

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLAB – Blida 1



FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIES ET AGRO-ECOLOGIE

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de Master
Académique en Sciences de la Nature et de la Vie

OPTION : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

THEME

**Extraction des huiles essentielles et Evaluation de l'activité
antimicrobienne et cicatrisante de *Pistacia lentiscus L, Rosmarinus
Officinalis, et Marrubium vulgare***

Présenté par :

Bitour Nedjoua

Boukhalfa kaouther

Meslouli Khadidja Asma

Devant les membres du jury :

Dr.Ghanai R

USDB 1

MAA

Présidente

Dr.Arrar K

USDB 1

MAA

Promotrice

Dr. Ayadi R

USDB 1

MCA

Examinatrice

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Louange à ALLAH, à lui nous nous repentons et sur lui nous comptons et suivant sa voie.

*Nous remercions en premier lieu, **Dieu** Tout Puissant qui nous a guidés sur le droit chemin et nous a donné le courage et la volonté d'affronter les difficultés rencontrées et aboutir à la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement notre promotrice **Dr. ARAR K**, pour avoir encadrée et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, pour ses précieux conseils, ses compétences scientifiques, et sa gentillesse durant toute la période du travail.*

*Nous tenons à remercier sincèrement les membres de jury **Dr. GHANAI R** et **Dr. AYADI R** pour leur temps consacré durant la lecture et l'évaluation de ce travail.*

*Un remerciement spécial à toute l'équipe de **GROUPE DE SAIDAL**, A leur tête **Mr IMOUCHE H**, **Mr LOUNIS A**, **Mme MAKAOUI N**, **Mr SOUMER**, **Mme OUAREK S** et à toute l'équipe du laboratoire de chimie analytique et de microbiologie.*

*Nous adressons nos remerciements à **Mme TARZALI D Docteur en vétérinaire** et à **Mr GHRIUBI Y** pour leur précieux conseils, leur compétences, leur professionnalisme, leur aide, et leur gentillesse.*

*Merci également à notre chef d'option **Mr BENDALI A**, et à tous nos professeurs qui nous ont formés durant tous notre cursus universitaire.*

Enfin, nous tenons à remercier notre entourage famille et amis, pour leur soutien et leur compréhension, ainsi que tous ceux qui ont pu contribuer de près ou de loin à l'achèvement de ce travail.

DÉDICACE

Je remercie tout d'abord Dieu tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mon très cher Père " **AMAR** " qui a toujours été pour moi un père exemplaire et un véritable pilier de ma vie, je dédie ce modeste travail spécialement à toi, que dieu t'accueille dans son vaste paradis.

A ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma mère " **ASSIA** ". Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé. Je t'aime maman.

A mes frères : **ABDLKADER** et **MOHAMER**

A Mon cher grand-père maternel **RABAH** que Dieu vous donne bonne santé et longue vie parmi nous.

A la mémoire de mon grand-père paternel **RABAH**, ma grande mère paternelle **MERIEM** et ma grande mère maternelle **AICHA** :

Vous êtes toujours dans mon cœur,

Je vous dédie aujourd'hui ce modeste travail.

Qu'Allah, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

A mon trinôme **ASMA** et **NEDJOUA**.

A tous mes amis .Et à tous ceux que j'aime.



DÉDICACE

En premier, je remercie « Dieu » le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté, la santé, et le moral de terminer mon cursus universitaire et d'accomplir ce travail.

Je dédie ce travail à

*A la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie,
Maman que j'adore.*

*A **mon père**, mon exemple éternel, mon soutien et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te procure une bonne santé et longue vie.*

*A mon pilier, mes deux chers frères **Oussama** et **Adem** je vous aime très fort.*

*A mes sœurs d'amour, mes bouts de sucre, ma source d'énergie et de bonheur **Zineb** et **Hadjer***

*A mes deux chers oncles : **Saleh** et **Saïd***

*A la mémoire de mes grands-mères **FATMA** et **ZINEB**, et mon grand-père **AHCENE**, vous rester dans mon cœur à jamais, que dieu vous accueille dans son vaste paradis*

*A celles qui me comblent toujours par leur amour **mes tantes** que dieu vous protège*

*A tonton **Mourad** et **Mohamed**, merci pour votre soutien et gentillesse.*

A la personne qui m'a aidé à tous surmonter, qui m'a toujours remonter le moral et renforcer ma confiance en soi.

*A mes très chères cousines **Sarah**, **Hala**, **Malak**, **Lyna** et **Houda***

*A mes chères amies **Wafa** et **Maya**, et mon trinôme **Kaouther** et **Nedjoua**.*

*A mon chat adoré **Minou***



DÉDICACE

C'est avec une grande gratitude et des mots sincères, que je dédie ce modeste Travail de fin d'étude à mes chers parents, qui ont sacrifié leur vie pour ma

Réussite

A ma chère mère FATIHA HADJALI qu'elle a toujours cru en moi et avec ses

nombreux sacrifices,

A mon cher père YOUCEF pour son soutien et ses encouragements
J'espère que je leur rendrai un jour une partie de ce qu'ils ont fait pour moi, que

Dieu les bénisse avec bonheur et longue vie

A ma grand – mère maternel ZINEB qui a été toujours à côté de moi pendant le long

de Mes études ; merci pour ton amour, tes conseille et Prières

Je dédie aussi ce travail à mes chères belles sœurs Nour elhouda, Faten, Ferial,

Sabrina et son mari Imad

A mon adoré frère Mohamed

A mes meilleurs amies, Amina, Lina, Sabrina et Yasmine, merci de toujours être la pour

moi, merci pour votre encouragement.

Sans oublier mon binôme Asma et mon trinôme kaouther pour leur présence et pour votre

soutien et vos encouragement tout au long du chemin

Enfin merci à tous ceux et celles qui nous ont aidés d'une façon ou d'une autre dans notre

travail merci du fond de cœur

Table des matières

- Remerciements
- Dédicaces
- Liste des abréviations
- Liste des figures
- Liste des tableaux
- Résumé

INTRODUCTION GENERALE	1
-----------------------------	---

PARTIE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur la phytothérapie et les plantes médicinales

1.1. Phytothérapie.....	4
1.1.1 Définition	4
1.1.2 Différents types de phytothérapie	4
1.1.3 Les avantages de la phytothérapie	5
1.1.4 Les inconvénients de la phytothérapie	6
1. 2. Plantes médicinales	6
1.2.1. Définition	6
1.2.2. Modes de préparation et utilisation des plantes médicinales.....	7
1.2.3. Principes actifs des plantes médicinales	8
1.2.4. Coumarines.....	8
1.2.5. Tanins	8
1.2.6. Flavonoïdes	9
1.2.7. Alcaloïdes.....	9
1.3. Huiles essentielles	9
1.3.1. Définition	9
1.3.2. Répartition et localisation	10
1.3.3. Propriétés physiques	10
1.3.4. Techniques et méthodes d'extraction des huiles essentielles	11

1.3.5. Les activités biologiques des huiles essentielles.....	13
1.3.6. Conservation des huiles essentielles.....	14
1.3.7. Toxicité des essentielles.....	14
1.4. Hydrolat	15
1.4.1. Définition	15
1.4.2. Composition chimiques	16
1.4.3. Utilisation thérapeutique.....	16

Chapitre II : Etudes des plantes

2.1. <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	17
2.1.1. Historique	17
2.1.2. Classification Taxonomique	17
2.1.3. Description botanique du romarin.....	18
2.1.4. Répartition géographique.....	18
2.1.5. Activités biologique.....	19
2.1.6. Compositions chimiques.....	20
2.1.7. Usage et toxicité	21
2.2. <i>Pistacia lentiscus L.</i>	22
2.2.1. Historique	22
2.2.2. Classification taxonomique.....	22
2.2.3. Description botanique	23
2.2.4. Activités biologiques	24
2.2.5. Compositions chimiques.....	25
2.2.6. Usage et toxicité	25
2.3. <i>Marrubium vulgare</i>	26
2.3.1. Historique	26
2.3.2. Classification taxonomique.....	26
2.3.3. Description botanique	26
2.3.4. Répartition géographique.....	28
2.3.5. Activités biologiques	28
2.3.6. Compositions chimiques.....	29
2.3.7. Usage et toxicité	30

PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Objectif	37
-------------------	----

2. Matériels	37
2.1. Matériel végétal.....	37
2.2. Matériel animal	39
2.3. Matériel de laboratoire	40
2.3.1. Verreries et appareillage.....	40
2.3.2. Réactifs de laboratoire.....	41
3. Méthode	42
3.1. Récolte et séchage des plantes	42
3.2. Extraction des huiles essentielles.....	42
3.2.1. Extraction de type Clevenger	42
3.2.2. Le Principe de la méthode d'Hydrodistillation de type Clevenger	43
3.2.3. Protocole de l'extraction	43
3.2.4. Conservation de l'huile essentielle	43
3.2.5. Détermination de rendement	44
3.2.6. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles	44
3.2.7. Méthode d'extraction par Soxhlet.....	44
3.3. Screening phytochimique	46
a- Préparation des échantillons	47
b- Préparation des extraits	47
3.4. Formulation d'une crème phytopharmaceutique.....	49
3.4.1. Procédé de formulation de la crème.....	49
3.5. Control physicochimique de la crème.....	53
1.1.1. Détermination des propriétés rhéologiques.....	53

II. Activités biologiques

1. Étude de l'activité antimicrobienne	54
1.1. Préparation de l'inoculum.....	54
1.2. Examen de l'échantillon.....	55
1.3. Dépôts des disques.....	55
1.4. Expression des résultats.....	56
2. Activité cicatrisante : <i>in vivo</i>	57

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Résultats de l'extraction par Clevenger	59
1.1. Rendement de l'extraction.....	59
1.2. Caractéristiques Organoleptiques des HE et Hydrolat	60
2. Résultats du screening phytochimique.....	61
3. Test macroscopique des crèmes.....	70
4. Résultats de rhéologie	71
5. Résultats de l'activité antimicrobienne	72

6. Résultats de l'activité cicatrisante..... 76

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Annexes

Références

Liste des abréviations

CCM : Chromatographie sur couche mince

CO₂ : Dioxyde de carbone

CRD : Centre de recherche et de développement

FeCl₃ : Chlorure de fer

HCL : Acide chlorhydrique

HE : Huiles essentielles

H₂SO₄ : Acide sulfurique

Mg : Magnésium

OMS : Organisation mondiale de santé

PAM : Plantes aromatiques et médicinales

PFE : Projet de fin d'étude

SFE : Extraction par fluide supercritique

Liste des figures

Figures	Titre	Page
Figure 1	Arbuste de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	16
Figure 2	Arbuste de <i>lentisque pistachier L</i>	21
Figure 3	Arbuste de <i>Marrubium vulgare L</i>	26
Figure 4	lapins Néo-zélandais	37
Figure 5	Feuilles et rameaux de <i>Lentisque pistachier L</i> séchés	39
Figure 6	Sommités fleuries de <i>Romarin officinale L</i> séchées	39
Figure 7	Feuilles et tiges de <i>Marrube blanc</i> séchés	39
Figure 8	un hydrodistillateur de type Clevenger	40
Figure9	Extracteur de soxhlet	42
Figure10	Montage d'évaporateur rotatif	43
Figure11	Poudres végétales des trois plantes	44
Figure12	Produits de formulation de la crème	46
Figure13	La pesé des produits	47
Figure14	Fusion de la phase huileuse	47
Figure15	La mesure de PH de l'eau distillée à l'aide d'un PH mètre	48
Figure16	Dissolution du principe actif dans l'huile de vaseline	49

Figure17	Dispersseur	49
Figure18	Appareil de rhéomètre	50
Figure19	Rhéogramme de viscosité en fonction des cisaillements	68

Liste des tableaux

Tableaux	Titre	Page
Tableau1	Taxonomie de <i>Rosmarinus officinalis</i>	14
Tableau2	Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de <i>Romarin</i>	18
Tableau3	Taxonomie de <i>Pistacia lentiscus</i> .	20
Tableau4	Taxonomie de <i>Marrubium vulgare</i>	25
Tableau5	les données par rapport notre matières premières	35
Tableau6	Présentation des régions d'étude	36
Tableau7	les substances de la formule de la crème et leurs rôles	46
Tableau9	l'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne	51
Tableau10	Degré de sensibilité des souches microbienne selon le diamètre de la zone d'inhibition	53
Tableau11	Souches microbiennes testées et leurs références	53
Tableau12	Résultats de rendement d'extraction des trois plantes	56
Tableau13	caractéristiques organoleptiques des HE, hydrolat et extrait obtenu	57
Tableau14	Résultats des tests d'identification des composés chimiques de l'infusé de <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	59
Tableau15	Résultats des tests d'identification des composés chimiques de l'infusé de <i>Pistacia lentiscus L</i>	61
Tableau16	Résultats des tests d'identification des composés chimiques de l'infusé de <i>Marrubium vulgare</i> .	64
Tableu17	Les résultats des tests macroscopiques des crèmes formulées	67
Tableau18	Résultats des zones d'inhibition	69
Tableau19	Zones d'inhibition des crèmes	
Tableau20	Résultats de l'activité ccatisante	83

Résumé

Le *Rosmarinus officinalis L*, *Pistacia lentiscus L*, et *Marrubium vulgare*, se sont parmi les plantes médicinales les plus connues par leurs intérêts pharmaceutiques. Elles sont utilisées traditionnellement depuis longtemps pour le traitement de plusieurs affections.

Ce travail a pour le but de valoriser les trois plantes médicinales étudiées dans le domaine pharmaceutique par la formulation de trois crèmes cicatrisantes phytopharmaceutiques. D'abord, une extraction par hydrodistillation des trois plantes a été réalisée, qui a permis d'avoir un rendement de 0,23% Pour le *Romarin*, 0,17% de *Lentisque*. Une extraction éthanolique de Marrube par soxhlet a permis d'avoir un extrait d'un rendement de 30%. Par la suite, un screening phytochimique a été fait sur les poudres végétales des trois plantes afin d'identifier les principales molécules actives présentes dans ces plantes. Trois crèmes phytopharmaceutiques à base des huiles essentielles ont été formulés, un examen macroscopique et rhéologique ont été faites pour étudier les caractéristiques des crèmes. Une étude de l'activité antimicrobienne in vitro des huiles essentielles de *Romarin et Lentisque*, et l'hydrolat de *Marrube* ainsi que pour les crèmes formulés sur quatre souches bactériennes (2 Gram+ et 2 Gram-) et deux souches fongiques pour évaluer le pouvoir inhibiteur vis-à-vis les souches testées, qui a donné un pouvoir antibactérien important sur les souches à Gram positif (*Saccharomyces cerevisiae* : **18mm** pour l'huile essentielle de *Lentisque*, et *Bacillus subtilis* **17mm±15mm**)

Pour évaluer, confirmer, et comparer le pouvoir cicatrisant de notre formulation, une étude in vivo de l'activité cicatrisante a été faite sur 12 lapins albinos de la race Néo-zélandaise, qui nous a permis d'avoir une activité cicatrisante rapide de la crème à base de *Lentisque* en comparant avec la crème commercial Cicatryl, on a pu aussi constater que la formulation à base de *Romarin* permet une forte repousse de poile.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis L*, *Pistacia lentiscus L*, *Marrubium vulgare*, screening phytochimique, activité antimicrobienne, activité cicatrisante.

Abstract:

Rosmarinus officinalis L, *Pistacia lentiscus L*, and *Marrubium vulgare*, are among the best known medicinal plants for their pharmaceutical interests. They have been used traditionally for a long time for the treatment of several conditions.

This work aims to enhance the three medicinal plants studied in the pharmaceutical field by the formulation of three phytopharmaceutical healing creams. First, an extraction by hydrodistillation of the three plants was carried out, which made it possible to have a yield of 0.23% For *Rosemary*, 0.17% *Lentisk*. An ethanolic extraction of horehound by soxhlet gave an extract with a yield of 30%. Subsequently, a phytochemical screening was carried out on the vegetable powders of the three plants in order to identify the main active molecules present in these plants. Three phytopharmaceutical creams based on essential oils were formulated, a macroscopic and rheological examination were made to study the characteristics of the creams. A study of the in vitro antimicrobial activity of essential oils of *Rosemary* and *Lentisk*, and *Marrube* hydrosol as well as for creams formulated on four bacterial strains (2 Gram+ and 2 Gram-) and two fungal strains to assess the inhibitory power vis-à-vis the strains tested, which gave a significant antibacterial power on the Gram-positive strains (*Saccharomyces cerevisiae*: 18mm for the essential oil of *Lentisk*, and *Bacillus subtilis* 17mm \pm 15mm)

To evaluate, confirm, and compare the healing power of our formulation, an in vivo study of the healing activity was carried out on 12 albino rabbits of the New Zealand breed, which allowed us to have a rapid healing activity of the *Lentisk*-based cream by comparing it with the commercial Cicatryl cream, we have also been able to observe that the *Rosemary*-based formulation allows strong hair regrowth.

Key words: *Rosmarinus officinalis L*, *Pistacia lentiscus L*, *Marrubium vulgare*, phytochemical screening, antimicrobial activity, healing activity.

ملخص

تعتبر *L Rosmarinus officinalis* و *L Pistacia lentiscus* و *Marrubium vulgare* من بين أفضل النباتات الطبية المعروفة لفوائدها الصيدلانية. لقد تم استخدامها تقليدياً لفترة طويلة لعلاج العديد من الحالات.

يهدف هذا العمل إلى تعزيز النباتات الطبية الثلاثة التي تمت دراستها في المجال الصيدلاني من خلال صياغة ثلاثة كريمات صيدلانية لعلاج الجروح. أولاً، تم إجراء استخلاص بالتقطير المائي للنباتات الثلاثة، مما جعل من الممكن الحصول على عائد 0.23% لإكليل الجبل، و 0.17% للضرو. أعطى استخراج إيثانولي من *Marrube* بواسطة Soxhlet مستخلصاً بنسبة 30%. بعد ذلك، تم إجراء فحص كيميائي نباتي على المساحيق النباتية للنباتات الثلاثة من أجل تحديد الجزيئات النشطة الرئيسية الموجودة في هذه النباتات. تمت صياغة ثلاثة كريمات صيدلانية نباتية تعتمد على الزيوت الأساسية، وتم إجراء فحص مجهري وريو لوجي لدراسة خصائص الكريمات. تم دراسة النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية لإكليل الجبل والضرو، والمستخلص المائي للـ *Marrube* وكذلك الكريمات المكونة على أربع سلالات بكتيرية (2 جرام + و 2 جرام-) وسلالتين فطريتين لتقييم القوة المثبطة تجاه السلالات التي تم اختبارها، والتي أعطت قوة كبيرة مضادة للجراثيم على السلالات Gram+ (*Saccharomyces cerevisiae* 18 ملم للزيت العطري *Lentisque*، و *Bacillus subtilis* (17mm ± 15mm

لتقييم وتأكيده ومقارنة قوة الشفاء للكريمات، تم إجراء دراسة في الجسم الحي لنشاط الشفاء على 12 أرنباً *albinos* من سلالة نيوزيلندا، مما سمح لنا بالحصول على نشاط شفاء سريع للكريم القائم على *Lentisque* من خلال مقارنته بكريم *Cicatryl* التجاري، تمكنا أيضاً من ملاحظة أن التركيبة القائمة على إكليل الجبل تسمح بإعادة نمو الشعر بقوة.

الكلمات المفتاحية: *L Rosmarinus officinalis*، *L Pistacia lentiscus*، *Marrubium vulgare*، الفحص الكيميائي النباتي، النشاط المضاد للميكروبات، نشاط الشفاء.



INTRODUCTION

Actuellement, la recherche scientifique a été mise sur la recherche de nouveaux antibiotiques naturels, notamment d'origine végétale, n'a cessé d'augmenter. Les plantes ont été une source inépuisable de médicaments, et récemment beaucoup d'études ont été mises sur la recherche de nouvelles thérapeutiques à base de plantes médicinales. Aujourd'hui, une faveur populaire à utiliser des plantes médicinales plutôt que des médicaments chimiques

Les plantes médicinales sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth et al. 1986).

Le médicament à base de plantes est un "complexe" de molécules, issu d'une ou plusieurs espèces végétales. De nombreuses formes galéniques sont aujourd'hui proposées, certaines plus innovantes que d'autres, laissant l'infusion originelle plus ou moins désuète. Pourtant ces changements de forme peuvent parfois cacher des modifications quant à l'action sur le métabolisme ou la biodisponibilité des principes actifs (Wichtl M., Anton R., 2003)

La phytothérapie désigne les soins à base des plantes médicinales sous différentes formes (infusions, tisanes, décoction, crèmes, sirops...). Aujourd'hui les gens en ont pris recours à la médecine traditionnelle et les préparations artisanales à base des poudres et extraits végétales grâce à leur grand intérêt et vertus thérapeutiques intéressantes face à plusieurs affections et maladies.

L'Algérie possède un patrimoine végétal très diversifié, et riche dans les régions côtières, montagneuses, les hauts-plateaux, et les oasis sahariennes. Parmi les ressources végétales sont les plantes et les herbes médicinales et aromatiques qui occupent de nos jours une place importante dans l'économie nationale et dans l'échelle médicale, pharmaceutique, cosmétique, alimentaire et artisanale.

Parmi les principes actifs les plus connus et les plus utilisables des plantes médicinales et aromatiques sont les huiles essentielles qui possèdent des molécules bioactives à des propriétés médicinales et pharmaceutiques intéressantes (antimicrobienne, anti-inflammatoire, antioxydante, cicatrisante, anticancéreuse.....), ses huiles sont localisées et synthétisées par des cellules et des organes particuliers de la plante, leur extraction se fait par plusieurs méthodes, ils sont valorisés sous plusieurs formes galéniques.

Dans ce travail, on s'est intéressé par l'étude phytochimique de trois plantes médicinales connues par leur vertus et propriétés thérapeutiques en médecine traditionnelle : *Rosmarinus officinalis*, *Pistacia lentiscus* et *Marrubium vulgare*. Et l'évaluation de l'activité antimicrobienne et cicatrisante.

Nous avons jugé important de confirmer scientifiquement l'efficacité des huiles essentielles dans l'activité antimicrobienne, et la cicatrisation des plaies.

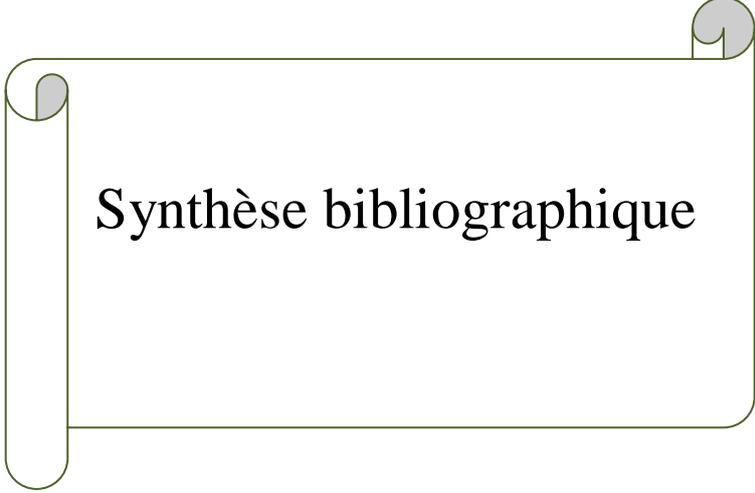
Ce travail s'articule sur deux parties :

Partie 1 : synthèse bibliographique, qui est divisé en deux chapitres :

- Le premier chapitre contient les généralités sur la phytothérapie et les plantes médicinales et les huiles essentielles.
- Le deuxième chapitre a été consacré pour l'étude des trois plantes : *le Romarin officinale (Rosmarinus officinalis L)*, *le lentisque pistachier (Pistacia lentiscus L)*, et *le Marrube blanc (Marrubium vulgare)*.

Partie 2 : étude expérimentale

- Le premier chapitre englobe le matériel et méthodes de laboratoire utilisés pendant la réalisation des expérimentations : l'extraction des huiles essentielles des trois plantes, le screening phytochimique pour identifier les composés chimiques contenus dans ces plantes, formulation de trois crèmes phytopharmaceutiques, l'évaluation de l'activité antimicrobienne sur quelques souches bactériennes et fongique, et l'étude in vivo de l'effet cicatrisant des crèmes formulés à base des huiles essentielles sur des lapins Albinos de la race Néo-zélandais.



Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la phytothérapie et les plantes médicinales

1.1 Phytothérapie

1.1.1 Définition

La phytothérapie est une thérapeutique utilisant des parties (feuilles, fleurs, écorce, racines, graines, fruits/zeste...) des plantes médicinales aromatiques ou non aromatiques, ou leurs formes immédiatement dérivées excluant les principes actifs d'extraction pure isolés. **(Fabienne, 2013)**

La phytothérapie vient du grec et signifie « soigner par les plantes ». Elle repose en partie sur une pratique traditionnelle, fondée sur l'utilisation ancestrale et locale des plantes. Les plantes médicinales renferment de nombreux actifs (plus de 250) qui ont des activités thérapeutiques complémentaires ou synergiques.

Ces actifs ont été étudiés et reproduits chimiquement pour être incorporés de nos jours dans de nombreux médicaments. **(Anonyme., 2015).**

1.1.2 Différents types de phytothérapie

- **L'aromathérapie** : ce terme renvoie à l'utilisation des huiles essentielles, essences et hydrolats obtenus à partir des plantes aromatiques.

Le terme « thérapie » orienté vers un usage médical pour soigner ou prévenir certaines pathologies. **(Fabienne M., 2013)**

- **L'homéopathie** : créée par Samuel Hahnemann à la fin du XVIIIe siècle a largement fait parler d'elle. Controversée par certains car son mode de fonctionnement reste inconnue, elle compte néanmoins à son actif d'innombrables succès, y compris sur les animaux et les enfants. Bien qu'elle utilise également des éléments animaux et minéraux. L'homéopathie se base avant tout sur les plantes. **(François C., 2016)**

- **La gemmothérapie** : provient des travaux du docteur Henry, médecin belge, qui remarque dès 1970 que le tissu embryonnaire des bourgeons et des jeunes pousses regroupe de façon concentrée toute l'information concernant les caractéristiques du végétal. On y rencontre les divers principes actifs de la plante, accompagnés de substances spécifiques. Cette méthode de soins consiste à utiliser à des fins curatives des macérâts glycerinés de bourgeons ou de jeunes pousses d'une cinquantaine de plantes. **(François.C, 2016)**

- **La balnéothérapie** : elle Consiste en particulier à verser des extraits de plantes dans des bains chauds. Elle se révèle excellente pour les maladies de peau, les rhumatismes, le refroidissement, l'excitation, l'insomnie et divers troubles nerveux. **(François C., 2016).**
- **L'herboristerie** : c'est la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée ; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruit, fleur). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. **(Strang C., 2006)**

1.1.3 Les avantages de la phytothérapie

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus Sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des Médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. C'est pourquoi on utilise à nouveau l'absinthe Chinoise (*Artemisia annua*, p. 67) et surtout son principe actif pour soigner la malaria lorsque les protozoaires Responsables de la maladie résistent aux médicaments.

La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée Aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un Renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans Le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme.

On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques. **(Iserin P et al., 2001).**

Le bonheur du phytothérapeute est d'avoir à sa disposition des drogues végétales agissant sur plus d'une anomalie métabolique. **(P.Goetz, 2020).**

1.1.4 Les inconvénients de la phytothérapie

La phytothérapie ne traite pas 100 % des maladies et ne se substitue pas aux traitements médicaux et chirurgicaux modernes pour des pathologies lourdes (cancer, maladie génétique, maladie auto-immune, vitiligo...). Elle peut néanmoins venir en soutien. Le progrès médical et les avancées scientifiques, dont des pays comme la France bénéficient, sont une chance que tout malade doit mettre à profit. (Gayet C., 2013).

1.2 Plantes médicinales

1.2.1 Définition

Selon L'OMS, "une plante médicinale est une plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique hémi-synthèse". Cette définition permet de distinguer entre les plantes médicinales déjà connues dont les propriétés thérapeutiques ou comme un précurseur de certaines molécules ont été scientifiquement établis, et d'autres plantes utilisées en médecine traditionnelle (Neffati et Sghaier., 2014). Ainsi que, l'action des plantes médicinales provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents. (SANOGO., 2006).

1.2.2 Modes de préparation et utilisation des plantes médicinales

Macération : La macération consiste à maintenir en contact la plante avec de l'eau potable à température ambiante pendant une durée de 30 minutes à 4 heures. Ce mode de préparation s'applique tout particulièrement aux plantes mucilagineuses (racines de guimauve ...). (Bensalek., 2018).

Teinture : On obtient une teinture à partir de poudres végétales sèches et son titre alcoolique varie selon le type de la drogue. Il peut être à 60° à 70° à 80° ou 90° (Bensalek, 2018).

Infusion : l'infusion est préparée en versant de l'eau bouillante sur une quantité spécifique de matière végétale, en laissant reposer la mixture pendant 10-15 minute. il s'agit d'une préparation semblable de thé, puis on filtre (Sofowora., 2010).

Sirop : les sirops sont des conservateurs efficaces qui peuvent être mélangés à des infusions et des décoctions pour donner des sirops et des cordiaux. Ils sont en outre des propriétés

Adoucissantes qui en font d'excellents remèdes pour soulager les maux de gorge. La saveur sucrée des sirops permet de masquer le mauvais goût de certaines plantes, de manière à ce que les enfants les absorbent plus volontiers. (Iserin., 2001).

Décoction : la décoction consiste à faire bouillir dans de l'eau les plantes séchées ou fraîches, préalablement coupées en petits morceaux. Pour extraire les principes actifs des racines, de l'écorce, des tiges et des baies, il faut généralement leur faire subir un traitement plus énergique qu'aux feuilles ou aux fleurs. On peut la consommer chaude ou froide. (Iserin., 2001).

Crèmes : On prépare une crème en associant de l'huile ou un autre corps gras à de l'eau, par un processus d'émulsion, les crèmes pénètrent dans l'épiderme, elles ont une action adoucissante, tout en laissant la peau respirer et transpirer naturellement. Cependant, elles se dégradent très rapidement et doivent donc être conservées à l'abri de la lumière, dans des pots hermétiques placés au réfrigérateur. (Iserin., 2001).

1.2.3 Principes actifs des plantes médicinales

Le principe actif est une molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal. Il est contenu dans une drogue végétale ou une préparation à base de drogue végétale. (Limonier., 2018).

2.3.1. Phénols

Les phénols sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. (Wichtl A., 2009).

2.3.2. Coumarines

Les coumarines sont des composés phénoliques constitués d'un benzène et des noyaux à pyrénes. Elles sont substituées en C-7 par un hydroxyle. Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. (Amari., 2014).

2.3.3. Tanins

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau et caractérisés par leur astringence. On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables ou tanins

condensés (**Ghestem et al., 2001**). Ils ont un effet anti diarrhéique ; ils sont vasoconstricteurs et limitent la perte en fluides. Ces propriétés, ajoutées par ailleurs à leur effet antiseptique, en font des molécules intéressantes pour la régénération des tissus en cas de blessures superficielles et les rendent utilisables dans le traitement des diarrhées infectieuses (**Bruneton., 1999**). Certains sont aussi antioxydants.

2.3.4. Flavonoïdes

Le terme flavonoïde vient du latin *flavus*, « signifiant jaune ». Les flavonoïdes donnent pigment jaune orangé et bleu aux fleurs donc ils sont responsables de la coloration de différentes parties de la plante (Zeghad., 2009). Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire, et de l'industrie pharmaceutique, comme certains flavonoïdes qui ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (**Verbios., 2015**).

2.3.5. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances organiques azotées d'origine végétale, toxiques et à caractère alcalin. La toxicité dans une plante est toujours signée par les alcaloïdes, car le corps ne métabolise pas l'Azote, il l'expulse immédiatement. Ainsi que, ce sont des principes amers, apéritifs, et qui ont une action directe sur le système nerveux (**Verbios, 2015**).

1.3 Huiles essentielles

1.3.1 Définition

Une huile essentielle est l'essence extraite de la plante aromatique par des différents procédés odorants, volatiles. Elles sont parmi les plus importants principes actifs des plantes et largement employées en parfumerie. Elles contenues dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoïde et possédant un noyau aromatique, obtenus à partir de matière première végétale. (**Kaloustian J., 2012**), (**ISERIN. P., 2001**), (**Fabienne M., 2013**). Les huiles essentielles obtenues par distillation ne représentent jamais exactement l'arôme et le parfum existants naturellement dans la plante (**BOUKHATHEM et al., 2019**)

1.3.2 Répartition et localisation

- Répartition

De point de vue physiologique, les plantes aromatiques synthétisent les HE dans des structures végétales très spécifiques. Ces structures sont de nature différente en fonction de la plante aromatique. (**Zizovic I, et al., 2007**) Les huiles essentielles peuvent être stockées dans

tous les organes végétaux: fleurs (ex: lavande ;menthe) aussi feuilles , les écorces (ex : cannelles), dans les racines ou rhizomes (ex: vétiver ,gingembre), les bois (ex : camphrier) , les fruits (ex : citrons) , les graines (ex : Muscade) et sont contenues dans des structure spécialisées à savoir : les poils , les canaux sécréteurs et les poches. Si dans tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une HE, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. **(Couic-Marinier F., 2013), (BELAICHE P., 1979)**

Localisation

Les huiles essentielles sont des sécrétions naturelles élaborées par le végétal et contenues dans les cellules ou parties de la plante comme celles des fleurs (rose), sommités fleuries (lavande), feuilles (citronnelle), écorces (cannelier), racines (iris), fruits (vanillier), bulbes (ail), rhizomes (gingembre) ou graines (muscade). Pour certaines huiles essentielles comme celles de lavande ou de sauge, c'est la plante entière qui est utilisée. Seules les parties sécrétrices ou les plus concentrées de la plante sont récoltées à la période de rendement optimum. **(Boukhatem et al., 2019)**

1.3.3 Propriétés physiques

Les huiles essentielles sont généralement liquides et volatiles à températures ambiantes. La volatilité dépendra de la composition chimique. Une huile essentielle riche en mono terpènes sera plus volatile qu'une huile essentielle riche en sesquiterpènes.

- Elles sont plus ou moins colorées. Elles peuvent être incolores lors de leur obtention (ou légèrement colorées) pour la majorité d'entre elles, et foncent au cours de conservation à l'air et à la lumière.
- Elles présentent une densité souvent inférieure à 1.
- Elles ont un indice de réfraction élevé et dévient souvent la lumière polarisée à cause de la présence de molécules énantiomères
- Elles sont en général solubles dans les solvants organiques courants (alcool éthylique ; hexane ...) et dans les matières grasses. Leurs solubilités dans l'eau est quasiment nulle (inférieure à 1%) ; elle dépendra de la présence de terpènes possédant des fonctions organiques polarisées. **(Kaloustian J., 2012)**

1.3.4 Techniques et méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites à partir des végétaux sont généralement présentes, à de très faibles rendements (l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles rares, mais toujours

précieuses. Il existe Plusieurs méthodes d'extraction ont été mises au point, telles que l'hydro distillation, l'entraînement à la vapeur. **(Xavier F., 2012), (Bouchekrit., 2018).**

L'hydro distillation

Selon la méthode de la pharmacopée européenne, l'hydrodistillation est réalisée dans un appareil de type Clevenger. **(Kaloustian J., 2012)**

Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées. Les végétaux sont introduits dans le ballon réacteur et immergés dans un bain d'eau, le tout est ensuite porté à l'ébullition,**(Bouhadouda. N., 2016).**Lors de la distillation, les vapeurs et d'huile essentielle se condensent dans le réfrigérant, L'hydrolat refroidi retourne dans le ballon.

La distillation se fait en continu, à la pression atmosphérique. Une plante fraîche conduit à un rendement en huile essentielle inférieur à celui correspondant à la plante séchée. Dans ce dernier cas, Le temps de hydrodistillation est variable, de l'ordre de 90 minutes à 4 heures, et même plus quelques fois **(Kaloustian J., 2012)** selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. **(Brian M.L., 1995)** Les conditions opératoires exactes pour chaque plante sont précisées dans les monographies de la pharmacopée. **(Kaloustian J., 2012).**

Entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles dans ce système d'extraction, le Matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis cependant, le contact direct des constituants de l'huile essentielle avec l'eau, des réactions chimiques conduisant à des changements dans la composition finale de l'extrait.

Les conditions opératoires et notamment, la durée de distillation ont une influence considérable sur le rendement et la composition de l'huile essentielle. C'est pourquoi sont Développés aujourd'hui, des modèles mathématiques qui permettent d'optimiser, au mieux, ces conditions afin de produire des huiles essentielles de manière reproductible, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique (HE). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le

parfum de l'huile essentielle obtenue est plus délicat et la distillation, régulières. **(Boukhathem et al., 2019)**

Extraction par micro-ondes

Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement la micro-onde (le méthanol) pour l'extraction des composés polaires, ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction des composés Apolaires. **(Elhaib A., 2011)** La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée L'emploi des micro-ondes constitue, par ailleurs, une méthode d'extraction à part entière en plein développement. L'abondance des composés oxygénés dans l'huile essentielle est liée au chauffage rapide des substances polaires avec les micro-ondes. Cette technique offre plusieurs avantages comme un temps d'extraction plus courts avec de bons rendements. **(Boukhathem et al., 2019)**

Extraction par un solvant organique

La technique générale a été développée précédemment où la plante est utilisée sous la forme divisée réduite en copeaux, ou en poudre dans le cas des plantes séchées. Le choix du solvant dépend des paramètres techniques ainsi que de sa toxicité.

Les solvants à bas point d'ébullition (éther de pétrole, hexane) sont souvent recommandés. Le benzène est un bon solvant, mais toxique. L'éthanol est souvent utilisé pour l'obtention d'absolues. Sa présence résiduaire dans les extraits de matières premières végétales est déconseillée pour l'application dans les produits cosmétiques. Mais également par la présence de solvant résiduaire dans l'extrait final, qu'il faudra forcément éliminer éviter, d'une part une odeur désagréable du produit final, et d'autre part à cause de sa toxicité, lorsque ce produit est destiné à la pharmacie ou à l'industrie agroalimentaire. **(Kaloustian J., 2012)**

Extraction par fluide à l'état supercritique

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et Si en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des fluide supercritique, sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques. En

plus de sa facilité d'obtention due à ses pressions et température critiques relativement basses, Le CO₂ est relativement non toxique, il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait. Présentant l'avantage d'être bien plus rapide que les méthodes traditionnelles. (Boukhathem et al., 2019)

1.3.5 Les activités biologiques des huiles essentielles

- Activités antimicrobiens

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales, et sont actuellement considérés comme des alternatives potentielles aux antibiotiques pour traiter diverses maladies infectieuses, et aux agents chimiques de conservation des denrées alimentaires et produits cosmétiques.

Les propriétés biologiques des plantes sont directement liées à la composition des huiles essentielles. Le nombre et la nature des molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle Sont variables. (Xavier F., 2012)

Les huiles essentielles agissent bien sur les bactéries à gram positif que sur les bactéries à gram négatif. La plupart des études portant sur l'action des huiles essentielles ont observé qu'elles sont généralement plus actives contre les bactéries à Gram positif.

Certaines bactéries, résistantes aux antibiotiques peuvent être inhibées par les huiles essentielles, comme c'est le cas des staphylocoques dorés résistants à la méthi-cilline et les entérocoques résistants à la vancomycine. (Xavier F., 2012)

Activités antifongiques

L'effet antifongique de vingt huile essentielle contre les moisissures les plus importantes en termes d'altération des produits de boulangerie (Xavier F., 2012)

Les principaux champignons pathogènes pour l'homme appartiennent au genre dermatophytes. Ces germes sont sensibles à de nombreuses huiles essentielles. Les constituants actifs sont les suivants : phénols monoterpéniques, aldéhydes aromatiques et monoterpéniques ; carbures sesquiterpéniques ; lactones sesquiterpéniques. (Fabienne M., 2013)

- Activités bactéricides

Les molécules aromatiques traversent les membranes biologiques. L'activité bactéricide se traduit par une perturbation du métabolisme cellulaire L'activité bactéricide de nombreuses

huiles essentielles a été testée sur : Salmonella enteritidis ; Escherichia coli ; Staphylococcus aureus. Cette activité est supérieure sur les germes Gram positif. **(Fabienne M., 2013)**

Activité bactériostatique

Elle est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité Bactéricide. Cependant il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides. Effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance. **(Kunle O et al., 2003), (Walsh S. E et al ., 2003)**

Activités anti-inflammatoire

Les huiles essentielles ont une place de choix dans le traitement de l'inflammation. Elles constituent une alternative au traitement proposé par la médecine conventionnelle. Les huiles essentielles sont utilisables pour tout type d'inflammation (générale, locale, cutanée). **(Fabienne M., 2013)**

Activité antivirale

Les huiles essentielles présentant des propriétés antivirales sont celles qui contiennent des phénols monoterpéniques; des alcools monoterpéniques ; des aldéhydes monoterpéniques ou aromatiques. Il a été démontré cliniquement que les cellules humaines saines devenaient plus résistantes à la pénétration virale, après un traitement avec des huiles essentielles. Lors d'infections virales les huiles es essentielles représentent une alternative thérapeutique sérieuse. De nombreuses huiles essentielles sont actives sur les virus. **(Fabienne M., 2013)**

1.3.6 Conservation des huiles essentielles

L'huile essentielle se conserve quelques années à l'abri de la chaleur et de la lumière. Des Bacons de verre teinté sont nécessaires à la bonne conservation des huiles essentielles. Si après un ou deux ans, on n'utilise plus les huiles essentielles en traitement interne, elles peuvent sans inconvénient alimenter les diffuseurs d'arômes. Portons une attention particulière aux huiles essentielles d'agrumes qui s'oxydent plus rapidement que les huiles essentielles de plantes aromatiques et dont la durée de vie est inférieure. **(Kaloustian J., 2012)**

1.3.7 Toxicité des essentielles

Toute huile essentielle ou essence présente de risques de toxicité pour un enfant. Il est donc essentiel de les maintenir hors de portée des enfants. Aucune huile essentielle ne doit donc être utilisée pendant les quatre premiers mois passé ce délai, un avis médical est impératif. Il est préférable d'éviter leur utilisation pendant toute la grossesse. (**Fabienne M., 2013**)

1.4 Hydrolat

1.4.1 Définition

La distillation à la vapeur d'eau des plantes aromatiques permet l'obtention des huiles essentielles et des hydrolats ou eaux florales. Ces derniers correspondent à la vapeur d'eau condensée. Les hydrolats sont les coproduits de distillation des huiles essentielles.

Le terme hydrolat doit être préféré à celui d'eau florale. Un hydrolat est un produit de la distillation, ce qui n'est pas toujours vrai pour une eau florale. Leur composition est différente de celle de l'huile essentielle obtenue simultanément mais beaucoup moins concentrée qu'une huile essentielle.

1.4.2 Composition

L'hydrolat est plus riche en principes actifs volatils que l'infusé de la même Plante. On retrouve toujours un faible pourcentage d'huile essentielle (0,2 à 2 % en moyenne)

Les hydrolats contiennent en petite quantité des composés volatils semblables à ceux présents dans l'huile essentielle ainsi que des composés solubles dans l'eau non retrouvés, La composition des hydrolats s'éloigne donc de celle des huiles : les molécules oxygénées hydrophiles s'y trouvent en grandes quantités. Dans l'huile Les hydrolats sont extrêmement sensibles aux développements des bactéries à cause de leur faible teneur en huile essentielle et à la présence de particules végétale.

1.4.3 Usage

Leur utilisation est très intéressante car la concentration en composés odorants est faible et ils sont solubles dans l'eau. Leur efficacité est réelle malgré la faible dilution. Ils sont très utilisés depuis siècles dans des préparations cosmétique thérapeutiques. Pour les soins des bébés et jeunes enfants, des personnes âgées ainsi que sur les muqueuses. Ils ne présentent

pas de toxicité. . (Bremness, (1996) ; l'afnor ISO 9235 :2014 (AFNOR 2014 ; Fabienne
., M., 2013 ; Price et *al.*, 2005 ; Mary .R., 2012)

2 Chapitre II : Etudes des plantes

2.1 Rosmarinus officinalis L.

2.1.1 Historique

Le *romarin* est considéré comme une herbe sacrée depuis des millénaires. Il était associé aux rites funéraires de l'ancienne Egypte par les embaumeurs, puis par les Athéniens et les Romains pour les funérailles et autres rites religieux. Il est également employé, dans l'alimentation, comme épice depuis fort longtemps. De plus, il est reconnu comme une des meilleures sources d'antioxydants d'origine naturelle. Il est aussi utilisé en médecine. C'est le médecin grec Dioscorides (1 après J-C) qui signale, le premier, quelques-unes de ses propriétés médicinales. Le romarin est employé en phytothérapie, officiellement reconnue depuis 1986, comme médecine à part entière par le ministère de la santé, pour ses propriétés stimulantes au niveau hépatique, son action spasmolytique sur les intestins et sur l'estomac, ainsi que son action sur les muscles lisses du système respiratoire (il calme la toux et contribue au confort de l'asthmatique). (Bebersac., 2001).

2.1.2 Classification Taxonomique

<u>Règne</u>	<u>Plantes</u>
Sous règne	<i>plantes vasculaire</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Sous classe	<i>Gamopetales</i>

Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>

Tableau 01 : Taxonomique de *Rosmarinus officinalis L.*

2.1.3 Description botanique du romarin

Le romarin fait également partie de la famille des *Lamiacées* ou *Labiées*. Il possède donc les mêmes caractéristiques morphologiques caractéristiques et communes à l'ensemble de cette famille. Le genre *Rosmarinus* est représenté par trois espèces différentes, mais *Rosmarinus officinalis L.* Est la principale. Ses caractères sont les suivants :

- arbuste toujours verts, de 60cm à 2m de haut et pouvant vivre jusqu'à 30ans.
- tige, à l'écorce grisâtre, écailleuse et fissurée, se divisant en rameaux opposés tortueux, nœud distancés de 0,5 à 2mm.
- feuilles opposées, coriaces, sessiles, linéaires, entières, de 1,5 à 4,5cm de long, aux bords enroulés vers le bas ; face supérieure vert sombre et glabre, face inférieure blanche, tomenteuse, parcourue par une nervure saillante, et portant poils articulés ramifiés et poils glandulaires fortement serrés,
- inflorescence spiciforme, à fleurs subsessiles, qui s'épanouissent toute l'année, calice gamosépale, poudré-blanchâtre, tube en forme de cloche, à 3 lobes, le plus large est la lèvre supérieure et les deux autres forment la lèvre inférieure,
- corolle gamopétale, tubuleuse, à 2 lèvres (la supérieure à 2 lobes en forme de casque, l'inférieure à 3 lobes, avec le médian plus large, concave), 2 étamines, et des anthères allongées uniloculaires,
- le fruit est un tétrakène, de couleur brune,

- Fleurs bleu pâle, lilas ou blanchâtres, maculées de petites taches violettes à l'intérieur.

Cette espèce très polymorphe, présente plusieurs variétés. Mais, à cette différenciation morphologique très aléatoire, nombreux botanistes préfèrent s'appuyer sur la composition chimique de l'huile essentielle pour lister quatre chémotypes, suivant le composé dominant : romarin à cinéole, romarin à verbénone, romarin à camphre, bornéol, et, parfois, romarin myrcène (Quezel., 1963).



Figure 01 : *Rosmarinus officinalis L*

2.1.4 Répartition géographique

En Algérie

En Algérie cette plante est bien apparente en différente région (Blida, Djelfa, M'sila...). En Blida elle est souvent cultivée comme plante d'ornement, est Retrouvée à l'état sauvage. Ses Caractéristiques morphologiques et physiologiques font d'elle une espèce bien adaptée aux conditions climatiques semi-aride et arides.

2.1.5 Activités biologique

Activité antibactérienne

Les effets des extraits aqueux et méthanolique du Romarin, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extra cellulaire de l'enzyme glucosyltransférase ont été étudiés par les résultats ont suggéré que les extraits du *Romarin* peuvent empêcher la lésion de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires par suppression de l'activité de la glucosyltransférase. (Tsai et al. 2007).

Afin de chercher de nouveaux antibiotiques et des agents antimicrobiens, une autre étude a été élaborée par examiner les effets antimicrobiens des extraits des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologiques. L'extrait obtenu par le dioxyde de carbone (CO₂) supercritique du Romarin, a présenté un large spectre antimicrobien. la croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait d'acide carnosique. (Weckesser et al., 2007).

Activité antifongique

La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du Romarin à une concentration de 450 ppm. Selon les résultats indiqués, le potentiel de cette huile essentielle en tant que conservatif naturel contre l'*Aspergillus parasiticus*. (Rasooli et al., 2008).

En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, ont évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du *Romarin*, les résultats ont montré que de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures examinées. (Sacchetti et al., 2005).

Activité antioxydante

L'activité antioxydante du Romarin est connue depuis environ 30 années. (Nassu et al., 2003).

En raison de ses propriétés anti-oxydantes, le *Romarin* est largement accepté en tant qu'épices dont l'activité antioxydante la plus élevée. Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du *Romarin* comme antioxydant pour conserver les produits à base de viande. (Wang et al., 2008).

Activité antivirale

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du *Romarin* a indiqué qu'il y a une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à la concentration très basse. Cependant, le carnosol a montré une activité (anti-HIV) à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique. (Aruoma, 1996).

Autres :

Le *romarin* est un cicatrisant des plaies et des brûlures. Et un excitant du cuir chevelu (arrête la chute des cheveux) (F. Piozzi, 1996). Et il est également utilisé comme antigoutteux.

2.1.6 Compositions chimiques :

La composition chimique de la plante dans son ensemble dépend du lieu de croissance et de récolte ainsi que du moment de la récolte dans le cycle végétatif.

L'huile essentielle

Le composé majoritaire de l'huile essentielle du *Romarin* varie d'une région à l'autre (tableau 01). On trouve le 1-8 cinéole, le camphre, le pinène, le linalol, le limonène.

Tableau02 : Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de *Romarin*. (MAKHLOUFI., 2019).

Composé majoritaire	%	Origine
α -pinène Camphri β -pinène	23.11 14.5 12.2	Algérie (Tlemcen)
α -pinène Linalol Pipéritone	14.9 14.9 23.7	Iran (Tehran)
α -pinène 1,8-cinéole	10.2 61.4	Turquie (Izmir)
α -pinène 1,8-cinéole Camphri	11.4 50.2 9.1	Maroc
α -pinène Limonène Camphri	13.5 21.7 21.6	Serbie (Vojvodina)

Acides phénoliques : Le *romarin* contient les acides phénoliques dont les plus importants sont : Acide rosmarinique (Hawa., 2013) acide vanillique, acide caféique et acide p-coumarique

Flavonoïdes: Les flavonoïdes qui ont été identifiés dans cette plante sont: genkwanine, cirsimarinéiocitrine, hespéridine, diosmine et lutéoline (**Madjour., 2014**).

2.1.7 Usage et toxicité

Usage culinaire

Le romarin à une saveur piquante et parfumée assez prononcée, l'utiliser à petites doses afin de ne pas masquer la saveur des aliments.

Il est très estimé dans le sud de la France et en Italie où on l'incorpore à une grande quantité de mets, telles les soupes, les farces, les sauces, les marinades. Il aromatise également les pâtes alimentaires, les ragouts, poissons, ...etc. (**Scimeca et Tetau., 2005**).

Il est signalé aussi que le *romarin* était également efficace pour retarder l'oxydation des lipides pendant le stockage des viandes (**Ricke et al., 2012**)

Usage médicinal

Le *romarin* est utilisé pour soulager les méfaits liés aux excès de boisson, stimule également l'appétit, bénéfique en cas de lourdeurs d'estomac et autres troubles digestifs. Ainsi son essence est un stimulant aromatique comme beaucoup de labiées, aussi un cholagogue, un cholérétique et un diurétique. Les flavonoïdes et l'acide rosmarinique jouent un rôle important dans son action. (**Lahsissen., 2009**).

Autres usages

Le *romarin* est utilisé aussi en parfumerie. Il sert d'élément de base dans la composition d'onguents, de savons et de champings. Leur huile essentielle est utilisée pour éloigner les moustiques frottée sur les champs.

Toxicité

À forte dose, le romarin est toxique, particulièrement pour les femmes enceintes.

2.2 Pistacia lentiscus L

2.2.1 Historique

Le nom *Pistacia* vient du Grec pistakê. *Lentiscus* vient du Latin lentus, qui signifie visqueux. Cet arbre est Appelé ainsi car il est cultivé pour sa résine aromatique, aussi connue sous le nom de mastic, principalement Sur l'île de Chios, île Grecque dans la mer Egée. Le mot mastic dérive du verbe Grec mastichein (« grincer Des dents », origine du mot mastiquer) ou massein (« mâcher »). Cette résine est aussi appelée “Larmes de Chios” de par sa forme. (Lakesis., 2016).

Le *lentisque* ou *pistachier* appartient à la famille des *Anacardiacees*. C'est un arbuste poussant dans les sites arides de la région méditerranéenne (Asie, Europe, Afrique). On l'appelle aussi arbre à mastic car sa sève est utilisée pour la réalisation d'une gomme à odeur prononcée. Son huile essentielle est obtenue par hydrodistillation et analysée par chromatographie en phase gazeuse. (Aouinti, F et al., 2010).

2.2.2 Classification taxonomique :

Tableau03 : Taxonomie de *Pistacia lentiscus L.*

<i>Règne</i>	<i>Végétal</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Spermaphytes</i>
<i>Sous embranchement</i>	<i>Angiospermes</i>
<i>Classe</i>	<i>Dicotylédones</i>
<i>Ordre</i>	<i>Sapindales</i>
<i>Famille</i>	<i>Anacardiaceae</i>
<i>Genre</i>	<i>Pistacia</i>
<i>Espèce</i>	<i>Pistacia lentiscus L</i>

2.2.2.1 Description botanique

Le *lentisque* (*Pistacia lentiscus L.*), appelé aussi *pistachier lentisque*, arbre à mastic, “Derou” ou “Tadist”, est en général un arbuste de 1 à 8 m de hauteur (Iauk et al., 1996).

Il appartient à la famille des *Anacardiacees*. Il se distingue des autres pistachiers par son feuillage persistant ; les feuilles de type composé sont paripennées, se terminant par une

paire de folioles, tandis que celles des autres pistachiers se terminent par une seule foliole. Elles sont caduques en hiver, vert pâles et plus grandes en général. Le rachis portant les folioles est ailé. Les fleurs sont apétales. Le fruit est une petite drupe arrondie d'environ 5 mm. D'abord rouge, elle devient ensuite noire ; la graine est identique aux pistachiers, mais beaucoup trop petite pour être consommée. L'inflorescence est une grappe composée, lâche et aussi longue que les Feuilles ; la floraison a lieu dès le mois de mars au mois de mai. (Benhammou N., 2007)

Pistacia Lentiscus est un arbuste à feuilles persistantes, avec des parties mâles et femelles, qui présente une forte odeur de résine, mesurant de 1 à 5 mètres. Il arrive à sa hauteur maximale à 40-50 ans. Dans les zones appropriées, qui lui permettent de pousser librement, il atteint souvent les 7 mètres de haut.

- **Les feuilles** sont alternées, tannées et en forme de plume, avec des pétioles ailés et cinq à six paires de petites feuilles vertes foncées.

Cet arbre a de très petites fleurs, la partie mâle avec cinq étamines (parties reproductives de la fleur) ; la partie femelle est divisée en trois lobes.

- **Le fruit**, qui est rarement présent, est un fruit charnu à noyau, de 4 mm de diamètre, d'abord rouge puis noir quand il mûrit.
- **Les tiges et le tronc** sont rougeâtres quand l'arbre est jeune, et deviennent gris quand l'arbre vieillit.
- **Le mastic** produit par cet arbre est une résine naturelle, transparente, en forme de larme, qui se développe seulement sur la zone la plus au Sud de l'île de Chios, en Grèce. Le mastic apporte un parfum léger et frais ressemblant à de la balsamine. (Lakesis., 2016).



Figure02 : arbuste de *lentisque pistachier*

2.2.3 Compositions chimiques

- **Les huiles essentielles**

L'huile essentielle représente 0,14- 0,17% du poids des feuilles de *Pistacia Lentiscus*. (Romani et al., 2002).

Il représente 0,2% du poids des fruits, les monoterpènes sont les composés caractéristiques de Cette huile. (Grant et al., 1990 ; Congiu et al., 2002).

La composition chimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est caractérisée par la présence de **Glycosides de flavonoles** comme la **quercétine**, **myricétine**, **luteoline** ainsi que **l'isoflavone Genisteine**. (Romani et al., 2002 ; Stocker et al., 2004 ; Vaya et Mahmood, 2006).

Cet arbre contient aussi **l'essence**, **tanin**, **masticine**, **acide mastique**, **monoterpènes** (55 à 82%) (Pinènes, myrcéne, limonène, etc.), **Sesquiterpènes** (10 à 15%). (Robert.C.1982).

Le mastic renferme 1 à 3% d'huile essentielle (riche en pinène); il est surtout constitué par une résine: ester d'un alcool tri terpénique et d'acides tri terpénique (l'acide masticodiéniquet et d'acide oléanolique). Il était réputé dans l'antiquité et s'agirait du premier masticatoire connu. Ce topique cutané est également antiseptique, ceci justifie son emploi comme **cicatrisant**, notamment pour les soins de plaies cutanées (Ait Youcef, 2006).

2.2.4 Activités biologiques

- **Activité antimicrobienne** : A travers l'investigation phytochimique et des tests d'activité antibactérienne conduits avec des extraits de feuilles et de jeunes rameaux, il apparait que

P. lentiscus L. est riche en métabolites secondaires. De son côté, l'huile essentielle et les différents extraits testés sont dotés d'une activité antibactérienne considérable.

L'étude ethnobotanique a permis de dévoiler le large éventail d'utilisation du feuillage de *P. lentiscus L.* dans le traitement de pathologies, notamment celles du tube digestif. Aussi, *P. lentiscus L.* est potentiellement important grâce à ses atouts en termes de biomasse, d'abondance sur le terrain, de richesse en métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes, Stéroïdes, triterpènes, et saponosides), d'effets antibactériens et de faible toxicité en rapport avec l'absence d'alcaloïdes et d'hétérosides cyanogénétique. (Bammo et Al., 2015).

- Les espèces de *Pistacia* sont utilisées dans le traitement de l'eczéma, de la paralysie, de la diarrhée, des infections de la gorge, calculs rénaux, asthme et maux d'estomac, et comme astringent, anti-inflammatoire, antibactérien, et antiviral. Enquête sur les espèces de *Pistacia* a également révélé que des extraits bruts, des huiles essentielles et certaines les constituants triterpénoïdes présentent des propriétés anti-inflammatoires, et antifongiques. (M.E. Duru et al., 2003).
- **Activité anti-inflammatoire** : les feuilles de *P. lentiscus* sont utilisées comme anti-inflammatoire, anti diarrhéique, antihypertenseur, antispasmodique, diurétique, insecticides et agents antistress en médecine traditionnelle.
- **Activité antioxydante** : *lentiscus* donne la résine, connue sous le nom de mastic la gomme, qui est utilisée comme antioxydant et anti-inflammatoire, par des incisions peu profondes de l'écorce ou du tronc. (BijenKıvçak et al., 2004).
- **Antiseptiques** : les feuilles, fruits, et les écorces de *Pistacia Lentiscus* ont des propriétés antiseptiques, ils sont utilisés en infusion. (Hamel T et al., 2018).

2.2.5 Usages et toxicité

- **Toxicité**

L'huile essentielle de *lentisque pistachier* peut être utilisée par la femme enceinte de plus de 5 Mois, ainsi que par les enfants de plus de 3 ans.

Ne pas utiliser l'huile essentielle de *lentisque pistachier* en cas de phlébite. Cette huile essentielle comporte plusieurs risques. Elle est notamment contre-indiquée aux Personnes asthmatiques et les épileptiques de doivent pas l'utiliser sans un avis médical. (Anonyme., 2022).

- **Usage**

Le *lentisque* est un arbre aux multiples usages : il est essentiellement exploité pour la résine qu'il secrète dans ses tiges, pour des feuilles, son bois, et ses fruits aussi pour des usages alimentaires, ou médicinaux.

La résine est traditionnellement utilisée comme masticatoire parfumé pour protéger les gencives et rafraîchir l'haleine.

Les fruits sont employés sous forme de préparation alimentaire. **(François de Lnfranchi et al., 2018).**

En médecine, le mastic est utilisé comme antidiarrhéique pour les enfants, antiscorbutique ainsi que sous forme de cataplasme ou pour faire des fumigations et pour le traitement dentaire pour l'occlusion des dents cariées. La margarine de ses fruits est efficace pour chasser les gaz de l'hémoglobine. Les feuilles sont utilisées comme anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique, antipyrétique, hépato protective, expectorante et cicatrisant. **(Djedaia., 2017).**

2.3 Marrubium vulgare

2.3.1 Historique

La saveur amère de la plante donne l'explication du nom. « *Marrube* », trouve Son origine dans le mot hébreu « *marrob* », « mar » signifiant amer et « rob » signifiant suc. Toutefois, selon d'autres auteurs, le nom latin *Marrubium* « *Marrubium* » serait dérivé de « *Maria urbs* », une ville antique Romaine.

Dans l'Égypte Ancienne, *Marrubium vulgare* était déjà reconnue pour ses propriétés Apaisantes contre la toux propriétés expectorantes. Le nom anglais de cette plante « *White Horehound* », est dérivé du Dieu Égyptien Horus, Et lui Donnaient le nom de « graine de Horus ». (Guet., 2011).

2.3.2 Classification Taxonomique

Tableau 04 : Taxonomie de *Marrubium vulgare* :(Judd et al., 2022)

Régne	Plantae
Embranchement	Angiosperme
Classe	Eudicotylédones
Sous classe	Gamopétale
Order	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Marrubium</i>
Espèce	<i>Marrubium vulgare</i> L

2.3.3 Description botanique

Le *marrube blanc* est une plante herbacée annuelle ou vivace (Acimovié et al., 2020)

Pouvant atteindre 30 à 80 cm de hauteur, à tige quadrangulaire cotonneuse. (Aouadhi S., 2010) À Feuilles petites en coin à la base, et portant quelque dents au sommet, corolle petite par rapport au calice tubuleux, celui-ci s'accroissant considérablement par sa partie supérieure en formant autour du fruit une auréole membraneuse (Ozenda., 2004).

Toute la plante dégage une odeur forte, sa saveur est âcre (qui irrite les organes du goût et de l'odorat) et amère (Aouadhi., 2010). Apparaissent du mois de Mai jusqu'au mois d'septembre, et parfois encore en hiver (Max et Dominique., 2007)

Les feuilles : pétiolées, ovales ou arrondies, à limbe crénelé sur les bords, sont blanchâtres et duveteuses sur la face inférieure. (Schlemmer V ,1996), Vert jaunâtre à la face supérieure. (Baba Aissa, 2011 ; Wichtl et Anton ,2003). Les feuilles du *marrube* ont un Mesurant 1,5-4 cm de longueur et 1-3,5 cm de largeur.

Tige : Les tiges du *marrube blanc* peuvent atteindre jusqu'à 50 cm de longueur et 7 mm de Largeur ; les jeunes tiges sont recouvertes d'abondants poils duveteux blanchâtres. (M.Rombi et R.Dominique, 2007)

Les fleurs: petites, sont blanches à pétales et sépale .le *marrube blanc* sont constituant de calice velu cotonneux, corolle constitué de deux lèvres couverte de petits poils à l'extérieur. (Wichtl et Anton, 2003, Bérenger et al. 1986). Elles s'épanouissent de la mi- Avril à la fin aout. (T. Cecchini et B.Ticli, 2008)

Fruit : Les fruits consistent en quatre akènes lisses et glabres murissent en automne ; tout comme les fleurs, ils dégagent un parfum intense, musqué, et ont une saveur amère. (T.Cecchini et B.Ticli, 2008)

Racine : La racine est simple, ligneuse, garnie de plusieurs fibres. (M.Ali.Youcef., 2006)



Figure03 : *Marrubium vulgare L*

2.3.4 Répartition géographique

En Algérie

Il existe sept espèces dont deux sont très fréquentes : *Marrubium vulgare* appelée *marrube blanc*, cette plante est commune dans tout l'Algérie, répandue au nord du pays, à l'est Algérien est appelée, «El marioua», (Zaabatet al. 2010). Et *Marrubium deserti* il est présent au Sahara. (GASTON. 1990).

2.3.5 Les composés chimiques

Dans la plante *Marrubium vulgare*, La partie aérienne du *Marrubium. Vulgare* contient plusieurs métabolites secondaires contient un principe amer (les marraines à 0.3%), de la choline (0.2 %), Un tanin (2.6 à 2.9%), des Hétérosides ; une cire Contenant des stérols, beaucoup de nitrates et de fer. (Mr Hyerisam., 2013). Et la présence d'une faible quantité d'huiles essentielles comportant différents composés monoterpéniques (moins de 1% soit l' α -pinène, le camphène, le lomonène) (Wichtl et Anton., 2003). On peut citer plusieurs types des flavonoïdes comme le : flavoniques du quercétol, la lutéoléine, l'apigénine, des lactoylflavones, quelques dérivés de l'acide ursolique.

- **Les diterpènes:** dont la marrubine responsable de la majorité des propriétés biologiques de *Marrubium vulgare* ; Plusieurs phénylpropanoïdes esters tels que les verbascosides. (Wichtl et Anton., 2003)
- **Tanins spécifiques :** des *Lamiacées* et dérivés de l'acide hydroxy cinnamique (juste à 7%), Acide chlorogénique, caféique, caféylquinique. (Wichtl M, Anton R., 2003)
- **Les lactones diterpéniques :** sont des dérivés des diterpènes (20 atomes de carbone) avec Une fonction lactone. La fonction lactone et caractérisée par la présence d'un ester Cyclique. Une lactone est donc un hétérocycle oxygéné, provenant de la lactonisation D'hydrocy-acides.
- **Les mucilages :** sont des polysaccharides c'est-à-dire des polymères de glucides ou Polyosides. (Guet., 2011).

Huile essentielle

L'huile essentielle de *Marrubium vulgare* est d'une odeur forte et fétide avec une saveur aromatique, amère et âcre ; Les parties utilisées pour extraire l'huile essentielle sont les feuilles et les sommités fleuries (T. Cyril., 2001). Les principaux constituants de l'huile essentielle de *Marrubium vulgare* : de différentes Régions de l'Algérie, les principaux constituants étaient, l' α -pinène (9,37%), phytol (4,87%), hydrosabina cétone (4,12%), piperitone (3,27%), δ -cadinène (3,13%), et benzaldéhyde (2,31%) (C. Santos et al., 2006)

2.3.6 Les activités biologiques

Activité antioxydante

La découverte a montré que les composés phénoliques de *M. vulgare* fournissaient une activité antioxydante substantielle. (M.Ahvazi et al., 2018). L'huile essentielle et l'extrait obtenu, à partir des parties aériennes de *Marrubium vulgare* se sont avérés avoir de fortes activités antioxydants.

D'après la littérature et selon certaines recherches actuelles Que l'activité antioxydante considérable de *Marrubium vulgare* est associée à la présence de marrubine, flavonoïdes ainsi que de composés phénoliques Exerçant un effet synergique, en plus un effet antioxydant, anti-inflammatoire important a été attribué à la marrubine (H.Said -Al Ahl et al ;2015),(M.Ahvazi et al ., 2018)

Activités antibactérienne

Il Existe une relation étroite entre les composés flavoniques et les activités antibactériennes. (Bijondiet al. 1993). L'extrait de *Marrubium vulgare* présente un effet antibactérien à la concentration de 50µg/ml dont le diamètre d'inhibition de 20 et 21 pour *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* Respectivement (Bouchenak, 2011).

Il a été montré que l'extrait à l'éthanol et l'huile essentielle de *Marrubium vulgare* avaient un effet inhibiteur contre la plupart des plaques d'isolats de *Staphylococcus aureus*.

L'huile essentielle de *Marrubium vulgare* inhibait la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif (*Listeria Monocytogene*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Agrobacterium tumefaciens* et *Salmonella enterica*), Il a été rapporté que les teneurs totales en phénols et flavonoïdes de cette plante ont une efficacité antibactérienne sur *Candida albicans* (levure). Une autre étude a montré que L'huile essentielle de *Marrubium vulgare* a été efficace sur les souches de *Klebsiella pneumonia* résistantes aux antibiotiques. (M.Ahvazi et al, 2018)

Activités anti-inflammatoires

Marrubium vulgare dans la médecine traditionnelle traitée pour l'inflammation grâce à la présence de marrubiine et de dérivés synthétiques (Stulzer, 2006).

Certaines études montrent que certains flavonoïdes tel l'apigénine sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes en inhibant ces enzymes (Maamri., 2008)

2.3.7 Usage et toxicité

2.3.7.1 Usage

Marrubium vulgare est largement très utilisé dans la médecine traditionnelle dans le monde entier pour traiter une variété de maladies (**yabrir, 2019**), usage interne, a un effet bénéfique en cas de rhume, de grippe. (**Lahsissene, 2009**). Qui est utilisé comme expectorant, antispasmodique, et en cas d'infections des voies respiratoires des bronchites, asthmes.

Est aurait une action hypoglycémiant, il est considéré comme antidiabétique Selon Les populations anciennes(. **Roman et al., 1992**).

Elle est aussi utilisée dans le traitement de la perte (manque) d'appétit, et apéritif et améliore Le fonctionnement de l'estomac. (**Iserin.P., 2001**), certains dès les utilisations traditionnelles de *Marrubium vulgare* telles que le traitement des maladies gastro-intestinales. (**M.Ahvazi et al., 2018**). Les vertus médicinales du *marrube blanc* sont connues et utilisées depuis

L'antiquité pour soigner la toux, Soigne aussi les troubles digestifs. (**Delille, L., 2007**)

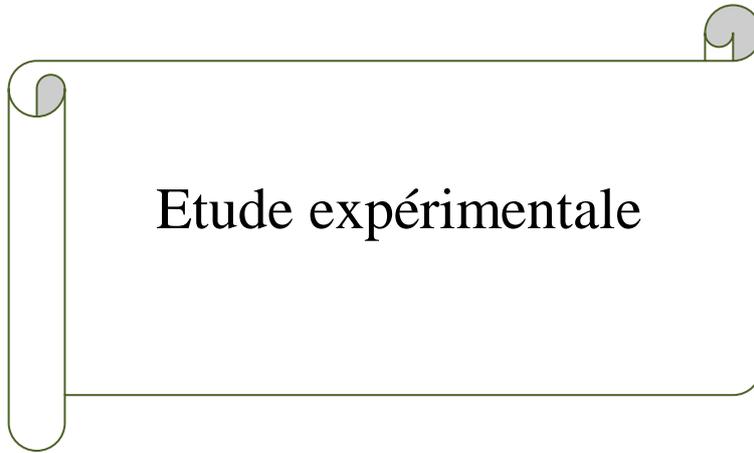
Il est aussi employé pour combattre la cellulite et l'obésité. (**Masoodi et al., 2008**)

L'huile essentielle du *marrube* est irritante pour la peau et les muqueuses. (**Ben Gueddeur., 2002**), Contre la fièvre et sur les abcès et furoncles crevé afin de les panser et les Cicatriser, La décoction de marrube soulage les gastralgies. Les feuilles de cette plante sont utilisées sous forme de cataplasme sur le front en cas de migraine. (**Tahriet al ., 2001**)

Est utilisée en cosmétologie traditionnelle pour sa richesse en saponines, la Décoction, en rinçage sur les cheveux. (**BeLakhdar., 1997**).

2.3.7.2 Toxicité

C'est une plante amère à caractère salin et ne peut donc pas être toléré s'il Ya une gastroentérite ou des situations de nausées, ou de vomissements ou encore en cas de dyspepsie. (**Aouadhi S., 2010**). On recommande généralement aux femmes enceintes d'éviter le marrube parce qu'elle stimulerait l'utérus et pourrait avoir une action abortive (**Weel et al ., 1999**).



Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Objectif

Le but de notre Projet de fin d'étude PFE consiste à la valorisation et l'exploitation de trois plantes médicinales algériennes ayant des vertus thérapeutiques intéressantes (*Lentisque pistachier*, *romarin officinale*, et *marrube blanc*), et l'extraction des HE à partir de ces trois plantes choisis.

Par la suite un screening phytochimique des poudres végétales qui vise à la recherche des principaux groupes chimiques contenues dans ces plantes a été fait, ensuite on a formulé une crème phytopharmaceutiques à des propriétés biologiques, et l'étude rhéologique de cette dernière.

On a finalisé notre travail par l'étude des activités biologiques : l'activité antibactérienne et antifongiques sur quelques souches référenciées, et l'activité cicatrisante sur les lapins.

Ce travail a été effectué au sein des laboratoires suivants :

- Laboratoire des plantes aromatiques et médicinales (PAM), département de Biotechnologie, Université Saad Dahleb Blida 1.
- Laboratoires de CRD chimie analytique, microbiologie et pharmacologie au groupe de Saidal, Gue de Constantine, Alger.
 - Station expérimentale, Université Saad Dahleb Blida 1.

2. Matériels

2.1. Matériel végétal

Nous avons choisi pour notre étude expérimentale trois espèces différentes de trois plantes médicinales (*Pistacia Lentiscus L*, *Romarin oficinalis L*, et *Marrubium vulgare*), nous avons utilisé la partie aérienne (feuilles et tiges) du *lentisque pistachier* et du *marrube blanc*, et les sommités fleuries de *romarin officinale*. (Tableau 5) et (Tableau 6)

Tableau 05 : Données relatives au matériel végétal utilisé

Espèce	Site de récolte	Date de récolte	Photos de plantes récoltées
<i>Romarin officinalis L</i>	Soumaâ, wilaya de Blida	16 Avril 2022	
<i>Pistacia Lentiscus L</i>	Ait Sâadallah, ziama, wilaya de Jijel	Début mai 2022	
<i>Marrubium vulgare</i>	Boufarik, wilaya de Blida	à la fin du mois d'Avril 2022	

Tableau 06 : Présentation des régions d'étude

<i>Rosmarinus officinalis</i>	<p>Le matériel végétal provient de la région de soumaa. La commune de soumaa est située au centre de la wilaya de Blida, à environ 8km au nord-est de Blida et a environ 44 km au sud-ouest d'Alger et a environ 35 km au nord-est de Médéa.</p> <p>Elle s'étend sur une superficie de 1350 km². Elle est située à une altitude de 151 m. Les coordonnées géographiques de cette région sont 36°31'06 "N et 2°54'19"E.</p>
<i>Marrubium vulgare</i>	<p>Les échantillons des plantes ont été récoltés à partir d'un site de la daïra de Boufarik, elle situé ou nord de la wilaya de Blida. Son chef – lieu est situé à 35 km au sud – ouest d'Alger et à 13 km au nord – est de Blida, située au centre de la plaine de la Mitidja. Boufarik est située 36° 34' 00 "nord nord, 2° 55 '00" est sur une altitude d'environ 63m Avec une superficie de 50,94km². Avec un climat méditerranéen et été chaud.</p>
<i>Pistacia lentiscus</i>	<p>La plante a été récoltée dans les montagnes d'AIT-SAAD ALLAH de la commune de Ziama mansoriah, qui se situe en petite Kabylie à environs 40 km à sud-ouest de Jijel, sur la côte méditerranéenne. Elle s'étend sur une superficielle de 102,31km², à des coordonnées géographiques de 36° 40' 25" nord, 5° 28' 52" est.</p>

2.2. Matériel animal

Les animaux utilisés étaient achetés de l'Institut Technique des Elevages (ITELV) à Baba Ali. Les lapins étaient de couleur blanche et yeux rouges (mâles et femelles), de la race Néozélandaise de poids moyen 1,75Kg ± 1,85Kg. De telle sorte qu'on les traite séparément dans des cages, chaque cage ou lot contient 2 femelles et 1 male. (Figure 4)



Figure04 : lapins Néo-zélandais

Ils ont été maintenus dans des conditions standard de température et d'humidité relative et de 12 h / 12 h de cycle lumière / obscurité, et nourris avec un régime alimentaire standard en granulés (100g/J pour chaque lapin), et de l'eau.

Le nettoyage des cages se fait quotidiennement.

2.3. Matériel de laboratoire

2.3.1. Verreries et appareillage

- Balance de précision
- Plaque chauffante
- Mélangeur
- Barreau aimanté
- Éprouvette graduée de 100ML
- Tubes à essai + support
- Entonnoir
- Pipettes
- Pipettes pasteur
- Spatule
- Agitateur magnétique

- Appareil d'extraction de type Clevenger
- Rotavapeur
- Appareil de Soxhlet
- Boîtes pétri
- pH mètre
- Béchers
- Erlenmeyer
- Papier filtre
- Papier aluminium
- Dispresseur

2.3.2. Réactifs de laboratoire

- Ethanol
- Eau distillée
- Ammoniaque ½ (NH₄OH)
- Propanol (C₃H₈O)
- Acide chlorhydrique 1/1 (HCl)
- Solution de FeCl₃ à 5%
- Réactif de Stisany
- Acétate de sodium
- Acétate de plomb
- H₂SO₄
- HCL
- Copeau de Mg
- Alcool isoamylique
- Produits de formulation de la crème

3. Méthode

3.1. Récolte et séchage des plantes

Nous avons d'abord fait la cueillette de nos trois plantes (parties aériennes de lentisque pistachier et de marrube blanc, et les sommités fleuries de romarin officinale).

Le matériel végétal récolté a été nettoyé et séché à l'air libre et à l'abri de la lumière du soleil, à une température ambiante jusqu'au séchage complet.



Figure 05 : Feuilles et rameaux séchés du *lentisque pistachier*



Figure 06 : Sommités fleuries séchées de *romarin officinal*



Figure 07 : Feuilles et tiges séchées de *marrube blanc*

3.2. Extraction des huiles essentielles

3.2.1. Extraction de type Clevenger

L'huile essentielle des trois plantes est extraite par la méthode d'hydro distillation de la méthode de Clevenger, qui est la procédure de distillation de référence. (Figure 8)

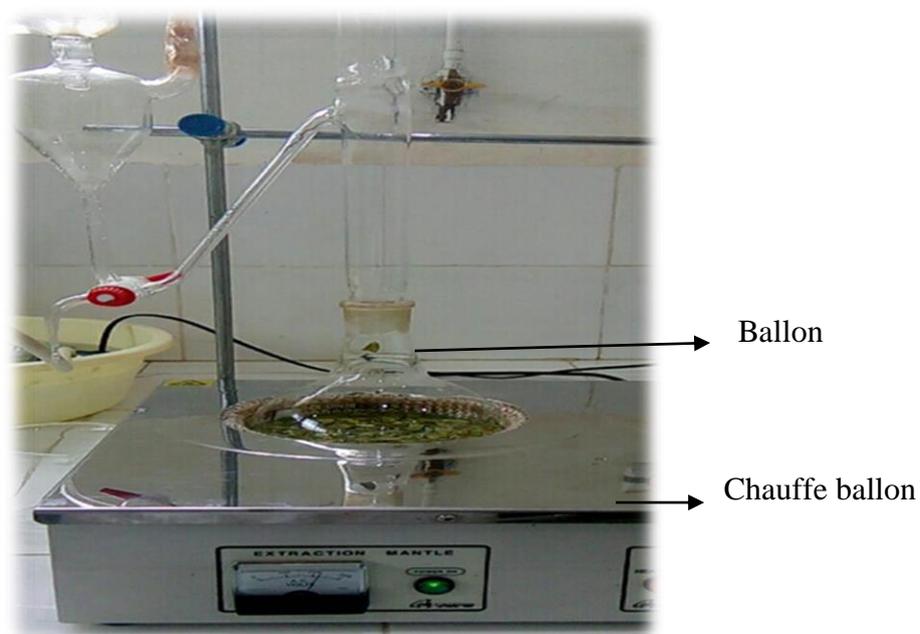


Figure 08 : Hydrodistillateur de type Clevenger

3.2.2 Méthode d'Hydrodistillation de type Clevenger

Il consiste à mettre de l'eau distillée et la matière végétale séchée dans un chauffe ballon en verre pyrex, après l'ébullition de l'eau, la vapeur remonte dans une colonne, cette vapeur est après dirigée vers un condensateur, et on aura l'accumulation de liquide (hydrolats, HE) dans une burette graduée.

L'opération consiste à introduire 100g de masse végétale séchées coupées finement dans un ballon en verre pyrex de 1000 ml, en 500mL d'eau distillée, l'opération de l'extraction est réalisée en deux heures à partir de temps d'ébullition pour les trois plantes.

L'opération a été répétée trois fois.

Les huiles essentielles obtenues ont été récupéré dans des épendorfs de 1,5mL, bien scellés et enveloppés dans le para film et le papier aluminium, et gardé au réfrigérateur à 4°C et à l'abri de la lumière.

3.2.3. Détermination de rendement

Le rendement est le rapport de la quantité d'huile recueillie après distillation sur la quantité de la biomasse, exprimé en pourcentage. Les quantités d'huile essentielle proviennent du cumul suivre l'effet de séchage sur le rendement d'extraction.

R : Rendement en HE en (%)

Mhe : Masse de l'huile essentielle en gramme

Mvs : Masse végétale sèche en gramme

$$R = \frac{Mhe}{Mvs} \times 100$$

Selon Linden et Lorient (1994), les propriétés organoleptiques des huiles essentielles c'est l'étude de l'aspect, de l'odeur, et de la couleur.

3.2.4. Méthode d'extraction par Soxhlet

L'extracteur de Soxhlet est un appareil spécifique conçu pour l'extraction continue solide liquide (Figure 9). Le solvant est porté à ébullition. Ensuite, il est condensé avec le condenseur, contenant le solide à extraire dans une cartouche de papier filtre. Le contact entre le produit et le solvant à extraire dure pendant l'accumulation du solvant dans le réservoir, quand il atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Ce cycle peut être répété plusieurs fois. (William., 2007)

• Protocole d'Extraction par soxhlet de *Marrube blanc*

On introduit 30 grammes de matière sèche de feuilles de *marrube blanc* dans une cartouche en papier filtre, cette dernière sera placée dans le Soxhlet surmonté d'un réfrigérant, en premier lieu, verser 300 ml d'éthanol (100%) dans le ballon de 500 ml et porté à l'ébullition dans (,78 ; 30°). Ouvrir le robinet d'eau passant par réfrigérant pendant trois heures.



Figure 09 : Extracteur de soxhlet

Les extraits obtenus ont été évaporés sous pression réduite en utilisant un évaporateur rotatif. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant (éthanol) à température réduite, (44°), évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide. (Figure 10)



Figure 10 : Montage d'évaporateur rotatif

- **Détermination de rendement de l'extraction par Soxhlet**

Le rendement de l'extrait brut éthanolique a été quantifié selon la formule

$$R\% = \text{PEB}/\text{PMV} \times 100$$

R : rendement

PEB : poids de l'extrait brut éthanolique (g).

PMV : poids de matière végétale (g)

3.3. Screening phytochimique

Le screening photochimique est une méthode de laboratoire qui aide à mettre en évidence la présence, ou l'absence des groupes de familles chimiques dans une drogue végétale. . Selon la méthode traditionnelle décrite par **Bruneton J, (1999) ; Evans WC, (2002)**, légèrement modifié.

C'est une technique qui aide à déterminer les molécules actives dans les plantes (Alcaloïdes, Flavonoïdes, Saponines, Terpènes, Polyphénols...), en utilisant des réactions de coloration, et des techniques de CCM.

a- Préparation des échantillons

Les échantillons (les trois plantes récoltées) sont rincés et séchés à l'air libre à l'abri de la lumière, et broyées à l'aide d'un broyeur.



Figure09 : Poudres végétales des trois plantes

b- Préparation des extraits

On prépare l'infusé des 3 poudres végétales

- On chauffe 50ml d'eau distillée jusqu'à ébullition, puis on rajoute 5g de poudre végétale et on laisse infuser pendant 30min, on filtre à l'aide d'un papier filtre pour récupérer l'infusé. On prépare l'infusé pour les trois poudres végétales des trois plantes de la même façon.
- On commence les réactions :
- ✓ **Identification des tanins** : dans un tube à essai, on rajoute à 5ml d'infusé rajouter quelques gouttes d'une solution de $FeCl_3$ à 5.

La réaction donne une coloration bleue noire en présence des tanins.

- ✓ **Identification des tanins galliques** : à 5ml d'infusé on rajoute 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl₃.
La réaction donne une coloration bleue foncé en présence des tanins galliques.
- ✓ **Identification des tanins catéchétiques** : 15ml d'infusé sont additionnés à 7ml de réactif de Stisany.
La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchétiques.
- ✓ **Identification des saponosides** : à 2ml d'infusé on rajoute quelques gouttes d'acétate de plomb.
La formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides.
- ✓ **Identification des flavonoïdes** : à 5ml d'infusé on additionne 5ml d'HCL, un copeau de Mg, et 1ml d'alcool isoamylique, cette réaction se fait sous la haute et par précaution.
La réaction donne une coloration rouge orangé en présence des flavonoïdes.
- ✓ **Identification des glucosides** : à 2g de poudre végétale on rajoute quelques gouttes de H₂SO₄.
La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.
- ✓ **Identification des anthocyanes** : sous la haute et par précaution, on rajoute quelques gouttes d'ammoniaque ½ à 5ml d'infusé.
La réaction donne une coloration bleue en présence des anthocyanes.
- ✓ **Identification des leucoanthocyanes** : 2g de poudre végétale dans 20ml d'un mélange de propanol /Acide chlorhydrique (1/1).
Une coloration rouge se développe en présence des leuco anthocyanes.

3.5. Formulation d'une crème phytopharmaceutique

Produits utilisés

Principe actifs : des huiles essentielles qui ont été ramenés par notre promotrice

Excipients : ont été achetés chez un fournisseur privé.

3.5.1. Procédé de formulation de la crème

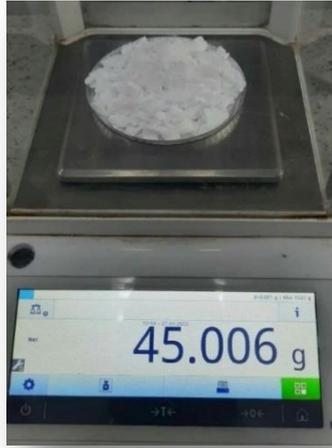
Tableau 07 : les substances de la formule de la crème et leurs rôles

Formule pour 100g	Le rôle des composés
5g alcool cetylique	Facteur de consistance (FC)
5g alcool stearylique	FC
2g acide stéarique	FC
40g huile de vaseline	FC
2g emulgin B2	Tension actif
2g glycérol	Humectant
0,5g gomme xantaine	Gélifiant
Eau distillée	Véhicule
Benzoate de sodium	Conservateur
0,9g HE	Principe actif

1. Préparation des produits sur la paillasse.
2. On pèse les produits pour une formulation de 900g, à l'aide d'une balance de précision.
3. Dans un bêcher, on mélange les produits de la phase huileuse (alcool cetylique, alcool Stearylique, acide stéarique, vaseline, emulgin B2), puis on les laisse sur la plaque chauffante à 80°C jusqu'à dissolution complète de tous les produits (**figure11**)



(a)



(b)



(c)

-
4. Dans un 2eme b cher, on mélange les produits de la phase aqueuse (eau distillée, glycérol, gomme xantaine, conservateur), puis on met le b cher sous agitation magnétique et sur la plaque chauffante.
- On a réglé le ph de l'eau distillée à 4,8 on ajoutant de l'HCL, pour qu'il soit compatible avec le ph de la peau (4-5)

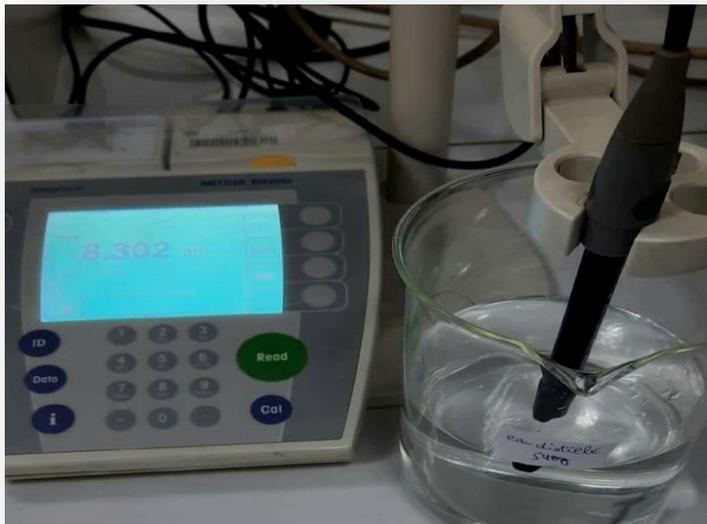


Figure 11 : la mesure de PH de l'eau distillée à l'aide d'un pH mètre.

5. Après la fusion et le mélange des deux phases, on vérifie la température des deux (il faut avoir la même T° : 50°C pour notre préparation).
6. Dans un bûcher de 1kg, on met la phase aqueuse, puis on ajoute la phase huileuse (émulsion directe), et on mélange bien à l'aide d'un mélangeur, jusqu'à l'obtention d'une crème.
7. On divise la crème sur 3 bûcher, chaque bûcher contient 300g de crème.
8. On prépare le principe actif : on fait dissoudre l'HE de *lentisque*, et l'HE de *romarin* dans l'huile de vaseline dans des tubes à essai, et on mélange dans un 3eme tube HE de *lentisque*+ HE de *romarin*.



Figure12 : dissolution du principe actif dans l'huile de vaseline

9. On ajoute le principe actif et on mélange avec un disperseur, on ajoute un émoullient pour donner un effet glissant à notre formulation.



Figure 13 : disperseur

10. On met la crème dans des tubes de 20g.

3.5.2. Etude macroscopique

C'est l'étude de la couleur, l'homogénéité, la consistance, et l'odeur de notre formulation.

3.5.3. Etude physicochimique de la crème

- **Détermination des propriétés rhéologiques**

La rhéologie est l'étude de l'écoulement et de la déformation des fluides non idéaux. Les expériences d'étude de l'écoulement et de la viscoélasticité des échantillons permettent de relier leur composition l'étude sensorielle du cosméticien L'échantillon, dans l'entrefer du système de mesure du rhéomètre, subit des perturbations mécaniques circulaires imposées par la rotation du mobile: il est cisailé Ce cisaillement est caractérisé par un gradient de vitesse (s^{-1}) et une force (ou contrainte) (Pa) qui est fonction de sa nature intrinsèque et de sa consistance ou plutôt de sa viscosité (Pas). Si la contrainte est imposée par l'appareil, le gradient de vitesse est mesuré et inversement. L'augmentation de la force ou de la vitesse de ce cisaillement provoque l'écoulement de l'échantillon, c'est-à-dire la diminution de sa viscosité pour la plupart des formulations cosmétiques ; c'est le caractère rhéofluidifiant des échantillons non newtoniens (**Reeve., et Amigoni. (2008).**)



Figure 15 : Appareil de rhéomètre

II. Activités biologiques

1. Étude de l'activité antimicrobienne : *in vitro*

Le principe utilisé est celui de la **Pharmacopée Européenne (2002)**.

Notre travail sur cette partie consiste à étudier la sensibilité des germes aux huiles essentielles de *Romarin officinalis* et *Lentisque pistachier*, et l'hydrolat de *Marrube blanc*, et mettre en évidence le pouvoir antibactérien et antifongiques de ces derniers sur 4 souches bactériennes (2 Gram positif et 2 Gram négatif) et 2 souches fongiques par la méthode d'aromatogramme (Tableau 11).

Mode opératoire

1-Détermination de l'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne :

1.1. Préparation de l'inoculum

La préparation de l'inoculum est récapitulée dans le tableau 09

Tableau 09 : l'évaluation qualitative de l'activité

Pour les bactéries	Pour les levures
<ul style="list-style-type: none">- A partir d'une culture jeune de 18h, réaliser des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques, et les mettre dans 05 ml d'eau physiologiques stériles- Agiter au vortex pendant quelques secondes- Réaliser une lecture de la transmittance avec le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620nm et qui doit être entre (22% -32%), ce qui correspond à une concentration de 10^7 -10^8 germes /ml.	<ul style="list-style-type: none">- A partir d'une culture jeune de 48h, réaliser des suspensions en prélevant colonies bien isolées et identiques, et les mettre dans 05 ml physiologiques stériles- Agiter au vortex pendant quelques secondes- Réaliser une lecture de la transmittance avec le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm et qui doit être entre (2%-3%) ce qui correspond à une Concentration de 10^7 -10^8 germes /ml.

NB : si la valeur obtenue de la première lecture pour les bactéries et les levures n'est Pas comprises dans les intervalles voulus, les concentrations doivent être Ajustées en ajoutant soit l'eau physiologique ou les colonies, et l'inoculum doit être utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

1.2. Examen de l'échantillon

- Préparation de la 1ere couche du milieu :

Faire fondre le milieu gélosé Muller-Hinton et le sabouraud dans un bain-marie à 95°C Verser aseptiquement une 1ère couche dans les boites de Pétri à raison de 15ml par boite avec 03 répétitions par souches - Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse

- Préparation de la 2eme couche du milieu :

- Faire fondre le milieu gélosé Mueller-Hinton et le sabouraud dans un bain-marie à 95°C
- Baisser la température jusqu'à 45°C
- Remplir des flacons en verres stériles avec 50ml de Muller-Hinton pour les bactéries, et avec 50ml de Sabouraud pour les levures pour chacune des souches. Ensemencer les milieux de culture avec 200µl de chaque suspension
- Agiter manuellement les flacons Transvaser rapidement 4ml de chaque milieu inoculé en 2eme couche sur la surface des boites contenant déjà la 1ère couche de gélose.
- Étaler rapidement en faisant pivoter la boite sur elle-même pour avoir une surface uniforme
- Laisser solidifier sur la paillasse

1.3. Dépôts des disques

A l'aide d'une pince stérile, prélever un disque stérile, l'imbiber avec l'huile ou l'extrait naturel de plante, en mettant seulement en contact avec le bout du disque celui-ci va absorber progressivement jusqu'à imprégnation totale du disque.

Remarque : cette évaluation pourrait être utilisé pour des préparations finales à partir des huiles essentielles et extraits naturelles de plantes, mais en utilisant les solvants adéquats afin d'obtenir des solutions permettant une bonne diffusion sur la gélose

1.4. Expression des résultats

L'évaluation qualitative des huiles essentielles et extraits naturels de plantes est exprimée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues après incubations pour chaque souche microbienne à l'aide d'un pied à coulisse. Ils sont classés en 4 classes (Ponce et al., 2003).

Tableau10 : Degré de sensibilité des souches microbiennes selon le diamètre de la zone d'inhibition.

Degré de sensibilité des souches	Diamètre (D) de la zone d'inhibition (mm)
Souche résistante ou non sensible	D < 8
Souche sensible	9 ≤ D ≤ 14
Souche très sensible	15 ≤ D ≤ 19
Souche extrêmement sensible	D Plus 20

Tableau11 : souches microbiennes testées et leurs références

Microorganismes testés	Gram	Souches	Référence
Bactéries	Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538
		<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
	Gram-	<i>Escherichia coli</i>	ATCC8739
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC9027
Champignon (Levure)		<i>Candida albicans</i>	ATCC10231
		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 9763

2. Activité cicatrisante : *in vivo*
 Cette expérimentation à pour le but d'évaluer l'activité cicatrisante

des crèmes formulées à base des huiles essentielles extraites sur des lapins Albinos de la race Néo-zélandais.

➤ Répartition des lots et des traitements appliqués

Les lapins ont été laissés pour une semaine d'adaptation dans des lots.

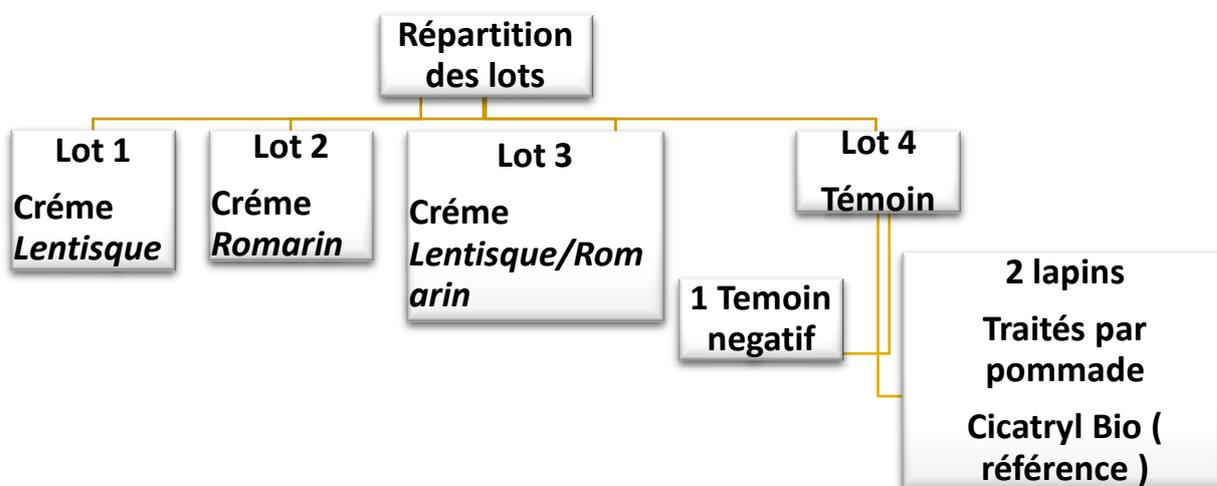
A J0 le jour de l'opération, les lapins ont été pesés à l'aide d'une balance ordinaire et ils ont été répartis en 4 lots comme suit :

Lot 1 : Lapins traités par la crème à base de l'huile essentielle de *Lentisque*

Lot 2 : Lapins traités par la crème à base de l'huile essentielle de *Romarin*

Lot 3 : Lapins traités par la crème à base des deux huiles (*Romarin* et *Lentisque*)

Lot 4 : 2 lapins reçoit le traitement de référence crème **Cicatryl Bio**, et un lapin témoin



négatif ne reçoit aucun traitement.

- ❖ La crème de référence **Cicatryl Bio** est un médicament commercialisé sous forme de sachets uni-dose de 2g, il a été acheté d'une pharmacie privée, utilisé pour le soin complémentaire des peaux abimées par des agressions extérieures : plaies, brûlures ou par des traitements physique (laser, radiothérapie).

➤ Mode opératoire

Au jour 0 après la pesé des lapins, sur une paillace bien nettoyée les lapins été rasés sur le dos par un rasoir, après le rasage des lapins les zones rasées ont été désinfectés par la solution

Polyvidone iodée 10% (BETADERM) à l'aide du coton. Après cela, 4 plaies de 1cm³ ont été faites sur le dos de chaque lapin à l'aide d'une lame de bistouri.

➤ **Application de traitement et suivi de la cicatrisation**

Après la réalisation des plaies, on a appliqué le traitement d'une dose de **0,5g** pour chaque lapin, chaque lot reçoit son traitement indiqué et un lapin ne reçoit aucun traitement.

Les crèmes ont été appliquées par voie topique une fois par jour après la désinfestation de la plaie par l'Alcool 95%, jusqu'à l'épithélialisation complète des plaies.

La suivie des étapes de la cicatrisation des plaies, l'épithélialisation de la peau, la repousse du poil et l'évaluation clinique des lapins ont été faites chaque jour en observant les signes clinique de chaque lapin et de chaque lot : appétit, changement de comportement, signes de douleurs, l'état des fèces (solides, liquides, présence du sang...), plus à l'indication de la présence/absence de mortalité.

Chapitre II : Résultats et Discussion

1. Résultats de l'extraction

1.1. Rendement de l'extraction Clevenger

Le rendement d'extraction a été calculé pour les trois plantes (*Pistacia lentiscus*L, *Rosmarinus officinalis*, et *Marrubium vulgare*). Les résultats sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Résultats de rendement de l'extraction des trois plantes (%)

Plante	Organe	Rendement %
<i>Pistacia lentiscus</i> L	Feuilles et tiges	0,17%
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Sommités fleuries	0.2%
<i>Marrubium vulgare</i>	Feuilles	Des traces

Interprétations des résultats

- On a obtenu un rendement de l'huile essentielle de *Lentisque* de 0,17% ce qui est en accord avec le rendement qui a été obtenue par Amhamdi et al qui est de 0,11%.
- Le rendement en huile essentielle de *romarin* obtenu par l'hydrodistillation est de l'ordre de 0.2%. Les rendements obtenus concordent avec ceux cités par **El guidour, (2003)**, qui mentionne des taux variant entre 0.1 et 0.4%. Cependant **Guy, (2005)**, indique des taux supérieurs 0.5 et 0.6%.
- Le rendement en huile essentielle varie beaucoup avec la plante utilisé. *Marrubium vulgare* ne renferme que des traces d'huile essentielle. Par ailleurs, **Koen et al., (1999)** rapportent que le *Marrubium vulgare* accumule de faible quantité d'huile essentielle ainsi que des teneurs faibles de leurs constituants. Les Résultats obtenus compares aux travaux menés par **Hamdaoui et al., (2014)** qui mentionne un rendement de 0,02% et **belhattab et al ., (2006)** 0.05%. Qui est supérieur Pa rapport à celui de résultat obtenu.
- Certains auteurs indiquent que la qualité et la quantité des huiles essentielles sont influencées par des facteurs environnementaux spécifiques, comme la température, l'humidité relative, et la durée d'extraction... (**Garnero, 1991 ; Burneto, 1993; Bureton, 1999**). Plus aux conditions et méthode de séchage, le temps et la région de la récolte.
- **Rendement de l'extrait éthanolique obtenu par le soxhlet**

La préparation de l'extrait brute éthanolique de feuille Végétale du *Marrube blanc* a donné un rendement de L'ordre de **30g** ce qui correspond à un pourcentage de **30 %**. Les résultats obtenus comparés aux travaux de (**Boutelis., 2013**) montrent un rendement de l'extrait méthanolique 24.34%. Le rendement de 39.2% de l'extrait méthanolique a été obtenu à partir de la partie aérienne de la même espèce lors d'une étude faite par **kanyonga et al., 2011**) C'est un pourcentage nettement supérieur à celui obtenu dans notre cas. Les teneurs en extrait secs non seulement d'une plante de même espèce et d'une plante à une autre, de la même famille mais également en Fonction des paramètres de l'extraction solide – liquide , le solvant d'extraction , la Taille des particules et le coefficient de diffusion de solvant.(**Boutelis et al 2013**). La méthode soxhlet permet d'accélérer le processus d'extraction et d'obtenir un bon rendement d'extraction de polyphénols. (**Boutelis., 2013**)

1.2. Caractéristiques Organoleptiques des HE et Hydrolat

Les résultats de l'étude macroscopique des caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles et hydrolat et l'extrait de soxhlet sont montrés dans le tableau suivant :

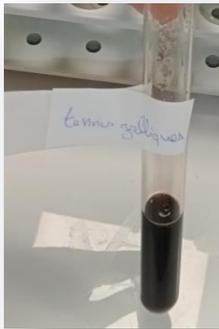
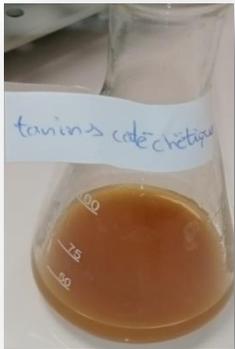
Tableau 13 : caractéristiques organoleptiques des HE, hydrolat et extrait obtenu.

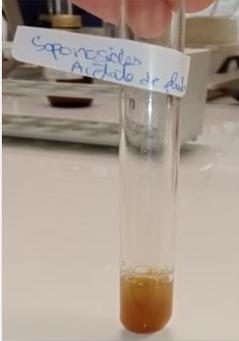
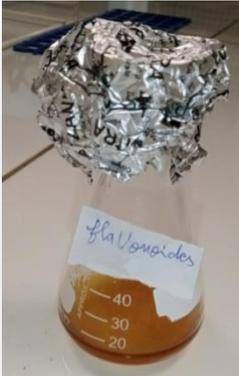
	L'odeur	La couleur	Aspect	Figure
HE de <i>romarin</i>	Forte	Transparente	Solution limpide huileuse	

HE de <i>lentisque</i>	Très forte	Vert claire	Solution limpide huileuse	
Hydrolat de <i>marrube blanc</i>	Forte	Transparente	Solution aqueuse	
Extrait sec de <i>Marrube blanc</i>	Forte	Vert foncée	Extrait sec	

2. Résultats du screening phytochimique

Tableau 14 : Résultats des tests d'identification des composés chimiques de l'infusé de *Rosmarinus officinalis L.*

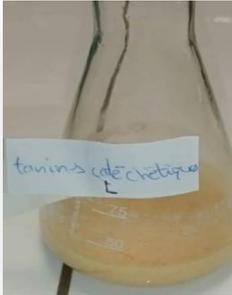
Teste	Remarque	Résultats	Photos prises des résultats
Identification des tanins	Une coloration bleue noire	+++	
Identification des tanins galliques	Une coloration bleue foncée	+++	
Identification des tanins catéchétiques	Une coloration rouge	-	

<p>Identification des saponosides</p>	<p>Un précipité blanc</p>	<p>+++</p>	
<p>Identification des flavonoïdes</p>	<p>Une coloration rouge orangé</p>	<p>+</p>	
<p>Identification des glucosides</p>	<p>Une coloration rouge brique</p>	<p>+++</p>	
<p>Identification des anthocyanes</p>	<p>Une coloration bleue</p>	<p>+++</p>	

Identification des leuco anthocyanes	Une coloration rouge	-	
--------------------------------------	----------------------	---	---

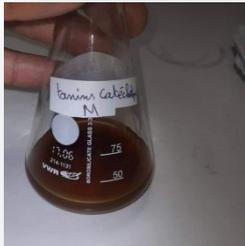
Tableau 15 : Résultats des tests d'identification des composés chimiques de l'infusé de *Pistacia lentiscus L*

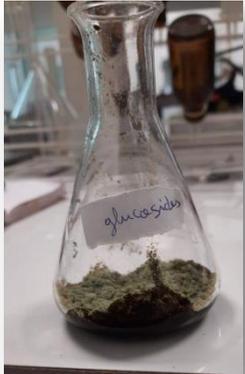
Tests	Remarque	Résultats	Photos prises des résultats
Identification des tanins	Une coloration bleue noire	+++	
Identification des tanins galliques	Une coloration bleue foncée	+++	

<p>Identification des tanins catéchétiques</p>	<p>Une coloration rouge</p>	<p>-</p>	
<p>Identification des saponosides</p>	<p>Un précipité blanc</p>	<p>+++</p>	
<p>Identification des flavonoïdes</p>	<p>Une coloration rouge orangé</p>	<p>+</p>	

Identification des glucosides	Une coloration rouge brique	-	
Identification des anthocyanes	Une coloration bleue	-	
Identification des leuco anthocyanes	Une coloration rouge	-	

Tableau 16 : Résultats des tests d'identification des composés chimiques de l'infusé de *Marrubium vulgare*.

Tests	Remarque	Résultats	Photos prises des résultats
Identification des tanins	Une coloration bleue noire	++	
Identification des tanins galliques	Une coloration bleue foncée	+++	
Identification des tanins catéchétiques	Une coloration rouge	+	
Identification des saponosides	Un précipité blanc	+++	

Identification des flavonoïdes	Une coloration rouge orangé	++	
Identification des glucosides	Une coloration rouge brique	-	
Identification des anthocyanes	Une coloration bleue	+	
Identification des leuco anthocyanes	Une coloration rouge	-	

(+++): Indique relativement une forte présence

(++): Indique relativement une présence moyenne.

(+): Indique relativement une faible présence.

(-): Indique relativement une absence

- **Interprétations des résultats**

Le *Lentisque* (*Pistacia lentiscus* L), le *Romarin* (*Rosmarinus officinalis* L), et le *Marrube* (*Marrubium vulgare*), sont parmi les plantes aromatiques et médicinales très utilisées dans le domaine pharmaceutique et médicinal, un screening phytochimique qualitatif par réaction de poudre des feuilles des trois plantes susceptible d'être exploités à plusieurs échelles (pharmaceutique, cosmétique, alimentaire...).

L'étude phytochimique faite sur ces trois plantes a montré des résultats qui sont confirmés avec d'autres travaux qui ont mis en évidence la présence de certaines familles chimiques. Les résultats sont mentionnés sur les tableaux précédents.

On a prouvé par ces testes la présence et l'absence de quelques composés :

Pour le *lentisque*, on a trouvé la présence des Polyphénols (tanins, tanins galliques), des saponosides, des flavonoïdes, et l'absence des anthocyanes, leuco anthocyanes et des glucosides... Ces composés sont réputées avoir des activités biologiques intéressantes. Ces résultats sont en accord avec ceux qui sont obtenue par **Barbouchi M. et al en (2018)** qui ont mentionnés la présence des flavonoïdes, tanins, et saponosides.

Contrairement à une étude faite par **K. Arab, O. Bouchenak, K. Yahiaoui en (2014)** sur les feuilles de *Pistacia lentiscus*, à révéler la présence des leucoanthocyanes et des glucosides. (Arab, K., et al, 2014)

Pour les feuilles du *Marrubium vulgare* on a trouvé la présence de tanins, tanins galliques, tanins catéchétiques, elle Elles contiennent aussi des saponosides, des flavonoïdes, et anthocyanes avec absence des glucosides, leuco anthocyanes.

Ces résultats, montrent d'une façon qualitative que la plante contient diverses familles de produits naturels, renferme des composés phénoliques comme de tanins, tanins galliques, tanins catéchétiques, elle Elles contiennent aussi des saponosides, des flavonoïdes, et anthocyanes avec absence des glucosides, leuco anthocyanes.

Bouterfas et al. (2016) souligne que le marrube blanc est caractérisé par la présence les flavonoïdes et les polyphénols. Les tanins galliques et catéchiques, les saponosides.

Le screening phytochimique réalisé par Boutelis, (**Boutlis 2014**) en Algérie, a montré également la présence les Flavonoïdes, Tanins, Saponosides, Anthocyanes avec absence Leucoanthocyanes.

La même composition les flavonoïdes, glucosides, et d’anthocyanes a été retrouvée chez la même espèce dans des travaux antérieurs réalisés récemment par **Moussaid et al. (2012)**, **Elberry et al. (2011)** et **Warda et al. (2009)**.

Pour le *romarin officinal*. D’après les résultats obtenus, On a trouvé la présence des tanins, tanins galliques, des saponosides, des flavonoïdes, des anthocyanes, et des glucosides... et l’absence des leuco anthocyanes et Tanins catéchétiques.

Contrairement à les résultats obtenus par **Bennane, a.et djelailia, m** en 2018. Il y avait une absence des Tanins, Tanins gallique et les Anthocyanes. Et la présence des Tanins catéchétiques.

3. Testes macroscopiques des crèmes

Les résultats des tests macroscopiques des crèmes formulées : Couleur, consistance, l’homogénéité, et l’odeur des crèmes cicatrisant **sont reportés dans le tableau 17** :

Paramètres	Crème <i>Lentisque</i>	Crème <i>Romarin</i>	Crème <i>Lentisque</i> et <i>romarin</i>
Couleur	Blanche	Blanche	Blanche
Homogénéité	Homogène	Homogène	Homogène
Consistance	Epaisse	Epaisse	Epaisse
Odeur	Arôme de <i>Lentisque</i>	Arôme de <i>Romarin</i>	Un mélange entre l’arôme de <i>Lentisque</i> et <i>Romarin</i>

Selon les tests macroscopiques des crèmes, après l’étalement de la crème sur la peau nous ne voyons aucune présence des grumeaux, ce qui signifie l’homogénéité de notre crème.

4. Résultats de rhéologie de la crème :

Les résultats de la rhéologie des trois crèmes sont montrés sur le rhéogramme suivant :

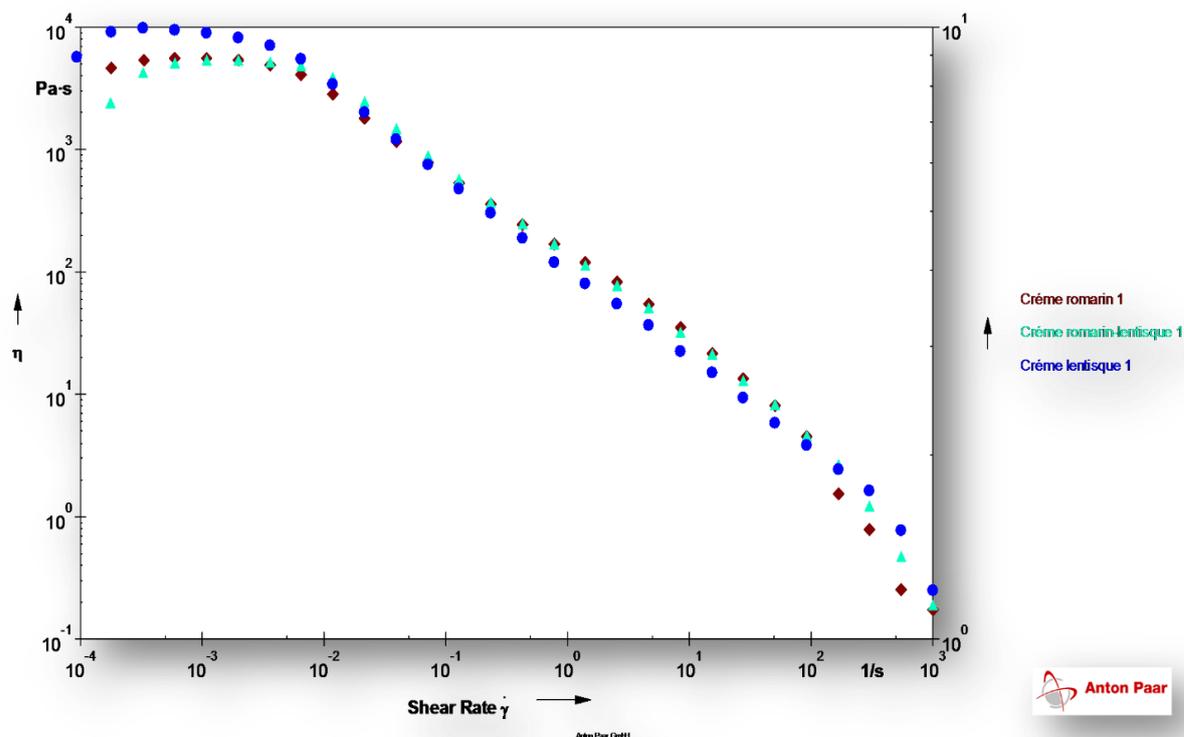


Figure16 : Rhéogramme de la viscosité en fonction des cisaillements

➤ Interprétations des résultats

Le rhéogramme obtenu présente la variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement appliqué sur les trois crèmes formulées.

Nous constatons une chute de la viscosité en fonction du cisaillement (constant) pour les trois formulations, ce qui indique un comportement. **Rhéofluidifiant**

Nous constatons en 2ème lieu que le principe actif (huile essentielle) n'influe pas sur la viscosité des crèmes.

- Crème 1 (*Romarin*) viscosité initial (V_i) : $3,01 \cdot 10^3$ Pa.s
- Crème 2 (*Romarin + Lentisque*) V_i : $2,41 \cdot 10^3$ Pa.s
- Crème 3 (*Lentisque*) V_i : $5,69 \cdot 10^3$ Pa.s

C'est-à-dire que la viscosité des trois crèmes se diminuent en fonction de la vitesse de cisaillements, plus le cisaillement augmente plus la viscosité diminue.

5. Résultats de l'activité antimicrobienne

Tableau18 : Résultats des zones d'inhibition

Extraits Souches	Extrait 1 HE de <i>Romarin</i>	Extrait 2 HE de <i>Lentisque</i>	Extrait 3 Hydrolat de <i>Marrube</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	8mm	26mm	00
<i>Bacillus subtilis</i>	17mm	15 mm	00
<i>Escherichia coli</i>	8mm	7mm	7mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9mm	7mm	7mm
<i>Candidas albicans</i>	11mm	7mm	7mm
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8mm	18mm	00



Figure a : Effet d'HE de lentisque sur *Bacillus subtilis*



Figure b : Effet d'HE de lentisque sur *Staphylococcus aureus*



Figure c : Effet d'HE de lentisque sur *Saccharomyces cerevisiae*



Figure e : Effet d'HE de romarin sur *Candida albicans*



Figure f : Effet d'HE de romarin sur *Pseudomonas aeruginosa*



Figure g : Effet d'HE de romarin sur *Bacillus subtilis*

Tableau 19 : Les zones d'inhibitions des crèmes

Les souches	Crème de romarin	Crème de lentisque	Crème de romarin et lentisque
<i>Staphylococcus aureus</i>	21	20	0
<i>Bacillus subtilis</i>	20	13	20
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	7	0

<i>Candidas albicans</i>	0	0	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	0	0

➤ **Interprétations des résultats des huiles essentielles et hydrolat**

L'huile essentielle de *Romarin*, et l'huile essentielle de *Lentisque*, et l'hydrolat de *Marrubium* testés présentent des zones d'inhibitions différentes vis-à-vis les souches microbiennes testées.

Les bactéries à Gram positif sont appariaient plus sensible au huiles essentielles testés, par rapport aux bactéries à Gram négatif.

- Le *Bacillus subtilis* est très sensible à l'huile essentielle de *Romarin* avec une zone d'inhibition de (17mm), et *Pseudomonas aeruginosa* s'est révélée sensible avec une zone d'inhibition de (9 mm).

Les autres souches microbiennes : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* sont résistants à l'huile essentielle de *Romarin*.

Pour l'activité antifongique sur les deux souches testés, *candidas albicans* est sensible (11mm) à HE de *Romarin*.

Contrairement aux résultats obtenus par **PIBIRI 2006**, *Pseudomonas aeruginosa* s'est montrée résistante à HE de *Romarin*. Et selon **MOUAS et al, 2017**, le *Bacillus subtilis* est très sensible d'un diamètre de (11.75mm).

- Concernant les résultats de l'huile essentielle de *Lentisque*, la souche *Staphylococcus aureus* est apparait extrêmement sensible avec une zone d'inhibition de (26mm).

Le *Bacillus subtilis* est très sensible avec une zone d'inhibition de (15mm).

Les deux bactéries à Gram négatifs sont résistantes à l'huile essentielle de *Lentisque*.

La souche fongique *Candidas albicans* est résistante, par contre *Saccharomyces cerevisiae* est très sensible à HE de *Lentisque* avec une zone d'inhibition de (18mm).

Contrairement aux résultats obtenus par **Bammou et al., 2015**, le *staphylococcus aureus* a une légère sensibilité d'un diamètre de 10mm, il a apparait aussi que l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L* n'a aucun effet sur *Escherichia coli* ce qui est en accord avec notre résultats obtenu.

- L'extrait De l'hydrolat de *Marrubium* n'a aucun effet inhibiteur sur les quatre souches bactériennes et les deux souches fongiques, ces derniers sont appariaient résistantes : aucune zone d'inhibition n'a été constatée autours des disques.

Selon une étude faite sur l'hydrolat de quelques plantes a montrée une forte activités bactriostatique des hydrolats d' origan, qui est due à la présense de carvacrol et thymol, qui sont deux phénols mono terpéniques connues par leurs activités antibacterienne. Selon **Hussein et al. (2011)** en étudiant l'effet antibactérien de certains hydrolats extraits à partir du basilic (*O. basilicum*), du thym (*T.schimperi*), du clou de girofle (*S. aromaticum*) ont prouvé leur efficacité pour inhiber certains bactéries telles que *S. aureus*, *E. Coli*.

Les résultats de notre d'activité antimicrobienne peuvent varier selon plusieurs facteurs :
Les régions et les conditions de la récolte des trois plantes.

La méthode et les conditions d'extraction.

Les conditions de conservation, stockage, et transport des extraits obtenus.

La diffusion des extraits à travers la Gélose.

➤ **Interprétations des résultats des crèmes**

Les résultats obtenus montrent que *Staphylococcus aureus* est très sensible au crème à base de l'huile essentielle de *Romarin* et celle à base de l'huile essentielle de *Lentisque* avec une zone de **20mm**.

Le *Bacillus subtilis* est apparait aussi très sensible a crème à base de *Romarin* et à la crème à base de mélange de l'huile essentielle de *Romarin* et *Lentisque* d'une zone de **20mm**, et sensible à la crème à base de *Lentisque* d'une zone de **13mm**.

Les autres souches bactériennes et fongiques sont résistantes aux crèmes formulées.

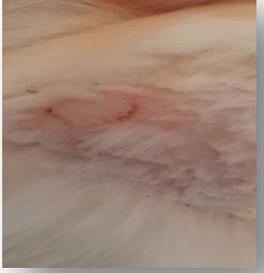
On peut dire que les crèmes à base de *Romarin* et *Lentisque* ont un effet inhibiteur important sur les bactéries à Gram positif, aucune étude n'a été trouvé sur l'activité antimicrobienne des crèmes de notre formule donc on ne peut pas faire une comparaison de notre étude.

6. Résultats de l'activité cicatrisante

➤ Résultats de cicatrisation

➤ **Tableau 20** : Résultats de l'activité cicatrisante des quatre lots

	J1	J4	J7	J11
LOT1				
LOT2				
LOT3				

LOT TRAI TE				
TEM OIN (-)				

Interprétation des résultats

Au jour 0 les plaies avaient le même diamètre et le même signe d'inflammation.

D'après les résultats obtenues et la suivie de processus de la cicatrisation qui a duré 15 jours, on n'a observé aucun changement dans le caractère, l'appétit, le cas des fèces, et le poids des lapins.

Aucune mort n'a été marquée, et aucun signe de douleur n'a été remarqué.

Les plaies ont apparues propres et pas infectées pendant toute la durée de cicatrisation.

Pour **le premier lot**, Au J7 on a observé une cicatrisation de 80% des plaies plus à la repousse du poil. La crème à base de *Lentisque* a servie à la cicatrisation rapide et complète des plaies au bout de 10jours sans avoir irrités la peau des lapins.

Les plaies des lapins de **deuxième lot** traité par la crème à base de *Romarin* ont cicatrisés progressivement en 12 jours. Une repousse de poiles très rapide a été observé depuis le 3ème jour de l'expérimentation.

Pour **le lot 3**, la cicatrisation complète des plaies a durée 15jours, une synergie négative avait lieu entre l'huile essentielle de *Romarin* et l'huile essentielle de *Lentisque*, l'un inhibe l'activité de l'autre.

En comparant les résultats avec le témoin négatif non traité, sa cicatrisation a duré plus 15jours contrairement au crèmes formulés qu'on a remarqué une guérison complet de Lentisque en 10 jours, de crème de *romarin* en 12jours, et de la crèmes des deux huiles mélangés en 15jours.

La crème à base de *lentisque* à un pouvoir cicatrisant compatible à celui de la crème commercial **Cicatryl Bio**.



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Notre étude nous a permis d'étudier et d'évaluer quelques propriétés biologiques et pharmacologiques des trois plantes choisies « *Rosmarinus officinalis*, *Pistacia lentiscus*, *Marrubium vulgare* », selon les résultats trouvés on a pu conclure que :

L'extraction des plantes nous a permis d'avoir un rendement de l'huile essentielle de Lentisque de **0,17%** et de Romarin **0,2%**, et des traces de l'huile essentielle de *Marrube*.

Les tests phytochimiques qualitatifs des poudres végétales révèlent la présence de plusieurs familles chimiques (Polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponosides), la richesse de ces plantes en ces composants bioactifs dotés de propriétés thérapeutiques intéressantes.

Les souches bactériennes à Gram positif sont révélées plus sensibles aux huiles essentielles et crème à base de ces huiles testées que les bactéries à Gram négatif.

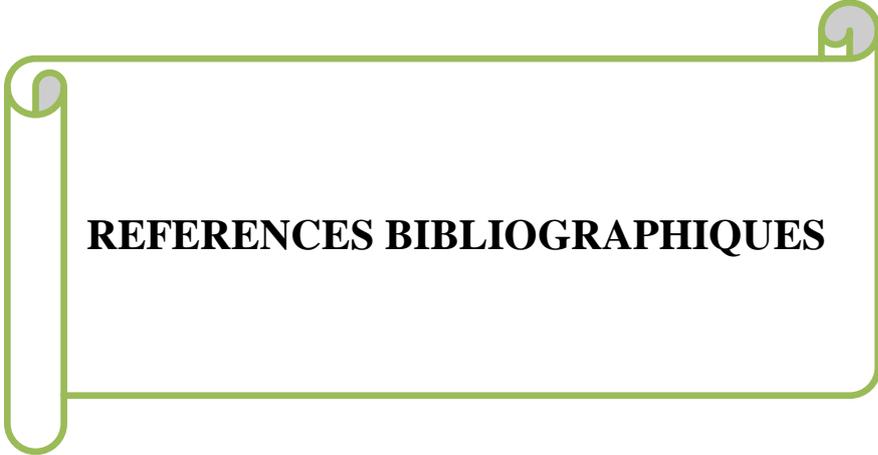
La crème formulée à base de *Lentisque* a permis la cicatrisation complète des plaies, au bout de 10 jours.

La Crème à base de *Romarin* a donné une repousse très rapide de poil depuis le 3^{ème} jour de l'expérimentation

❖ Perspective

On cite quelques perspectives qui aident à poursuivre, approfondir et compléter scientifiquement ce travail, vu les résultats intéressants obtenus.

- ✚ L'huile essentielle de *Romarin* peut être exploitée dans un produit pour la chute des cheveux et leur repousse
- ✚ On propose d'étudier la toxicité des crèmes.
- ✚ Etudier profondément l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et de l'extrait sur d'autres gammes de bactéries, champignons et de levures.
- ✚ Poursuivre l'étude qualitative et quantitative des composés chimiques des plantes.
- ✚ Tester et étudier d'autres activités biologiques de ces plantes telles que l'activité hypoglycémiant de *Marrube* et de *Romarin*, l'activité de *Lentisque* sur les ulcères de l'estomac.
- ✚ Utiliser d'autres méthodes d'extraction pour valoriser et bénéficier des extraits de ces plantes.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

1. **A., Nagy E., Essam Abdel-Sattar f., (2011).** Methanolic extract of Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two: Lavoisier, Tec et Doc, Paris: 915p.101 104.
2. **Abdelli W., (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. These de doctorat: Microbiologie Appliquée. Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem, p. 15-19.
3. **Aćimović, m. jeremić, k. salaj, n. gavarić, n. kiprovski, b. sikora, V. & ZEREMSKI, T. 2020.** Marrubium vulgare L.: A Phytochemical and Pharmacological Overview. *Molecules*, 25, 2898.
4. **Adersen et al., 2006** - Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J Ethnopharmacol.* 104.418-422.
5. **AFNOR (2000):** association française des normes, recueil de normes. les huiles essentielles, échantillonnage et méthodes d'analyse (tome I) p: 471. Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome II), volume 1p:323et 2 p: 663).Ed .AFNOR, France.
6. **AFNOR, (2000):** huiles essentielles Tome 1 échantillonnage et méthodes d'analyses Ed AFNOR, Paris .590p.
7. **Against.,** Streptococcus pneumonia. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 3(3):
8. **Al-Saghir, (2006),** Book2008, Généralités sur *Pistacia lentiscus*, www.agronomie.info.com).
9. **Al-Turki AI (2007):** Antibacterial effect of thyme, peppermint, sage, black pepper and garlic hydrosols against *Bacillus subtilis* and *Salmonella enteritidis*. *International journal of food, agriculture and environment*, , 5(2), 92-94p.
10. **Amara Nacira et Al, (2019),** revue *Agrobiologia*, activité antimicrobienne de l'huile essentielle des fruits du pistachier *Lentisque (Pistacia Lentiscus L,* p1670.
11. **Amari N., (2014).** Etude Photochimique, Potentiel Antioxydant et Activité antifongique de *Thymelaehirsuta* (Cas des dermatophytes). Thèse de doctorat : Science agronomique. Université Abdelhamid ibn Badis – mostaganem, p. 15.

12. **Annaba, (2013)**, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium* 73p
13. **Anonyme., (2015)**, Les plantes médicinales. Institut Européen des substances végétales. P3
14. **Aouadhi S. (2010)**. Atlas des risques de la phytothérapie Traditionnelle. Étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Thèse magistère : toxicologie. TUNIS : Faculté de médecine. 57-196p.
15. **Aouinti, F. ; Amhamdi, H. ; Wathelet, Jean-Paul et al.(2010)**• Journée Scientifique sur les plantes Médicinales et Aromatiques. <https://orbi.uliege.be/handle/2268/31777>
16. **Aruoma OI, Spencer JPE, Rossi R, Aeschbach R, Khan A, Mahmood N, Munoz A, Murcia A, Butler J, Halliwell B., 1996** - An evaluation of the antioxidant and antiviral action of extracts of rosemary and provencal herbs. *FoodChemToxicol*34:449–456.

B

17. **Baba Aissa F., 2011**. Encyclopédie des plantes utiles, flore méditerranéenne Maghreb, Europe méridionale ‘ substances végétales d’Afrique, d’Orient et d’Occident . Ed- Elmaarifa, Algérie, p471
18. **BAKIREL et al., 2008** - In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *J Ethnopharmacol.* 116:64- 73.
19. **Bammo et Al, (2015)**, Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus L.*» : Étude ethnobotanique, screening photochimique et pouvoir antibactérien, *Journal of applied Biosciences*. <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v86i1.4>.
20. **Barbouchi, M., Elamrani, K., & El Idrissi, M. (2020)**. A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus L.* *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 302-306.
21. **Bebersac P.,** Influence d’extraits naturels de romarin sur l’initiation de la cancérogenèse. Thèse de doctorat, 2001.
22. **BELAICHE P., (1979)**, traité de phytothérapie et d’aromathérapie, Tome 1: l’aromatogramme, Ed Maloine, Paris.
23. **Belhattab R., Larous L., Figueiredo, A. C., Santos P.A.G., Costa M.M., Barroso J. G. & Pedro L.G., 2006**: Essential Oil Composition and Glandular Trichomes of

- Marrubium vulgare*L. Growing Wild in Algeria. *Journal of Essential Oil Research* 18(4), 369–373.
24. **Bellakhdar J., (1997).** Médecine Arabe Ancienne et Savoirs Populaires La pharmacopée
 25. **Ben Gueddeur I,** Etude in vitro de l'activité antimitotique de certaines plantes médicinales. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Rabat,2002 , 117p.
 26. **Benhammou Nabila, Fawzia AtikBekkara, Mars 2007,** Activité antibactérienne de l'huile essentielle de Pistacia Lentiscus L. De deux stations de la région de Tlemcen (Algérie).
 27. **Bensalek F., (2018).** L'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des troubles fonctionnels intestinaux dans le contexte marocain. Thèse pour l'obtention du doctorat en Médecine. Université Cadi Avvad-Marrakech, p. 39-40.
 28. **BijenKıvçak, Selma Akay, BetülDemirci, et Kemal H.C. Başer, (2004),** Chemical Composition of Essential Oils from Leaves and Twigs of Pistacia lentiscus, Pistacia Lentiscus var. chia, and Pistacia terebinthus from Turkey, pharmaceutical biology, édition Taylor & Francis Ltd)
 29. **Bijoundi D., Cianci P., Geraci C and Roberto G.** Antimicrobial and chemical composition of essential oils from sicilian aromatic plants. *Flavour frag.* 1993, vol.8, p.331-377.
 30. **Boucbenak M.** Nutrition et risque cardio-métabolique composés bioactifs et santé nutrition *et* Immunité nutrition et risque alimentaire. Laboratoire de la nutrition clinique et métabolique etMétabolique: Université d'Oran. 2011, 232 p. ISSN 2170-158X
 31. **BOUCHEKRIT MOUFIDA., (2018),** Etude de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles de deux apiaceae elaeoselinum asclepium bertol et margotia gummifera lange. Thèse de doctorat, université Ferhat Abbas Sétif 1. Pp: 19
 32. **BOUHADOUDA. N., (2016),** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: Origanum vulgare et Mentha pulegium, Diplôme de Doctorat, Univ Badji Mokhtar, Annaba. Pp: 18.
 33. **BOUKHATEM Mohamed Nadjib, FERHAT Amine et KAMEL Abdelkrim, (2019),** METHODES D'EXTRACTION DE DISTILLATION DES HUILES ESSENTIELLES: REVUE DE LITTÉRATURE revue Agrobiologia P1654.1655

34. **Bouskraoui M., (2009).**Antibacterial evaluation of selected Moroccan medicinal plants
35. **Boutelis, D. A.,** “Etude phytochimique et activité antimicrobienne, Antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou Marrubium Vulgare ”, thèse de doctorat en science, université Badji Mokhtar – Annaba, (2013), 73p
36. **Boutelis, D. A., Bordjiba, O., Bentherrara, S., (2013),** “Extraction, séparation Antibactérienne des tannins de marrube blanc (Marrubium vulgare) ”, *Phytothérapie*, 11 :348-352
37. **Bouterfas, K., Mehdadi, Z., Elaoufi, M. M., Latreche, A., et Benchiha, W. (2016 in press).** Antioxidant activity and total phenolic and flavonoïds content variations of leaves extracts of white Horehound (Marrubium vulgare Linné) from three geographical origins. *Ann Pharm Fr*, [http://dx. doi. Org /10.1016 / j.pharma.2016.07.002](http://dx.doi.org/10.1016/j.pharma.2016.07.002)
38. **Bremness, L. (1996):** L'oeil nature: Les plantes aromatiques et médicinales. Bordas Nature Paris. 303 P.
39. **BRIAN, M.L., (1995),,** the isolation of aromatic materials from plant products, R, J, Reynolds.
40. **Bruneton J., (1993) :** Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales ,2ème édition
41. **Bruneton J., (1999) :** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème édition,
42. **BRUNETON J., 1999 -** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 2^{ème} EdDunod Paris. 274 p.
43. **C. Santos, P.A.G. Costa, M.M. Barroso, J.G. Pedro, LG. 2006.** Composition des huiles essentielles et trichomes glandulaires de Marrubium vulgare L. Sauvages en Algérie. *Journal of Essential Oil Research.* (18): 369-373.

C

44. **Caroline G., (2013).**Guide de poche de phytothérapie. Quotidien Malin. P27.http://www.aromazen.com/document/8561/guide_de_poche_de_phytotherapie.pdf
45. **Chabni M., 2012.-** Etude de la stabilité physique des systèmes dispersés. Il y a un médecin, Université Mouloud Memmeri de TiziOuzou, p: 70.

46. **Chambers H. F.** Methicillin resistance in staphylococci : molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin. Microbiol. Rev.* 10. 2003 P: 781.
47. **CLAUDE, M., LAURENT, A.** Marrube blanc [en ligne]. (Page consultée le 05/03/2017).www. Doctissimo. Fr.
48. Compagnie-des-sens. Toxicité de lentisque.[en ligne].[consulté en mai 2022].disponible Sur :<https://www.compagnie-des-sens.fr/huile-essentielle-lentisque-pistachier/>
49. **Couic-Marinier F., Lobstein A.** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques* 2013; 52 (525): 18-21.

D

50. **Delille, L., (2007)**, “Les plantes Médicinales d’Algérie ”, édition BERTI, p 155-156.
51. **Des Plantes Médicinales Dans La Province De Settat (Maroc), *Journal of***
52. **DjedaiaS , (2017)** . Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*pistacialentiscus l.*).thèse de doctorat. Chimie. Université Badji Mokhtar-Annaba.p11-14
53. **DURAFFOURD C., LAPRAZ J-C., CHEMLI R.; 1997.** La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès Intercontinental. Tunis. Ed. Granche.Paris,P 28.
Ed.Tec&doc, .625-910p, ISBN: 2-7430-0315-4.
54. **EL HAIB ABDERRAHIM. (2011)**, Valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, Thèse de doctorat Université Toulouse iii.Maroc. Pp: 10-12.
55. **Elberry A.A., Fathalla M., Harraz B., Salah A., Ghareib C., Salah A., Gabr D., Ayman**
56. **EL-GUEDOUIR, 2003.** Extraction des huiles essentielles du romarin et du thyn et comportement insecticide de ces deux huiles sur *Rhyzoperta dominica*, Thème de mémoire Ingénieur, ANP. 120p.
57. **ethnopharmacology., 2006, vol. n°108, p.379-384.**

F

58. **F.piozzi, J., (1996).** Phytochemistry. Vol : 6 page : 146
59. **Fabienne MILLET, (2013).** Le grand guide des HUILES ESSENTIELLES. MARBOUT. P 37- 416.

60. **Fabienne, M. (2013).** Le grand guide des huiles essentielles. Marabout référence. P15.
61. **Forestry Faculty, 12(2), 192-208p.**
62. **François de Lnfranchi, Mais BuiTchi, Michel Girard, (2018),** Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, La fabrication d'huile de lentisque (Linsticu ou chessa) en Sardaigne, pp 81-100, P85,87,88.
63. **François, C. (2016).** Plantes médicinales de montagne. Glénat. P11.
64. **From Lippia multiflora leaf extract. Phytomedicine 2003; 10: 59-61.**

G

65. **Garnero J., (1991) :** Les huiles essentielles, leur option, leur composition, leur analyse et
66. **Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L. and Debraux, G. (1961).** Ressources médicinales de la flore française. Edition, Vigot Frères Editeurs, p : 665-666.
67. **GASTON. 1990,** la grande flore en couleurs, Belin ; p 937
68. **Ghestem A., Seguin E., Paris M., and Orecchioni A.M., 2001-** Le préparateur en pharmacie dossier 2ème Ed TEC&DOC. Paris. P : 275. (cited in Djemai Zoueglache S, 2008).
69. **Grant wyllie S, Joseph J Brophy, Vassilios Sarafis and Hobbs (1990).** Volatile Components of The Fruit of Pistacia Lentiscus. Journal of Food Science, August 2006, 55 (5), 1325–1326.
70. **Gui J et ai, 2007** -Mosquito repellant activity of essential oils of aromatic plants.
71. **Guiet A.** L'apport de marrubium vulgare L dans la prévention du risque cardiovasculaire. Thèse Doctorat: Université de Nantes. 2011, p 83.
72. **GUY-GILLY, 2005 .** Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse. S.I.: Harmattan. pp. 85-93

H

73. **H. Hamani.** Synthèse, caractérisation et étude du pouvoir inhibiteur de nouvelles molécules basées de Schiff, thèse de doctorat, Université de Setif. (2015). Page 128
74. **H. Said-Al Ahl, A. Gendy, A. Mahmoud, et H. Mohamed,** Composition en huile essentielle de Marrubium vulgare L., Cultivée en Egypte. Journal international de recherches sur les plantes, (2015) 1 (4), 138-141.
75. **Hamdaoui .B, W. Wannes, M. Marrakchi, N. Brahim & B. Marzouk,** Essential oil composition of two Tunisian horehound species: Marrubium vulgare L. and

Marrubium aschersonii Magnus. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 16(5), 608-612. (2013).

76. **Hamel T et Al, (2018)**, Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule d'Edough (nord-est Algérien), plantes médicinales de la péninsule d'Edough (Algérie) ,
77. **Hawa Ibrahim. (2013)**, "Une étude de l'activité biologique de certaines plantes orales et de l'efficacité contre l'oxydation." Note de maîtrise de l'Université Kasdi Merbah de Ouargla, p.39.
78. **Hussein J., T (2011): Chalachew, M. Jemal**, Assessment of the antimicrobial effects of some Ethiopian aromatic spice and herb hydrosols. Int. J. Pharmacol. 6(5), 635–640p

I

79. **Iserin (2001)**. Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse/vuef, p. 14-16-240-296.
80. **Iserin, P., Masson, M., et Restellini J P, (2007)**. "Larousse des plantes médicinales". Identification, préparation, Soins .Ed Larousse, p14.
81. **ISERIN, Paul**. Larousse des plantes médicinales. Andrew chevalier .2001, p 1014 15.
82. **ISERIN. P., (2001)**, Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF, 2^{ème} Ed.,Paris.

J

83. **J.L. Ramaut, J. Lewalle, A. Donneaux, J. Damblon. 1980**. Plantes médicinales et condimentales. Société botanique de Liège et Laboratoire de botanique pharmaceutique, Université de Liège.9T 9T 33.
84. **Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Steven P., 2002**. Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. 1^{ere} Ed: Paris et Bruxelles. pp. 369-384.

K

85. **Kaloustian J., Hadji -Minaglou F. ;(2012)**. La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie, Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Springer – Verlag, p 23- p 164.

86. **Kanyonga, P.M., Faouzi, M.A., Meddah, B., et al.**, “Assessment of methanolic extract of *Marrubium vulgare* for anti-inflammatory, analgesic and antimicrobiologic activities”, *J Chem Pharm Res*, (2011) 3: 199 – 204.
87. **Koen, C., O'Donoghue, D., Pollacco, DL, & Charpinet, S. (1999)**, *MNRAS*, 305, 28
88. **Kunle O., Okogun J., et al.** Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol

L

89. **Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M et Hseini S.** *Catalogue des plantes medicinales utilisees dans la region de zaer (Maroc accidentai)*. Belgique: Revue de botanique, 2009, 30 p.
90. **LAHSISSENE H., KAHOUADJI A., TIJANE M., HSEINI S., 2009-** catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc Occidental) Les Editions de LEJEUNIA (Belgique) p13.
91. **Lakesis**, fiche botanique de *Pistacia lentiscus*, France. LAKESIS-FICHE-BOTANIQUE-FR.pdf
92. **Lawrence B.M., (1992)**. Chemical constituents of Labiate oils and their exploitation, In: *Advances in Labiate Science*, Edits., R.M. Harley and T. Reynolds, Royal Botanic Gardens, Kew, 399–436..
93. **Limonier A.S., (2018)**. La Phytothérapie de demain. Les plantes médicinales au cœur de la pharmacie. Thèse de doctorat : pharmacie. Université Aix Marseille, p. 21.

M

94. **M. Ahvazi, G. Balali, Z. Jamzad, H .Saeidi, A** Taxonomical, Morphological and Pharmacological Review of *Marrubium vulgare* L., An Old Medicinal Plant in Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 2018 ; 1(65), 7-24.
95. **M.Ali.Youssef**, *Plantes médicinales de Kabylie*. Ed: Ibis press (Paris), 2006, P: 349.
96. **M.E. Duru et Al, (2003)**, chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species, édition Elsevier. P171.
97. **M.Rombi., R.Dominique**, 120 plantes médicinales : composition, mode d'action et intérêt thérapeutique. Ed: Alpen, 2007P: 527.
98. **Maamri S.** Etude de *pistacia atlantica* de deux régions de sud Algérien : dosage des lipides Dosage des polyphénols, essais antileishmanieux. Mémoire de magister: Université M'Hamed bougara. Boumerdes, 2008, 141 p.

99. **Madjour, S. (2014),** " Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *rosmarinus officinalis*". These de Master Université Med Khider Biskra, p2.
100. **MAKHLOUFI, A,2019** "Etude des activités antimicrobienne et antioxydante plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru". Thèse de Doctorat L'UNIVERSITE ABOUBAKER BELKAID, p12.
101. **MARIE et al.** Flavour And Fragrance Journal FlavourFragr. J.; 19: 134–138(2004)
102. **Marrubium vulgare ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats.** *International Journal of Diabet Mellitus. 2: 171-177.*
103. **Mary.R, J: J.C. Sommerard., 2012.** Eaux florales, un nouvel art de vivre Broché.
104. **Masoodi M. H. Ahmed B. Zargar I. M. Khan S. A. Khan S. and Singh P. (2008).** Antibacterial activity of whole plant extract of *Marrubium vulgare*. *African J Biotechnol*, pp.86-87
105. **MAX ROMBI, DOMINIQUE R., 2007** : 120 plantes médicinales, 2ème édition, Edition Alpen, p287, 288, 289
106. **Mostefai, A. (2012),**"Contribution à une étude morphométrique de *Rosmarinus Officinalis* L (Lamiacées) dans la région de Tlemcen" .These de Master UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEN.
107. **Moussaid M., Elamrani A.A., Berhal C., Moussaid H., Bourhim1 N., Benaissa M.,**
108. **Mr Hyerisam, (2013)** : livre, médecine et santé : Propriétés médicinales du marrube blanc: *Marrubium vulgare* L.

N

109. **NASSU et al,(2003).** Oxidativestability of ferment edgo at meats a usage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science. 63:43-49.*
110. **ati M, Sghaier M., (2014).** Projet MENA-DELP développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de f

la région mena (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie). Observatoire du Sahara et de sahel(OSS), p. 14.

111. **normalization, Edition technique .Encyclo .Med.Nat., Paris 9,20p.**
112. **Ozenda P., 2004.** Flore et végétation des Sahara. 3ème Ed : CNRS édition. Paris. Pp.399-402.

P

113. **P.Goetz. (2020).**La relativité en phytomedecine. Phytothérapie. Lavoisier SAS 2020. P1.
114. **Paul I. et Al. (2001).** Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Larousse. P10.
115. **Philippon A.** Quelques bacilles à Gram négatif aérobies stricts non fermentaires et sensibilité aux antibiotiques. *Lett. Infectiol.* 10. 1997, P : 619.
116. **PIBIRI.M.C (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles », Thèse de doctorat, école polytechnique fédérale, Lausanne, 161p.
117. **Plants from the Lamiaceae family: Marrubium vulgare(L.) and Origanum majorana(L.).**
118. **PRAJAPATI et al.,(2005).**Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*..
119. **Price, L; Price, S. (2004):** Understanding hydrolats: The specific hydrosols for aromatherapy. Churchill Livingstone. 294 p.

Q

120. **Quezel P. et Santa, S., (1963).** La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome II. Ed. CNRS. Paris. 360-361 p.
121. **Quezel, Pierre, and Sébastien Santa.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. No.581.965 Q8. (1963), pp.781-783-793.

R

122. **RASOOLI et al (2008)** ;Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils.

International Journal of Food Microbiology, Grugliasco, v.122, p.135-139, 2008.

123. **RICKE S.C., ELLEN J., LOO V., JOHNSON M.G., 2012.** Organic Meat Production and Processing. Edition Aptara, India. P367.
124. **Roberto C.** les plantes médicinales guide vert. Paris : Solar, (1982).
125. **Roman R.R., Alarcon-Aguilar F., et al., 1992.** Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. *Archives of Medical Research.* 23(1): 59-64.
126. **Romani P, Pinelli C, Galardi N, Mulinacci M and Tattini (2002).** Identification and Quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia Lentiscus L.* *Phytochem Anal.* 13(2), 79-86

S

127. **SACCHETTI, et al.** ses Collaborateurs : Growing in Argentina. BioresourceTechnology. (In press) (2005).
128. **SANOGO R., (2006).** Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako. [PDF] disponible sur : <http://www.sifee.org.com>, consultée le 2/06/2020.
129. **Schlempher V (1996).** «Antispasmodie effects of hydroalcoholic extract of *Marrubium vulgare* on isolated tissues » *Phytomedecine*, 3 (2), 211-216.
130. **SCIMECA D. et TETAU M., 2005** -Votre santé par les huiles essentielles .
131. **Scott, Harlein et Klein (2006).** Microbiologie 2e édition française, de e Book, p:02.
132. **Sofowora A., (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d’Afrique. Académie suisse des sciences naturelles, Karthala, p. 25

T

133. **T. Cyril;** étude des métabolismes primaires et secondaires de racines transformées de *Catharanthus Roseusen*, vue du développement d’un modèle cinétique, université de Montréal(2001); 28p.
134. **T.Cecchini ., B.Ticli,** Les plantes médicinales. Ed: De Vecchi, P: 192-193, 2008.
135. **Tahri N., El Basti A., Zidan L., Rochdi A. Douira A, 2012,** Etude Ethnobotanique

136. **TOÉ Siessina Lawaldia N T M.**, 2004- Essais de mises au point de formulation de crèmes et laits corporels à base du beurre de karité du Burkina Faso. Thèse de doctorat, Université de Ouagadougou, p :14,18.
137. **Tsai et al** . In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of streptococcus sodrinus .Food chem. (inpress) (2007).

V

138. **Verbios S., (2015)**. La phytothérapie. Eyrolles, 176-177 -178.
139. **Walsh S. E., Maillard J-Y., et al**. Activity and mechanisms of action of selected Biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. J Appl Microbiol 2003.

W

140. **WANG et al., 2008**-Antioxidative activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil comared to its main components. Food Chem.108:1019-1022.
141. **WECKESSER et al.**, 2007- Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeast with dermatological relevance. Phytomedicine. (In press) (2007).
142. **Weel K.G.C (1999)**. « Antioxidant activity of horehound (*Marrubium vulgare* L.) Grown in Lithuania, *Fett/Lipid* 101, 10, 395 – 400.
143. **Wichtl M, Anton R**, Plantes thérapeutiques : Traditions, Pratique officinale, Sciences et Thérapeutique. 2e Ed: TEC & DOC. Paris. pp. 1-364 (2003).
144. **Wichtl M. et Anton R., 2003**, « plantes thérapeutiques, traditions, pratique officinale, science et thérapeutique » 2ème édition, Tec et Doc. Paris. p692
145. **Wichtl M., Anton R., (2009)** .Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. LAVOISIR, p. 38-41.
146. **Wichtl, M., & Anton, R. (2003)**. Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Éditions Tec. & Doc. *EM Inter, 2e Édition, 788p*.
147. **William, B. J.**, “The Original of the Soxhlet extractor”, Journal of Chemical

X

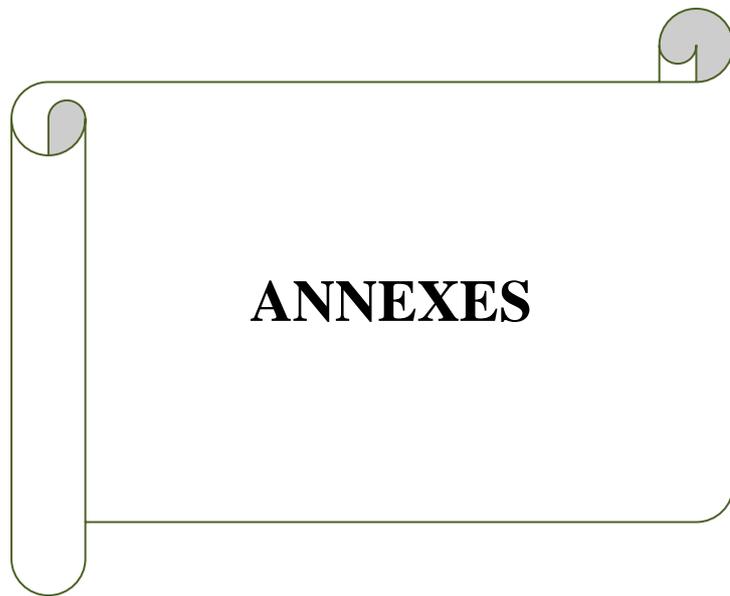
148. **Xavier Fernandez., Farid Chemat, (octobre 2012)**. La chimie des huiles essentielles, Tradition et innovation. Vuibert p 226-233.

Y

149. **YABRIR, B. 2019.** Essential oil of *Marrubium vulgare*: Chemical composition and

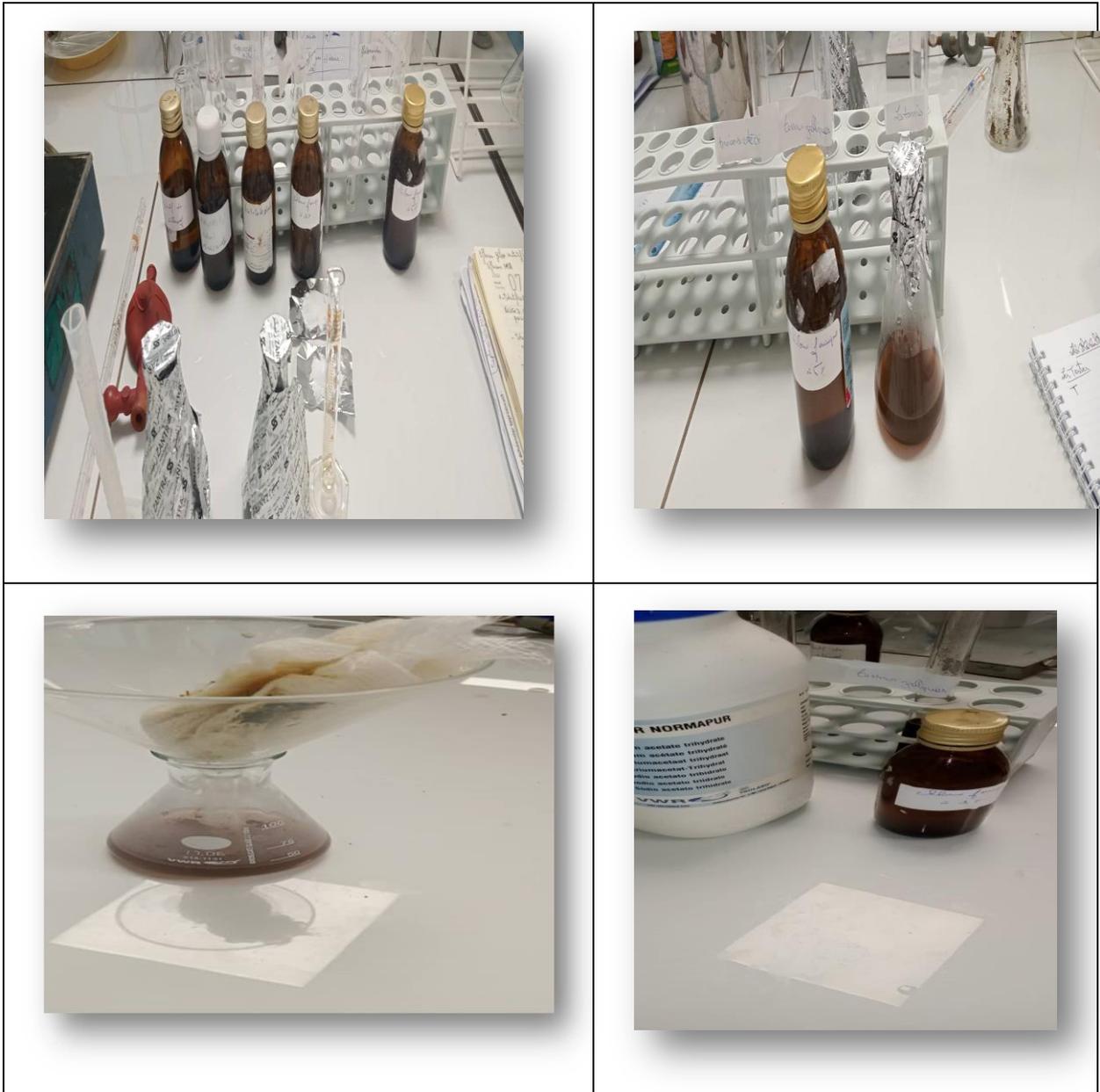
Z

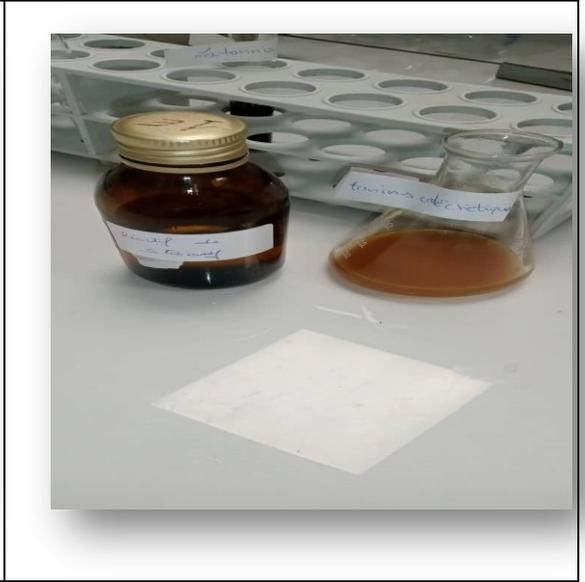
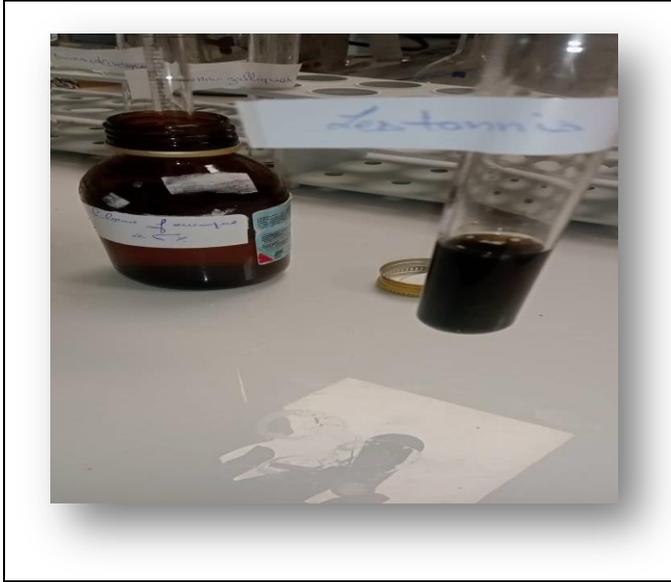
150. **-Zaabat N., Darbour N., Bayet C., Michalet S., Doléans-Jordheim A., Chekir-Ghedira L., Akkal S., et Dijoux-Franca M. G. (2010).** Étude préliminaire de *Marrubium deserti* de Noé, une Lamiaceae endémique Algérienne. *Phyt.*, 8: 353-358
151. **Zaabat, N., Hay, A. E., Michalet, S., Darbour, N., Bayet, C., Skandrani, I., Ghedira, L. C., Akkal, S., et Dijoux-Franca, M. G. (2011).** Antioxidant and antigenotoxic properties of compounds isolated from *Marrubium deserti* de Noé. *Food and Chemical Toxicology*, pp 1-8.
152. **Zeghad N., (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Master de master : biologie végétale et écologie .Université Mentouri Constantine, p. 2.
153. **Zizovic I., Stamenic M., Orlovic A., et al., 2007.** Supercritical carbondioxide extraction of essential from plants with secretory ducts mathematica modeling of micro-scale. *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 39, pp. 338–46 5



ANNEXES

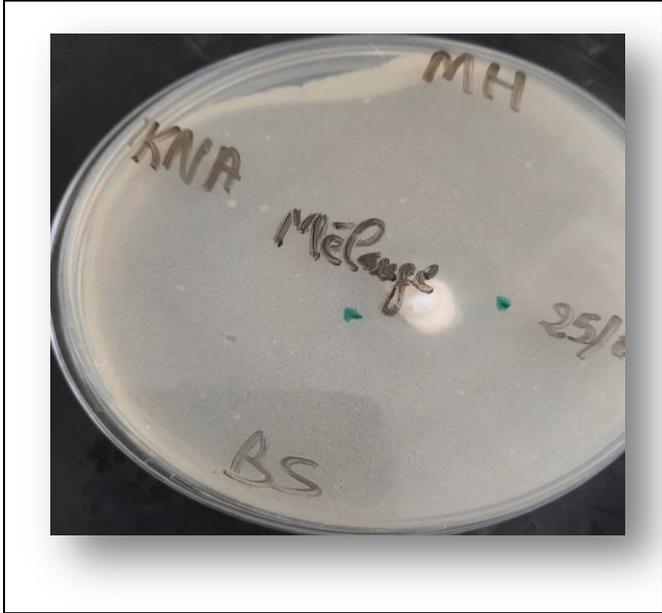
Annexe 1 : Les réactifs et les réactions du screening phytochimique





Annexe 2 : Tests microbiologiques





Annexe 3 : les étapes de l'activité cicatrisante sur les lapins.

