

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique
Université de Blida1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie des Populations et des Organismes



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Phytothérapie et Santé

Thème

**Etude des principales activités thérapeutiques des
feuilles de *Phlomis bovei* Noé**

Présenté par :

Soutenu le : /09/2017

M^{elle} Alim Rima

M^{elle} Hadjeri Amel

Devant le jury :

M ^{me} Kebbas S.	Maitre de Conférence (B)	UBI	Présidente
M ^{me} Faidi H.	Maitre Assistante (A)	UBI	Examinatrice
M ^{me} Amedjkouh H . .	Maitre Assistante (A)	UBI	Promotrice

Promotion 2016/2017

Remerciement

En préambule à ce mémoire nous remercions ALLAH qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Nous tenons d'abord à remercier très chaleureusement notre promotrice M^{me} **AMEDJKOUH H.** qui nous a permis de bénéficier de son encadrement.

Les conseils qu'elle nous a prodigué, la patience, la confiance qu'elle nous a témoignés ont été déterminants dans la réalisation de notre travail de recherche.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous adressons encore nos remerciements à toute l'équipe du service microbiologique, physico-chimie et pharmacotoxicologie du complexe Antibiotical Sidal Médéa, en particulier :

M^r Mustapha, M^r Fouad, M^r Mohammed pour leur sympathie, leurs conseils et leurs aides ; Ils ont contribué par leur bonne humeur à créer un cadre de travail agréable.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers
en particulier :

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, Que dieu leur accorde une longue vie.

A mes chères sœurs Nadia, Meriem, Sihem et ma belle-sœur Amina pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mon frère Bachir.

A toute ma famille maternelle et paternelle.

A ma Binôme Ryma et a sa famille.

A mes amies et surtout Selma, Zineb, Faiza .

A ma promotion 2017 sans exception.

A toutes les personnes que je n'ai pas citées mais que je Porte dans Mon cœur.

Amel

Dédicaces

C'est avec une énorme joie et un infini plaisir que je dédie ce modeste travail à :

A ma très chère mère, Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner, Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.

A mon très cher père, Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement ainsi que le respect que j'ai toujours eu pour toi. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma grande mère maternelle YAMINA

A mes sœurs Yousra et Racha

A tous les membres de ma famille

A mon neveu HOUSSAM

A mon amie et binôme AMEL

A ma très chère amie et sœur SARAH

À tous les étudiantes de la promotion 2016/2017

Phytothérapie et santé.

Rima

Résumé

Le présent travail est une contribution à l'étude phytochimique et la mise en évidence de quatre activités biologiques des feuilles de *Phlomis bovei*, de la famille des Lamiacées.

Un screening phytochimique réalisé sur la poudre et l'extrait a permis la détection de différents groupes chimiques de métabolites secondaires : les flavonoïdes, les anthocyanes, les tanins catéchiques, les alcaloïdes, les mucilages et les saponines.

Le test limite de la toxicité de l'extrait à une concentration de 2g/kg, mené sur des souris a montré que les feuilles sont considérées non toxique.

Le test antimicrobien de l'extrait par la méthode de diffusion en milieu gélosé, montre un pouvoir antimicrobien modéré sur certainess souches bactériennes utilisées *Pseudomonas aeruginosa* , *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* , et aucun effet sur la souche fongique *Candida albicans*.

L'extrait aqueux à 30% réduit considérablement l'œdème de la patte de souris, induit par la carraghénine à 0.1%, avec un pourcentage d'inhibition totale acceptable 76.78% par rapport à celui de Diclofenac de sodium 77.48% et suivi par celui de l'extrait aqueux à 20% avec un pourcentage d'inhibition de 60% et de l'extrait aqueux à 10% qui est de 58%.

La formulation des crèmes cicatrisantes de concentration différentes,et l'étude de son effet sur des cicatrisés provoqués sur les lapins a montré que les feuilles possèdent une très bonne activité cicatrisante en comparaison avec la crème de référence Madécassol.

L'extrait aqueux présente une bonne activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical libre DPPH, avec IC50 (concentration correspondant à 50% d'inhibition) de 1.1mg/ml mais qui reste légèrement supérieure que celle de l'acide ascorbique avec une IC50 de 1.05 mg/ml.

Mots clés : *Phlomis bovei*, screening phytochimique, activité antimicrobienne, activité anti-inflammatoire, activité antioxydante, activité cicatrisante.



Abstract

The present work is a contribution to the phytochemical study and the highlighting of some biological activities of leaves (*Phlomis bovei*). Which is included in the family Lamiaceae.

A phytochemical screening allowed the identification of different groups of secondary metabolites: flavonoids, anthocyanins , saponins , tannins (Gallic tannins , Catechol tannins) , mucilage and alkaloids .

The limit test of the toxicity of the infused has a concentration of 2g / kg, led on mice showed that leaves of *Phlomis bovei* are relatively considered not toxic.

The antimicrobial power of the aqueous extract of the leaves by the method of agar diffusion, shows that *Phlomis bovei* has a moderate antimicrobial activity on some used stumps and no effect on the fungal strain *Candida albicans*.

The aqueous extract of leaves 30% present anti-inflammatory activity very powerful reduced significantly the edema of the leg of mouse, induced by the carragenine 0.1%,with (76.78%) compared to that of Diclofenac de sodium (77.48%) and followed with that of aqueous extract of leaves 10% which is (58%) and 20% which is (60%).

The formulation of healing creams with leaves *phlomis bovei* and the study of its effect on rabbits showed that effectively our plant possesses a very good healing activity comparing with the cream of referance Madecassol.

The aqueous extracts of the leaves of *Phlomis bovei* presented a good antioxidant activity by the method of scavenging of the free radical DPPH, with IC50 (concentration for 50% inhibition) 1.1 mg / ml of leaves but remains slightly lower than that of the reference antioxidant which is ascorbic acid with an IC50 of 1.05 mg / ml.

Keywords: *Phlomis bovei*, phytochemical screening, antimicrobial activity, anti-inflammatory activity, antioxydant activity, healing activity.

الملخص

يعتبر هذا العمل مساهمة في دراسة التركيبية الكيميائية للنباتات و الكشف عن بعض الانشطة البيولوجية لأوراق نبات خياط الجراح الذي ينتمي الى عائلة الشفويات .

سمح الفحص الكيميائي النباتي بالتعرف على مجموعة مختلفة من المركبات الثانوية : الفلافونويد، الأنثوسيانين، الصابونين، العفص (العفص الغالي، العفص الكاتيكول)، والأنسجة والقلويدات. سمح اختبار السمية الأولية للمستخلص المائي لأوراق *Phlomis* بتركيز 2 غ/كغ ان أوراقه تعتبر نسبيا غير سامة. كما سمحت دراسة الفعالية الميكروبيولوجية للمستخلص المائي ان *Phlomis* يمتلك نشاط مضاد للميكروبات فعال بنسب متفاوتة ضد بعض البكتيريات:

Staphylococcus aureus, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*

وليس له تأثير على سلالة الفطرية *Candida albicans*.

بالإضافة ان المستخلص المائي يملك نشاط مضاد للالتهابات قوي حيث اخفض بشكل ملحوظ من وذمة ساق الفأر، التي يسببها الكراجينين 0.1%، بنسبة 76.78% مقارنة مع ديكلوفيناك دي الصوديوم 77.48% , المستخلص المائي للأوراق 10 % بنسبة 58% و 20% بنسبة 60%. وأظهر اعداد مرهم تضميد الجراح من المستخلص المائي ودراسة تأثيره على الأرانب أنه فعال وله قدرة عالية للشفاء مقارنة مع كريم المرجعي ماديكاسول.

كما عرضت المستخلصات المائية نشاطا مضادا للأكسدة جيدة من خلال تثبيط الجذور الحرة لجزئ DPPH، مع IC50 (تركيز لتثبيط 50%) 1.1 ملغ / مل ولكن لا يزال منخفض من مضادات الأكسدة المرجعية وهو حمض الاسكوربيك مع IC50 من 1.05 ملغ / مل.

الكلمات المفتاحية: *Phlomis*، الفحص الكيميائي النباتي، نشاط مضاد للميكروبات، نشاط مضاد للالتهابات، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط الشفاء.

Liste des abréviations

BS : Bouillon de soja.

Do : Densité optique.

IC50 : Concentration inhibitrice 50%.

INCI : International Nomenclature Cosmetics Ingredients, Nomenclature International des Ingrédients Cosmétiques.

MH: Milieu Muller Hinton.

SAB: Sabouraud.

Liste des figures

Figure01 : Feuille de <i>Phlomis bovei</i>	09
Figure02 : Fleur de <i>Phlomis bovei</i>	09
Figure03 : les différentes parties de la fleur du <i>Phlomis bovei</i>	10
Figure04 : Souris Albinos.....	12
Figure05 : Lapin Albinos.....	12
Figure06 : Poudre végétale des feuilles de <i>Phlomis bovei</i>	14
Figure07 : Crèmes cicatrisantes à base des feuilles de <i>Phlomis bovei</i> de concentration différentes 1% ,2% et 3%.....	22
Figure 08 : Protocole d'analyse microbiologique des crèmes cicatrisante à base des feuilles de <i>Phlomis bovei</i> (Pharmacopée Européenne, 2014).....	25
Figure 09 : Forme réduite du radical DPPH.....	27
Figure 10 : Les zones d'inhibition des différentes souches testées.....	32
Figure 11 : Présentation graphique des pourcentages de réduction de l'œdème.....	34
Figure 12 : Les trois crèmes cicatrisantes de concentration différentes 1% ,3%et 5% à base des feuilles de <i>Phlomis bovei</i>	35
Figure 13 : cicatrisation totale après application de la crème de 1%.....	39
Figure 14 : cicatrisation totale après application de la crème de 3%.....	39
Figure 15 : cicatrisation totale après application de la crème de 5%.....	39
Figure 16 : cicatrisation totale après application de la crème de placebo.....	39
Figure 17 : Apparition de la croûte dans la zone traitée par la crème de 1%.....	40
Figure 18 : Apparition de la croûte dans la zone traitée par la crème de 3%.....	40
Figure 19 : Apparition de la croûte dans la zone traitée par la crème de 5%.....	40
Figure 20 : Apparition de la croûte dans la zone traitée par la crème par placebo	40
Figure 21 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH par l'infusé du feuille de <i>Phlomis bovei</i>	42
Figure 22 : Pourcentage d'inhibition de l'activité oxydante en fonction de la concentration de l'extrait aqueux de l'acide ascorbique.....	44
Figure 23 : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux et l'acide ascorbique.....	43
Figure 24 :Les étapes de provocation d'œdème.....	(Annexe III)
Figure 25 : Protocole expérimental de l'activité antimicrobienne.....	(Annexe IV)
Figure 26 : Protocole de fabrication des crèmes cicatrisantes	(Annexe V)

Figure 27 : Les appareils utilisés pour le contrôle physico-chimique.....,(Annexe V)

Figure 28 : Evaluation de l'activité cicatrisante in vivo sur les lapins..... ..(Annexe V)

Figure 29: Résultats du screening phytochimique(Annexe VI)

Liste des Tableaux

Tableau I : La classification des métabolites secondaires.....	07
Tableau II : La classification de l'espèce <i>Phlomis bovei</i> selon l'APGIII.....	08
Tableau III : Les caractéristiques du matériel animal utilisé	13
Tableau IV : Description et pouvoir pathogène des souches testes	13
Tableau V : Composition des crèmes dermiques cicatrisantes à base de feuilles de <i>Phlomis bovei</i>	21
Tableau VI : Echelle de cotation de l'effet cicatrisant.....	26
Tableau VII : Screening photochimique	29
Tableau IIV : Résultat du test limite de toxicité de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Phlomis bovei</i>	30
TableauIX : Diamètre des zones d'inhibition du développement des différentes souches microbiennes par l'extrait aqueux des feuilles de <i>Phlomis</i> et par la Gentamicine.....	31
Tableau X: Les différents pourcentage d'augmentation de l'œdème et de sa réduction ...	34
Tableau XI : Les PH des crèmes cicatrisantes à base des feuilles de <i>Phlomis bovei</i>	36
Tableau XII : Résultat de l'analyse microbiologique des produits(crèmes cicatrisantes)..	37
Tableau XIII : Représentation de l'évolution des paramètres de cicatrisation (œdème) chez les lapins, pour chaque produit appliqué, en fonction du temps cm /jour.....	37
Tableau XIV : Evolution de la taille des plaies chez les lapins par cm.....	39
Tableau XV : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH.....	42
Tableau XVI : Matériels non biologiques utilisé durant la phase expérimentale.....	(AnnexeI)
Tableau XVII: Pourcentage d'augmentation du l'œdème et sa réduction après 4 heures	(Annexe III)

Sommaire

Introduction.....	01
I.Partie bibliographique	
I.1.phytothérapie et plantes médicinales.....	03
I.1.1.Historique	03
I.1.2.Définitions.....	03
I.1.3. Différents types de la Phytothérapie.....	04
I.1.4. Propriétés et mode d'utilisation.....	05
I.1.5. Place de la phytothérapie en Algérie	06
I.1.6. Avantages de la phytothérapie	06
I.1.7. Métabolites secondaires des plantes médicinales.....	07
I.2. Généralités sur l'espèce étudiée <i>phlomis bovei</i>	
I.2.1.Généralités	08
I.2.2.Classification	08
I.2.3 Noms vernaculaires.....	08
I.2.4. Description botanique.....	09
I.2.5.Distribution géographique et écologie.....	10
I.2.6. Propriétés thérapeutiques.....	11
II. Matériel et Méthodes	
II.1.Matériel biologique.....	12
II.2.Méthodes.....	14
II.2.1. Préparation de la poudre végétale.....	13
II.2.2. Détermination du taux d'humidité.....	13
II.2.3. Screening phytochimique	15
II.2.4. Etude toxicologique.....	17
II.2.5. Etude des activités biologiques.....	17
II.2.5.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	17
II.2.5.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire.....	19
II.2.5.3. Evaluation de l'activité cicatrisante	20
II.2.5.4. Evaluation de l'activité antioxydante.....	26
III. Résultats et Discussion	
III.1. Taux d'humidité de la matière végétale.....	29
III.2. Screening phytochimique.....	29
III .3. L'étude toxicologique.....	30
III.4. L'étude des activités biologiques.....	31
III .4.1. L'activité antibactérienne.....	31
III.4.2. L'activité anti-inflammatoire.....	33
III.4.3. L'activité cicatrisante.....	35
III.4.3.1. Contrôle physicochimique de la crème.....	35
III.4.3.2. Contrôle microbiologique.....	37

III.4.3.3 L'essai préliminaire de la cicatrisation.....	37
III.4.4. L'activité antioxydante.....	42
Conclusion.....	46
Références bibliographiques	
Annexes	

Au cours des millénaires, les connaissances de l'Homme sur les plantes médicinales se sont constamment étendues et approfondies d'une civilisation à l'autre (**McIntyre, 2001**). La phytothérapie, c'est-à-dire le traitement des maladies par des préparations pharmaceutiques à base de drogues végétales, a constitué l'essentiel de l'arsenal thérapeutique (**Delille, 2007**). Elle cédera peu à peu le pas aux formes médicamenteuses obtenues à partir des principes actifs d'origine naturels (**Hans, 2007**).

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable pour la préparation des traitements chez les tradipraticiens afin de guérir certaines pathologies souvent mortelles, sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques (**Schauenberg et Ferdinand, 2005**).

La région méditerranéenne, de part de sa localisation dans une zone tempérée possède des zones biogéographiques parmi les plus rares au monde et une biodiversité de première importance avec beaucoup de plantes d'intérêt thérapeutique et qui sont endémiques. De par sa situation géographique et la diversité de son climat, l'Algérie dispose d'une flore singulièrement riche et variée de substances naturelles (**Makhloufi, 2009**).

Dans ce contexte, notre choix s'est porté sur le *Phlomis bovei* qui appartient à la famille des lamiaceae, une espèce largement utilisée dans le bassin méditerranéen pour sa richesse en métabolites secondaires qui lui confèrent plusieurs propriétés thérapeutiques. C'est une espèce endémique Algéro-Tunisienne (**Quezel et Santa, 1963**), connue par son nom arabe « Khyat Eljirah ».

Et dans le cadre du projet de recherche entrepris par les Laboratoires de recherche de Saidal, notre travail a pour objectifs de valoriser l'espèce par :

-La mise en évidence de certaines familles de métabolites secondaires connus dans les feuilles de *Phlomis bovei*, tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les saponines par un screening phytochimique.

-L'étude de toxicité de l'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei*.

-L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux par la méthode de diffusion sur gélose.

- L'étude de l'activité anti-inflammatoire des extraits aqueux.
- L'évaluation de l'activité cicatrisante des crèmes formulées à base des feuilles de *Phlomis bovei*.
- L'étude de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical libre DPPH.

I.1.phytothérapie et plantes médicinales

I.1.1.Historique

Au cours des dernières décennies, les recherches scientifiques les plus modernes n'ont fait que confirmer le bien-fondé des vertus thérapeutiques des plantes médicinales utilisées de façon empirique depuis des millénaires (**Carillon, 2000**).

Le premier recueil connu de formules végétales date de l'époque sumérienne, Il Ya 5000 ans, a été gravé en caractères cunéiformes sur des tablettes d'argile, découvertes à Nippur en 1948 et recensé jusqu'à 250 espèces de plantes avec des suspensions, des décoctions et des onguents (**Clarac, 2008**).

Au XV^e siècle, le célèbre médecin alchimiste Paracelse, avança la théorie des signatures selon laquelle chaque plante porte en elle ou sur elle la signature de la maladie qu'elle guérit ; à partir du XIX^e siècle la plante médicinale est abandonnée au profit de la chimie moderne, cependant quelques irréductible s'accrochent à leur croyance en les bienfaits de la phytothérapie ce qui permet sa renaissance au cours du XX^e siècle (**Winckle, 2006**).

Ce savoir traditionnel ancestral transmis de génération en génération est devenu une mine d'information, extrêmement précieuses pour tous les chercheurs de l'industrie pharmaceutiques (**Fouche et al., 2000**).

I.1.2.Définitions

I.1.2.1. Plantes médicinales

Les plantes sont dites médicinales lorsqu'un de leurs organes (feuilles, fleurs, racines, tiges, graines, fruits) possède des activités pharmacologiques ou possède au moins une partie ayant des propriétés médicamenteuses (**Brunton, 1999**).

Environ 35 000 espèces de plantes sont employées dans le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Elqaj et al., 2007**)

I.1.2.2. Phytothérapie

La phytothérapie Est un mot d'origine grecque : « phytos » qui veut dire plante et « therapeuo » qui veut dire soigner. Autrement dit, au sens étymologique, c'est « La thérapeutique par les plantes » ; elle utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes, en excluant les principes actifs purs issus de celles-ci. Les plantes sont consommées sous plusieurs formes : en infusions ou après transformation (teintures, extraits, médicaments à base de plantes) (**Hmamouchi, 1999**).

L'utilisation des plantes médicinales à des fins thérapeutiques est une pratique aussi vieille que l'histoire de l'humanité puisque et depuis des millénaires, tous les peuples ont élaboré des recettes selon leur intelligence, leur génie, leur conception culturelle de la santé, de la maladie et les rapports qu'ils entretenaient avec leur environnement (**Iserin, 2001**).

I.1.3. Différents types de la Phytothérapie

A. 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 (**Strang, 2006**).

B. Aromathérapie : C'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 (**Strang, 2006**).

C. Gemmothérapie : C'est une médecine non conventionnelle qui utilise des tissus végétaux embryonnaires en croissance tels que les jeunes pousses, bourgeons, radicules préparées par la macération dans un mélange d'eau, de glycérine et d'alcool (**Tcoumak, 2012**).

D. Homéopathie : c'est une technique curative et préventive obéissant à deux règles précises : le principe de similitude et l'utilisation de doses infinitésimales (**Benabdallah, 1992**).

Toute substance qui est administrée à un être humain en bonne santé, provoque certains symptômes devient après dilution et dynamisation capable de guérir de symptômes analogues chez un malade, ainsi l'Ipéca, à dose pondérale est vomitif mais après dilutions et dynamisation sera conseillée pour traiter les nausées et les vomissements (**Roux et Catier, 2007**).

E. Phytothérapie pharmaceutique : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans 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 lyophilisat (**Strang, 2006**).

I.1.4. Propriétés et mode d'utilisation

La préparation d'un médicament à partir d'une plante contenant une substance chimique bénéfique varie suivant la plante et la nature de la substance (**Nogaret, 2006**).

A. Infusion

Elle est préparée en versant de l'eau bouillante sur des plantes fraîches ou sèches (**Frély, 2006**), le mélange est laissé pour 15 à 20 minutes puis filtré à l'aide d'un linge propre (**Nogaret, 2006**), l'infusion s'utilise pour les substances fragiles pouvant être détruites par une température trop prolongée ou éliminées par la vapeur (**Berton, 2001**).

B. Décoction

Elle est préparée en mettant les plantes dans de l'eau bouillante, le mélange est porté à l'ébullition 5 à 15 minutes ; il est déconseillé de faire bouillir les plantes aromatiques car les essences s'évaporent (**Berton, 2001**). Cette méthode s'applique essentiellement aux parties souterraines de la plante (racine), ainsi qu'à l'écorce car ces structures libèrent difficilement leurs principes actifs lors d'une infusion (**Nogaret, 2006**).

C. Macération

Elle permet d'obtenir la solution la plus concentrée en laissant la plante en contact de l'eau à froid pendant quelques heures, voire quelque jours (**Frély, 2006**). Elle est employée surtout pour des substances trop facilement transformables par la chaleur (**Bernandet, 1983**), et également pour éviter d'extraire les tanins (**Raynaud, 2005**).

D. Teinture

Elle consiste à faire macérer une plante dans l'alcool et l'eau, ce qui permet d'extraire plus de principes actifs de la plante (**Lacoste, 2012**). Les teintures présentent deux avantages

majeurs : leur conservation qui peut s'étendre à une durée de trois années et l'absorption rapide par l'organisme de leurs principes actifs (**Nogaret, 2006**).

E. Cataplasme

C'est une application externe de la plante fraîche ou cuite, sous bandage ou compresses, leur application se prolonge de quelques minutes à quelques heures (**Berton, 2001**).

I.1.5. Place de la phytothérapie en Algérie

L'Algérie bénéficie d'une flore médicinale très riche, grâce à la diversité topographique et climatique (**Baba aïssa, 1990**). La splendeur des campagnes algériennes a toujours enchanté les chercheurs botanistes qui ont considéré les plantes médicinales algériennes comme de usines pharmaceutiques naturelles, et qui ont été appréciées depuis des millénaires en thérapeutiques traditionnelles, donc il est intéressant de parcourir ce pays pour la conquête des recettes enfouites dans la mémoire de nos grands-mères. Il est alors indispensable de protéger et de recenser ce patrimoine en plantes médicinales qui va aider le domaine de la phytothérapie à se développer de plus en plus (**Beloued, 2005**).

I.1.6. Avantages de la phytothérapie

La phytothérapie offre de Multiples avantages. N'oublions pas que de tout les temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite (**Iserin, 2001**).

I.1.7. Métabolites secondaires des plantes médicinales

Les métabolites secondaires sont des composants importants de la plante, qui lui confèrent son caractère médicinal. Ils interviennent dans son identification et sa caractérisation et lui permettent d'agir dans les fonctionnements d'un organisme, d'un organe ou d'un métabolisme (**Fuinel, 2002**).

Les métabolites secondaires sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies et sont d'une variété structurale extraordinaire mais ils sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (**Hartmann, 2007**).

- **Classification des métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (**Krief S, 2003**).

Tableau I : La classification des métabolites secondaires.

Métabolites secondaires	Classification	Références	Propriétés	Références
Polyphénol	Acides phénoliques Flavonoïdes Lignanes Stilbènes Coumarines Tannins	(Benarous, 2009) (Havasteen, 2002)	Anti oxydant Anti inflammatoire Antiulcéreux Anti thrombotique Anti cancéreux	(Middleton et al., 2000; Ksouri et al., 2007).
Alcaloïdes	Alcaloïdes vrais Pseudo alcaloïdes Proto alcaloïdes	(Badiaga, 2011). (Rakotonanahar, 2012)	Analgésique Antiparasitaires Anti hypertensive Anticholinergique Anti tumeur	(Badiaga, 2011).
Terpènes	Hémi-terpènes Mono-terpènes Sesquiterpènes Di-terpènes Tri-terpènes Tétra-terpènes	(Mebarki, 2010).	Antimicrobienne Insecticide Anti inflammatoire Anesthésique Diurétique Neuro-protective Anti oxydante	(Paduch et al., 2007).

I.2.1. Généralités

Le genre botanique *Phlomis* regroupe plus de cent espèces de plantes vivaces appartenant à la famille des labiacées, anciennement appelées labiacées. Elles sont originaires surtout du bassin méditerranéen et d'Asie, ce sont soit des plantes herbacées soit des arbrisseaux. Ce genre de plante comprend de nombreuses espèces connues pour leurs richesses en métabolites secondaires tels que les phenylpropanoïdes et les phenylethanoides (**Kabouche et al., 2005**), les flavonoïdes (**Takeda et al., 2001 ; Calis et al ; 2004, Kabouche et al ; 2005**) les diterpènes (**Li et al., 2010**), les tanins (**Nouioua, 2016**) qui sont indispensables à la fabrication de la majorité des produits pharmaceutiques.

I.2.2. Classification

La classification adoptée est basée sur le système APG III (Angiosperm phylogeny group) (**Dobignard et Châtelain, 2013**) Tableau II :

Tableau II : La classification de l'espèce *Phlomis bovei*

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridaeplantae
Division	Magnoliopsida
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Astéridées
Ordre	Lamials
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Phlomis</i>
Espèce	<i>Phlomis bovei</i> Noé

I.2.3. Noms vernaculaires

Nom français : *Phlomis*

Nom arabe : خياط الجراح

Nom berbère ou tergui : Faseouan, Tarseouan ,Iniji, Azaref

I.2.4. Description botanique

Les *Phlomis* sont des plantes vivaces herbacées ou des arbrisseaux, elles sont généralement très velues et très poilues.

I.2.4.1. La Tige

La tige est dressée et peu rameuse, avec une couleur brun foncé, et une hauteur de 80 cm (Djerroumi et Nacef, 2004).

I.2.4.2. Les Feuilles

Les feuilles sont opposées et pétiolées (Figure 01), elles ont une forme lancéolée avec une surface gaufrée et des bords crénelés, de couleur verte au-dessus et blanchâtre au-dessous (Djerroumi et Nacef, 2004).

Les feuilles sont disponibles la majeure partie de l'année (de Janvier jusqu'à Aout), et elles se conservent toute fois sans problème majeur (Djerroumi et Nacef, 2004).

I.2.4.3. Les Fleurs

Les fleurs sont de couleur mauve (Figure 02), mesurant jusqu'à 3 cm de long avec un calice tubuleux à 5 dents épineuses. La corolle est tubuleuse bilabée, elle a deux lèvres, la supérieure est grande et recourbée en casque et la lèvre inférieure est trilobée avec 4 étamines à filament recourbés. Le pistil a quatre ovaires, au centre desquels, il y a un style filiforme, terminé par un stigmate bifide. Le péricarpe est nul, les semences sont oblongues, à trois angles et elles sont au nombres de quatre (4 semences nues au fond du calice) (Zaarour et Lahlah, 2015) (Figure 03).



Figure 01: Feuilles de *Phlomis bovei*



Figure 01: Fleurs de *Phlomis bovei*

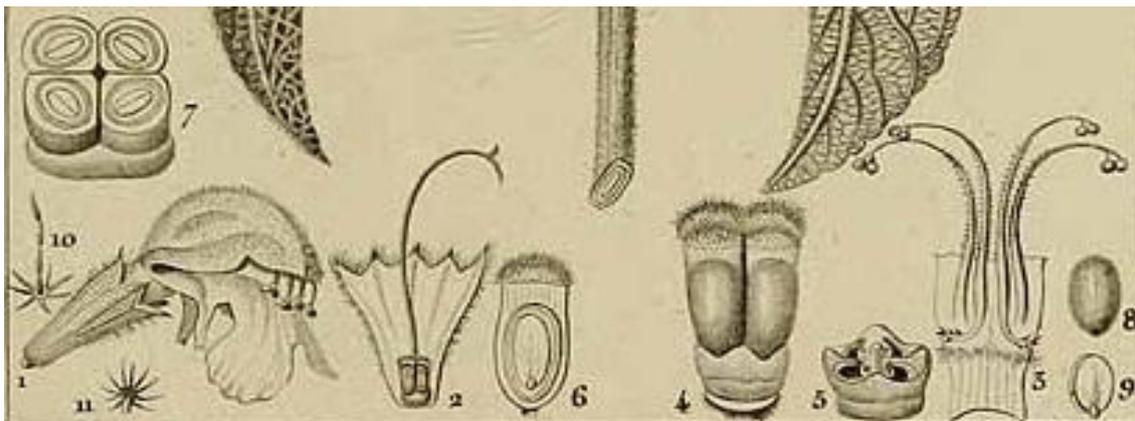


Figure 03 : les différentes parties de la fleur du *Phlomis bovei*

(1. La fleur entière, 2. Calice ouvert pour faire voir le pistil, 3. Tube ouvert d'une corolle, 4. Fruit porté par le corps glanduleux, 5. Corps glanduleux, 6. L'un des quatre lobes du fruit, 7. Fruit coupé horizontalement, 8. Graine, 9. Embryon, 10 et 11. poils stellaire.)

La floraison est au mois de juin jusqu'au mois de septembre, produisant ainsi une abondante floraison offrant des coloris violets et mauves (Djerroumi et Nacef, 2004).

I.2.4.4. Le Fruit

Le fruit est formé de quatre akènes inclus dans le calice persistant (NT et WS Beniston, 1984).

I.2.5. Distribution géographique et écologie

Le genre *Phlomis* comprend plus de cent espèces distribuées en Afrique, en Asie et en Europe (Katayoun et al., 2004) avec deux centres de diversification l'Anatolia en Turquie et en Iran. En Algérie, il existe 4 espèces : *Phlomis herba-venti*, et trois espèces endémiques *Phlomis caballeroi* et *Phlomis crinita*, et *Phlomis bovei*. Cette dernière est une espèce rare et endémique Algéro-Tunisienne. En Algérie, l'espèce étudiée se présente dans l'atlas tellien de l'Algérois, la grande et la petite Kabylie et en Numidie (Quezel et Santa, 1963).

Cet arbuste a une résistance peu commune à la sécheresse tant au sol que dans l'air. La présence des poils absorbants sur les feuilles limite l'évapotranspiration et augmente la résistance à la sécheresse de l'air, le *Phlomis* résiste à des températures de -15°C à -25°C.

I.2.6. Propriétés thérapeutiques

Une des propriétés typiques du genre *Phlomis* et sa richesse en différentes classes des composés naturels, 151 composés ont été isolés jusqu'à présent : des flavonoïdes (**Tomas-Barberan et al., 1986 ; El-Negoumy et al., 1991 ;**), des phenylethanoides (**Calis et al., 1991 ; Saracoglu et al., 1995**), des phenylpropanoides (**Saracoglu et al., 1998**), des diterpenoides (**Tanaka et al., 1983 ;Katagiri et al., 1994**) et des iridoïdes (**El-Naggar et beal , 1980**), (**Calis et al ., 1991 ; Kamel et al., 2000 ; Mohajer et al ., 2006**).

Phlomis bovei est une plante avec de multiples propriétés thérapeutiques, elle est utilisée en usage externe en tant que colle, comme cicatrisante pour traiter les brûlures, les lésions, les infections de la peau et les allergies (**Liolios et al., 2007**). Et en usage interne, elle se boit en infusion contre l'ulcère (**Digrak et al., 1999 ; Djerrouni et Nacef, 2004**) et comme un anti-inflammatoire (**Kabouche et al., 2004**).

Les activités biologiques des espèces de *Phlomis* sont aussi variées que le sont leurs métabolites secondaires, en général, les différentes espèces du genre *Phlomis* sont utilisées en médecine traditionnelle comme stimulant, tonique et cicatrisant (**Couladis et al., 2000**), anti-inflammatoire, immunosuppresseur (**Parisa et al., 2004**) antidiabétique (**Sarkhail, 2005**), antipyrétique, antidiarrhéique, antiallergique (**Opredelitel, 1987**) antiulcérogène (**Gurbuz et al., 2003**), antimicrobien (**Mangena et Muyima, 1999 ; Risti et al., 2000**) antimutagène (**Sokovic et al., 2002 ; Parisa et al., 2004**), antioxydant (**Ismailoglu et al., 2002**).

Notre expérimentation a été réalisée durant une période s'étalant du mois de Mars jusqu'au mois de Mai 2017 au niveau :

- Des laboratoires de semi analyse, physico-chimie et microbiologie, ainsi qu'au niveau de service toxicologique et pharmacologie de la filiale **ANTIBIOTICAL** de l'entreprise de fabrication des produits pharmaceutiques **SAIDAL** à Médéa.

I.1.Matériel

I.1.1.Matériel non biologique

Le matériel utilisé au laboratoire (l'appareillage, la verrerie et les réactifs) est illustré dans (**Annexe I**).

I.1.2.Matériel biologique

I.1.2.1. Matériel végétal

L'étude phytochimique et biologique a porté sur les feuilles de l'espèce *Phlomis bovei* récoltées en mois de Février 2017, dans le parc national de Chrea (Beni Ali) à Blida.

La reconnaissance et l'identification de la plante a été réalisée par l'équipe de recherche du parc national de Chrea.

I.1.2.2. Matériel animal

La toxicité et l'activité anti-inflammatoire ont été testées sur 27 souris Albinos (**Figure 04**) réparties en lots dont le nombre de souris varie selon l'activité étudiée :

- 2 lots de 6 souris pour l'étude de la toxicité.
- 5 lots de 3 souris pour l'étude de l'activité anti-inflammatoire.

L'activité cicatrisante a été testée sur 2 lapins Albinos du laboratoire (**Figure 05**)



Figure 04 : Souris Albinos



Figure 05 : Lapin Albinos

Les caractéristiques du matériel animal sont illustrées dans le **Tableau III** :

Tableau III : Les caractéristiques du matériel animal utilisé

Animal	Souris Albinos	Lapins Albinos
Race	Swiss	Californier
Poids	17g -20g	2300-2600 g
Sexe	Mâles et femelles	Mâles et femelles
Alimentation	Granules O .N.A.B (office nationale de l'alimentation du bétail)	
Boisson	Eau de ville (eau potable)	
Condition d'hébergement :	20 - 24 C	
-Humidité	50 -60%	
-Eclairage	10 h	

I.1.2.3. Matériel microbiologique

L'activité antimicrobienne a été évaluée sur 03 souches bactériennes et une levure cliniques provenant des prélèvements au niveau du laboratoire microbiologique de **SAIDAL** (Tableau IV) .

Tableau IV : Description et pouvoir pathogène des souches testées.

Type de microorganisme		Espèces	Pouvoir pathogène
Bactéries	Gram-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infection nosocomiales
	Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i>	Intoxication alimentaire Intoxication alimentaire
Levure		<i>Candida Albicans</i>	Infection fongique (digestive et gynécologique)

I.2.Méthodes

I.2.1. Préparation de la poudre végétale

Le matériel végétal (feuilles de *Phlomis bovei*) est séché à l'air libre et à l'obscurité pendant une dizaine de jours, puis broyé à l'aide d'un mortier, en poudre de couleur verte (**Figure 06**) qui est ensuite conservée à l'abri de la lumière dans des sachets en papiers.



Figure 06 : Poudre végétale des feuilles de *Phlomis bovei*

I.2.2. Détermination du taux d'humidité

❖ Principe

Le taux d'humidité est calculé par la méthode de dessiccation par évaporation, qui est effectuée par séchages dans l'étuve, à une température de 105° C jusqu'à obtention d'une masse constante (**Twidwell et al., 2002**).

❖ Mode opératoire

5 g de poudre végétale sont pesés dans un bécher puis placés dans l'étuve à 105°C, le poids a été vérifié chaque 30 minute jusqu'à sa stabilisation.

Lecture des résultats

Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$H \% = [(m_1 - m) / m_1] * 100$$

H% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage

m_1 : masse de l'échantillon avant séchage en étuve (g)

m : masse de l'échantillons après séchage en étuve (g)

I.2.3. Screening phytochimique

- **Principe**

Le test phytochimique consiste à détecter les différentes familles de composés existants dans la partie étudiée de la plante par des réactions qualitatives de caractérisations ; ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé.

- a) **Recherche des alcaloïdes**

1 ml d'infusé est introduit dans un tube à essai plus 5 gouttes du réactif de Dragendorff, l'apparition d'un précipité orange révèle la présence d'alcaloïdes (**Trease et Evans, 1989**).

- b) **Recherche des composés poly phénoliques**

- ❖ **Flavonoïdes**

Une macération de 10g de poudre végétale est préparée dans 100ml de solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 1% pendant 24h. L'apparition d'une couleur jaune claire après addition de quelques gouttes d'ammoniac au filtrat obtenu (NH₄OH), indique la présence des flavonoïdes (**Benzahi, 2001 ; Chaouch, 2001**).

- ❖ **Anthocyanes**

5ml d'infusé est ajouté à 5ml d'acide chlorhydrique (HCl) à 2N. l'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu violace par addition d'ammoniac (NH₄OH) indique la présence d'anthocyanes (**Paris et Moyse, 1969**).

- ❖ **Tanins**

5ml de l'infusé sont introduits dans un tube à essai, puis environ 1ml de solution aqueuse diluée de chlorure de fer (FeCl₃) à 1% est ajouté ; en présence de tanins il se développe une coloration verdâtre (tanins catéchique) ou bleu noirâtre (tanins galliques) (**Rizk et al., 1974 ; Dohou et al., 2003**).

- ❖ **Quinones**

- **Quinones libres**

2g de poudre végétale humectées sont mélangés avec l'acide chlorhydrique (HCl) à 1N, et 20ml de chloroforme (CHCl₃), le filtrat obtenu est agité avec 5ml d'ammoniac (NH₄OH). La formation d'une coloration rouge révèle la présence des quinones libres (**Bekro et al., 2007**).

- **Quinones combinés**

2g de poudre végétale sont portés à reflux dans 5ml d'acide sulfurique (H_2SO_4) 2N pendant 2h ; la solution extractive est filtrée puis épuisée par 20ml de chloroforme, la solution chloroformique est évaporée à sec (au bain marie sous hotte ventilée). L'addition de l'ammoniac (NH_4OH) donne une coloration rouge en présence des quinones combinées (**Bekro et al., 2007**)

❖ **Coumarines**

2g de poudre végétale sont portés à reflux dans 20ml d'alcool éthylique (éthanol : C_2H_6O) pendant 15minutes puis filtrés ; à 5ml du filtrat sont ajoutés 10 gouttes de la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 10% et quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) à 10% ; la formation d'un trouble indique la présence des coumarines (**Bruneton, 1999**).

❖ **Saponines**

10ml de l'infusé sont agités pendant 15secondes, puis laissés au repos pendant 15min. Une mousse persistante, supérieure à 1cm indique la présence de saponines (**N'Guessan et al., 2006**).

c) **Recherche des glucosides**

Quelques gouttes d'acide sulfurique (H_2SO_4) sont ajoutées à 2g de poudre végétale ; la formation d'une coloration rouge brique puis violette indique la présence des glucosides (**Dif, 2011**).

d) **Recherche des composés réducteurs**

1ml de l'extrait est chauffé dans un bain marie, puis 200ul de réactif de Fehling sont ajoutés à l'extrait. Un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Bekro et al., 2007**).

e) **Recherche des mucilages**

1ml de l'infusé est introduit dans un tube à essai avec 5ml d'alcool absolu. La formation d'un précipité floconneux blanc montre la présence des mucilages (**Paris et Moyses, 1976**).

f) **Recherche des terpènes**

5ml d'infusé sont mélangés avec 5ml d'acide phosphomolybdique ($H_3M_{12}O_{40}P$) et 5ml d'acide sulfurique H_2SO_4 concentré (96%). L'obtention d'une couleur bleu montre la présence de terpène (**Gherib, 1988**).

I.2.4. Etude toxicologique

Avant d'examiner l'activité thérapeutique d'une plante ou de ses constituants, il est nécessaire de connaître sa toxicité (Meyer, 1977).

a) Principe

La méthode de détermination de la toxicité des extraits aqueux des feuilles de *Phlomis bovei* suit la ligne directrice 423 de l'OCDE (**Organisation for Economic Cooperation and Développement**) c'est : le test limite de toxicité.

b) Mode opératoire

Un essai limite de toxicité est effectué en administrant une dose unique de 2g/kg du poids corporel (**Annexe II**) à cinq lot de 3 souris dont le poids varie entre 17 et 22 g (**OCDE, 1960**)

- Un lot témoin recevant de l'eau distillée.
- Trois lots expérimentaux recevant l'extrait aqueux des feuilles de *phlomis bovei*.
- Un lot de référence.

Les souris sont privées de nourriture 4h avant l'expérimentation, l'eau n'est pas limitée. La solution préparée de la poudre des feuilles de *phlomis bovei* est administrée aux souris du lot expérimental par voie intra gastrique (orale) à la dose de 2g/kg du poids corporel sous un volume de 0.5 ml par souris.

L'observation d'éventuels effets toxiques en l'occurrence le nombre de mortalité se font tous les jours et cela pendant 14 jours.

I.2.5. Etude des activités biologiques

I.2.5.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Le test de susceptibilité des extraits aqueux est effectué selon la méthode de diffusion en milieu solide (**Annexe IV**).

a) Principe

La méthode de diffusion en milieu solide, utilise des disques en papier whatman pré-imprégnés des différents extraits sont déposés à la surface de la gélose déjàensemencée par une culture bactérienne, l'extrait diffuse à partir du disque en créant une zone d'inhibition permettant la déduction des caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne. (**Duraffourd et al., 1990 ; Mazari et al., 2010**).

b) Mode opératoire

- Les souches bactériennes utilisées sont isolées à partir de prélèvements pathogènes destinés pour les examens cyto bactériologiques des urines (ECBU) et sont conservées sur la gélose nutritive.
- Les boîtes de pétri sont préparées par liquéfaction des milieux de culture au bain-marie, puis coulées aseptiquement devant la flamme du bec benzène à raison de 33ml par boîte.
- Une suspension bactérienne est préparée en introduisant une colonie bien isolée issue d'une culture à l'aide d'une anse en platine stérile dans 10ml d'eau physiologique contenue dans un tube à essai, la suspension est homogénéisée à l'aide d'un vortex. La turbidité de cette suspension est mesurée à l'aide d'un turbidimètre et ajustée à 0.5 Mc Farlan.
- A l'aide d'un écouvillon trempé dans la suspension servant l'inoculum, la surface entière de la gélose est étalée à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60°C après chaque application pour avoir une distribution égale de l'inoculum.
- Des disques de papier wathman de 9mm de diamètre stérile (stérilisation à 120°C pendant 15min par autoclavage) sont prélevés aseptiquement à l'aide d'une pince stérile, le bout des disques est mis en contact avec l'extrait jusqu'à son imbibition totale, le disque est ensuite déposé sur la surface de la gélose ensemencée par les microorganismes à tester puis laissés diffuser sur la paillasse pendant 30min. l'incubation est faite à 37°C durant 2h pour les bactéries et à 25°C durant 48h pour la levure. La gentamicine (15ug/disque) et l'amphotéricine B (20ug/disque) ont servi de témoins positifs afin de contrôler la sensibilité des micro-organismes d'essai. Les tests sont effectués en triple.

C) Lecture des résultats

Après incubation, l'activité inhibitrice des extraits se traduit par des zones circulaires translucides sur le fond opaque de la boîte de pétri. Le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque est mesuré à l'aide d'un double décimètre ce qui permet d'estimer la résistance ou la sensibilité des différents germes testés en adoptant la méthode de (Chifundera *et al.*, 1990) appliquée aux antibiotiques :

- Diamètre compris entre = 9mm : souche résistante.
- Diamètre compris entre 10 et 15mm : souche peu résistante.
- Diamètre compris entre 16 et 20mm : souche sensible ou intermédiaire.
- Diamètre plus de 20mm : souche très sensible.

I.2.5.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des feuilles de *Phlomis bovei* a été réalisée en utilisant la méthode de (LEVY, 1969).

a) Principe

Le principe consiste à provoquer un gonflement de la patte d'une souris. Il est réalisé par une injection d'une substance inflammatoire (Carraghenine) sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche. Ceci provoque une réaction qui peut être réduite par des substances anti-inflammatoires. Cette réaction se traduit par un œdème d'installation rapide et persistant. La mesure est effectuée en comparant, à la fin de l'expérience (après 4 heures), le poids (en gramme) des pattes droites et gauches des souris provenant de différents lots (témoins, référencé (**Dichlofenac**), l'infusé (**Annexe III**)).

b) Mode opératoire

Constitution de 5 lots de souris à raison de 3 souris par lots.

▪ Au T₀

Administration aux 5 lots par voie orale, à l'aide d'une sonde gastrique les suspensions suivantes :

- Lot témoin négatif : gavage des souris par 0.5ml d'eau distillé
- Lot témoin positif (de référence) : gavage des souris par 0.5ml de **Dichlofenac** (médicament de référence).
- Lot essai 1 : gavage des souris par 0.5ml de l'infusé des feuilles de phlomis à 1%
- Lot essai 2 : gavage des souris par 0.5ml de l'infusé des feuilles de phlomis à 3%
- Lot essai 3 : gavage des souris par 0.5ml de l'infusé des feuilles de phlomis à 5%

- **Au T₀+30min**

L'inflammation est produite chez tous les animaux par l'injection d'une solution de Carraghenine à 1% sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche à raison de 0.025ml par souris.

- **Au T₀ +4heures**

Les animaux sont anesthésiés avec l'éther puis sacrifiés. Les deux pattes postérieures (gauche et droite) sont coupées à hauteur de l'articulation et pesées sur une balance analytique.

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{Moyenne du poids de pattes gauches} - \text{moyenne du poids de patte droites} \times 100}{\text{Moyenne du poids de patte droite}}$$

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème (Témoin négatif)} - \% \text{ de l'œdème (Essaie)} \times 100}{\% \text{ de l'œdème (Témoin négatif)}}$$

I.2.5.3 .Evaluation de l'activité cicatrisante

La recherche de la propriété cicatrisante des feuilles de *Phlomis bovei* est réalisée selon le protocole suivi par (Pourrat , 1993)

a) Principe

Ce test consiste à évaluer l'activité cicatrisante d'une crème formulée à base de 3 dilutions de l'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei* sur des scarifications cutanées profondes à la limite de saignement chez les lapins afin de déterminer la concentration minimale à effet (Annexe V) .

Préparation officinale et conditionnement de la crème dermique

La formule de base sur laquelle nous avons travaillé est inspirée du formulaire thérapeutique magistral (Fonteneau et klusiewicz, 2008). La composition des crèmes est résumée dans (Tableau V) :

Tableau V : Composition des crèmes dermiques cicatrisantes à base de feuilles de *Phlomis bovei*

Nom	Synonymes / Détermination INCI	Caractères	Usage	Concentration moyenne
Ingrédients de la phase huileuse (35%)				
Huile de vaseline	Huile de paraffine, <i>Paraffinum liquidum</i>	Liquide huileux, incolore, transparent et ne présentant pas de fluorescence.	Utilisée dans les cérats et pommades pour le traitement des brûlures.	18%
Acide stéarique	Stéarine	Paillettes blanches, onctueuses au toucher, à faible odeur de sui.	Emulsifiant	5%
Alcool stéaryliqu	Octadécanol	Paillettes blanches solubles dans les huiles et l'alcool chaud.	Gélifiant non ionique pour émulsion.	4%
Cire blanche	<i>Cera alba</i>	Morceaux blancs, translucides en sections minces	Utilisée comme agent de consistance dans les pommades et cérats en donnant une texture onctueuse.	8%
Ingrédient de la phase aqueuse (65%)				
Macération du matériel végétal	Macérât de feuilles de <i>Phlomis bovei</i>		Principe actif	65%
Méthyle parabène	4-hydroxybenzoate de méthyle		Conservateur	0,005%

(Fonteneau et klusiewicz, 2008).

3 crèmes dermiques de concentrations différentes 1%, 3% et 5% ont été préparées à base d'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei* pour la détermination de la concentration minimale à effet cicatrisant, en parallèle, un placebo (crème sans principe actif) a été préparé à base d'eau distillé utilisée comme un témoin (**Figure 07**).

Le même protocole de fabrication a été suivi pour les 3 crèmes comme celui d'une émulsion classique selon le mode opératoire suivant :

- Pour la préparation de la phase huileuse, des quantités appropriées d'huile de vaseline, d'acide stéarique, de cire blanche et des tensioactifs (acide stéarique et alcool stéarylique) sont déposées dans un bécher.
- Pour la préparation de la phase aqueuse, 10g de poudre végétale sont macérés dans 100ml d'eau distillée pendant 24h, le filtrat obtenu est mis dans un bécher (la préparation des dilutions de 1%, 2%, 3% est mentionnée dans (**Annexe V**)).
- Les 2 béchers (phase huileuse et la phase aqueuse) sont portés sur une plaque chauffante à 70°C jusqu'à fusion complète des composés. La phase aqueuse est versée dans la phase huileuse par des petites fractions sous une agitation rapide à l'aide d'un pied mixeur jusqu'au refroidissement. Sous une homogénéisation continue et à une température ambiante de (25°-30°C), le conservateur méthyle parabène à 0,005% a été ajouté.

Le conditionnement de la crème se fait en pot.



Figure 07 : Crèmes cicatrisantes à base des feuilles de Phlomis bovei de concentration différentes 1% ,2% et 3%

b) Contrôle physico-chimiques des crèmes cicatrisantes

Une grande diversité de contrôles a été nécessaire pour définir les caractéristiques des préparations topiques obtenues selon les méthodes homologuées. (**Le Hir et Cohen, 2001 ; Brochette ,2006 ;Wehler, 2007**).

❖ Contrôle des caractères organoleptiques

Les propriétés organoleptiques regroupent tout ce qui est perceptible par les sens : aspect, couleur, odeur et toucher. L'examen microscopique concerne également la recherche d'une opacité ou d'une texture particulière.

❖ **Contrôle de l'homogénéité**

Une certaine quantité de crème est étalée sur une lame puis recouverte d'une lamelle pour une observation microscopique . Ce test permet d'apprécier l'homogénéité de l'émulsion.

❖ **Mesure du pH**

Pour connaître le PH de la crème ,5g de cette dernière sont triturés avec de l'eau distillée dont le PH est ensuite mesuré par pH mètre.

❖ **Examen de consistance**

La mesure de la consistance est déterminée à l'aide d'un penetromètre, cet examen décrit le degré de résistance à la déformation d'un échantillon (cremeux, pateux, visqueux) face à l'application d'une force.

❖ **Examen de viscosité**

La viscosité des crèmes a été mesurée avec un viscosimètre, ce paramètre permet de définir la vitesse de l'écoulement du produit à tester dans le temps.

❖ **Examen de stabilité**

La stabilité des crèmes a été déterminée à l'aide une centrifugeuse, qui indique la présence ou l'absence d'une séparation des pahses huileuse et aqueuse.

C) Contrôle microbiologique des crèmes cicatrisantes

Les analyses micorobiologiques ont pour but de rechercher les germes responsables de toute contaminations du produit fini (crème), nous avons suivi le meme protocole pour les 3 crèmes qui sont énumérés par la **Pharmacopée Européenne 2014**.

❖ **Preparation de l'echantillon**

10 g de crème sont pesés et introduits dans un flacon de 100ml de solution tampon PH 7, puis chauffés au bain marie à 45°C jusqu'à l'obtention d'une émulsion.

❖ **Dénombrement des germes aérobies viables totaux**

A l'aide d'une pipette stérile 1 ml de l'émulsion préparée et 20 ml de milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (soja agar) liquifié dont la temperature ne depasse pas les

45°, sont versés dans une boîte de petri, qui est ensuite remuée dans le sens circulaire et laissée dans une position stationnaire jusqu'à solidification puis incubée à 35°C pendant 5 jours pour faire le dénombrement.

❖ **Dénombrement des moisissures et levures**

La même procédure citée précédemment est suivie, en utilisant cette fois, le milieu gélosé Sabouraud liquifié qui est incubé à 25°C pendant 5 jours pour le dénombrement.

Remarque : Le nombre de germes aérobies viables totaux est la somme du nombre de bactéries et du nombre de moisissures et levures trouvées dans les deux boîtes des milieux Soja agar et Sabouraud.

❖ **Recherche des Salmonelles**

A partir du milieu liquide (BS), 0,1 ml est versé dans un tube contenant 10ml du milieu Rappaport Vassiliadis puis incubé à 35°C pendant 24h .Après incubation ,une subculture est réalisée dans le milieu gélosé XLD et incubé à 35°C pendant 48h. L'apparition de couleur mauve indique la présence de salmonelles .

❖ **Recherche de *Staphylococcus aureus***

Une subculture est réalisée sur milieu gélosé Chapman à partir du milieu liquide (BS) précédemment encemencé et incubée à 35°C pendant 72h. L'apparition des colonies dorées et la dégradation de la couleur du milieu ,confirme la présence de *Staphylococcus aureus* .

❖ **Recherche de *Pseudomonas aeruginosa***

A partir du milieu liquide soja (BS) précédemment encemencé, une culture sur milieu gélosé cétrimide agar base (CAB) est réalisée puis incubée à 35°C pendant 72h. L'apparition des colonies verdâtre et le virement de couleur du milieu de culture ,confirme la présence de *Pseudomonas aeruginosa*.

❖ **Recherche d'*Echerichia coli***

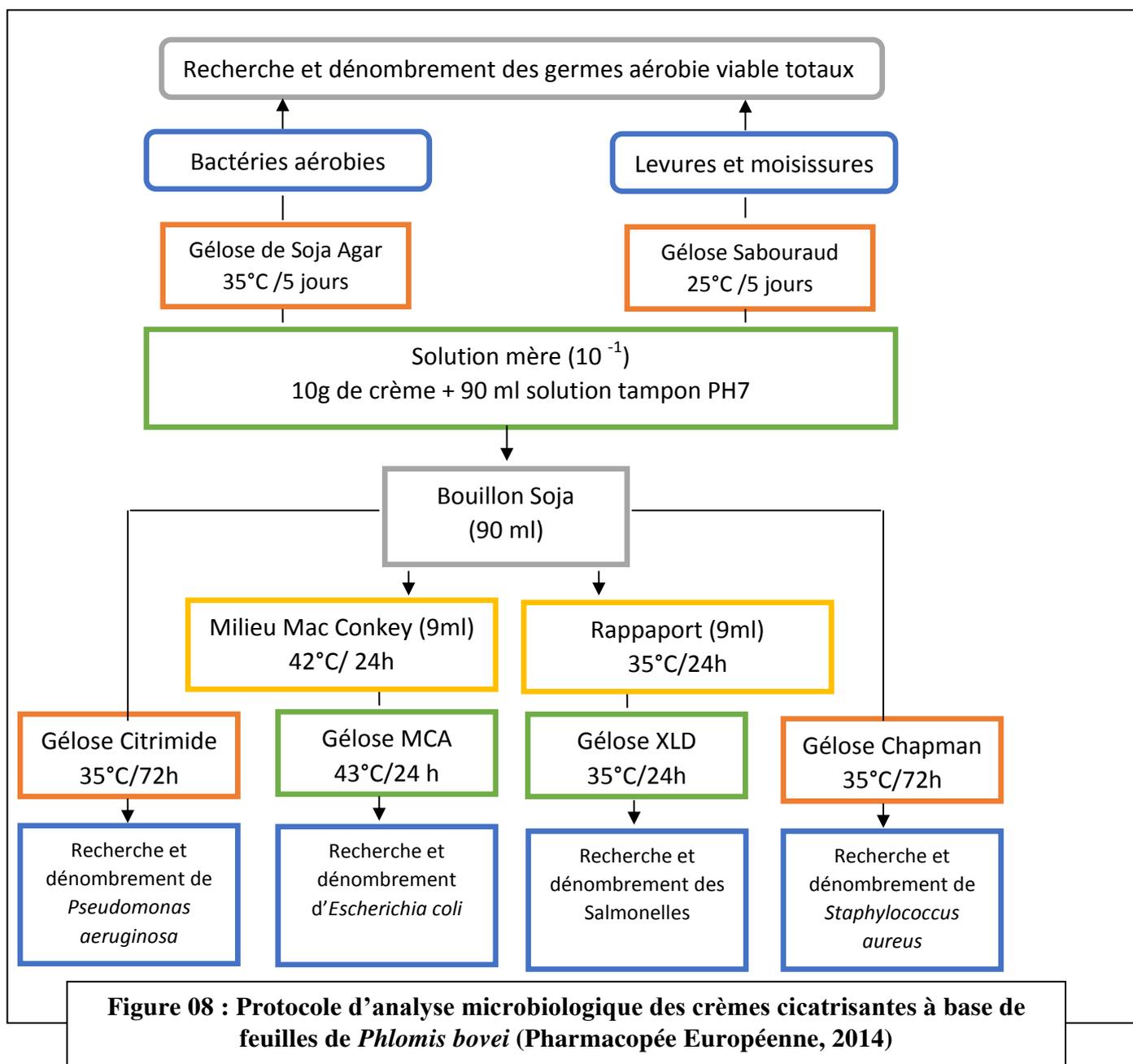
1 ml du milieu liquide soja (BS) est versé dans un tube contenant 9ml du milieu Mac conkey, ce dernier est incubé à 42°C pendant 48h . Un repiquage est effectué sur le milieu gélosé Mac conkey (MCA) et incubé à 35°C pendant 24h .La présence de colonies rouges indique une présomption d'*Echerichia coli*.

❖ **Lecture des resultats**

Les resultats sont exprimés en colonie formant unité (UFC), le produit est déclaré conforme si les résultats sont inférieurs aux limites sous citées :

- Germes aérobies viables totaux : 5.10^2 UFC / ml
- Levures et moisissures : 5.10^2 UFC / ml
- Salmonelle (-) : absence
- *Staphylococcus aureus* : absence
- *Pseudomonas aeruginosa* : absence
- *Escherichia coli* : absence

Le protocole suivi dans le contrôle microbiologique des crèmes dermiques est résumé dans (Figure 08) :



d) Evaluation de l'activité cicatrisante in vivo de la crème cicatrisante

Ce test a été réalisé in vivo sur les lapins Albinos. Il a pour but l'évaluation de la potentialité, de la néoformation des tissus dermiques après l'application quotidienne d'une crème à base des feuilles de *Phlomis bovei*. La lecture des résultats a été faite en comparaison avec :

- Un produit de référence Madécassol à base de (Centella asiatica) ou le principe actif est Acide asiaticoside 1%.
- Un groupe traité uniquement par le placebo (crème sans principe actif).

L'essai s'effectue sur 2 lapins albinos, ces derniers ont subi une épilation de part et d'autre de l'axe vertébral, à l'aide d'une paire de ciseaux et un rasoir ; après épilation et désinfection de la peau par un coton imbibé d'alcool, 5 scarification parallèles ont été effectuée par excision de la peau avec un scalpel. Chaque plaie présente une taille de 5 cm, L'application des crèmes s'effectue quotidiennement pendant 14 jours sur les plaies provoquées après délimitation des zones.

Chaque animal est placé dans une cage individuelle. Il recevra de la nourriture et de l'eau durant tout le traitement jusqu'à la cicatrisation totale.

L'observation macroscopique est réalisée avant chaque nouvelle application.

Une échelle de cotation (**Tableau VI**) a été établie pour suivre l'évolution du processus de cicatrisation. Elle prend en considération les paramètres suivants :

- Évolution de la surface de la plaie (échelle graduée en 4)
- Apparition ou non d'œdème.

Tableau VI : Echelle de cotation de l'effet cicatrisant

	Profondeur	Œdème
0	Profondeur nulle	Pas d'œdème
1	Légèrement creusée	Très léger œdème
2	Peu profonde	Œdème visible
3	Assez profonde	Œdème moyen
4	Très profonde	Œdème grave

(Pourrat ,1993)

I.2.5.4. Evaluation de l'activité antioxydante

Les antioxydants sont les, molécules qui lorsqu'elles sont présentes à faible concentration par rapport aux substrats oxydables, retardent ou stoppent le processus d'oxydation. Pour évaluer l'activité antioxydante, in vitro des extraits naturels, différentes méthodes ont été

développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération de radicaux. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes majeurs, par transfert d'atome d'hydrogène ou par transfert d'électron. Ainsi, compte tenu des différents facteurs impliqués, tels que les propriétés physico-chimiques des molécules, il est recommandé d'utiliser plusieurs tests pour confirmer une activité antioxydants (**Prior et al., 2005**). C'est pourquoi notre choix s'est porté sur l'utilisation de teste chimique : le piégeage du radical 1,1-diphenyl -2-picrylhydrazyl (**DPPH**).

1. Piégeage du radical libre DPPH

- **Principe**

Le DPPH est généralement le substrat le plus utilisée pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radical libre et la simplicité de l'analyse. A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons (**Figure 09**). Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517nm (**Masuda et al., 1999**)

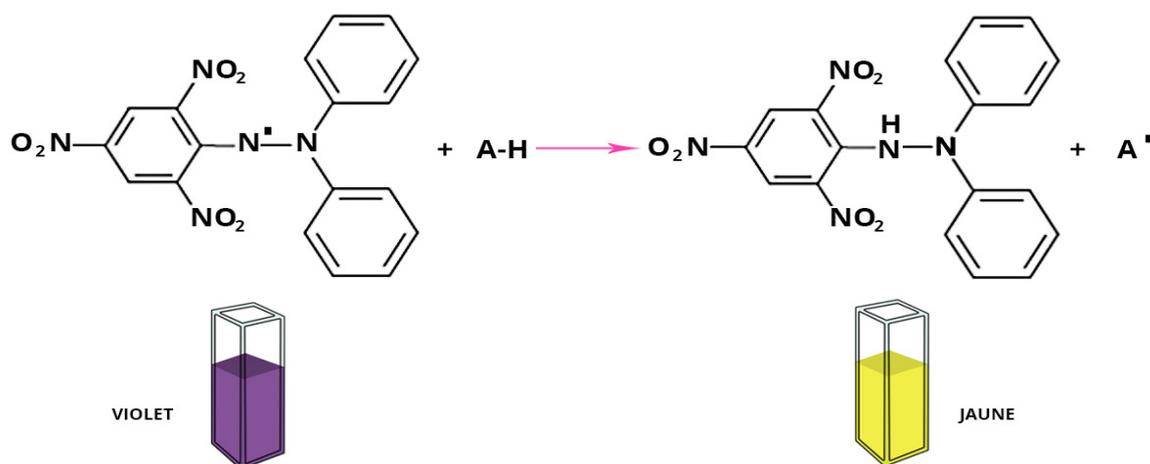


Figure 09 : Forme réduite du radical DPPH

- **Mode opératoire**

Le test du DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par (**Mansouri et al., 2010**). Pour la mesure de l'activité, 0.1 ml de l'extrait à tester à différentes concentrations (de 0.2% jusqu'à 2%) est mise en présence de 3.9 ml de la solution méthanolique de DPPH (solubilisation de 2.4 de DPPH dans 100mlde méthanol absolu). Le mélange est placé pendant 30min à l'obscurité pour réagir et l'absorbance est mesurée à 517nm contre un témoin négatif (sans extrait). L'antioxydant de synthèse utilisé est l'acide ascorbique.

- **Lecture des résultats**

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$\text{PI \%} = \frac{\text{DO Blanc} - \text{DO Echantillon} \times 100}{\text{DO Blanc}}$$

PI : pourcentage d'inhibition.

DO Blanc : absorbance du témoin négatif (sans extrait).

DO Extrait : absorbance de l'extrait.

L'étude de la variation de l'activité anti radicalaire en fonction de la concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50 % d'inhibition (CI50). Une faible valeur de CI50 correspond à une grande efficacité de l'extrait.

al., 2016), et qui ont montré la présence des flavonoïdes, des anthocyanes, des tannins, des saponines .

Selon **Lahlah et Zaarour (2015)** les feuilles de *Phlomis purpurea*.L contiennent des Tanins, des anthocyanes , des quinones et des flavonoïdes ;de même **Kabouche (2005)** indique la présence d'un grand nombre de flavonoïdes dans toutes les espèces méditerranéennes de *Phlomis* telles que *P. aurea* et *P. floccosa* croissant en Egypte et *P. lychnitis* qui se trouvent en Espagne ainsi que les espèces indiennes telles que *P. spectabilis* , *P. agraria* et *P. tuberosa* .

III .3. L'étude toxicologique

Les résultats du test limite de toxicité sont résumés dans le **Tableau IIV** :

Tableau IIV : Résultats du test limite de toxicité de l'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei*

	Produit administré	Nombre d'animaux par lot	Nombre de mortalité	% de mortalités
Lot témoin	Eau physiologique	6 souris	0	0
Lot essai	Infusé des feuilles (2g/kg du poids corporel)	6souris	0	0

Au cours de notre étude sur la toxicité aigüe et selon les conditions expérimentales l'administration de l'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei* par voie orale, ne cause aucun signe clinique ou trouble de comportement (poids, alimentation, peau, état des yeux) durant la période d'observation, ce qui permet de dire que la dose utilisée de 2 g/kg de l'infusé des feuilles n'a révélé aucune mortalité.

Ces résultats confirment l'innocuité de la forme traditionnelle d'utilisation (infusé) de *Phlomis bovei* selon (**Djerroumi et Nacef (2004)** qui ont montré que les plantes du genre *Phlomis* sont médicinale non toxique.

III.4. L'étude des activités biologiques

III .4.1. L'activité antibactérienne

Les résultats sont estimés en termes de diamètre des zones d'inhibition (exprimé en mm) autour des disques contenant le produit à tester vis-à-vis de 4 germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*)

Le **Tableau IX** extrapole les résultats obtenus :

Tableau IX : Diamètre des zones d'inhibitions du développement des différentes souches microbiennes par l'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis* et par la Gentamicine

Souches microbiennes		Extrait aqueux des feuilles	Antibiotique de référence Gentamicine
Gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	16mm	17
	<i>Bacillus subtilis</i>	15mm	15
Gram -	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13mm	19
Levure	<i>Candida albicans</i>	9mm	19

Les tests préliminaires de l'activité antibactérienne par la méthode de la diffusion Sur disque ont montré que l'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei* inhibe la croissance de toutes les souches bactériennes testées (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*). La plus forte activité a été obtenue contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de croissance de 16mm ce qui est comparable à celui de l'antibiotique de référence Gentamicine (17) mm (**Figure A**), suivi par *Bacillus subtilis* avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 15mm, identique à celui obtenu avec la Gentamicine (**Figure B**), pour *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre de zone d'inhibition de croissance de 13 mm ,inférieur à celui obtenu en présence du Gentamicine (19) mm (**Figure C**). Cependant aucune activité antibactérienne n'a été observée contre la souche fongique *Candida albicans* (**Figure D**).

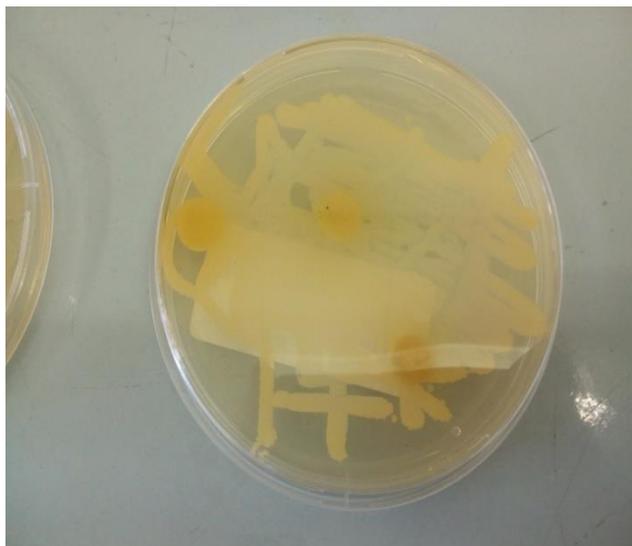


Figure A : Zone d'inhibition de la souche *Staphylococcus aureus*

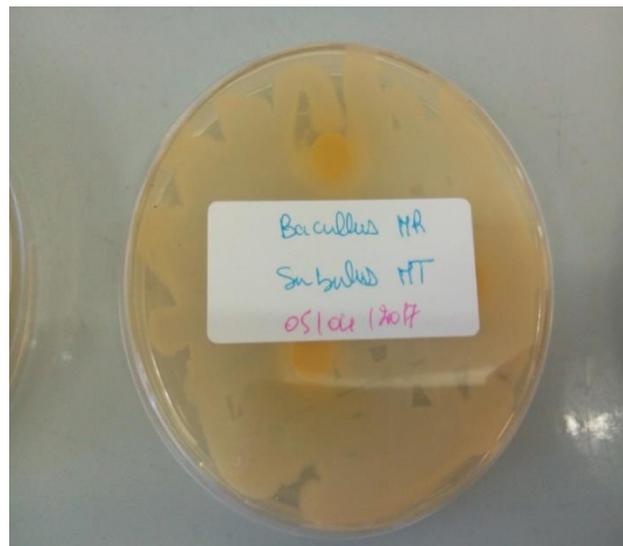


Figure B : Zone d'inhibition de la souche *Bacillus subtilis*

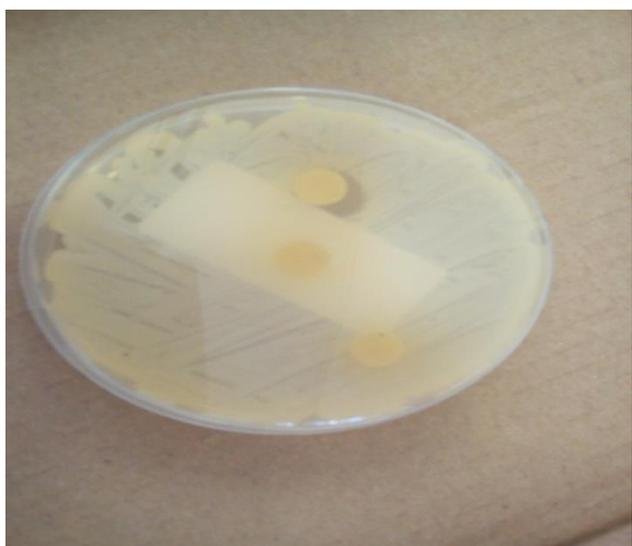


Figure C : Zone d'inhibition de la souche *Pseudomonas aeruginosa*



Figure D : Zone d'inhibition de la souche *Candida albicans*

Figure 10 : Les zones d'inhibition des différentes souches testées

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par **Nouioua et al., 2016** qui ont travaillé sur l'activité antimicrobienne des extraits de flavonoïdes et tanins à partir des feuilles de *Phlomis bovei*, leurs résultats ont révélé un pouvoir antibactérien et antifongique puissant.

Lilios et al., (2007), ont montré dans leur étude sur les parties aérienne de *Phlomis bovei*, que l'huile essentielle de cette espèce possède une activité antimicrobienne très puissante

contre *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P.aeruginosa*, *E.cloacae*, *K.pneumoniae*, *E. coli* avec une concentration minimal inhibitrice **CMI** qui varie entre 0.85 mg/ml et 4.75 mg/ml.

Zaarou et Lahlah (2015) qui ont travaillé sur l'extrait méthanolique de *Phlomis purpuria*, ont confirmé l'activité antimicrobienne du genre *Phlomis*, alors que les travaux de **Digrak et al., (1999)** en testant l'huile essentielle de l'espèce *Phlomis bourgei* originaire de la Turquie sur des souches microbiennes, ont montré la sensibilité des bactéries à cette l'huile.

De meme **Demirci et al., (2008)** rapportent que les huiles essentielles extraites des espèces *Phlomis russelina* et *Phlomis grandiflora* récoltées du Nord et de Sud de la Turquie ont un pouvoir antibactérien important, ces derniers inhibent la croissance microbienne de toute les bactéries testées (*Aeromonas hydrophila*, *Listria monocytogenes*, *pseudomonas aeruginosa*, *bacillus cereus*) à l'exception de la bactérie *E.coli*.

L'analyse des résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne réalisés sur plusieurs espèces du genre *Phlomis* à partir de différents extraits (huiles essentielle, extrait aqueux, extrait méthanolique, composés chimiques) a révélé un pouvoir antimicrobien puissant contre les bactéries ce qui est démontré par **Couladis et al., 2000 ; Ristic et al., 2000 ; Tisitsimi et al., 2000 ; Kyriakopoulo et al.,2001 ; Aligiannis et al., 2004 ; Calis et al., 2005**.

L'activité antimicrobienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, y compris les flavonoïdes, les tanins catéchiques et les saponosides qui sont efficaces contre les bactéries (**Kerharo et Adam, 1974 ; Fernandez-Lopez et al., 2005**). De même que les alcaloïdes qui sont communément connus pour leurs propriétés antibactériennes (**Omulokoli et al., 1997 ; Moussaid et al., 2012**) et d'après **Wagner et Bladt , 1996 ; Shan et al., 2007**, l'activité d'une substance végétale dépend aussi de plusieurs facteurs dont le mode d'extraction et la concentration en principes actifs, le choix du protocole d'extraction et plus particulièrement la nature du solvant (**Klervi , 2005 ; Cavin , 2007**).

III.4.2. L'activité anti-inflammatoire

Les résultats du pourcentage de l'augmentation de l'œdème et de la réduction de l'œdème, sont regroupés et présentés dans le **Tableau X** et la **Figure 11** :

Tableau X : Les différents pourcentages d'augmentation de l'œdème et de sa réduction

	Témoin	Extrait aqueux à 10%	Extrait aqueux à 20%	Extrait aqueux à 30%	Diclofénac
% D'augmentation	50%	21%	20%	11.76%	11.11%
% De réduction	00%	58%	60%	76.78%	77.48%

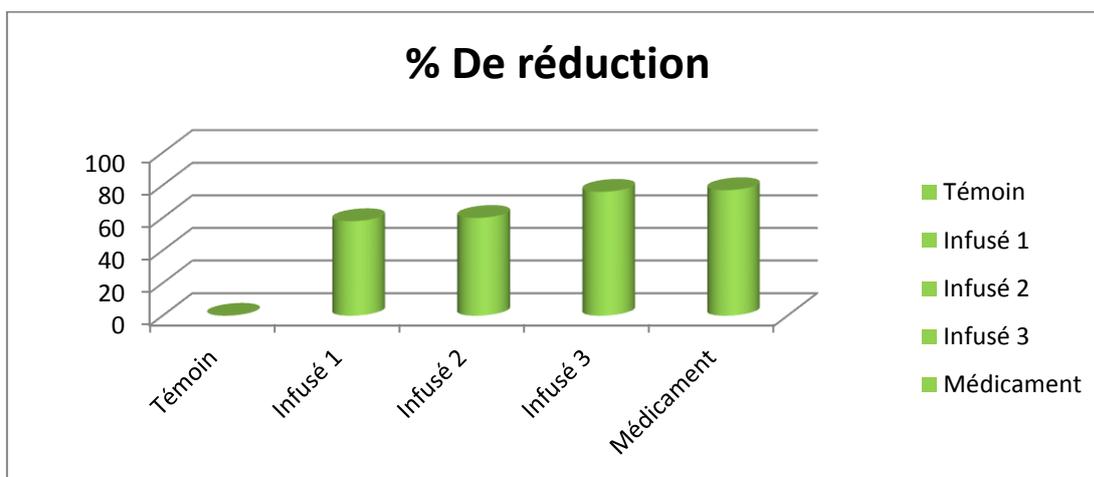


Figure 11 : Présentation graphique des pourcentages de réduction de l'œdème

Après l'injection de la carraghénine au niveau des pattes postérieures des souris, nous avons observé la formation des œdèmes au niveau des pattes chez toutes les souris des cinq lots.

Pour les animaux du lot traité avec l'infusé à 10% et l'infusé à 20% , une baisse importante des œdèmes est observée avec des pourcentage de réduction : 58%, 60% respectivement, Pour les animaux du lot traité avec l'infusé à 30% , une baisse très importante des œdèmes est observée avec un pourcentage de réduction : 76.78%, qui est nettement proche du résultat obtenu chez le lot de référence traité par le **Diclofénac®** (77.48%).

D'après les résultats obtenus, nous avons déduit que l'extrait aqueux de la poudre des feuilles de *Phlomis bovei* a un effet anti-inflammatoire comparable à celui de **Diclofénac®**.

Les feuilles de *Phlomis bovei* présentent un effet anti inflammatoire du à sa richesse en différentes constituants chimiques tels que : les tanins catéchiques , et même les

flavonoïdes qui sont des composants anti inflammatoire qui inhibent l'inflammation par diminution de la libération de certains médiateurs (cycloxygénase et la lipoxygénase) (Iserin, 2001).

D'après Azine et al., (2016), Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence un effet anti-inflammatoire de l'extrait hexanique des feuilles de *Phlomis bovei* peut être expliquée par leur richesse en flavonoïdes et de tanins dans les feuilles de *Phlomis bovei*. En effet, certains flavonoïdes et tanins sont de puissants inhibiteurs de la production des prostaglandines, des molécules pro-inflammatoires très actives (Ferradji, 2011), De meme l'étude de l'activité anti-inflammatoire des feuilles des espèces (*phlomis rotata benth. ex Hook .f.*) (Zhang et al., 1991 ; Pandey, 2006), *Phlomis orientalis* (Mojab et al., 2003) et *Phlomis purpurea* (Zaarour et Lahlal, 2015) a montré que ces derniers possèdent des propriétés anti inflammatoires très remarquable . Alors que Farideh et al., (2015) montrent que les huiles essentielles de genre phlomis (*Phlomis olivieri* et *Phlomis persica*) possèdent des propriétés anti inflammatoires grâce à ses constituants qui diminuent ou inhibent l'inflammation.

III.4.3. L'activité cicatrisante

III.4.3.1. Contrôle physicochimique de la crème

❖ Détermination des caractères organoleptiques

La composition obtenue pour les trois crèmes préparées à base de feuilles de *Phlomis bovei* de concentration différentes 1%,3% et 5%, se présentent sous forme d'une crème rigide, lisse, d'aspect brillant, et de couleur blanche, blanc cassé et beige selon les concentrations citées précédemment (Figure 12).

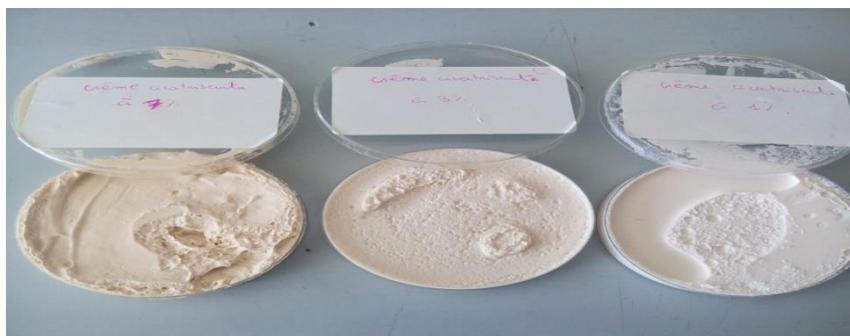


Figure 12: Les trois crèmes cicatrisantes à base des feuilles de *Phlomis bovei* de concentration différentes 1% ,3%et 5% .

Les crèmes obtenues présentent des caractéristiques galéniques qui leurs assurent un fort caractère couvrant et ne suscitent aucune sensation « collante ». Le temps de séchage de la crème sur la peau s'avère relativement court.

❖ Contrôle de l'homogénéité

L'homogénéité des 3 crèmes cicatrisantes a été vérifiée au microscope, ainsi nous avons constaté l'absence de globules huileuses, ce qui indique que les crèmes obtenus sont parfaitement homogénéisées (Dally et al., 2007).

❖ Mesure du pH

Tableau XI : le pH des crèmes cicatrisantes à base des feuilles de *Phlomis bovei* à différentes concentrations.

	Crème de concentration 1%	Crème de concentration 3%	Crème de concentration 5%
pH	5.9	6.1	6.4
Température	25.2	24.9	24.3

Le pH des crèmes à base des feuilles de *Phlomis bovei* de concentration 1% est égal à 5.9 à une température de 25.2°C, de concentration 3% est égal à 6.1 à une température de 24.9°C et de concentration 5% est égal à 6.4 à une température de 24.3°C (Tableau XII). Il est à noter que le pH de la peau est d'environ 5.5 d'où la nécessité d'avoir un pH neutre ou légèrement acide donc nous pouvons dire que les 3 crèmes ne provoquent pas d'irritation sur la peau (pharmacopée française,2004).

❖ Examen de consistance

La prise de mesure de la consistance des trois crèmes à l'aide d'un pénétromètre est évaluée à 88 Kpa (kilopascal). Etant donné que la consistance d'une crème doit être inférieure à 100 (kpa) selon les kits de test ; ceci implique que les trois préparations ont donc la consistance d'une crème (pharmacopée française,2004).

❖ Examen de viscosité

La mesure de la viscosité des trois crèmes selon les différentes concentrations qui s'affiche sur le viscosimètre est de $47.4 \cdot 10^3 \text{ vasca} / \text{S}^{-1}$. Ce résultat se situe dans la norme d'acceptation qui est compris entre $30 \cdot 10^3$ et $60 \cdot 10^3 \text{ vasca} / \text{S}^{-1}$ (**pharmacopée française,2004**).

❖ Examen de stabilité

La stabilité des trois crèmes a été déterminé à l'aide d'une centrifugeuse 3000 tours /min. Le résultat a indiqué l'absence de séparation des deux phases aqueuses et huileuses.

II.4.3.2. Contrôle microbiologique

Tableau XII : Résultat de l'analyse microbiologique des trois crèmes cicatrisantes.

Germes	Crèmes cicatrisante de <i>Phlomis bovei</i>	Normes (Pharmacopée européenne)
Germes aérobies viables totaux	40 UFC /g	< 200 UFC/g
Levures et moisissures	6 UFC/g	< 20 UFC/g
<i>Escherichia coli</i>	Absence	Absence
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence	Absence
<i>Staphylocoques aureus</i>	Absence	Absence
<i>Salmonelle</i>	Absence	Absence

Le contrôle microbiologique des trois crèmes cicatrisantes n'a révélé aucune contamination bactérienne ou fongique, les trois crèmes sont donc tolérables, et par la suite elles sont déclarées conformes aux normes adaptées par la **Pharmacopée Européenne (2014)**. La protection microbiologique des crèmes est obtenue en utilisant des conservateurs adaptés (méthyl parabène) à la formulation.

II.4.3.3. L'essai préliminaire de la cicatrisation

❖ Apparition de l'œdème

Les résultats de l'évolution des paramètres de cicatrisations chez les lapins sont représentés dans le Tableau ci-dessous :

Tableaux XIII : L'évolution des paramètres de cicatrisation (œdèmes) chez les lapins, pour le placebo, en fonction du temps cm/ (jours).

Œdème	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14
Placebo	1.5	1	1-0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

D'une façon générale, l'analyse du tableau nous montre l'absence d'œdème pour les trois zones traitées par les crèmes de concentration 1%,3% et 5% préparées à base de feuilles de *Phlomis bovei*, et par la crème de référence Madécassol, ce qui signifie que ces quatre traitements inhibent le processus inflammatoire, par contre pour le lot témoin (placebo), un œdème léger apparaît dès le premier jour et s'estompe pour disparaître le 4^{ème} jour.

❖ **Profondeur de la plaie**

Les résultats de l'évolution de la taille des plaies chez les lapins sont représentés dans le Tableau XIV :

Tableau XIV : Evolution de la taille des plaies chez les lapins en (cm).

Profondeur de la plaie	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9	J10	J11	J12	J13	J14
Placebo	4	4	4-3	3	3	3-2	2	2-1	1	1-0	0	0	0	0
Madécassol	4	4-3	3	3-2	2	1	1-0	0	0	0	0	0	0	0
Crème de 1%	4	3-4	3-2	2-1	1-0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Crème de 3%	4	3-4	3-2	2-1	1-0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Crème de 5%	4	3	2-1	1-0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Les scarifications sont nettement plus profondes pour les zones non traitées (témoin) que pour celle traitées. La taille des plaies traitées par les trois crèmes de concentration 1%,3% et 5% est moins importante par rapport à celle traitées par Madécassol.

Les quatre traitements ont donné une bonne cicatrisation avec des temps de guérison qui varie de 5 jours pour la crème de 1% et 3% (**Figures 13-14**), 4 jour pour la crème de 5%

(**Figure 15**) et de 7 jours pour Madécassol, par contre la cicatrisation complète du témoin (Placébo) se fait au bout du 10^{ème} jour (**Figure 16**).

D'après ces résultats, nous pouvons déterminer la plus faible concentration des trois crèmes cicatrisantes à base de feuilles de *Phlomis bovei* à laquelle nous avons observé un effet significatif par rapport au produit de référence Madécassol, qui est la crème cicatrisante de concentration 1%.



Figure 13 : cicatrisation totale après application de la crème de 1%.



Figure 14 : cicatrisation totale après application de la crème de 3%.



Figure 15: cicatrisation totale après application de la crème de 5%.



Figure 16 : cicatrisation totale après application de placebo.

❖ **Présence de bourgeon**

D'après nos résultats l'apparition du bourgeon est peu marqué, il apparait au 4^{ème} jour pour la plaie témoin (placebo) et disparaît le 7^{ème} jour.

Cependant pour les plaies traitées par la crème de *Phlomis bovei* et Madécassol, le bourgeon apparait le 2^{ème} jour pour s'estomper rapidement et disparaître le 4^{ème} jour.

❖ **Apparition de La croute**

Nous observons que la croûte chez les lapins traités par les crèmes à base des feuilles de *Phlomis bovei* et Madécassol apparaît le 3^{ème} jour et persiste jusqu'à le 6^{ème} jour (**Figures :17-18-19**). Pour les lapins traités par le placebo, l'apparition de la croûte est au 4^{ème} jour et persiste jusqu'à 11^{ème} jour (**Figure 20**)



Figure 17 : Apparition de la croûte dans la zone traitée par la crème de 1%.



Figure 18: Apparition de la croûte dans la zone traitée par la crème de 3%.



Figure 19: Apparition de la croûte dans la zone traitée par la crème de 5%.



Figure 20 : Apparition de la croûte dans la zone traitée par le placebo.

D'après les résultats nous pouvons dire que le produit de référence et les crèmes préparés ont donné des résultats positifs sur les paramètres de cicatrisation cités précédemment.

En effet nos résultats prouvent une cicatrisation de la crème à base de *Phlomis bovei* qui s'accomplit au 5^{ème} jour par rapport au Madécassol, qui atteint le 7^{ème} jour.

L'absence d'œdème est justifiée par l'activité anti-inflammatoire que possède la plante et qui a été déjà démontrée précédemment.

Nous supposons que l'effet cicatrisant de cette plante peut être dû aux composés qu'elle renferme d'après le screening photochimique de *Phlomis bovei* qui a montré :

- La présence des saponosides qui possèdent une activité cicatrisante selon **Bruneton (1999)**.
- Les tanins qui activent la multiplication et la régénération cellulaires ce qui contribuent à augmenter la vitesse de cicatrisation (**Iserin , 2001**).

Dans notre étude le placebo ne présente aucune activité pharmacologique ou effet cicatrisant, puisque c'est une préparation pharmaceutique dépourvue de tout principe actif et ne contenant que des produits inertes (**Garnier et Delamare , 1990**).

Madécassol est l'un des produits couramment utilisés pour le traitement des brûlures. (**Shetty et al., 2008**), leur effet le plus bénéfique semble être la stimulation de la maturation des cicatrices suite à la production de collagène de type I et la diminution de la réaction inflammatoire et la production de myofibroblastes.

Phlomis bovei est une plante connue pour leur propriété cicatrisante ce qui est confirmé par les résultats de **Benmoussa et Remili (2008)**, dans une étude de l'activité cicatrisante menée sur des rats, l'étude réalisée sur cette espèce végétale a permis de confirmer l'activité cicatrisante de l'extrait aqueux des feuilles séchées avec une meilleure cicatrisation à la dilution de la solution mère à partir de 1g /100ml, de même **Liolios et al., (2007)** dans leur étude réalisée sur l'espèce *Phlomis bovei* De Noé subsp.bovei récoltée de l'Est de l'Algérie (montagne Megriss) ont mentionné que la plante étudiée présente un bon effet cicatrisant contre les lésions de la peau ainsi que les brûlures. D'autre part **Khitri et al., (2014)** dans une recherche ethnobotanique établit à Oran, sur les plantes médicinales les plus utilisées dans le traitement des plaies, le *Phlomis bovei* est l'espèce la plus recommandée, ainsi que l'étude photochimique menée sur des rats Albinos a montré des résultats significatifs avec un délai de cicatrisation de 3 jours.

La comparaison des résultats obtenus de l'évaluation de l'activité cicatrisante de la plante *Phlomis bovei* avec d'autres espèces montre que le genre *Phlomis* présente un effet cicatrisant puissant, ce qui est démontré dans des études menée sur les feuilles des espèces : *Phlomis crinita*.subsp crinita existant dans la région Murcia,Almeria en Espagne par **Rivera et Obon (1993 et Gonzalez et al., (1995)**, et *Phlomis crinita* cav. Subsp . mauritanica munby existant dans l'Afrique du nord (l'Algérie et la Tunisie) par **Boukef (1986)**.

III.4.4. L'activité antioxydante

❖ Détermination du pourcentage d'inhibition

Piégeage du radicale libre (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) DPPH

Tableau XV : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH

Concentrations mg/ml		0.2	0.4	0.6	0.8	1	1.2	1.4	1.6	1.8	2
Feuilles	%IN	20.695	28.702	31.564	40.541	42.152	53.682	60.708	71.246	74.627	88.85
Acide ascorbique	%IN	26.62	30.00	39.11	46.656	49.128	60.708	63.83	70.726	81.31	97.63

Les résultats exprimés en pourcentage d'activité anti-radicalaire (**Tableau XVI**) révèlent que le substrat testé possède un pouvoir antioxydant.

La courbe obtenue dans la (**Figure :21**) montre que le pouvoir réducteur de l'extrait aqueux des feuilles augmente en fonction de la concentration. Ce pouvoir atteint 88.85% pour une concentration de 2mg/ml.

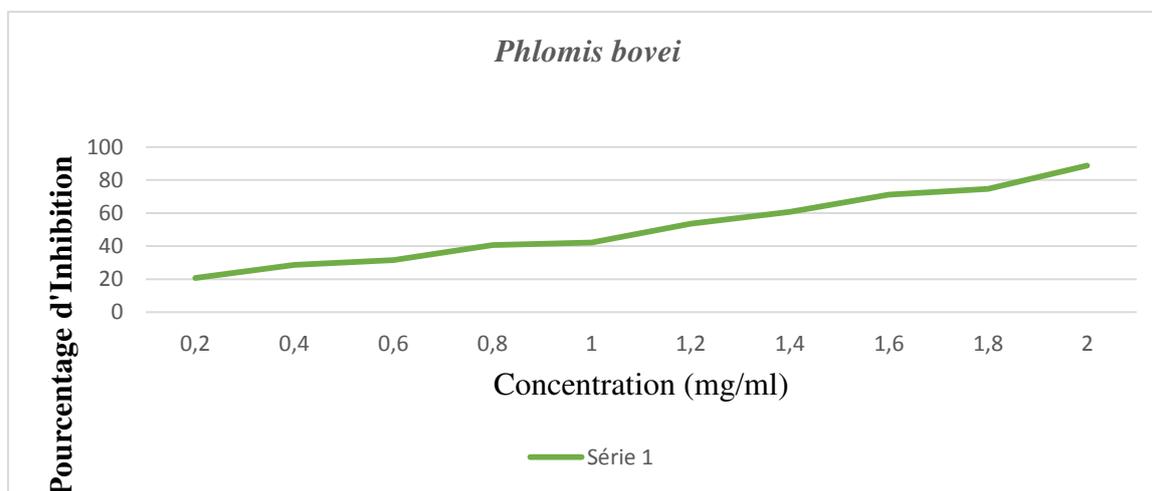


Figure 21 : Pourcentage d'inhibition de l'activité oxydante en fonction de la concentration de l'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei*.

L'extrait aqueux des feuilles possède une bonne capacité de neutralisation du radical libre DPPH. Cette capacité peut probablement s'expliquer par la présence de certains métabolites actifs.

La **Figure 22** illustre la variation de l'activité anti-radicalaire en fonction de la concentration de l'acide ascorbique. Son activité est plus importante que celle du produit testé.

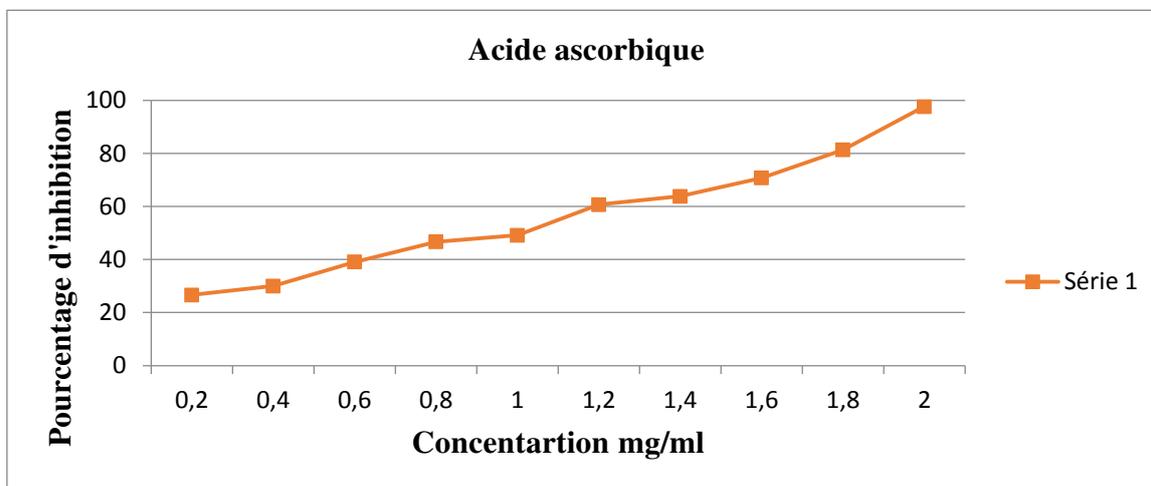


Figure 22 : Pourcentage d'inhibition de l'activité oxydante en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.

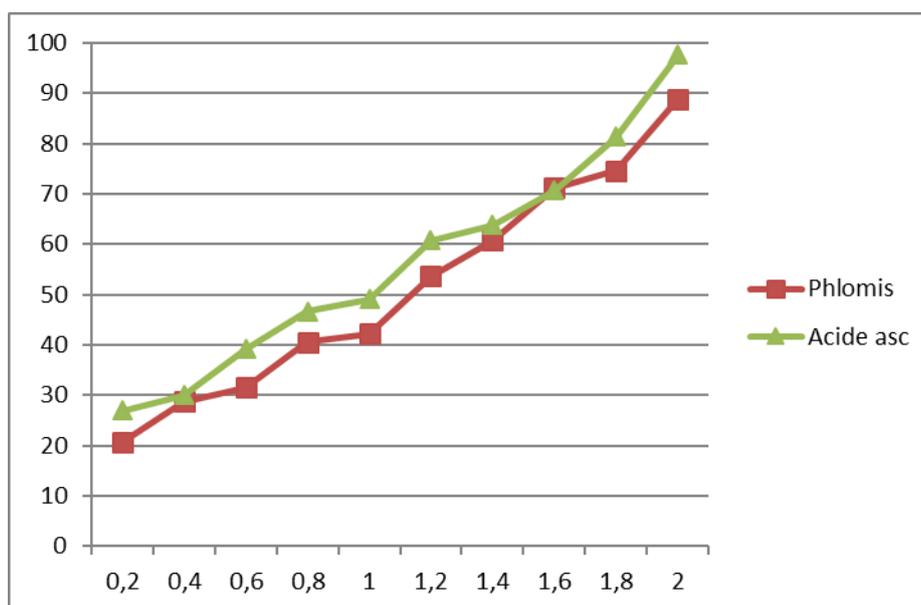


Figure 23 : Pouvoir réducteur de l'extrait aqueux et l'acide ascorbique.

L'activité anti-radicalaire est exprimé en IC50 ou EC 50 (Tableau), ce paramètre a été introduit par Brand-Williams et ses collaborateurs. Il définit la concentration efficace du substrat responsable de la perte de 50% de l'activité du DPPH (couleur) (**Molyneux, 2004**). La plus faible valeur de IC50 correspond au pouvoir réducteur le plus élevé.

Le standard a présenté l'activité anti-radicalaire la plus élevée avec IC50 de l'ordre de 1.05 mg/ml, par rapport à l'extrait aqueux des feuilles avec une IC50 de l'ordre de 1.10 mg/ml.

Selon **Zaabat (2015)**, l'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode de piégeage du radical libre DPPH montre que l'extrait méthanolique de la plante *Phlomis bovei* présente un pouvoir réducteur, avec un IC50 de 1.49 mg/ml. Et d'après les résultats de **Nouioua et al., (2016)**, dans une étude réalisée sur les extraits des tanins et flavonoïdes de l'espèce *Phlomis bovei*, a permis de confirmer l'activité anti-radicalaire, avec une IC50 de 1.83 mg/ml pour les tanins et 1.82 mg/ml pour les flavonoïdes. De même les résultats de l'étude de l'activité antioxydante réalisée par **Lahlah et zaarour (2015)** sur les feuilles de *Phlomis purpurea.L.*, à montrer un meilleur effet inhibiteur des radicaux libres du DPPH (93.25%) à une concentration de 500 µg/ml de l'extrait méthanolique .

Couladis et al., (2003), ont montré que l'extrait méthanolique des espèces *Phlomis fruticosa* et *Phlomis lanata* ont un pouvoir antioxydant très puissant.

Plusieurs études ont révélé que la présence des composés phénoliques dans les plantes est associée à leurs activités antioxydante, cela est probablement due à leurs propriétés réductrices qui les rendent des agents réducteurs ou les donneurs d'hydrogènes (**Chang et al., 2001 ; Ismail et al., 2010**). Les autres composés phénoliques mineurs ne devraient pas être négligés, car la synergie entre les différents produits chimiques doit être prise en considération dans l'activité biologique (**Bourgou et al., 2008**). En effet selon **Aruoma et al., (1995)** et **Bahorun (1997)**, les flavonoïdes sont reconnus pour leurs activités antioxydantes et d'après les travaux de **Okuda et al., (1983)** et de **Okamura et al., (1993)**, les tannins catéchiques présentent également des propriétés antioxydantes.

Les travaux de recherche entrepris au cours de cette étude ont porté sur l'aspect phytochimique et biologique réalisé sur les feuilles de *Phlomis bovei*, qui ont permis de mettre en lumière certains métabolites secondaires et la mise en évidence de certaines propriétés thérapeutiques.

Le screening phytochimique réalisé sur notre plante, a révélé la présence de certains métabolites secondaires : des flavonoïdes, des anthocyanes, des tanins catéchique, des mucilages, des saponines et des alcaloïdes.

L'administration des extraits aqueux des feuilles de *Phlomis bovei* à une dose de 2g/kg, n'a montré aucun signe de toxicité aiguë.

L'activité antimicrobienne des extraits aqueux des feuilles testées sur quatre microorganismes par la méthode de diffusion sur gélose, a montré une inhibition variable vis-à-vis de ces souches (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*), tandis que aucune activité antimicrobienne n'a été marquée sur la souche fongique (*Candida albicans*).

L'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei* réduit considérablement l'œdème de la patte de souris, induit par la carraghénine à 0.1%, avec un pourcentage d'inhibition totale plus élevé (76.78%) par rapport à celui de Diclofenac de sodium (77.48%).

L'évaluation de l'activité cicatrisante des 3 crèmes de concentration différentes 1% ,3% et 5% à base de feuilles de *Phlomis bovei* ont été préparé afin de déterminer la concentration minimale a effet, ces derniers ont subi une série de tests physico-chimique, microbiologique qui sont révélés concluants. Sur le plan thérapeutique, les 3 crèmes dermiques présentent une bonne activité cicatrisante, exempte de toute toxicité dermique. Elles apparaissent dans ce contexte comme une solution naturelle et efficace pour faire partie intégrante de l'arsenal thérapeutique (dermopharmacie).

L'étude de l'activité anti-radicalaire que possédé l'extrait aqueux des feuilles de *Phlomis bovei* par la méthode de piégeage du radical libre DPPH a dévoilé des propriétés très intéressantes. Ce test a révélé que l'extrait aqueux est très actif, sa avec IC50 (concentration correspondant à 50% d'inhibition) de 1.1mg/ml qui reste légèrement inférieure que celle de l'acide ascorbique avec une IC50 de 1.05 mg/ml.

Les résultats de ce travail ne constituent bien évidemment qu'une première étape de recherche des molécules biologiquement actives, ils ouvrent des perspectives intéressantes, qui peuvent être envisagées notamment concernant la caractérisation des huiles essentielles extraites des feuilles de *Phlomis bovei*, l'identification des molécules responsables des activités antimicrobienne, antiinflammatoire, antioxydante et cicatrisante qui sont révélé importantes. Il serait aussi intéressant d'évaluer d'autres types d'activité plus précisément l'activité antiulcéreuse et d'autres types d'extrait tels que les tannins les flavonoïdes pour une éventuelle application dans les domaines de cosmétique, pharmaceutique et l'industrie alimentaire

Références bibliographiques

Aligiannis N., Kalpitzis E., Kyriakopoulou I., Mitaku S., Chinout I.B., 2004. Essential oil of phlomis species growing in Greece. Chemical composition and antimicrobial activity. *Flavor and fragrance journal* 19, p :320-324.

Azine K., Bendissari K., Benmehdi M., benmaarouf D., Zenia S., 2016. Etude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait hexanique des feuilles de *Phlomis bovei* de Noé subsp. *bovei*. p :15.

Audigie C.I., Figarella J., Zonszain F., 1978. Manipulation biochimique. Edition. Doin Paris. 274p.

Baba aissa F, 1990. Les plantes médicinales d'Algérie. P:39.

Badiaga M, 2011. *Etude* ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali, thèse de doctorat, université de Bamako. P :10.

Bahorun T, 1997. Substances naturelles actives : La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. Food and agricultural Research Council, P :83-94.

Bekro Y.A., Bekro J.A.M., Boua B., TRA B.F.H., Ehilé E 2007. Etude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae). *Rev. Sci. Nat.* Vol. 4 (2) p : 217-225.

Benabdallah M, 1992. Homéopathie, une médecine pour tous. Edition Ellebore, p :201.

Benzahi, K, 2001. Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante *Cynodon dactylon*. L. chindent. mémoire de magister. Université de Ouargla. P :15-16.

Beloued A, 2005. Plantes médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires, P :20-150

Benarous K, 2009. Effets des extraits de quelques plantes médicinales locales sur les enzymes: a amylase, trypsine et lipase ; université Amar Telidji Laghouat, Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur d'état en génie biologique.

Benmoussa R et Remili F,2008. Etude phytochimique et évaluation de l'activité cicatrisante des feuilles de *Phlomis bovei*. Université Blida 1, 123p.

Bernadet M, 1983. La phyto-aromathérapie pratique.Bangles, France ,384p.

Berton H, 2001. Sorcellerie en Auvergne. Edition de borée,288p.

Boukef K., Najjar M.F., Oueslatia A., Memmi J., Bechraoui T.,1986. La lithiase infantile dans la région de Monastir étude clinique et biologique = Urinary lithiasis in children in Monastir. Clinical and biological study.Le Biologiste ISSN 0981 6003 CODEN BIOLE6 . vol. 20, n°165, pp. 253-261 (35 ref.)

Bourgou S., Ksouri R ., Bellila A., Skanndrani I., Falleh H., Marzouk B., 2008. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa*L.shoots and roots.comptes rendus biologiques,V.331,P :48-55.

Brochette P, 2006. Emulsification, technique de l'ingenieur. Traité génie des procédés.

Bruneton J, 1999. Pharmacognosie, plant médicinales. 3ème Edition. Technique et Documentation, p :1120.

Çalis I., Basaran A. A., Saracoglu I., Sticher O., Ruedi P., 1991. Phlinosides D and E, phenylpropanoid glycosides and iridoids from *Phlomis linearis*. *Phytochemistry*, 30,p: 3073-3075.

Çalis I., Kirmizibekmez H., 2004. Glycosides from *Phlomis lunariifolia*. *Phytochemistry*, 65,p : 2619–2625.

Calis I., Kirmizibekmez H., Bentler J.A., Donmez A.A., Yalcin F.N., Kilic E.,2005. Secondary metabolites of *phlomis viscosa* and their biological activities.Turkich journal of chemistry,29,p :71-81.

Candaele B, 2008. Le séchage, la journée annuelle technico-économique des plantes à parfum, aromatiques et médicinales bio,Puy de Dome.

Carillon E , 2000. La phytothérapie face à l'évolution médicinale. Edition :Phyto. p :10- 15.

Cavin A.L, 2007.Contribution ç la connaissance taxonomique et chimique de fruit Africains du genre *Detarium* (Fabaceae).Et des formes comestibles et toxiques de *D.senegalense J.F.Gmel*.Thèse de doctorat.Genévre,277p.

Chang S.T., Wu J.H., Wang S.Y., Kang P.L., Yang N.S., Shyur L.F., 2001.Antioxydants activity of extracts from *Acacia confuse* bark and heartwood.Journal of Agricultural and food chemistry,V.49, n°7,P:3420-3424.

Chaouch N, 2001. Etude des alcaloïdes dans le coloquinte *Colocynthis vulgaris* L Schard (cucurbitacées) Région de Oued N'sa,wilaya de Ouergla .mémoire de Magistér ,Université de Ouergla p :44.

Chifundera K., Bury W.M ., Kizungub 1990. Screening phytochimique et test antibactérien des extraits de *Ficus sycomorus*. Short communication phytotherapy , p : 535 -539.Levy L., 1969.Carrageenan paws edema in the mouse . Life Science 8, p : 6016606.

Clarac F, 2008. Encyclopédie historique des neurosciences : du neurone à l'émergence de la pensée, Edition de Boeck Supérieur, 1009 p.

Couladis M., Tzakou O., Verykokidou E Harvala C., 2003. Screening of some Greek aromatic plants for antioxidant activity. Phytotherapy Research.p: 17, 194–195.

Dally I.i.,coulibaly s., angnimel I.h., bamba m., 2007. formulation, contrôle galénique, toxicologique et essai biogalénique d'une crème à activité cicatrisante à base de feuilles fraîches de *baphia nitida* (papilionacées). *j. sci. pharm. biol.*, vol.8, n°1 - 2007, pp. 33-40

Djerroumi A et Nacef M, 2004 .100 plantes médicinales d'Algérie. Edition Houma.

Delille, 2007. Les plantes médicinales en Algerie.Edition : Berti-Alger p240.

Demirci B., Baser K.H.C., Dadoudi M.Y.,2006. Composition of the essential oil of *Phlomis rigida* Labill and *Phlomis samia* L.Journal of chemistry,2,p:71-81.

Dif S, 2011. Caractérisation biochimique de *Salvia officinalis* L., et *Salvia achaudaei* Batt et étude de leurs activités biologiques. Thèse de Magister. Université de Blida .p :105.

Digrak M.,Mehemet A., Ilcim A., Selim S.,1999.Antibacterial and antigongical effects of various commercial plants extract.Pharmaceuticall biologie 1999, Vol 37;No3,p:216-220.

Dobignard A et Chatelain C, 2013 . Index synonymique et bibliographique de la flore d'Afrique du nord de crurille chatellain (conservatoire et jardins botanique ville de Genève).

Doho N., Yamni K., Tahrouch S., Idrissi Hassani L.M., Badoc A., Gmira N 2003. Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *Thymleae lythroides*. Bull. soc. pharm. Bordeaux, n°142.P :61-78.

Duraffourd C .,D'Hervicourt L ., Lapraz J. C., 1990 .Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.

El-Naggar L., Beal J., 1980. Iridoids a review. *Journal of Natural Products*. 43, p:649-707.

El-negoumy S. I., Abdalla M. F., Saleh N. A. M., 1986. Flavonoids of *Phlomis aurea* and *P. floccosa*. *Phytochemistry*, 25(3),p : 172-774.

Elqaj M .,Ahami A .,Belghyti D., 2007. La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques" Maroc.

Farideh M., Delnavazi M., Nagues Y., 2015.Chemical Analysis and Toxicity Screening of *Phlomis olivieri Benth.* and *Phlomis persica Boiss* Essential Oils.

Fernandez-Lopez J., Zhi N., Aleson-Carbonell L., Perez-Alvarez J., Kuri V.,2005. Antioxydant and antibacterial activities of natural extract: application in beef meatballs.*Meat science*,69,P :371-380.

Ferradji A,2011. Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcoolique et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*, Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de Magister en biochimie Sétif.

Fonteneau, JM ., Klusiewicz P 2008. Travaux pratiques de préparation et de conditionnement des médicaments. Groupe liaison Bruxelles p :29-66.

Fouché GH., Marquet A ., Hanbuckers A., 2000. Les plantes médicinales : de la plante au médicament. Exposition temporaire de 19.09 au 30.09.2000.

Frély R, 2006. Votre beauté par les plantes. Edition de Borée,255p.

Fuinel G 2002. Arbre et plantes médicinales du jardin. Edition Fernand lanore. p :162.

Gherib A, 1988. Travaux pratiques de chimie thérapeutique diagnose des médicaments. Office des publications universitaire,p :105.

Gonzalez J.M., Orecchioni A.M.,1995. Le préparateur en pharmacie .Edition Tec et Doc Lavoisier,186p.

Gürbüz I., Ustun O., Yesilada E., Sezik E., Kutsal O., 2003. Antiulcerogenic activity of some plants used as remedy in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 88, p:93–97.

Hans, 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Edition : Terre p 6-7.

Hartmann T, 2007. From waste products to ecochemicals: fifty years research of plant secondary metabolism. *Phytochemistry*. P : 2831-2846.

Havsteen BH, 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut*. P : 67– 202.

Heignen C.G.M., Haenon G.R.M.M. , Vekemans J.A.J.M., Bast A.,200. Peroxynitrite scavenging of flavonoids : structure activity relationship. *Environ Toxicol.Pharmacol*10, p :199-206.

Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J., 2002. Flavonoid antioxydants: chemistry, metabolism and structure activity relationship.*Journal.Nutr.biochem*.13,P:572-584.

Hmamouchi M, 1999. Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Editions Fedala, Mohammedia .

Ilef Limem b., Ben sgaier A., Bhourri w., Boubaker J., Skandrani I., bouhlel I.,Kilani S.,Benammar R., Chraief I.,Hammami M., Ghoul M.,Chekir L., Ghedira K .,2008. Antimicrobial Activity of Essential Oils Isolated from *Phlomis crinita* Cav. ssp. *mauritanica* Munb.*Journal of the American Oil Chemists' Society* Volume 85, Issue 9, P: 845–849.

Iserin P, 2001. Encyclopédie des Plantes Médicinales (2^{ème} Edition).

Ismailoglu U. B., Saracoglu I., Harput U. S., Sahin-Erdemli I., 2002. Effects of phenylpropanoid and iridoid glycosides on free radical-induced impairment of endothelium-dependent relaxation in rat aortic ring. *Journal of Ethnopharmacology*, p :79, 193.

Ismail H.I., Chan K.W., Mariod A.A., Ismail M., 2010. Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (*Cucumis meli*) methanolic extracts. *Food chemistry*, V, 119. P: 643-647.

Kabouche A., Kabouche Z., Seguin E., Tillequin F., Bruneau C., 2004. Comparative phytochemical study of the butanolic extracts of two Algerian *Phlomis* species. *Chemistry of Natural Compounds*, 40, p: 188-189.

Kabouche A., Kabouche Z., Seguin E., Tillequin F., Bruneau C., 2005. A phenyl glycoside and flavonoids from *Phlomis crinita* (Lamiaceae). *Biochemical systematics and ecology* 33(8) p : 813-816.

Kamel M. S., Mohamed K. M., Hassanean H. A., Ohtani K., Kasai R., Yamasaki K., 2000. Iridoid and megastigmane glycosides from *Phlomis aurea*. *Phytochemistry*, 55, p : 353-357.

Katayoun M., Mohammed A., Afsaneh G ., 2004. The essential oil composition of *Phlomis herba-venti*. Leaves and flowers of Iranian origin p: 19-29-31.

Katagiri M., Ohtani K., Kasai R., Yamasaki K., Yang C.-R., Tanaka, O., 1994. Diterpenoid glycosyl esters from *Phlomis young-husbandii* and *P. medicinalis* roots. *Phytochemistry*, 35, p: 439-442.

Kerharo J et Adam J.G , 1974. La pharmacopée sénégalaise traditionnelle. Plantes médicinales et toxiques. Vigot frères, Paris, 1007p.

Khitri W., Zenaki J., Abi A., Lachgueur N., Lardjem A., 2014. Evaluation of wound healing activity of *Phlomis bovei* de Noé in wistern Albinos rats. *Word Academy of science, Engeneering and technology. International journal of pharmacological and pharmaceutical sciences* Vol 1, No11.

Klervi L.L., 2005. Connaissance chimiotaxonomique du genre *Turbinaria* et étude des composés de défense de différents espèces de Sargassacées des Iles Salmon (Pacific sud). 210p.

Krief S, 2003. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat muséum national d'histoire naturelle. 32p.

Ksouri R ., Megdiche A ., Debez H., Falleh C., Grignon C .,Abdely W ., 2007. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. Plant Physiol. Biochem. P : 244-249.

Kyriakopolo I., Magiatis P., Skaltounis A., Aligiannis N., Harvala C.,2001. Samiosid, a new phenylethanoid glycoside with free radical scavenging , and antimicrobial activities from *Phlomis samia* .Journal of natural products 64,p :1095-1097.

Lacoste S, 2012. Ma bible des trucs de santé : La bible des tous les trucs qui marchent pour se soigner. Edition Leduc s p:17.

Ladaniya M,2008. Citrus fruit :biology, technology and evaluation.Edition 1 :Academic press,Elsevier,p :157-165.

Lahlah F.Z, 2008. Extraction des flavonoïdes par le butanol,chloroforme à partir de *Silybum marianum*,et étude de leurs activités antibactérienne.Thèse de magistère de l'université de Constantina.

La pharmacopée Européenne 2014. 4^{ème} Edition conseil de France, Paris :941-94.

La pharmacopée Européenne 2014. 8^{ème} Edition conseil de France, Paris. p :180.

Le Hir A et Cohen, Y, 2001. Pharmacie galénique, bonne pratique de fabrication des médicaments. Elsevier Masson ,Paris p :86-110.

Levy L, 1969. carrageenan paws oedema in the mouse life science8..p: 601-606.

Li M., Shang F., Jia Z., Zhang R., 2010. Phytochemistry and biological studies of plants from the genus *Phlomis*,chemistry and biodiversity p:283-301.

Lilios C., Laouer H., Boulaacheb N., Gortzi O., Chinou L., 2007 .Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of algeria *Phlomis bovei* de Noé subsp.bovei,molecules 12,p :772-781.

Makhloufi A, 2009 .Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Béchar (*Matricaria pubescens* et *Rosmarinus officinalis* L) et leurs impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Doctorat d'été en biologie p :01-42 .

Mangena T., Muyima N. Y. O., 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. *Letters in Applied Microbiology*, 28, p :291–296.

Mansouri N., Satrain B., Ghanmi M., Ghadraoui L., Lafi A., Farah A 2010. Valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et de *Juniperus oxycedrus* du maroc, phytothérapie 8(3). P :166-170.

Masuda T., Yonemoris S., Oyama Y., Takeda Y., Tanaka T., Andoh T., 1999. Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants : activity of the leaf extracts from seashore plants. *Journal of agricultural and food chemistry* 47(L). P :1749-1754.

Mazari k., Bendierad N., Benkhechi Ch., Fernandez X., 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plants Research*. 4(10) p : 959-964.

Meyer P 1977. *Physiologie humaine*. Edition Flammarion Médecines Sciences, Paris, p:1319.

McIntyre A, 2001. *Le guide complet de la phytothérapie* p10.

Mebarki N, 2010. Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne, magister en génie des procédés chimique et pharmaceutiques, université M'Hamed Bougara Boumerdes. P : 11.

Middleton E., Kandaswami C., Theoharides TC., 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. P: 673-670.

Mohajer M., Sarkhail P., Hajarolasvadi N., Zamani M. J., Khorasani R., Shafiee A., Amin G., Abdollahi M., 2006. Antiinflammatory and analgesic effects of *Phlomis lanceolata* Boiss and Hohen, Extracts and examination of their components. *International Journal of Pharmacology*, 2, p:50–54.

Molyneux H, 2004. The use of the stable free radical DPPH of estimating antioxidant activity. *Journal of science technology*, Vol.26, n°2, p:211-219.

Mojab F., Bahman N., Katayoun J., Mohamed A., 2003. Chemical Composition of the Fixed and Volatile Oils of *Nigella sativa* L. from Iran. Vol 58. Issue 9-10. p:285-296.

Moussaid M., Elmrani A., Bourhim N., Benaissa M., 2012. *Andrycymbium graminium* (cav) J.F. macbr (colchiaceae). Phytochemical composition, pharmacological and

toxicological studies in mice. Bulletin de la société royale des sciences de Liège vol 81, p :90-100.

Nace International ,2007. Glossary of corrosion related terms (www.nace.org).

N'guessan K., Kouassi K., Zirihi G., 2006. Etudes botaniques et tri phytochimique de *Petersianthus macrocarpus* (Barringtoniaceae). Une plante utilisée en médecine traditionnelle, dans la lutte contre le cholera, Pharm.MM Trad.Afr, V.XIV ?P :97-116.

Nogaret E, 2006. La phytothérapie : se soigner par les plantes. Groupe Eyrolles, Paris p :191.

Nouioua W, 2016. Biodiversité et ressources phytogénétiques d'un écosystème forestier) (*paeoniaa mascula* L mill).

NT et WS Beniston, 1984 . Fleurs d'Algérie. Edition Entreprise National du Livre d'Alger p :274.

OCDE , 1960 . Convention relative à l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques.

Okamura H., Mimura A., Yakou Y., Niwano M; Takahara Y., 1993 antioxydant activity of tannins and flavonoids in *Eucalyptus rostrata*. Phytochem.V.33,p :557-561.

Okuda T., Kimura Y., Yoshida T., Hatano T., Okuda H., Arichi S., 1983. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. I. Inhibitory effects of lipid peroxidation in mitochondria and micosome of liver. Chem. Pharm. Bull, V.31, p :1625-1631.

Omulokoli E., Khan B., Chahabra S., 1997. Antiplasmodical activity of for kenyan medecinal plants. Journal of ethnopharmacology.v56.p :133-137.

Oprelitel R. S. A., 1987. (Key for determining plants of Middle Asia),” ed. by Adylov J. A., IX, Fan, Tashkent,p:110.

Parisa S., Gholamerza A., Abbas S., 2004. Composition of the essential oil of *Phlomis persica* Boiss and *Phlomis chorassanica* Bunge from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 19,p:538–540.

Paduch R., Kandefer-Szerszen M., Trytek M., Fiedurek J., 2007. Terpenes: substances useful in human healthcare. Arch Immunol Ther Exp. P:315–327.

Pandey M.R, 2006. Use of medicinal plants in traditional Tibetan therapy system in Upper Mustang Nepal. *Our Nature* 4,p: 69–82.

Paris R et Moyses H, 1969. Précis de matière médicale. Paris : Masson.

Paris R et Moyses H, 1976. Précis de matière médicale. Tome I : Pharmacognosie générale, pharmacognosie spéciale. Edition. Masson,P :447.

Pelt JM, 2001 .Les nouveaux remèdes naturels, quand la nature guérit.Edition Fayard p 158.

Pratt D.E et Hudson B.J.F ,1990.Natural antioxidants not exploited commercially in food antioxidants.Edition Elsevier Applied science,London ,p :171-192.

Prior RL ., Wu Y ., Schaich K., 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements.*Journal of agricultural and food chemistry.*P:4290-4302.

Pourrat A, 1993. Etude de la cicatrisation des plaies chez le lapin et le rat.*J. Pharm Belg.*

Quezel F., Santana S., Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions Désertiques Méridionales, 1.2 , 801-802 Ed CNRS, Paris France 1962-1963.

Quezel F., Santana S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie, C.N.R.S., Paris.

Uri N,1961. Mécanisme de l'antioxydation. Edition science publishers, New York,p :133-169.

Rakotonanahary M, 2012. Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier. P :16- 19-27-28.

Raynaud J, 2005. Prescription et conseil en phytothérapie . Edition Lavoisier,215p.

Risk A., Hammouda F., Ismail S., 1974). Phytochimical investigation of *Thymelaea hirsuta*.II.Lipid fraction .*Plant med*,V 26,n°4,P:346-358.

Risti M. D., Duletic-Lausevic S., Knezevic-Vukcevic J., Marin P. D., Simic D., Vukojevic J., Janackovic P., Vajs V., 2000. Antimicrobial activity of essential oil and ethanol extract of *Phlomis fruticosa* L. (*Lamiaceae*). *Phytotherapie Research*, 14, p :267–271.

Ristic M.D., Duletic-Lausevic S., Knezevic-vukoevic J., Marin D.P., Simic D.,2000 . Antimicrobial activity of essential oil and ethanol extract of *phlomis fruticose* L. *Phytotherapie research* 14,p267-271.

Riviera L., Bellotti MG., Dubini F.,1993. *Listeria monocytogenes* infections: the organism, its pathogenicity and antimicrobial drugs susceptibility. The new Microbiologica [01 Apr 1993, 16(2):189-203]

Rooux D et Catier O, 2007. *Pharmacognosie*.3^{ème} Édition. Wolters kluwer France. P :141.

Saracoglu I., Inoue M., Calis I., Ogihara Y., 1995. Studies on constituents with cytotoxic and cytostatic activity of two Turkish medicinal plants *Phlomis armeniaca* and *Scutellaria salviifolia*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 18(10), p:1396-400.

Saracoglu I., Kojima K. , Harputu S. , Ogihara Y., 1998. A new phenylethanoid glycoside from *Phlomis pungens* Willd. var. *pungens*. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 46(4), p: 726-727.

Sarkhail P., Amin G., Surmaghi M. H. S., Shafiee A., 2005. Composition of the volatile oils of *Phlomis lanceolate* Boiss. & Hohen., *Phlomis anisodonta* Boiss and *Phlomis bruguieri* Desf from Iran. *Flavour Fragrance J*, 20, p :327–329.

Shauenberg et Ferdinand, 2005 . *Guide des plantes medicinales (Analyse ,description et utilisation de 400 plantes)*.Edition :nature paris p 121-137.

Shetty B.S., Udupa S.L., Upuda A.L.,2008. Biochemical analysis of granulation tissus in steroid and *Centella asiatica* (Lin) treated rats. *Pharmacology online* 2,p:624-632.

Shahidi F et Nacz M,2014 . Extraction and analysis of phenolics in food .*Journal of chromatography A* 1054, Edition Elsevier,p :95-111.

Shan B., Cali Y.Z., Brooks J.D., Corke H., 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extract. *International J.Food Microbiology*,117, p:112-119.

Siddhuraju P et Becker K, 2007. The antioxydant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata*) (L) . Seed extract. Food chemistry 101(1).p:10-19.

Sokovic M. D., Marin P. D., Simic A., Knezevic-Vukcevic J., Vajs V., Petrovic S., 2002. Antimutagenic activity of essential oil and crude extract of *Phlomis fruticosa* L (*Lamiaceae*). *Pharmaceuyical Biology*, 40, p :311-314.

Strang, C, 2006. Larousse Médical. Edition larousse . P :12-19.

Takeda y ;Isai N.,Masuda T., Honda G.,Takaishi Y., Ito M.,Otsuka H., Ashurmetovo A., Khodzhimatovo K., 2001.Phlomis flavonoids A and B,new flavonol ,glycosids from *Phlomis spinidens*.Chemistry and pharmaceutical bulletin 49(8) p :1039-1041.

Tanaka T., Tanaka O., Lin Z.-W., Zhou J., Ageta H., 1983. Sweet and bitter glycosides of the Chinese plant drug, Bai-Yun-Shen (roots of *Salvia digitaloides*). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 31, p:780-783.

Tchoumak E,2012. Le bien être des cordes par les remèdes naturels. Édition Mon petit éditeur. P :70.

Tistsimi E., Loukis A., Verykokidou E.,2000. Composition of the essential oil of the flowers of *Phlomis fruticose* from Greece. Journal of essential oil research 12, p:355-356.

Tomas-Barberan F. A., 1986. The flavonoid compounds from the *Labiatae*. *Fitoterapia*, 57, p : 67-95.

Trease GE et Evans W.C,1989.A textbook of pharmacognosy (13 th edition) Bacilluere Tinal Ltd London.

Twindwell E.,Wagner J.,Thies Nancy J., 2002.Use a microwave oven to determine moisture contenent of forages.p :8077.

Wagner et Bladt,1996. Plant dry analysis. a thin layer chromatography Atlas springer .Edition Munich 384p.

Wehler P, 2007. Pharmacie galénique : formulation et technologie pharmaceutique. Edition Maloine pais.P :107-129-190-207.

Winckle R, 2006. Astro plantes : se soigner par les plantes selon son signe astral. Editiol maloine, paris, p : 1007-129, 190-207 .

Zaabat N, 2010. Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de deux espèces de la famille de lamiacées *Marrubium deserti* de Noé et *Phlomis bovei* de Noé .

Zaarour N et Lahlah E ,2015.Etude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante de l'espèce *Phlomis purpuria* L.

Zhang CZ., Li C., Feng S.I ., Shi J G., 1991. Iridoid glucoside from *Phlomis rotata*. *Phytochemistry* 30, p:4156–4158.

Annexe I

Appareils	Verrerie et accessoires	Réactifs / Produits
<ul style="list-style-type: none"> -Agitateur -Autoclave -Balance analytique -Balance pour les animaux -Bain marie -Bec-benzène -Centrifugeuse -Etuve -Hotte -Hotte à flux laminaire -Incubateur à 25°C -Incubateur à 35°C -Incubateur à 37°C -Haute pour solvant -PH mètre -Plaque chauffante -Pénétromètre -Réfrigérateur -Rota vapeur -Plaque chauffante -Spectrophotomètre -Viscosimètre 	<ul style="list-style-type: none"> -Burettes à décanté -Béchers (petits et grands) -Boîtes de pétrie -Ciseaux -Coton -Disques absorbant -Entonnoirs -Eprouvette de 100ml -Erlen Mayer -Fioles en verre -Flacons en verre -Gants à usage unique -La gaze pour filtrer -Papier aluminium -Pince stérile -Pipettes graduées -Seringue de 2.5et 1ml -Sonde gastrique pour gavage -Spatule -Support pour ampoule -Tubes à essais 	<ul style="list-style-type: none"> -Ammoniaque -Acide chlorhydrique -Acide sulfurique (H2SO4) -Acétate de plomb -Acétate d'éthyle-HCL -Alcool éthylique -Alcool isoamylique -Soja Agar (SA) -Chlorure ferrique (FeCL3) -Copeaux de magnésium -Clofenal -DPPH -Eau de javel -Eau distillée -Eau physiologique -Ethanol -Ether -Hydroxyde de potassium (KOH) -Propanol -Suspension de carragénine 1% -Méthanol -Cire blanche -Madecassol -Huile de vaseline -Sabouraud SAB,Muller-Hinton MH -Milieu gélosé cétrimide CAB -Milieu gélosé Chapman -XLD(Xylose-Lysine-Désoxycholate)

Tableau XVI : Matériels non biologiques utilisé durant la phase expérimentale

Annexe II

- **Préparation des infusions administrées aux souris pour le test limite de toxicité**

Nous devons tout d'abord calculer les doses correspondantes au poids moyen des souris :

2g \longrightarrow 1 kg

2g \longrightarrow 100 g

X \longrightarrow 20 g

X = 0.04 G / Souris

2 g : La dose de la plante pour 1 kg du poids corporel.

20 g : Poids moyen des souris.

0.04 g : C'est la quantité de poudre végétale pour une souris de 20 g retrouvée dans 0.5 ml de la solution.

0.5 ml : Volume de liquide que peut recevoir une souris.

Ensuite, Sachant qu'une souris pesant 20g ne peut recevoir que 0.5ml d'une solution, on procède au calcul suivant :

0.04 g \longrightarrow 0.5 ml

Y \longrightarrow 20 ml

Y = 1.6 g/ ml d'eau distillée.

20 ml : Volume d'eau distillée de la solution à préparer suffisantes pour tous les lots de souris.

1.6 g : La quantité de la poudre végétale pour un volume de 20 ml.

Pour préparer la solution (infusion), nous avons ajouté à 1.6 g de poudre végétale 20 ml d'eau distillée bouillante et nous avons laissé sous une agitation douce pendant 15 mn, à la fin nous filtrons et nous ajustons le volume à 20 ml.

Annexe III

Pattes	Témoïn		Infusé à 10%		Infusé à 20%		Infusé à 30%		Médicament	
	P.G	P.D	P.G	P.D	P.G	P.D	P.G	P.D	P.G	P.D
Xi	0.21	0.14	0.17	0.13	0.17	0.15	0.20	0.20	0.20	0.18
	0.24	0.17	0.18	0.14	0.18	0.17	0.19	0.17	0.19	0.17
	0.29	0.19	0.17	0.15	0.19	0.14	0.21	0.17	0.20	0.18
M	0.24	0.16	0.17	0.14	0.18	0.15	0.20	0.18	0.19	0.17
% augmentation	50%		21%		20%		11.11%		11.76%	
% de réduction	00%		58%		60%		77.78%		76.48%	

Tableau XVII : le calcul du pourcentage d'augmentation du l'œdème et sa réduction après 4 heures

✓ La moyenne arithmétique

$$M = \sum Xi / N$$

M : moyenne de la différence des poids des pattes pour chaque souris.

N : effectif du lot.

Xi : la variable individuelle.



La prise du poids des souris



Préparation des dilutions



Gavage des souris



Injection de la Carraghénine à 1%



Coupure des pattes postérieures



Pesée des pattes

Figure 24 : Les étapes de provocation d'œdème.