

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb de - Blida 1 -



Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

***Valorisation des produits d'extraction
de deux plantes médicinales de la famille des cistaceae
et étude des activités biologiques***

THESE D'EXERCICE DE FIN D'ETUDE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Session : Juillet 2017.

Présentée par :

BELGHALI Fadhila.

LACHEKHAM Chahrazed.

Devant le jury :

Président : Dr. MAHFOUD.M. Maître Assistant en Microbiologie CHU Blida.

Examineur: Dr.DJELLOULI. S. Maître Assistant en Pharmacologie Université Blida 1.

Examinatrice: Dr. MELLIANI. Maître. Assistante en Pharmacognosie Université Blida 1.

Promotrice : Dr.AYACHI. N. Maître. Assistante en Pharmacie galénique Université Blida 1

Encadrée par :

Dr .AYACHI Nabila.

Remerciements

Avant tout, nous remercions "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage, la patience, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles à fin d'accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice Mme.AYACHI Nabila qui nous a dirigée ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu'elle a bien voulu nous consacrer .

Nous exprimons nos profonds remerciements aux membres de jury qui vont juger notre travail .

Nous offrons nos plus sincères remerciements à toute personne des différents laboratoires ou nous avons fait notre travail pratique.

Nous ne saurons terminer sans remercier l'ensemble de nos familles ainsi que nos amis, pour leur patience, leurs encouragements, et leurs soutiens multiformes. Nous leur témoignons notre profonde affection, car ce travail est en partie le fruit de leur soutien. Nous leur sommes très reconnaissantes. Leur fierté à notre égard aujourd'hui est pour nous la meilleure des récompenses.

Un grand merci à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réussite de notre travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

*A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de
ma vie*

*A ceux qui m'ont toujours encouragé pour que je réussisse dans
mes études*

*Pour leurs sacrifices et leurs soutiens tous au
long mes étude.*

A mes chers parents

*A mes chères soeurs :Bohra, Fouzia et sa petite famille.
Vous êtes l'exemple de dévouement qui n'ont pas cessé de
m'encourager et de prier pour moi.*

*A mes chers frères :Hossame Eddine, Oussama,
Yahia et sa famille*

A mes cousines :Fatima Ikram.

*Ainsi qu'a mes oncles ,mes tantes et toute famille
BELGILILI,MECHIEKOUR.*

*A mon binôme Chahrazed qui a partagée avec moi les
moments difficiles*

*A toutes mes amies et mes collegues
que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon
cursus.*

Fadhila

Dédicace

Je dédie ce travail à Ma famille

*LICHIEKILIM Et aux personnes les plus chères au monde mes
chers*

parents ;

A ma très chère mère Fatima ;

*Tu es l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de
prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver*

t'accorder

, longue vie et bonheur.

A mon père Saad

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon
éducation*

*et mon bien être. Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis
pour mon éducation et ma formation.*

A mes chères soeurs: Inaam, Razika, Nesrine, Meriem

A la pensée de mes frères: Mohammed, belal,

Abderrahmane Youcef.

A la pensée de mes grands parents et mama khaira

*A mon binôme Fadhila qui a partagée avec moi les moments
difficiles de ce travail et son santé. famille*

Sans oublier mes chères amies et a Tous ceux qui ont connus.

Chahrazed

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Partie Bibliographique.

Chapitre I : Généralités sur la phytothérapie.....3

I. Historique de la phytothérapie.....3

II. Définition de la phytothérapie.....4

II.1. Phytothérapie traditionnelle.....4

II.2. Phytothérapie moderne.....5

II.3. Phytothérapie clinique5

III. Différents types de la phytothérapie.....5

IV. Place de la phytothérapie.6

IV.1. Dans le monde.....6

IV.2. En Algérie.....6

Chapitre II : Les huiles essentielles.....7

II.1 Définitions.....7

II.2. Répartition ,localisation , et fonction.....8

II.3. Origine..... 9

II.4. Propriétés physiques 10

II.5. Compositin chimique.....11

II.5.1. Terpénoïdes.....11

II.5.1.1. Monoterpènes12

II.5.1.2. Sesquiterpènes.....12

II.6. Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....13

II.7. Conservation des huiles essentielles13

II.8. Procédés d'extraction des huiles essentielles.....14

II.8.1. Extraction par expression à froid.....14

II.8.2. Extraction par distillation et entraînement à la vapeur d'eau.....15

II.8.3. Hydrodistillation ou distillation à l'eau15

II.8.4. Enfleurage16

II.9.Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles.....	17
II.9.1.Chromatographie sur couche mince	17
II.9.2.Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	18
II.9.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM) ..	18
II.9.4. chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	18
II.10. Usage des huiles essentielles.....	19
II.10.A.Parfumrie et cosmétologie.....	19
II.10.B.En pharmacie.....	19
II.10.C.En industrie agro-alimentaire.....	19
II.10.D.En industrie chimique.....	19
Chapitre III : Présentation des plantes étudiées.....	20
I.Famille Cistaceae	20
I.1. Présentation de la famille des Cistaceae.....	20
I.2.Classification des cistaceaes	20
II.Genre Cistus	20
II.1.Généralité sur le genre cistus.....	20
II.2. Espèces du genre Cistus.....	21
III.Identification botanique de <i>Cistus albidus</i> et <i>Cistus monspliensis</i>.....	22
III.1.Nom scientifiques.....	22
III.2.Nom vernaculaires	22
III.3.Etymologie.....	23
III.4.Classification des deux espèces.....	23
III.5.Propriétés morphologiques de deux plantes.....	23
III.6.Répartition géographique.....	24
A.Dans le monde.....	24
B.En Algerie.....	25
III.7.Principaux constituants chimiques.....	25
A. <i>Cistus monspliensis</i>	25
B. <i>Cistus albidus</i>	26
III.8. Usage traditionnel de deux plantes.....	28

Chapitre IV :Etude des activité biologique de ressource végétale.....	29
IV.1.Activité antimicrobienne	29
IV.2.Activité antioxydante	30
IV.3.Activité hypoglycemiante	30
IV.4.Activité anti-inflammatoire.....	31
IV.4.1.Physiopathologie inflamatoire.....	31
IV.5.Activité cicatrisante.....	33
IV.6.Activité antispasmodique	33
IV.7.Activité insecticide.....	34
Partie expérimentale	
Introduction et problématique	
Objectif du travail	
Chapitre I : Matériel et Méthode.....	36
I.Matériel	
I.1.Materiel végétal	37
I.2. Matériel de laboratoire.....	38
• Les équipements.....	38
• Les produits chimiques.....	38
• Materiel animal.....	39
II.Méthodes.....	39
II.1. Préparation des extraits	39
II.1.1.Extraction des huiles essentielles	39
II.1.2.Préparation de l'infusé	41
II.1.3. Extraction des polyphénols.....	42
II.2. Méthodes de caractérisation.....	43
II.2.1.Screnning phytochimique	43
• Identification de quelques métabolites secondaires.....	43
1.Anthocyanes.....	43
2. Tanins.....	43
3.Flavonoides	43
4. Alcaloides.....	44
5. Glucosides.....	44
6. Saponosides.....	44
7. Mucilage	44

8.Quinones libres	44
II.2.2. Etude des activités biologiques.....	44
A.Activité anti oxydante.....	44
B. Activité anti-inflammatoire	47
C. Activité antispasmodique.....	49
D. Activité hypoglycemiante.....	51
E.Activité antimicrobienne.	53
II.2.3. Méthode de caractérisation par spectroscopie à infra-rouge.....	58
III .Formulation galénique.....	59
Chapitre II : Résultats et discussion.....	61
I. Résultats	
I.1. Résultats des extractions réalisées.....	61
I.1.1. Rendement des huiles essentielles.....	61
I.1.2. Préparation de l'extrait des polyphénols	62
I.2. Screening phytochimique	62
I.3. Evaluation des activité biologiques.....	65
I.3.1. Activité anti-oxydante	65
I.3.2. Activité anti inflammatoire	67
I.3.3.Activité antispasmodique	69
I.3.4. Activité hypoglycemiante	70
I.3.5. Activité antibactérienne	72
A.Par l'huile essentielle du <i>Cistus monspiliensis</i>	73
B.Par les polyphénols totaux des deux plantes	74
I.4.Méthode de caractérisation par L'infra-rouge.....	76
I.5.Formulation galénique	77
I.5.1. Observation macroscopique	77
I.5.2.Observation microscopique	77
II. Discussion	78
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

ACTH	Adrénocortico-Trophique-Hormone.
Acétyl CoA	Acétyl Coenzyme A.
ADN	Acide Désoxyribonucléique.
AFNOR	Association Française de Normalisation
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens .
AIS	Anti-inflammatoire stéroïdien .
Alb	Albumine.
AMPC	Adénosine-Mono-Phosphate-Cyclique.
ARN	Acide ribonucléique
ATB	Antibiotique .
ATCC	Américan Type Culture Collection .
C.a	<i>Cistus albidus</i>
CCM	Chromatographie sur couche mince.
C.m	<i>Cistus monspeliensis</i> .
CMI	Concentration minimale inhibitrice .
COX	Cyclo-oxygénase.
CPG	Chromatographie en phase gazeuse .
CPG/IR	Chromatographie en phase gazeuse couplée au infra-rouge .
CPG/SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
CRP	Protéine C Réactive .
DL₅₀	Dose létale à 50%.
DMSO	Di-méthyl-sulf-oxyde .
DO	Densité optique .
DPPH	1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl .
Hapto	Haptoglobine.
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène .
ERN	Espèce réactive d'azote .
gp120	Gluco-protéine 120.
GSH	Glutathion.
HE	Huile essentielle.
HIV	Virus d'immunodéficience humaine.

HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Pression
HPMC	Hydroxy-Propyl-Méthyl-Cellulose.
iNOS	Oxyde nitrique synthase inducteur .
IR	Infra-rouge .
J-C	Jesus-christ.
LDL	Low Densité Lipoprotéine .
MDA	3-4Méthylénedioxyamphétamine.
MgSO₄	Thiosulfate de magnésium .
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate.
NCCLS	National Comité for Clinical Laboratory Standards .
NO	Oxyde nitrique .
OMS	L'organisation mondiale de santé .
ONOO-	Peroxynitrite .
ORO	Orosomucoïde.
PBP₂	Penicillin Binding Protein 2a.
PH	Potentiel d'hydrogène .
PPT	Polyphénols totaux .
RMN	Résonance magnétique nucléaire .
ROS /ERO	Espèce réactive d'oxygène .
SOD	Super Oxyde Dismutase.
UFC	Units forming colony .
UV	Ultra-violet .

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Fig 01	principales voies biosynthétiques des extraits volatils naturels.	10
Fig 02	Unité isoprénique .	12
Fig 03	Structures de base de quelques monoterpènes .	12
Fig 04	structure de base des sesquiterpène.	12
Fig 05	L'extraction des HE par l'expression à froid .	14
Fig 06	l'extraction des huiles essentielles par l'entraînement à la vapeur d'eau.	15
Fig 07	Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile .	16
Fig 08	l'extraction des huiles essentielles par l'enfleurage .	16
Fig 09	Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM .	17
Fig 10	répartition géographique du cistus monspiliensis dans le monde.	25
Fig 11	Schéma récapitulatif de démarche expérimental .	36
Fig 12	Carte géographique indique le lieu de récolt.	37
Fig 13	Dispositif d'extraction Clévenger ,laboratoire d'agro-alimentaire , SNV -BLIDA 1.	41
Fig 14	Dispositif d'extraction Clévenger ,laboratoire d'agro-alimentaire , SNV-Djelfa .	41
Fig 15	Schéma du protocole du préparation de l'infusée .	42
Fig 16	Le protocole de l'extraction des polyphénols.	43
Fig17	Equation du radical DPPH transformé en DPPH .	45
Fig 18	Protocole expérimentale de l'activité antioxydante.	46
Fig 19	gavage des souris.	49
Fig 20	l'injection de carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche.	49
Fig 21	la coupure des pattes des souris.	49
Fig 22	La patte oedémateuse du souris .	49
Fig 23	les pattes de souris dans des flacons en verre .	49
Fig24	gavage des souris par	50

Fig 25	l'injection intra-péritoniale de l'acide acétique .	50
Fig 26	souris présente des crampes musculaires .	51
Fig 27	Le gavage des lapins par un seringue .	52
Fig 28	prélèvement du sang et mesure de la glycémie .	53
Fig 29	préparation d'inoculum et l'ensemencement .	57
Fig 30	le dépôt des disques .	57
Fig 31	La mesure de l'halo d'inhibition à l'aide de pied à coulisse .	57
Fig 32	Les étapes de réalisation du test de l'activité antibactérienne.	58
Fig 33	Schéma simplifié d'un appareil de Spectrométrie infra-rouge .	58
Fig 34	Préparation de la phase huileuse.	60
Fig 35	Phase huileuse homogénéisée.	60
Fig 36	les phases à mélanger.	60
Fig 37	l'étape d'émulsifications.	60
Fig 38	Rendement en huiles essentielles pour les deux espèces étudiées .	61
Fig 39	l'extrait de polyphénole du ciste de Montpelier .	62
Fig 40	l'extrait de polyphénole du ciste blanchâtre.	62
Fig 41	l'activité anti-oxydante de l'infusé du <i>Cistus monspeliensis</i> .	65
Fig 42	l'activité anti-oxydante de l'infusé du <i>Cistus albidus</i> .	65
Fig 43	l'activité anti-oxydante du Vit C.	66
Fig 44	Résultat de l'activité anti-oxydante de VitC et de l'infusé de deux plantes investiguées .	66
Fig 45	Activité anti-inflammatoire de produit de référence et de l'infusé des deux plantes investiguées.	68
Fig 46	Résultat de l'activité antispasmodique des infusés de deux plantes et de produit de référence.	70
Fig 47	Résultat de l'activité hypoglycémisante .	71
Fig 48	Résultats des diamètres d'inhibition de l'huile essentielle du <i>Cistus monspeliensis</i> .	73
Fig 49	Expression de l'activité de l'HE du ciste de Montpelier sur quelques	73

	souches bactériennes testées .	
Fig 50	Résultats des activités antimicrobiennes des extraits polyphénoliques des plantes investiguées .	75
Fig 51	Expression de l'activité des extraits polyphénoliques du ciste de Montepelier ; et du ciste blanche sur quelques souches bactériennes testées	75
Fig 52	Spectre IR de Cistus monpliensis	76
Fig 53	Emulsion à base d'extrait des polyphénols .	78
Fig 54	lecture au microscope optique d'une goutte d'emulsion du Ciste blanche	78
Fig 55	lecture au microscope optique d'une goutte d'émulsion de ciste de Montepelier.	79

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau I	Caractéristiques physico-chimiques liées à la volatilité de quelques constituants odorants .	11
Tableau II	espèces les plus abondantes du genre cistus.	21
Tableau III	noms vernaculaires de deux espèces : <i>albidus, monspliensis</i> .	22
Tableau IV	caractéristiques morphologiques des deux espèces .	23
Tableau V	les parties des plantes étudiées, leurs formes et leurs usages traditionnal.	28
Tableau VI	Les équipements utilisés au niveau de laboratoire.	38
Tableau VII	liste des produits chimiques utilisés au niveau de laboratoire.	38
Tableau VIII	Description des différentes souches microbiennes testées .	54
Tableau IX	le rendement , la couleur et l'odeur des huiles essentielles des plantes investiguées .	61
Tableau X	Résultats des tests phytochimiques sur les infusés de deux plantes investiguées .	62
Tableau XI	Résultats de screening phytochimique.	63
Tableau XII	Résultats de l'activité anti-oxydante (DO et le pourcentage d'inhibition des différentes dilutions) des infusés de deux plantes étudiées.	65
Tableau XIII	Résultats de l'activité anti-inflammatoire .	67
Tableau XIV	Nombre des crampes musculaires des souris de chaque lots .	69
Tableau XV	Résultats de l'activité antispasmodique.	69
Tableau XVI	Résultats de l'activité hypoglycémiant.	71
Tableau XVII	Pourcentages de réduction du glycémie des trois lapins traités dans la même durée.	72
Tableau XVIII	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du Cm .	72
Tableau XIX	Résultats des activités antimicrobiennes des extraits polyphénoliques des plantes investiguées .	74
Tableau XX	Les pics repères dans le graphe .	75

Les remèdes naturels, et surtout les plantes médicinales, ont été pendant longtemps le principal, voir l'unique recours traditionnel pour soigner diverses pathologies, et comme matière première pour la médecine moderne {1}. Les plantes médicinales constituent un groupe numériquement vaste de plantes économiquement importantes. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), près de 6377 espèces de plantes sont utilisées en Afrique, dont plus de 4000 sont des plantes médicinales, ce qui constitue 60 % de la médecine traditionnelle en Afrique {2}.

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Elles produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes {3}.

Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE) connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire. La composition chimique des HE est assez complexe, les composés terpéniques et aromatiques représentant les principaux constituants. On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles. La nature de la fonction chimique du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques. {4}.

En Algérie, l'industrie pharmaceutique en général, mais également des médecins et des chimistes cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle. Leurs modes d'utilisation, leurs indications dans diverses pathologies ainsi que les principes actifs sont étudiés depuis plusieurs années {1}.

Les ressources végétales spontanées du nord algérien constituent une flore importante des espèces de plantes supérieures, dont une partie reste utilisée par les populations comme plantes médicinales ; la wilaya de Tipaza est une région méditerranéenne où les plantes médicinales suscitent un intérêt aussi bien par les habitants que par les scientifiques.

Pour contribuer à la recherche dans le patrimoine lié à l'utilisation des plantes spontanées en médecine traditionnelle, nous nous sommes fixés comme objectif dans ce travail, de valoriser quelques-unes de ces plantes issues de la région du Tipaza, qui vise à vérifier le bien-fondé de leurs usages par l'étude de certaines activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de deux plantes qui sont : *Cistus albidus* ; *Cistus monspliensis* appartenant à la famille des cistaceae.

Ces deux plantes sont largement utilisées en médecine traditionnelle en raison de leurs propriétés anti-oxydante ; anti-inflammatoire ; antispasmodique et anti- microbienne.

Notre objectif dans ce travail est de faire l'extraction des polyphénols totaux et les huiles essentielles des deux plantes et de faire par la suite la caractérisation physicochimique et l'étude de

Introduction générale

quelques activités biologiques anti inflammatoire, antispasmodique, antioxydantes , hypoglycémiantes et antimicrobienne .

Ce travail est subdivisé en deux parties :

La première est consacrée aux données bibliographiques qui est composée de 4 chapitres :

-Chapitre I : Généralité sur la phytothérapie.

-Chapitre II : Huiles essentielles.

-Chapitre III :Présentation des plantes étudiées.

-Chapitre IV :Etude des activités biologiques.

Dans la seconde partie (la partie expérimentale) nous avons décrit le matériel végétal étudié, puis les méthodes de préparation des extraits, de caractérisation physico-chimique, l'étude des activités biologiques, et enfin la formulation galénique d'une émulsion à base des extraits obtenus. Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion générale, les annexes et la liste des références bibliographiques.

La partie bibliographique

CHAPITRE I : GENERALITE SUR LA PHYTOTHERAPIE.

I .Historique de la phytothérapie :

Depuis des millénaires, l'utilisation des plantes fut le principal recours de l'homme pour lutter contre les maladies. Les premières traces connues des modes de préparation à base de plantes dont les vertus bénéfiques ont été transmises de génération en génération, remontent à plus de 6000 ans. Qu'est-ce qui a guidés les hommes à employer une plante plutôt qu'une autre? Le hasard ? La religion ? la superstition ? L'expérience, certainement, plusieurs théoriciens ont entrepris d'expliquer l'action des plantes sur l'organisme.{5}.

« Pour connaître une science, il faut en connaître le passé » Auguste Comte

Chez les premiers hommes, il est difficile de déterminer comment est née l'utilisation de certaines plantes : résultat de l'observation du règne animal, de la succession d'essais parfois infructueux, permettant l'accumulation d'un savoir qui serait ensuite transmis et enrichi au fil des générations, sont des hypothèses plausibles.

Le premier texte connu sur la médecine par les plantes est gravé sur une tablette d'argile, rédigé par les Sumériens en caractères cunéiformes 3000 ans av. J.-C; Ils utilisaient des plantes telles le myrte, le chanvre, le thym, le saule en décoctions filtrées.

Le Papyrus Ebers, du XVI^{ème} siècle av. J.-C. est le premier recueil connu consacré aux plantes médicinales. De loin le plus volumineux connu de l'Égypte ancienne avec « 110 pages », il fait référence à de plus anciens documents citant des dizaines de plantes accompagné d'un mode d'utilisation.

Les Grecs et les Romains utilisaient également de nombreuses plantes. C'est Hippocrate(460-. 377 av. J.-C.) qui différencie l'usage interne et l'usage externe et définit la notion de dose qui permet de distinguer la drogue du poison.On dénombre environ 230 plantes dans la Pharmacopée du *Corpus Hippocraticum* ; parmi lesquelles la Mandragore, la Jusquiame, l'Opium, la Bryone, la Mercuriale.

Les siècles suivants seront marqués par une extension de la science dans la médecine ainsi que par un approfondissement des connaissances des plantes et de leurs propriétés médicinales. ARISTOTE, scientifique et philosophe s'intéresse à l'anatomie et à la physiologie, son disciple THEOPHRASTE est, quant à lui, considéré comme le plus grand botaniste de l'Antiquité en étant l'auteur d'ouvrages considérables tels que « *Historia Plantarum* » et « *De Causis Plantarum* » dans

lesquels il réalise la première tentative de classification de plantes : leur description, leurs propriétés et les dangers qu'elles présentent.

Dans l'époque Romaine, on retient deux personnalités en particulier : le premier est DIOSCORIDE (au I^{er} siècle et d'origine grecque). Il décrira plus de six cents plantes dans son manuscrit «*DE Materia Medica* ».

La seconde grande figure médicale sera GALIEN (fin du II^{ème} siècle). Il attache une grande importance à la préparation des médicaments à base de plantes d'où le nom de pharmacie galénique qui est art de la formulation pharmaceutique. {6}.

Dès le 5^{ème} siècle chaque monastère possédait son hortulus composé d'au moins seize simples estimées nécessaires à la thérapeutique. On y trouve le lys, la rue, la tanaïs, la sarriette, la sauge, la rose, le fenouil, la menthe....

En 1635, Louis XIII crée à Paris le célèbre Jardin royal *des* plantes médicinales riche de plus de 2300 espèces végétales.

C'est au 18^{ème} siècle que les plantes acquièrent leur identité telle qu'on les connaît aujourd'hui, à savoir un double nom latin indiquant le genre et l'espèce. {7}.

II. Définition de la phytothérapie :

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs « *phyto* » et « *thérapie* » : qui signifient essentiellement « se soigner avec les plantes ». La phytothérapie ou bien « la thérapie par les plantes » continue à être demandée de façon importante, par des personnes qui place une confiance à cette médecine sans prise en compte du danger que ces plantes et herbes peuvent engendrer sur leur santé {8}, {9}.

La littérature scientifique distingue, sans systématiquement les opposer, l'approche traditionnelle et l'approche scientifique de la phytothérapie ;

II.1. Phytothérapie traditionnelle :

Elle relève du concept philosophique voire de l'idéologie pour certains, ou trouve sa justification dans l'empirisme pour d'autres, c'est la forme de phytothérapie la plus controversée.

Alors que dans cette approche, les plantes ou parties de plantes étaient utilisées tellesquelles, subissant de moindres transformations (macérations, infusions, alcoolats...). De même, l'observation de l'éventuelle activité d'une plante sur l'organisme ne pouvait être révélée que par la modification de la symptomatologie du patient.

De fait, l'approche traditionnelle revêt un caractère « intégral », « global » qui l'éloigne de l'approche médico-scientifique actuelle. Il n'en demeure pas moins que cette approche offre une échelle d'observation inégalée, tant sur la durée que pour le nombre de sujets.

II.2. Phytothérapie moderne :

Avec l'avènement de la chimie moderne, l'étude des plantes médicinales a permis de déterminer les mécanismes d'action régissant les propriétés thérapeutiques concédées par l'usage traditionnel, et a également ouvert la voie à l'utilisation de produits d'extraction ou de synthèse à base de plantes. Ces derniers révèlent une activité à la fois plus importante être productible, là où les plantes médicinales ont présenté de plus grandes variabilités d'efficacité qualitativement et quantitativement. Ainsi, les plantes médicinales en tant qu'outils thérapeutiques ont alors été peu à peu reléguées au statut de simples matières premières au profit de l'utilisation de principes actifs purifiés, héli-synthétisés ou synthétisés.

II.3. Phytothérapie clinique :

Cette approche de l'utilisation de la plante médicinale repense la prise en charge thérapeutique de façon originale :

- elle tient compte de l'état général du patient et d'un examen clinique approfondi et non pas uniquement de la symptomatologie du patient,
- elle conçoit la plante médicinale selon les données de la tradition et un usage validé par les connaissances scientifiques actuelles,
- elle utilise l'outil phytothérapeutique en exploitant l'ensemble de ses potentialités

Connues (synergie, utilisation de doses pondérées) afin de rétablir l'équilibre physiologique du patient. {6} .

III. Différents types de la Phytothérapie :

➤ **Aromathérapie:** est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes,

Ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

➤ **Gemmothérapie :** se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules.

➤ **Herboristerie :** correspond à 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, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.

- **Homéopathie** : a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.
- **Phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... {10}.

IV.Place de la phytothérapie

IV.1.Dans le monde :Le recours à la phytothérapie s'est répandu partout dans le monde et a gagné en popularité, non seulement les populations des pays en développement y ont accès mais aussi ceux des pays où la biomédecine occupe une grande place dans le système de santé. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% de la population mondiale compte toujours sur l'utilisation des plantes médicinales comme un premier traitement {11}.

En Europe, la phytothérapie a représenté le seul moyen de guérison, jusqu'à la fin du XIXe siècle et l'avènement de la chimie moderne. Encore importante au lendemain de la Seconde Guerre mondiale, elle a, ensuite, été rapidement remplacée par l'arrivée des médicaments de synthèse, forts de leur efficacité et de leur présentation prête à l'emploi. {12}.

Dans certains pays, notamment en Afrique, le recours à la médecine traditionnelle représente, souvent, une nécessité car les soins conventionnels demeurent onéreux. Parfois, la médecine traditionnelle et conventionnelle coexiste harmonieusement.

IV.2.En Algérie :La phytothérapie est très populaire, Elle gagne, de plus en plus d'adeptes, comme partout dans le monde. Nombreux sont ceux qui croient à la grâce de la nature, pour guérir surtout dans les grandes villes, il existe des herboristes, essentiellement au niveau des marchés et leurs étals sont fréquentés par un large public qui va être convaincu des bienfaits des médecines douces. {12}

Souvent, la clientèle est attirée par la personnalité du vendeur. En effet, certains herboristes s'expriment parfaitement, dans les trois langues arabe berbère et français ;ils ont l'assurance du thérapeute ils utilisent des références à des ouvrages internationaux.

Donc, ils délivrent, oralement, des véritables ordonnances, avec posologie, durée du traitement {13}.

En Algérie, la préparation officinale (la phytothérapie moderne) représente environ 01% de l'ensemble de préparation médicamenteuses {12} de fait que plusieurs plantes médicinales sont négligées dans notre pays.

Chapitre II : HUILES ESSENTIELLES

1-Définitions

❖ **Les plantes aromatiques** : Les plantes aromatiques sont, par définition, des plantes dont les tissus sécrètent suffisamment d'essence pour que celle-ci puissent être extraite et distillées. Elles contiennent les molécules aromatiques ou odorantes dans un ou plusieurs de ses organes producteurs : feuille, fleurs, fruits, graines, écorces, racines ... Toute plante à odeur n'est pas toujours une plante aromatique : le tilleul est un arbre odorant mais il n'existe pas d'huile essentielle de tilleul. {15}.

❖ **Essence** : L'essence c'est la substance aromatique naturelle que sécrète la plante dans ses organes producteurs. Pour être exacte, on parle d'essence de citron et non d'huile essentielle de citron, car elle n'a pas été distillée. Une essence et une huile essentielle sont deux substances différentes tant en nature qu'en composition, notamment en raison des modifications biochimiques que subit l'essence au cours de sa distillation. Toutefois dans l'usage courant le terme « essence » est souvent utilisé pour parler d'une huile essentielle. {15}.

❖ **Les huiles essentielles** : pour la 8^{ème} édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (=essence=huile volatile) sont : "des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés ; deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales : celui par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essence ou de certains de leurs organes, et celui par expression" La pharmacopée précise ensuite que le second procédé est recommandé pour obtenir les essences des fruits de genre citrus.

Plus récemment, La norme française AFNOR NF T75-006 (février 1998) définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. Et qui sont séparés de la phase aqueuse par procédés physiques »

Cette définition par procédé est restrictive : elle exclut aussi bien les produits obtenus par extraction à l'aide de solvants que ceux obtenus par tous autres procédés (gaz sous pression, enfleurage). {16}.

Donc ce sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement fortes, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression, par solvant ou par d'autres méthodes {17},{18},{19}.

Elles diffèrent par leurs propriétés physicochimiques des huiles fixes. Ces substances se trouvent généralement liées à d'autres composés comme les gommes et les résines et ont d'ailleurs même la tendance de se transformer en résine quand elles sont exposées à l'air libre {20} Jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière et attirer les insectes pollinisateurs {21}

❖ **Hydrolat aromatique** : L'hydrolat est l'eau distillée que l'on sépare de l'huile essentielle à la sortie de l'alambic après décantation. Il est plus ou moins aromatisé selon les plantes distillées car il se charge de molécules aromatiques au cours de la distillation. Les hydrolats contiennent sous forme naturellement dissoute certains composés aromatiques des huiles essentielles (moins de 5%). On trouve beaucoup les acides dans les hydrolats car ils sont hydrosolubles. Ce sont des composés très actifs et efficaces même à l'état de traces (anti-inflammatoire) {15}.

Les hydrolats sont utilisés de plusieurs manières : cosmétique, cuisine, mais surtout en "hydrolathérapie", la version douce de l'aromathérapie, mais à l'utilisation beaucoup plus simple, surtout pour les enfants. Les hydrolats sont des produits extrêmement sensibles à la lumière, à la chaleur, et aux pollutions microbiennes. Les hydrolats purs, c'est à dire sans aucun conservateur, ne peuvent se conserver qu'un an en étant stocké au frais. Il est donc indispensable de les acheter en connaissant la date d'obtention et les conditions de stockage jusqu'à votre achat. Il est également indispensable de vérifier que ces hydrolats sont purs et ne contiennent aucun conservateur. {22}.

2-Répartition, localisation et fonction :

Les HE n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Environ 1% des espèces élaborent des essences. {23}.

Ils n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces huiles essentielles sont connues sous le nom de plantes aromatiques, réparties dans un nombre limité de familles, ex : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc.... {16}.

Tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles en particulier les sommités fleuries (Lavande, Menthe). On les trouve aussi dans les écorces (Cannelier), les racines (Vétiver), les rhizomes (Gingembre), les fruits (Anis, Fenouil, Badiane), le bois (Camphrier), les feuilles (Citronnelle, Eucalyptus), les graines (Muscade) et les boutons floraux (clou de Girofle) {16}, {17}, {24}, {25}.

Les huiles volatiles peuvent être considérées comme des résidus du métabolisme végétal. Suite à la photosynthèse au niveau des chloroplastes, l'énergie produite (sous forme de glucides, NADPH et d'ATP) contribue au développement de la plante et indirectement à la biosynthèse de multiples composés secondaires parmi elles les huiles essentielles {26}.

La synthèse et la localisation des HE sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à HE ; poils sécréteurs ; poche sécrétrices ; canaux sécréteurs. {16}.

Si les organes d'une même espèce peuvent renfermer une HE, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation. {16}.

Les HE sont très recherchés, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes. Certaines ont des propriétés pharmaceutiques reconnues, d'autres sont utilisées comme bases de parfums ou comme additifs alimentaires {27}.

Elles ont plusieurs effets apparents utiles ; qui ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines par exemple le cinéole et le camphre, libérés dans l'atmosphère par *Salvia leucophylla* sont absorbés par le sol sec, inhibant la germination des espèces prairiales ainsi que la protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux {28}, {29}. Ils jouent un rôle de protection des plantes contre un excès de lumière {21}.

Certains auteurs pensent que les huiles essentielles pourraient avoir un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et favoriseraient ainsi la pollinisation {16}, {30}, {31}. D'autres auteurs affirment que les huiles essentielles jouent un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal et semblent aider la plante à s'adapter à son environnement.

Belaiche (1979) signale que l'utilité des huiles essentielles pour les plantes désertiques est liée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques permettent de saturer l'air autour de la plante empêchant, le jour, la température de l'air de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie végétale et la nuit de baisser de façon excessive.

Les essences pourraient constituer des supports à une communication et ce d'autant mieux que leur variété structurale autorise le transfert de messages biologiques sélectifs {16}, tandis que **Guignard et al. (1985)** {32} considèrent l'huile comme une source énergétique : « mis en réserve pendant le jour, elles seraient dégradées durant la nuit en acétyl CoA ».

3-L'origine : Plusieurs hypothèses ont été émises pour expliquer l'origine des huiles essentielles dans la plante. Actuellement, il est admis que deux voies métaboliques secondaires conduisent à la formation des principaux constituants des huiles essentielles :

- la voie de l'acide mévalonique qui conduit aux terpènes ;
- la voie de l'acide shikimique, précurseurs des composés aromatiques.

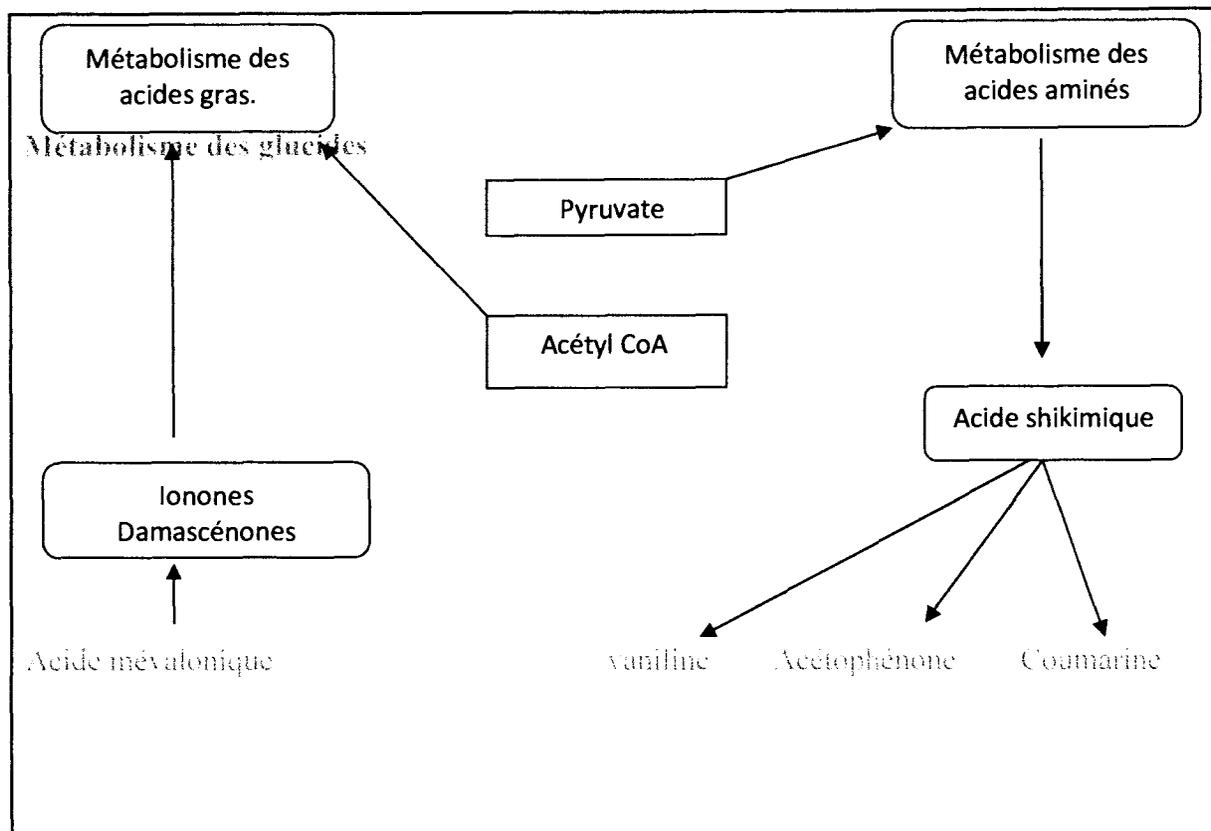


Fig.01:Principales voies biosynthétiques des extraits volatils naturels {33}.

4-Les propriétés physiques :

Les huiles essentielles sont des liquides à température ordinaire, d'odeur aromatique très prononcée, généralement incolores ou jaune pâle à l'exception de quelques huiles essentielles telles que l'huile de l'Achillée et l'huile de la Matricaire. Ces dernières se caractérisent par une coloration bleue à bleu verdâtre, due à la présence de l'azulène et du chamazulène {31}.

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînable à la vapeur d'eau ; il existe, cependant, des exceptions telles que les huiles essentielles de Sassafras, de Girofle et de Cannelle dont la densité est supérieure à celle de l'eau. Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire {24},{34},{35}.

Selon **Garnero (1996){36}** : une densité inférieure à 0.9 indique la présence, dans cette huile, de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques.

Les huiles essentielles s'évaporent et se volatilisent à température ambiante. Très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs, cette eau est dite «eau distillée florale ».

Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques {24},{16}, {31}{25} .

Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires par exemple les points d'ébullition du caryophyllène, du géraniol, du citral et du α -pinène sont 260°, 230°, 228° et 156°C respectivement {31} mais d'après *Valnet (1984)*{18} ce point varie de 160°C à 240°C.

Les huiles essentielles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène, en même temps, leurs odeurs se modifient, leurs points d'ébullition augmentent et leurs solubilités diminuent. Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode en dégageant de la chaleur{34}.

Composé	Formules	Poids moléculaire (M _r)	Point d'ébullition à 760 mmHg (°C)	Tension de vapeur calculée à 373°K (mmHg)	Rapport d'entraînement 760 mmHg (mole d'he/mole de l'eau)
α pinène	C ₁₀ H ₁₆	136	155,0	141,0	1/4,4
β pinène	C ₁₀ H ₁₆	136	158,3	120,0	1/5,3
limonène	C ₁₀ H ₁₆	136	175,0	72,6	1/9,5
carvone	C ₁₀ H ₁₄ O	150	227,5	9,6	1/78,2
Carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	150	237,0	5,3	1/142,4
camphr	C ₁₀ H ₁₆ O	152	209,2	20,0	1/37,0

Tableau I :Caractéristiques physico-chimiques liées à la volatilité de quelques constituants odorants {37}.

5-La composition chimique : Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et il en reste beaucoup à découvrir{38}. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes :

le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils {16}.

5-1-Les terpénoïdes : Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principal de formule (C₅H₈)ⁿ selon la variation de nombre n, dont les composés monoterpènes, diterpènes, triterpènes, sesquiterpènes, ...{19}.

Seuls les terpènes dont la masse moléculaire est relativement faible (mono – et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles{16}et leur confère un caractère volatil et est à la base de leurs propriétés olfactives {39}.

Ils sont constitués d'un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés.

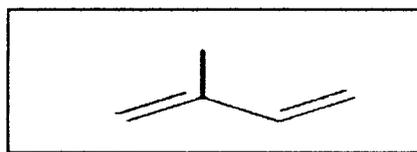


Fig.02 :Unité isoprénique {40}.

5-1-1-Les monoterpènes :Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est $C_{10}H_{16}$ {41}. Ces composés peuvent être : monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques (α - et γ -terpinène, p-cymène) et aux monoterpènes bicycliques (pinènes, Δ^3 -carène, camphène, sabinène) ; ils constituent parfois plus de 90% de l'HE. {16}.

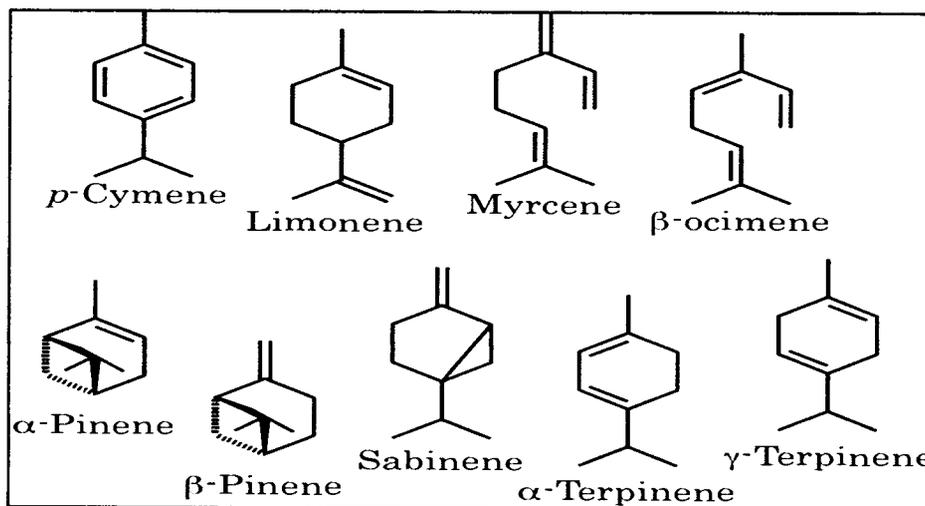


Fig.03 : Structures de base de quelques monoterpènes {42}.

5-1-2- Les sesquiterpènes :Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est $C_{15}H_{24}$ {17}. Ils présentent une grande variété dans les structures conduisant à un nombre élevé de possibilités, ce qui a retardé l'élucidation de leurs structures {41}.

Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène, α -zingibèrene) ou polycycliques (matricine, artéannuine, β ,artémisinine) {16}.

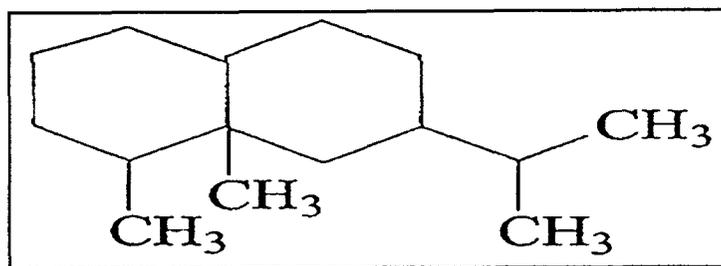


Fig.04 : structure de base des sesquiterpènes{42}.

6-Les facteurs de variabilité des huiles essentielles :

La présence ou l'absence de certains constituants dans la plante dépend de l'un ou de la combinaison de trois facteurs (le patrimoine génétique, l'âge et l'environnement de la plante).

En effet, l'influence des facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité, l'altitude et latitude, la nature du sol sur la composition chimique et le rendement des huiles essentielles a été décrite {42},{43}. Le mode de récolte, les conditions de transport, séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques {44}. Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (l'acidité, température) et de la durée d'extraction. D'autres facteurs tels que les traitements auxquels on peut procéder avant ou pendant l'hydrodistillation (broyage, dilacération, dégradation chimique ou enzymatique, pression, agitation) contribuent à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle; {45},{46}.

❖ Chémotype :

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce. En effet une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera ;

Ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes, types biogénétiques, races chimiques ou races biologiques.

Biochimiquement différent, deux chémotypes présenteront non seulement des activités thérapeutiques différentes {47} mais aussi des toxicités très variables {48}. La non-connaissance de cette notion capitale et le manque de précision laissent la porte ouverte aux échecs thérapeutiques et à la toxicité de certaines d'entre elles {49}.

7-Conservation des huiles essentielles

L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate {50}, Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles :

-La température : obligation de stockage à basse température (entre 8 °C et 25 °C).

-La lumière : stocker dans l'obscurité et dans un récipient opaque, brun de préférence.

-L'oxygène : les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche, il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants. La durée de conservation admise est de 2 à 5 ans.

8-les procédés d'extraction des huiles essentielles :

La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible, voire infime. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle.

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal.

Il existe différents procédés d'extraction, mais Le choix de la technique dépend principalement de la matière première : son état originel et ses caractéristiques, sa nature proprement dite. Le rendement « HE/matière première végétale » peut être extrêmement variable selon les plantes {51}.

Les huiles essentielles sont extraites principalement par deux méthodes de distillation et une méthode d'expression à froid {46}:

- L'expression à froid (cas particulier des agrumes).
- L'entraînement à la vapeur de l'eau.
- L'hydrodistillation.

8.1 Extraction par expression à froid

Il s'agit du procédé d'extraction le plus simple et le plus limité. C'est une méthode artisanale qui est totalement abandonnée. Les plantes sont pressées à froid (notamment les agrumes : citron, orange, etc.) de l'écorce ou des fruits. {52}.

Cette technique consiste à briser mécaniquement les poches oléifères de zestes frais d'agrumes pour libérer leur contenu aromatique

Le produit obtenu se nomme « essence » et non huile essentielle, car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur d'eau n'a lieu. {53}.



Fig.05 :L'extraction des HE par l'expression à froid{54}.

8.2 Extraction par distillation et entraînement à la vapeur d'eau

Il s'agit de l'un des procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques les plus anciens, apporté par les Arabes au IXe siècle. Cette opération s'accomplit dans un distillateur ou « alambic ». Le matériel végétal est supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat. Les parties insolubles sont séparées de l'eau par décantation pour donner l'huile essentielle. {17}.

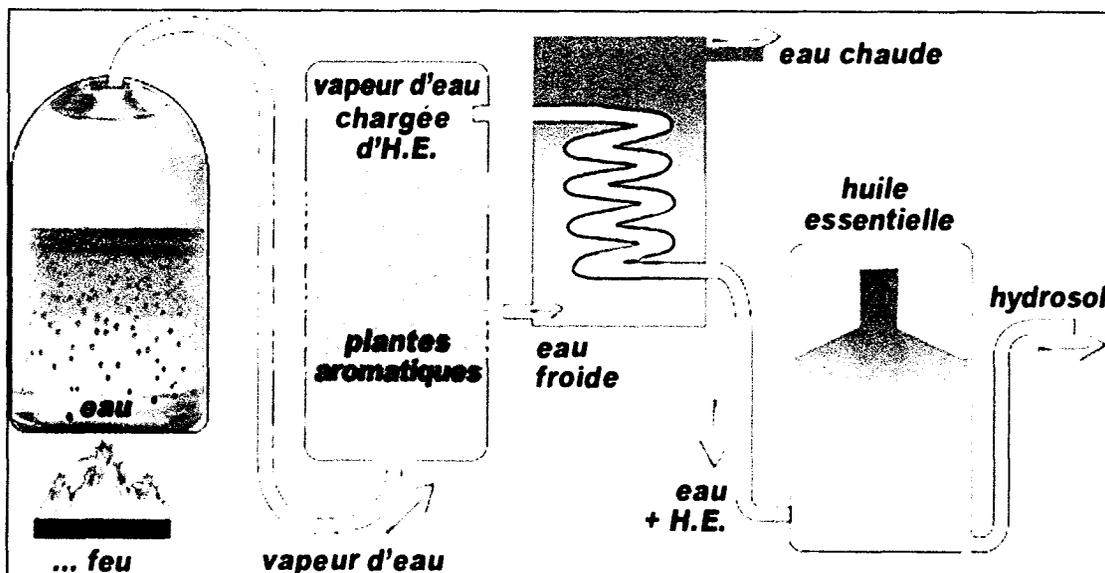


Fig.06 : l'extraction des huiles essentielle par l'entrainement à la vapeur d'eau..{54}.

8.3 Hydrodistillation ou distillation à l'eau

Le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. {16}.

Cette méthode est généralement indiquée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est la non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de la couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation.

{55}.

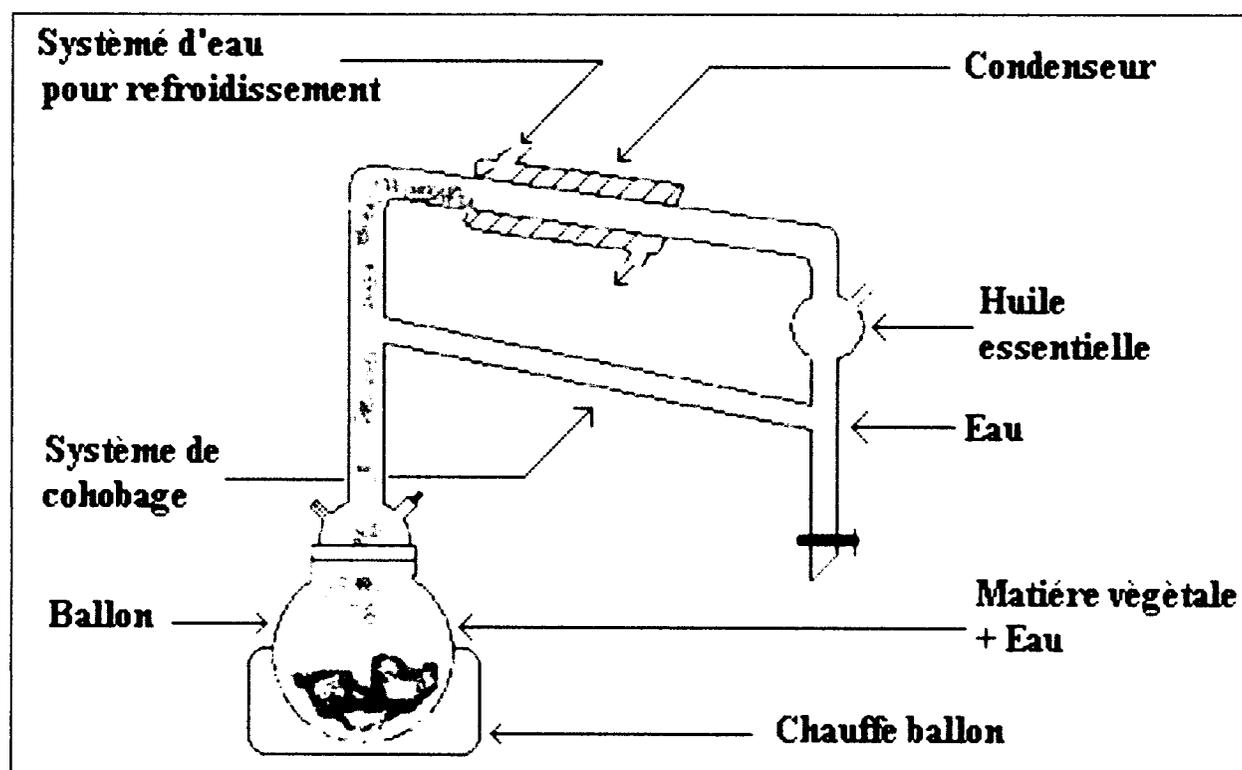


Fig.07:Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile{56}.

Il ya des autres méthodes telle que :

8.4 L'enfleurage

L'enfleurage est une technique qui date de l'Antiquité égyptienne. Elle consiste à déposer des plantes en particulier les organes fragiles (fleurs d'oranger, pétales de rose) sur une couche de graisse animale qui se sature en essence. On épuise ensuite le corps gras par l'alcool qui récupère les senteurs et qui sera ensuite évaporé sous vide. {17}.

Cette technique est actuellement abandonnée au profit de l'extraction par les solvants en raison de son faible rendement et de l'importante main d'œuvre qu'elle nécessite. {57}.



Fig.08 : l'extraction des huiles essentielles par l'enfleurage..{54}.

9-Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles :

Quelque soit le domaine d'utilisation des huiles essentielles (parfumerie, cosmétique, industrie pharmaceutique et agroalimentaire), une parfaite connaissance de leur composition chimique est nécessaire pour en contrôler la qualité et y déceler une éventuelle spécificité en vue de leur valorisation.{58}.

Ainsi l'analyse des huiles essentielles, qui consiste en des méthodes de séparation et d'identification des composants, reste une étape importante et complexe, de par son très grand nombre de constituants chimique volatils mais aussi, souvent, de par l'importance des composés à l'état de traces qui font le caractère spécifique de l'huile{59}.

Cependant, elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques.

La chromatographie est le procédé fréquemment utilisé pour séparer les constituants des huiles essentielles. Elle se base sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions et de leurs désorptions successives sur la phase stationnaire, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase {60} Plusieurs méthodes existent :

9-1- Chromatographie sur couche mince : La CCM (**Fig09**) est utilisée comme technique de routine, pour l'analyse rapide de fractions obtenues à la suite d'une séparation initiale. L'efficacité de la CCM comme technique de séparation est souvent mise à profit dans la phase ultime de purification, au moins sur de faibles quantités, lorsque les autres techniques ont montré leurs limites {61}.

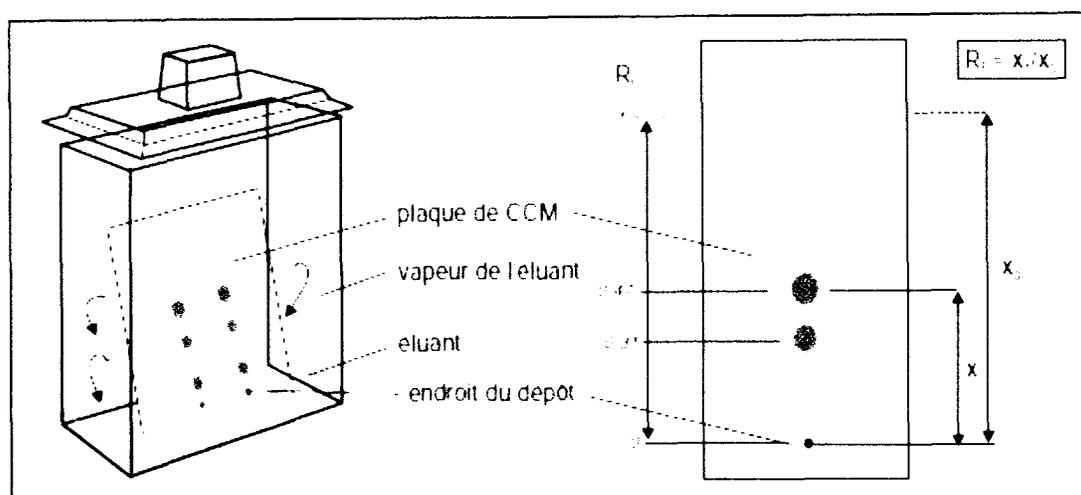


Fig.09: Chambre de développement à cuve verticale et plaque de CCM{62}

9-2-Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :

Elle s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur. Le principe de la chromatographie en phase gazeuse basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...), on parle de chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption {63}.

La CPG permet une évaluation quantitative et qualitative de la composition chimique des huiles essentielles. Elle présente de nombreux avantages : facilité de mise en œuvre, temps d'analyse assez court et fiabilité des résultats {16}.

9-3-Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM) :

Le but de combiner entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM, après séparation chromatographique, est d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique. {64}.

Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. {16} L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (R_r) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres. {65}.

9-4-La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :

Cette technique est indiquée pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour effectuer des préfractionnements. Elle peut être couplée également à un analyseur de masse. {16}.

La chromatographie liquide à haute performance utilise une phase stationnaire très fine et une phase mobile liquide circulant sous l'effet d'une haute pression. Après la séparation des différents constituants de l'échantillon, un ordinateur assure l'acquisition et le traitement des données. {63}.

10-L'usage des huiles essentielles : Les applications des huiles essentielles sont nombreuses, les plus importantes sont leurs utilisations en parfumerie, en cosmétologie, dans l'agro-alimentaire, dans l'industrie pharmaceutique et chimique.

A- Parfumerie et cosmétologie : La parfumerie est le débouché principal des HE, des concrètes, des absolues et autres rétinoides. Les huiles essentielles servent aussi en hygiène, en esthétique corporelle sous forme de lotions, d'eaux florales, de crèmes, de gels, de pommades, etc.

B-En pharmacie : L'industrie pharmaceutique utilise les HE dans le domaine des antiseptiques externes ; grâce à leurs propriétés : bactériostatique ; bactéricide ; antifongique ; ...

Elles sont également utilisées pour l'aromatization des formes médicamenteuses destinées à la voie orale.

C- L'industrie agro-alimentaire : L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût des aliments, pour parfumer et colorer. Le secteur des boissons gazeuses s'avère un gros consommateur d'huiles. Aussi, les fabricants d'aliments préparés les utilisent de plus en plus parce que le nombre de produits augmente et le consommateur recherche d'avantage les produits avec des ingrédients naturels. Elles sont des concentrés à odeur et saveur très agréables qui présentent une alternative à l'usage des plantes entières qu'il s'agisse de la menthe, du citron, du thym, du basilic, etc...

Dans ce secteur, les volumes d'huiles essentielles peuvent être très importants. L'huile la plus utilisée dans le monde est l'huile essentielle d'orange.

D- l'industrie chimique : Elle utilise des isolats (substances pures isolées des huiles essentielles), comme matière première pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, etc. {16}.

CHAPITRE III : PRESENTATION DES PLANTES ETUDIEE.

I- Les Cistacées :

I-1-Présentation de la famille des Cistacées :

Les cistacées sont une famille de plantes dicotylédones difficile à étudier, originaire du bassin Méditerranéen, d'Asie occidentale, d'Afrique du nord, et secondairement d'Amérique, qui comprend près de deux cent espèces regroupées en 8 genres déterminée à partir de l'étude des Fruitset des stigmates : Cistus, Helianthemum, Fumara, Halimum, Lechea, Tuberaria, Hidsonia, Crocanthemum {66},{67}.

I-2-Classification des Cistacées :

Source: J.L. GUIGNARD et L. DUPONT (2007) (28).

- Règne : végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Eudicotylédones
- Sous-classe : rosidées
- Ordre : Malvales
- Famille : Cistacées.

II-Le genre cistus :

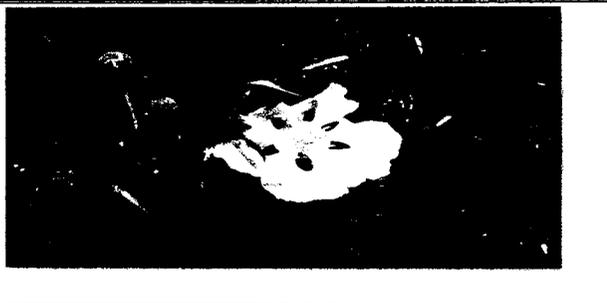
II.1.Généralité

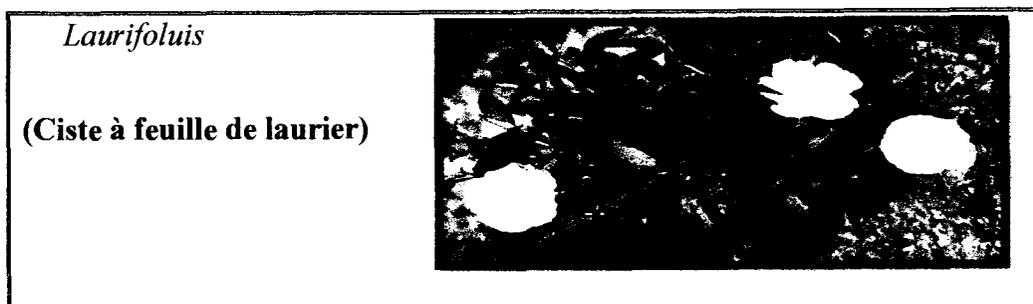
Les espèces du genre cistus possèdent des feuilles simples, opposées, sans stipules, ovales, duveteuses. Les fleurs sont hermaphrodites, solitaires ou réunies en inflorescences et le calice persistant est composé de trois à cinq sépales. Les pétales sont au nombre de cinq et forment une corolle éphémère.

Leurs couleurs vont du blanc au jaune, à l'orange et au rose, les étamines sont nombreuses et toujours libres, l'ovaire est supère et le fruit est une capsule de deux à dix loges et valves, à plusieurs graines tétraèdres ou subtrigones renferment une plantule enroulée ou spiralée. La floraison abondante du genre cistus se produit au printemps. {65}.

II-2-Les espèces du genre *Cistus* :

Tableau II : Les espèces les plus abondantes du genre *cistus*68}.

<p><i>Ladaniferus</i> (Ciste à gomme)</p>	
<p><i>Monspliensis</i> (Ciste de montpellier)</p>	
<p><i>Salviifolius</i> (Ciste à feuille de sauge)</p>	
<p><i>Albidus</i> (ciste cotonneux)</p>	
<p><i>Creticus</i> (Ciste de Crète)</p>	



D'autres espèces sont présentes en moindre abondance :

Cistus populifolius (Ciste à feuille de peuplier), *Cistus crispus*, *Cistus hirsutus*, *Cistus bourgeanus*, *Cistus pouzolzii*, *Cistus heterophyllus*, *Cistus parviflorus*, *Cistus albanicus*, *Cistus palhinhae*, *Cistus clusii*, *Cistus libanotis*.

Dans ce travail, on se concentre sur l'étude de deux espèces principaux du genre cistus qui sont : *cistus albidus* et *cistus monspeliensis*. Ceux derniers ont été largement étudiés en raison de leur variété d'utilisation et d'activités thérapeutiques importantes.

III-Identification botanique de *Cistus albidus* et *Cistus monspeliensis* :

III-1--Les noms scientifiques : *Cistus albidus*.

Cistus monspeliensis.

III-2-Les noms vernaculaires :

Tableau III: les noms vernaculaires de deux espèces : *albidus*, *monspeliensis*.

Langue	<i>Cistus monspeliensis</i>	<i>Cistus albidus</i>
Arabe	-Oum aliya أم العالية -tuzzalabéda{71}	-Tuzzala. Bou chikhe. Ataï. {70}
Berbère	Tam itibt	
Français	Cistede montpellier ou fleur d'un jour.	Ciste cotonneux, ciste blanchâtre {69}
Anglais	Narrow-leaved cistus {69}	Rock rose, white dart
Espagnol	Jaguarso	Jarablanca
Italien	Cisto di Montpellier,	Musseghe, Nasco

III-3-Etymologie :Le nom de genre “Cistus”vient du grec“kistos”qui signifie capsule ou panier en allusion aux fruits capsulaires.

Le mot latin “albidus”, signifiant « blanchâtre», fait référence aux feuilles duveteuses caractéristiques et non aux fleurs qui sont de couleur rose.

Monspeliensis fait référence au lieu d’origine de la plante : Montpellier{72}.

III-4-la classification des deux espèces :

La position taxonomiqueest la suivante selon *Guignard 2001*{73}.

- règne : végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement :Angiospermes
- Classe : Eudicots
- Sous-classe : Eurosidiées II
- Ordre : Malvales
- Famille : Cistacées
- Genre : Cistus
- Espèce : monspeliensis, Albidus

III-5-Les propriétés morphologiques de deux plantes :

TableauIV : caractéristiques morphologiques des deux espèces. {69}.

Cistus albidus	Cistus monspeliensis
1-arbrisseau de 30 à 100cm, chaméphyte, sempervirent. plante blanche cotonneuse ; peu odorante ;	1-Arbrisseau atteignant 1cm ; chaméphyte, sempervirent.
2-feuilles sessiles, demi-embrassantes, non cannelées, entières, planes, ovales, oblongues, obtuses, vert blanchâtre, très tomenteuses sur les deux faces, avec à la face inférieure 3à5 nervures saillantes anastomosées.	2-rameau ; pédoncules et calices velus et visqueux ;
3-grandes fleurs rose vif à pourpre (5-6 cm de diamètre), terminales, pédonculées, solitaires ou par 2ou3foisombelle ;	3-feuilles sessiles ; lancéolées ou linéaires, rugueuses, roulées en dessous par les bords, fortement réticulées, à3 nervures ;
4-Sépales velus, pétales 2-3 fois plus longs que les sépales ;	4-fleurs de 2-3cm de diamètre, blanches, disposées par 2à8 en grappes unilatérales, portées par un pédoncule toujours dressé ;
5-Capsules ovoïdes, velues, plus courtes que	5-sépales ovales, en cœur, égalant le pédicelle ; pétales deux fois plus longs que les sépales ;

les sépales .	6-capsules arrondies à 5 loges, presque glabres, 2-3fois plus courtes que le calice ; Graines peu rugueuses.
Hermaphrodites ; floraison : mai à juin ; polonisée par les insectes ; dispersée par les animaux.	
	
	
<i>Cistus albidus</i>	<i>Cistus monspeliensis</i>

III-6-Répartition géographique :

A - **Dans le monde** : Les Cistacées sont des plantes herbacées habitant la région méditerranéenne d'Europe et dans certaines de ses îles (Sardaigne, Sicile et Corse), d'Asie et d'Afrique en particulier : Algérie, Tunisie et le Maroc.

Cistus monspeliensis: est une espèce commune en France, en Afrique du Nord, à Chypre et sur les Iles Canaries à relativement basse altitude (<1000 mètres). Elle affectionne particulièrement les terrains riches en éléments meubles et colonise les terrains parcourus par les incendies. Sa présence apparaît beaucoup plus liée à la nature physique qu'à la nature chimique du milieu, elle est très abondant en Corse, notamment à basse et moyenne altitude (étage meso-mediterraneen).

Cistus albidus : On le trouve sur tout le pourtour méditerranéen : Sardaigne, Italie, Baléares, Espagne, Portugal et Algérie. En Corse, cette espèce a été observée pour la dernière fois dans les

années 30 et n'a plus jamais été signalée, elle pousse dans les garrigues et sur les coteaux surtout calcaires. {69}.

B - En Algérie : la famille des cistacées est répandue dans les régions chaudes et ensoleillées, arides à semi-arides (TIPAZA, TLEMCEN ...).

Les cistes résistent à des températures hivernales avoisinant les -15 °C. Ils sont très résistants à la sécheresse et ces espèces en particulier tolèrent aussi des périodes d'humidité courte, espèces à comportement héliophile. {65}.

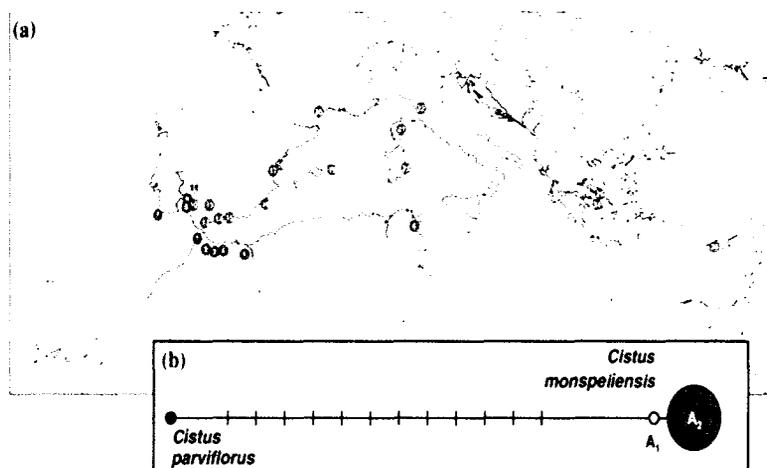


Fig.10 : répartition géographique du *cistus monspeliensis* dans le monde. {74}.

III-7-Les principaux constituants chimiques :

A-*Cistus monspeliensis* :

L'étude d'une concrète obtenue à l'éther de pétrole de *Cistus monspeliensis* d'Italie a permis à *Berti et coll* ; d'identifier deux nouveaux diterpènes à squelette clérodane : le cistodiol, et l'acide cistodioïque ; ainsi que trois autres constituants le méthyljaranol, le 7,4'-diméthylapigénine et le labdane-8a,15-diol.

Par la suite, à partir du même extrait, ils ont identifié le docosan-1-ol, l'oxyde de 13-épi-manoylène et un alcool triterpénique le b-sitostérol.

Dans une étude plus générale réalisée sur le genre *Cistus*, *Tabacih-Wlotzka et Bard* ont étudié des fractions neutre et acide d'une concrète de *Cistus monspeliensis* de France obtenue à l'éther de pétrole. Celle-ci est constituée principalement de composés à squelette cistane

- la fraction acide contient deux hydroxy acides : l'acide 18-hydroxyciste-3(4)-ène-15-oïque (45%) et l'acide 15-hydroxyciste-3(4)-ène-18-oïque (8%)
- La fraction neutre contient le ciste-3(4)-ène-15,18-diol (17%) et l'acide 18-acétoxyciste-3(4)-ène-15-oïque (27%).

Les composés à squelette labdane sont représentés dans la fraction acide par l'acide labdanolique et dans la fraction neutre par le labdane-8a,15-diol (15%) et le 15-acétoxy- labdan-8a-ol (5%).

Gulz et coll. sont les auteurs des premiers travaux réalisés sur l'huile essentielle de *Cistus monspeliensis*. Dans la fraction hydrocarbonée, ils ont mis en évidence la présence de plusieurs composés di terpéniques (dont l'un, non identifié, présent à une teneur de 41,8%) ainsi que de nombreux alcanes normaux : l'heptacosane (9,4%), le nonacosane (8,6%) et le tricosane (3,6%).

Au total, ce sont 43 constituants représentant 79,4% de la composition chimique totale qui ont été identifiés. L'étude par RMN du carbone-13 a permis d'identifier sans ambiguïté huit di terpènes, par exemple ; l' α -kaurene, l'oxyde de manoyle et son épimère, le labdan-8a,15-diol, lescarole, l'oxyde de sclareol et l'ambrox. Un diterpène hydrocarboné, non décrit dans la littérature, le 9-géranyle-para-cymène a également mis en évidence par comparaison des déplacements chimiques des carbones avec ceux d'autres molécules.

Plus récemment, **Robles et coll.** ont effectué une étude comparative des huiles essentielles préparées à partir de *Cistus monspeliensis* poussant en Provence sur sols calcaires et siliceux. Les analyses ont été réalisées par CPG et CPG/SM. La principale différence ayant été mise en évidence est la présence d' α -cadinol et d' α -bisabolol en proportion plus importante dans les huiles essentielles de plantes poussant sur des sols calcaires. Outre ces deux composés, les auteurs ont identifié l'oxyde de 13-épi-manoyle, le tricosane et l' α -ionone.

Enfin en 2001, **Angelopoulou et coll.** ont étudié par CPG et CPG/SM les huiles essentielles et les extraits à l'hexane de fruits et de feuilles de *Cistus monspeliensis* de Grèce.

Les composés majoritaires des huiles essentielles de feuilles sont : l'oxyde de manoyle (5,4%), l'oxyde de 13-épi-manoyle (39,7%), et le kaur-16-ène (18,5%), et dans les huiles essentielles de fruits : les deux oxydes de manoyle (20,3%) et l'heptacosane (28,7%). Les composés présents dans les extraits à l'hexane sont principalement des diterpènes à squelette clerodane. Le constituant majoritaire n'a pas été identifié, il est présent dans les extraits de feuilles et de fruits respectivement à des teneurs de 78,6% et 52,8%. Le produit majoritaire en second est, dans les extraits de feuilles, un autre composé non identifié (18,4%) tandis que dans les extraits de fruits, c'est l'acide 18-acétoxykolavan-3-ène-oïque.

B-*Cistus albidus* :

Il y'a très peu d'études chimiques ont été réalisées sur son huile essentielle. À notre connaissance, la première étude sur *Cistus albidus* d'Espagne a été réalisée par **DePascual Teresa et coll.** en 1978, Ils ont analysé un extrait à l'hexane et y ont trouvé :

- une fraction acide (15%), constituée par des acides gras et par l'acide labdanolique ;

- une fraction phénolique (0,6%), constituée de flavonoïdes dont la plupart ont également été identifiés dans les autres espèces de cistes : jaranol, 3-méthylkampférol, genkwanine et naringenine (5, 7,4'-trihydroxyflavanone) ;

- une fraction neutre (une cire, 84%) constituée de composés tri terpéniques non identifiés (présents en faible quantité), d'acides gras et d'alcools tels le b-sitostérol, ledammarénodiol II, le diptérocarpol, l'ocotillol II, le fouquierol ou encore l'isofouquierol.

En 1998 et 2000, *Llusià et Peñuelas* ont constaté que *Cistus albidus* émettait un pourcentage important de composés organiques volatils dont les deux plus abondants sont le (E)- β -caryophyllène et le limonène suivis du 2- δ -carène et du β -pinène. Ils ont également constaté que les taux d'émission étaient beaucoup plus importants en automne qu'au printemps.

En 1998, *Robles et coll.* ont conduit une étude comparative des huiles essentielles de *Cistus albidus* en fonction du lieu de pousse (sol calcaire ou solsiliceux) et il semblerait que la nature du sol soit, au niveau qualitatif, sans influence sur la composition chimique. En effet, ces auteurs identifient quatorze constituants par CPG et CPG/SM et dans les deux cas, les composés majoritaires sont : l' α -zingibérène, le β -cadinène et l' α -curcumène. Toutefois, les plantes poussant sur sols calcaires sont plus riches en allo-aromadendrène et (E)- β -caryophyllène et plus pauvres en α -zingibérène que les plantes poussant sur des sols siliceux.

En 2005, *Palá-Paúl et coll.* ont étudié les variations saisonnières de la composition chimique des huiles essentielles de feuilles (récoltées en hiver et au printemps) et de fleurs (récoltées au printemps) de *Cistus albidus* d'Espagne. Par CPG/Ir et CPG/SM, ils identifient 38 constituants représentant respectivement entre 62 et 66% des compositions chimiques de ces huiles essentielles. Les auteurs n'ont pas noté de variation saisonnière significative ; aussi bien en hiver qu'au printemps, les constituants majoritaires des huiles essentielles de feuilles sont l' α -zingibérène, l'aromadendrène, l' α -curcumène et le gualiol alors que ceux de l'huile essentielle de fleurs sont l' α -cadinol, l' α -zingibérène et le δ -cadinène. Pour expliquer la présence importante d' α -cadinol dans les huiles de fleurs, ces auteurs supposent que l' α -cadinol facilite la pollinisation et qu'il est impliqué dans les mécanismes allelopathiques. {65}, {75}.

II-8-L'usage traditionnel de deux plantes :

Tableau V : les parties des plantes étudiées, leurs formes et leurs usages traditionnel {70},{76}.{72},{77}.

La plante	La partie utilisée de la plante	Le mode d'emploi.	L'usage traditionnel
<i>Cistus albidus</i>	Les feuilles	-Décoction.	-Douleurs gastriques. -Hypoglycémiant.
		-Cataplasme	-Contre l'abcès.
		-Infusion dans du thé.	-Digestif.
		-Cru.	-Affections cutanées/digestifs.
Cistus monspeliensis	Plante entière	-Décoction en cataplasme.	-Traitement des blessures.
	Les fleurs	-Décoction	-Douleurs d'estomac.
	Les branches	-Décoction	-Contre l'asthme.
	Les feuilles	-HE	-Antihémorragique ; cicatrisante ; antiride.
		-Cataplasme	-Lutte contre les insectes.
		-infusion	-affection digestif ; diarrhée. -Hypoglycémiant. -Amaigrissant (pour faire le régime). -la fatigue ; maux de tête.
	Les graines	-épice	-Apéritif.

CHAPITRE IV : ETUDE DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES PLANTES ETUDIEES

A-Activité anti- microbienne :

De nombreuses études ont été réalisées en vue de l'estimation du pouvoir antiseptique des huiles essentielles depuis très longtemps.

Beaucoup d'articles scientifiques sont publiés chaque année par des médecins, des pharmaciens, des biologistes et des chercheurs qui travaillent sur les multiples propriétés des huiles essentielles et l'intérêt s'est porté tout particulièrement sur leur activité antimicrobienne.

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large due principalement à leur grande affinité aux lipides membranaires grâce à leur nature hydrophobe {78} Très peu d'études portant sur le mode d'action des huiles essentielles vis-à-vis des microorganismes ont été réalisées. En général les huiles essentielles empêchent la multiplication, la sporulation et la synthèse des toxines des bactéries. Sur les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudo mycélium. Sur les moisissures, elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium et la toxicogénèse {79}.

En effet, de nombreux composés d'origine végétale ont déjà démontré des propriétés antimicrobiennes. Ils agissent selon plusieurs mécanismes à savoir :

- La formation de complexes avec des macromolécules telles que les protéines et les polysaccharides inhibant ainsi leurs fonctions (**polyphénols**).
- La rupture des membranes microbiennes (**flavonoïdes lipophiles terpénoïdes, défensives**).
- L'inhibition de l'adhésion de protéines microbiennes aux récepteurs polysaccharidiques de l'hôte (**polypeptides**).

Les plantes médicinales fournissent également des composés qui n'ont pas nécessairement un effet direct sur les microorganismes, mais qui augmentent ou restaurent l'activité des antibiotiques en inhibant les mécanismes de résistance. Ces composés appartiennent à diverses classes phytochimiques et agissent comme :

- Inhibiteurs des pompes à efflux (**flavonoïdes, terpénoïdes, alcaloïdes**).
- Inhibiteurs des PBP 2a (**quinones, terpénoïdes**),
- Provoquant la perméabilité des membranes bactériennes (**terpénoïdes**)
- Inhibiteurs des bêtalactamases (**alkyls gallates**).

B-Activité antioxydante :

Les espèces de *Cistus* ont révélé la présence de plusieurs Composés phénoliques essentiellement des flavonoïdes et des tanins .Ces composés sont généralement impliqués dans de nombreuses activités biologiques,essentiellement dans la prévention du stress oxydatif.{80}.

Les polyphénols et surtout les flavonoïdes sont des antioxydants puissants, susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules{81}

En effet, les flavonoïdes sont des piègeurs efficaces des radicaux libres les plus pro-oxydants, particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique. Ils formeraient des espèces radicalaires intermédiaires peu réactives {82},{83}.

De plus, ils ont une activité chélatrice des métaux tels que le cuivre et le fer qui, à l'état libre, peuvent être à l'origine de la production de radicaux libres {83}.{81}

Les flavonoïdes empêchent également l'agrégation des plaquettes dans les artères (artérioscléroses); cette influence serait indirecte, en effet, ils agiraient sur les enzymes responsables et les récepteurs {84}.

Angelopoulou et coll ces auteurs ont recherché l'activité cytotoxique du mélange oxyde de manoyle / oxyde de 13-épi-manoyle; ils ont mis en évidence une légère activité inhibitrice de ces deux isomères sur la croissance de différentes lignées cellulaires.{65}.

c-L' activité hypoglycémiant :

Le diabète sucré est un trouble métabolique chronique grave qui provoque des complications graves de la santé et est une cause majeure de mortalité. Des excursions de glucose postprandiales excessives sont un facteur de risque connu pour développer le diabète. Une approche intéressante pour limiter l'excursion est d'inhiber l'activité des enzymes digestives de la production de glucose comme l' α -amylase et l' α -glucosidase.

Les espèces de *Cistus* sont fréquemment utilisées dans de nombreux médicaments traditionnels pour traiter plusieurs pathologies, y compris l'hyperglycémie et le diabète.En général, la thérapie à base de plantes repose sur l'action thérapeutique de mélanges complexes de composés différents qui agissent souvent en mode synergique pour exercer pleinement leurs effets bénéfiques. Cela suggère que les composés biologiquement actifs présents dans les extraits des plantes étudiés peuvent agir de manière synergique thérapeutique pour exercer leurs activités d'inhibition d'enzymes hydrolysant les glucides.

L' α -amylase de la salivation et du pancréas catalyse l'hydrolyse des liaisons α -1,4-glucosidiques de polysaccharides tels que l'amidon et le glycogène. Par la suite, l' α -glucosidase située dans la membrane de la surface de la brosse à la surface des cellules intestinales hydrolyse les oligosaccharides résultants en glucose, qui est ensuite transporté dans le sang. L'inhibition de l'activité de l' α -amylase et de l' α -glucosidase dans le tube digestif des humains retarde l'absorption

du glucose et peut donc être une stratégie importante dans la gestion du taux de glycémie postprandiale chez les patients diabétiques .Des extraits aqueux et hydrométhanoliques de Cm inhibent l'activité de l' α -amylase et de l' α -glucosidase.Des études pytochimiques sur Cm ont démontré leur capacité à produire une quantité élevée de composés phénoliques et de plusieurs flavonoïdes comprenant la quercétine, la myricétine, Et le kaempferol. De plus, des composés liés à la catéchine ,l'apigéninediglycoside, la myricétine, les acides gallique et phénolique et de nombreux diterpènes de type labdane et clerodane ont été identifiés dans C.m . Une étude explique la corrélation entre la teneur totale en phénol dans les extraits des plantes étudiées .Et l'inhibition des activités de l' α -amylase et de l' α -glucosidase, ce qui indique que les composés phénoliques présents dans les extraits sont potentiellement responsables de l'inhibition de l'activité de l' α -amylase et de l' α -glucosidase.

Par conséquent, les extraits de *Cistus monspeliensis* avec une activité inhibitrice forte contre l' α -glucosidase et une activité inhibitrice significative sur l'enzyme α -amylase peuvent être des agents thérapeutiques efficaces pour le contrôle de l'hyperglycémie et offrent une cible attrayante pour découvrir de nouveaux agents pour le traitement du diabète sucré avec un minimum des effets secondaires.{84}.

d-L 'activité anti- inflammatoire :

L'inflammation est une réaction de défense et d'adaptation de l'organisme à une agression tissulaire, qui peut être : bactérienne,virale,immunitaire,tumorale,traumatique,nécrose tissulaire,chimique,physique.visant à la circonscrire et à la réparer.

En effet la réaction inflammatoire se caractérise par :

- **Réaction locale :** -douleur.
-chaleur.
-rougeurs.
-œdème.
- **Réaction systémique :**fièvre(+/-).
-hyperleucocytose (+/-).
-modification protéique (\uparrow du CRP, Oro, Hapto,... ; \downarrow du Alb, Pré Alb).

Le nombre de composés phytochimiques, trouvé dans le règne végétal est très vaste, et leur spectre d'activité est tout aussi grand. Certains de ces composés phytochimiques ont des propriétés anti inflammatoire. Beaucoup sont présumés agir en bloquant les voies de la cyclo-oxygénase et la lipo-oxygénase ainsi que par d'autres mécanismes.{85}.

De nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par

inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation athérosclérotique en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires {86} d'autres flavonoïdes sont capables d'inhiber l'histamine {87}.

Les flavones et les flavonols sous forme glycosylée ou libre comme la quercétine, kaempférol, myricétine ont une activité inhibitrice de COX (Cyclooxygénase) {88}.

Les huiles essentielles possédant des aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation .

e-L 'activité cicatrisante :

Le processus cicatriciel est un phénomène biologique qui est automatiquement initié par l'organisme dès qu'il y a un dommage physique de quelque tissu que ce soit à l'exception des cellules nerveuses.

Les mécanismes et les phases de l'évolution d'une plaie vers la guérison sont immuables et se déroulent en un temps qu'aucune substance médicamenteuse ne peut raccourcir lorsqu'ils ne sont pas influencés par des facteurs internes ou externes qui perturbent leur évolution et retardent par conséquent la réparation tissulaire. {89}.

On peut distinguer deux modes principaux de cicatrisation des plaies suivant les conditions de traumatisme et du traitement.

- Les plaies sans pertes de substances avec affrontements des lèvres bords à bord cicatrisent rapidement et sans contraction par première intention ou processus adhésif.
- Les plaies avec perte de substance cicatrisent moins rapidement et par deuxième intention ou processus prolifératif avec contraction de la plaie qui est la conséquence d'un mouvement centripète du revêtement cutané autour de la plaie sans formation de nouvelle peau. {90},{91}.

Au cours de ce mode de cicatrisation, les phases de réparation tissulaire à savoir la détersion, la formation de tissu de granulation, la régénération de l'épithélium et la contraction de la plaie sont nettes et facilement observables. {91}.

Dans les conditions naturelles, la contraction est la principale voie de cicatrisation. C'est un phénomène naturel qui facilite grandement le traitement des plaies cutanées étendues, elle se poursuit jusqu'à ne laisser qu'une cicatrice réduite {92}.

Elle constitue donc un critère d'appréciation macroscopique de l'évolution de la plaie d'une part et est la conséquence des phénomènes microscopiques qui la sous-tendent d'autre part {93}.

La contraction de la plaie est due aux myofibroblastes du tissu de granulation qui possèdent des caractères des muscles lisses.

En effet, de nombreux travaux ont démontré que les plantes utilisées traditionnellement comme cicatrisant possèdent des propriétés d'activation du système immunitaire; cette activation serait le mécanisme de guérison des plaies. Les études ont aussi montré que les polysaccharides sont

les substances responsables de l'activation du système immunitaire donc de la guérison des plaies et de l'ulcère gastroduodénale {94},{95}.

F- L 'activité antispasmodique :

Les huiles essentielles possédant des esters ou des éthers possèdent une action sur les spasmes des muscles lisses ou striés{96}.

G-L'activité insecticide :

L'utilisation répandue des insecticides synthétiques a mené à beaucoup de conséquences négatives (la résistance des insecticide, la toxicité sur la faune auxiliaire, les problèmes de résidu et la pollution environnemental) ayant pour résultat l'attention croissante étant donnée aux produits naturels. Les plantes aromatiques sont parmi les insecticides les plus efficaces d'origine botanique et les huiles essentielles constituent souvent la fraction bioactive des extraits de plantes.

Certaines observations ont montré que l'extrait brut éthanolique hexanique ou à l'éther de pétrole de matériel végétal possède une toxicité effective vis-à-vis des ravageurs de stocks. D'autres résultats indiquent que les huiles essentielles extraites de plantes odorantes ont une activité insecticide indéniable vis-à-vis de *Callosobruchus maculatus F.*

Ces molécule peuvent avoir différents effets chez les insectes : répulsif, attractif, perturbateur du développement, inhibiteur de la reproduction, etc. Leur toxicité peut être directe ou indirecte sur les organes cibles (organes sensoriels, système nerveux, système endocrines, appareil digestif, appareil reproductif, etc.).

Ily'a des huiles essentielles qui agissent par diffusion. C'est ce qui leur permet d'atteindre toutes les interstices dans la masse de graines stockées. Elles peuvent donc être utilisées en fumigation et leur emploi est facile. Selon la technologie de leur extraction est simple et accessible à tous les niveaux.{34 }.

La partie Expérimentale

INTRODUCTION ET PROBLEMATIQUE :

Les plantes médicinales connaissent à l'heure actuelle une alternative aux médications modernes du fait des effets indésirables et secondaires des molécules chimiques. Néanmoins l'utilisation de ces plantes médicinales peut constituer un risque pour la population d'autant plus que la dispensation reste entre les mains des herboristes qui ne sont pas bien formés, et leurs connaissances sont basées sur des pratiques ancestrales et familiales de père en fils.

A cet effet nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et biologique de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Tipaza et utilisées comme remède traditionnel par la population locale comme apaisant des douleurs digestives. Et ce en vue de contribuer à l'enrichissement du répertoire des plantes médicinales algériennes sur la base des études expérimentales objectives *in vitro* et *in vivo*.

OBJECTIF DU TRAVAIL :

L'objectif de notre travail est l'étude de la composition phytochimique des extraits de deux plantes *Cistus albidus*, *Cistus monspeliensis*. Et l'évaluation de certaines activités biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire, antispasmodique, hypoglycémisante, anti-oxydante et antimicrobienne, ainsi qu'une formulation galénique sous forme d'émulsion.

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES .

La démarche de notre expérimentation s'articule autour de l'extraction des polyphénols totaux et l'huile essentielle et la caractérisation biologique et physico chimique des extraits obtenus tel que présenté dans le schéma ci-après fig 11.

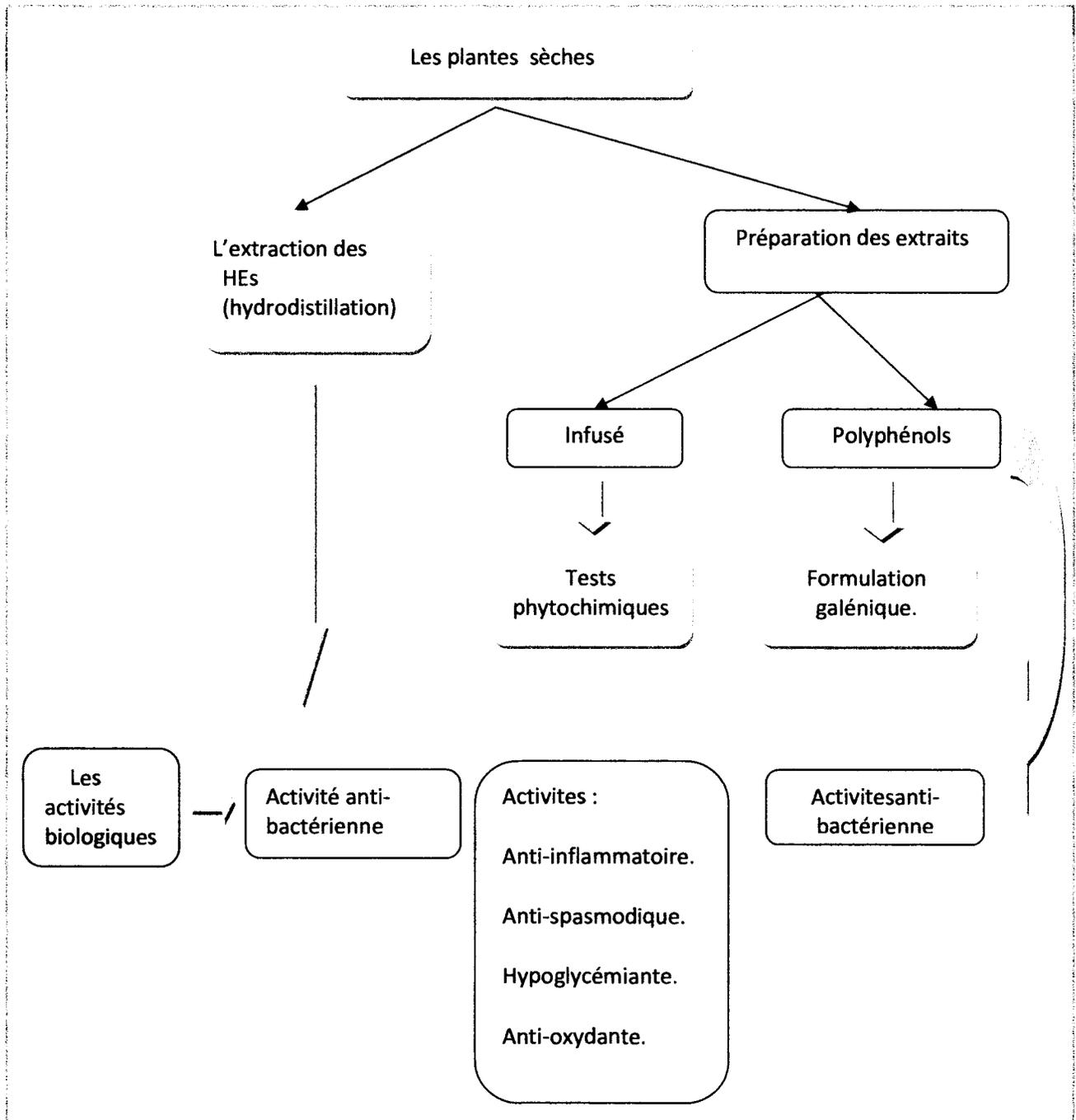


Fig.11:Schéma récapitulatif de démarche expérimental(original).

I.MATERIELS .

I.1 - Matériel végétal

Les échantillons des deux plantes proviennent de la région de Larhat de Tipaza. La récolte a été réalisée au début de la floraison le 05 Mars 2017. Seules les parties aériennes (feuilles, fleurs, tiges) ont été collectées en matinée.

Les conditions climatiques :

La ville de LARHAT (الارهاط) Daira de Damous wilaya de Tipaza .compte 7359 habitants , située a une Latitude de 36.5587° et Longitude : 1.80411 et une Altitude de : 32 m .le climat est \pm méditerranéen , avec un été chaud (classification de KÖPPER).et un hiver humide et pluvieux .Les villes voisines : Damous : 8.7 km , Gouraya : 9.3 km , Aghbal : 8.2 km , Beni Melleuk : 16.4 km , Messelmoun : 18 km .

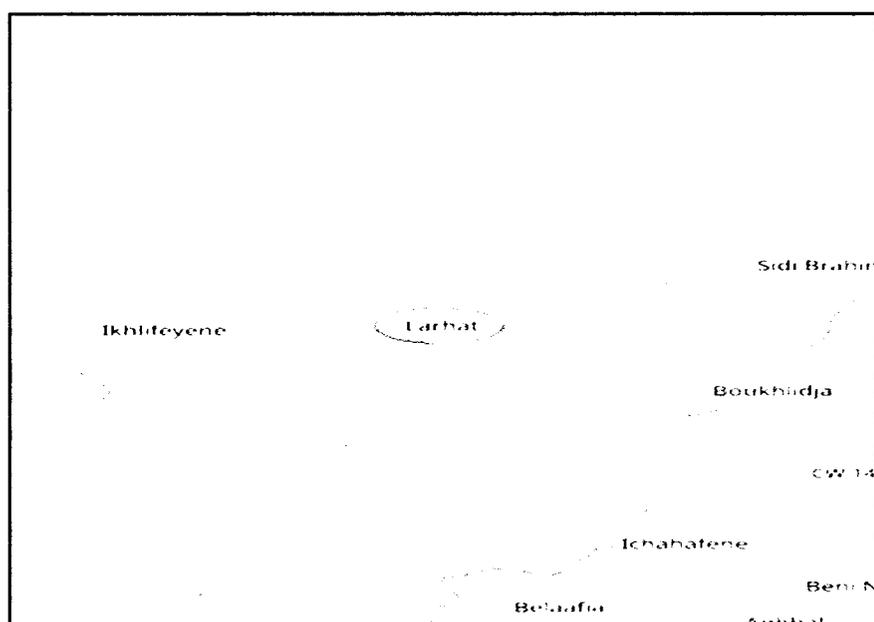


Fig.12:Carte géographique indique le lieu de récolt {97}

Le matériel végétal recueilli a été séché à une température ambiante et à l'ombre, afin de préserver au maximum l'intégrité de leurs molécules. Après le séchage qui dure plus d'un mois. Une partie de chaque plante (environ 100mg de chaque échantillon) a été broyée et conservée dans des sachets en papier en vue de réaliser les activités biologiques , et le reste a été conservé tel quel est dans des sachets en papier dans un endroit sec.

I.2 - Matériel de laboratoire ;

➤ Les équipements ;

Les équipements utilisés sont regroupés dans le tableau suivants :

Tableau VI : Les équipements utilisés au niveau de laboratoire (original).

Equipement	Marque
Hydrodistillateur .	Clévenger
Spectrophotomètre UV- VIS .	Jenway .
Etuve .	Memmert.
Agitateur à hélice .	Yellow line
Microscope optique .	Optika .
Rotavapeur .	Rotadest .
Plaque chauffante.	IKA werk
Balance de précision .	Nahita .
Glucomètre .	Contour plus .

Les autres équipements sont: Bec Benzen et La verrerie de laboratoire.

➤ Produits chimiques :

Tableau VII : liste des produits chimiques utilisés au niveau de laboratoire (original).

Les produits chimiques	
Carragénine 1% .	Solution glucosée à 50% .
L'ammoniaque , Chloroforme.	L'acide sulfurique H ₂ SO ₄ .
L'acide acétique .	Ibuprofène (Cps) , Diclofénac (Cps) , Glimépiride (Cps) .
FeCl ₃ à 5% , HCl , Mg , MgSO ₄	DPPH , DMSO , Tween 60 .
Le reactif de Dragendorff .	Méthanol , L'éthanol , L'alcool isomylique .
L'acétate de Plomb .	Vaseline

➤ **Reactif animal**

Pour la réalisation de notre expérimentation nous avons utilisés des souris et des lapins issus de l'élevage de l'animalerie du laboratoire de pharmacotoxicologie du COMPLEXE ANTIBIOTICAL SAIDAL MEDEA. Ces animaux présentent les caractères suivants :

Souris Albinos :

- Nombre : 30.
- Poids : 18g à 24g .

LapinsAlbinos :

- Nombre : 5.
- Poids : 4Kg .

II-METHODE ;

II.1 Préparation des extraits

1-Extraction des huiles essentielles

Le matériel végétal séché est soumis à une hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clévenger. Cette technique se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.

Notre dispositif expérimental est constitué de :

- Un chauffe-ballon.
- Un ballon à fond plat de 2000 ml .
- Un réfrigérant.
- Une colonne.
- Une Ampoule à décanter.

Mode opératoire ;

- ❖ ***Cistus albidus*** : L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale séchée dans un grand ballon en verre de 2000ml, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant

remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition (environ 1800ml). Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans l'ampoule. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. Après 3- 4 heures d'extraction, l'huile essentielle et l'hydrolat ont été ainsi recueillies dans une fiole recouvert de papier aluminium pour les protéger de la lumière. On les conserve au réfrigérateur..

Cette technique a été réalisé au sein du laboratoire de l'agro-alimentaire ; Faculté des sciences de nature et de vie Blida 1.

❖ *Cistus monspeliensis* :

L'opération consiste à introduire dans un ballon de 1000 ml ;50g de la matière végétale séchée et 600 ml d'eau distillée. Lemélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation, la vapeur condensée sera récupérée dans un récipient.

Après 3-4 heures d'extraction ;à partir du produit recueilli dans le récipient ;on sépare les deux phases huileuse et aqueuse, ense basant sur la technique dedécantation. Cette technique consiste à mélanger le volume du liquide recueilli avec 1/3 du volume de l'étherdiéthylique dans une ampoule à décanter (**Annexe I ;fig.03**), après la séparation des deux phases grâce à la différence de la densité, on les récupère séparément.

La phase organique (éther +HE) subit ensuite une déshydratation par le $MgSO_4$ sous agitation magnétique jusqu'à l'insolubilité de ce dernier, ce mélange est filtré, puis évaporé à l'aide d'un rotavapeur à 37°C.(**annexe I.fig.02**).

L'huile essentielle et l'hydrolat récupérés, sont placés séparément dans des flacons opaques, conservés au réfrigérateur.

Cette technique a été réalisée au sein du laboratoire de l'agro-alimentaire ; Faculté dessciences de nature et de vie ; université ZIANE ACHOUR ; Djelfa.

↓ **Calcul du rendement** : La première quantification à faire est celle du rendement en huile essentielle obtenue par la technique d'hydrodistillation. Ce rendement est calculé à partir du poids de l'huile essentielle par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée soit :

$$Rdt = M_{he}/M_{vg} \times 100$$

D'où : **Rdt** : rendement en HE (en%).

Mhe : masse de l'huile essentielle.

Mvg : masse végétale sec.

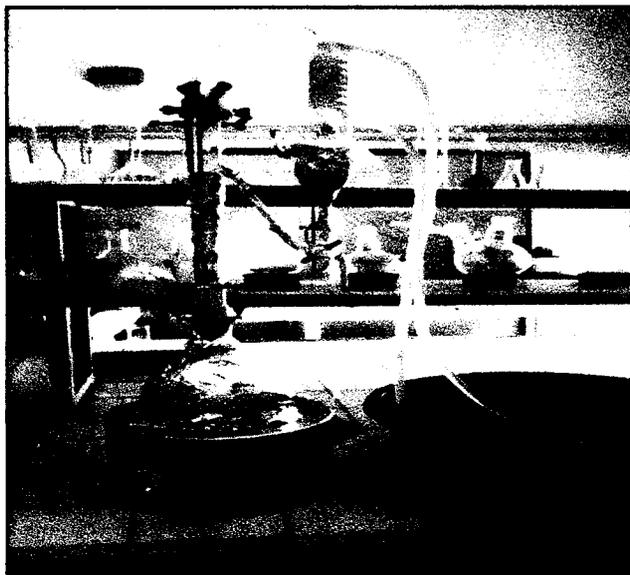


Fig13 :Dispositif d'extraction Clevenger laboratoire d'agro-alimentaire Faculté des sciences de nature et de vie –Blida 1. (original).

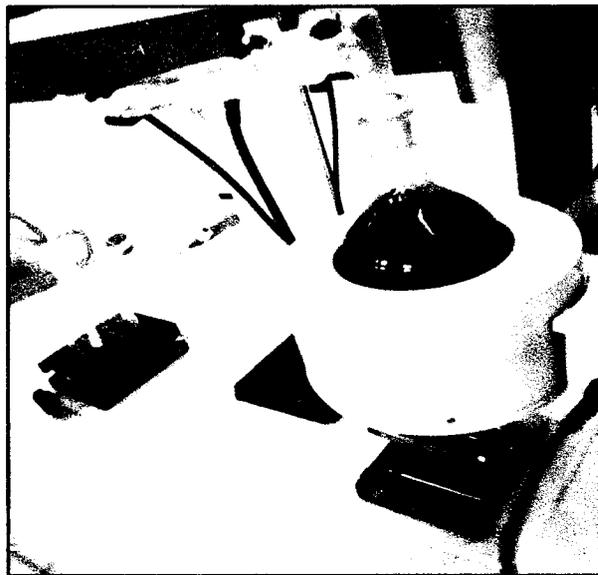


Fig14:Dispositif d'extraction Clevenger labotatoire d'agro-alimentaire, Faculté SNV-Djelfa.(original)

2-Préparation de l'infusé :

L'extraction des substances bioactives contenues dans la partie aérienne de la plante (poudre de :*Cistus albidus* ; *Cistus monspeliensis*) a été réalisée par infusion dans l'eau distillée bouillante.

Cistus albidus :10g de poudre de planteest additionnée à 200 ml d'eau distillée bouillante. On les laisse 30mn pour infusion avecagitation manuelle. L'extrait aqueux obtenu est ensuite filtré sur papier filtre.

Cistus monspeliensis : on mélange 10g de la poudre avec 100 ml d'eau distillée bouillante, on les laisse reposer 30mn avec une agitation manuelle . Le mélange a été ensuite filtré sur papier filtre.

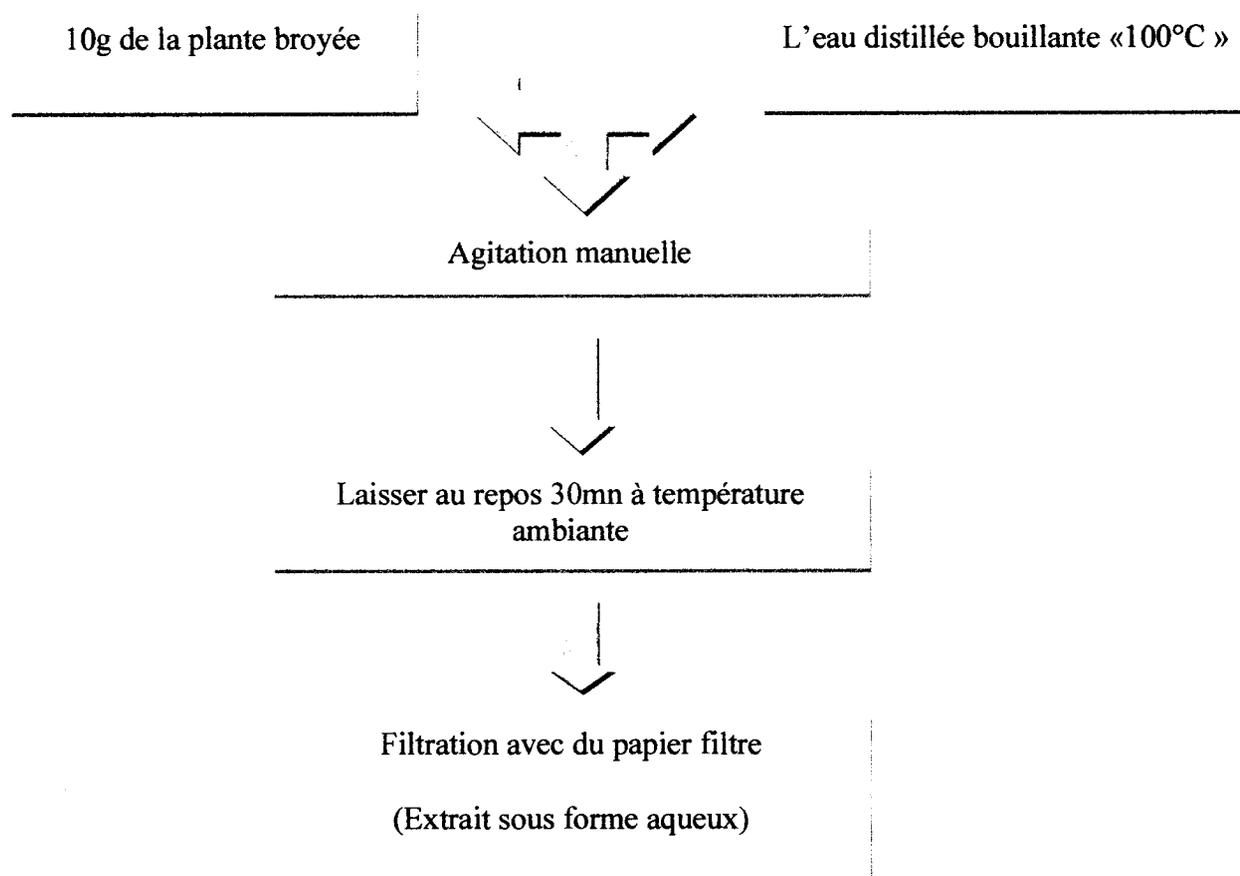


Fig.15:Schéma du protocole de la préparation de l'infusée {98}.

3-L'extraction des polyphénols :

- ❖ **Le mode opératoire** :10 g d'échantillon séché ont été extraits avec le méthanol aqueux à 97 % (200ml pour *Cistus albidus* ; 100ml pour *Cistu smonspliensis*) à température ambiante et sous agitation manuelle deux fois chaque 24 heures pendant 15 jours .L'extrait a été ensuite filtré sur du papier Whatman et le filtrat obtenu a été évaporé sous pression réduite , à l'aide d'un évaporateur rotatif .{ 98}.

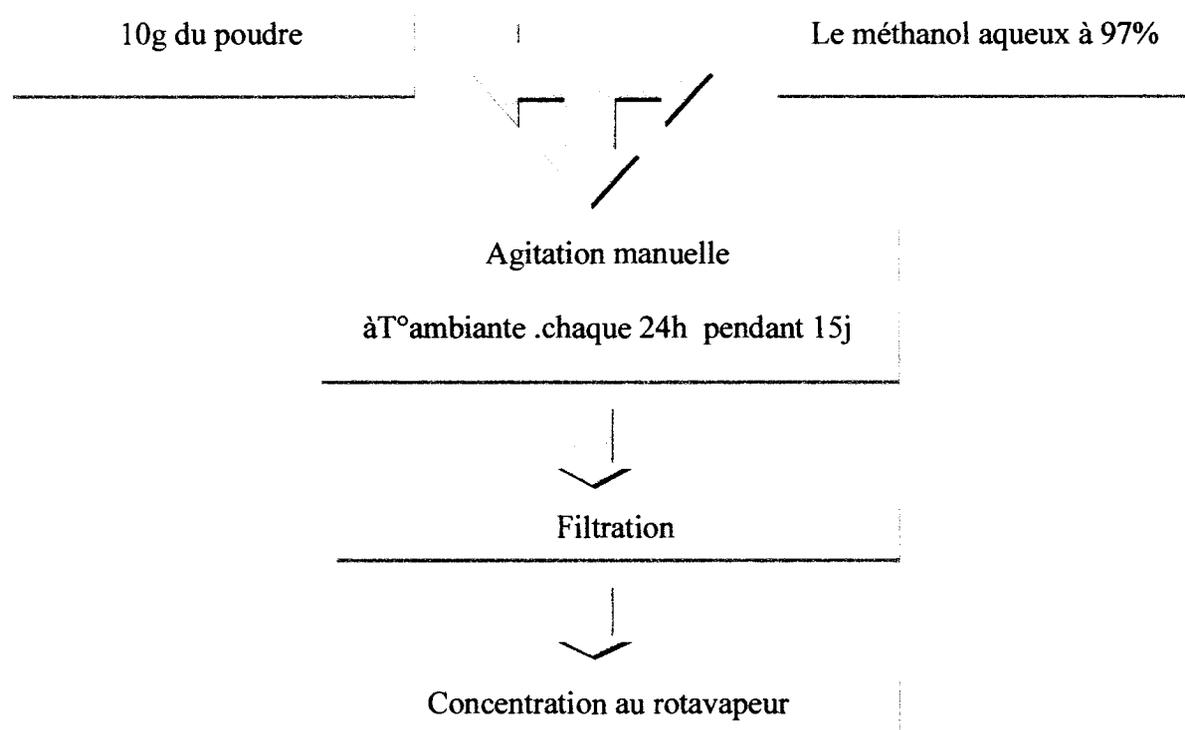


Fig.16 :Le protocole de l 'extraction des polyphénols.(98).

II.2. Méthode de caractérisation :

II.2.1. Screening phytochimique :

Les différents tests phytochimiques effectués ont pour but d'établir la composition en métabolites secondaires des deux espèces de la famille cistaceae : *Cistus albidus* ; *Cistus monspeliensis*, en utilisant la poudre et l'infusé .{99}.

➤ L'identification de quelques métabolites secondaires :

1-Les anthocyanes

A 5ml d'infusé , sont ajoutés quelques gouttes d'ammoniaque $\frac{1}{2}$.

La présence d'une couleur rouge ,indique la présence des anthocyanes .

2-Les tanins

A 5ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 5% .

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

3-Les flavonoïdes

A 5ml d'infusé , sont additionnés 5ml d'HCl , un copeau de Mg et 1ml d'alcool isoamylique .

La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes .

4-Les alcaloïdes

Introduire 1g de poudre végétale dans un tube à essai ,et ajouté 10ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) à 10% ,Agiter énergiquement pendant 2mn et filtrés , ajouter 2 gouttes de réactif de Dragenodorff .

L'apparition d'une précipitation rouge orangée indique la présence d'alcaloïde.

5-Les glucosides

A 2g de poudre végétale ,sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique .

La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides .

6-Les saponosides

A 2ml d'infusé , sont ajoutés quelques gouttes d'acétate de plomb.

-La formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides .

7-Les mucilages

On introduit 1ml de l'infusé dans un tube et on lui ajoute 5ml d'éthanol absolue .

L'obtention d'une précipitation floconneuse indique la présence des mucilage .

8-Les quinones libres

2g de poudre végétale humectée par HCl à 1N ,sont mis en contact pendant 3h dans 20ml de chloroforme , puis filtrer ,Le filtrat est agité avec 5ml d'ammoniaque $\frac{1}{2}$.

La formation d'une coloration rouge indique la présence des quinones libres .

II.2.2. Etude des activités biologiques :

A. L'activité anti-oxydante :

Dans ce test , les extraits de deux plantes (*Cistus albidus* ;*Cistus monspeliensis*) ont fait l'objet d'une évaluation *in vitro* de leur capacité antioxydante à travers le Test du piégeage du radical libre DPPH.

Le test de piégeage du radical DPPH

A.1. Principe :

Le test DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante.En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables.Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule.

La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution {100}(Fig.17).

Le changement de couleur peut être suivi par spectrophotométrie à 517nm ,et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou un extrait de plante peut être déterminé {100},{101}.

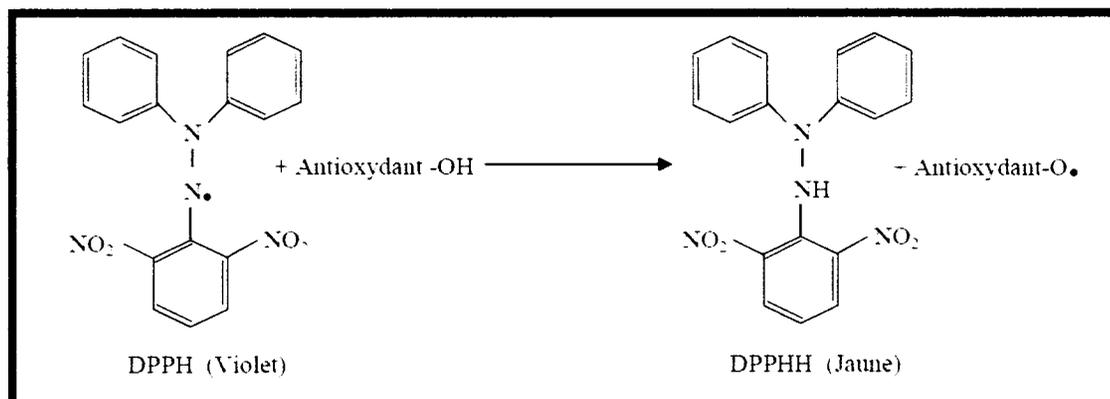


Fig.17 : Equation du radical DPPH transformé en DPPH {100}.

A.2. Méthode de dosage :

Dans notre étude, ce test a été évalué par le protocole suivant :

- Préparation d'une solution mère :50 ml d'extrait aqueux + 50ml de méthanol.
- Préparation de 5 dilutions à partir de la solution mère à 1/2 (5ml du 1^{ère} solution + 5 ml du méthanol 97%) ainsi jusqu' a la cinquième dilution.

Brièvement, 2ml d'une solution méthanolique de DPPH 4% (4mg du DPPH dans 100ml du méthanol) a été mélangé avec 0.5ml des dilutions dans des tubes secs. Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière, à la température ambiante pendant 30minutes. Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de la solution méthanoliquedeDPPH.(Fig.18).

Les échantillons, le témoin : la solution méthanolique de DPPH ;et le blanc : le méthanol ainsi qu'une solution de 3mg de vit c dans 10 ml de méthanol (qui servira de référence) sont préparés dans les mêmes conditions opératoires.

La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 517nm et le % PI (pourcentage d'inhibition) est calculé selon la formule ci-dessous :

$$PI = (DO \text{ du blanc} - DO \text{ de l'échantillon}) / DO \text{ du blanc } \times 100.$$

D'où :PI :pourcentage d'inhibition.

DO :La décroissance del'absorbance

NB ;On peut déterminer les concentrations qui correspondent à 50 % d'inhibition (IC50); la valeur d'IC50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'extrait la plus élevée. La valeur de l'IC50 est exprimée en mg/ml .

La partie expérimentale

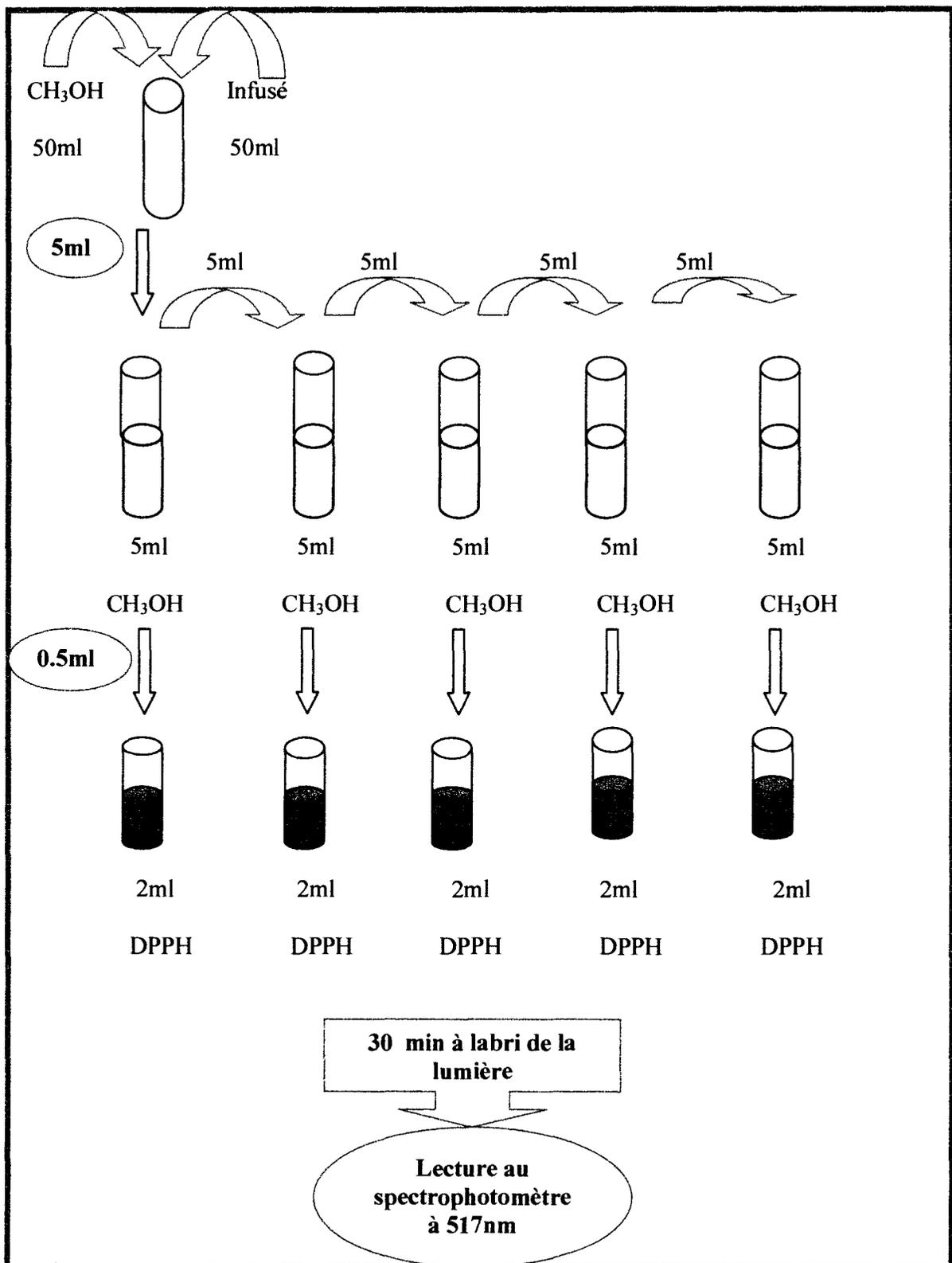


Fig .18 : Protocole expérimentale de l'activité antioxydante (100).

B. Activité anti-inflammatoire : (test de Levy) :{102}.

Ce test a pour objectif de déterminer l'activité anti-inflammatoire par voie orale de l'infusé de deux plantes de la famille cistaceae : *Cistus albidus* ; *Cistus monspeliensis* en se basant sur la comparaison de la réduction de l'œdème plantaire après administration aux souris albinos, des doses égales de l'infusé de deux plantes et du produit de référence correspondant Diclofenac.

➤ Principe

Le principe du test repose sur l'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris qui provoque une réaction inflammatoire traduite par un œdème qui peut être réduit par un produit anti-inflammatoire.

➤ Protocole expérimentale :

1. Préparation de la solution de carragénine :

On prépare une solution de carragénine à 1% (masse / volume) soit 10mg dans 1ml d'eau distillée .

2. Préparation de la solution du produit de référence (Diclofénac Cps):

On prépare une solution de clofénal à la dose active de 0,04mg/ souris (VIDAL,2008) c'est à dire pour une souris de poids moyen de 20g on administre par voie orale.

2-3-Mode opératoire :

Pour réaliser ce test il faut suivre les étapes suivantes :

- La veille du test les souris sont mises à jeun.
- On constitue 4 lots de 5 souris dans chacun :
 - ❖ Lot témoin T : qui reçoit l'eau distillée.
 - ❖ Lot essai E_{ca} : qui reçoit l'infusé de la plante à étudier
 - ❖ Lot essai E_{cm} : qui reçoit l'infusé de la plante à étudier.
 - ❖ Lot essai E_{cl} : qui reçoit Clofénal ® à dose active.

Le jour du test :

Au temps T_0 :

On administre aux quatres lots les suspensions suivantes :

- ❖ Lot T : chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau distillée.
- ❖ Lot E_{Ca} : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit à tester (l'infusé) .
- ❖ Lot E_{Cm} : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit à tester (l'infusé

La partie expérimentale

- ❖ Lot E_{ib} : chaque souris reçoit mg du produit de référence Diclofénac à la même dose active.

Au temps T₀+ 30 mn :

On injecte la solution de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0.025 ml à tous les animaux mis en expérience.

Au temps T₀+ 4heures :

- On scarifie les animaux par l'éther diéthylique .(Annexe II.fig.06)
- On coupe les pattes postérieures à hauteur de l'articulation(fig.21). et on les pèse sur une Balance analytique.

2-4-Méthode de calcul du pourcentage de réduction des œdèmes :

Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% œdème) est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de l'œdème} = ((m_g - m_d) / m_d) \times 100.$$

D'ou :

m_g :la moyenne du poids de la patte gauche.

m_d :la moyenne des poids de la patte droite.

Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = ((\% \text{ de l'œdème du Témoin} - \% \text{ de l'œdème de l'essai}) / \% \text{ de l'œdème du témoin}) \times 100.$$

La partie expérimentale



Fig.19 : gavage des souris(original).



Fig.20 : l'injection de carragénine sous l'aponévrose Plantaire de la patte arrière gauche (original).



Fig.21 :la coupure des pattes des souris (original).



Fig.22 :la patte oedémateuse (original).



Fig.23 :les pattes de souris dans des flacons en verre (original).

C-Aactivité antispasmodique : Test de Writhing ; {103}.

➤ principe :

Une réactions douloureuse est provoquée chez les souris par injection intra-péritonéale d'acide acétique(CH_3COOH) à raison de 0,1 ml /10g le poids corporel (Pc)

La partie expérimentale

Les douleurs se manifestent par des spasmes (un mouvement d'étirement de pattes postérieures et des torsions de la musculature dorso-abdominale) qui peuvent être réduites par un produit antispasmodique.

2-mode opératoire :

Les souris ont été réparties en 3 lots, chaque lot se compose de 5 souris de poids moyen de 20g :

- ❖ Lot témoin T : qui reçoit l'eau distillée.
- ❖ Lot essai E_{ca} : qui reçoit l'infusé de la plante *Cistus albidus*
- ❖ Lot essai E_{cm} : qui reçoit l'infusé de la plante *Cistus monspeliensis*.
- ❖ Lot essai E_{cl} : qui reçoit l'Ibuprofène (Cps) diluée dans l'eau physiologique à 0,9% à raison de 200mg/kg.

Au temps T_0 :

On administre aux trois lots les suspensions suivantes :

- ❖ Lot T : chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau distillée.
- ❖ Lot E_C : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit à tester (l'infusé).
- ❖ Lot E_C : chaque souris reçoit 0.5 ml du produit à tester (l'infusé).
- ❖ Lot E_{ib} : chaque souris reçoit 4mg du produit de référence Ibuprofène diluée dans l'eau physiologique à 0,9% à raison de 200mg/kg (0.5ml du solution).

Après 30 mn : toutes les souris reçoivent 0,2ml de la solution d'acide acétique à 1% par voie intra-péritonéale.

Après 5 min : le comptage du nombre des spasmes est observé directement sur les souris

Pendant 10min.



Fig.24 : gavage des souris (original).



Fig.25: l'injection intra-péritonéale de l'acide Acétique (original).



Fig.26 : souris présente des crampes musculaires (original).

3-Expression des résultats :

Le pourcentage de réduction des spasmes (pourcentage de protection) est calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de protection} = \frac{(\text{moyenne des spasme du témoin} - \text{moyenne des spasme d'essai})}{\text{moyenne des spasme du témoin}} \times 100$$

D. Activité hypoglycémiant :

Le protocole expérimental est inspiré à partir des travaux de Lawson-Evi *et al.* (1997) et Keita *et al.* (1998).

➤ Préparation de la surcharge de glucose :

L'épreuve hyperglycémiant est réalisée par l'utilisation d'une solution aqueuse de D⁺-glucose monohydrate pure (C₆ H₁₂ O₆ H₂O) à 50%. La dose active est à raison de 4 g de solution glucosé /kg de poids de l'animal {110}

➤ Répartition des lots de lapins :

Les lapins sont répartis de manière aléatoire en cinq lots à raison d'un seul lapin par lot (dont le poids moyen est de 4kg), tous les lapins ont été soumis à jeun 18h avant l'expérimentation.

➤ Les lots :

- Lot 1 : Lapin sain non traité (témoin sain)

La partie expérimentale

- **Lot 2** : Lapin en état d'hyperglycémie et non traité (**témoin -**)
- **Lot 3** : Lapin en état d'hyperglycémie traité par un médicament hypoglycémiant (DCI : Glimépiride de la spécialité Amarel®) à une dose de 4 mg/Kg (**témoin +**)
- **Lot 4** : Lapin en état d'hyperglycémie traité par l'infusé du *Cistus albidus*.
- **Lot 5** : Lapin en état d'hyperglycémie traité par l'infusé de *Cistus monspeliensis*.

➤ **Administration des traitements :**

Les 2 extraits des deux plantes du genre cistus ont été administrés aux lapins à raison de 32ml par gavage 15 minutes avant l'épreuve hyperglycémiant {104}. Le produit de référence (Glimépiridecp4mg) à la dose active de 0.21mg/lapin dans un volume de 32ml, administré aux lapins 60mn avant l'épreuve hyperglycémie, pour faire coïncider la concentration maximale C_{max} d'absorption du médicament avec la concentration maximale de glucose provoqué par la surcharge glycémique {104}.

Le gavage des lapins, est réalisé à l'aide d'une seringue en plastique.

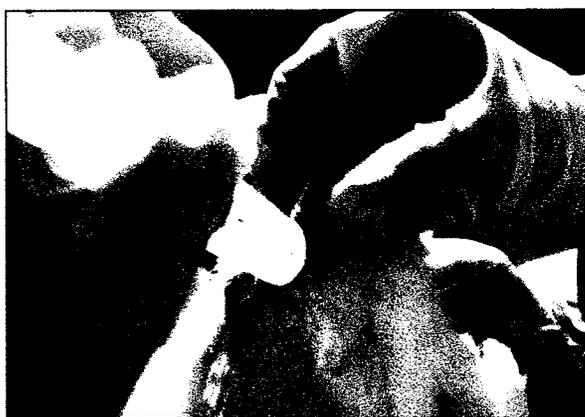


Fig.27 : Le gavage des lapins par un seringue (**original**).

➤ **La détermination de la glycémie :**

La détermination de la glycémie est faite à l'aide d'un glucomètre (appareil de mesure de glycémie) (**Annexe II.fig 03**). Une goutte de sang est prélevée par ponction au niveau de la veine marginale de l'oreille avant le gavage pour déterminer la glycémie à jeun à T0 de chaque lapin puis à 30, 60, 90, 120 et 180 minutes après le gavage de la surcharge de glucose.

La goutte de sang ponctionnée est déposée sur la zone active de bandelette, la lecture de la glycémie se fait automatiquement 10 secondes après le résultat est exprimé en g /l.



Fig28 :Prélevement du sang et la mesure de la glycémie (Original).

E. Activité antibactérienne :

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles sur des souches bactériennes ; et ce par deux méthodes : qualitativement par la méthode de diffusion sur gélose, et quantitativement par la méthode de dilution en milieu liquide qui vise à déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI).

Cette étude a été accomplie au niveau du laboratoire Centrale de biologie du centre hospitalo-universitaire **FRANTZ FANON** de Blida.

1.Choix des souches :

Les souches ont été aimablement fournies par le laboratoire central de biologie-unité de microbiologie-du centre hospitalo-universitaire **FRANTZ FANON** de Blida.

. On a essayé d'élargir la gamme de bactéries testées :à Gram positifs et à Gram négatif :

- ❖ **Bactérie à GRAM-** :*Pseudomonasaeruginosa* ;*Escherichia coli* ; *Entérooccussp.*
- ❖ **Bactérie à GRAM +** :*Staphylococcus aureus* :

La partie expérimentale

Tableau VIII : Description des différentes souches microbiennes testées.

Nom de souche et Code de référence.	Quelques propriétés des souches testées.
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 27923.	Cocci à Gram positif, immobiles et disposés en amas, responsables d'infections graves communautaires et nosocomiales, d'infections des plaies, de la peau et du sang, des abcès, ostéites, otites, infections urinaires, endocardites, gastroentérites et infection pulmonaires. acquiert facilement des résistances aux antibiotiques et en particulier à la pénicilline, à la méthicilline (MRSA), et aux fluoroquinolones mais sensible au B-lactamines {105}, {106}.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Bacille à Gram négatif, mobile aérobie, non capsulé. Agent pathogène opportuniste actif, résistance à l'ampicilline, céphalothine, triméthoprine et acide nalidixique. provoque des infections nosocomiales, sous forme d'infections urinaires, d'infections du sang, des plaies et de l'appareil respiratoire {106}, {107}.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Bacilles à gram négatifs asporules, la famille des entérobactéries, fermentent le lactose et le glucose, responsables des infections urinaires, septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entérites
Entéroccoccus sp	Gram positif anaérobie facultatifs, flore normale du tractus gastro-intestinal, des voies génitales féminines, et de la cavité orale, entraînent des infections des voies urinaires, des plaies et des tissus mous. une endocardite en présence de valvules cardiaques déjà lésées, résistant aux β -lactames, aux aminoglycosides et à la vancomycine {108}.

2. Milieux de culture :

Selon les méthodes employées, nous avons utilisé les milieux de cultures suivants

- ❖ Gélose Nutritive : Milieu d'isolement et de conservation non sélectif
- ❖ Gélose Mueller Hinton

3. Les antibiotiques :

- Céfoxitine(FOX).
- Ticarcilline +Acide clavulanique (TCC).
- Oxacilline(OXA).
- Ampicilline(AM).
- Aztréonam(ATM).

4. Mode opératoire de l'activité antimicrobienne in vitro :

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de polyphénols de *Cistus monspeliensis* et de *Cistus albidus* ; ainsi celui de l'huile essentielle de *Cistus monspeliensis* est réalisée par la technique de contact direct.

➤ Principe de la technique ;

La méthode de diffusion en milieu gélosé ainsi appelée permet de prévoir avec certitude l'efficacité *in vitro* des différents extraits, il s'agit en fait d'une appréciation qualitative de l'activité.

❖ Méthode de diffusion

L'étude est réalisée par la méthode de diffusion, qui est initialement conçue pour les antibiotiques (antibiogramme), mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par de l'huile essentielle (aromatogramme). Inspiré d'une vieille méthode de *Shroeder et Messing* datant de 1949, l'aromatogramme consiste à déposer des disques de papiers filtres imprégnés des extraits sur la surface des géloses ensemencées par le germe à tester et de mesurer les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation.

➤ **Mode opératoire :** Dans cette partie nous aborderons l'étude de l'effet antimicrobien de la plante, en testant l'effet de son extrait des polyphénols totaux et celui de l'huile essentielle. Cette technique s'effectue dans des conditions aseptiques, devant un bec bunsen pour éviter la contamination des milieux ou du matériel.

▪ Préparation de préculture (les isolements) :

Les tests antimicrobiens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24 heures) en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches est effectuée par un repiquage qui a été réalisé dans des boîtes de pétries contenant de la gélose nutritive pour les bactéries puis incubées à 37°C pendant 24h.

▪ Préparation de la suspension bactérienne :

En premier lieu, une suspension bactérienne d'une opacité de 0.5 Mc Farland est préparée à partir d'une culture pure et jeune (âgée de 18-24 heures). Cette opacité, équivalente à une densité optique de 0.08 – 0.1 à 625 nm, peut être diminuée (ou augmentée) en ajoutant plus de culture afin d'ajuster la densité optique (DO).

Il est à signaler d'une part que la suspension ajustée devra contenir 10⁸ UFC /ml (units forming colony /ml) et d'autre part que l'inoculum ainsi préparé ne doit pas être utilisé au-delà de 15 minutes faute de quoi la concentration et donc l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne.

Inoculum 01 : *Escherichia coli*.

Inoculum 02 : *Staphylococcus aureus*.

Inoculum 03 : *Pseudomonasaerogenosa*.

Inoculum 04 : *Entérocccussp.*

▪ Ensemencement :

L'ensemencement est effectué sur des géloses de Muller Hinton préalablement coulées dans des boîtes de pétri puis séchées à l'étuve à 37 °C à partir de l'inoculum fraîchement préparé. (**Annexe II.Fig08**). Il consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, à trois reprises sur la totalité de la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. Pour chaque souche testée, 2 boîtes de Pétri, sont écouvillonnées par le même écouvillon à la condition d'être recharger pour chacun d'elles.

▪ Dépôt des disques :

Des disques de papiers chromatographiques stériles de 6 mm de diamètre, sont déposés à la surface de gélose ensemencée ; puis ils ont été chargé de 10µl de chaque extrait (l'huileessentielle, l'extrait polyphénolique dissout dans le Tween60) (**fig30**). Des antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les aromatogrammes dans les mêmes boîtes. Le choix des antibiotiques pour chaque souche microbienne est basé sur les directives du National Committee for Clinicat Labortory Standars (**NCCLS**). Afin de garantir des Conditions expérimentales comparables, le test est répété deux fois pour avoir des résultats fiables.

Les boîtes de pétries sont ensuite fermées et mises à l'étuve à 37° C pendant 24 heures.

La partie expérimentale

▪ Lecture des résultats :

La lecture s'effectue après 24 heures d'incubation à 37°C se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque (les disques contenant l'HE, et les disques des antibiotiques) à l'aide de pied à coulisse. (Fig31).

➤ L'expression des résultats :

L'apparition d'une zone claire autour du disque appelée « zone d'inhibition » après incubation est considérée comme un résultat positif.

La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égale à 8 mm La sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible {34} La mesure du diamètre des zones d'inhibition autour les disques des ATB se fait dans le but d'assurer le contrôle qualité (le milieu de culture ; le manipulateur ; la méthode de travail).

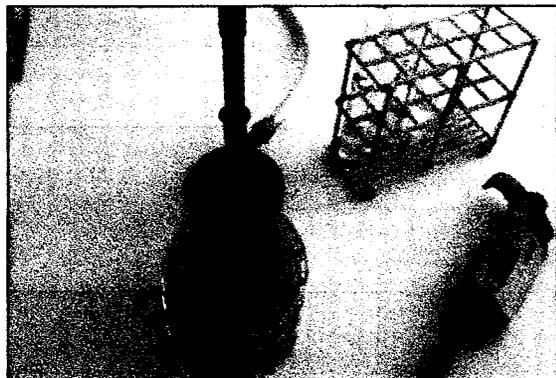


Fig29:préparation d'inoculum et l'ensemencement (Original).



Fig. 30 : le dépôt des disques (original).

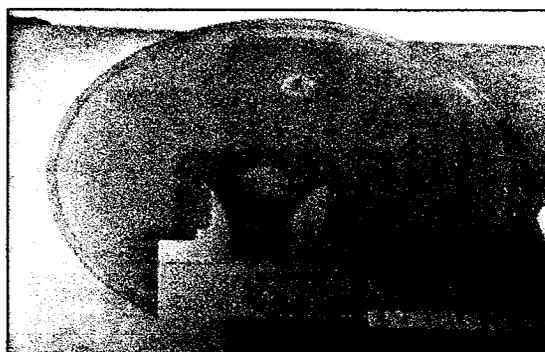


Fig 31 :Lamesure du halo d'inhibition à l'aide de pied à coulisse (original) .

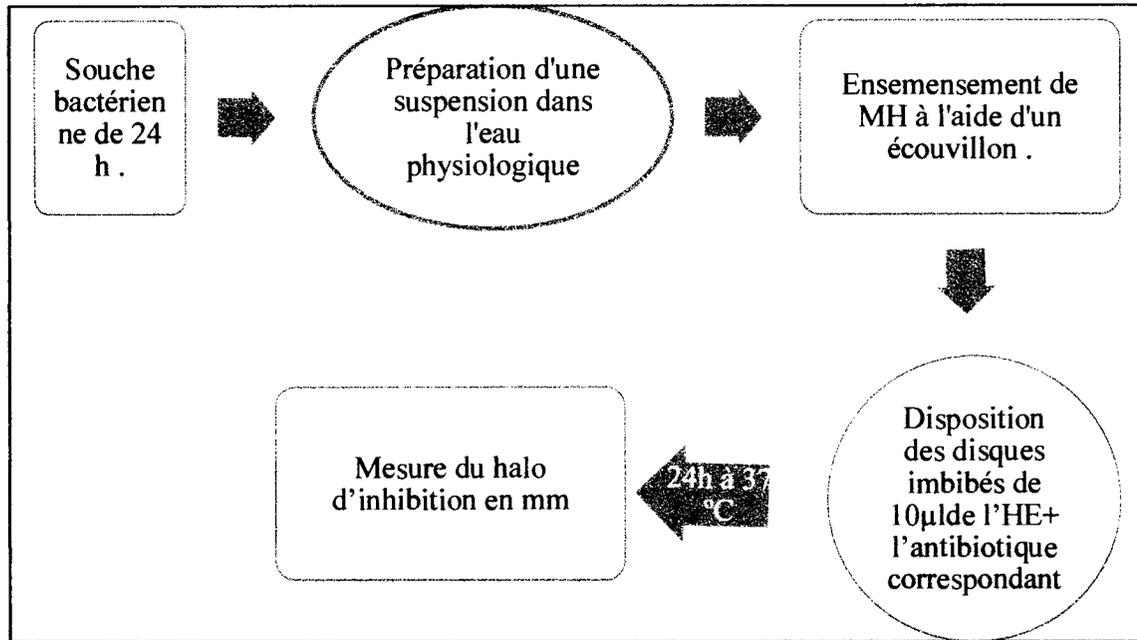


Fig.32:Etapes de réalisation du test de l'activité antibactérienne.

3. Méthodes de caractérisation par spectroscopie a infra rouge :

↳ **La spectroscopie infra-rouge (IR) :** c'est une méthode d'analyse principalement qualitative rapide et sensible ; en mettant en évidence la présence de liaison entre les atomes (fonctions et groupements) ;Donc, elle sert à la caractérisation et l'identification des molécules organiques existantes dans l'échantillon.

Elle consiste à soumettre un produit a la région du spectre électromagnétique comprise entre le visible et micro-ondes.Du côté pratique, la région étudiée se situe entre 4000 et 400 cm^{-1} . Lorsqu'une molécule est soumise à une radiation dont la fréquence se situe dans cet intervalle,les différents groupements qui la composent absorbent à une fréquence caractéristique correspondant à leur fréquence de vibration (élongation ou déformation).

La spectroscopie infra-rouge (FTIR) repose sur la mesure de la diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la longueur d'onde.

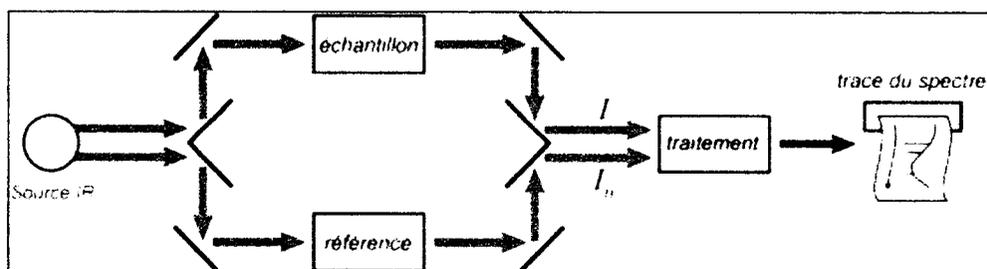


Fig.33 :Schéma simplifier d'un appareil de Spectrométrie infra-rouge {109}.

VI-Formulation galénique ;

Nous avons préparé une formulation galénique à base des extraits polyphénoliques des deux plantes, il s'agit d'une émulsion de type huile dans l'eau. Une émulsion est système biphasique constitué de deux phases ; une phase huileuse et une phase aqueuse. l'émulsification est assurée par des agents tensio-actifs.

1. Matériels utilisés

- balance de précision.
- Plaque chauffante.
- mélangeur a helice.
- Microscope optique.
- Spatules .

➤ Les excipients

- Vaseline blanche .
- Huile de vaseline .
- Tween 60 :tension actif.
- Cire de carnauba : émulsifiant.
- HPMC :viscosifiant hydrophile (polymère).

➤ **Les extraits utilisés** :les polyphénols totaux des deux plantes *Cistus albidus* et *Cistus monspiensis*.

➤ **Mode opératoire** :la préparation de l'émulsion à base d'un extrait des polyphénols totaux de deux espèces de la famille cistaceae se déroule principalement en deux étapes :

- ❖ **Préparation de la phase huileuse**:dans un bécher on mélange 0.5g du PPT ; 20g du vaseline blanche ;1.5g du Cire de carnauba ;puis on complète avec l'huile de vaseline jusqu'à 55g.on chauffe le mélange jusqu'à la dispersion totale du cire de carnauba .(Fig.36).
- ❖ **Préparation de la phase aqueuse**:dans un autre bécher on met 3g du HPMC , 5g du Tween ,et 60ml d'eau distillée ,on les mélange à l'aide d'un mélangeur à 897 t/mn pour le ciste blanche et à 2000t/mn pour le ciste de Montpellier (fig36) jusqu'à la dissolution totale .
- ❖ **Emulsification** ; Après le refroidissement de la phase huileuse ; on la mélange avec la phase aqueuse en utilisant le mélangeur à plus de 800t/mn pour *Cistus albidus* et plus de 2000t/mn pour *Cistus monspiensis* ;jusqu'à l'obtention d'une émulsion homogène.(Fig.37).
- **La lecture au microscope optique** :

La partie expérimentale

après l'obtention d'une émulsion homogène et stable ; on met d'une goutte de celle-ci avec une goutte d'eau distillée entre lame et lamelle, pour effectuer l'observation au microscope optique à Grossissement X4 puis à Grossissement X10.

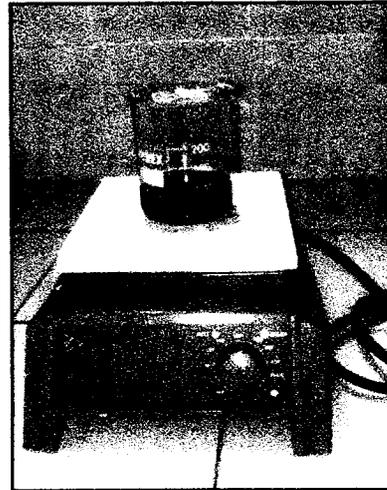
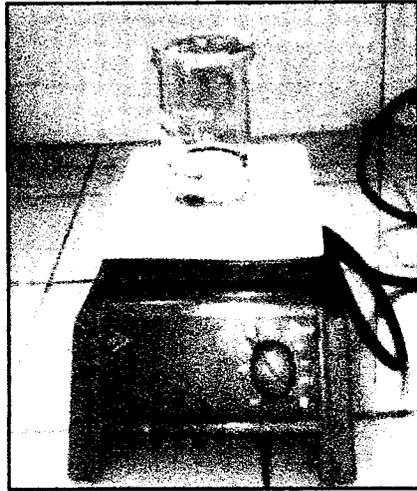


Fig.34 : Préparation de la phase huileuse (original). Fig.35:Phase huileuse homogénéisée(original).

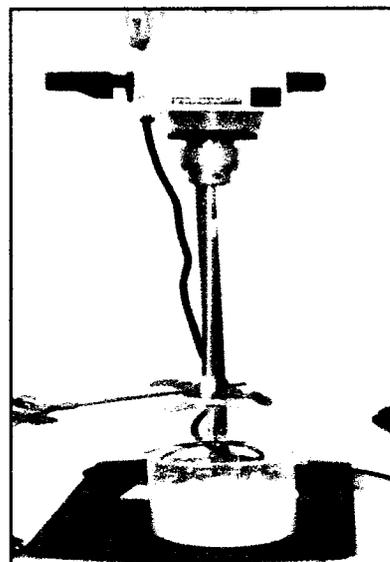
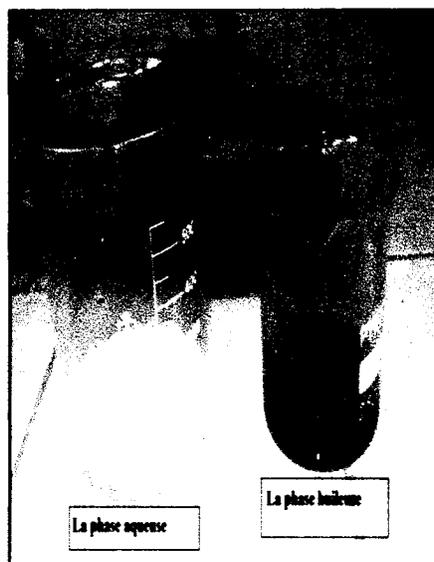


Fig.36 : les phases à mélanger (original).

Fig.37 :l'étape d'émulsifications(original).

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION :

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION .

I. Résultats :

I.1. Résultats des extractions réalisées.

I.1.1. Rendement des huiles essentielles : le rendement en huiles essentielles ainsi que l'aspect organoleptique sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau IX : le rendement, la couleur et l'odeur des huiles essentielles des plantes investiguées (original)

	0.106 %	Jaune foncée	Spécifique et forte
	Non déterminé	Jaune pâle	Spécifique et forte

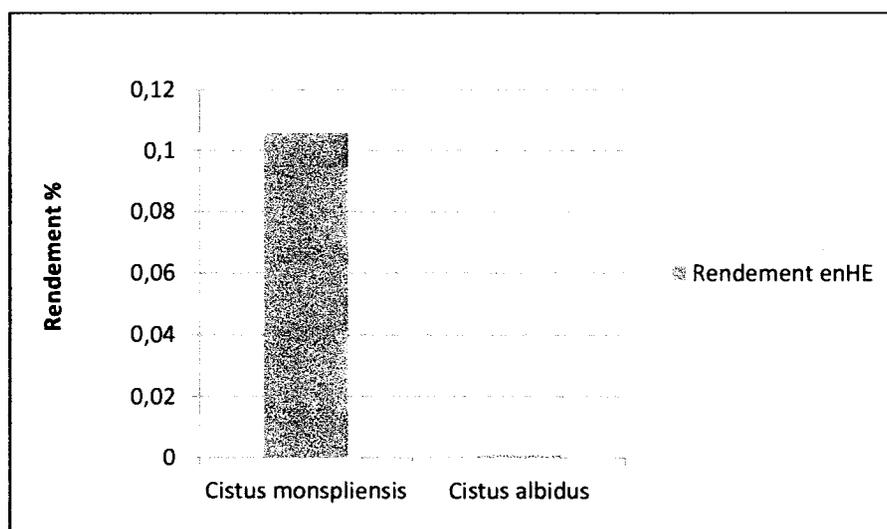


Fig .38 : Rendement en huiles essentielle pour les deux espèces étudiés .

I.1-2-Préparation de l'extrait des polyphénols : Les polyphénols totaux récupérés à partir des deux plantes sont représentés dans les figures ci-après,

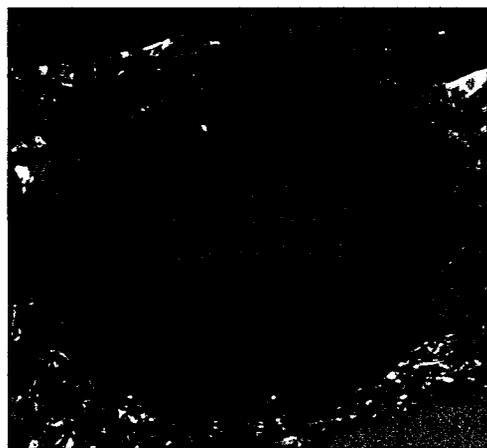


Fig39 :l'extrait de polyphénole du ciste De Montepplier(original) .

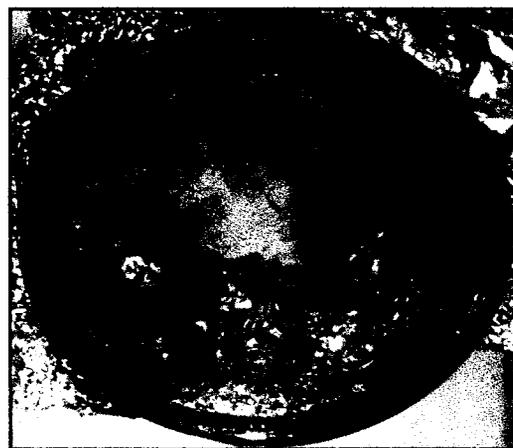


Fig40 :l'extrait de polyphénole du ciste blanchâtre (original).

1.2.-Le screening phytochimique :les résultats du screening phytochimiques sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau X : résultats des tests phytochimiques sur l'infusé de deux plantes investiguées (original).

Test	Observation		Résultat	
	Cm	Ca	Cm	Ca
Anthocyanes	Rouge orangée.	Orange	++	+
Tanins	Trés forte coloration noire	Trés forte coloration noire	++++	++++
Flavonoïdes	Rouge	Rouge	+++	+++
Alcaloïdes	Pas de changement	Pas de changement.	-	-
Glucosides	Rouge brique	Rouge brique	++	+++
Quinones libres	Maron	Maron	+	+
Saponosides	Précipité jaune	Précipité jaune	-	-
Mucilage	Précipité floconneux	Précipité jaune floconneux	+++	+++

Les résultats ont été interprétés comme suit :

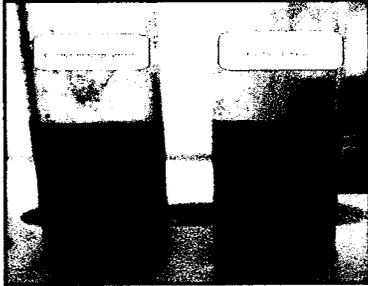
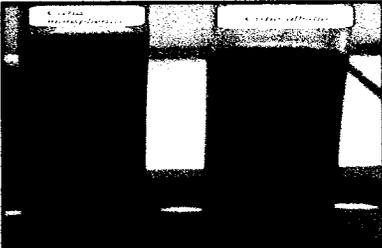
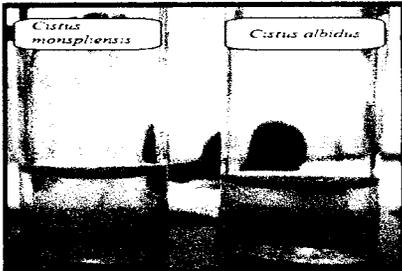
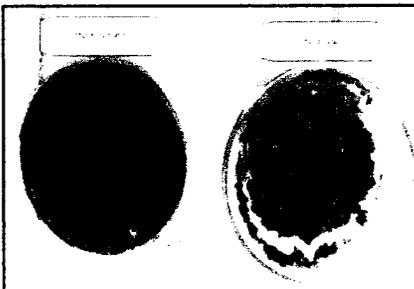
++++ : Réaction très positive.

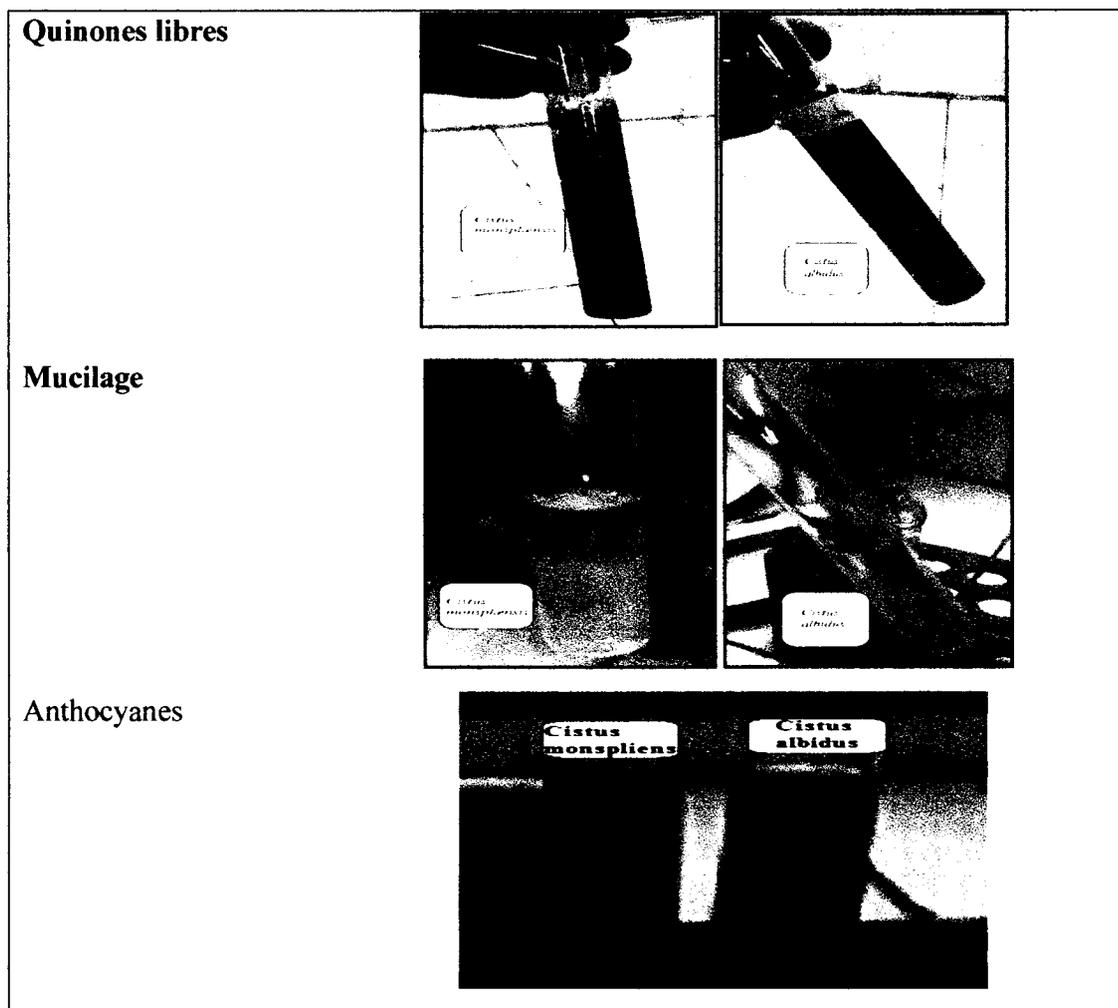
++ : Réaction moyennement positive.

La partie expérimentale

- : Réaction négative.

Tableau XI : Resultats de screningphytochimique (original).

Tanin	
Flavonoïdes	
Alcaloïdes	
Saponosides	
Glucosides	



I.3. Evaluation des activités biologiques :

1-Evaluation de l'activité anti-oxydante :

Le DPPH est un radical libre nous permettant de déterminer le potentiel de piégeage de nos extraits aqueux grâce à sa sensibilité à détecter les composants actifs à des basses concentrations .L'activité antiradicalaire a été estimée spectrophotométriquement en suivant la réduction du DPPH à 517nm .

Les résultats de l'activité antioxydante des extraits des deux plantes sont présentés dans le tableau XI et les graphes (fig 42.43.44.) suivants :

La partie expérimentale

Tableau XII::Résultats de l'activité anti-oxydante (la densité optique et le pourcentage d'inhibition des différentes dilutions) de VitC et des infusés de deux plantes étudiées (**original**) .

	1 ^{ere} dilution	2 ^{eme} dilution	3 ^{eme} dilution	4 ^{eme} dilution	5 ^{eme} dilution
L'infusé du <i>Cistus monsliensis</i>	92.61	90.18	87.39	83.42	79.73
L'infusé du <i>Cistus albidus</i> .	93.78	93.69	93.06	91.44	88.83
Vit C	94.77	78.78	61.75	44.72	20.11

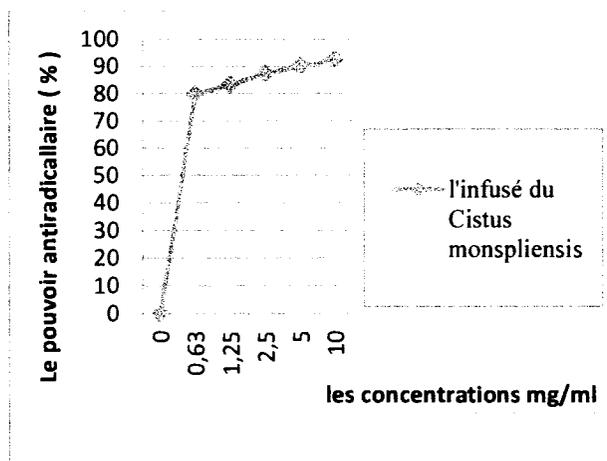


Fig.41 : l'activité anti-oxydante de l' infusé du *Cistus monsliensis* .

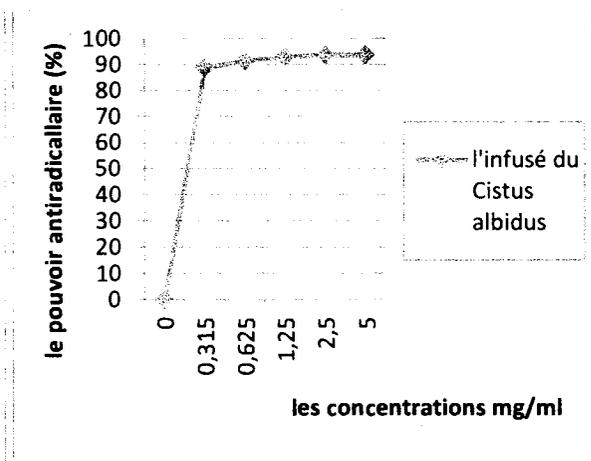


Fig. 42 : l'activité anti-oxydante de l' infusé du *Cistus albidus*.

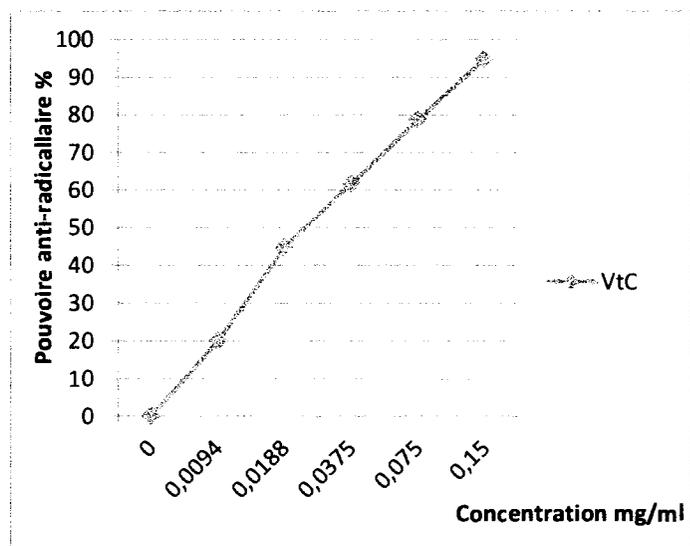


Fig. 43 : l'activité anti-oxydante du VitC.

La partie expérimentale

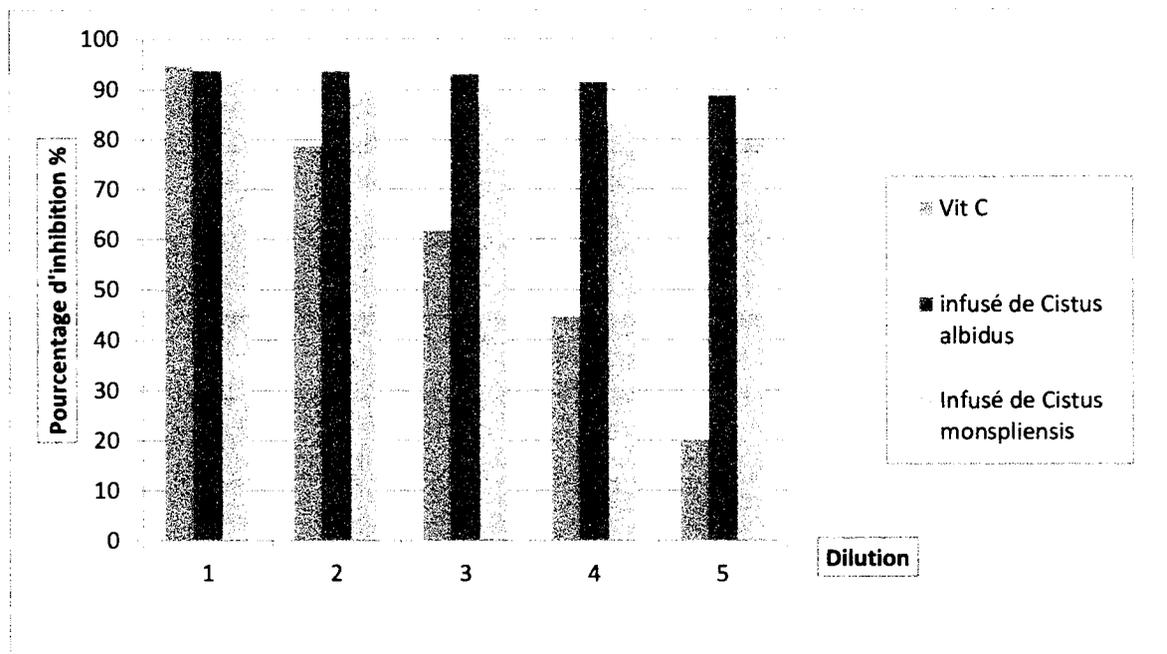


Fig.44:Résultat de l'activité anti-oxydante de VtC et des infusés de deux plantes étudiées(original).

Les figures et le tableau X illustrent l'efficacité des infusés à piéger le radical DPPH, traduite par le taux d'inhibition (I%) en fonction des différentes concentrations.

A partir de la courbe des taux d'inhibition, nous avons pu déduire graphiquement que l'évolution de l'activité antiradicalaire est dose-dépendante, car elle augmente avec l'augmentation des concentrations des infusés dans le milieu réactionnel.

On a remarqué que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'infusé du ciste du Montepier était inférieure à celui du ciste cotonneux pour toutes les concentrations utilisées ; l'infusé du *Cistus albidus* exerce une inhibition maximale de 93.78% à une concentration de 10mg/ml. Alors que celui du *Cistus monspeliensis* montre une inhibition maximale de 92.61% à une concentration de 5mg/ml.

La capacité antioxydant des deux extraits a été déterminée à partir de l'IC50, c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande {110}

Nous avons déterminé graphiquement l'IC50 pour chaque infusé, et pour le produit de référence, l'extrait du Ciste de Montepier présente une IC50 de l'ordre de 0.650 mg/ml supérieur à celui de l'extrait du Ciste blanchâtre qui est d'ordre de 0.320 mg/ml, mais pour le Vit C il est de l'ordre de 0.028mg/ml.

La partie expérimentale

2-Evaluation de l'activité anti-inflammatoire :

L'injection de la solution de carragénine à 1% aux trois lots (T, E_c, E_{cl}) dans la surface plantaire de la patte postérieure gauche des souris, a provoqué une congestion des tissus suivi d'infiltration des liquides c'est à dire la présence d'un œdème traduit par l'augmentation du poids des pattes .

Le pourcentage d'œdème et le pourcentage de réduction des différents lots : les souris témoins et les souris traités sont représentés respectivement dans le tableau suivant :

Tableau XIII: Les résultats de l'activité anti-inflammatoire (original) .

Lots	Poids de patte gauche.	Poids de patte droite.	%de l'œdème.	%de reduction de l'œdème.
Témoin (T)	2.27	1.06	114.151	0%
Essai _{cl}	0.598	0.502	19.124	83.24
<i>Cistus albidus</i>	1.172	0.634	84.86	25.66
<i>Cistus monspeliensis</i>	0.952	0.716	32.96	<u>71.126</u>

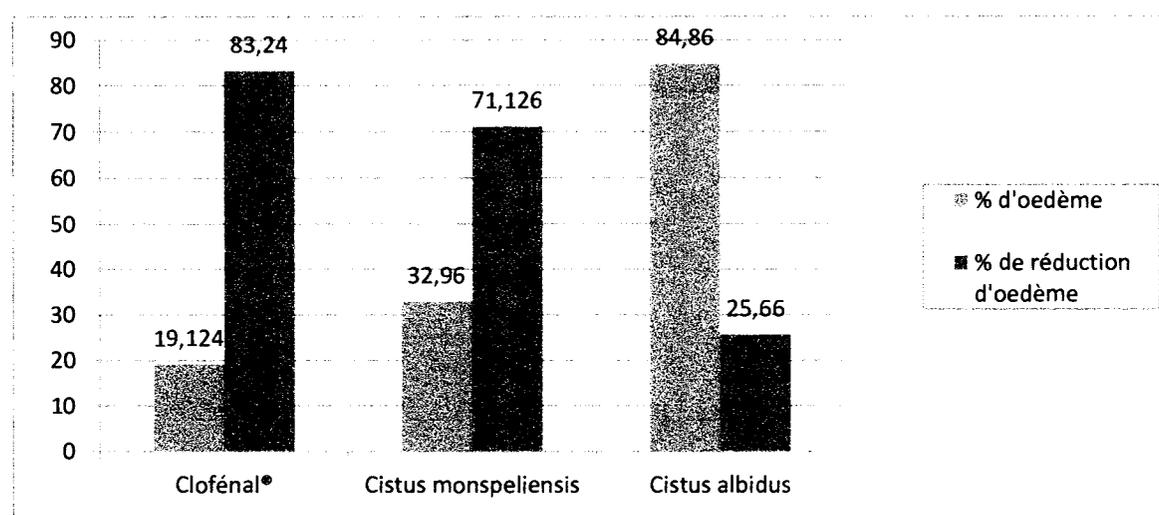


Fig45 : Activité anti-inflammatoire de produit de référence et de les infusé des deux plantes investiguées (original).

A partir de ces résultats nous constatons que les extraits aqueux des deux plantes étudiées ont des propriétés anti inflammatoires différentes puisque Cm présente une activité anti-inflammatoire très

La partie expérimentale

interessente 71.13% compare au produit de référence Diclofénac qui est de l'ordre de 83.24% alors que capresente un taux de reduction d'oedeme asse faible de l'ordre de 25.66 %

3-Evaluation de l'activité anti-spasmodique : Les résultats de l'activité antispasmodique sont représentés dans le tableau suivant :

TableauXIV : nombre des crampes musculaires des souris de chaque lots(**original**).

	Le nombre des crampes musculaires .				
	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4	Souris 5
Témoin (-)	45	36	41	39	44
Témoin (+)	17	12	20	2	3
<i>Cistusmonspliensis</i>	23	36	23	29	28
<i>Cistusalbidus</i>	21	23	25	6	25

Le pourcentage de protection des crampes des différents lots est représenté dans le tableau ci-après :

TableauXV: Résultats de l'activité anti-spasmodique (**original**).

	Témoin (-)	Témoin (+)	<i>Cistus monspliensis</i>	<i>Cistus albidus</i>
La moyenne des crampes.	41	10.8	27.8	20
% du protection	0	73.66	32.20	51.22

La partie expérimentale

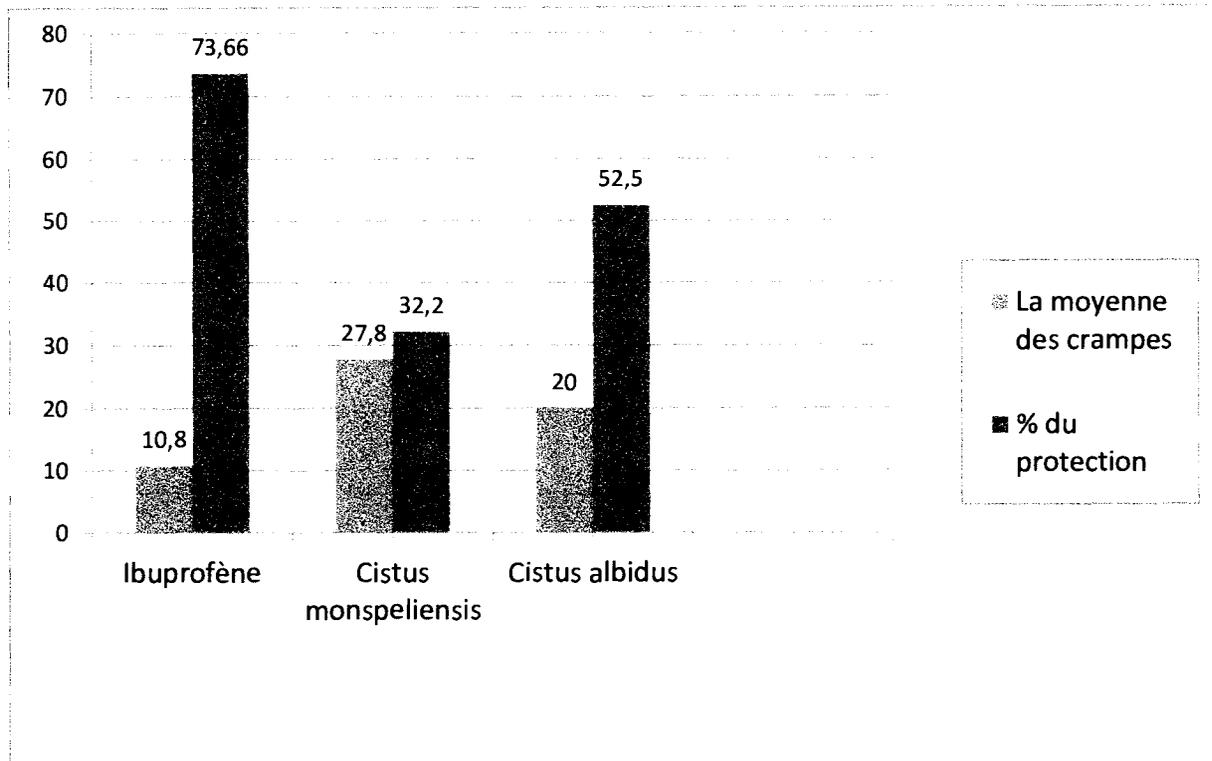


Fig 46:Résultat de l'activité antispasmodique des infusés de deux plantes et de produit de référence (original).

L'injection intra-péritoniale de l'acide acétique 10% conduit à des crampes musculaires chez les souris comptées pendant 10 mn .Le prétraitement des souris par l'Ibuprofène (200mg/kg) réduit significativement le nombre des crampes musculaires, avec un taux de protection de 73.66 %. L'Ibuprofène est un inhibiteur non sélectif de la cyclooxygénase 1 et 2 (COX-1 et COX-2).

Les pourcentages de protection obtenues par les extraits du Cistus monspeliensis et du Cistus albidus sont inférieurs à celle obtenue par le produit de référence ; qui sont de l'ordre respectivement de : 32.2 ,52.5 ,73.66 %.

4-Evaluation de l'activité hypoglycémisante :

Tableau XVI :Résultats de l'activité hypoglycémisante .

	T ₀	30mn	60mn	90mn	120mn	180mn
Témoin (-).	0.65	0.70	0.78	0.71	0.74	0.69
Lapin nom traité.	0.97	1.45	1.61	1.81	1.57	1.27
Lapin reçoit Glimépiride.	0.87	1.22	1.04	0.73	0.75	0.75
Lapin reçoit l'infusé du Cm.	0.83	1.69	1.36	1.17	1.17	1.08
Lapin reçoit l'infusé du Ca.	0.96	2.42	2.15	2.15	2.34	2.17

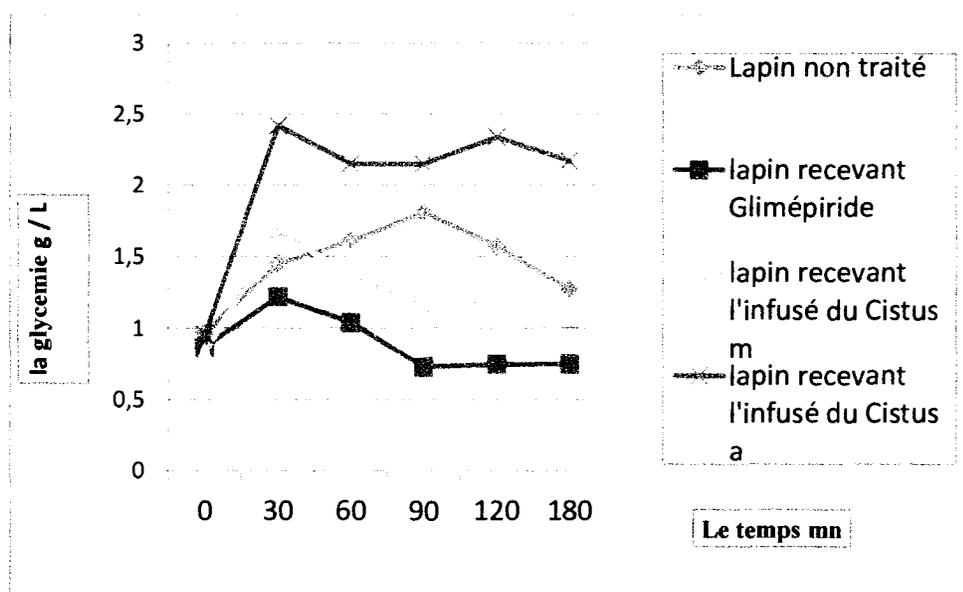


Fig47:Résultats de l'activité hypoglycémisante.(original).

Les résultats de l'effet hypoglycémiant post- prandial des infusés de deux espèces de ciste : *Cistus albidus* ,*Cistus monspeliensis* sur des lapins en état d'hyperglycémie par une solution glucosée à 50% à une dose active de 4g/kg sont rassemblés dans le tableau XV et illustrés par la figure 46

Nous avons constaté qu'il y'a eu une diminution significative de la glycémie au cours les 90mn pour tous les groupes ayant reçu un traitement par Glimépiride et les infusés des deux plantes .

La partie expérimentale

En effet, à partir du 30 minutes, la différence du taux de la glycémie des groupes traités est déjasignficative par rapport à la glycémie initiale .

Tableau XVII:les pourcentages de réduction du glycémie des trois lapins traités dans la même durée (original).

	30-60mn	60-90mn
Glimépiride	18	31
infusé du <i>Cistus monspiliensis</i>	33	19
infusé du <i>Cistus albidus</i>	27	0

Après 90 min du traitement n'a aucune différence significative du glycémie obtenue avec Glimépride et avec les infusés.

5-Evaluation de l'activité anti-bactérienne :

❖ Par l' huile essentielle du *Cistus monspiliensis* :

TableauXVIII :Résultats de l'activité antimicrobienne de l' huile essentielle du*Cistus monspiliensis*.

Les souches	Le diamètre de la zone d'inhibihion (mm).		La sensibilité
	La 1 ^{ere} essaie	La 2 ^{eme} essaie.	
<i>E.coli</i> ATCC 25922	33	34	Trés sensible
<i>Pseudomonas aerogénosa</i> ATCC 27553	20	29	Trés sensible
<i>Staphyloccucus aureus</i> ATCC 25923	20	25	Trés sensible
<i>EntéroccocusSp.</i>	Non déterminé	Non déterminé	Résistante

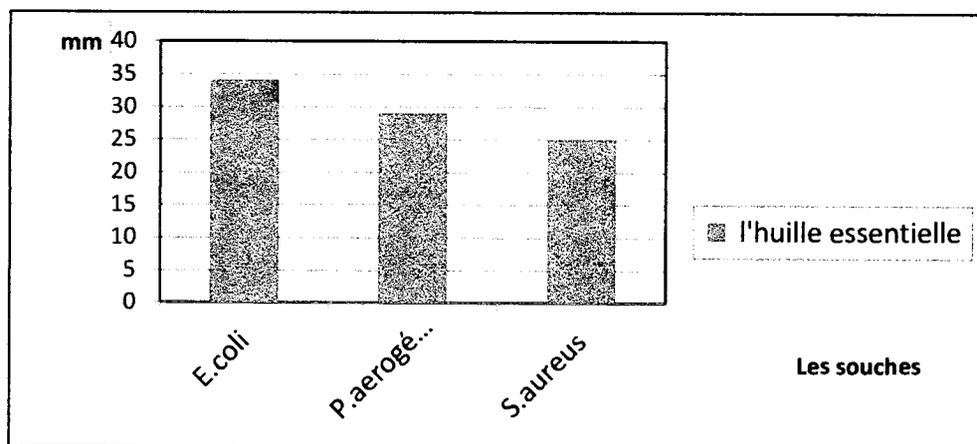


Fig 48 : Résultats des diamètres d'inhibition de l'HE du *Cistus monspiliensis*(original)

La partie expérimentale

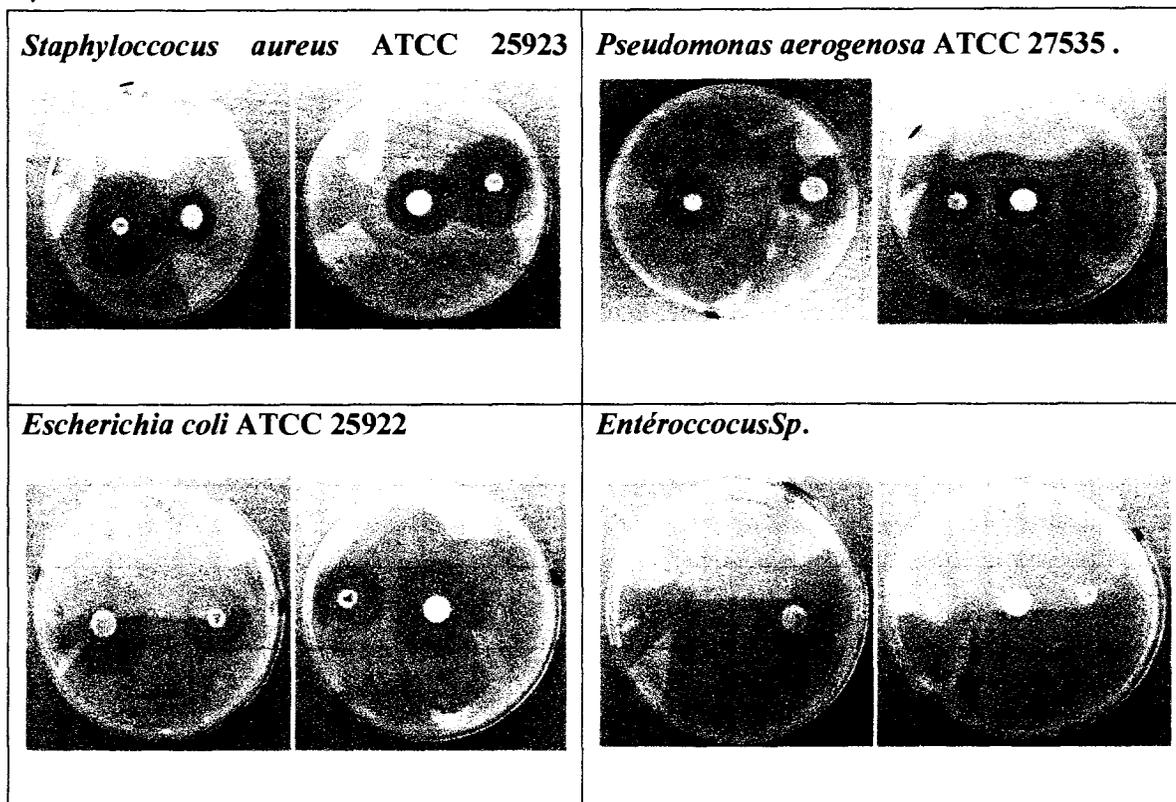


Fig49: Expression de l'activité de l'HE du ciste de Montepelier sur quelques souches bactériennes testées(original) .

Les résultats obtenus indiquent que l'huile essentielle de *Cistus monspeliensis* a montré une activité inhibitrice plus ou moins importante sur les souches testées, avec *Escherichia coli* ATCC 25922 qui a été le micro-organisme le plus sensible ; Une zone d'inhibition de 33 mm a été mesurée pour ce germe, suivie par *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27553 et *Staphylococcus aureus* ATCC 27 923 avec des zones d'inhibition de 29et 25mm respectivement.

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du *Cistus monspeliensis* sont approximatifs dans les deux essaies pour le germe *Echerichia coli* ATCC 25922 ; A l'opposé, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ont montré des défférences de diamètres des zones d'inhibition dans les deux essaies , qui est due à une ensemencement bactérienne plus chargée dans la 1^{ete} essaie pour ces germes .

La partie expérimentale

❖ Par l'extrait de polyphénol

. Tableau XIX : Résultats des activités antimicrobiennes des extraits polyphénoliques des plantes investiguées (original).

Les souches	Le diamètre de la zone d'inhibition (mm).				La sensibilité	
	Cm		C.a		Cm	C.a
	A l'état brute.	La dilution en ½.	A l'état brute.	La dilution en ½.		
<i>E.coli</i> ATCC 25922.	18	17	16	13	Moyenne	moyenne
<i>Pseudomonas aerogénosa</i> ATCC 27553.	21	20	19	18	Très Sensible	moyenne
<i>Staphylococcus aureus.</i> ATCC 25923.	13	12	20	17	Limitée	Sensible
<i>EntéroccocusSp.</i>	11	10	ND	ND	Limitée	Résistante

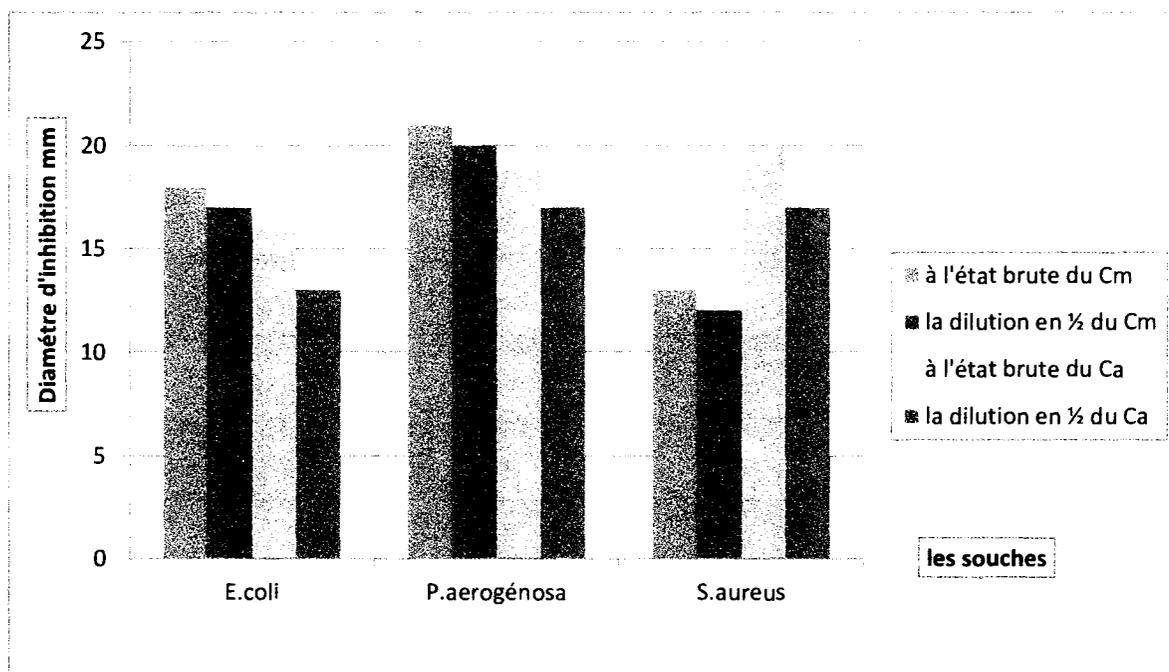


Fig 50: Résultats des activités antimicrobiennes des extraits polyphénoliques des plantes investiguées (original).

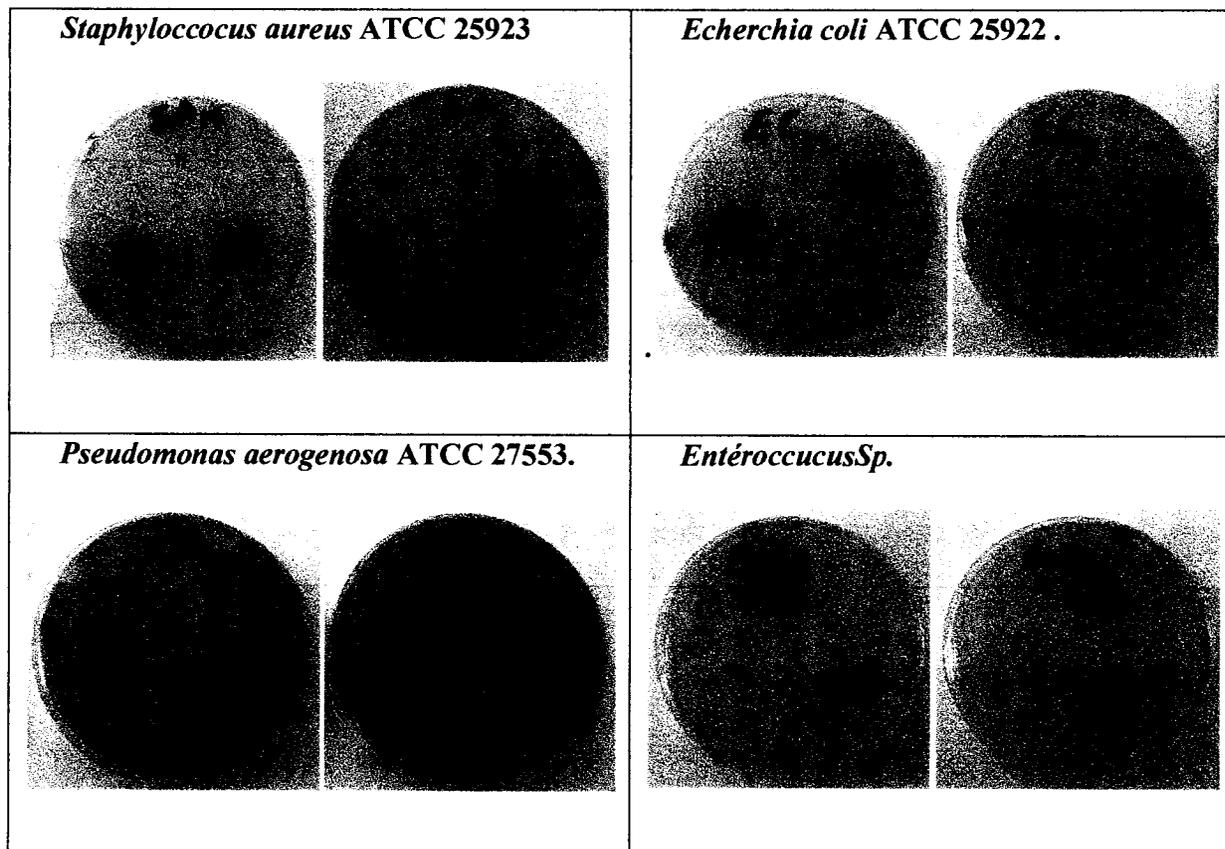


Fig.51 :Expression de l'activité des extraits polyphénoliques du ciste de Montepplier ; et du ciste blanche sur quelques souches bactériennes testées (original).

I.4. Méthode de caractérisation :

➤ Infra rouge : Spectre IR de *Cistus monpliensis* :

Transmittance

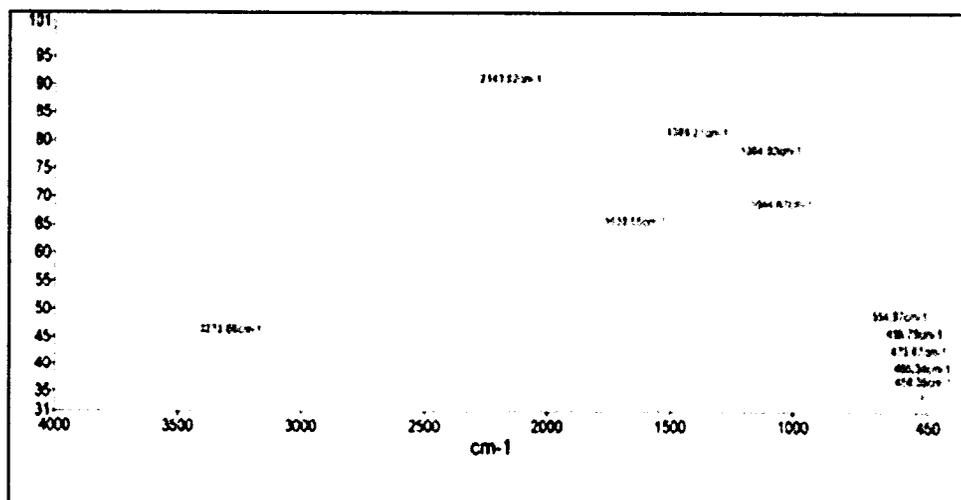


Fig .52. Spectre IR de *Cistus monpliensis* (original).

Tableau XX : Les pics repères dans le graphe .

3272	Amides N-H
2143.82	Alcynes RC=CH
1638.55	Amines (RNR2)
1380.21	Acide carboxyliques
1084.82	Halogénures C-F
1044.67	

I.5. Formulation galénique :

L'aspect macroscopique des émulsions obtenues sont représentés dans les photos ci-après

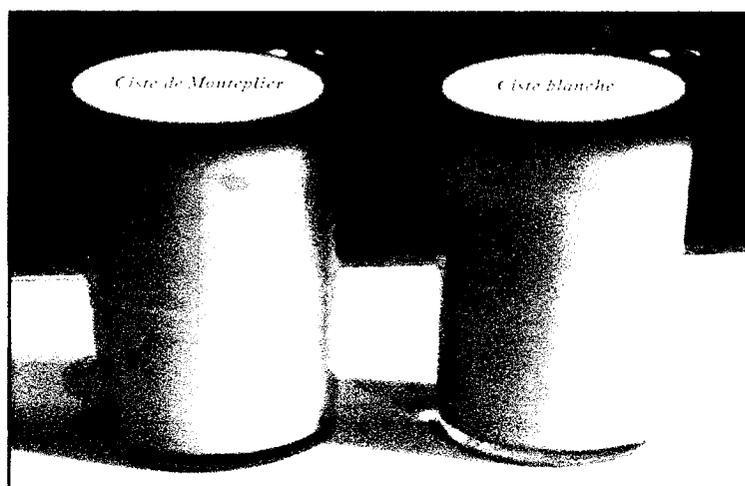


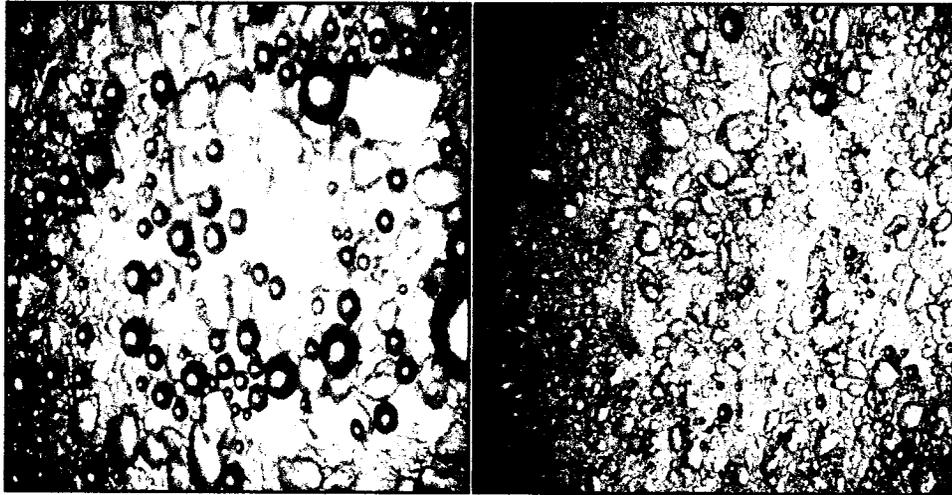
Fig.53 : Emulsion à base d'extrait des polyphénols (original) .

1. Observation macroscopique :

Les deux émulsions présentent un aspect crémeux homogène de couleur caractéristiques des polyphénols de chaque espèce.

2. Observation microscopique ;

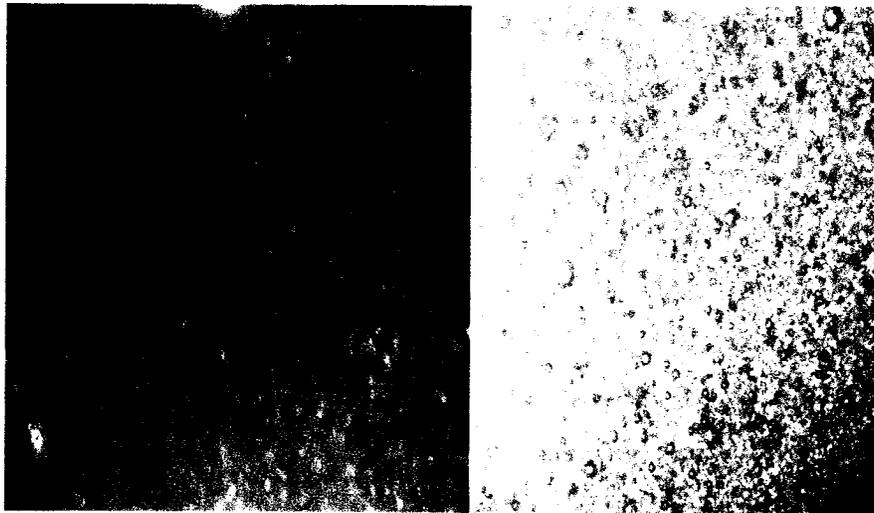
Les photos microscopiques des émulsions préparés sont représentés ci-dessous :



Grossissement :G× 10

Grossissement :G×04

Fig .54:La lecture au microscope optique d'une goutte d'emulsion du Ciste blanche(original).



Grossissement :G× 10

Grossissement :G ×04

Fig.55 :La lecture au microscope optique d'une goutte d'émulsion de ciste de Monteplier (original).

II.DISCUSSION

1. Le rendement en huiles essentielles est très faible pour les deux plantes surtout pour le ciste blanchâtre, où on a pas pu la récupérer car elle a été sous forme de trace collée sur les parois de la colonne du dispositif (clévenger). Pour les paramètres organoleptiques, les huiles des deux espèces ont une odeur caractéristique, Elles sont de couleur jaune dont celle le ciste de Montpellier est plus foncé.

2. la couleur des PPT varie du vert fonce pour *C.albidus* et marron verdâtre pour *C.monspliensis* .

3. Les tests phytochimiques réalisés sur les deux plantes *C. albidus* et *C. monspliensis* démontre la présence des tannins des antocyanes ,les flavonoïdes, les quinones libres, les mucilages, et les glucosides, d'autre part nous avons constaté l'absence des alcaloïdes, les saponosides.

4.

❖ L'activité antiradicalaire est dose-dépendante , En comparaison des IC50 des deux plantes et celui de la vit C prise comme référence, on conclut que l'extrait de C.a présente un pouvoir antioxydant plus puissant que celui de Cm,

K. Sayah et al 2017 ont démontré que les extraits méthanoliques de Cm du Maroc présente une activité antioxydante représentée par IC50 qui est l'ordre de $14.58 \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$.{112}.

❖ La carragénine est une mucopolysaccharide sulfaté provenant d'une Rhodophyceae, elle provoque une inflammation typiquement liée à l'activation de la cyclooxygénase .

Cette inflammation est biphasique. En effet, il est connu que, chez l'animal vivant, la carragénine dans une première phase provoque la synthèse de médiateurs chimiques tels que l'histamine et la sérotonine qui entretiennent l'inflammation {113}. Dans une seconde phase, cette molécule de référence induit la synthèse de prostaglandines principalement, de protéases et de lysosomes. Cette dernière étape est sensible aux antagonistes de synthèse des prostaglandines et aux anti-inflammatoires naturels ou de synthèse tels que les glucocorticoïdes {114},{115}.

L'infusé de la partie aeriennne de chaque espèce a des effets significatifs sur l'oedème de la patte de souris induit par la carragénine à 1% . L'efficacité plus importante de l'extrait aqueux du Cm pourrait être liée au son profil chimique ,particulièrement à la présence de composés polyphénoliques actifs sur l'inflammation .

Cette activite anti-inflammatoire pourrait s'expliquer par la presence à des teneurs défférentes des composés anti -sérotonique et anti histaminique et / ou des inhibiteurs de prostaglandines et /ou

des composés qui s'opposent à la formation des lysosomes et des proteases au niveau de la zone d'inflammation.

HIROE .M et al 2010 {116} ont démontré que les extraits de *Citrus sp* présente une activité anti-inflammatoire puissante qui agit par inhibition de NO et une activité inhibitrice du COX-2.

- ❖ Le prétraitement des souris par les infusés de deux espèces, confirment que ces deux extraits ont une activité antispasmodique, ils assurent une diminution significative du nombre des crampes. On a remarqué que, l'infusé du ciste blanche possède une capacité importante de réduire le nombre des crampes musculaires que celle du ciste de Monteplier.

Mohammed Aziz et al, 2006,{111} ont démontré que l'extrait aqueux de feuilles et de tiges de *Cistus ladaniferus* a produit une inhibition de la concentration réversible dépendante de la dose (0.1-3mg/ml) de la motilité spontanée du jejunum du lapin. Par comparaison, ces résultats confirment l'utilisation traditionnelle de *C. Albidus* et *C monspliensis* dans le traitement des maux intestinaux.

- ❖ La chute significative de la glycémie continue au cours de 60 mn pour les lapins reçu le traitement standard et l'infusé du ciste de Monteplier, tandis que, le taux de glycémie pour le groupe qui reçoit l'infusé du ciste blanche reste stable.

Les valeurs de chute de glycémie pour les groupes de lapins qui reçoivent les extraits ne sont pas très différentes par rapport à ceux pour lapin qui reçoit le traitement standard (tableau XVI).

Selon KARIMA Sayah, et al, 2017 {112}, l'étude de l'activité hypoglycémisante postprandiale de l'extrait aqueux et l'extrait méthanolique du *Cistus monspliensis*; *Cistus Salviifolius* par une méthode de dosage de la glycémie in vitro basée sur un dosage enzymatique. selon la méthode décrite par **Kee et al. {117}** a démontré que les extraits des deux espèces possèdent un fort effet inhibiteur vis-à-vis de l' α -glucosidase et un potentiel inhibiteur significatif contre l' α -amylase

- ❖ Les zones d'inhibition constatées pour l'huile essentielle de *C. monspliensis*, utilisée à raison de 10 μ L/disque étaient toutes supérieures à celles des antibiotiques de référence utilisées.

Dans la réalité, même si l'activité antimicrobienne d'une huile essentielle est souvent attribuée essentiellement à ses composés majoritaires, aujourd'hui il est connu que l'effet synergique ou antagoniste des composés du mélange doit être considéré {118} En outre, les composants des huiles essentielles de quantité plus faible peuvent également contribuer à l'activité antimicrobienne, impliquant probablement un certain type de synergie avec d'autres composés actifs {119}.

De nombreuses plantes aromatiques ainsi que les huiles essentielles elles-mêmes possèdent un fort pouvoir antimicrobien. On les utilise même quelquefois comme conservateurs. Ce pouvoir s'exerce à l'encontre des bactéries pathogènes qui altèrent les structures et la fonctionnalité membranaire. En effet, leur caractère lipophile leur permet de se lier aux membranes cellulaires des microorganismes et d'inhiber les échanges d'électrons membranaires lors de la phosphorylation oxydative ce qui

freine ainsi le métabolisme cellulaire. De fortes doses en huile essentielle provoqueraient même la lyse membranaire des microorganismes {120}.

❖ Extraits de polyphénol par le méthanol de deux espèces sont testés contre une série de microorganismes , et les résultats montrent un effet antimicrobien faible sur toutes les souches .

A.BOUYAHIA et al 2017 {121}. (Maroc) ont démontré l'activité anti-microbienne des extraits éthanoliques e Cm et C.a sur *E.Coli* et *S. aureus* avec des diamètres d'inhibition respectivement de C.a (9mm et 17mm) et Cm (9mm, 16mm) .

5. Les fonctions repérées dans le spectre Infra - rouge pour l'extrait de *Cistus monpiensis* sont la fonction carboxylique qui représente une élongation importante, nous avons aussi des amines, les halogènes fluorés, les halogènes du Brome, les halogénures R-I, et des Alcynes. La composition détaillée des familles phytochimiques de cette plante devrait se faire par des techniques chromatographiques tel que LC-MC.

6. L'observation au microscope optique des émulsions préparées à base des extraits méthanoliques Cm et C.a met en évidence une répartition homogène des globules, ce qui démontre la bonne dispersion de la phase organique interne dans la phase aqueuse externe. Néanmoins il faut compléter par des études de stabilité en temps réel et accélérées pour juger de la stabilité du système.

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Utilisation traditionnelle des plantes gene et des plantes étudiées

L'objectif de notre travail consiste à faire une étude phytochimique et biologique sur des extraits de deux plantes : *Cistus albidus* , *Cistus monspliensis* de la région de Tipaza- Algérie .

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation en utilisant un dispositif d'extraction type Clevenger est réalisée , La valeur du rendement en huile essentielle de la partie aérienne des deux plantes est très faible ,elle est d'ordre de 0.106% pour *Cistus monspliensis* .tandis que , nous pouvons pas déterminer celle du *Cistus albidus* .

Nous avons aussi préparé des infusés et des extraits polyphénoliques par le méthanol 97% .

Le scrénning phytochimique des infusés de deux espèces a permis d'identifier les principaux métabolites secondaires isolés ;dont les composants majoritaires pour les deux plantes sont :les tanins ;les flavonoides ; les glucosides ; et le mucilage.

En matière d'étude pharmacologique , l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cistus monspliensis* évaluée par la méthode de diffusion sur gelose , a permis de révéler une bonne activité inhibitrice sur la croissance de *S. aureus* ATCC 25923 : *E. Coli* ATCC 25922; *P. aeruginosa* ATCC 27853.Cependant , celle de l'extrait des polyphénols totaux de la même plante est assez faible sur les même souches bactériennes ; les mêmes résultats sont obtenus pour les polyphénols totaux du *Cistus albidus* qui a révélé une faible activité anti-microbienne sur les mêmes souches bactériennes.

L'activité antioxydante des infusés de *Cistus albidus* , *Cistus monspliensis* a été également étudiée par le test du radical libre DPPH où la VtC a été prise comme référence.

D'après les résultats du test effectué, nous avons constaté que , les deux plantes possèdent un grand pouvoir anti-oxydant .

L'effet anti-inflammatoire et antispasmodique des infusés de la partie aérienne de *Cistus albidus* et de *Cistus monspliensis* ont été évalués par des méthodes in vivo sur des souris albinos . les résultats obtenus montrent que l'infusé de *Cistus monspliensis* a une activité anti-inflammatoire plus importante par rapport à celle de *Cistus albidus* , mais moins importante que le produit de référence Clofénal®. Cependant ,l'effet antispasmodique est plus important chez l'infusé de *Cistus albidus* par rapport à celui du *Cistus monspliensis* ,mais les deux infuse presnet un effet anti-spasmodique inférieures au produit de référence Ibuprofene.

L'étude de l'effet hypoglycemiant des infusés des deux plantes étudiées chez des lapins en état d'hyperglycemie a permis de révéler un effet significatif de celui de *Cistus monspliensis* à l'opposé

Conclusion générale

de celui de *Cistus albidus* qui est faible surtout après 1h du gavage de solution glucosée ,les deux extraits présentent un effet moindre par rapport au produit de référence Glimépiride .

En conclusion , l'évaluation de ces activités des infusés de ces deux plantes démontre qu'elles possèdent un pouvoir pharmacologique, ce qui justifie leurs usages traditionnel .Les résultats obtenus lors de cette étude sont intéressants, mais des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets. Ces études doivent être aussi orientées vers la détermination précise des composés actifs dans les différents extraits des plantes et l'évaluation de leurs mécanismes d'action dans l'organisme.

les références bibliographiques

- {1}. OULD ELHADJ. M.D, HADJ MAHAMMED. M, ZABEIROU. H ;2003 ;Place des plantes spontanées dans la médecine traditionnelle de la région de Ouargla .(47-51).
- {2}. OMS ;2003 ; principes methodologique généraux pour la recherche et l'évaluation relative à la médecine traditionnelle (31-35) .
- {3}. CHAABI , 2008 ; Etude phytochimie et biologique d'espèce végétal africaines : *Euphorbia stenocla Baill* (Euphorbiaceae) , *Angeissuslio carpus Guill ,Etperr* (Combrétaceae) , *Limoniastrum feei (Girard)Batt* (Plumbaginaceae) ;Thèse de doctorat en pharmaco-chimie ; université LOUIS PASTEUR et université MONTOURI de Constantine (Alger) ,P : 179-180.
- {4}. EL-KALAMOUNI ; 2010 ; Caractérisation chimique et biologique d'extrait de plantes aromatiques oubliée de Midi –pyrénées . P :3.
- {5}. BOTTEL. J ; 2001 ;Larousse Encyclopédie des plantes médicinales :identification , préparation , soins ; 2^{ème} édition ,P : 7.
- {6}. JORITE , Sophia ; 2015 ;La phytothérapie ; une discipline entre le passé et le future , de l'herboristerie aux pharmacie dediée au naturel ; sciences pharmaceutiques ; Thèse de docteur en pharmacie ; P : 10-17 .
- {7}. KELLER-DIDIER. Collette ; 2004 ; Les plantes médicinales ;P :58.
- {8}. Gahbich. S ; 2009 ;La phytothérapie ; Ecole superieure des sciences et technique de la santé de Sousse .
- {9}. Sebai. M et Boudali.M ;2012 ;La phytothérapie entre la confiance et la méfiance ; mémoire professionnel ; institut paramédical ,CHETTIA .P :56.
- {10}. Strang, C ; 2006 ;Larousse médicale ; Ed larousse .
- {11}. Khalil . E.A , AFIFI . F.U , et AL-HUSSAINI .M ; 2007 ; Evalation of the wound healing effect of some jordanian traditional medicinal plants formulated in pluronic F 127 using mice ;Journal of Ethnopharmacology 109 ,P : 104-112.
- {12}. MOHAMMEDI .Sara ; 2013 ;La phytothérapie , la 1^{ère} du monde , Bien être et santé ; Santé MAG ; N° 18 , MAI 2013, P :36-37.
- {13}. Plantes toxiques à usage médicinale du portourméditerranéen.Paris 2013).
- {15}. PATRICIA BECHAALANY ; 2005 ; L'utilisation des HE dans les affections inflammatoires en complément du traitement osteopathique .mémoire du diplôme ostéopathie animal ;European School of animal ostéopathy ,P :10,11.
- {16}. BRUNETON.Jean ; 1999 ; Pharmacognosie ; phytochimie , Plantes médicinales ; 3^{ème} ed , P :484.
- {17}. Belaiche, 1979 ;Traité de phytothérapie et d'aromathérapie ,Tome 1 :L'aromtogramme , éd Maloine ,Paris .
- {18}. Valnet. J ; 1984 ; Aromathérapie ,traitement des maladies par les essences des plantes , Maloine ,Paris ,P :544.
- {19}. Wichtel. M et Anthon . R , 1999 ; Plantes thérapeutiques : Tradition , pratiques officinales , Science et thérapeutiques .
- {20}. Evan. W.C et Tree ;2002 ;Pharmacognosy 15^{ème} édition .
- {21}. Dunstan et al., 2013.
- {22}. Guide d'aromathérapie familiale , Les huiles essentielles indispensables ; © Lydie Bonnet => <http://www.chrysalide-bien-etre.com> et <http://www.aromalves.com> .
- {23}. Bidié A. dit Philippe et al., 2011.
- {24}. M et HURABIELLE. M ; 1981 ;Abrègè de matière médical(Pharmacognosie);P :339.
- {25}. Ghuestem. A , Seguin. E , Paris .M , Orichioni. A.M; 2001 ; Le préparateur en pharmacie , Dossier 2 ,Botanique ,Pharmacognosie ,Phytothérapie ,Homéopathie .Parie .

les références bibliographiques

- {26}. **Narishetty STK., Panchagnula R.**, 2004. Transdermal Delivery of Zidovudine: Effects of Terpenes and Their Mechanism of Action. *Journal of Controlled Release*. 95: 367-379.
- {27}. **Marghache S., Hamza M. et Tabti B.**, 2009. Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis L.* de Tlemcen, Algérie. *Afrique SCIENCE* 05(1), p: 67 – 81.
- {28}. **Guignard J., Dupont F.** (2004) - Botanique- systématique moléculaire- Ed. Masson. 13^e édition.
- {29}. **Porter N.** (2001) - Essential oils and their production. *Crop & Food Research*. Number 39.
- {30}. **Guignard J.L.** (2000) – Biochimie végétale. 2^eme Ed. De l'abrégé Dunod, Pa
- {31}. **ABOU ZAID . N.H** ; 2000 ; Les huiles essentielles ; La maison Arabe d'édition et de distribution , , P :256.
- {32}. **Guignard J.L., Cosson L. et Henry M.** (1985) - Abrégé de phytochimie. Ed. Masson Paris, P.155-174.
- {33}. **TRESSI R et COLL** ;1975. Biogenesis in fruits and vegetables Aroma research (H.Maarse and P.I.Groenen ,eds).Pudoc Wageningen .
- {34}. **Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C.** (1990) - Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2^eme éd. Masson, Paris.
- {35}. **Salle J.L. et Pelletier J.** (1991) - Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche, pp.19-45.
- {36}. **Garnero J.** (1996) - Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire: Constantes physico-chimiques. vol. papier n°: K2.
- {37}. **Denny E.F.K.**, 1991. Field distillation for herbaceous oils, Denny, Mc Kenzie Associates.
- {38}. **Garnero J.** (1996) - Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire: Constantes physico-chimiques. vol. papier n°: K2.
- {39}. **Pibiri. M.C** ; 2006 ; Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle ; Thèse doctorat , P :161.
- {40}. **OSBOURN et LANZOTTI**, 2009.
- {41}. **RAHAL. S** ;2004 ;Chimie des produits naturels et des être vivants ,P : 126.
- {42}. Google scholar.
- {42}. **Boira H. et Blanquer A.**, 1998. Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella L.* *Biochemical Systematic and Ecology*, 26:811-822.
- {43}. **Palà-paul J., Perez-Alonso M.J., Velasco-Negueruel A., Pala-paul R., Sanz J., and Conejero F.**, 2001. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia L.ssp rosmarinifolia*. *Biochemical Systematic and Ecology*, 29: 663-672.
- {44}. **Yayi E., Joachin D. Gbenou, Léon A. Ahoussi, Moudachirou M. et Jean Claude Chalchat. C. R.**, 2004. *Chimie* 7. 1013–1018.
- {45}. **Chemat F., Abert Vian M. et Dangles O.**, 2007. *International Journal of Essential Oil Therapeutics* 1.
- {46}. **Lagunez Rivera L.**, 2006. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse. 331p.
- {47}. **Tsai T. H., Tsai P. G. et Ho S. C.** 2004. Antioxidant and anti-inflammatory activities of several commonly used species. *Journal of food science.*, 70 (1) : C93-C97.
- {48}. **Baudoux D.** (1997); Un procédé, une analyse, une définition. *Aroma News*. Lettre d'information de N.A.R.D: Natural Aromatherapy Research and Development.
- {49}. **Laouer H.** (2004) -Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.

les références bibliographiques

- {50}. **Brunneton J.**, 1993. Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition. Technique et documentaire, 3eme édition. P : 484,489,548,555,634.
- {51}. **Desmares C., Laurent A. et Delerme C.**, 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles: Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), France.
- {52}. **Benjilali B.** (2004) – Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 17-59.
- {53}. **Lamendin.H** ;2004 ;L'huile essentielle en diffusion atmosphérique , Chir-dent .
- {54}. <http://blog-phytomedica.fr/les-conseils/huile-essentielle-extractio>.
- {55}. **Chalchat J.K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. and Chopineau J.** (1997) – Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. J. Essent. Oil Res., 9: 67-75.
- {56}. **Hernandez Ochoa L-R.** (2005) – Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.
- {57}. **ABOU ZAID. E.N** ;1988 ;Aromatic and medicinal plants , Their agricultural and medicinal products .
- {58}. **joulain D** ;1994 ; Modern methodologies applied to the analysis of essential oil and other complex natural mixture :use and abuse , parfumer and flavorist.
- {59}. **France-Ida J.** ; 1998 ; Comment s'assurer de la pureté d'une huile essentielle ; Info – essences. 7 : 1-2 .
- {60}. **Schwedt G** ; 1993 ; Méthodes d'analyse. Ed. Flammarion.
- {61}. **Pradeau D. et Dauphin C.** 2007 - Chromatographie planaire: applications. Dossier P1476, Base documentaire: Techniques d'analyse, vol. papier n° TA2.
- {62}. **Rouessac F. et Rouessac A.** 2004 - Analyse chimique, méthodes et techniques instrumentales modernes, méthodes séparatives. 6 ème Ed. Dunod, Paris, p.102.
- {63}. **Audigie C.L., Dupon G. et Zongain F.** (1995) – Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris, p. 44.
- {64}. **De Maack F. et Sablier M.** 1994 - Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Dossier: P2614. vol papier n°: TA3. Bases documentaires, Techniques d'analyse.
- {65}. **Paolini . J** ; 2005 ; Caractérisation des huiles essentielles par CPG/ir .CPG/sm et RMN du carbone -13 de *Cistus albidus* et de deux asteraceae endémique de Corse : *Eupatorium cannabinum*. Corsicum et Doronicum Corsicum ;Thèse de Doctorat.
- {66}. **Arrington et Kubitzki, 2003.**
- {67}. **Beatriz.Guzman , Pablo Vargaz** ;2009 ; Historial biogeography and character evolution of Cistaceae (Malvale) based on analysis of plastid rbc L and trnL-trnF sequences .
- {68}. **Google scolar**
- {69}. **Jean Claude ; et ..al** ; Flore forestière française : Région méditerranéenne . P :511-520.
- {70}. **Kahouadji** ; 1995 ; Monographie des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër .
- {71}. **Demerdji Amina , Mebarka Asmaa** ;Diversité taxonomique et structure des Gastéropodes dans les stations à *Cistus monspiliensis* L.(Cistaceae)dans la zone de Nadroma (N.O algerien).Département d'écologie et environnement ; Faculté SNV .Telmcen .
- {72}. Guide illustré de la flore Algérienne p37.
- {73}. **Guignard** ; 2001 ; Botanique systématique moléculaire , 12^{ème} ed , Paris ,P :290.
- {74}. **Science direct.**

les références bibliographiques

- {75}CHRISTINE Robes , GARZINO Suzanne ; infraspecific variability in the essential oil composition of *Cistus monspeliensis* leaves ; *Phytochemistry* 2000 ,P : 71-75.
- {76}.ELOUAFI ;1997 ; Contribution à l'étude des plantes médicinales du Maroc –Thèse pour l'obtention du Doctorat vétérinaire , Rabat .
- {77}.Michelle Joets ; 2010 ;6^{ème} astuce ; 7 astuces : Les huiles essentielles et leurs bienfaits , Boutique HE : [http : //www.guide –aromathérapie .com](http://www.guide-aromathérapie.com).
- {78}.Dorman H.J.D, and Deans H.J.D. (2000) - Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88 (2) 308–316,
- {79}.Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L. (1998) - Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sciences des aliments*, 18: 563-582.
- {80}. BioMed Research International Volume 2017, Google scholar.
- {81}.Van Acker S., Tromp M., Haenen G. R. M. M., van der Vijgh W., Bast A. (1995). Flavonoids as scavengers of nitric oxide Radical. *Biochemical and Biophysical Research*. 214 (3): 755-9.
- {82}.Laughton M.J., Halliwell B., Evans P.J., Hault J., Robin S. (1989). Antioxydant and pro oxydant actions of the plant phenolics quercetin, gossypol and myricetin. *Biochemical Pharmacology*.38 (17): 2859-2865.
- {83}.Puppo A. (1992). Effect of Flavonoids on Hydroxyl Radical Formation by Fenton-Type reactions; Influence of the Iron Chelator. *Phytochemistry*. 31 (1):85-88.
- {84}.Van De Wiel A., Van Golde P.H. (2001). *European Journal of Internal Medicine*. 12: 484-489.
- {85}. FERRADJI Ayoub ;2011 ; Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacia lentiscus. Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de MAGISTER En Biochimie .
- {86}. González-Gallego J., Sánchez-Campos S. et Tuñón M. J. 2007. Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. *Nutricin hospitalaria* , 22 (3) : 287-293.
- {87}. Kim H. P., Son K. H., Chang H. W. et Kang S. S. 2004. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences* ., 96 (3)P : : 229-245.
- {88}.Tapas A. R., Sakarkar D. M. et Kakde R. B. 2008. Flavonoids as nutraceuticals. *Topical journal of pharmaceutical research* ., 7 (3)P : 1089-1099.
- {89}. ARCHIBALD, J. 1976 ; La cicatrisation. *Traumatologie canine* ” Ed. l'expansion scientifique Paris, , 5-16.
- {90}. BERTHE, T ; 1983 ; Contribution à l'étude du traitement des plaies à l'aide d'un hydrogel d'amidon Th. Doct. Vet. Toulouse,
- {91}. PERRON-LEPAGE, M.F. 2000 ; La cicatrisation des plaies cutanées . *Prat. Vet. Equine* , 32, P : 126, 7-13.
- {92}. JOHNSTON, DE ; 1972 ; The process in wound healing in the horse. The role of wound contraction. *Equine Vet. J* , 4,P : 93-97.
- {93}. CARLIER, A. 1980 ;Contribution à l'étude de la cicatrisation des plaies, action d'un extrait placentaire. Th. Doct. Vet. Lyon.
- {94}. Yamada H, Kiyohara, H. ;1999 ; Complement-activating polysaccharides from medicinal herbs. In *Immunomodulatory agents from plants*. H. Wagner, Birkhäuser, Basel; P : 161-202.
- {95}. Nergård, C. S., (2005). Immunomodulating pectic polymers, Thesis for the degree of Doctor Scientiarum, Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, University of Oslo, Norway. Unipub AS,P : 80.
- {96}.WILLEM, J.P ; 2002 ;Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé Editions LMV,.
- {97}. [https : // macarte .com / Fr / 17295834](https://macarte.com/Fr/17295834) .
- {98}. BioMed Research International Volume 2017, Article ID 2789482, 7 pages.

les références bibliographiques

- {99}. Bouyer , 1996.
- {100}. Molyneux. P. 2004.- The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, Songklanakarin J.Sci.Technol, 26 (2): 211-219.
- {101}. Popovicie C., SAYKOVA I., TYLKOWSKI B., 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie Industriel.(4):8p.
- {102}. CULOT, 1972.
- {103}. COLLIER *et al* 1968.
- {104}. Keita, 2005. Etude de trois plantes utilisées dans le traitement traditionnel de l'ulcère gastro-duodéal dans le District de Bamako : *Borassus oethiopum* Mart (Palmeae), *Sclerocarya birrea* (A.Rich.) Hochst. (Anacardiaceae) et *Ximenia americana* L. (Olacaceae). Thèse de Pharmacie. Bamako, 173 p.
- {105}. HART T., SHEARS P. 2002.- Atlas de poche de Microbiologie Flammarion Médecine Sciences. Paris. P.213.
- {106}. PERRY . J.J., STALEY J.T., LORY S. 2004.- Microbiologie. Cours et questions de révision. Ed. Dunod.
- {107}. LAMBIN .S., GERMAN A. 1969.- Précis de microbiologie. Tome 1.2ème Ed. Masson, Paris.
- {108}. TEIXEIRA . L.M., CARVALHO M., DA SIQUEIRA G., FACKLAM R.R. 2007.- Enterococcus. In P. R. Murray (Ed.), Manual of Clinical Microbiology, pp : 430-442.
- {109}. <http://e.maxicours.com> .
- {110}. Hobi M & Eddouks, 2016. Evaluation de l'activité anti-oxydante du Stevia rebaudiana. Phytoterapia ; 14, 17-22.
- {111}. Mohammed A, Naoual Tab, Ahmed K, Mekhfi H, Ziyat A. R, 2006, Science Direct, FITOTERAPIA, volume 77, numero 6, septembre 2006, pages 425 à 428.
- {112}. K. Sayah, Karima Sayah, Ilias Marmouzi, Hanae Naceiri Mrabti, Yahia Cherrah, and My El Abbes Faouzi, 2017. BioMed Research International Volume 2017, Article ID 2789482, 7 pages
- {113}. Di Rosa, 1972. Biological properties of carrageenan J pharma and pharmacol 24 : 89-102
- {114}. Della loggia A , Tubaro A , Dri P, Zilic and Del negro P : 1968. The role of flavonoids in the anti-inflammatory activity of Chamomilla recutita, Clin and Biol Res 213 : 481_486.
- {115}. Alcaraz M J, Jimenez M J :1988. Flavonoids and anti inflammatory agent. FITOTERAPIA 59 : 25-38.
- {116}. HIROE M, TAKASHI S, YOKO A ET Hideaki ,2010 , Medecine complémentaire et alternative. Le journal officiel de l'association internationale de recherche sur la médecine complémentaire (ISCMR).
- {117}. Kee *et...* al. Le dépistage des herbes culinaires pour les activités antioxydantes et α -glucosidase inhibiteur , "International Journal of Food Science & Technology, vol. 48, no).
- {118}. BURT, S. 2004.- Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.
- {119}. BELMEKKI N., BENDIMERAD N., BEKHECHI C., FERNANDEZ X. 2013.- Chemical analysis and antimicrobial activity of *Teucrium polium* L. essential oil from Western Algeria. Journal of Medicinal Plants Research, 7(14): 897-902.
- {120}. TEUSCHER .E., ANTON R., LOBSTEIN A. 2005.- Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Tec & Doc, Paris, , 522 p.
- {121}. A. BOUYAHIA, Y. BAKRI , F. EDAOUDI ET A. TALBAOUI, 2017. A sian Pacific Journal of Tropical Disease. journal homepage : [http:// www.apjtc.com](http://www.apjtc.com).

Annexe I. Préparation des extraits :



Fig.01 : Chauffe ballon .

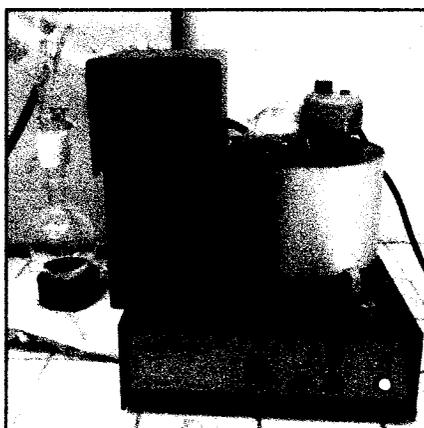


Fig.02 : Rotavapeur ROTADEST.

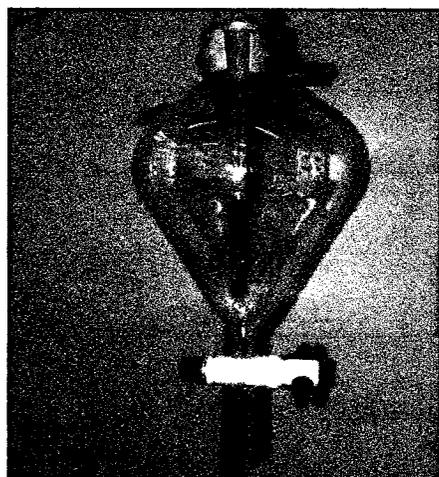


Fig . 03 : Ampoule à décantée

Annexe II. Evaluation des activités biologiques :



Fig01: Spectrophotomètre
JENWAY

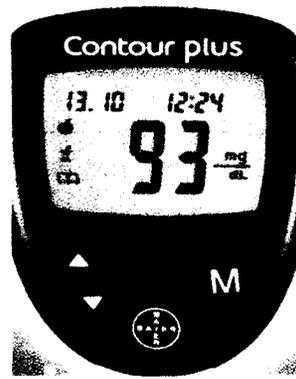


Fig.02 : Glucomètre.
CONTOUR PLUS

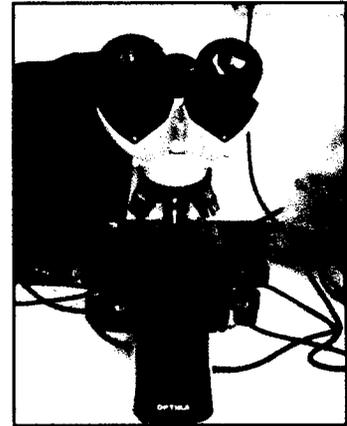


Fig.03 : microscope optique
OPTIKA.



Fig.04 : Balance de précision.

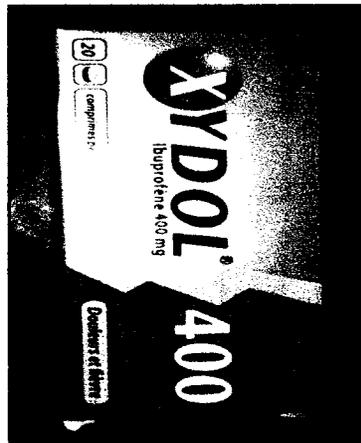


Fig.05 : Anti-inflammatoire
non Stéroïdien.



Fig.06: Sacrifice des souris
par l'éther diéthylique.



Fig.07: Souris Albinos.



Fig .08 : Milieu de Muller Hinton.



Fig.09 : Lapin Albinos.

Annexe III . Formulation galénique :



Fig.01 : Balance Nahita .

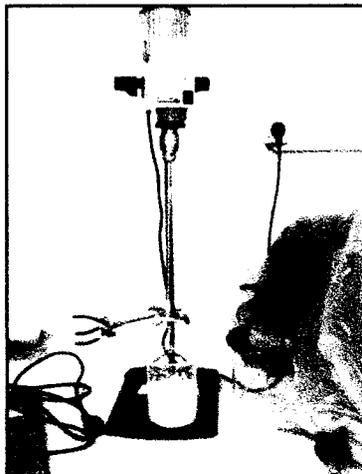


Fig 02 : Agetateur Yellow line



Fig .03 :HPMC .

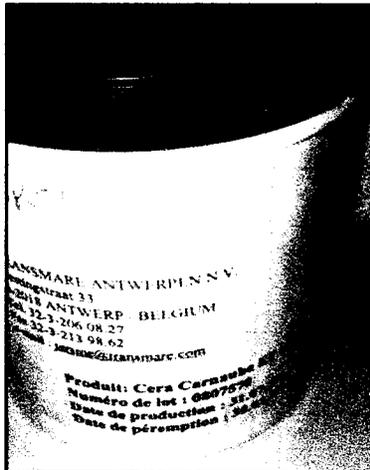


Fig. 04 :Cera Carnauba.

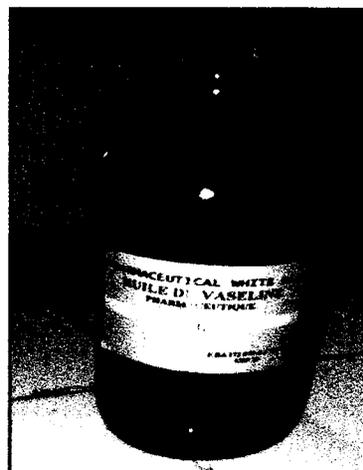


Fig . 05 :Huile de vaseline.



Fig .06 : Tween 60.

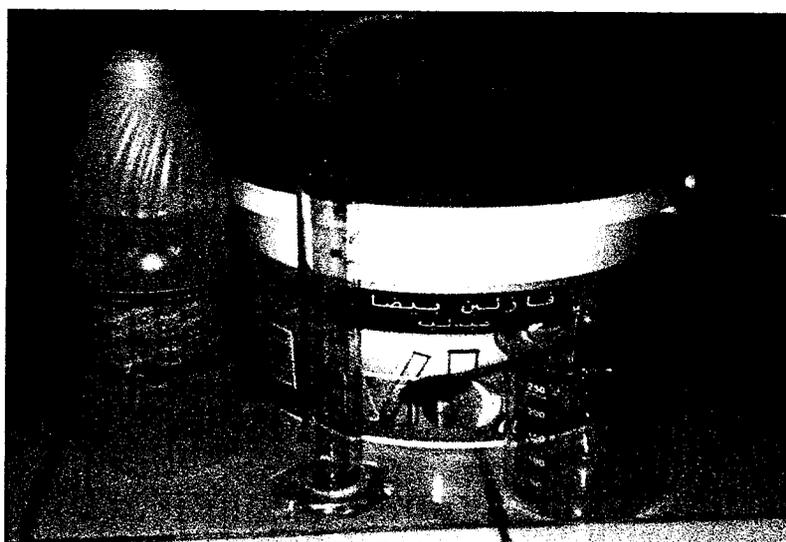


Fig .07 : La vaseline blanche et la verrerie utilisé .

Résumé :

Ce travail rentre dans le cadre de valorisation des plantes algériennes utilisées en médecine traditionnelle .Pour cela nous avons réalisé l'extraction des huiles essentielles de la partie aeriene de deux plantes ;*Cistus albidus* , *Cistus monspliensis* ; appartenants du genre *Cistus* ,la famille de Cistaceae ; Et la préparation des differents extraits (infusé , extrait de polyphénol) ;Ainsi que la caractérisation de ces derniers par des tests photochimiques qui permettent la détermination des principaux métabolites secondaires isolés des espèces étudiées de ce genre, dont le but de la valorisation et l'identification des principes actifs de ce genre,et la caractérisation par le spectrophotomère infra-rouge ; et en dernier l'étude de leurs activités biologiques (antibactérienne ; anti-oxydante ;anti-inflammatoire ; antispasmodique ; et hypoglycemiante).

Les résultats des tests phytochimiques des infusés de deuxplantes indiquent la richesse des deux espèces en : Tanin ; Flavonoides ; anthocyanes et de mucilage.Les activités biologiquesdes deux plantes sont très acceptables en comparaison avec les produits références.

Mots clés :*Cistus albidus* ,*Cistus monspliensis*, huile essentielle, activités biologiques,screnning phytochimique ,.

Abstract :

This work comes within the framework of valorization of the Agerien plants used in traditional medicine. For this we made the extraction of the essential oils of the aerial parts of two plants *Cistus albidus* ,*Cistus monspliensis* .belonging to the genus :*Cistus* ,the family of cistaceae .and the preparation of the various extracts (infused ,extracts of the polyphenols)as well the characterization of the latter by phytochemical tests, which allow the determination of the principal isolated secondary metabolites of the species studied, the purpose of active ingredients of this genre.

The results of phytochemical tests of the infuse of two plants indicate the richness of two specis in: Tanin, Flavonoids, anthocyanins and muscilage. Biological activities of two plants are very acceptable in comparison with the reference products.

La caracterization by infrared spectrophotometry and lastly the study of their biological activities (anti-bacterial, anti-oxydant, anti-inflammatory, antispasmodic and hypersonic)

Key bord: *cistus albidus*, *cistus monspliensis*, essential oil, biological activities, phytochemical