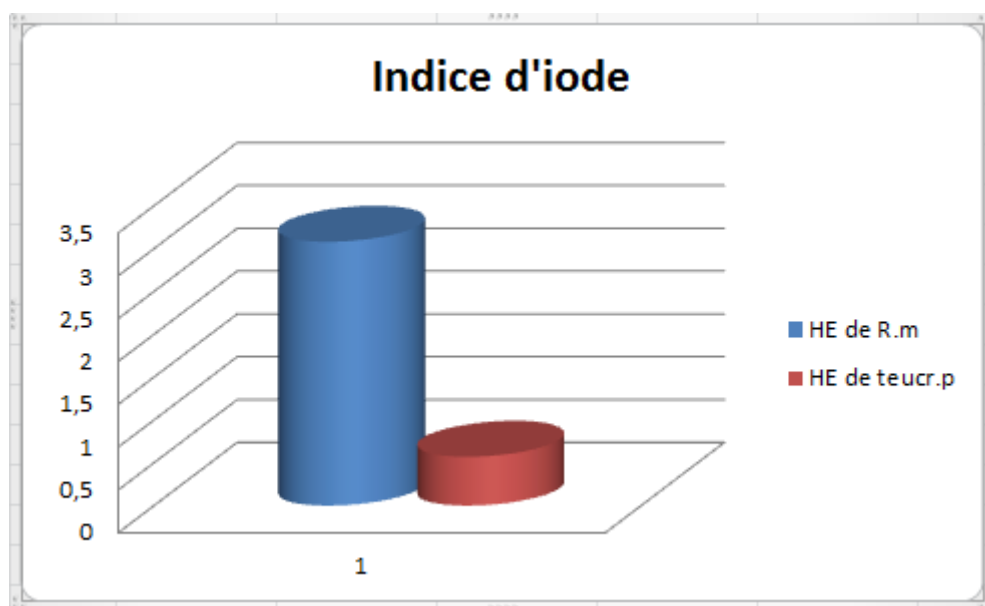


Figure IV.9 : Résultats de l'indice d'iode des HEs.

L'indice d'iode est une appréciation de l'insaturation des acides gras et de leurs esters. Les résultats des Indices d'Iode sont représentés en (**tableau IV.10**). Les huiles dont les indices d'iode se situent entre 0 et 50, D'après Vaitilingom (2007), sont des huiles saturées de type :

1 - Lauriques : coprah, palmiste, babassu

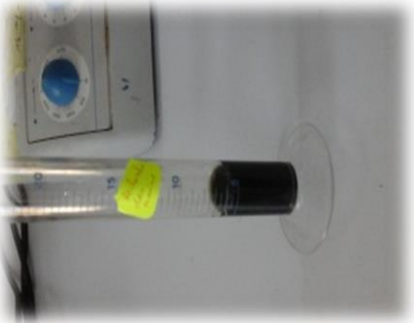
2- Palmitiques : palme, buruti

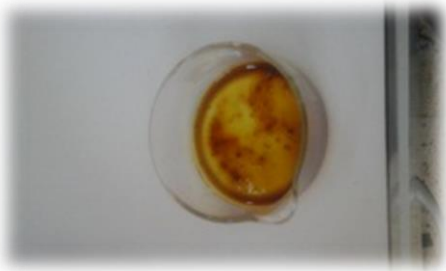
3- Stéariques : karité

IV.3.Screening phytochimique

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur *Teucrium polium* et *Rosmarinus officinalis* en utilisant des réactifs spécifiques de révélation basés sur des réactions de précipitation et de turbidité ou un changement de couleur spécifique. Les résultats expérimentaux Tableau (IV. 11 et IV. 12): Criblage phytochimique respectivement de *Teucrium polium* et de *Rosmarinus officinalis*.

Tableau .IV.11 : résultats de *Teucrium polium.L*

Classe chimique	Résultat	Photos
Alcaloïdes	+	
Tanins	+	
Tanins catéchiques	+	
Flavonoïdes (Anthocyanes)	+	

Cyanhydrique	+	
Quinones	+	
Glucosides	+	
Saponines	+	
Composés réducteurs	+	

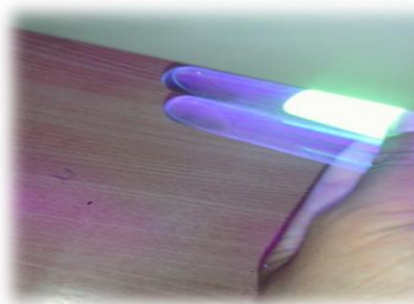
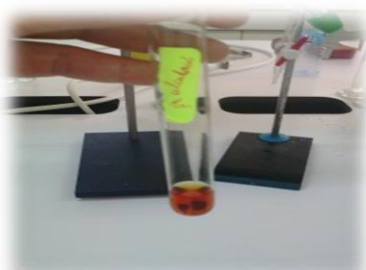
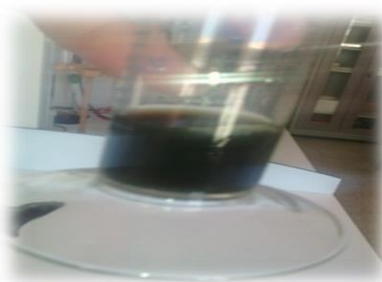
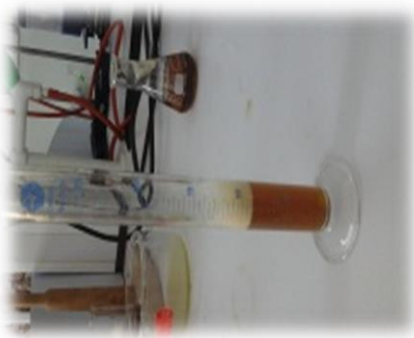
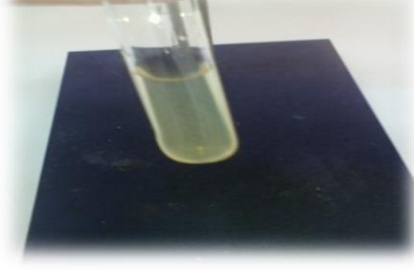
Mucilage	-	
Coumarine	+	

Tableau .IV.12 : résultats de *Rosmarinus officinalis*.

Classe chimique	Résultats	Photos
Alcaloïdes	+	
Tanins	+	

Tanins catéchique	+	
Flavonoïdes (Anthocyanes)	+	
Cyanhydrique	+	
Quinones	+	
Glucosides	+	

Saponines	+	
Composés réducteurs	+	
Mucilage	-	
Coumarine	+	

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de nos deux plantes : les alcaloïdes, les tanins catéchiques, les saponosides, les flavonoïdes les tanins galliques, les Quinones, les Composés réducteurs et les Coumarine. Cependant, les tests se sont révélés négatifs pour, les Mucilages pour les deux plantes.

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques de *Teucrium* (sans spécification de la sous espèce) de la région de Tamanrasset, comme d'autres espèces des familles Lamiaceae, sont riches en divers métabolites secondaires. Ceci explique l'intérêt et l'attention particulière portée par les chercheurs à travers les études scientifiques sur ces plantes.

La présence de ces métabolites secondaires au niveau des deux plantes étudiées explique leur fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de ces deux plantes dans la médecine traditionnelle par la population locale.

Effectivement, les alcaloïdes, les tanins catéchiques, les flavonoïdes, les saponosides, les tanins galliques, les Glucosides, les Composés réducteurs, les Quinones et Coumarine possèdent plusieurs propriétés bénéfiques notamment antimicrobiennes, antioxydants, anti-inflammatoires, et bien d'autres.

Ces résultats nous ont permis de nous orienter vers l'extraction et l'étude des huiles essentielles.

IV.4. L'activité antimicrobienne

Le tableau IV.13. Illustre les variations des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes apparues en présence de l'HE de Romarin et de *T. Polium* et de l'éther d'éthylique

Tableau IV.13 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition d'huile essentielle de *Romarin* et de *Teucrium polium* et d'éther d'éthylique.

Souches bactériennes	Zone d'inhibition (mm) d'HE <i>Romarin</i>	Zone d'inhibition (mm) d'HE <i>Teucrium polium</i>	Zone d'inhibition (mm) d'éther-éthylique
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	8	7
<i>Escherichia coli</i>	26	7	7

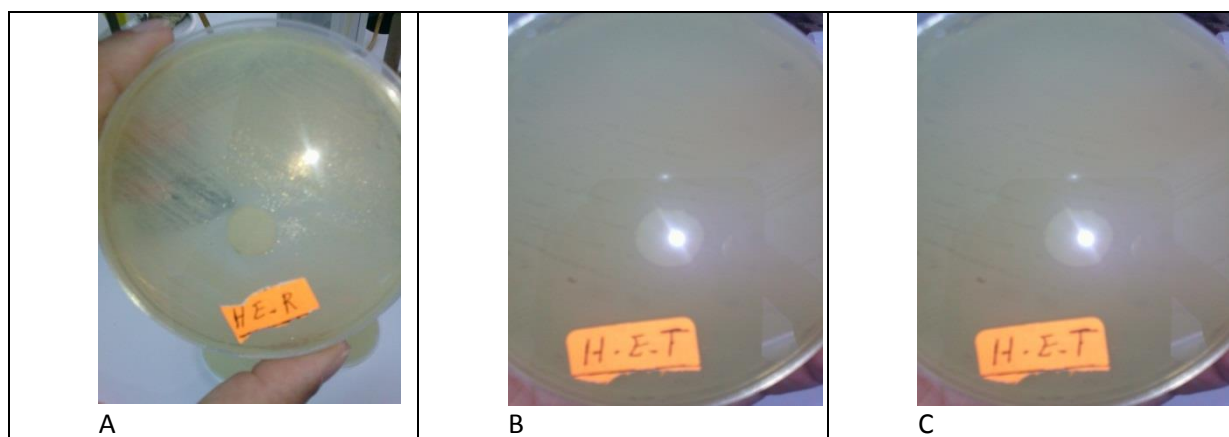


Figure. IV .10 : L'effet bactéricide sur la Souche bactérienne *Staphylococcus aureus*

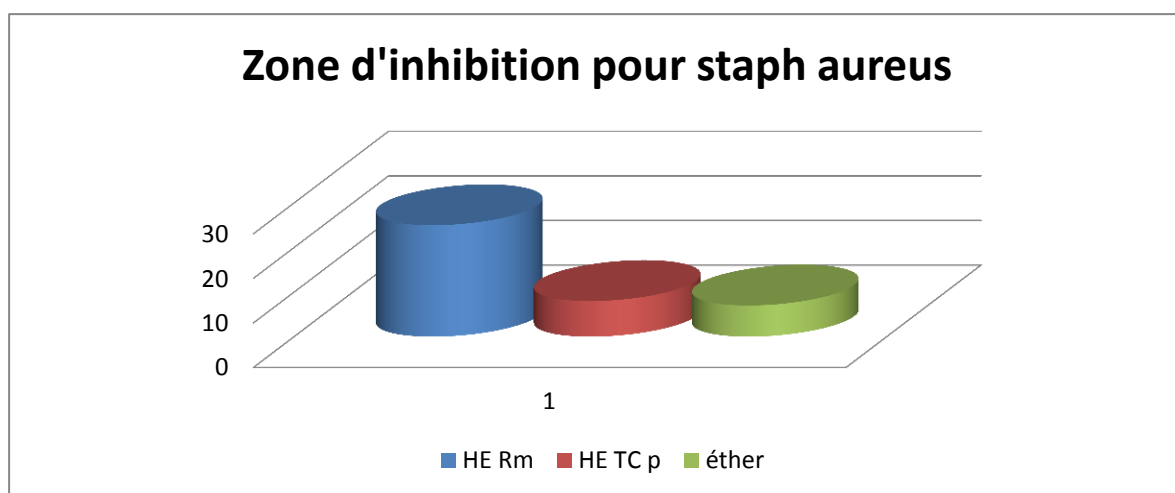


Figure IV. 11 : Résultats de zone d'inhibition pour la souche *Staphylococcus aureus*

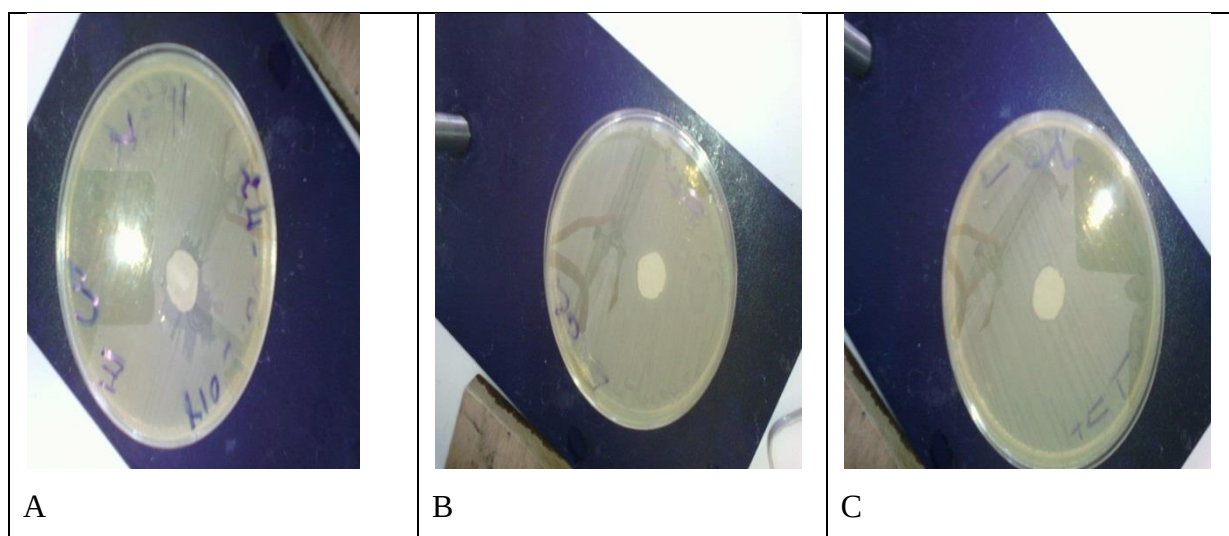


Figure. IV.12 : L'effet bactéricide sur la Souche bactérienne *Escherichia coli*.

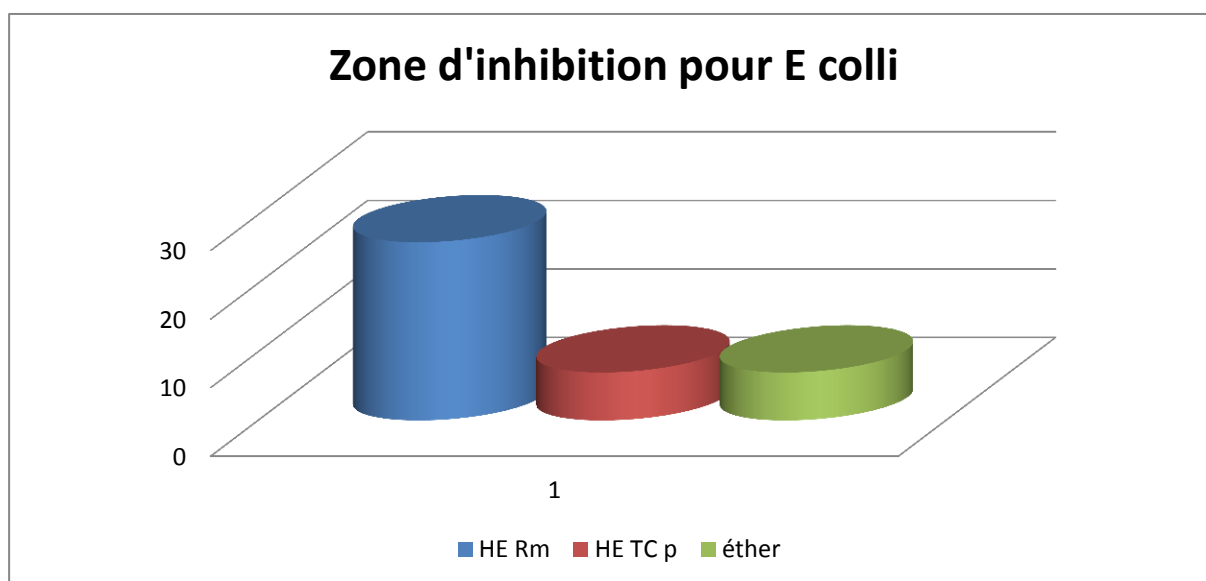


Figure IV.13 : résultats de zone d'inhibition pour la souche *Escherichia coli*

L'huile de *Romarin* présente un effet positif sur les deux souches bactériennes étudiées avec des zones d'inhibition de 25 mm et 26 mm respectivement pour *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

L'huile de *Rosmarinus officinalis* à une activité antimicrobienne importante contre l'*Escherichia coli* par sa zone d'inhibition de 26 mm et la zone d'inhibition de *staphylococcus aureus* est égal à 25mm, donc la souche *E. coli* Gram- et le *staphylococcus aureus* Gram+ est extrêmes sensible à l'huile essentielle.

L'HE de *Romarin* présente une activité antimicrobienne contre *E. coli*, *Staphylococcus* note que l'activité antibactérienne des huiles essentielles est due à la présence des alcools à longues chaînes et des composés phénols qui inhibent la croissance des bactéries.

L'huile de *Teucrium polium* présente un effet non actif sur la souche bactérienne *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 7mm, et un faible effet sur la souche *staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de 8 mm, donc les deux souches bactériennes sont des souches résistantes (-) contre l'huile de *Teucrium polium*.

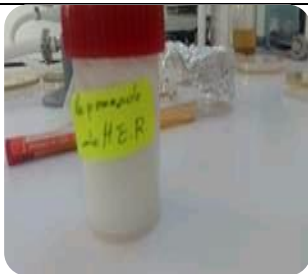
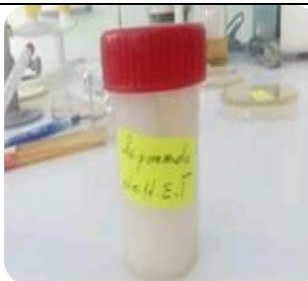
Le solvant *L'éther d'éthylique* présente pas un effet positif sur les deux souches bactériennes étudiées avec des zones d'inhibition de 7 mm, et 7 mm

respectivement pour *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, donc l'éther d'éthylique non influencé sur la composition des deux HE étudiées cette résultat et beine.

IV .5. Analyses des pommades

Les analyses sur les pommades antiseptique est faite au niveau de laboratoire de Génie des procédés d'université de Bouira, cette analyse est effectuée sur trois pommades présentée dans le tableau (IV .14).

Tableau IV.14 : les pommades réalisées avec le codage

Nom de pommade	Code	Image
Pommade d'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .	PHE Rm	
Pommade d'huile essentielle de <i>Teucrium polium</i> .	PHE TC.P	
Pommade de poudre de <i>Teucrium polium</i> .	PP TC.P	

IV.5.1. Analyse macroscopique

L'examen des caractéristiques macroscopique constitue la première approche de la qualité de la préparation et doit faire l'objet d'une étude approfondie de la part du fabricant, afin de lui permettre l'observation de toute anomalie. En effet, des modifications perçues au niveau des caractéristiques visuelles, sont des indicateurs possibles d'une dégradation de causes diverse (oxydation, variation de pH, aspect, la couleur, odeur).

Aspect

Tableau.VI.15 : montre l'aspect des différentes pommades formulé.

Echantillon	Aspect
PHE.Rm	Peu visqueuse sans présence de grumeaux à l'étalement.
PHETC.P	Peu visqueuse sans présence de grumeaux à l'étalement.
PPTC.P	Assez épaisse avec présence des grains

Couleur

Tableau IV.16 : résumée les couleurs des différentes pommades réalisées.

Echantillon	Couleur
PHE.Rm	Blanche
PHETC.P	Blanche
PPTC.P	Verte

✚ Odeur

Tableau IV.17 : représente l'odeur des pommades qu'on a réalisées.

Echantillon	Odeur
PHE.Rm	Arome de <i>Rosmarinus officinalis</i>
PHETC.P	Arome de <i>Teucrium polium</i>
PPTC.P	Arome de <i>Teucrium polium</i>

✚ Détermination de pH

Le pH a été déterminé en mesurant à l'aide d'un pH-mètre.

Tableau IV .18 : résume les différents pH mesurés.

Echantillon	pH
PHE.Rm	5.57
PHETC.P	5.63
PPTC.P	5.46

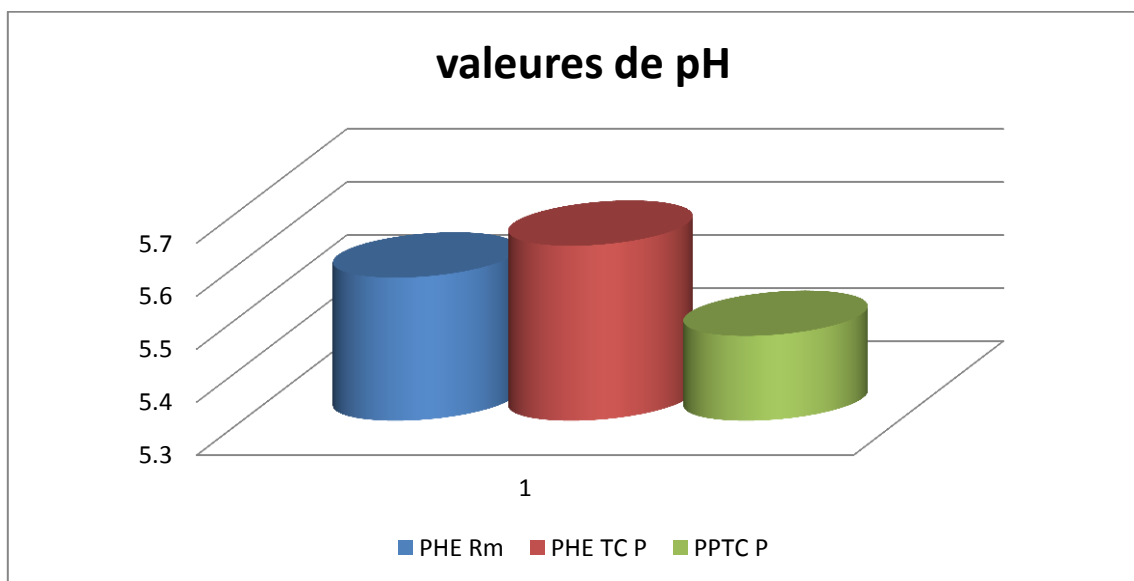


Figure. IV.14 : Résultats de pH des pommades.

Le pH des pommades antiseptique à base de l'HE de *Romarin* et de *Teucrium polium*, et la poudre de *Teucrium polium*, sont égale presque à 5. Et le pH de la peau est égale à 5 Alors d'après la valeur de pH qui est ni très basique ni acide, nous pouvant dire que les pommades ne provoquant pas d'irritation sur la peau.

✚ Trituration entre le pouce et l'index



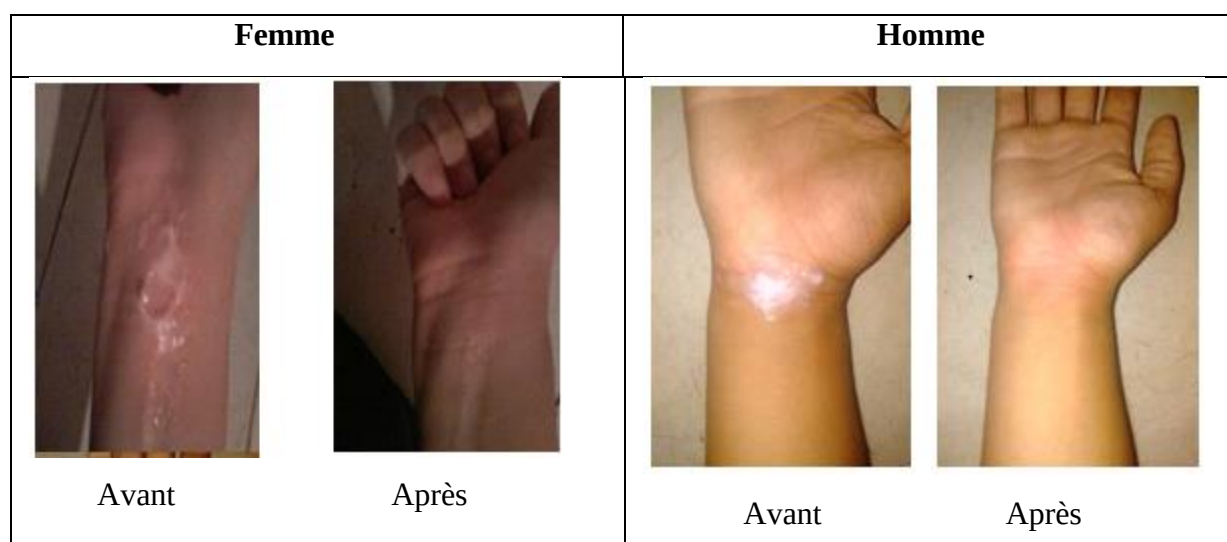
Figure. IV.15: Pommades triture sur le pouce et l'index

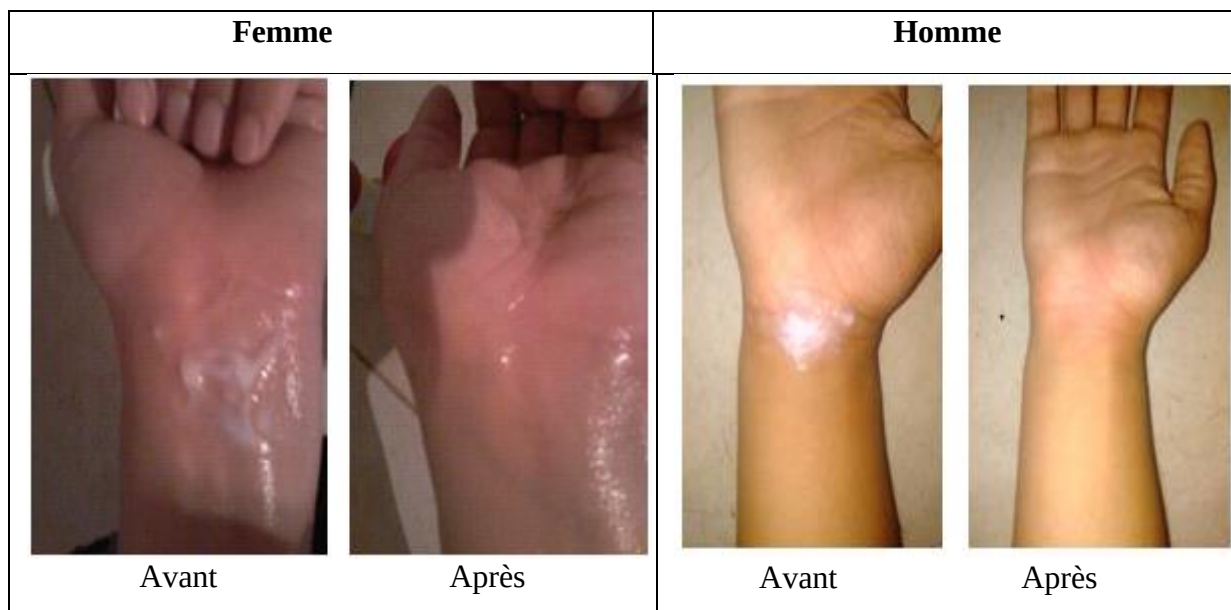
Les pommades de l'HE de *Romarin* et de *Teucrium polium*, sont Peu visqueuse sans présence de grumeaux à l'étalement, et sa revient aux bonnes homogénéisations au cours de la formulation et la troisième pommade a base de poudre est douce et la présence de quelques grains, et sa aussi c'est un indice revient à la bonne homogénéisation au cours de la manipulation.

✚ **Essai sur le poignet (homme et femme) :** Après l'essai des pommades sur poignet d'un homme et d'une femme on a remarqué que n'y pas d'irritation.

✚ **1^{er} cas : PHE Rm**

Tableau. IV.19 : Résultats pour PHE Rm.



2^{em} cas : PHETC.P**Tableau. IV.20 : Résultats pour PHETC.P.****3^{em} cas : PPTC.P****Tableau. IV.21 : Résultats pour PPTC.P.****IV.6. Activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne se réalise dans laboratoire de bactériologie d'hôpital de Ain bessem et on a obtenus les résultats représentés dans le tableau IV .22.

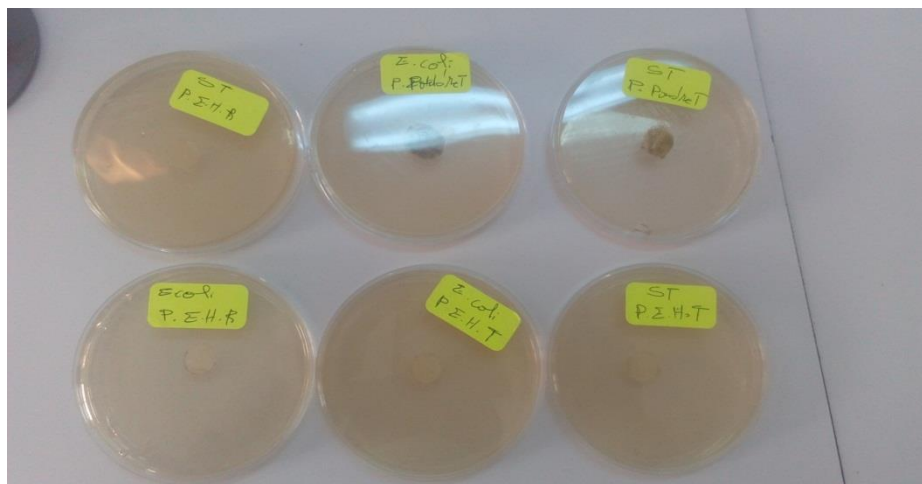


Figure. IV.16 : Photo Effet des pommades formulée sur les souches bactériennes
E. coli et Staphylococcus aureus.

Tableau IV .22 : Activité antibactérienne des pommades.

Echantillon	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
PHE.Rm	26	18
PHETC.P	15	20
PPTC.P	28	21

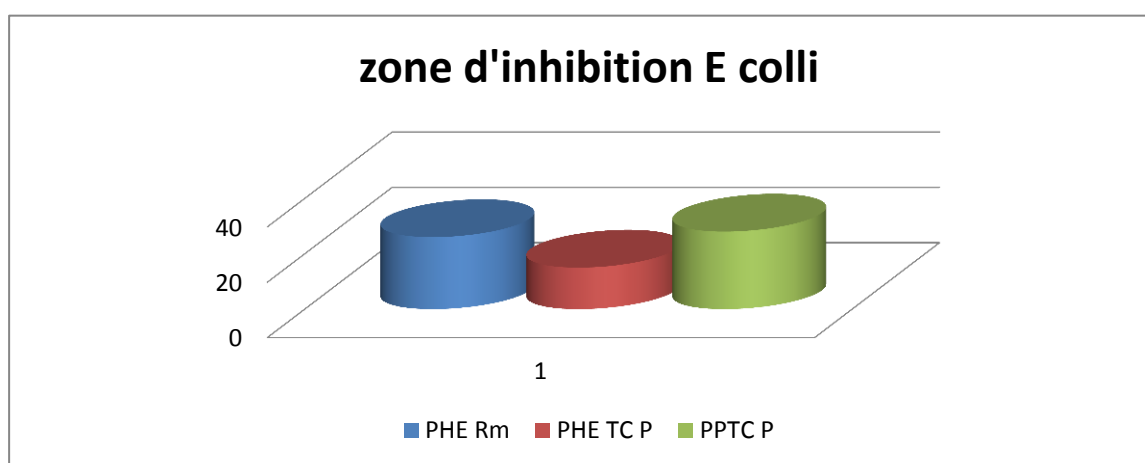


Figure. IV.17 : le résultat s de Zone d'inhibition pour E. coli

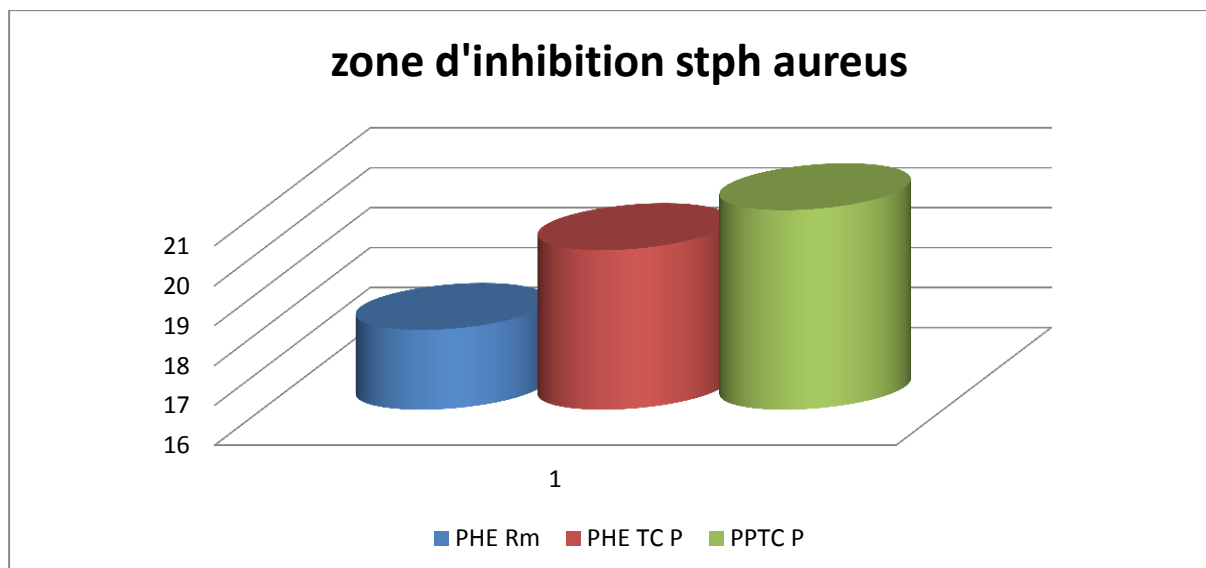


Figure. IV.18 : le résultat s de Zone d'inhibition pour *Staphylococcus aureus*.

La pommade de L'HE de *Romarin* à une activité antimicrobienne importante contre l'*Escherichia coli* par sa zone d'inhibition de 26 mm et la zone d'inhibition de *staphylococcus aureus* est égal à 18mm, donc la souche *E. coli* Gram- est extrêmes sensible à PHE.Rm et le *staphylococcus aureus* Gram+ est très sensible à PHE.Rm.

La pommade de L'HE de *Teucrium polium* à une activité antimicrobienne importante contre *staphylococcus aureus* est égal à 20 mm et la zone d'inhibition de l'*Escherichia coli* est égal à 15 mm, donc la souche *staphylococcus aureus* est extrêmes sensible à PHETC.P, et l'*E. Coli* est très sensible à PHETC.P.

La PPTC.P à une activité antimicrobienne plus importante contre l'*Escherichia coli* par sa zone d'inhibition de 28 mm et la zone d'inhibition de *staphylococcus aureus* est égal à 20 mm, donc la souche *E. coli* Gram-, et le *staphylococcus aureus* Gram+ est extrêmes sensible à PPTC.P.

IV.7. Les Application Cutanés

IV.7.1. Essai sur la région partie dans le thorax : pour le malade chloasma (tache pigmentaire)

✚ **Pommade 1** : avec huile essentielles de *Romarin*.



Début de traitement $\Rightarrow$ Pendant de traitement (Après 16 heure) $\Rightarrow$ après le traitement (Après 21 heures)

Figure. IV.19 : Résultats de l'application cutanée pour la pommade 01.

Après l'application de la pommade 01 sur les taches pigmentaire une amélioration est observée après 21h de traitement, C.-à-d. la pommade1 à bas d'HE Rm fait un effet positif sur la maladie.

IV.17.2.Essai sur la région partie entre les doigts de pied : pour le Maladie de mycoses des pieds.

✚ **Pommade 3 :** avec la poudre de *Teucrium polium l.*



Début de traitement $\Rightarrow$ Pendant de traitement (Après 24 heures) $\Rightarrow$ après le traitement (3 jour)

Figure. IV.20 : Résultats de l'application cutanée pour la pommade 03.

Cette mycose est située entre les orteils, généralement entre le 4ème et 5ème orteil mais l'infection peut s'étendre à la plante du pied, au dos du pied et aux espaces entre les autres orteils. On observe alors des zones rouges au niveau du pied et des fissures et quelques fois de petites bulles remplies de liquide. Ces lésions provoquent généralement une forte démangeaison.

Après l'application de la pommade 03 sur la mycose de pied une amélioration est observée après trois jours de traitement.

Conclusion Générale



Conclusion Générale

Le travail que nous avons entrepris porte sur l'extraction, l'étude physicochimique des huiles essentielles de romarin, *Teucrium polium*, plantes appartenant à la famille des Lamiaceae.

Les huiles essentielles de Romarin, de *Teucrium polium* ont été obtenues par Hydrodistillation avec des rendements de 0.82% et 0.26% respectivement pour le romarin et *Teucrium polium*, La détermination des propriétés physico-chimiques (Indice de réfraction, Indice d'acide, Indice d'iode, Indice de saponification, Indice d'ester,.....etc.) et la composition chimique des plantes étudiées, des essences recueillies nous ont conduit à des valeurs conformes aux normes de commercialisation des H.Es établies par les différentes pharmacopées et proches de certains travaux antérieurs.

Les tests d'activité antimicrobienne réalisés ont permis d'évaluer l'activité des essences de Romarin et de *Teucrium polium*.L, sur deux souches bactériennes par la méthode de diffusion en milieu solide.

Les résultats, obtenus par la technique de diffusion des disques, ont montré une intéressante activité antibactérienne. Elle a été observée pour l'H.E de Romarin à l'égard des deux souches testées, par contre une faible activité antibactérienne a été observée pour l'H.E de *Teucrium polium*.L à l'égard de *Staphylococcus aureus* et une activité antibactérienne nulle sur la souche bactérien *E. coli*.

L'activité antibactérienne des pommades des H.Es et de poudre de *Teucrium polium*.L par la méthode de diffusion en milieu solide a révélé que les pommades ont une activité antimicrobienne importante contre les souches testées.

L'activité thérapeutique des pommades sur des volontaires malades par application locale pour une courte durée ont des résultats satisfaisants.

Enfin, nos résultats indiquent que les H.Es étudiées peuvent être considérées comme agents antimicrobiens promoteurs pour l'industrie pharmaceutique sous différents formes pharmaceutiques.

Pour compléter cette étude, il serait intéressant de faire:

- des tests in vivo dans un laboratoire qualifié ;
- une étude plus approfondie sur *Teucrium. polium* L ;

Conclusion Générale

- mettre en évidence les effets thérapeutiques de *Teucrium. polium* L (traitement de diabète et soigne l'eczéma) ;
- des tests antioxydants et antifongiques des deux plantes ;
- des formulations à base des mélanges des P.A des deux plantes.

Référence Bibliographique



liste de Référence

- [1]: **MEHANI.M**, Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus camendulensis dans la région d'Ouargla, thèse doctorat. Université de KASDI Merbah, Ouargla, 2015.
- [2]: **HAMMOUDI.R**, Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien, Thèse de Doctorat, Université KASDI Merbah, Ouargla ,2015.
- [3]: **Bruneton.J**.Pharmacognosie et phytochimie .Plante médicinales, Edition Technique et documentation, 3^{ème} Edition Lavoisier, Paris, 2004.
- [4]: **BELKHODJA.H**, Effet des biomolécules extraites à partir de différentes plantes de la région de Mascara : Evaluation biochimique des marqueurs d'ostéoarticulation et de l'activité biologique'' thèse doctorat, Université de **li**-Mustapha stambouli Mascara, 2015.
- [5]: **TAHARI.B, SAADOU.Z**. Détermination des propriétés organoleptiques et physicochimiques des huiles essentielles: *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Mentha pulegium*(*Lamiacees*),mémoire master 2,Université DJILALI Bounaama KHEMIS MILIANA,2015.
- [6]: **Bruneton.J** Pharmacognosie et phyto-chimie plantes médicinales,2ieme édition Paris, France, Lavoisier.1993.
- [7]: **Bruneton.J** ; Pharmacognosie, phytochimie. Plante médicinales, Edition Technique et documentation, 3^{ème} Edition Lavoisier, Paris, 2004.
- [8]: **D.Roux**, Botanique pharmaceutique phytothérapie, 2^{ème} Edition Lavoisier, Paris, 2004.
- [9]: **Soudani.Nafissa** étude écologique et phytochimique de la plante médicinale « *Teucrium polium* »dans la region de djemourah de wilaya de Biskra Université de Biskra 2011.

liste de Référence

[10]:https://www.google.com/search?q=bouira&safe=strict&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiA67yHz7_dAhVGqxoKHaTdBiyQ_AUICigB&biw=1024&bih=640.

[11] :https://www.google.dz/search?q=teucrium+polium+huile+essentiel&safe=strict&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiA67yHz7_dAhVGqxoKHaTdBiyQ_AUICigB&biw=976&bih=579#imgsrc=FsxVsQDzLWfP6M.

[12]: **BENDIF.H**, « 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, 2017 .

[13]: **BENKHECH.Ch, ABEDEL OUAHID.Dj**, les huiles essentielles ,2^{ème} Edition réimpression, Algérie, 2014.

[14]: **FROUHAT.F** « caractérisation chimique, activités biologique de substances naturelles issues de la plante médicinales et de métabolites secondaires isolés de champignons edophytes », Thèse doctorat université Mohamed v Rabet, Maroc, 2015.

[15]: **Bernard.T, Periau.F, Brav.O, Delmas.M & Gaset A** (1988) Extraction des huiles essentielles. Chimie et Technologie. Information chimie,1988.

[16]: **BOUTITI.A**, Etude phytochimique de l'espece *globularia alypum L* ; Magister en chimie organique, Université mentouri constantine, 2006.

[17]: **Messai.L.**, étude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*Artemisia herba-alba*) thèse doctorat .Université Mentouri Constantine. 2004.

[18]: **OUIS.N**, Étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil. Thèse de doctorat. Université Ahmed Ben Bila d'Oran Algérie 2015.

[19]: **LAHERACHE.K** ,Extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha Pulegium L* .Et de *Saccocalyx satureioides*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques, Mémoire Magister, Université d'Oran Es-Seina. 2010.

[20]: **BRIGITTE xCHARPENTIER, FLORENCE HAMON-LORLEAC'H, ALAIN HARLAY**, Guide du préparateur en pharmacie ,4 ieme édition France.2008.

[2]: **Catherine Desmares**, Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles

liste de Référence

essentielles. Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, édition AFSSAPS2008,

[22]: Rhayour.K Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, 2002.

[23]: Eloukili.M ; Valeur nutritive de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) comparée à l'unité fourragère de l'orge. Mémoire de master. Université d'Abou Berk Belkaid, Tlemcen-Algérie 2013.

[24]: Thomas M. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de doctorat, Universités d'Orléans. 2011.

[25]: LABIOD.R, valorisation des huiles essentiels et des extraits de *Calamintha nepeta* : activité antimicrobienne, activité antioxydant, activité fongicide, thèse doctorat, université BADJI MEKHTAR, ANNAB, 2016.

[26]: https://www.google.com/search?q=bouira&safe=strict&source=lnms&tbm=ish&sa=X&ved=0ahUKEwinkte4grDdAhUHyxoKHZNjDqcQ_AUICigB&biw=1024&bih=64

[27]: FROUHAT.Z ; LAHCINI .B ; lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* ; mémoire master ; université kasdi Merbah-Ouargla. 2013. **[28]-Florence .M** ; utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite ; thèse doctorat ; UNIVERSITE DE LORRAINE ; 2012.

[28] : F.MAYER ; Utilisation thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite, thèse doctorat , Université de LORRAINE, 1985.

[29]: BENSELLEME.G ; l'huile de Lentisque (*pistacia lentisques L*) Dans l'est D'Algérie caractéristique physico-chimiques composition en Acide gras, Magistère, Université de Constantine 1, 2015.

[30]: Taleb-Toudert.K; Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) ; thèse doctorat ; Université MOULOD MAMMERI de Tizi-Ouzou ; 2015.

liste de Référence

- [31]: **R.Guesdouari**, Etude comparative de la pharmacognosie des différentes parties du laurus NobilisL. Essai de formulation thérapeutique, Magister, Université de Boumerdes, Algérie, 2012 ;
- [32]: **Baleh, Hinane**, Valorisation du Rosmarinus officinalis L (2011) de Kabylie : recherche de l'effet thérapeutique de l'huile essentielle et des formulations médicamenteuses afférentes, Magister, Université M'hamed Bougara Boumerdes, Algérie, 2013 ;
- [33]: R.R paris ; H.Moyes, précis de matière médicale, Tome 1, édition MASSON, paris 1976 ;
- [34]: Pharmacopée Européenne, 4ème edition, 2002.
- [35]: **A.J.Verbiscar; T.F. Banagan; H.S.Gentry**; Recent research on red Squill as a rodenticide, proceedings Twelfth Vertebrate Pest Conference (T.P.Salmon, Ed),Univ.Of California,1986.
- [36]: **D.F-XReichl ; J.Benecke ; R.Perraud ; M.Benecken**, Guide pratique de toxicologie, édition De Boeck université, Paris(France),2004.
- [37]:http://www.cosmetic-bio.com/b/index.php/huileplantescomposants/Les_elements-actifs-des-plantes.html ;
- [38]: **ATTOU.A** ;Détermination de la composition chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de L'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) Etude de Leurs Activités Antioxydant et Antimicrobienne ; thèse doctorat ; Universite Abou Bekr Belkaid Tlemcen ; 2017.
- [39]: **BENE.K, CAMARA.D, SOUMAHORO I.A.2, KANGA Y.1, ZIRIHI G.N.1**,Formulation galénique d'une pommade antimicrobienne à base d'un extrait hydro alcoolique de *Bersama abyssinica* Fresen. Article, 2017.
- [40]: <http://www.doctipharma.fr/conseils-de-pharmacien/article/mycoses-des-pieds-comment-sen-debarrasser>consultée 6/09/2018.
- [41]: **Bousbia.N** « Extraction des huiles essentielles riches en anti oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique thèse doctorat, 2011.

liste de Référence

Résumé

Ce travail se base principalement sur l'extraction et la caractérisation des huiles essentielles de romarin et de *teucrium polium.L* recueillies de deux régions différentes à savoir Bouira et Dira, de la wilaya de Bouira. L'extraction des huiles essentielles réalisée par hydrodistillation a donné un rendement pour le romarin de 0,82% et pour le *teucrium polium.L* de 0,26%. Les analyses physico-chimiques et phytochimique les huiles essentielles sont conformes avec les normes AFNOR.

L'étude de l'activité antibactérien des huiles essentielles et des pommades formulées vis-à-vis les souches, *Escherichia coli* (ATTCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATTCC25923) révèle un pouvoir inhibition très important pour les deux plantes considérées. Par ailleurs, les pommades à base des huiles essentielles extraites ont montré un effet thérapeutique (antifongique et antibactérien) lors des tests effectués sur des personnes malades. Il a été aussi montré que la pommade formulée, à partir de la poudre de la plante *teucrium polium.L* séchée et stérilisée, a un effet antifongique important.

Mots-clés : Romarin, *teucrium polium.L*, Huile essentielle, pommades, l'activité antibactérienne.

Abstract

This work is mainly based on the extraction and characterisation of the essential oils of rosemary and *teucrium polium.L* collected from two different regions namely Bouira and Dira, of the wilaya of Bouira. The extraction of the essential oils carried out by hydrodistillation gave a yield of 0.82% for rosemary and 0.26% for the tetractyl *polium*. The physicochemical and phytochemical analyzes of the essential oils conform with the AFNOR standards.

The study of the antibacterial activity of essential oils and ointments formulated against the strains, *Escherichia coli* (ATTCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATTCC25923) reveals a very important inhibition power for the two plants considered. In addition, ointments based on extracted essential oils have shown a therapeutic effect (antifungal and antibacterial) during tests performed on sick people. It has also been shown that the formulated ointment, from dried and sterilized *teucrium polium.L* plant powder, has a significant antifungal effect.

Key Word: rosemary, *teucrium polium.L*, the essential oils, ointments, antibacterial activity.

المخلص

في التوالي على المتواجدة و الجعدة نبتة و الجبل اكليل لنبته الطيارة الزيوت دراسة يتناول العمل هذا التقطير بطريقة تمت التي و الاساسية الزيوت استخلاص عملية. البويرة لولاية ديرة و البويرة مدينة 0 بنسبة مردودا اعطت , المائي .. التحاليل نتائج. الجعدة لنبته بالمائة 2.00 و الإكليل لنبته بالمائة 2 . افنور الدولية للمعايير مطابقة النباتية الكيميائية و الفيزيوكيميائية

25922) و المراهم الأساسية للزيوت للبكتيريا المضاد النشاط دراسة ATTCC *Escherichia coli* و ب يتعلق فيما

Staphylococcus aureus استنادا المراهم أظهرت ذلك على علاوة للنبتين التنشيط عن يكشف (,) للطفريات مضاد و للجراثيم مضاد(علاجي تأثير له المستخرجة العطرية الزيوت ATTCC 25923

تأثير له الجعدة نبتة من صنع الذي مرهم أن أيضا تبين وقد المرضى على أجري الذي الاختبار أثناء مضاد

مهم.

للبكتيريا المضادة الفعالية, المراهم, الطيارة الزيوت, الجعدة, الجبل اكليل :البحث كلمات