

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GÉNIE DES PROCÉDÉS

Spécialité : Pharmacie Industrielle

Intitulé du mémoire

Élaboration d'une forme semi-solide antifongique hybride à partir des huiles essentielles et des extraits de deux Lamiaceae (Origanum Floribundum et Thymus Fontanesii)

Présenté par : ABABSA Mohamed Anis

Encadré par : Boutoumi Hocine

Année universitaire 2022/2023

Résumé

Le travail consiste à l'élaboration d'une formulation hybride antifongique semi-solide (crème) constitué d'une part d'un Principe actif de synthèse (TBH) possédant une activité pharmacologique avérée contre les candidoses comme antifongique, et d'autre part des principes actifs d'origine naturels appartenant aux classes des huiles essentielles et des polyphénols.

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, nous avons mené une étude sur deux Lamiaceae très utilisées par la population locale pour leurs propriétés thérapeutiques, à savoir l'Origan Floribundum et Thymus Fontanesii.

L'objectif de ce travail de recherche était d'étudier la composition chimique et l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits de ces deux Lamiaceae.

Pour l'extraction des huiles essentielles on a utilisé la méthode d'hydrodistillation. Pendant une durée de 60 minutes, et pour l'extraction des extraits on a utilisé deux méthodes différentes, Soxhlet et la méthode d'extraction par ultrasons.

Le pouvoir antioxydant a été évalué par le test de DPPH, et en fait la comparaison avec le BHT, Les deux plantes ont des pouvoirs antioxydants, mais la plante qui montre le meilleur pouvoir est le l'extrait de Thymus. F a concentration inférieure 50 ($\mu\text{g/ml}$).

L'activité antimicrobienne a été déterminée qualitativement sur trois souches bactériennes et candidas albicans, le composé qui donne meilleur résultat est bien que le HET sur les c.albicans par formulation d'une zone de 15.04 mm

Pour la formulation des crèmes placebo on a utilisé le plan d'expérience généré par le logiciel Design Expert 13 et à partir de ce plan on fait un autre plan d'expérience pour les formulations qui contiennent le TBH.

Après les études de stabilité (thermocycle), pH, l'examen microscopique et caractérisation rhéologique. On a choisi la formulation E06 comme formulation optimale.

Après la détermination de la formulation optimale, on a injecté le principe actif naturel dans cette formulation, pour alterner le principe actif de synthèse TBH.

Mots clés : Origan Floribundum, Thymus Fontanesii, Huile Essentielle, Extraits phénoliques, Activité antioxydante, Activité antimicrobienne, Antifongique, crème, Terbinafine Chlorhydrate (TBH).

Abstract

The work consists in the development of a semi-solid hybrid antifungal formulation (cream) made up, on the one hand, of a synthetic active ingredient (TBH) with proven pharmacological activity against candidiasis as an antifungal agent, and natural active ingredients belonging to the essential oils and polyphenols classes. As part of our efforts to enhance the value of Algerian flora, we conducted a study of two Lamiaceae widely used by the local population for their therapeutic properties, namely *Origanum floribundum* and *Thymus fontanesii*.

The aim of this research work was to study the chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oils and extracts of these two Lamiaceae.

The essential oils were extracted using the hydrodistillation method over a 60-minute period. The extracts were extracted using two different methods: Soxhlet and ultrasonic extraction.

Antioxidant power was assessed by the DPPH test, and compared with BHT. Both plants have antioxidant powers, but the plant with the best power is *Thymus* extract. At a concentration inferior to 50 ($\mu\text{g/ml}$).

Antimicrobial activity was determined qualitatively on three bacterial strains and *Candida albicans*, the compound that denoted the best results compared to HET on *C. albicans* by formulation of a zone 15.04 mm for the placebo creams, we used the experimental design generated by the Design Expert 13 software, and from this design we created another experimental design for the TBH-containing formulations. After stability studies (thermocycle), pH, microscopic examination and rheological characterization. Formulation E06 was chosen as the optimum formulation.

Once the optimum formulation had been determined, the natural active ingredient was injected into this formulation, alternating with the synthetic active ingredient TBH.

Key words: *Origanum floribundum*, *Thymus fontanesii*, Essential oil, Phenolic extracts, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Antifungal, cream, Terbinafine Hydrochloride (TBH).

ملخص:

يتكون العمل من تطوير تركيبة هجينة شبه صلبة كريمة تتكون من ناحية من مكون نشط اصطناعي TBH يمتلك نشاطا دوائيا مثبتا ضد داء المبيضات كمضاد للفطريات , و من ناحية اخرى مكونات نشطة ذات اصل طبيعي تنتمي الي فئات الزيوت الاساسية و البوليفينول.

كجزء من تعزيز النباتات الجزائرية، أجرينا دراسة على اثنين من Lamiaceae يستخدمهما السكان المحليون على نطاق واسع لخصائصهم العلاجية، وهما Floribundum Oregano و Fontanesii Thymus. كان الهدف من هذا البحث هو دراسة التركيب الكيميائي والنشاط المضاد للأكسدة ومضادات الميكروبات للزيوت الأساسية ومستخلصات هذين النباتين.

تم استخدام طريقة التقطير المائي لاستخراج الزيوت الأساسية. لمدة 60 دقيقة، ولإستخراج المستخلصات تم استخدام طريقتين مختلفتين، (soxhlet) وطريقة الاستخراج بالموجات فوق الصوتية (ultrasons).

تم تقييم فاعلية مضادات الأكسدة من خلال اختبار DPPH، و قمنا بالمقارنة مع BHT، تتمتع كلا النباتين بقدرات مضادة للأكسدة، لكن النبتة تضره أفضل فاعلية هو مستخلص Thymus. F بتركيز أقل من 50 µg/ml).

تم تحديد النشاط المضاد للميكروبات نوعيًا على ثلاث سلالات بكتيرية والمبيضات البيضاء، HET هو المركب الذي يعطي نتائج أفضل عن طريق تكوين مساحة تثبيط 15.04 ملم

لصياغة كريمات الدواء الوهمي، استخدمنا خطة التجربة التي أنشأها برنامج Design Expert 13 ومن هذه الخطة نضع خطة تجربة أخرى للتركيبات التي تحتوي على TBH..

بعد دراسات الثبات (الدرجة الحرارية)، pH، الفحص المجهرى والتوصيف العكسي. كانت الصيغة المثلى هي E06.

بعد تحديد التركيبة المثلى، تم حقن المكون النشط الطبيعي في هذه التركيبة مكان المكون النشط الاصطناعي TBH.

الكلمات المفتاحية : Thymus Fontanesii ،Origan Floribundum ، الزيت الأساسي، المستخلصات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات، مضادات الفطريات، الكريمة، هيدروكلوريد التربينافين (TBH).

Remerciement

J'exprime tout d'abord, mes profonds remerciements et louanges à "Allah" (ﷻ) tout puissant, qui m'a guidé sur le droit chemin et m'a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.

Je tiens à remercier en premier lieu mon promoteur Mr BOUTOUMI Hocine, Professeur à

l'Université de Blida 1, faculté de Technologie et directeur du laboratoire de Génie chimique

Je le remercie pour la qualité remarquable de son encadrement tout au long de mon travail. Ses compétences, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa gentillesse à mon égard ont contribué au bon déroulement de ce travail.

De même, je tiens à remercier l'ensemble de l'équipe du Laboratoire de génie chimique de

l'Université de Saad Dahleb Blida 1 qui m'a bien accueilli. Ça a été un vrai honneur de travailler au sein de cette équipe dans un environnement dynamique et sérieux.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à l'équipe des laboratoires de contrôle qualité du groupe Saidal à Médéa et à Dar El Beïda. Leur gentillesse et leur accueil chaleureux ont été grandement appréciés. J'ai été impressionné par leur professionnalisme et leur dévouement envers leur travail.

Enfin, j'aimerais remercier l'ensemble des enseignants du Département de Génie des Procédés, en particulier ceux qui ont contribué à ce travail. À toutes les personnes qui m'ont aidé de près ou de loin, par un geste, une parole ou un conseil, je leur dis merci infiniment.

Dédicace

Je dédie ce travail, A ma mère , exemple d'une femme battante et source d'affection de courage et d'inspiration qui a autant sacrifié pour me voir atteindre ce jour.

*À mon père, source de respect, en témoignage de ma profonde
Reconnaissance pour tout l'effort et le soutien incessant qui m'a toujours apporté.*

À mes frères Tahar, Youcef, Farès, Yacine

À tous les membres de ma famille grand et petit

Ce travail est dédié aussi à toutes mes enseignantes et à tous mes enseignants d'hier et d'aujourd'hui, de l'école primaire à l'université.

Table des matières

Liste d'abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale

Chapitre 1 : Les huiles essentielles et les composés phénoliques

I.A. Les huiles essentielles.....	03
I.A.1. Définitions et Généralités.....	03
I.A.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	04
I.A.3. Les facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles.....	05
I.A.4. Procédés d'extraction des huiles essentielles et des molécules aromatiques.....	05
I.A.4.1. Choix de la méthode d'extraction.....	05
I.A.4.1.1. Méthodes conventionnelles d'extraction	06
I.A.4.1.2. Extraction par des techniques innovantes	07
I.A.5. Critères de qualité d'une huile essentielle.....	09
I.A.6. Méthodes d'identification des huiles essentielles	10
I.A.6.1. La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	10
I.A.6.2. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM).....	10
I.A.7. Propriétés biologiques des huiles essentielles.....	10
I.A.7.1. Propriétés antioxydantes.....	10
I.A.7.2. Propriétés antibactériennes et antifongiques.....	11
I.A.8. Toxicité des huiles essentielles.....	11
I.A.9. Les utilisations des huiles essentielles.....	12
I.B. Composés phénoliques.....	12
I.B.1. Structures chimiques et classification.....	13
I.B.1.1. Phénols simples	13
I.B.1.2. Les acides phénoliques.....	13
I.B.1.3. Les tanins.....	14
I.B.1.4. Les flavonoïdes	15
I.B.2. Activités biologiques des composés phénoliques.....	16
Chapitre 2 : Monographie des espèces étudiées	
II. Famille des Lamiaceae.....	18
II.1. Description et classification.....	18

II.2. Répartition géographique.....	19
II.2.1. Dans le monde.....	19
II.2.2. En Algérie.....	20
II.3. Huile essentielle d'origan.....	20
II.4. Principales utilisations d'origan	21
II.5. Thymus.....	21
II.5.1. Description et classification	21
II.5.2. Distribution géographique.....	23
II.5.2.1. Dans le monde.....	23
II.5.2.2 En Algérie.....	23
II.5.3. Huile essentielle	24
II.5.4. Utilisation traditionnelle de Thym	25
Chapitre 3 : les mycoses	
III.1. Généralités.....	26
III.1.1. Généralité sur la peau humaine.....	26
III.1.2. Généralités sur la systématique des champignons.....	26
III.2. Définition des mycoses humaines.....	27
III.2.1. Les principales mycoses humaines.....	27
III.2.1.1. Les dermatophytoses.....	27
III.2.1.2. Les candidoses.....	28
III.3. Traitement.....	29
III.3.1. Définition des antifongiques.....	29
III.3.1.1. Classe des antifongiques.....	30
III.3.1.2. Prévention	31
Chapitre 4 : Formulation semi-solide	
IV.1. La Formulation.....	32
IV.1.1. Définition de plan d'expérience.....	32
IV.1.2. Types de plans d'expériences.....	32
IV.2. Les émulsions.....	33
IV.2.1. Définitions.....	33
IV.2.2. Classification des émulsions.....	33
IV.2.3 Phénomène de la formation déstabilisation et stabilisation des émulsions.....	34
IV.2.3.1. Formation d'une émulsion (Émulsification).....	34
IV.2.3.2. Les mécanismes de déstabilisation des émulsions.....	35
IV.2.3.3. Les mécanismes de stabilisation des émulsions.....	38
IV.3. Les tensio-actifs.....	38

IV.3.1. Définition.....	38
IV.3.2. Mode d'action des tensio-actifs.....	39
IV.3.3. Classification des tensioactifs	40
IV.4. Rhéologie	41
IV.5. Contrôle des émulsions.....	42
IV.5.1. Contrôle macroscopique.....	43
IV.5.2. Détermination du sens de l'émulsion.....	43
IV.5.3. Contrôle de stabilité.....	44
IV.5.4. Contrôle microbiologique.....	44
IV.5.5. Détermination du pH.....	44

Chapitre 5 : Matérielles et méthodes

V.1. Lieu du stage	45
V.2. Matériel utilisé.....	45
V.3. Extraction des huiles essentielles.....	49
V.3.1. Principe de la méthode.....	49
V.3.2. Mode opératoire de l'hydrodistillation	49
V.3.3. Conservation des huiles essentielles	50
V.3.4. Détermination du rendement en huile essentielle.....	50
V.3.5. Caractérisation physicochimique d'huiles essentielles.....	50
V.3.5.1. Détermination des indices physiques.....	51
V.3.5.2. Détermination des indices chimiques.....	52
V.4.1. Extrait méthanolique.....	54
V.4.1.1. Extraction par soxhlet.....	54
V.4.1.2. Extraction par Ultrason	56
V.4.1.3. Extraction par solvant polaire	56
V.5. Screening phytochimique	57
V.6. Caractérisation des extraits.....	59
V.6.1. Dosages des polyphénols.....	59
V.6.2. Dosage des Flavonoides	60
V.6.3. La spectrophotométrie Infrarouge	61
V.6.4. Activité antioxydante (in vitro).....	61
V.6.5. Détermination de la concentration inhibitrice médiane (IC50)	62
V.6.6. L'évaluation de l'activité antimicrobienne	63
V.7. Formulation des crèmes	66
V.7.1. Plan d'expérience.....	66
V.7.2. La préparation de la phase huileuse	67

V.7.3. La préparation de la phase aqueuse	67
V.7.4. Caractérisations des crèmes.....	68
V.7.4.1. Physico- chimique.....	68
V.7.4.2. Caractérisations rhéologique des crèmes.....	68
V.7.5. Etude de la stabilité des crèmes	69
V.7.6. Etude de comportement rhéologique.....	69
V.8. Etude cinétique de la libération du principe actif	71

Chapitre 6 : Résultats et discussion

VI.1. La cinétique d'extraction des HE	73
VI.1.1. Rendement des huiles essentielles	74
VI.1.2. Caractères organoleptiques des huiles essentielles d'Origan et <i>Thymus F</i>	76
VI.1.3. Caractéristiques physico-chimiques	76
VI.2. Screening photochimique	79
VI.2.1. Analyses qualitatives.....	79
VI.2.2. Analyses quantitatives.....	82
VI.3. Activité antibactérienne <i>in vitro</i> des extraits et des HE.....	84
VI.4. Evaluation de l'activité antioxydant.....	86
VI.6. Résultats des formulations	90
VI.6.1. Caractérisations des crèmes.....	91
VI.6.1.1. Physico-chimique.....	91
VI.6.1.2. Caractérisation microstructurale par microscopique.....	92
VI.6.1.3. Caractérisations rhéologiques des crèmes	93
VI.6.2. Résultat d'étude de stabilité.....	94
VI.6.3. Résultats de l'étude cinétique de libération de PA	95
VI.7. Optimisation et validation de la formulation optimale	96
VI.7.1. Formulation hybride	96
VI.7.2 Caractérisation microstructurale par microscopique	98
VI.7.3. Caractérisations rhéologiques des crèmes Hybride	99

Conclusion

Références bibliographiques

Annex

Liste des abréviations

AFNOR.	Association française de normalisation.
HEO	Huile essentielle d'origan floribundum.
BHT.	Butyl hydroxy toluène.
HET	Huile essentielle de Tymus Fontanesiee.
C18	Tétrachlorure de carbone.
CCM.	Chromatographie sur couche mince.
P.A.	Principe actif.
rpm.	Tour par minute.
CG/MS.	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
P.	Placébo
CMI.	Concentration minimale inhibitrice
CPG.	Chromatographie en phase gazeuse
S60	Span 60.
DO.	Densité optique
DPPH	Diphenylpicrylhydrazyl
EAG.	Equivalent acide gallique
EAU	Extraction assistée par ultrasons
EQ.	Equivalent de quercitine
IC50	Détecteur à ionisation de flamme
MS.	Matière sèche
HE.	Huile essentielle
CMI	Humidité relative
E.	Formulation avec principe actif (TBH)
SAB.	Sabouraud
MH.	Muller Hinton
pH.	Potentiel hydrogène
Hybride	la combinaison des espèces. De différentes origines
C18.	Alcool stéarylique
C16.	Alcool cétylique
T80.	Twin 80
MS.	Matière sèche
TBH.	Terbinafine Chlorhydrate.
N.	Normale.
T. F	Thymus Fontanesii.
O. F	Origan Floribundum.
H	Phase huileuse
E	Phase aqueuse

Liste des figures :

- Figure 1.1: Phénomènes de cavitation acoustique (Santos et *al.*, 2009).
- Figure.2.1 : Structure de base des tannins condensés (Bruneton, 1987).
- Figure.3.1 : Structures de l'acide gallique(pubchem.com)
- Figure.4.1 : Structure générale du noyau des flavonoïdes (Isoda et *al.*, 2014).
- Figure 1.2 : *Origanum floribundum* au stade de floraison (boulaghmen faiza)
- Figure 2.2 : *Origanum floribundum* boulaghmen
- Figure 3.2 : Répartition géographique de l'origan dans le monde(22-31-32-theseblida)
- Figure 4.2 : *Thymus Fontanesii*
- Figure 5.2 : Répartition géographique du thym dans le monde (Stahl-Biskup, 2002)
- Figure 1.3 : Coupe transversale de l'épiderme, du derme et de l'hypoderme. Microscopie optique. (Anne-Marie Courtot 2011).
- Figure 2.3 : Classification générale des champignons (Chabasse et *al.* 2002)
- Figure 3.3: Epidermophyton . (*Kah,2011*)
- Figure 4.3 : Microsporium . (*Kah,2011*)
- Figure 5.3 : Trichophyton (*Kah,2011*)
- Figure 1.4: Représentation d'une émulsion.(Eléonore Bouyer,et al.....).
- Figure 2.4 : Différents types d'émulsions (DOUMEIX O....)
- Figure 3.4 : Les mécanismes de déstabilisation des émulsions
- Figure 4.4: Schéma simplifié d'une molécule de tensioactif.
- Figure 5.4 : Représentation d'un tensioactif.
- Figure 6.4 : Comportement rhéologique des émulsions (T.O. De oliveira,1997)
- Figure 1.5 : *.Thymus.F(A)* et : *Origan.F.(B)*
- Figure 2.5 : Schéma de principe de l'extraction par Soxhlet (Alexandre, M., 2017)
- Figure 3.5 : Extraction par le bain ultrasons.
- Figure 4.5 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.
- Figure 5.5 : Schéma simplifié du principe de la méthode des aromagrammes
- Figure 6.5. Schéma représente la préparation des crèmes
- Figure 7.5 . Système de mesure Cup et Bob (cylindres coaxiaux)
- Figure 8.5: La cellule de diffusion de FRANZ utilisée dans ce travail
- Figure 1.6 : Cinétique d'extraction de l'HE d'Origan et de Thyme au cours du temps
- Figure 2.6 : Rendement en HE d'Origan.F et Thymus.F

Figure 3.6 : Résultats de rendement d'extractions d'*Inula viscosa* L. et *Inula montana* L.

Figure 4.6. ; Spectre IRTF des huiles essentielles de l'origan et *Thymus*

Figure 5.6 : Spectre IRTF des extraits méthanoliques d'Origan.F et *Thymus*.F

Figure 6.6 : Teneur en polyphénols d'Origan.F et *Thymus*.F

Figure 7.6 : Teneur en flavonoïdes d'Origan.F et *Thymus*.F

Figure 8.6 : Zones d'inhibition des souches testées produites par les huiles essentielles et les extraits méthanolique d'origan. F et *Thymus*. F

Figure 9.6 :activité antimicrobienne de HET

Figure 10.6 : Pouvoir réducteur DPPH de HE et EM d'Origan.F, et de *Thymus*.F

Figure 11.6 : Pouvoir réducteur DPPH de HE et EM d'Origan.F, et de *Thymus*.F

Figure 12.6 : Valeurs des IC50 des HE et d'extraits du O.F et T.F

Figure 13.6 . Les micrographes optiques prise à un grossissement X40 illustrant la morphologie des gouttelettes.

Figure 14.6. L'examen microscopique à un grossissement X40 pour formulation (P)

Figure 15.6 : étude réologique de la serie E

Figure 16.6 : étude réologique des placébos

Figure 17.6 : d'étude de stabilité de la serie E

Figure 18.6 : d'étude de stabilité de la serie P

Figure 19.6. Résultat d'étude de stabilité pour chaque crème hybride

Figure 20 :Le test bleu de méthylène

Figure 21.6 : Grossissement $\times 40$ et X160 (HEO)

Figure 22.6 : Grossissement $\times 40$ et X160 (HET)

Figure 23.6 : Grossissement $\times 40$ et X160 (O)

Figure 24.6 : Rhéogrammes des crèmes : a) huile essentielle de l'origan (G'gris et G'' vert) , du thymus (G'bleu et G'' jaune) et b) : de l'origan

Figure 25.6 : Courbes d'écoulement des huiles essentielles a) origan, thymus et b) de l'origan.

Liste des tableaux :

Tableau 1.1 : Structure des acides hydroxybenzoïques (Macheix et *al.*, 2006).

Tableau 1.2 : Structure des acides hydroxycinnamique (Macheix et *al.*, 2006).

Tableau.3.1 : Activités biologiques des composés phénoliques. (Kerbouche, 2015)

Tableau 1.2 : Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie

Tableau 2.2 : Principaux composés de certaines espèces d'origan.

Tableau 3.2 : Localisation de certaines espèces du Thymus en Algérie

Tableau 4.2 : Les différents chémotypes de l'HE du thym (Viaud, 1993).

Tableau **1.3** : Principaux antifongiques, leur cible, ainsi que leur voie d'administration (Beytout et *al.* ; 2014).

Tableau 1.4 : valeurs de HLB et surfactants et les fonctions associées.

Tableau 1.5 : les solvants chimiques utilisés

Tableau 2.5 : les matières premières utilisés

Tableau 3.5 : Les instruments utilisés

Tableau 4.5 : Les microorganismes tester

Tableau 5.5 : Type d'inhibition des souches microbiennes en fonction des diamètres de la zone d'inhibition

Tableau 6.5: Propriétés physico-chimiques et rôle des produits employés

Tableau 7.5 : Les limites codées et réelles pour les facteurs A, B et C

Tableau 1.6 : Variation du rendement en HE de deux plantes (Origan. F et Thymus. F) en fonction du temps d'extraction

Tableau 2.6 : Rendement en HE d'Origan.F et Thymus.F

Tableau 3.6 : Résultats de rendement d'extractions des EM d'Origan.F et Thymus.F

Tableau 4.6 : caractéristique organoleptique d'HE d'Origan.F et Thymus.F

Tableau 5.6 : valeurs des indices de réfraction à 20 °C de HE d'Origan.F et Thymus.F

Tableau 6.6 : valeurs de la **densité relative** de HE d'Origan.F et Thymus.F

Tableau 7.6 : Résultat de la miscibilité à l'éthanol 90%

Tableau 8.6 : résultats de l'indice d'acide

Tableau 9.6 : résultats d'Indice de saponification

Tableau 10.6 : Résultats de l'indice d'ester

Tableau 11.6 : Résultats qualitatifs du screening phytochimique

Tableau 12.6 : Résultats du dosage de polyphénols des deux extraits.

Tableau 13.6 : Résultats du dosage de flavonoïdes d'Origan.F. et Thymus.F

Tableau 14.6 : Les résultats de l'activité antiradicalaire d'*Inula viscosa* L. et *Inula montana*

Tableau 15.6 : Les résultats de l'activité antiradicalaire des EM d'origan. F et Thymus.F

Tableau 16.6 : les valeurs de IC 50

Tableau 17.6. Plan Design Expert 13 des formulations Placébo

Tableau 18.6. Plan Design Expert 13 des formulations Serie E

Tableau 19.6. Mesure le pH des crèmes préparés

Tableau 20.6. Caractérisations préliminaires des crèmes hybride préparés

Tableau 21.6 : Type d'émulsions

Introduction

De nos jours, la formulation est devenue l'une des branches les plus importantes grâce au développement et l'innovation qui ne cessent d'accroître. La formulation est une activité technologique son objectif est la conception et la mise au point de produits artisanaux au industriels, elle consiste à mélanger différents composants afin d'en arriver à une formule permettant d'avoir un produit stable, non toxique et homogène. Au jour d'hui, il existe sur le marché des produits pharmaceutiques et parapharmaceutiques à base de matière première synthétiques nocive pour la santé humaine et aussi sur l'environnement(Adim et Belkhir, 2016).

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques y pousse spontanément. Les principales espèces recensées sont le thym, la menthe, la lavande, la germandrée et le romarin. L'intérêt porté à ces plantes aromatiques et médicinales n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années.

Les huiles essentielles et les extraits de ces plantes ont trouvé leur place dans la conservation des aliments et la protection des denrées stockées. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Meriga et al.**, 2012 ; **Pandini et al.**, 2015 ; **Aghraz et al.**, 2017 ; **Ben Othman et al.**, 2017 ; **Sriti Eljazi et al.**, 2018). Les huiles essentielles et les extraits de plantes semblent être une alternative aux produits chimiques de synthèses qui posent des problèmes de résistance et de toxicité par leurs résidus.

Les antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie agroalimentaire, tels que l'hydroxytoluène butylé (BHT), l'hydroxyanisole butylé (BHA), le tertibutylhydroquinone (TBHQ) et le gallate de propyle (GP) sont soupçonnés d'être toxiques et cancérigènes.

Pour remédier à ces inconvénients, il y a un intérêt croissant dans les études d'additifs naturels comme antioxydants potentiels. Les propriétés antioxydantes de nombreuses plantes aromatiques et médicinales se sont avérées efficaces pour retarder le processus de peroxydation des lipides dans les huiles et les aliments gras et ont suscité l'intérêt de nombreux groupes de recherche (**Kulisic et al.**, 2004 ; **Khettaf et al.**, 2016).

La capacité antioxydante de nombreuses plantes peut être attribuée à la présence des composés phénoliques (**Do et al.**, 2014). Les polyphénols sont des substances naturelles capables de neutraliser les radicaux libres et de réduire les dommages dus au stress oxydatif sur le corps humain (**Hussain et al.**, 2016). Par conséquent, il existe un intérêt croissant pour l'extraction de ces antioxydants végétaux et leur utilisation en tant qu'antioxydants naturels

(**Padalia** et *al.*, 2017). L'un des facteurs les plus importants affectant l'efficacité d'extraction des composés bioactifs à partir des plantes est le solvant d'extraction (**Ngo** et *al.*, 2017).

La présente étude est constituée de deux parties. La première partie est consacrée à une étude bibliographique portant sur les huiles essentielles et les composés phénoliques, la monographie des espèces étudiées, les mycoses, ainsi que la formulation semi-solide. La seconde partie est dédiée à une étude expérimentale qui est principalement axée sur :

- Étude de la cinétique d'extraction des huiles essentielles.
- L'élaboration des extraits à partir des plantes étudiées en utilisant le méthanol comme solvant d'extraction ;
- L'analyse des huiles essentielles et les extraits méthanoliques
- L'évaluation de l'activité antioxydante des différentes essences et extraits méthanoliques des plantes étudiées et de l'antioxydant de synthèse (BHT)
- La détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits méthanoliques.
- Formulation des crèmes

I.A. Les huiles essentielles

I.A.1. Définitions et Généralités :

Le terme d'huile essentielle remonte au XVI^e siècle et dérive du médicament Quinta essentia, nommé par le médecin suisse Paracelsus von Hohenheim [1]. Les huiles essentielles ou "essences" doivent leur nom à leur inflammabilité [2]. De nombreux auteurs ont tenté de fournir une définition des huiles essentielles. L'Association Française de Normalisation (AFNOR) donne la définition suivante (NF T 75-006) : "L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par distillation à la vapeur soit par des procédés mécaniques de l'épicarpe des agrumes (Citrus), ou distillation "sèche". L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des "moyens physiques" [3]. Cette définition englobe toujours les produits obtenus à partir de matière première végétale, mais en utilisant d'autres méthodes d'extraction, telles que l'utilisation de solvants non aqueux ou l'absorption à froid. Ainsi, nous pouvons définir quatre types de produits [4]. Ce sont des liquides huileux aromatiques, volatils, caractérisés par une forte odeur. Les huiles essentielles ne représentent qu'une petite fraction de la composition de la plante néanmoins, elles confèrent les caractéristiques pour lesquelles les plantes aromatiques sont utilisées dans l'alimentation, le domaine de la cosmétologie et les industries pharmaceutiques [5]. Elles peuvent être synthétisées par tout organe végétal et stockées dans des cellules sécrétoires, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires [6, 7]. Elles se localisent dans toutes les parties des plantes aromatiques :

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

Les huiles essentielles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, cellules à poils sécréteurs (comme dans la menthe), canaux sécréteurs) et

ont vraisemblablement un rôle défensif : protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores. La concentration dans les plantes est en général faible, aux alentours de 1 à 2 % voire moins, mais il y a des exceptions comme le clou de girofle avec 15 % d'huile essentielle ou la noix de muscade, 5-15 %. Parmi les familles végétales les plus productrices d'huiles essentielles, on distingue les Labiatae (famille du thym, de la lavande, de la menthe, du basilic), les Asteraceae (camomille, absinthe), les myrtaceae (eucalyptus, melaleuca, myrte, girofle), les Lauraceae (cannelle, laurier). Beaucoup de végétaux contiennent des huiles essentielles ou des substances voisines mais en pratique peu d'espèces sont utilisées [8].

I.A.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles constituent un groupe homogène dont les propriétés physiques sont les suivantes :

- À température ambiante, les huiles essentielles sont liquides sauf la Myrrhe et le Santal qui peuvent être visqueuses ainsi que la Rose et le Camphrier qui peuvent être cristallisées [9];
- À basse température, certaines cristallisent comme par exemple les huiles essentielles d'Anis, de Menthe des champs ou de Thym saturéoïde. [10];
- Températures d'ébullition très élevées variant de 160 à 240 °C ;
- Solubles dans les alcools, éthers, solvants organiques, huiles (liposolubles) mais pas ou peu dans l'eau. Cependant elles peuvent conférer leur odeur à celle-ci (hydrolat) ;
- Volatilité importante, ce qui les oppose aux huiles fixes et qui est liée à leur caractère odorant, leur donnant la possibilité d'être obtenues par entraînement à la vapeur ;
- Incolore ou jaune pâle, à quelques exceptions comme l'huile essentielle de camomille romaine (*Anthémis nobilis*) dont la couleur bleu clair est due à la présence de chamazulène ;
- Odeur caractéristique pour chaque huile essentielle et suivant sa richesse en composés oxygénés et aromatiques ;
- Faible polarité, ce qui explique leur insolubilité dans l'eau.
- Sensibles à l'oxydation, elles ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux ;
- Densité inférieure à l'unité sauf dans le cas de la cannelle, du girofle, du saffran et du vétiver ;

- Un indice de réfraction élevé et souvent un pouvoir rotatoire dû à la présence de molécules asymétriques.

Toutes ces propriétés spécifiques aux huiles essentielles exigent des méthodes de conservation adéquates : flacons colorés, bouchés hermétiquement et stockés à basse température (4 °C), ce qui assure leur maintien à l'abri de l'air et de la lumière, évitant ainsi une polymérisation éventuelle.

I.A.3. Les facteurs de variabilité de la composition chimique des huiles essentielles :

Des travaux de recherche montrent que la composition chimique des huiles essentielles est très fluctuante, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. En effet elle dépend d'un grand nombre de facteurs que nous pouvons regrouper en deux catégories [11] :

- **Facteurs intrinsèques** : liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat...) et au degré de maturité du végétal concerné ;
- **Facteurs extrinsèques** : en lien avec la méthode d'obtention.

I.A.4. Procédés d'extraction des huiles essentielles et des molécules aromatiques :

Le choix d'une méthode d'extraction dépend souvent de la nature de la matière végétale utilisée et des objectifs visés pour le produit final. Les méthodes conventionnelles telles que l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur, l'enfleurage et l'extraction par solvant sont fréquemment employées. Cependant, des techniques innovantes comme l'utilisation de fluides supercritiques, les micro-ondes et la détente instantanée contrôlée sont également explorées. Le recours à une méthode d'extraction appropriée est essentiel pour garantir la qualité optimale du produit et obtenir un rendement maximal des composés ciblés.

I.A.4.1. Choix de la méthode d'extraction

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix du processus d'obtention délicat. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte [12] tels que : la volatilité, la solubilité, la taille et la forme des molécules constitutives et la nature de la matière première.

I.A.4.1.1. Méthodes conventionnelles d'extraction

- **Extraction par hydrodistillation**

L'hydrodistillation est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité. Ce procédé est de loin le plus répandu car il convient à la majorité des plantes. Il consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique, et comme les HE sont insolubles dans l'eau mais solubles dans la vapeur, lorsqu'on envoie de la vapeur d'eau sur la plante, elle se charge au passage des huiles [14]. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotropique « eau + huile essentielle » se distille à une température égale 100 °C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées, la vapeur d'eau ainsi restée de ces essences est envoyée dans un compartiment pour y refroidir. Là, la vapeur redevient donc liquide et les huiles s'en désolidarisent (elles flottent à la surface). On les récupère alors par décantation [15].

- **Entraînement à la vapeur d'eau**

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. À la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Le but de cette méthode est d'emporter avec la vapeur d'eau les constituants volatils des produits bruts. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, libère les molécules contenues et en entraîne les plus volatiles en les séparant du substrat cellulosique. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier (vase de décantation pour les huiles essentielles). Les parties insolubles dans l'eau de condensation sont décantées pour donner l'huile essentielle. La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale). On recueille alors un mélange de composition défini de ces deux produits [16].

- **Extraction par solvants organiques**

La technique consiste à la mise en contact de la matière végétale, placée dans un extracteur, avec un solvant volatil. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique [17].

I.A.4.1.2. Extraction par des techniques innovantes :

- **Extraction assistée par ultrasons**

L'extraction assistée par ultrasons est un nouveau procédé d'extraction permettant d'extraire des molécules de faibles poids moléculaires [18]. Dans les secteurs agroalimentaire et pharmaceutique, les ultrasons permettent l'extraction de composés bioactifs tels que les flavonoïdes, les huiles essentielles, les polysaccharides et les esters. Cette technologie s'est développée jusqu'au niveau industriel. En effet, les traitements par ultrasons améliorent l'extraction des composés phénoliques des végétaux [19, 20, 21, 22, 23].

Principe :

Les ultrasons sont des ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. Elles ont la capacité de se déformer. Elles sont principalement caractérisées par leur fréquence (15 kHz-500 MHz). L'amplitude ou l'intensité des ondes permet de classer les ultrasons pour leurs applications industrielles : ultrasons de faible intensité (1-3 W/cm²), appliqués souvent pour le contrôle de la qualité des produits. Ces ultrasons génèrent de stables cavitations, alors que les ultrasons de forte intensité (10-1000 W/cm²) génèrent des cavitations transitoires, appliqués pour la modification des produits par rupture physique des tissus [24]. La propagation des ondes sonores dans les liquides soumis aux ultrasons à hautes intensités induit en alternance des cycles de haute pression (compression) et des cycles de basse pression (à basse pression). Les séries de ces cycles de compressions et de raréfactions créent une pression acoustique. Au cours du cycle de basse pression, les ondes ultrasonores créent des petites bulles de cavitation dans le liquide. Lorsque ces bulles atteignent un volume pour lequel elles ne peuvent plus absorber de l'énergie, elles éclatent violemment au cours d'un cycle de haute pression [25].

L'effondrement de la cavité est asymétrique et produit un jet de liquide à grande vitesse. Le principal effet physique et mécanique des ultrasons est alors la production de micro-jets

dirigés vers une surface solide lors de l'implosion des bulles de cavitation [23]. Les bulles entrent elles-mêmes en collision et sont responsables du phénomène de cavitation. Durant l'implosion, de très hautes températures (5000 °C) et pressions (2000 atm) sont atteintes localement [24] (Figure 1). Il est à noter que le niveau de température et de pression atteint dépend toutefois de la fréquence des ultrasons appliqués. L'implosion des bulles de cavitation provoque également des jets de liquide qui peuvent atteindre la vitesse de 280 m/s.

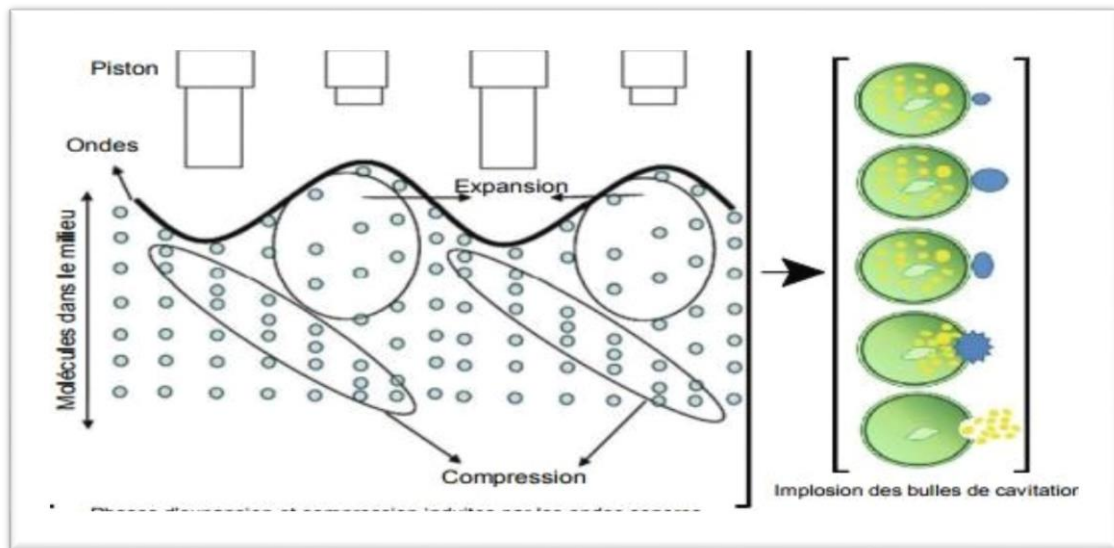


Figure 1.1: Phénomènes de cavitation acoustique [24].

Les effets sonochimiques de ces cavitations se traduisent entre autres par des accélérations de cinétique et/ou d'amélioration du rendement d'extraction solide-liquide [26]. Les membranes cellulaires des produits se trouvant à proximité subissent alors d'importants cisaillements répétitifs. Les forces de cisaillement résultant détruisent l'enveloppe des cellules, ce qui altère ces membranes cellulaires et libère le contenu intracellulaire dans le milieu environnant [27].

- **Extraction au CO₂ liquide ou supercritique**

L'extraction au CO₂ liquide ou supercritique est une méthode d'extraction moderne, elle est basée sur le fait que certains gaz, notamment le CO₂, dans des conditions de pression et de température dites critiques (PC=73,82 bars et TC=31,06 °C) ou supercritiques, présentent un pouvoir de dissolution accru vis-à-vis de divers composés tels que les HE, les arômes, les colorants naturels, etc. [28].

I.A.5. Critères de qualité d'une huile essentielle :

Les huiles essentielles de qualité supérieure peuvent préserver leurs propriétés thérapeutiques pendant plusieurs années, dans des conditions spécifiques, allant jusqu'à cinq ans [29]. Cependant, les essences d'agrumes peuvent avoir une durée de conservation légèrement plus courte, d'environ trois ans [30]. Pour garantir leur préservation, il est impératif de les stocker à l'abri de l'air, de la lumière et de la chaleur. Les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons en verre teinté (brun, vert ou bleu), hermétiquement fermés et stockés verticalement. Des normes spécifiques régissent l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (norme AFNOR NF T 75-001, 1996), ainsi que l'étiquetage des récipients contenant des huiles essentielles (norme NF 75-002, 1996).

Chaque flacon d'HE doit comporter les mentions suivantes :

- Son identité : le nom international exprimé en latin de la plante dont l'huile essentielle est Il doit comprendre le nom du genre, suivi de celui d'espèce, de la famille, ainsi que de l'initiale ou de l'abréviation du botaniste, qui, le premier, a décrit la plante en question [31].
- Organe : selon la partie de la plante (feuilles, fleurs...) distillée, il peut exister plusieurs huiles essentielles pour la même plante avec des compositions chimiques et des activités différentes.
- Sa pureté : les huiles essentielles doivent être 100 % pures, c'est-à-dire non diluées, non allongées et non coupées ou frelatées par adjonction d'huiles de mauvaise qualité ou issues de molécules de synthèse bien moins chères et de moindre valeur [32].
- Son chémotype : une plante de même variété botanique peut produire des huiles essentielles de compositions chimiques différentes selon son origine, son pays, son climat, son sol. Une huile essentielle peut contenir de vingt-cinq à cent molécules biochimiques différentes [29].
- Son mode de culture : il définit si la plante est cultivée ou sauvage. Il est souvent représenté par un label si la plante provient d'une culture biologique. Les seuls labels autorisés sont ceux délivrés par le Ministère de l'Agriculture (BIO, ECOCERT, HEBBD, AB) [10].
- Son origine géographique.
- Le mode d'extraction employé.

I.A.6. Méthodes d'identification des huiles essentielles :

I.A.6.1. La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) a connu un développement considérable au cours des dernières décennies, devenant ainsi une méthode privilégiée pour la séparation des mélanges complexes de composés volatils.

Grâce à la CPG, il est possible de séparer, identifier et quantifier des mélanges extrêmement complexes de substances volatiles en un laps de temps relativement court [33].

I.A.6.2. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

Le développement significatif de la spectrométrie de masse dans l'identification des constituants complexes a été rendu possible grâce à l'intégration directe de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) avec la spectrométrie de masse. Ce couplage a éliminé la nécessité de procéder à l'isolement des constituants purs par chromatographie préparative, tout en permettant l'obtention de spectres de masse interprétables pour des quantités de substance allant du microgramme au nanogramme [33].

En effet, l'utilisation de la CPG à haute résolution avec des colonnes capillaires, combinée à la spectrométrie de masse à petite échelle, et soutenue par les avancées de l'informatique, a permis le développement de méthodes d'identification fiables et rapides [34].

I.A.7. Propriétés biologiques des huiles essentielles :

I.A.7.1. Propriétés antioxydantes

Les huiles essentielles (HE) sont considérées comme des substituts antioxydants dans la conservation alimentaire. Le pouvoir antioxydant des HE est principalement attribué aux phénols et aux polyphénols [35]. Lorsqu'il est question d'activité antioxydante, deux types de propriétés sont distingués en fonction de leur niveau d'action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés ayant une activité primaire agissent en interrompant la chaîne d'oxydation autocatalytique [36]. En revanche, les composés ayant

une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction de l'oxygène [37].

Des études menées par l'équipe du Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF ont démontré que l'incorporation directe des huiles essentielles dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruits, yaourts, etc.) ou leur application par vaporisation en surface des aliments (pièces de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers) contribuent à préserver les aliments contre les phénomènes d'oxydation [38].

I.A.7.2. Propriétés antibactériennes et antifongiques

Les huiles essentielles (HE) les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae, comprenant des plantes aromatiques telles que l'origan, le thym, la sauge, le romarin et le clou de girofle. Ces HE sont riches en composés phénoliques tels que l'eugénol, le thymol et le carvacrol, qui présentent une forte activité antibactérienne. Le carvacrol, en particulier, est reconnu comme étant non toxique et est utilisé comme agent de conservation et arôme alimentaire dans les boissons, les friandises et d'autres préparations. Le thymol et l'eugénol sont utilisés dans les produits cosmétiques et alimentaires. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries, notamment *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium spp.* et *Helicobacter pylori* [39].

Un grand nombre de composés volatils ont été testés contre divers champignons tels que *Candida* (*C. albicans*), *Aspergillus* (*A. niger*, *A. flavus*, *A. fumigatus*) et *Penicillium chrysogenum* [40]. Il semble que l'activité fongistatique des composés aromatiques soit liée à la présence de certaines fonctions chimiques [41]. Des études ont démontré que l'activité antifongique augmente selon le type de fonction chimique, avec les phénols > les alcools > les aldéhydes > les cétones > les éthers > les hydrocarbures. Parmi les aldéhydes, le cinnamaldehyde s'est révélé être le plus actif [42].

I.A.8. Toxicité des huiles essentielles.

Les huiles essentielles sont composées de centaines de molécules pures présentes à différentes concentrations, ce qui les rend inappropriées pour une utilisation sans risque. De

plus, ces molécules lipophiles présentent une forte affinité pour les lipides du corps, y compris les tissus nerveux, ce qui peut entraîner une toxicité importante.

Lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, certaines huiles essentielles peuvent être dangereuses pour les patients ayant une sensibilité allergique connue en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde, cinnamate de benzyle, alcool cinnamique, etc.) [43], ou phototoxique (huiles d'agrumes contenant des furocoumarines [44]).

Il est recommandé d'éviter l'exposition au soleil pendant quelques heures après l'application cutanée ou l'ingestion de ces huiles essentielles.

Les huiles essentielles peuvent être utilisées pures, mais le plus souvent, elles sont diluées soit avec d'autres huiles essentielles [45], soit avec une huile végétale, soit avec un excipient tel qu'une crème de massage, du lait, du miel ou de l'alcool [46].

I.A.9. Les utilisations des huiles essentielles :

Les propriétés bénéfiques des composés volatils présents dans les huiles essentielles ont historiquement été valorisées dans l'industrie de la parfumerie. Toutefois, ces dernières années, les huiles essentielles ont regagné en popularité auprès de divers secteurs industriels en raison de leur potentiel considérable en tant qu'agents thérapeutiques et arômes. Leur utilisation est fortement prisée dans les domaines de la parfumerie, de la cosmétique, de la phytothérapie, ainsi que dans l'industrie alimentaire, homéopathique et pharmaceutique, du fait de leurs multiples applications et de leurs propriétés remarquables [47].

I.B. Composés phénoliques :

Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Avec leur diversité structurale remarquable, ces derniers, également appelés polyphénols, constituent une richesse déjà largement exploitée par les industries agro-alimentaires, cosmétique et pharmaceutique. Les polyphénols (principalement, flavonoïdes, acides phénoliques, tannins) sont présents dans toutes les parties de la plante [48].

Les composés phénoliques ou polyphénols sont caractérisés par un élément structural fondamental qui est le cycle aromatique (benzoïque) portant au moins un groupement d'hydroxyles libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester,

sucre...) [49, 50]. Ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc.). Certains d'entre eux sont responsables d'amertume et d'astringence [50].

I.B.1. Structures chimiques et classification :

La classification des polyphénols est principalement basée sur leur structure chimique, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui les relient. Deux catégories principales se distinguent : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes [51, 52]. La plupart des composés phénoliques naturels se trouvent sous forme de conjugués avec des mono- et polysaccharides, liés à un ou plusieurs groupes phénoliques, et ils peuvent également être présents sous forme de dérivés fonctionnels tels que les esters et les esters méthyliques [53, 54, 55]. La grande diversité structurelle des polyphénols résulte de la multitude de composés phénoliques présents dans la nature, et il est possible de les classer en plusieurs catégories distinctes [54]. Parmi ces catégories, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins sont considérés comme les principaux composés phénoliques présents dans les aliments [56].

I.B.1.1. Phénols simples :

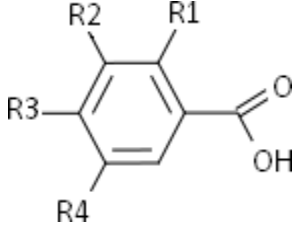
Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple Phénol en C6 aux flavonoïdes en C15, ces substances sont présentes sous forme soluble dans la Vacuole [57].

I.B.1.2. Les acides phénoliques

Ces acides sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales [58]. Comme exemple d'acide phénolique, on cite : l'acide chlorogénique, l'acide caféique, l'acide protocatechique, l'acide vanillique, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide gallique. Ils sont considérés comme substances phytochimiques avec des effets prebiotique, antioxydant, de chélation et anti-inflammatoire. Leur toxicité est faible et considérée non toxique. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique [58]. Cet acide ainsi que l'acide férulique empêchent la formation du cancer des poumons chez les souris alors que l'acide gallique inhibe la formation du cancer œsophagien chez les rats [59].

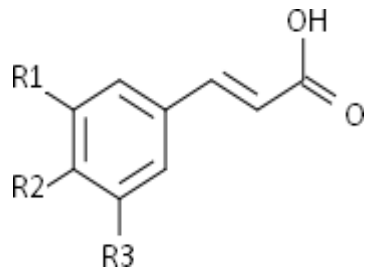
Les phénols Ils appartiennent à deux groupes, les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques [57].

Tableau 1.1 : Structure des acides hydroxybenzoïques [60].

Structure générale	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque (non phénolique)
	H	H	OH	H	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatéchique
	H	OCH ₃	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C₆-C₃) dérive de celle de l'acide cinnamique (Tableau 3). L'acide caféique est l'acide phénolique le plus abondant dans de nombreux fruits et dans le café, le plus souvent estérifié avec de l'acide quinique (acide chlorogénique). Un autre acide phénolique commun est l'acide férulique, présent dans les céréales et estérifié en hémicelluloses dans la paroi cellulaire [52].

Tableau 1.2 : Structure des acides hydroxycinnamique [60]

Structure générale	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique (non phénolique)
	H	OH	H	Acide <i>p</i> -coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH ₃	OH	OH	Acide férulique
	OCH ₃	OCH ₃	OH	Acide sinapique

I.B.1.3. Les tanins :

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles [61]. Les tanins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans

toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines [62]. Selon leurs structures biochimiques, on distingue deux classes de tannins : les tannins hydrolysables et les tannins condensés. Les tannins hydrosolubles ou acides tanniques ont un noyau de sucre lié par estérification à l'acide gallique (gallo tanins) ou à l'acide ellagique (ellagitanins). Les tanins condensés, appelés aussi pro anthocyanidines, possèdent comme structure de base le flavan-3-ol ou le flavan-3,4-diol [63]. Ces tanins ne renferment pas de sucres dans leurs molécules.

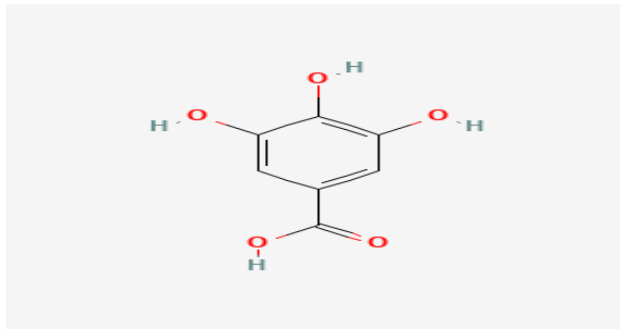


Figure.2.1 : Structures de l'acide gallique [64]

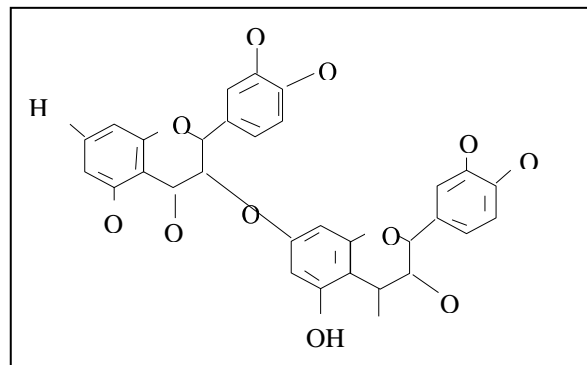


Figure.3.1 : Structure de base des tannins condensés [49].

1.B.1.4. Les flavonoïdes :

Jusqu'à présent, plus de 9000 flavonoïdes ont été répertoriés [65]. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbone, constitué de deux unités aromatiques ; deux cycles en C₆ (A et B), reliés par un hétérocycle en C₃ [63, 66] (Figure).

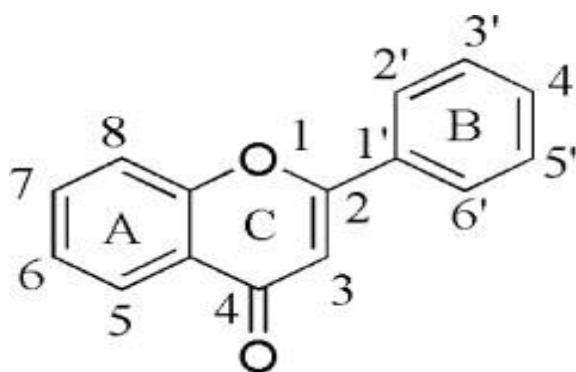


Figure.4.1 : Structure générale du noyau des flavonoïdes [67]

Structuralement les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules selon le degré d'oxydation et la nature des substituants portés sur le cycle C [66], 14 groupes différents ont été identifiés dont six sont particulièrement les plus répandus et les mieux caractérisés ; flavones, isoflavones, flavanones, flavanols, flavanols, anthocyanidines [68, 69];

Les composés de chaque classe se distinguent entre eux par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B [68].

I.B.2. Activités biologiques des composés phénoliques :

Les polyphénols sont reconnus pour leurs activités biologiques qui sont directement liées à la santé humaine, et plus particulièrement pour leurs propriétés antioxydantes [70].

L'étude de **Halliwell** (1994) a démontré que l'activité antioxydante des polyphénols est influencée par leur structure, notamment la position des groupes hydroxyles sur les noyaux aromatiques et leur capacité à soutenir une délocalisation électronique. Par la suite, les recherches de **Fuchs** (1998) ont révélé que les polyphénols sont connus pour leur capacité à protéger la peau contre le stress photo-oxydant induit par les rayons solaires. C'est pourquoi les polyphénols sont utilisés comme ingrédients dans de nombreux produits cosmétiques destinés au traitement du vieillissement cellulaire et à la protection cutanée [71].

Des recherches récentes ont révélé que les polyphénols démontrent une activité antibactérienne significative [72]. Ces composés agissent selon deux mécanismes d'action

distincts : tout d'abord, en inhibant la synthèse des acides nucléiques dans les bactéries [73], et ensuite en causant des dommages aux membranes cellulaires des bactéries [74].

Tableau.3.1 : Activités biologiques des composés phénoliques. (Kerbouche, 2015)

Polyphénols	Principales activités
Acides phénols	Antibactériens, antifongiques et Antioxydants.
Coumarines	Vasoprotectrices et antioedémateuses.
Flavonoïdes	Antitumorales, anticarcinogènes, anti-inflammatoires, hypotenseurs, diurétiques et antioxydants.
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydants.

II. Famille des Lamiaceae :

La famille des Lamiaceae (Labiatae), dérivée du terme latin "Labia" signifiant "lèvre", tire son nom de la forme distinctive des fleurs à deux lèvres [75, 76]. Elle comprend environ 258 genres et 6900 espèces, réparties de manière plus ou moins cosmopolite, mais principalement concentrées dans le bassin méditerranéen, telles que le thym, la menthe, la lavande, la germandrée et le romarin [77]. Cette famille a été l'une des premières à être identifiée par les botanistes en raison de ses caractéristiques particulières [78]. Les plantes de cette famille sont généralement des herbacées odorantes, avec des tiges quadrangulaires et des feuilles opposées sans stipules. Les fleurs, le plus souvent hermaphrodites et pentamères [79], sont regroupées en cymes axillaires plus ou moins serrées, souvent similaires à des verticilles, ou condensées en épis de fruits constitués de 4 akènes plus ou moins soudés sur leur face interne [80]. Cette famille se caractérise donc par :

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

Un très grand nombre de genres de la famille des lamiacées est riche en terpénoïdes Flavonoïdes iridoïde glycosylés et composés phénoliques [76].

- L'Origan (*Organum floribundum*) :

II.1. Description et classification :

L'origan est une plante herbacée ou sous-ligneuse à la base. Haut de 30 à 90 cm, il représente des tiges carrées portant une quarantaine de branches à feuilles vert foncé, petites et ovales. Les inflorescences sont en épis, eux-mêmes réunis en inflorescences composées [35].

Le calice de l'origan est tubuleux à cinq dents courtes, bilabié ou non. La corolle quant à elle est blanche, rosée ou bien violette [81].



Figure 1.2 : *Origanum floribundum* au stade de floraison (**boulaghmen faiza**)

La classification systématique de l'origan est la suivante [82] :

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Astéridées
Sous classe	Astéridées II
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées
Genre	<i>Origanum</i>
boulaghmen faiza)	



Figure 2.2 : *Origanum floribundum*

II.2. Répartition géographique :

II.2.1. Dans le monde :

Cette plante méditerranéenne a l'aptitude de pousser dans plusieurs pays d'Europe et d'Asie également, spécialement en Chine et en Inde [83] 49 taxons sont répartis à travers le monde, dont : 46 sont répartis entre des pays du pourtour méditerranéen ; 21 se trouvent en Turquie, dont 12 sont endémiques à ce seul pays.



Figure 3.2 : Répartition géographique de l'origan dans le monde(22-31-32-theseblida)

II.2.2. En Algérie

L'origan est une plante répandue en Algérie, elle est représentée par deux espèces : *Origanum glandulosum* et *Origanum floribundum*. Cette dernière est d'ailleurs une espèce endémique algérienne [81].

Tableau 1.2 : Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie

Espèces	Localisation et caractéristiques
<i>Origanum glandulosum</i> Desf.	Commune dans tout le Tell. Endémique Algéro-Tunisienne. Pousse dans les garrigues et broussailles.
<i>Origanum floribundum</i>	Pousse en pâturage et surtout en montagne. Espèce rare dans le sous-secteur du littoral et le secteur de Kabylie. Endémique d'Algérie.

II.3. Huile essentielle d'origan :

Tous les Origans renferment en quantité variable une huile essentielle fortement aromatique [84]. En moyenne, on extrait environ 1,8 % d'HE à partir des feuilles et des sommités fleuries. Cependant, la qualité et la quantité de l'huile extraite varient selon la génétique de la plante, le stade végétatif, les procédés d'extraction et surtout les conditions de l'environnement [85].

Le carvacrol est généralement le composé majoritaire de l'HE d'origan (35 à 74 %) [86, 87], mais dans certains cas le thymol (isomère du carvacrol) l'importe [83, 88, 89].

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de plusieurs espèces d'origan a permis d'identifier les composés majoritaires pour chaque échantillon analysé. Les résultats obtenus sont indiqués dans le **Tableau suivant** :

Tableau 2.2 : Principaux composés de certaines espèces d'origan.

Espèces	Principaux composés	Références
<i>Origanum heracleoticum</i>	Carvacrol (54%)	[90]
<i>Origanum compactum</i>	Carvacrol (22%) et γ -terpinène (23 %)	[90]
<i>Origanum floribundum</i>	Carvacrol et thymol	[91]
<i>Origanum majorana</i>	Tepinène-4-ol (26%)	[90]
<i>Origanum vulgare L.</i>	Sesquiterpènes	[92]

II.4. Principales utilisations d'origan :

- **Utilisation comme épice.**

Différentes parties de la plante (feuilles, sommités fleuries) sont actuellement employées en industrie alimentaire en tant qu'épices. Elle est considérée comme étant l'une des épices les plus répandues dans la région méditerranéenne [91].

- **Utilisation en médecine traditionnelle.**

L'huile essentielle d'origan possède un effet antiseptique, est légèrement tonique et digestive. Elle provoque la menstruation, apaise les nerfs, soulage les maux de tête et de dents, elle aide aussi à lutter les insomnies.

L'origan est aussi un anti-inflammatoire, antifongique, antibactérienne, antioxydante, antispasmodique expectorant, diurétique et sudorifique. C'est un bon stimulant de l'appareil digestif, il est particulièrement utile dans diverses affections des voies respiratoires (Bronchique, trachéo-bronchite) elle calme la toux en favorisant l'expectoration. Par ailleurs on a rapporté d'autres activités biocides en tant qu'insecticide, nématocide et antimollusque [93]

II.5. Thymus :

II.5.1. Description et classification

Le thym est une plante sous-ligneuse érigée ou prostrée, odorante, il forme des touffes compactes très ramifiées qui s'élèvent à une vingtaine de centimètres au-dessus du sol. Il pousse de façon spontanée sur les coteaux secs et rocailloux et dans les garrigues.

Les feuilles du thym sont plus ou moins contractées et les inflorescences sont en faux verticilles. Le calice quant à lui, est tubuleux à deux lèvres et la corolle est plus au moins exserte à deux lèvres aussi [81].



Figure 4.2 : *Thymus Fontanesii*

D'après **Quezel et Santa** (1963), et **Guignard et Dupont** (2004) comme suit :

Embranchement :	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous-embranchement :	Angiospermes
Classe :	Eudicots
Sous-classe :	Astéridées
Ordre :	Apiales
Famille :	Apiacées
Genre :	Ammoïdes
Espèce :	Ammoïdes.

II.5.2. Distribution géographique :

II.5.2.1. Dans le monde

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés [76]. Selon [94] il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée. C'est un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur la montagne d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par [95], environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen.

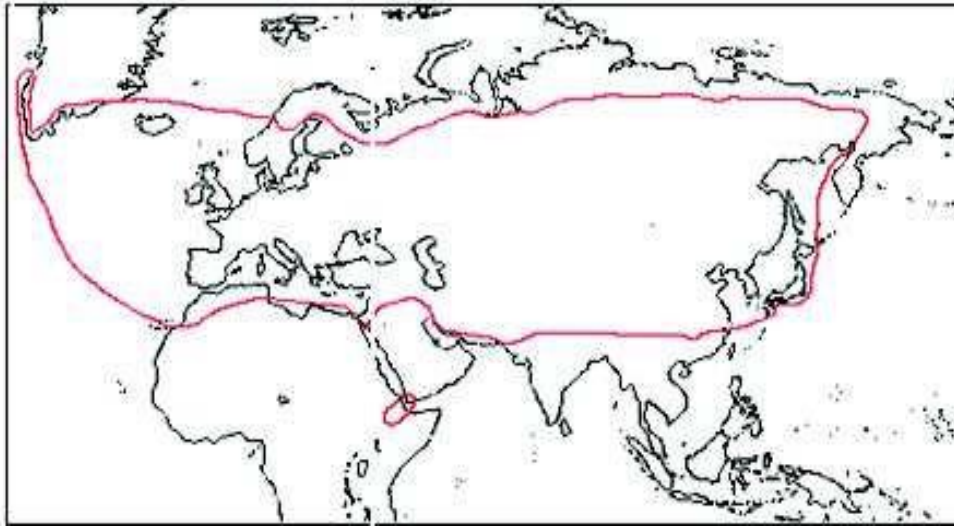


Figure 5.2 : Répartition géographique du thym dans le monde [96].

II.5.2.2 En Algérie

Le thym comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides [97]. Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leurs variétés d'huiles essentielles.

Tableau 3.2 : Localisation de certaines espèces du *Thymus* en Algérie

Espèces	Découvertes	Localisation	Nom local
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et Link	Région de Tlemcen	Ateure
<i>Thymus fontaesi</i>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie- Tunisie	Auteure
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran	

<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Sous-secteur dans l'atlas tellien La grande Kabylie et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne Tell constantinois	Tizaatarte
<i>Thymus guyonii</i>	Noé	Sous- secteur des hauts plateaux Algérois, oranais et constantinois	
<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret) et Constantinois	Zaateur
<i>Thymus pallidus</i>	Coss	Sous- secteur de l'atlas saharien Et constantinois	Tizerdite
<i>Thymus hirtus</i>	Willd	Commun sauf sur le littoral	Djertil Hamrya
<i>Thymus glandulosus</i>	Lag	Sous- secteur des hauts plateaux Algérois	
<i>Thymus algeriensis</i>	Boiss et Reuter	Sos secteur des hauts plateaux Algérois et oranais	Dertil Zaitra
<i>Thymus munbyanus</i>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur nord Algérois	Dertil

II.5.3. Huile essentielle de thymus :

L'HE du thym est extraite principalement à partir des feuilles et des sommités fleuries. La tige fleurie du thym contient en plus de l'HE des flavonoïdes (thymonine, cirsilinéol et 8-méthoxy-cirsilinéol) et des acides - phénols (notamment caféique et rosmarinique), des tanins et une résine [98]. La composition en huile essentielle du thym Dépend du lieu géographique et géologique des données climatiques ainsi que des données génétiques et saisonnières [99].

Tableau 4.2 : Les différents chémotypes de l'HE du thym (Viaud, 1993).

Type du chémotype	Teneur en composés Majoritaires	Propriétés médicinales
Chémotype à 1,8-cineole	80 à 90 % de cineole	Décongestionnant broncho-pulmonaire
Chémotype à géraniol	80 à 90 % de géraniol libre estérifié	Antibactérien, antifongique et antiviral
Chémotype à linalool	80 à 90 % de linalool libre estérifié	Antibactérien, antifongique, viricide
Chémotype à terpinéol	80 à 90 % de terpinéol libre estérifié	Hémolytique
Chémotype à thymol	70 % de thymol en été	Anti- infectieux majeur
Chémotype à carvacrol	80 % de carvacrol en été	Antiseptique pulmonaire
Chémotype à thuyanol	50 à 60 % de trans- thuyanol -4 10 à 20 % de terpinéol-4 10 à 20 % de cis-myrcénol-8	Bactéricide, viricide et neurotonique.

II.5.4. Utilisation traditionnelle de Thym :

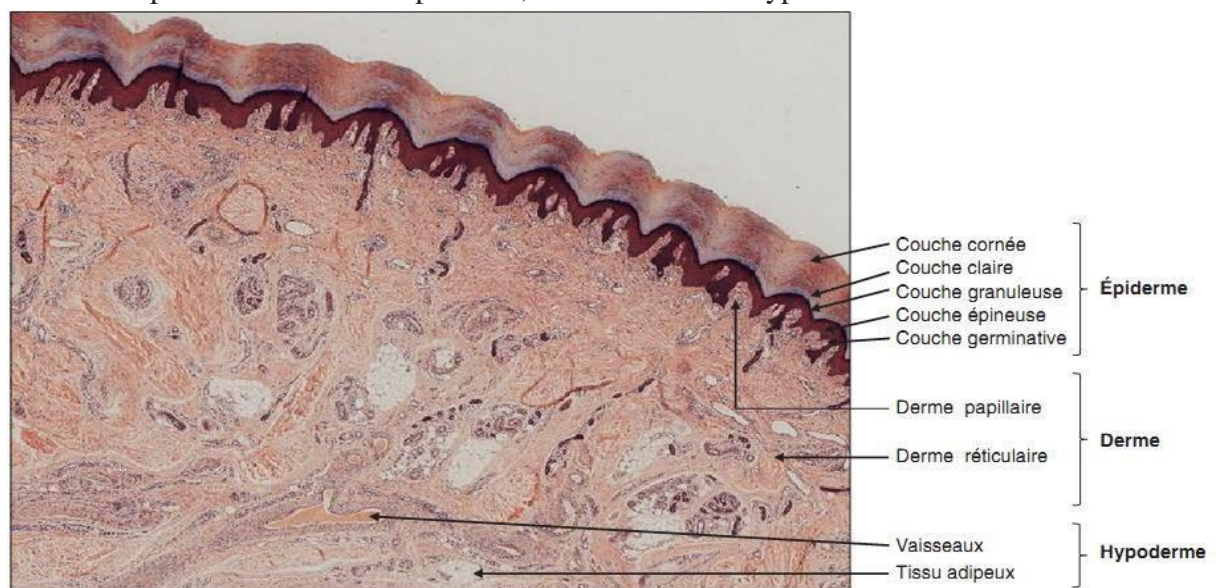
Le thym est traditionnellement utilisé pour favoriser la digestion, pour lutter contre les ballonnements et les flatulences, ainsi que pour dégager les voies respiratoires et apaiser la toux en cas de rhume ou de bronchite ; Les autres usages traditionnels du thym : En gargarisme ou en bain de bouche, le thym apaiserait les inflammations de la gorge et donnerait bonne haleine. En tisane, il est également proposé pour soulager les règles douloureuses. Appliquée sur les plaies, une tisane de thym concentrée permettrait de les désinfecter et favoriserait la cicatrisation [100]. (*Thymus vulgaris*, utilisation comme épice dans la cuisine et les liqueurs, mais a également des usages thérapeutiques approuvés, exemple d'utilisation plante de thymus pour les maladies de l'appareil digestif (50 %), maladies de peau (15 %) de l'appareil circulatoire général (13 %), d'appareil respiratoire (10 %) et de l'appareil général (5 %) [101].

III.1. Généralités :

III.1.1. Généralité sur la peau humaine :

La peau et les muqueuses constituent l'enveloppe du corps humain [102], elle est l'organe le plus important de l'organisme, avec une surface d'environ 1,8 m² et un poids d'environ 4 kg pour un adulte de 70 kg [103]. C'est un organe hétérogène, composé de plusieurs couches et annexes. Structurellement, la peau est divisée en deux régions très différentes : l'épiderme comportant plusieurs strates cellulaires et le derme formé essentiellement de tissu conjonctif (Fig.) [104, 105].

Figure 1.3 : Coupe transversale de l'épiderme, du derme et de l'hypoderme.



Microscopie optique. (Anne-Marie Courtot 2011).

III.1.2. Généralités sur la systématique des champignons :

Les Champignons encore appelés "Fungi" (du latin) ou Mycètes (du grec mukês, champignon), constituent aujourd'hui le cinquième règne du monde vivant appelé règne Fongique, c'est un large groupe diversifié qui possède des caractéristiques communes avec les plantes inférieures et les animaux inférieurs ([106, 107, 108]. Le Règne fongique comprend actuellement environ 70 000 espèces recensées (parmi lesquelles 13 500 sont lichénisées et font l'objet d'une science autonome : la Lichénologie) mais les estimations actuelles, proposées par extrapolation, évaluent le nombre effectif de champignons à la surface de la planète, à plus d'un million d'espèces [108].

En mycologie médicale, il est pratique de distinguer plusieurs catégories de champignons potentiellement pathogènes pour l'homme, en fonction de leur morphologie, et en fonction de leur degré de virulence et leur compétence au parasitisme.

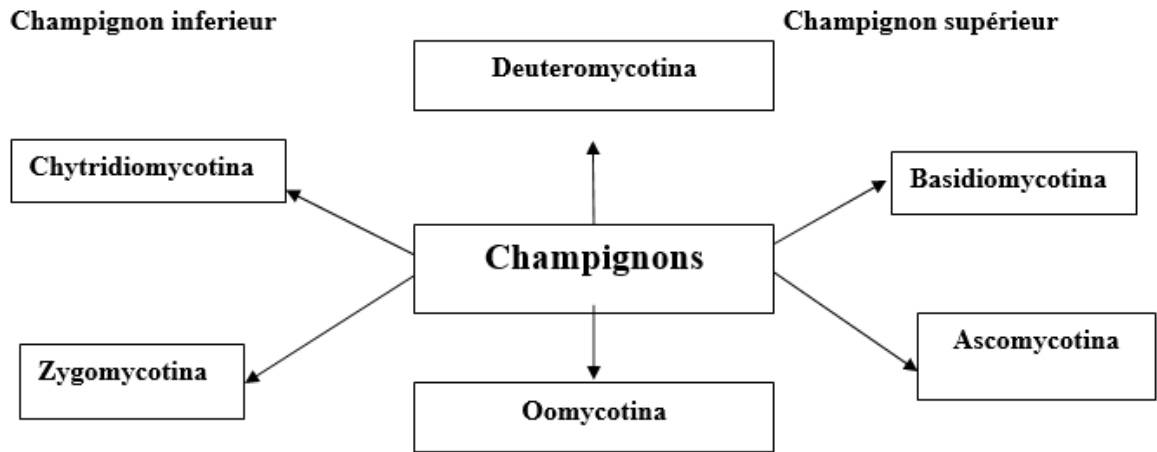


Figure 2.3 : Classification générale des champignons [109].

III.2. Définition des mycoses humaines :

Les mycoses humaines se définissent comme des maladies infectieuses dues au développement et à la multiplication de champignons pathogènes dans différents tissus et organes chez l'homme, elles peuvent être dues à des moisissures ou à des levures [110]

III.2.1. Les principales mycoses humaines :

III.2.1.1. Les dermatophytoses :

Ce sont des mycoses cutanées superficielles causées par des champignons microscopiques filamenteux kératinophiles. En effet, ces moisissures présentent une affinité importante pour la kératine [111] qu'elles attaquent grâce à des enzymes, ce qui leur permet de s'installer dans la couche cornée. Les dermatophytoses apparaissent principalement dans les zones de forte transpiration (zones interdigitales, aisselles, tronc, etc.), sur le cuir chevelu et les ongles [112, 113].

Les agents responsables appartiennent aux genres :

- **Epidermophyton** : Il appartient aux Deutéromycètes et se caractérise par un mycélium septé et des macroconidies en forme de massue (**Figure 3.3**). Ce

champignon se localise préférentiellement au niveau de la peau, très rarement au niveau des ongles et jamais au niveau des cheveux [114].

- **Microsporium** : Il touche sélectivement les cheveux et la peau, mais rarement les ongles. Ce genre appartient aussi aux Deutéromycètes et se différencie d'*Epidermophyton* par les macroconidies qui ont une paroi épaisse, présentant parfois des aspérités, et la présence des micro-conidies allongées [114]. (**Figure 4.3**).
- **Trichophyton** : Il infecte aussi bien cheveux, poils, ongles et peau. Sous microscope, le mycélium apparaît fin et septé et se fragmente pour donner des arthrospores caractéristiques [113](**Figure 5.3**).

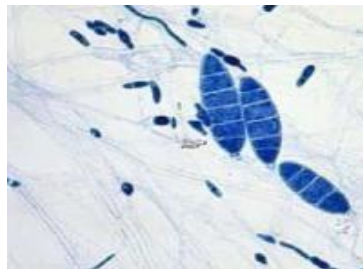


Figure 3.3: Epidermophyton

[115]

Figure 4.3 : Microsporium

[115]

Figure 5.3 : Trichophyton

[115]

Ces mycoses sont superficielles, bénignes et très contagieuses. Elles se transmettent de l'homme à l'homme (espèces anthropologiques), de l'animal à l'homme (espèces zoophiles) et de la terre à l'homme (espèces telluriques). Certaines sont cosmopolites, d'autres n'existent que dans certains pays [116].

III.2.1.2. Les candidoses :

Les candidoses sont des infections causées par des levures appartenant au genre *Candida*. Ces espèces sont des saprophytes opportunistes chez l'homme. Elles deviennent très virulentes en cas de baisse de l'immunité, notamment chez le malade atteint du VIH, induisant alors diverses infections mycosiques telles que les mycoses cutanées, muqueuses, phanériennes, septicémiques ou viscérales. Selon les zones du corps infectées, les candidoses

peuvent être classées en deux groupes : les candidoses superficielles et les candidoses profondes [117].

Les candidoses superficielles (cutané-muqueuses) :

Elles touchent la peau et les muqueuses et sont rencontrées aussi bien chez des sujets sains que chez des individus immunodéprimés (Ghannoum *et al.* 2003). Lors de ces infections les *Candida* se développent au niveau du revêtement cutané, des phanères et des muqueuses.

Les candidoses superficielles sont majoritairement dues à *Candida albicans* [118]. Mais, d'autres espèces sont aussi rencontrées comme *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* et *Candida krusei* [119, 120] (**Schéma**).

Les Candidoses cutanées : elles se manifestent sur les zones de transpiration : le pli de l'aîne, les aisselles, les zones interdigitales, les écorchures et les endroits brûlés. Elles peuvent aussi apparaître au niveau des ongles causant des périonyxis et des onyxis. [121].

Les candidoses des muqueuses : elles peuvent infecter différentes muqueuses : la cavité buccale (muguet), la muqueuse vaginale et l'œsophage [121].

Candidose systémique (viscérales ou profondes) :

Les Candidoses systémiques peuvent être causées par le passage dans le sang de la levure après une infection des muqueuses. Néanmoins, elles sont surtout rencontrées chez les patients infectés par des outils chirurgicaux non stériles. La dissémination hématogène des *Candida* (candidémie) peut causer des complications graves comme des lésions des reins, de la rate, des poumons, du foie [122, 123].

III.3. Traitement

III.3.1. Définition des antifongiques

Les antifongiques sont des molécules capables de détruire spécifiquement les différents champignons impliqués en mycologie médicale (fongicide), ou au moins de réduire leur prolifération (fongistatique). [124]

III.3.1.1. Classe des antifongiques

Il n'existe à ce jour que quatre classes d'antifongiques : les polyènes, les dérivés azolés, les dérivés pyrimidiques et les échinocandines. Représenté dans le tableau :

Tableau 1.3 : Principaux antifongiques, leur cible, ainsi que leur voie d'administration (Beytout et al. ; 2014).

Diagnostic	Agents infectieux	Antifongiques, voie, posologie, durée
Intertrigo	<i>Candida, Trichophyton rubrum, T. interdigitale</i>	Éconazole, Tioconazole , 1 à 2 applications/j pdt 1 à 6 sem.
Candidose buccale	<i>Candida</i>	Miconazole gel buccal 1 cuillère Mesure 4 fois/j pdt 7 à 15 j
Candidose digestive	<i>Candida</i>	Amphotéricine B gel ou suspension buvable 1,5 à 2 g/j; Enfant 50 mg/kg/j pdt 7 à 15 j
Candidose génitale	<i>Candida</i>	Éconazole, Tioconazole , 1 ovule Le soir au coucher pdt 1 à 2j
Périonyxis	<i>Candida</i>	Éconazole, Tioconazole , 1 à 2 applications/j pdt 1 à 6 sem.
Herpès circiné	<i>Microsporum canis, Trichophyton</i>	Éconazole, Tioconazole , 1 à 2 applications/j pdt 1 à 6 sem. ou Terbinafine PO 250 mg/j pdt 1 à 6 sem.
Teignes	<i>M. canis, M. audouini, M. langeronii, T. violaceum, T. soudanense, T. tonsurans, T. schoenleinii, T. mentagrophytes, T. verrucosum</i>	Griséofulvine PO pdt 4 à 8 sem. - Adulte 500 à 1000 mg en 2 fois/j - Enfant 10 à 20 mg/kg/j

Onyxis	<i>T. rubrum, T. interdigitale, Candida, Epidermophyton floccosum</i>	Griséofulvine PO pdt 6 à 12 mois - Adulte 500 à 1000 mg/j en 2 fois - Enfant 10 à 20 mg/kg/j
---------------	---	---

III.3.1.2. Prévention :

- **Sur Prévention des mycoses superficielles**

La prévention repose essentiellement sur des conseils hygiéno-diététiques qui ont pour but d'éviter l'apparition ou la récurrence des mycoses :

- **Prévention de la mycose cutanée**

Afin d'éviter l'apparition ou la récurrence de mycoses cutanées, différents conseils sont utiles :

- Respectez les règles d'hygiène.
- Privilégier le port de sandales, en particulier au moment de la douche ; pour les personnes pratiquant une activité sportive.
- Bien se laver, au moins deux fois par jour, et bien sécher les zones à risque (pieds, espaces interdigitoplantaires, plis...) ; surtout pour les personnes sujettes à une forte transpiration.
- Prendre des douches plutôt que des bains et utiliser des savons acides dans les cas de dermatophyties et des savons neutres ou alcalins dans les cas de candidoses.
- Respecter l'équilibre glycémique (pour les personnes diabétiques) : en effet, les champignons se développent massivement en présence de sucre et les mycoses peuvent être à l'origine de lésions plantaires irréversibles chez les patients atteints du diabète. [125].

IV.1. La Formulation

La formulation est «la Connaissance de la science des matériaux et de la chimie physique, jointe à l'art d'arriver à la meilleure combinaison de constituants. Alors que la chimie traite de la réaction chimique entre substances, la formulation traite de la coexistence de substances sans réactions chimiques » [126].

Elle est aussi « L'ensemble des connaissances et des opérations mises en œuvre lors du mélange, de l'association ou de la mise en forme d'ingrédients d'origine naturelle ou synthétique, souvent incompatibles entre eux, de façon à obtenir un produit commercial caractérisé par sa fonction d'usage et en aptitude à satisfaire un cahier de charges préétabli » : [127].

IV.1.1. Définition de plan d'expérience

Un plan d'expériences est une méthode pour planifier ou organiser les expériences scientifiques et industrielles dans le but de retirer l'information correspondante à l'objectif fixé préalablement. Leur but est d'obtenir un maximum d'informations avec un minimum d'expérimentations par rapport à l'objectif que l'on s'est fixé. Les plans d'expériences sont appliqués dans différents domaines des sciences : agronomie, biologie, calcul numérique, chimie, électronique, marketing, mécanique, physique... et cela, à tous les niveaux, depuis la recherche fondamentale jusqu'à la satisfaction du client [128].

IV.1.2. Types de plans d'expériences

Un plan d'expériences définit un ensemble d'expériences réparties dans le domaine expérimental. Il existe de nombreux types de plans d'expériences et le choix de l'un d'eux peut s'avérer difficile. Le principe de ce choix est de sélectionner le plan le plus rentable, présentant le moins d'expériences possibles pour obtenir le plus d'informations possible.

Deux familles de types de plans peuvent être distinguées. D'une part, les plans "usuels" ont été conçus pour des applications sur des systèmes réels, pour lesquels les expériences peuvent être très coûteuses, longues et difficiles à mettre en place. D'autre part, les types plus spécifiquement utilisés pour des applications numériques, dont le but principal est de générer une distribution d'expériences remplissant de la meilleure façon le domaine expérimental [129].

Parmi les plans d'expérience les plus utilisés sont [130] :

- Plans factoriels complets à deux
- Plans factoriels fractionnaires à deux niveaux.
- Plans à plusieurs niveaux.
- Plans pour surfaces de réponse.
- Plans de mélanges.

IV.2. Les émulsions

IV.2.1. Définitions

Une émulsion est un système complexe appartenant à la famille des systèmes dispersés. Selon l'IUPAC, une émulsion est une dispersion de gouttelettes d'un liquide dans une phase continue d'un autre liquide avec lequel il est pratiquement non miscible [131]. Le liquide sous forme de gouttelettes est qualifié de phase dispersée, phase discontinue ou encore phase interne tandis que l'autre liquide est la phase dispersante, phase continue ou phase externe [132]. La zone séparant les deux liquides est appelée interface ou film interfacial. Ce système est thermodynamiquement instable mais peut présenter une stabilité cinétique, parfois considérable, en présence des composés ou des particules amphiphiles localisées à l'interface des deux phases (**Techniques de l'Ingénieur**,2006)

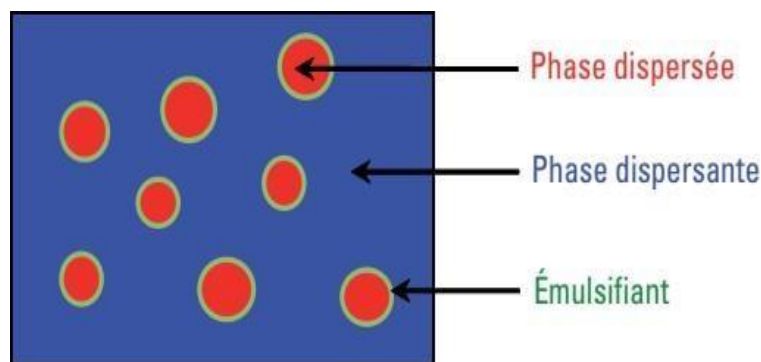


Figure 1.4: Représentation d'une émulsion [133].

IV.2.2. Classification des émulsions

- **Selon le type de l'émulsion**

Les émulsions sont qualifiées de « directes » ou « inverses », selon la nature aqueuse ou huileuse de la phase continue. Si la phase externe est la phase huileuse,

l'émulsion est dite « directe » de type eau dans huile (E/H), tandis que si la phase huileuse est la phase continue (ou phase externe) l'émulsion est « inverse » de type huile dans eau (H/E) [134];

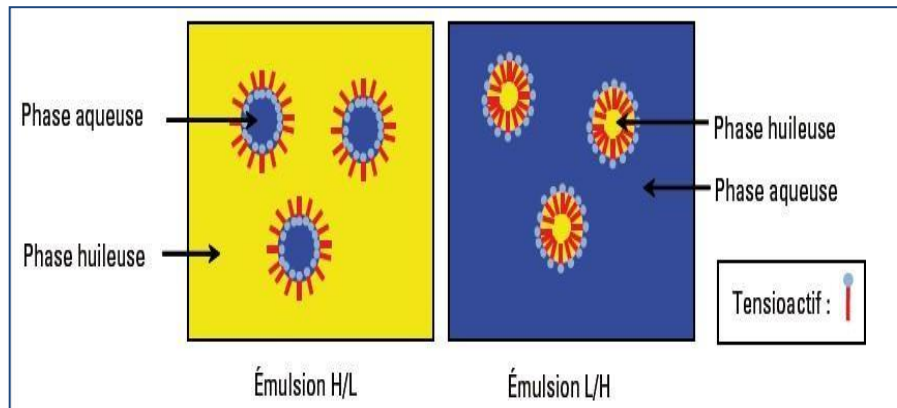


Figure 2.4 : Différents types d'émulsions [135]

- **Selon la fraction volumique**

Les émulsions sont aussi classées selon la fraction volumique de phase dispersée (Φ). En particulier, les émulsions sont considérées comme diluées si la fraction volumique (Φ) est inférieure à 5% [135] et comme concentrées lorsqu'elle est supérieure ou égale à 74%, cette valeur correspond à la fraction volumique de l'empilement compacte de sphères indéformables de même taille. Ces émulsions peuvent atteindre des valeurs de 99%, c'est pourquoi elles sont dénommées émulsions très concentrées. En plus, les gouttelettes dans la phase continue ne sont pas homogènes [136, 137].

- **Selon la taille des gouttelettes de la phase discontinue [136]**

- ✓ **Les macro-émulsions :**

Ce sont des émulsions grossières dont le diamètre des gouttes est de 1 à 10 μm .

- ✓ **Les nano/mini-émulsions :**

Présentent des micros domaines qui ne sont pas nécessairement sphériques, de petite dimension, typiquement de l'ordre de 0,1 à 1 μm .

- ✓ **Les microémulsions:**

Elles sont décrites comme des systèmes bi-phasiques composés de gouttelettes très fines (10-200 nm) d'un liquide dispersé dans un autre liquide [135]

IV.2.3. Phénomène de la formation, déstabilisation et stabilisation des émulsions

IV.2.3.1. Formation d'une émulsion (Émulsification)

Une bonne maîtrise de la formulation permet d'assurer ou garantir la préparation d'émulsions stables, le procédé d'émulsification (type et géométrie d'agitation, vitesse et temps d'émulsification...), ainsi que les conditions qui montrent le type de l'émulsion formé. Ils jouent un rôle très important dans l'élaboration et les caractéristiques finales de ces systèmes (finesse, stabilité). L'apport d'énergie au système est indispensable pour créer de la surface entre les deux phases.

Généralement, quel que soit le type de l'émulsion (H/E ou E/H), l'émulsification se décompose en deux étapes successives :

- Une étape de dispersion-mélange que l'on appelle « pré-émulsification » des deux phases dans lesquelles on a dissout au préalable tous les constituants, parmi eux les émulsionnants [138], et qui va conduire à une simple mise en suspension de gouttelette de la phase dispersé dans la phase contenue.
- L'introduction des émulsionnant peut se faire de quatre façons différentes :
 - On peut introduire les émulsionnants dans la phase aqueuse.
 - On peut inversement les introduire dans la phase huileuse.
 - On peut, aussi, introduire chaque émulsionnant dans son solvant préférentiel (l'émulsionnant hydrophile dans l'eau, et l'émulsionnant lipophile dans huile).
 - On peut, enfin, préparer l'émulsionnant « in situ », en introduisant, par exemple un acide gras dans l'huile, et une base dans l'eau [138].
 - Une étape d'homogénéisation : Comme les deux liquides mis en présence ne sont pas miscibles, pour mélanger les phases, avec une température spécifique nous devons ajouter de l'énergie. Dont le but est de créer une très grande interface entre les deux phases et de réduire la taille des gouttes de façon à conférer à l'émulsion les propriétés requises et à la stabiliser.

Ces deux opérations s'effectuent dans des cuves agitées ou dans des conduites munies d'outils appelés respectivement disperseurs et homogénéisateurs. Ainsi il y a plusieurs moyens mécaniques de dispersion sont utilisables : mélangeur à hélice, mélangeur statique, broyeur colloïdal, ultrasons ou homogénéisateur à haute pression. Le type de système de dispersion est à choisir en fonction de la finesse désirée pour l'émulsion [139]

IV.2.3.2. Les mécanismes de déstabilisation des émulsions

Les émulsions peuvent être se déstabiliser, donc on distinct trois formes d'instabilité :

- **Déstabilisation chimique** : Comme toutes les formes pharmaceutiques, l'émulsion peut être le siège de réactions entre le principe actif et les autres composants de la phase grasse ou la phase aqueuse ou encore entre le conditionnement primaire et les composants de l'émulsion, une étude détaillée des possibilités d'interférences entre les différents composés est nécessaire pour éviter les incompatibilités éventuelles.
- **Déstabilisation biologique** : L'émulsion peut constituer un milieu nutritif idéal pour les microorganismes, la contamination bactérienne et fongique est susceptible d'engendrer la rupture du système.
- **Déstabilisation physique** : Au cours du temps, une émulsion évolue fatalement vers la séparation des phases.

Les mécanismes de déstabilisation d'une émulsion peuvent être répartis en deux catégories :

- ✓ La première regroupe les phénomènes de migration des gouttes et met en jeu des phénomènes réversibles : floculation, sédimentation et crémage.
- ✓ La seconde concerne la variation de taille des gouttes, consistant en des processus irréversibles : coalescence, mûrissement d'Ostwald ou inversion de phase [140].

Ce sont les causes d'instabilité les plus fréquentes, ces phénomènes peuvent survenir au moment de la formulation ou en cours de conservation, leur maîtrise est une condition essentielle dans la mise au point des émulsions : [141]

- ✓ Migration des particules : floculation, crémage, sédimentation :

- **Crémage et sédimentation** :

Le crémage est un mécanisme de déstabilisation selon lequel les gouttelettes d'huile remontent en surface dû à leur différence de densité avec la phase continue [142], La sédimentation est le phénomène inverse, observable par exemple dans l'émulsion eau dans huile. L'eau ayant une densité plus importante, les gouttelettes vont migrer vers le bas de la solution. Ce phénomène, comme peut être minimisé en réduisant la différence de densité entre les deux phases ou en augmentant la viscosité du milieu car ceci diminue le mouvement des gouttelettes à travers la phase continue. Ces phénomènes sont réversibles, une simple agitation permet de distribuer les gouttelettes dans la phase continue [143]

Floculation :

La floculation est un mécanisme qui a pour origine une adhésivité des gouttes, résultat d'une compétition entre l'agitation thermique et les forces de van der Waals. Ce phénomène consiste en un rapprochement des gouttes qui, initialement éloignées les unes des autres, viennent s'agréger.

La floculation est fortement influencée par la fraction de la phase dispersée, la viscosité de la phase continue et l'interaction entre les gouttelettes. Elle est aussi influencée par la taille des gouttelettes, la distribution de leur taille et l'épaisseur de la couche d'émulsifiant adsorbée. Ce phénomène peut être réversible lorsque l'attraction est peu énergétique ou irréversible lorsqu'elle est très énergétique [144].

- **Variation de la taille des particules (changement du nombre de particules) :**

- ✓ **Mûrissement d'Ostwald** : Le mûrissement d'Ostwald est une évolution lente et irréversible des émulsions qui a pour origine la différence de pression entre les petites et les grosses gouttes (pression de Laplace). La dite pression existant entre deux gouttes de tailles différentes provoque la migration des molécules constituant la plus petite goutte, à travers la phase continue, vers la goutte de plus grande taille. Deux stratégies principales permettent de limiter ce phénomène. La première consiste à diminuer la migration des molécules, soit en utilisant une phase dispersée parfaitement insoluble dans la phase continue, soit en créant, à la surface des gouttes, une barrière infranchissable pour les molécules. La seconde stratégie est de partir d'une émulsion parfaitement mono dispersée : la pression étant alors égale dans toutes les gouttes, le mûrissement d'Ostwald ne peut pas avoir lieu. Enfin, il est également possible d'ajouter, dans la phase dispersée, une espèce non soluble dans la phase continue, qui ne peut donc diffuser. En augmentant la pression capillaire dans les gouttes, cette espèce peut alors réduire le phénomène de mûrissement [145].

- ✓ **Coalescence** : La coalescence est un mécanisme qui consiste en la fusion irréversible de deux ou plusieurs gouttes adjacentes de phase dispersée, pour former une goutte plus grosse. Elle peut mener à la destruction de l'émulsion, et donc à la séparation de deux phases non miscibles. A l'échelle de deux gouttes, ce phénomène se décompose en trois étapes : Le rapprochement des deux gouttes, le drainage puis la rupture du film interfacial.

La coalescence est généralement influencée par la fraction volumique de la phase dispersée, la viscosité et l'épaisseur de la couche d'émulsifiant

adsorbée et la cristallisation de la matière grasse. Elle est aussi influencée par la viscosité de la phase continue et par les interactions électrostatiques et macromoléculaires entre les gouttelettes. Ce phénomène est irréversible [146].

✓ **Inversion des phases :**

L'inversion des phases est un phénomène qui se traduit par un brusque changement du sens de l'émulsion. L'émulsion E/H se transforme en une émulsion H/E ou inversement, et les propriétés du milieu diphasique s'en trouvent

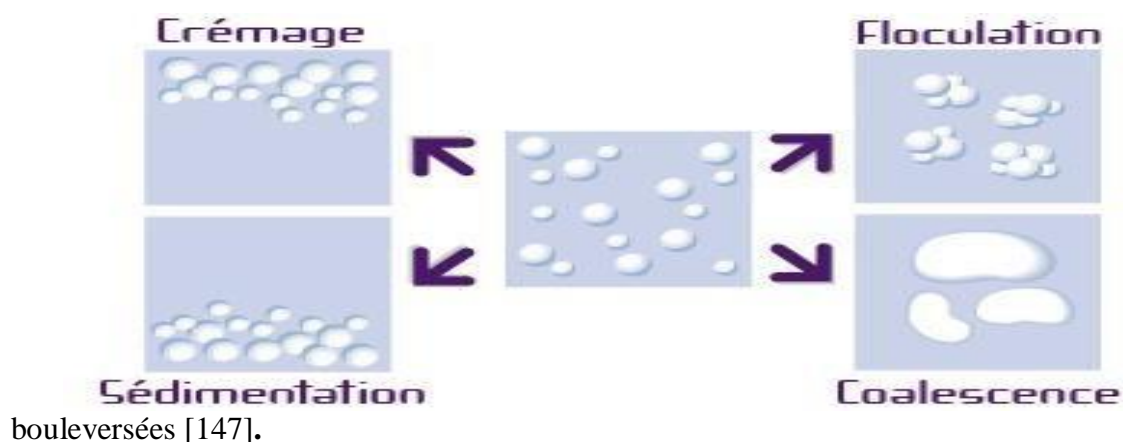


Figure 3.4 : Les mécanismes de déstabilisation des émulsions.

IV.2.3.3. Mécanismes de stabilisation des émulsions :

Pour que l'émulsion soit persistante (c'est-à-dire que l'état dispersé demeure lorsque l'agitation mécanique cesse), il est nécessaire d'utiliser un agent émulsionnant ou émulsifiant. Bien qu'il puisse aussi faciliter le phénomène de dispersion en abaissant la tension interfaciale, le rôle de l'agent émulsifiant est surtout de stabiliser le système dispersé en inhibant les phénomènes de dégradation.

Parmi les agents émulsionnants, citons les tensioactifs, les polymères, les cristaux liquides et les solides divisés. Les émulsionnants les plus largement utilisés sont les tensioactifs. Il est judicieux alors d'utiliser un mélange de tensioactifs, dont la composition peut être ajustée de manière à optimiser la formulation [148]

IV.3. Les tensio-actifs

IV.3.1. Définition

Les tensio-actifs sont des composés amphiphiles comportant deux parties de polarité différentes bien distinctes, l'une est lipophile et apolaire, présente une affinité pour les huiles. L'autre hydrophile et polaire, présente une affinité pour l'eau. La tête hydrophile est généralement constituée d'un ion ou d'un groupement possédant un moment dipolaire et la queue hydrophobe d'une ou de plusieurs chaînes aliphatiques.

Les tensioactifs « surfactants » en terme anglo-saxon sont des agents de surface capables de réduire la tension interfaciale des mélanges en s'adsorbant aux interfaces [147]

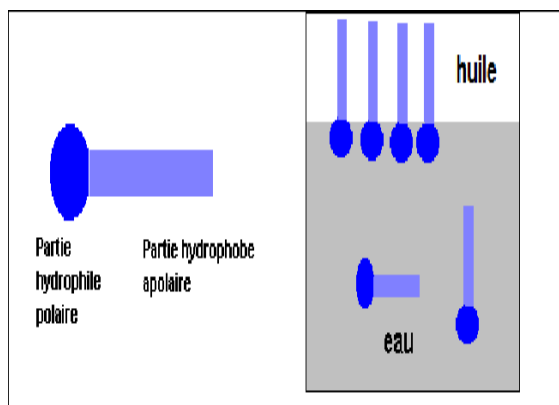


Figure 4.4: Schéma simplifié d'une molécule de tensioactif.

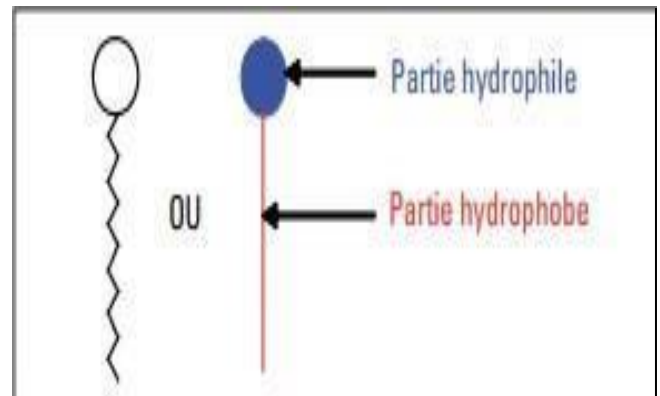


Figure 5.4 : Représentation d'un tensioactif.

IV.3.2. Mode d'action des tensio-actifs

En milieu air-eau, les molécules tensio-actives s'organisent à la surface de telle sorte que la tête hydrophile soit au contact de l'eau et que la chaîne hydrophobe soit orientée vers l'extérieur dans l'air pour former un film mono-moléculaire. Ce phénomène provoque une diminution de la tension superficielle du liquide proportionnellement à la concentration en tensioactifs selon la loi de Gibbs [149].

En émulsion, les parties hydrophile et hydrophobe du tensioactif (émulsifiant) ont de l'affinité respectivement pour la phase hydrophile hydrophobe de l'émulsion.

Généralement l'émulsifiant peut agir sur la stabilité d'une émulsion de trois façons :

- ✓ Soit en diminuant la tension interfaciale entre les deux liquides, donc augmentation de la surface de séparation c'est le cas des surfactifs dont les molécules viennent former un film à l'interface. Cette propriété est responsable des phénomènes de mouillage, de dispersion, de détergence et d'émulsification.
- ✓ Soit en augmentant la viscosité de la préparation, cas d'une gomme par exemple.
- ✓ Soit en agissant à la fois sur la tension interfaciale et sur la viscosité, c'est ce qui se

produit lorsqu'on met un surfactif non-ionique en grosse excès ; une partie agit à l'interface, pour baisser la surface interfaciale et l'autre augmente la viscosité de la phase aqueuse dispersante [149].

IV.3.3. Classification des tensioactifs :

Il existe différentes classifications possibles des tensioactifs :

- Selon leur origine : (naturelle ou synthétique).
- Selon la longueur de la partie lipophile : agents mouillants (C_8-C_{10}), détergents ($C_{12}-C_{16}$), émulsionnants ou adoucissants ($C_{18}-C_{22}$).
- Selon la nature de leur tête polaire : (non ionique, anionique, cationique ou

Amphotère) :

✓ Les tensioactifs anioniques :

Comportent un groupement ionique chargé négativement en solution aqueuse : carboxylate, sulfate, sulfonates ou phosphate. Ce sont les agents tensioactifs les plus utilisés industriellement [150]

✓ Les tensioactifs cationiques :

Comportent un groupement ionique chargé positivement en solution aqueuse, ce sont généralement des sels d'ammonium quaternaire [151].

✓ Les tensioactifs non ioniques :

Leur molécule ne comporte aucune charge nette (ne s'ionise pas dans l'eau). Ce sont donc d'excellents candidats pour les formulations complexes. Les surfactifs non ioniques sont émulsionnants, solubilisant et mouillants [152].

✓ Les tensioactifs amphotères (zwitterioniques) :

Comportent deux groupements ioniques, l'un cationique et l'autre anionique, qui se neutralisent au pH isoélectrique. Ils sont par conséquent parfois classifiés comme non ioniques [153]

Les diverses utilisations des tensioactifs peuvent découler de leur valeur HLB

..Tableau 1.4 : valeurs de HLB et surfactants et les fonctions associées.

Gamme HLB	Application
3 – 6	Emulsifiant eau dans huile E/H

7 – 9	Agent mouillant
8 – 18	Emulsifiant huile dans eau H/E
13 – 16	Détergent
15 – 18	Solubilisant, hydrotrope

Le concept HLB, permet de formuler, d'une manière particulièrement rationnelle, des émulsions stables. La méthode HLB est basée sur une classification des tensioactifs par hydrophilie croissante. Elle correspond au rapport entre la proportion des groupements hydrophiles, ayant une affinité pour l'eau, et la longueur de la chaîne lipophile, ayant une affinité pour l'huile.

Le HLB des émulsifiants peut être classé selon l'échelle de Davies. En dessous d'un HLB d'une valeur de 9, l'émulsifiant est de caractère lipophile tandis qu'entre 11 et 20, il a un caractère hydrophile [154].

IV.4. Rhéologie :

La rhéologie est la science de l'écoulement et de la déformation de la matière sous l'action de contraintes. Entre le fluide newtonien (fluide idéal dont la viscosité ne dépend pas du cisaillement) et le solide élastique (solide qui se déforme sous sollicitation, qui reprend sa forme initiale en l'absence de contrainte, mais qui ne s'écoule pas) se situent les fluides viscoélastiques. Les émulsions font partie des fluides au comportement intermédiaire : les fluides viscoélastiques. La dispersion des particules ainsi que les interactions entre elles, sous forme de forces attractives ou répulsives, expliquent leur caractère non newtonien [155], La viscosité de la préparation détermine son conditionnement, son utilisation et certains caractères organoleptiques.

La rhéologie est déterminée par la composition et la structure de l'émulsion.

La viscosité dynamique du système est étudiée en imposant une contrainte de cisaillement. En faisant varier la contrainte, nous obtenons des rhéogrammes permettant de caractériser le fluide. Si la viscosité ne dépend pas de la contrainte, le fluide est Newtonien, si sa viscosité augmente avec la contrainte il est rhéoépaississant et si elle diminue avec la contrainte il est rhéofluidifiant. Il existe d'autres cas plus complexes comme les fluides à seuil (se comportant comme des solides élastiques en dessous d'un seuil de contrainte pouvant induire l'écoulement) ou les fluides thixotropes (dont la viscosité dépend de «

l'histoire » du fluide).

La viscosité d'une émulsion dépend à la fois des paramètres propres à sa composition :

- Sa concentration ;
- sa granulométrie (les émulsions fines et monodispersées sont plus visqueuses) ;
- Sa viscosité de la phase continue ;
- Sa tension interfaciale ;
- Sa viscosité de la phase dispersée ;

Et des paramètres extérieurs :

- La température ;
- L'historique du cisaillement (notamment dans le cas des fluides thixotropes).

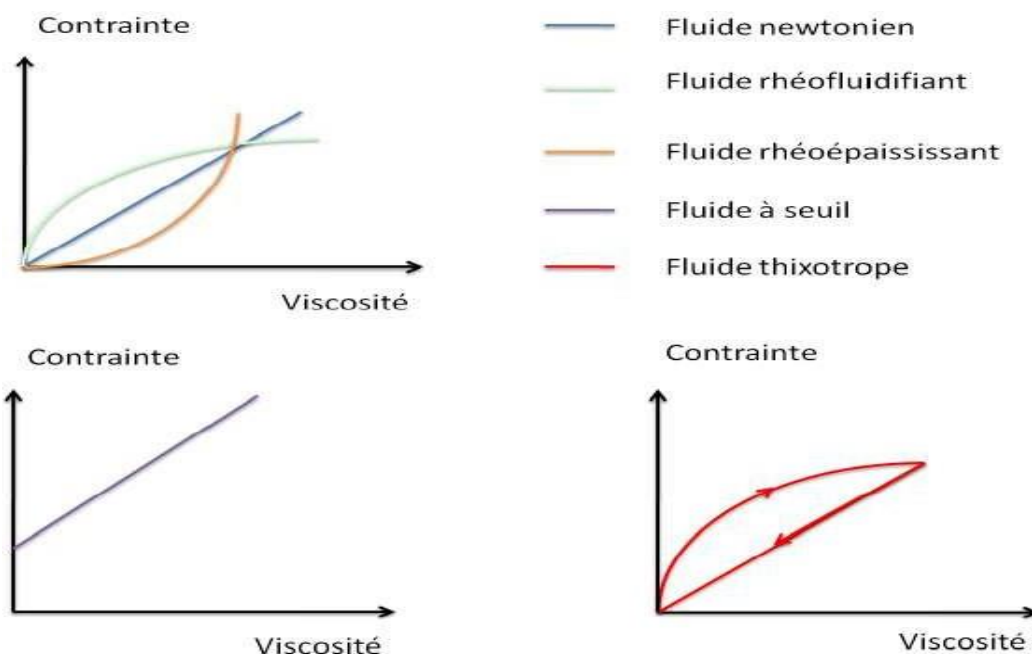


Figure 6.4 : Comportement rhéologique des émulsions [156]

IV.5. Contrôle des émulsions

Une émulsion est d'autant plus stable qu'elle pourra résister, dans des conditions déterminées, aux phénomènes de destruction (mûrissement d'Ostwald, coalescence et inversion de phase) et aux tendances à l'inhomogénéité (crémage et sédimentation, floculation) [157]

IV.5.1. Contrôle macroscopique

Ce test est basé sur les critères suivants :

➤ **Caractères visuels**

- **Aspect** : Il dépend de la nature des phases constituantes et de l'état du principe actif, il peut être brillant, satiné ou mat ou bien transparent, translucide ou opaque.
 - **Consistance** : elle revêt différents qualificatifs, il est possible par exemple de décrire une rigidité compacte ou filante ou une gélification, ferme ou tremblante.
 - **Homogénéité** : elle est primordiale et doit être vérifiée au niveau de l'aspect qui est lisse ou granuleux et de la couleur.
1. *Critères olfactifs* : Il faut détecter d'une part la présence ou l'absence de particules étrangères et d'autre part l'odeur typique (PA, excipients, parfums).
 2. *Critère tactile* : C'est l'aspect d'étalement sur le revêtement de la main, si la préparation n'est pas caustique, il faut préciser le toucher qui peut être gras, évanescent, collant, granuleux, lisse, ou rugueux [158].

➤ **Examen microscopique.**

L'examen microscopique est le premier essai effectué pour identifier les systèmes obtenus. Il constitue un excellent moyen pour suivre la stabilité de ces systèmes lors du vieillissement. Le microscope optique est une méthode d'analyse usuelle pour la multiplicité des systèmes, cette méthode permet d'avoir une idée sur la taille des globules aqueux internes souvent de l'ordre du micromètre [155]

IV.5.2. Détermination du sens de l'émulsion.

Pour lever toute ambiguïté sur le sens d'une émulsion, il convient de réaliser une des méthodes proposées [159].

- **Méthode de dilution** : Elle correspond à introduire dans un tube à essai contenant de l'eau une petite quantité de l'émulsion, si cette dernière surnage sur l'eau, c'est que la phase continue est huileuse. Dans le cas contraire, on assiste à une dispersion facile, et on a une émulsion à phase continue aqueuse.

- **Méthode de coloration** : C'est l'introduction d'un colorant de nature connue. Si le colorant est liposoluble et l'émulsion est de type E/H on a la propagation de la couleur, si non l'émulsion est de type H/E. Les émulsions de type H/E sont colorées par les colorants.
- **Méthode de mesure de la conductivité électrique.** : La conductivité électrique est celle de la phase continue. L'émulsion est conductrice de l'électricité si elle est de type H/E, et non conductrice si elle est de type E/H.
-

IV.5.3. Contrôle de stabilité.

La stabilité d'une émulsion peut être appréciée dans une éprouvette graduée, par l'observation à intervalles réguliers de la sédimentation, du crémage, de la coalescence et de la séparation de phases. D'autres types de contrôles de la stabilité peuvent être ajoutés [159].

Stabilité à la centrifugation : Cette détermination est utilisée comme test prévisionnel de stabilité des émulsions par de nombreux auteurs, fixant une limite d'un certain nombre de tours/minute pour lesquelles aucun phénomène d'instabilité n'est apparu (déphasage ou crémage) [155].

Stabilité aux températures élevées de stockage : Les échantillons sont stockés à des températures et pendant des durées définies suivant une procédure bien établie. Les températures de stockage varient généralement entre 5 et 55°C pendant des périodes allant de 3 mois, 6 mois, 1 an, et peuvent aller jusqu'à 4 ans [155].

IV.5.4. Contrôle microbiologique

Les émulsions de type H/E peuvent être contaminées puisqu'elles contiennent de hautes teneurs en eau qui favorisent la prolifération bactérienne [159]

IV.5.5. Détermination du pH. Ce contrôle n'est pas spécifique. Cette détermination se fait avec des réactifs colorés ou des pH-mètres [155].

Notre travail expérimental se divise en trois étapes principales. La première consiste à l'extraction et la caractérisation des HE, l'extraction et l'identification de la substance active des deux plantes *Origanum.F* et *Thymus.F*. Ensuite, la deuxième étape présente la vérification de l'activité thérapeutique des extraits et des HE obtenus. La dernière étape porte sur la formulation d'une forme galénique semi solide : crème à base de l'extrait méthanolique et des huiles essentielles et un principe actif de synthèse (TBH), et étudier le comportement rhéologique, les propriétés physicochimiques et organoleptiques de la crème. et la cinétique de la libération du P.A des crèmes.

V.1. Lieu du stage

Dans le cadre de l'extraction, valorisation et de la recherche d'éventuelles activités biologiques des deux plantes *Origanum floribundum* et *Thymus fontanesii*, et la formulation des crèmes nous avons mené une étude expérimentale au sein du Laboratoire de génie chimique (156) du département génie des procédés UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB, BLIDA 1, Laboratoire (Bio lera) et département physico-chimique (SAIDAL MÉDÉA, Dar El Beida) durant une période qui s'étale du mois février jusqu'au mois de Juin 2023.

V.2. Matériel utilisé

➤ Les produits chimiques :

Les solvants utilisés sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 1.5 : les solvants chimiques utilisés

Solvant	Marque
Méthanol	Biochem Chemopharma
Éthanol	Biochem Chemopharma
DMSO	Biochem Chemopharma

➤ Les matières premières :

Les matières premières utilisés sont représentées dans le **tableau** suivant :

Tableau 2.5 : les matières premières utilisés

Les procédés	Les produits chimiques
Screening Phytochimique	-Acide Sulfurique

	<ul style="list-style-type: none"> -Acide Chlorhydrique. -Anhydride acétique -Chloroforme -Chlorure de Fer -Chlorure d'aluminium -Chlorure de Mercure -Carbonate de Sodium -Ammoniaque -Hydroxyde de Sodium - Iode -Iodure de Potassium -Folin-Ciacalto -Acide gallique -Quercétine -Vanilline
Test in vitro (antioxydant)	DPPH
Formulation de la synthèse.	<ul style="list-style-type: none"> -Huile de vaseline - Alcool stéarylique - Alcool cétylique - Span 60 - Terbinafine chlorhydrate Phosphate monopotassique -Phosphate disodique dodécahydraté -Tween 80
Formulation hybride.	<ul style="list-style-type: none"> -Huile de vaseline - Alcool stéarylique - Alcool cétylique - Span 60 - HEO 5% - HET 5%

	<ul style="list-style-type: none"> - O 3.5% - Tween 80
--	--

➤ **Les instruments utilisés :**

On a utilisé différents appareillages de laboratoire :

Tableau 3.5 : Les instruments utilisés

Les instruments	Noms
Spectrophotomètre UV / Visible	SHIMADZU UV 1800
Le bain ultrason	X-tra 30 H
Infra Rouge	FTIR-8900
Évaporateur rotatif	HEIDOLPH
Homogénéisateur	IKA 25
Agitateur magnétique	IKA 25
Centrifugeuse	Eppendorf
Rhéomètre	Anton Paar MCR 102
Microscope	Optika Microscope ItaySeries
Balance de précision	(Denver instrument).
Agitateur mécanique à bras	
Un bain-marie	(MEMMERT)
Plaque chauffante	(HEIDOLPH MR Hei-Standard)
pH-mètre	(OHAUS, STAETER 3100)
Centrifugeuse à froid	(Orto Alresa, Digtor 22 R)
Spectrophotomètre UV-VIS	(SHIMADZU UV-mini-1240, Perkin Elmer Lambda 25 UV/VIS Spectromètre)
Microscope	Olympus Japan.
Viscosimètre	(BOHLIN VISCO 88)
Cellule de FRANZ modifiée	

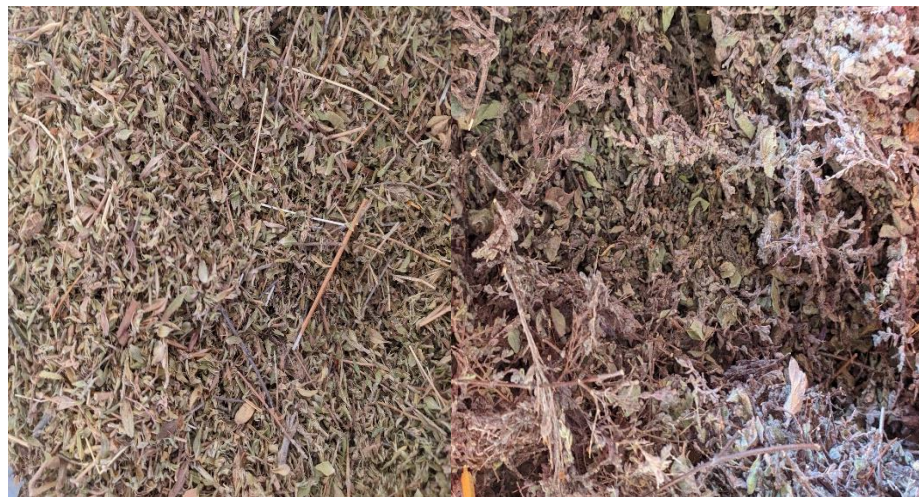
➤ **Matériel végétal**

Le matériel végétal utilisé dans cette étude correspond à des parties aériennes des deux plantes *Origanum Floribundum* et *Thymus Fontanesii*.

L'identification de ces plantes a été faite par monsieur BOUTOUMI, professeur à l'université de Blida 1, et aussi par monsieur METTAI, botaniste et enseignant à l'université de Blida 1.

➤ Séchage et stockage

Après la récolte, les échantillons ont été nettoyés avec l'eau à fin d'éliminer les impuretés et ils sont étalés sur du papier, pour séchage à l'air libre et à l'abri de la lumière et l'humidité. Ils sont étendus, sans superposition, et retournés de temps en temps afin d'éviter tout risque de fermentation, sous température ambiante (15 – 25 °C), pendant 4 à 6 jours, afin de garder intacte les substances actives des feuilles, des tiges et des fleurs et éviter la pourriture. Par la suite, elles sont broyées manuellement. La poudre de ces plantes est de couleur marron. Ces dernières ont été conservées dans des flacons propres en verre hermétiquement fermés à l'abri de l'humidité. Jusqu'au jour de l'extraction



(A)

(B)

Figure 1.5 : *.Thymus.F(A)* et : *Origan.F.(B)*

. Choix, localisation des deux plantes :

Le choix des deux sites (la région de Hammam Melouane, la wilaya de Blida et la

wilaya de Tizi Ouzou) a été basé sur des critères écologiques (climat, sol, précipitations et altitude). Ces derniers ont une influence sur le développement de la plante, sur les métabolites secondaires et sur l'anatomie de la plante sur lesquelles nous avons focalisé notre travail.

V.3. Extraction des huiles essentielles

Plusieurs techniques d'extraction des HE et des principes aromatiques végétaux sont à ce jour connue, mais seulement L'extraction des huiles essentielles, selon le procédé d'hydrodistillation, qui est le seul mode d'extraction recommandé par **la Pharmacopée Européenne** [160, 161].

Le procédé d'obtention des HE intervient d'une façon déterminante sur sa composition chimique [162].

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, dans cette étude la méthode étudiée : hydrodistillation, pour l'extraction des huiles (*Origan.F*, *Thymus.F*). L'extraction d'huile essentielle a été réalisée au niveau de l'entreprise privée d'extraction des HE et HV marque « BioLera » BLIDA type d'extraction Clevenger.

V.3.1. Principe de la méthode

La plante renfermant l'huile essentielle désirée est placée dans un ballon contenant un volume d'eau, puis le mélange est porté à ébullition. Lors de l'évaporation, les composés volatils de l'huile essentielle recherchée sont entraînés par la vapeur d'eau. Ces vapeurs se condensent ensuite dans un réfrigérant et se liquéfient dans un récipient, formant ainsi le distillat.

En général, le distillat présente deux phases non miscibles : les huiles essentielles et l'eau [63]

V.3.2. Mode opératoire de l'hydro distillation :

Dans cette méthode, un appareil de type Clevenger modifié est utilisé. Pour ce faire, une quantité de 50 g de matière végétale, composée des parties aériennes telles que les feuilles et les sommités fleuries des espèces étudiées, est placée dans un ballon de 1 L rempli à 2/3 de sa capacité avec de l'eau. Ce ballon est ensuite chauffé et maintenu en ébullition pendant une durée de 1 heure.

Le chauffage du ballon génère de la vapeur chargée en composés volatils. Cette vapeur se condense au contact d'un réfrigérant et le liquide résultant est recueilli dans une ampoule

à décanter, permettant ainsi la séparation des deux phases non miscibles : une phase aqueuse et une phase organique. Cette dernière phase constitue l'huile essentielle (HE) qui sera ensuite traitée avec du sulfate de sodium anhydre afin d'éliminer toute trace d'eau.

L'huile essentielle, après séchage et séparation du sulfate de sodium par filtration sur de la laine de verre, est conservée à une température de réfrigération en vue de son analyse ultérieure.

V.3.3. Conservation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des produits très sensibles à l'altération, ce qui peut se traduire par des changements de couleur. De plus, elles ont tendance à s'oxyder rapidement, ce qui les rend acides et potentiellement irritantes lorsqu'elles sont exposées à l'air. Pour préserver leurs propriétés, il est essentiel de les stocker dans des flacons appropriés en acier inoxydable, en verre teinté ou en aluminium, à l'abri de la lumière et de la chaleur.

Il est important que les flacons utilisés pour la conservation des huiles essentielles soient secs et propres afin de prévenir toute contamination (**valent, 1983**).

Ainsi, les huiles essentielles obtenues ont été transférées dans de petits flacons, puis conservées à une température de réfrigération de 4 °C.

V.3.4. Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile récupérée (MHE) et la masse de la matière végétale (MV) séchée à l'air libre, exprimées dans la même unité de masse.

Le rendement en HE, exprimé en pourcentage, est donné par la relation suivante :

$$R(\%) = \frac{m_0}{m_1} \cdot 100 \quad \text{Eq. 1} \quad \text{avec :}$$

m₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

m₁ : Masse d'huiles essentielles récupérées

R (%) : Rendement exprimé en %.

V.3.5. Caractéristique physicochimique d'huiles essentielles :

Ces analyses sont faites en conformité aux normes **A.F.N.O.R (1994)**. Nous avons déterminé

ses caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur, saveur) quelques caractères physiques à savoir la densité, l'indice de réfraction, la miscibilité dans l'alcool, trois indices chimiques en l'occurrence l'indice d'acide, l'indice d'ester et Indice de saponification (**Is**).

V.3.5.1. Détermination des indices physiques

- **Densité**

Principe : elle constitue un point de repère important, sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE [163].

Densité relative à 20°C : Norme NF T 75 – 111 :

La densité relative à 20°C d'une HE définie comme étant le rapport de la masse d'un volume d'HE à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C [164].

- Si la densité est inférieure à 0,9 ; les essences des plantes végétales sont riches en terpènes.
- Dans le cas où elle est supérieure à 1 ; les essences des plantes végétales contiennent des produits de la série aromatique ; des sulfures et des
- Enfin si la densité est comprise entre 0,9 et 1 ; les essences ont une composition.

Mode opératoire : pour déterminer la densité, nous avons évalué la masse m_0 du pycnomètre vide de 1 ml ; la masse m_1 ; du pycnomètre rempli d'eau distillée. Puis la masse m_2 du pycnomètre contenant l'HE.

La densité relative est donnée par l'expression :

$$d^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \quad Eq. 2$$

- **Indice de Réfraction (Ir) à 20 °C : Norme NF T 75-112 :**

Principe :

L'indice de réfraction est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE

maintenu à une température constante. La température de référence est de 20° C [164]

Mode opératoire :

Utilisant un réfractomètre permettant la lecture directe d'indices de réfraction situés entre 1.300 et 1.700, l'appareil est ajusté de manière à donner, à la température de 20 °C, une valeur de 1.333 pour l'eau distillée. Quand la détermination est effectuée à une température (T °C) différente de 20 °C, on effectue la correction à 20 °C par le biais de la formule :

$$n_D^{20} = n_D^T + 0,0004 \cdot (T - 20) \quad \text{Eq. 3}$$

n_D^T : est la valeur de la lecture obtenue à la température T, à laquelle a été effectuée la détermination.

- **Miscibilité à l'éthanol**

Principe :

La miscibilité à l'éthanol est un moyen rapide pour l'évaluation de la qualité d'une HE falsifiée par des produits relativement insolubles affectant la solubilité.

Mode opératoire :

Une HE est dite miscible à l'éthanol 90 %, quand le mélange de 1 volume d'HE avec 3 volumes d'éthanol donne une solution limpide [164]

Dans le cas contraire elle est considérée non miscible.

V.3.5.2. Détermination des indices chimiques

- **Indice d'acide (Ia)**

Principe :

L'indice d'acide correspond à la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres dans 1 g d'HE.

Mode opératoire :

L'indice d'acide est déterminé en ajoutant 0,1 g d'HE à 1 ml d'éthanol et 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine comme indicateur coloré. La solution ainsi obtenue est titrée par une

solution de KOH, de normalité 0,1 N jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle [164].

L'indice d'acide d'HE est calculé par la formule suivante :

$$I_a = \frac{56,1 \cdot v \cdot N}{M} \quad Eq. 4$$

I_a : indice d'acide

V : volume de KOH

N : normalité de KOH

M : masse de l'échantillon (0,1g)

- **Indice de saponification(Is) :**

Principe :

L'indice de saponification I_s est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres et à la saponification des esters présents dans 1 g de substance [165]

Mode opératoire :

On introduit dans un ballon en verre 1 g d'HE contenant 23.5 ml de la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) (0,5 mol/l). L'ensemble est placé sur une source de chaleur et relié à un réfrigérant, puis on laisse chauffer à 100 °C pendant une heure. Ensuite, on ajoute, après refroidissement, 21.7 ml d'eau distillée et 5 gouttes de phénol phtaléine (2 %) indicateur coloré et on titre l'excès de KOH avec une solution de HCL (0,5 mol/l).

La formule pour le calcul de cet indice est la suivante :

$$I_s = \frac{56.1 \cdot N \cdot (v - v_2)}{M} \quad Eq. 5$$

V_1 = volume en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique (0,5mol/l) utilisé pour l'essai à blanc

V_2 = volume en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique (0,5 mol/l) utilisé pour la détermination de l'indice

N = normalité de KOH

M = masse en grammes, de la prise d'essai (2g)

- **Indice d'ester (I_e) :**

L'indice d'ester exprime en mg la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des esters présents dans 1 g de substance. Il est calculé à partir de l'indice de saponification et de l'indice d'acide [166].

La formule pour le calcul de cet indice est la suivante : $I_e = I_s - I_a$

V.4. Préparation des extraits :

Après l'extraction des HE, les feuilles, les tiges et les fleurs sont placées à l'ombre dans un environnement sec et bien ventilé. Elles sont ensuite conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à leur broyage au moment de leur utilisation.

Une fois les échantillons séchés, ils sont découpés et pilés manuellement jusqu'à obtenir une consistance fine. La poudre résultante est conservée dans des flacons en verre stériles hermétiquement fermés, protégés de la lumière et de l'humidité.

V.4.1. Extrait méthanolique :

V.4.1.1. Extraction par soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une technique standard souvent utilisée comme référence pour apprécier l'efficacité des autres techniques d'extraction solide/liquide. Elle est plus performante que les autres techniques d'extraction conventionnelle exceptée pour les composés sensibles à la chaleur (thermolabile). L'appareil porte le nom de son inventeur : Franz von Soxhlet.

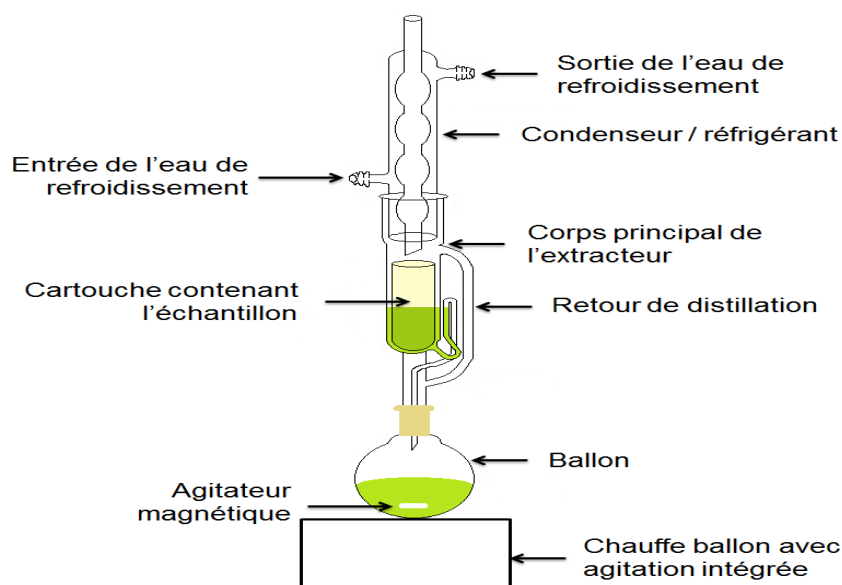


Figure 2.5 : Schéma de principe de l'extraction par Soxhlet [167]

- **Mode opératoire :**

La matrice végétale est insérée dans une cartouche en cellulose, tandis que le solvant est contenu dans un ballon. Le ballon est chauffé jusqu'à ce que le solvant atteigne son point d'ébullition, puis il est condensé dans la cartouche. Lorsque le niveau de solvant atteint le bras du siphon, il se charge en molécules bioactives et est déchargé de la cartouche pour retourner dans le ballon. Dans le ballon, les molécules extraites et dissoutes (le soluté) sont séparées du solvant par distillation, ce qui permet au soluté de rester dans le ballon tandis que le solvant est à nouveau condensé dans une cartouche contenant la matière végétale. Ces cycles sont répétés jusqu'à l'extraction complète du soluté (**Luque-Garcia** et al ,2004).

La séparation du solvant de l'extrait est réalisée à l'aide d'un appareil connu sous le nom d'évaporateur rotatif. Cet appareil permet une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide équipée d'une vanne de contrôle. Pendant le processus d'évaporation, le ballon est mis en rotation et immergé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est équipé d'un réfrigérant comprenant un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus étendue et renouvelée, favorisant ainsi une évaporation rapide.

Re : L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide [168].

V.4.1.2. Extraction par Ultrason :

L'extraction assistée par ultrasons (EAU) est une méthode simple, efficace et économique qui permet d'obtenir une grande reproductibilité en peu de temps et d'améliorer le rendement de l'extraction. Le principe de l'EAU repose sur l'immersion de la matière végétale dans de l'eau ou un solvant, tout en la soumettant simultanément à l'action des ultrasons [169]. Lors de la sonication, les ondes sonores induisent des vibrations mécaniques qui entraînent le phénomène de cavitation à travers des cycles successifs d'expansion et de compression, formant ainsi des bulles [170]. Les bulles créées par l'expansion se développent puis se contractent. Si ces bulles se trouvent près d'une surface solide, leur contraction sera asymétrique, générant ainsi des jets de liquide à grande vitesse [171].

Le mécanisme d'extraction implique deux phénomènes physiques :

- Les ultrasons favorisent la pénétration du solvant dans la matière végétale, ce qui entraîne la rupture des parois cellulaires, facilitant ainsi la libération des composés contenus dans la matière.
- Le contenu des cellules peut être "lessivé" une fois les parois cellulaires détruites, permettant ainsi de récupérer l'ensemble des composés d'intérêt.

L'effet de cavitation dépend fortement des paramètres de fonctionnement tels que la fréquence des ultrasons, l'intensité, la température et la durée du traitement, qui jouent un rôle crucial dans le fonctionnement efficace des réacteurs à ultrasons.

Il existe deux types d'appareils pour générer des ultrasons : le bain à ultrasons et la sonde ultrasonore. Le bain à ultrasons est utilisé pour disperser des solides dans un solvant, car les ultrasons permettent de réduire la taille des particules solides et ainsi d'augmenter leur solubilité. Cet appareil est également utilisé pour dégazer des solutions ou pour nettoyer des matériaux, car il est plus facile à manipuler et plus économique que la sonde ultrasonore.

$$R(0/0) = \frac{m_0}{m_1} \cdot 100 \quad \text{Eq. 6}$$

V.4.1.3. Extraction par solvant polaire :

La matière végétale dissoute dans le méthanol (160 ml), on met le mélange dans le bain ultrason à 45 °C pendant 40 min. L'extrait est filtré par un papier filtre. Ensuite, on met le filtrat dans une boîte pétrie ouverte afin d'évaporer le solvant à l'air libre.



Figure 3.5 : Extraction par le bain ultrasons.

- **Calcul de rendement :**

Le pourcentage de rendement pour chaque fraction a été calculé par la formule suivante :

$$R(0/0) = \frac{m_o}{m_1} \cdot 100 \quad Eq. 7$$

m_o = La masse de l'extrait après évaporation

m_1 = La masse de la poudre sèche.

V.5. Screening phytochimique :

Principe :

Il englobe une série de méthodes colorimétriques qui permettent d'établir la présence ou l'absence de métabolites secondaires dans la plante à partir de sa poudre ou de l'infusé. Le screening aide à chercher : les anthocyanes, les tannins galliques les tannins catéchiques, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les terpénoïdes, les saponines et les polyphénols. Le montre la méthode appliquée à la recherche de chacun de ces métabolites secondaires.

V.5.1. Tanins :

Pour détecter la présence des tanins, on ajoute à chaque extrait quelques gouttes de $FeCl_3$ (Chlorure ferrique) à 1 %. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés) [172].

V.5.2. Les saponines : test de mousse.

Dans un tube à essai, introduire 2 ml de l'extrait à analyser, ajouter 2 ml d'eau distillée

chaude, agiter pendant 15 secondes et laisser le mélange au repos pendant 15 min. Une hauteur d'une mousse indique la présence de saponines.

- Pas de mousse : test négatif.
- Mousse moins de 1 cm : test faiblement.
- Mousse plus de 1 cm : test fortement.

V.5.3. Flavonoïdes :

Un mélange de quelques copeaux de Mg^{+2} et de gouttes d'HCl concentré, placé dans un tube, est ajouté à 2 ml d'extrait. L'apparition d'une coloration allant de l'orangé au rouge pourpre indique une réaction positive (Ciulei, 1982).

V.5.4. Anthocyanes :

Un mélange de 5 ml d'infusé avec quelques gouttes d'HCL, un test positif est révélé par une coloration rouge.

V.5.5. Les alcaloïdes :

Dans deux tubes à essai, introduire 1 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de HCL et ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer dans le premier tube et quelques gouttes de réactif de Wagner dans le second tube. L'apparition d'un précipité blanc ou brun, respectivement révèle la présence d'alcaloïdes.

Les réactifs Mayer et Wagner sont préparés comme suit :

- **Réactif de Mayer :** Dissoudre 1,36 g de chlorure de mercure dans 60 ml d'eau distillée puis 5 g de KI dans 10 ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100.
- **Réactif de Wagner :** Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2 g de KI et 1,27 g de I_2 . Le volume obtenu est ajusté à 100.

V.5.6. Les polyphénols :

Dans un tube à essai, on introduit 0.2 ml d'extrait méthanolique et 0.8 ml de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7.5 %). Après agitation, 1 ml de la solution de folin-ciocalteu est ajouté à l'ensemble après 20 minutes d'incubation à l'obscurité. L'apparition de la couleur bleue confirme la présence des polyphénols.

V.5.7. Les terpénoïdes : test de Slakowski :

Dans un tube à essai, ajouter à 2.5 ml d'extrait, 0.4 ml de chloroforme et 0.6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des terpénoïdes.

V.6. Caractérisation des extraits

V.6.1. Dosages des polyphénols

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu [173]. Ce dernier est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique et d'acide phospho-molybdique. Le réactif est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum se fait à 732 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par [173], dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200 µl de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1.5 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 1.5 ml d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 90 min. L'absorbance est donnée à 750 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 100 µg/ml).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait brut (mg EAG/g).

V.6.2. Dosage des Flavonoïdes :

La méthode à AlCl_3 a été employée pour la détermination de la teneur des extraits en flavonoïdes. [103]

1.5 ml de l'extrait (2 mg/ml) ont été ajoutés à un volume égal d'une solution de 2 % AlCl_3 ; le mélange a été vigoureusement agité, et l'absorbance a été lue à 430 nm, après 30 min d'incubation à température ambiante.

Une courbe d'étalonnage ($y=ax+b$) réalisée par la quercétine à différentes concentrations pratiquées dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons a servi pour la

quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait brut (mg EQ/g).

V.6.3. La spectrophotométrie Infrarouge :

La spectrophotométrie infrarouge est une technique de caractérisation qui nous permet d'analyser et d'identifier la nature des liaisons chimiques et des groupements fonctionnels présents dans nos extraits. Pour ce faire, une pastille de **KBr** est préparée, et l'extrait est ensuite placé sur cette pastille pour être analysé dans l'appareil de spectroscopie infrarouge.

V.6.4. Activité antioxydante (in vitro)

Principe :

Selon l'étude menée par (**Brand-Williams et al. En 1995**), il est possible de mesurer la capacité antioxydante en utilisant des radicaux libres plus stables. Le radical 1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre très stable à l'état cristallin et en solution, qui présente une couleur violette. Dans cette méthode, l'activité antioxydante est considérée comme la capacité des antioxydants à agir en tant que piègeurs de radicaux libres. Ils agissent en transférant un atome d'hydrogène, ce qui entraîne la disparition du DPPH au cours de la réaction et provoque un changement de couleur de la solution initiale, qui devient jaune. (**Figure**).

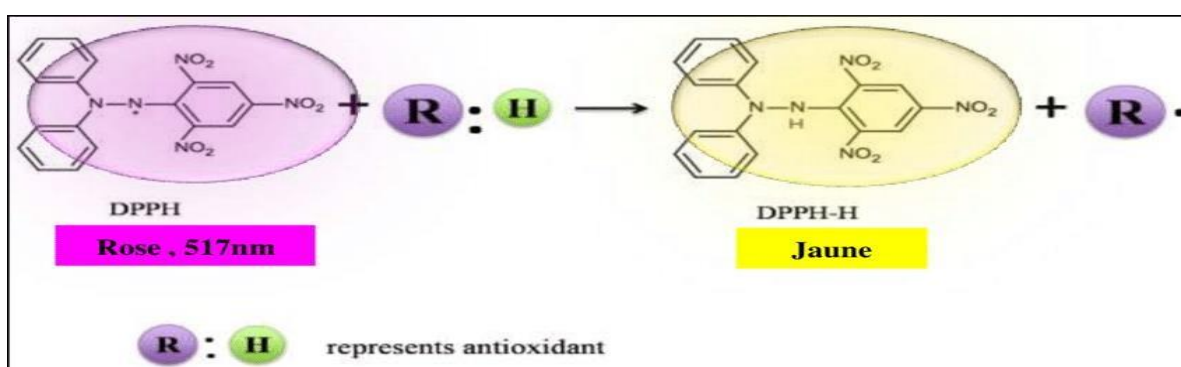


Figure 4.5 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

Mode opératoire :

Le test de DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par [174, 175], en y apportant quelques modifications, où 2 ml de chacune des dilutions testées, des fractions d'HE et de certains composés purs (BHT) sont mélangées avec 2 ml d'une solution méthanolique de

DPP H (0,004 %). Après une période d'incubation de 30 min à la température de laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. Le pourcentage d'activité (*I* %) est donné par la formule

suivante :
$$I\% = \left(\frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{éch}}}{A_{\text{blanc}}} \right) \times 100 \quad \text{Eq. 8}$$

A éch. : Absorbance de l'échantillon.

A blanc : Absorbance du témoin.

V.6.5. Détermination de la concentration inhibitrice médiane (IC50) :

L'IC50, également connue sous le nom de concentration inhibitrice à 50%, représente la quantité ou la concentration d'antioxydants (qu'il s'agisse d'un extrait ou d'une autre substance antioxydante) nécessaire pour inhiber ou éliminer 50% des radicaux. Les IC50 sont calculées graphiquement en fonction des pourcentages d'inhibition observés pour différentes concentrations des extraits testés. Une courbe de régression linéaire ($Y = aX + b$) est établie pour chaque extrait afin de déterminer l'IC50, qui permet de caractériser le pouvoir antioxydant des extraits. Une valeur d'IC50 faible indique une activité antioxydante élevée [176].

V.6.6. L'évaluation de l'activité antimicrobienne :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des HE étudiées, a été appréciée selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose appelés aromagrammes. Les tests ont été effectués au niveau du **SAIDAL Dar El Beida**.

Le principe de la méthode est tiré à partir du titrage des ATB « Pharmacopée Européenne, 2002 ». Le mode opératoire quant à lui, a été approuvé par la directrice du laboratoire de microbiologie du **SAIDAL Dar El Beida**.

Principe.

La méthode des aromagrammes consiste à déposer un disque stérile en cellulose (Diamètre : 6 mm) imprégné de solution à tester, à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de Petri etensemencée avec le micro-organisme testé.

Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (mm ou cm) de la

zone claire autour du disque (halo translucide), appelée : zone d'inhibition (Figure).

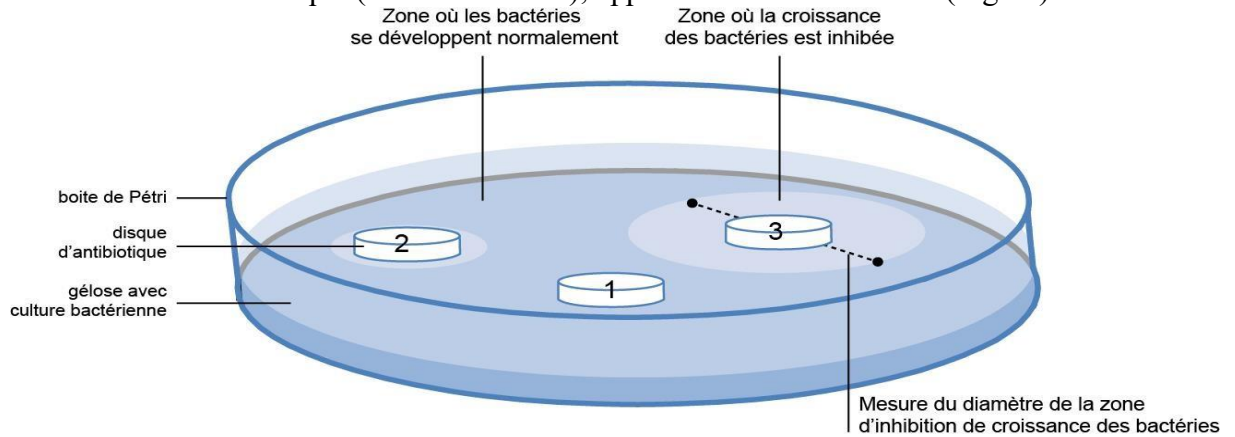


Figure 5.5 : Schéma simplifié du principe de la méthode des aromatoigrammes

Les micros organismes tester :

L'activité antimicrobienne des HE et EM étudiées a été testée sur 04 micro-organismes pathogènes (Tableau), des souches pures et issues de la collection du laboratoire de microbiologie du SAIDAL.

Tableau 4.5 : Les micros organismes tester

Nom de la souche	Gram	Famille
Salmonelle	-	Entérobactéries
Staphylococcus aureus	+	Micrococcaceae
Pseudomonas aeruginosa	-	Pseudomonadaceae
Candida albicans		Cryptococcaceae

Protocole expérimental :

Préparation de l'inoculum.

- **Pour les bactéries :** Les suspensions bactériennes ont été réalisées par prélèvement de 3 à 5 colonies bien isolées et identiques d'une culture jeune de 24 h, les mettre ensuite dans 5 ml d'eau physiologique stérile, puis agiter au vortex pendant quelques secondes.
- **Pour les levures :** La préparation de l'inoculum pour les levures est la même que celle utilisée pour les bactéries sauf que, pour les levures, la culture doit être âgée de 48 h.

NB : L'inoculum doit être utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

Préparation des dilutions d'HE et d'extrait de 5 % à 0,1 % :

On prépare une dilution d'HE ou d'extrait à 5 %, en diluant 5 g d'HE pure (100 %) ou d'extrait dans 100 g de DMSO dans le premier tube (Sm). On réalise des dilutions pour obtenir les concentrations suivantes pour 3 % il faut prendre un volume de 3 ml de (Sm) en versant le volume dans le deuxième flacon et compléter avec 2 ml de DMSO ce qui donne la dilution 3 %. On procède de la même manière jusqu'à l'obtention de la dernière dilution 0.1 %.

Couler chaque dilution dans les boîtes de Petri, laisser solidifier.

NB : Un témoin négatif ne contenant que le DMSO

A) Examen de l'échantillon

❖ Préparations des milieux de culture

La préparation des milieux de culture utilisés a été réalisée selon [177]. Le milieu Mueller-Hinton pour les bactéries Le milieu de Mueller-Hinton est un milieu solide utilisé notamment pour la recherche de la sensibilité des bactéries aux HE. Pour préparer 1 L de ce milieu il faut : l'extrait de viande (2 g), hydrolysate acide de caséine (17,5 g), amidon (1,5 g) et de la gélose (10 g).

On mélange les différents ingrédients puis on autoclave pendant 15 min à 115 °C. Par la suite, on répartit le milieu qui doit être de pH 7,4 dans des flacons de 250 ml.

Milieu Sabouraud gélosé pour les levures :

C'est un milieu Sabouraud-glucose constitué lui-même d'un bouillon gélosé à 2 %. Avant d'ajouter la gélose, on doit préparer le Sabouraud-glucose qui a comme ingrédients : peptone de viande (5 g), peptone de caséine (5g) et du glucose (20 g).

Le milieu Sabouraud-glucose qui doit être de pH 6.3, est réparti en tubes à essais de 9 à 10 ml, ces derniers sont par la suite autoclavés pendant 20 min à 120 °C.

❖ Dépôt des disques

À l'aide d'une micropipette, en utilisant des cônes stériles, on prélève 20 à 30 µl d'huile essentielle pure ou d'extrait, on dépose chaque quantité prélevée sur le disque (6 mm de diamètre) posé préalablement à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose ensemencée, on laisse diffuser pendant 30 min. Et enfin, incuber à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48 h pour la levure.

❖ Lecture des résultats.

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque, en mm

- Halos clairs autour du disque : présence d'une activité inhibitrice des HE et des extraits
- Absence d'halos clairs autour du disque : pas d'effet inhibiteur des HE et des extraits.

L'interprétation des résultats obtenus se fait par le biais d'une échelle d'estimation du potentiel antimicrobien donnée par [178], qui ont classé les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 4 classes (Tableau).

Tableau 5.5 : Type d'inhibition des souches microbiennes en fonction des diamètres de la zone d'inhibition.

Type d'inhibition	Zone d'inhibition
Non inhibitrice	Diamètre < 10 mm
Légèrement inhibitrice	10 mm ≤ diamètre < 16 mm
Modérément inhibitrice	16 mm ≤ diamètre < 28 mm
Fortement inhibitrice	Diamètre ≥ 28 mm

V.6.6.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Principe

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la dernière ou la plus basse concentration d'un agent antimicrobien qui peut inhiber visiblement la croissance d'un micro-organisme après 24 h pour les bactéries et 48 h pour la levure. Son but est d'établir le niveau de sensibilité des pathogènes envers les agents antimicrobiens en l'occurrence les huiles essentielles et les extraits testés. Cette CMI est déterminée selon la méthode des dilutions sur milieu gélosé : MH pour les bactéries et SAB pour la levure.

Tableau 6.5: Propriétés physico-chimiques et rôle des produits employés

Produits chimiques	T de fusion (°C)	Rôles
Huile de vaseline	36 à 60 °C	Principalement utilisée pour son effet adoucissant et amollissant (émollient) et comme lubrifiant sur la peau, dans le traitement de certaines plaies ou lésions telles que les brûlures. Elle est utilisée pour traiter les irritations et la sécheresse de la peau et peut être utilisée comme anti-rides.
Spam 60	53 à 57 °C	Agent émulsifiant et agent dispersant
Terbinafine chlorhydrate	146°C a 152°C	Antifongique dans, des médicaments à usage topique
Tween80	113 °C	Agent émulsifiant et agent dispersant
alcool cétylique	49,3 °C	Stabilisant, Agent émulsifiant, Agent de

		consistance, conditionnant	Agent
Alcool stéarylique	57°C a 63°C	Stabilisant, émulsifiant, consistance, conditionnant	Agent Agent de Agent

V.7. Formulation des crèmes :

V.7.1. Plan d'expérience :

Les crèmes sont des systèmes généralement obtenus par la dispersion des deux phases (aqueuse et huileuse) avec différentes proportions représentées dans le plan d'expérience (Tableau) généré par le logiciel Design Expert 13.

Tableau 7.5 : Les limites codées et réelles pour les facteurs A, B et C

H (%P/P)	FA	HLB	H (%P/P)	E (%P/P)	C18 (%P/P)	C16 (%P/P)	T80	S60
10	0,1	8	10	76	0,75	6,75	2,08	4,42
40	0,1	8	40	46	0,75	6,75	2,08	4,42
10	0,9	8	10	76	6,75	0,75	2,08	4,42
40	0,9	8	40	46	6,75	0,75	2,08	4,42
10	0,1	15	10	76	0,75	6,75	6,5	0
40	0,1	15	40	46	0,75	6,75	6,5	0
10	0,9	15	10	76	6,75	0,75	6,5	0
40	0,9	15	40	46	6,75	0,75	6,5	0
25	0,5	11,5	25	61	3,75	3,75	4,29	2,21
25	0,5	11,5	25	61	3,75	3,75	4,29	2,21
25	0,5	11,5	25	61	3,75	3,75	4,29	2,21

H (%P/P)	E (%P/P)	C18 (%P/P)	C16 (%P/P)	T80	S60	TBH
25	63,5	2	2	4,29	2,21	1
25	61,5	3	3	4,29	2,21	1
25	59,5	4	4	4,29	2,21	1
25	60	3,75	3,75	2,08	4,42	1
25	60	3,75	3,75	3,97	2,53	1
25	60	3,75	3,75	5,27	1,23	1
25	60	3,75	3,75	6,5	0	1

On a choisi les limites des tensioactifs dans les limites de sécurité pour l'utilisation topique selon la FDA (Food And Drug Admenistration), le Span 60 et tween 80 à 20%,

V.7.2. La préparation de la phase huileuse :

- On mélange à $75\pm 5^\circ\text{C}$ l'Huile de vaseline, Span 60 et les alcools gras (alcool cétylique, Alcool stéarylique) à une vitesse d'agitation 700rpm
- Lorsque le mélange est fondu, on ajoute 1g de principe actif (Terbinafine chlorhydrate) ;

V.7.3. La préparation de la phase aqueuse :

- On mélange à $75\pm 5^\circ\text{C}$ l'eau distillé et le Tween 80 à une vitesse d'agitation 700rpm
- On verse la phase huileuse sur la phase aqueuse doucement et mélanger avec l'agitateur
- À haute vitesse à la même température jusqu'à l'homogénéisation totale pendant 3min ;
- Jusqu'à prend forme émulsion.

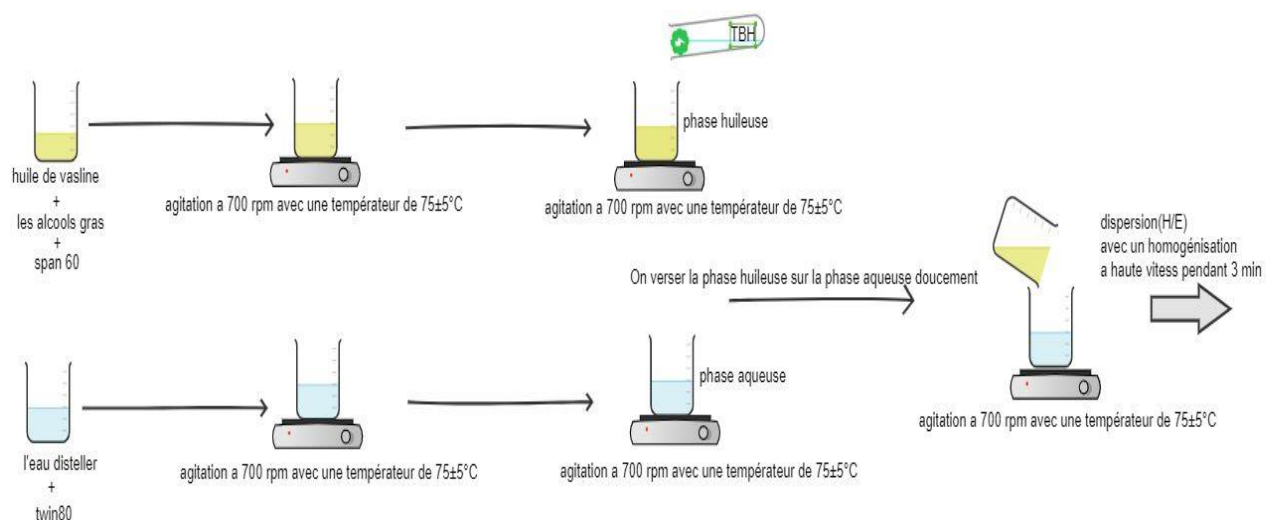


Figure 6.5. Schéma représente la préparation des crèmes

V.7.4. Caractérisations des crèmes :

V.7.4.1. Physico- chimique :

- **Mesure de pH :**

Après 2 semaine on mesure le pH des crèmes préparés à l'aide d'un pH-mètre pour confirmer que le pH est compatible avec la peau humaine pour l'administration topique.

- **Microstructurale des crèmes par microscopique :**

La structure microscopique de la dispersion d'crèmes a été analysée à l'aide d'un microscope Olympus Japan, Objectifs : $\times 40$ et $\times 160$

- Mettre une couche très fine de la crème dans une lame et placer cette dernière sur la platine ;
- Régler l'observation à un grossissement $\times 40$ et $\times 160$.

V.7.4.2. Caractérisations rhéologique d'crèmes :

L'objectif principal de cette partie est de caractériser le comportement rhéologique d'un fluide et peut être décrit par plusieurs modèles. Ces modèles décrivent les comportements des fluides complexes à l'aide des fonctions : $\tau = f(\dot{\gamma})$, $\mu = f(\dot{\gamma})$, $\mu = f(t)$ et $\tau = f(t)$.

Les courbes découlements :

Pour déterminer les courbes découlements nous avons étudié la viscosité et la contrainte en fonction de vitesses de cisaillement, et pour la réaliser on a utilisé un viscosimètre de marque BOHLIN VISCO 88 qui contient un système de mesure Cup et Bob (cylindres coaxiaux), ce dernier est constitué d'un cylindre solide à base conique tournant à l'intérieur d'un cylindre extérieur fixe.



Figure 7.5 . Système de mesure Cup et Bob (cylindres coaxiaux)

Avec :

- 1- Représente le cylindre intérieur à un diamètre 14 mm
- 2- Cylindre extérieur à un diamètre 15.4mm.
- 3- L'emplacement de l'échantillon.

Afin de construire les courbes d'écoulement et d'obtenir les paramètres (μ , τ et γ), nous devons suivre les étapes ci-dessous :

- On met une quantité de la crème (17 g) entre les deux cylindres délicatement et placer dans le viscosimètre.
- On lit les valeurs de viscosité μ , la vitesse de cisaillement γ , et la contrainte τ avec un taux de cisaillement (vitesse de rotation) varié de 16 à 383.5 s⁻¹ et on répète la lecture de ces paramètres dans le sens inverse descente 383.5 à 16 s⁻¹ pour former la boucle d'hystérésis. Toutes les mesures ont été effectuées à température ambiante

V.7.5. Etude de la stabilité des crèmes :

Dans cette partie on a testé la stabilité de nos crèmes par la méthode thermo-cycle, on a évalué la stabilité de chaque formulation par l'observation d'une séparation possible des phases, pour cela on réalise le mode opératoire suivant :

- On met une quantité de chaque crèmes dans des tubes à essai ;
- Mettre les tubes pendant 1 heure à 80°C dans un bain marie ;
- On les refroidisse brusquement pendant 5 min à 4°C ;
- Ensuite, on met les tubes dans une centrifugeuse à froid à 4°C pendant 35 min à une vitesse 3000 rpm ;
- Ces étapes qui représente un seul cycle ont été répéter 6 fois.

V.7.6. Etude de comportement rhéologique :

On a défini la rhéologie comme étant l'étude de l'écoulement et de la déformation des matériaux. Les objectifs généraux des mesures rhéologiques (la rigidité, le module, la viscosité, la dureté et la force) sont :

- Obtenir une description quantitative des propriétés mécaniques.
- Obtenir des informations liées à la structure moléculaire et à la composition du matériel.
- Caractériser et simuler l'exécution du matériel pendant le traitement et pour le contrôle de la qualité.

Les mesures du comportement rhéologique sont importantes non seulement pour évaluer la stabilité physique, mais elles sont en même temps des indicateurs des paramètres de type qualité du système et utilité. Les études sur ces propriétés sont devenues un outil crucial dans l'analyse des produits cosmétiques, dans le but de produire des profils physiques et structurels stables. Pour se faire, deux tests ont été effectués :

- **Le test d'écoulement :**

Des courbes d'écoulement ont été déterminées en régime continu sous cisaillement variable, traduisant la viscosité apparente η_{app} (Pa.s) en fonction de la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$ (s⁻¹).

Pour l'obtention de ces courbes, on fait varier la vitesse de cisaillement par pas logarithmique de 0,001 à 1000 s⁻¹, avec un nombre de points de mesure de 5 par décade, et un temps de mesure entre deux points successifs variant de 50 à 5 s.

Les courbes d'écoulement issues de ce test sont ensuite modélisées par des modèles mathématiques qui représentent le comportement rhéologique des crèmes à l'aide du logiciel. « STATISTICA » qui offre une multitude de techniques de méthodes d'optimisation non linéaires se basant sur un calcul itératif.

Ce test rhéologique nous permet de déterminer la viscosité de nos essais et pour cela nous avons utilisé un rhéomètre de marque **Anton Paar Modulat** Compact Rhéomètre MCR 302, relié à un bain thermostat et commandé à l'aide d'un logiciel qui permet de traiter les données.

- **Le test de viscoélasticité :**

Les propriétés viscoélastiques des crèmes ont été mesurées en mode dynamique par un test non destructif d'oscillations de faible amplitude. Un balayage croissant en déformation, de 0,0001 à 1000 a été effectué à la fréquence de 1 Hz (mode logarithmique, 4 points/décade). Cette mesure a permis d'obtenir les valeurs des modules G' , G'' dans le domaine linéaire viscoélastique.

G' : le module de conservation, il représente le caractère élastique de la crème, l'énergie emmagasinée dans le matériau.

G'' : le module de perte, qui représente le caractère visqueux de la crème et correspond à l'énergie dissipée.

V.8. Etude cinétique de la libération du principe actif :

Les profils de diffusion de TBH à partir des formulations des crèmes obtenus ont été évalués à l'aide d'une cellule de diffusion de FRANZ et une membrane semi-perméable. La membrane été trempées dans une solution réceptrice d'un tampon R1. Le compartiment donneur tenu une pesée avec précision une quantité de la formulation et chaque crème a été appliquée sur la membrane à l'aide d'une spatule métallique, sans utiliser de forces de cisaillement intenses. Le compartiment récepteur était rempli de tampon et agité magnétiquement à 100 tr/min pendant les expériences. La température de toute la configuration était maintenue à 32°C.

Des échantillons (composés de 0,5 ml) ont été prélevés à partir du compartiment récepteur à des périodes prédéterminés de temps (0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, et 24 heures) et le même volume du milieu récepteur frais est immédiatement remplacé, à l'aide d'une seringue. La concentration de TBH dans la phase réceptrice a été analysée par spectrophotométrie UV à $\lambda = 275\text{nm}$. Les taux de libérations du principe actifs ont été déterminés comme un pourcentage en utilisant l'équation ci-dessous (équation. 00), et ont été tracées en fonction du temps.

$$\text{Taux de libération (\%)} = \frac{A_{ech}(t)}{A_{std}} \times \frac{C_{std}}{C_{ech}} \times \text{Puiss}(std) \quad \text{Eq. 00}$$

Avec : $A_{ech}(t)$ est l'absorbance de l'échantillon prélevée a un temps (t), A_{std} est l'absorbance du standard a une concentration de (0,01 mg/ml) dissout dans la solution tampon, C_{std} est la concentration du standard, C_{ech} est la concentration de l'échantillon, et $\text{Puiss}(std)$ est la puissance (pureté) du standard.

V.8.1. Description de la cellule de FRANZ :

La cellule de Franz est une méthodologie largement utilisée pour évaluer la perméation in vitro, qui présente des avantages, tels qu'une faible quantité de médicament nécessaire à l'analyse. Avec la montée de la médecine personnalisée, il est nécessaire de développer différentes formes posologiques pharmaceutiques pour la même molécule active permettant la variabilité d'administration et de dosage.

La cellule de FRANZ se compose par quatre composés principaux comme illustré dans la figure 8.5 :

1. Compartiment donneur,
2. Compartiment récepteur,
3. Membrane semi-perméable au-dessus s'étale la quantité de l'émulgel,
4. Ouverture de prélèvement,
5. Double membrane pour la circulation d'eau d'échauffement,
6. Agitateur magnétique.

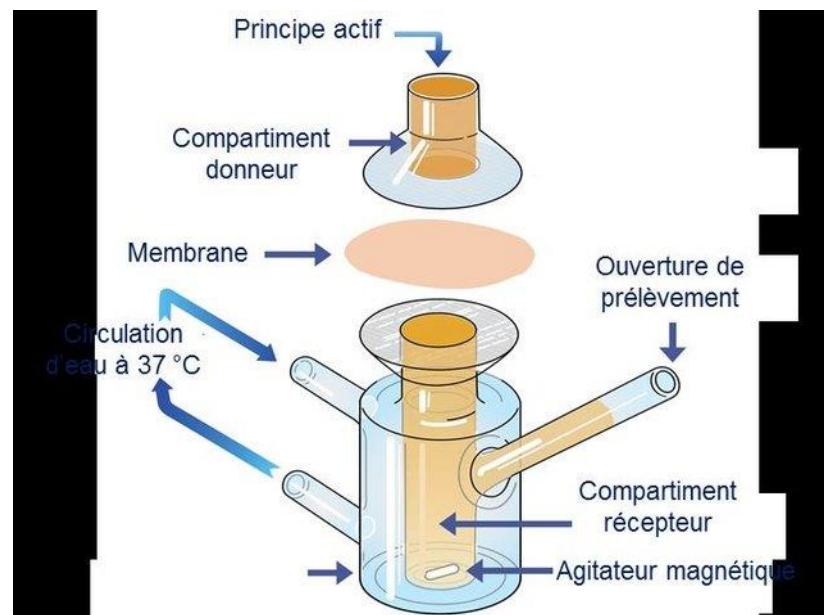


Figure 8.5: La cellule de diffusion de FRANZ utilisée dans ce travail

VI.1. La cinétique d'extraction des HE :

Dans le but de détermination de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de deux plantes étudiées Origan.F et Thymus.F, l'évolution du rendement en huile essentielle en fonction de la durée d'extraction a été réalisée. Une masse d'environ 50 g a été soumise à une hydrodistillation pendant une durée de 60 min. Les fractions de l'huile essentielle ont été récupérées à des intervalles de temps réguliers.

Les résultats de la cinétique d'extraction des deux HE sont regroupés dans le tableau 1 et figure 1.

Tableau 1.6 : Variation du rendement en HE de deux plantes (Origan. F et Thymus. F) en fonction du temps d'extraction

t(min)	HEO			HET		
	V(ml)	m(g)	R%	V(ml)	m(g)	R%
0	0	0	0	0	0	0
5	1	0.88	1.76	0.58	0.53	1.06
10	1.45	1.28	2.56	0.82	0.75	1.5
15	1.67	1.48	2.96	1.05	0.96	1.92
20	1.91	1.69	3.38	1.29	1.18	2.36
25	2.09	1.85	3.7	1.41	1.29	2.58
30	2.21	1.96	3.92	1.49	1.37	2.74
35	2.31	2.05	4.1	1.54	1.41	2.82
40	2.4	2.13	4.26	1.58	1.45	2.9
45	2.41	2.14	4.28	1.6	1.47	2.94
50	2.48	2.20	4.4	1.61	1.48	2.96
55	2.51	2.23	4.46	1.638	1.50	3
60	2.53	2.24	4.49	1.653	1.52	3.04

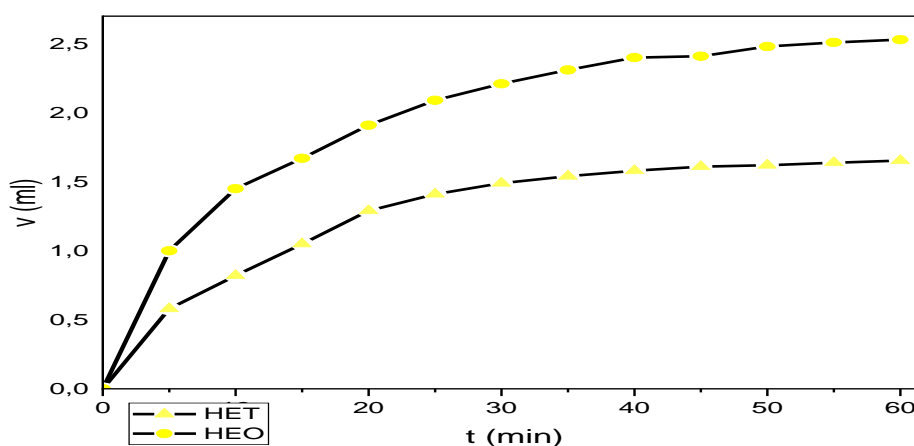


Figure 1.6 : Cinétique d'extraction de l'HE d'Origan et de Thyme au cours du temps

Au début de l'extraction, le volume (V) et le rendement (R %) en HE des deux plantes sont plus importantes. Par rapport au temps d'extraction.

Le Rendement maximal en HE des deux plantes est obtenu après 50 min.d'extraction.

VI.1.1. Rendement des huiles essentielles.

- Rendement des huiles essentielles d'origan. F et Thymus.F

Les rendements d'extraction en huiles essentielles des deux plantes (Origan.F et thymus.F) exprimés en grammes par 50 g de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante, sont regroupés dans le (tableau 2),et figure 2.

Tableau 2.6 : Rendement en HE d'Origan.F et Thymus.F

Plantes	Rendement en %
Origan.F	4.49
Thymus.F	3.04

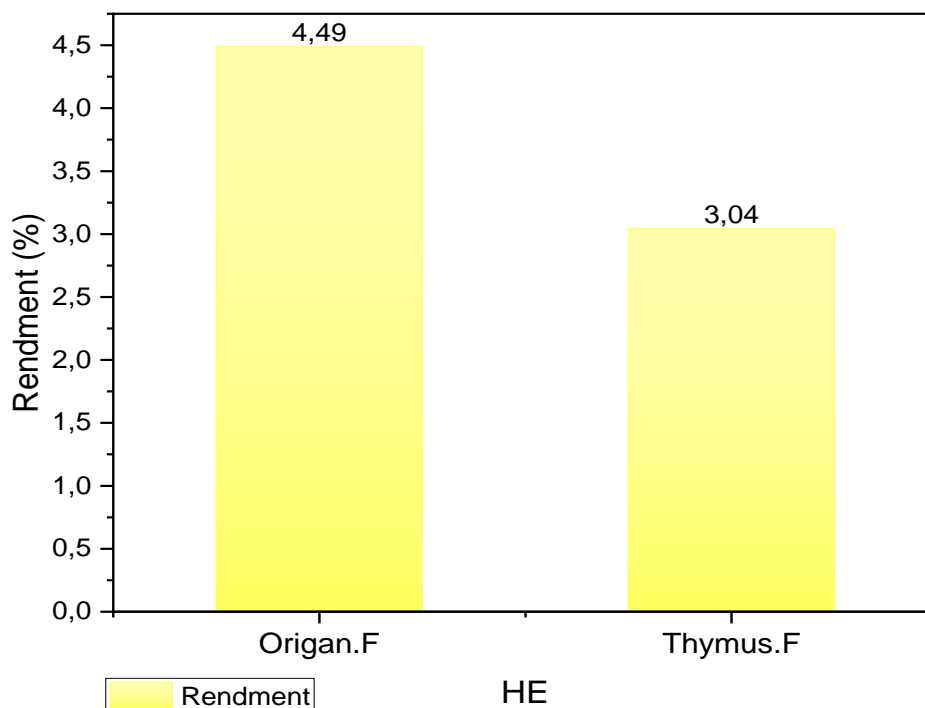


Figure 2.6 : Rendement en HE d'Origan.F et Thymus.

L'huile essentielle d'origan.F contient un rendement plus important que le huile essentielle de Thymus.F.

- Rendement d'extractions des EM d'Origan.F et Thymus.F

Tableau 3.6 : Résultats de rendement d'extractions des EM d'Origan.F et Thymus.F

Plante	Rendements d'extractions (%)	
	Soxhlet	Bains Ultrasons
Origan.F	4.41	1.465
Thymus.F	3.72	2.06

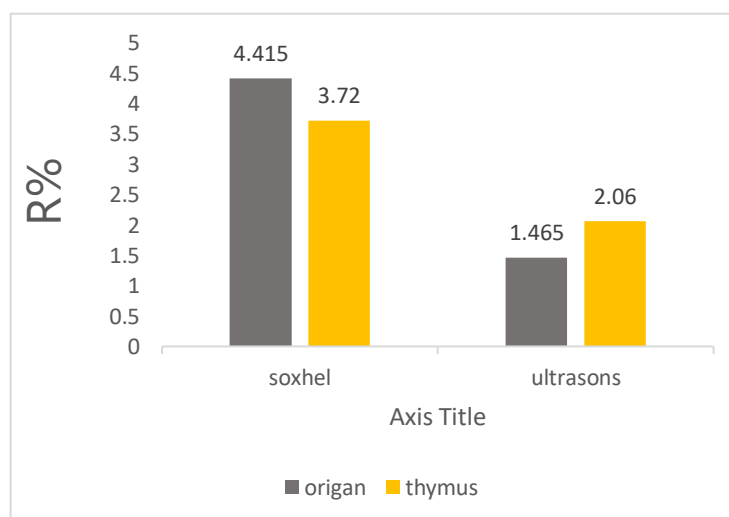


Figure 3.6 : Résultats de rendement d'extractions d'Inula viscosa L. et Inula montana L.

Selon la **figure**, la plante d'Origan donne le meilleur rendement d'extraction par soxhlet d'une valeur de 4.415 %. Par contre la plante de Thymus. F donne un meilleur rendement d'extraction par ultasons d'une valeur de 2.06 %.

VI.1.2. Caractères organoleptiques des huiles essentielles d'Origan et *Thymus.F*

Les caractéristiques organoleptiques des HE des deux plantes (Origan. F et Thymus. F) obtenus par la méthode hydrodistillation sont représentées dans (**Tableau 3**).

Tableau 4.6 : caractéristique organoleptique d'HE d'Origan.F et Thymus.F

Huile essentielle	Aspect	Couleur	Odeur
Origan.F	Liquide mobile limpide	Jaune	Aromatique
Thymus.F	Liquide mobile limpide	Jaune clair	Agréable piquante

VI.1.3. Caractéristiques physico-chimiques

Les résultats des caractères physicochimiques des huiles essentielles des espèces sont consignés dans les **Tableaux (5 ...7)**

➤ Caractères physiques

- **Indice de réfraction.**

Les indices de réfraction ont été calculés et ramenés à 20° c à l'aide d'un réfractomètre.

Ils sont donnés par le (**Tableau 5**).

Tableau 5.6 : valeurs des indices de réfraction à 20 °C de HE d'Origan.F et *Thymus.F*

Huile essentielle	Indice de réfraction	(NF T 75 – 112)
Origan.F	1.5076	[1,4830 à 1,5100]
Thymus.F	1.5056	

Les indices trouvés des deux plantes sont compris dans les normes données par ISO. (ISO280, 1998)

- **Densité relative :**

La densité d'une HE est un critère de qualité dans le domaine de la cosmétique, pharmacie, agroalimentaire etc... [3]. Elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité du produit révélant les tentatives de fraude et d'altération. Les valeurs obtenues des densités de nos HE rapportées dans le tableau.

Tableau 6.6 : valeurs de la **densité relative** de HE d'Origan.F et Thymus.F

Huile essentielle	La densité relative à 20°C	(NF T 75 - 111)
Origan.F	0.889	(NF T 75 - 111) [0.894 à 0.930]
Thymus.F	0.92	

- **Miscibilité à l'éthanol à 90 %.**

La miscibilité à l'éthanol selon la norme **NF. T75-101** est déterminée dans l'éthanol pur 70-90 %. Les résultats de la miscibilité sont représentés dans **le tableau**.

Tableau 7.6 : Résultat de la miscibilité à l'éthanol 90%

Huile essentielle	Miscibilité à l'éthanol 90 %.	(Norme AFNOR, 2010)
Origan.F	1V/3V miscible	[2v/1v/ 3v/1v]
Thymus.F	1V/3V miscible	

Les résultats trouvés dévoilent que les solutions obtenues sont homogènes et miscibles dans l'éthanol 90 % (1 V HE/3 V d'éthanol).

➤ **Caractères chimiques**

- **Indice d'acide (*Ia*)**

Tableau 8.6 : résultats de l'indice d'acide

Huile essentielle	Indice d'acide	(Norme AFNOR, 2010)
Origan.F	8.967	[4.1 -5.2]
Thymus.F	11.73	

Les résultats d'indice d'acidité donnés par le Tableau. des huiles essentielles d'Origan.F et du *Thymus.F* sont respectivement 8.96 et 11.7437. Ils sont supérieurs aux normes [4,1 – 5,2]. Donnés par **AFNOR, 2010**.

- **Indice de saponification**

Les résultats de l'indice de saponification sont regroupés dans le Tableau.

Tableau 9.6 : résultats d'Indice de saponification

Huile essentielle	Indice de saponification
Origan.F	50.499
Thymus.F	39.042

- **Indice d'ester**

Tableau 10.6 : Résultats de l'indice d'ester

Huile essentielle	Indice d'ester	(NormeAFNOR,2000)
Origan.F	41.539	[49,5 – 52,55]
Thymus.F	27.297	

Les résultats de l'indice d'ester donnés par le Tableau9. des huiles essentielles d'Origan.F et du *Thymus.F* sont respectivement 41.539 et 27.297. Ils sont inférieur aux normes [49.5 – 52.55]. Donnés par **AFNOR, 2010**.

VI.2. Screening photochimique

VI.2.1. Analyses qualitatives

Les tests phytochimiques sont basés sur des réactions colorées ou de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques réalisées sur les extraits méthanoliques des deux plantes étudiées.

Tableau 11.6 : Résultats qualitatifs du screening phytochimique

Les composées Recherchées		Origan. F	Thymus.F
Polyphénols		+	+
Flavonoïdes		+	+
Terpanoïdes		+	-
Tanins	Galliques	+	+
	Catéchiques	-	-
Alcaloïdes	Réactif Mayer	+	+
	Réactif Wagner	+	+

Anthocyanes	-	-
Saponines	+	+
(+) : présence(-) : absence		

Selon les résultats mentionnés dans le tableau 10, une présence des polyphénols, flavonoides, alcaloides, Tanins Galiques et saponines marqués dans l'extrait methanolique d'Origan.F et Thymus.F. Par contre, absence remarquable des Anthocyanes, et Tanins catéchiques dans l'extrait methanoliques des plantes sus-citée.

Par ailleurs, les Terpanoides sont absents chez l'extrait de Thymus.F.. Par contre, ils sont présents dans l'extrait d'Origan.F.

- Identification et caractérisation des HE et EM par infrarouge :

Cas des HE :

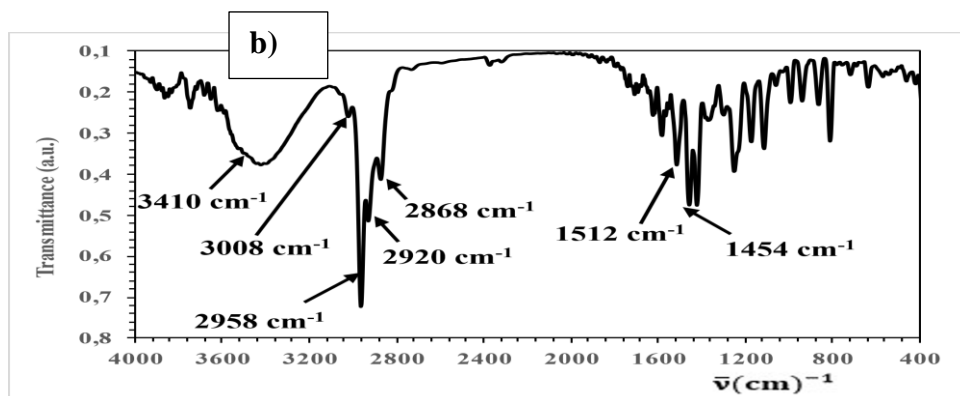
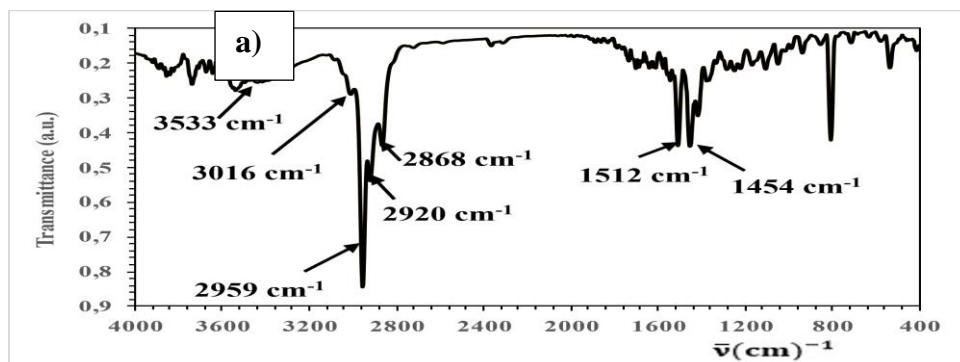


Figure 4.6. ; Spectre IRTF des huiles essentielles d'a) : Huile essentielle de l'origan et b) : Huile essentielle du thymus

Les spectres IRTF des huiles essentielles de l'origan et du thymus contiennent les mêmes groupements fonctionnels dans la région 3600 jusqu'à 1500 cm^{-1} par contre la différence est remarquable dans la région des empreintes (Fingerprint). Cette différence est confirmée par la présence de certaines molécules en plus dans la composition chimique de l'huile essentielle du thymus. Ces huiles sont connues par la présence de phénols au sein de leurs compositions chimiques et qui sont identifié par la localisation d'une bande caractéristique de la vibration de la liaison OH d'un phénol à 3433-3410 cm^{-1} , d'un pic de faible intensité à 3016-3008 cm^{-1} attribué à la vibration C-H d'un noyau aromatique et de 2pics de d'intensité moyenne caractéristique de la déformation de la C-H du noyau aromatique.

Cas des extraits :

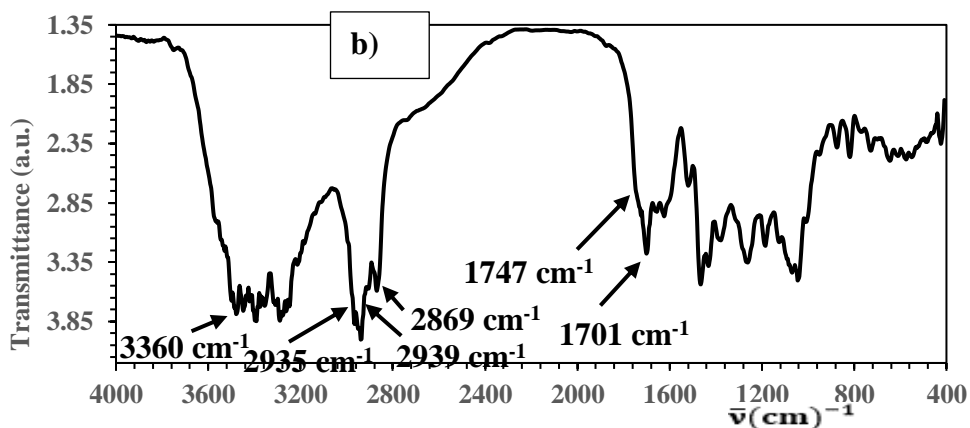
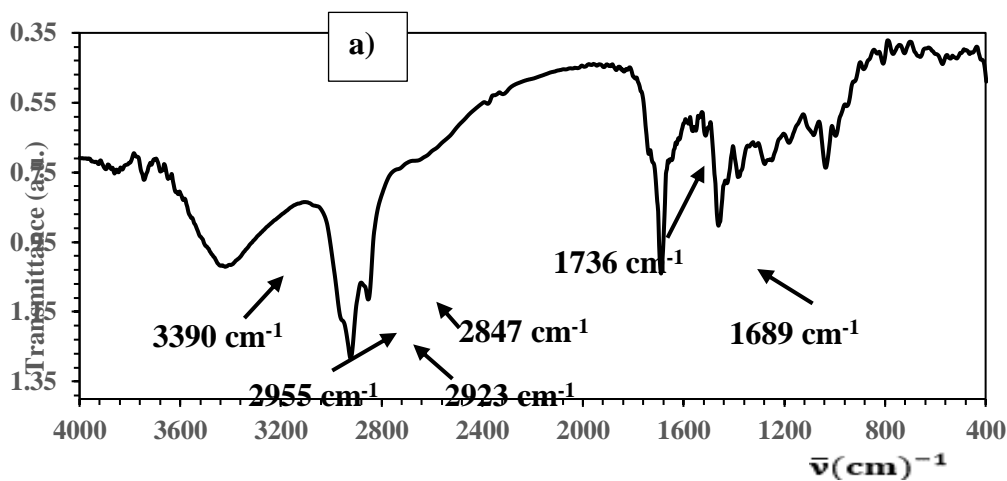


Figure 5.6 : Spectre IRTF des extrais méthanoliques **a)** : Origan.F et **b)** : Thymus.F

Les spectres IRTF des extraits méthanoliques de l'origan et du thymus contiennent les mêmes bandes totalement différentes induisant ainsi des activités différentes de ces extraits. Sur le spectre IRTF de l'origan, une bande très large est visible à 3390 cm^{-1} qui est attribuée à la vibration de la liaison OH d'une fonction carboxylique COOH. L'ensemble des pics localisés entre 2935 et 2847 cm^{-1} représente la vibration de la liaison C-H des groupements méthylène et méthyle. Cependant la fonction carbonyle de l'acide carboxylique est identifiée grâce à la vibration de la liaison C=O à 1736 cm^{-1} sans oublier l'existence d'un pic d'intensité moyenne caractéristique du même type de vibration mais celle d'une cétone à 1689 cm^{-1} .

En ce qui concerne le spectre IRTF de l'extrait méthanolique du thymus, un ensemble de pics s'est ajouté sur la bande située à 3360 cm^{-1} caractérisant la présence à côté de la liaison OH d'un acide carboxylique des liaisons N-H attribuée à la présence d'une quantité appréciable d'alcaloïdes dans l'extrait par contre pour les vibrations C-H des groupements méthylènes, méthyles et celle de C=O de l'acide carboxylique et d'une cétone sont semblables.

VI.2.2. Analyses quantitatives

L'étude quantitative des extraits méthanoliques au moyen des dosages spectrophotométriques, avait pour objectif de déterminer la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes, Pour cet objectif, deux courbes d'étalonnages ont été tracées ; La première réalisée avec l'acide gallique (dosage des polyphénols), la deuxième avec la quercétine (dosage des flavonoïdes).

➤ Dosages des polyphénols :

Les résultats du dosage des deux extraits sont résumés dans le **tableau et** représentés dans la **figure** .

Tableau 12.6 : Résultats du dosage de polyphénols des deux extraits.

Extrait Méthanolique	Origan.F	Thymus.F
A	0.96	0.475
C (mg/ml)	0,93	0,46
T (mg EAG/g E)	159.4	5.337

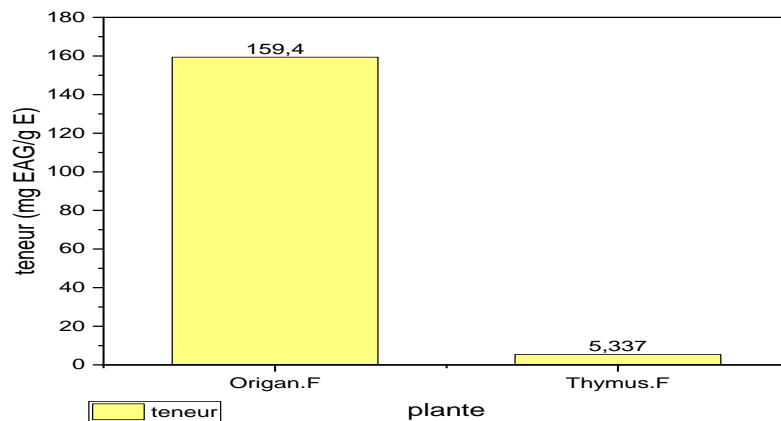


Figure 6.6 : Teneur en polyphénols d'Origan.F et Thymus.F

Ces résultats montrent que l'extrait méthanolique d'origan, F.est le plus riche en polyphénols avec une teneur de 159.4 mg EAG/g E, par rapport à celle de Thymus.F. avec une teneur de 5.2525 mg EAG/g E.

➤ **Dosage des flavonoïdes :**

Les résultats du dosage des deux extraits sont résumés dans le **tableau** et représentés dans la **figure**.

Tableau 13.6 : Résultats du dosage de flavonoïdes d'Origan.F. et Thymus.F.

Extrait Méthanolique	Origan.F	Thymus.F
A	0.308	0.475
C (mg/ml)	0,069	0,106
T (mg EQ/g E)	3,4	5.252

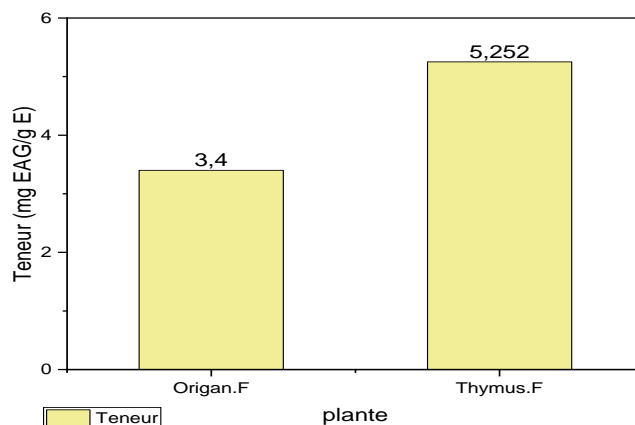


Figure 7.6 : Teneur en flavonoïdes d'Origan.F et Thymus.F

Ces résultats montrent que l'extrait Thymus.F est le plus riche en flavonoïdes avec une teneur de 5.337 mg EQ/g E, par rapport à celle d'origan. F avec une teneur de 3,4 mg EQ /g E.

VI.3. Activité antibactérienne *in vitro* des extraits et des HE

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des échantillons d'huiles et d'extraits testés a été faite sur des bactéries et des levures provenant de la collection du laboratoire de microbiologie du SAIDAL-Dar El Beïda, ceci par la méthode des aromatogrammes. Le pouvoir antimicrobien des substances testées est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par **Meena et Sethi (1994)** et **Ela et al., (1996)**. Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 4 classes :

- Fortement inhibitrice lorsque : diamètre de la zone d'inhibition ≥ 28 mm ;
- Modérément inhibitrice lorsque : $16 \text{ mm} \leq$ diamètre de la zone d'inhibition < 28 mm ;
- Légèrement inhibitrice lorsque : $10 \text{ mm} \leq$ diamètre de la zone d'inhibition < 16 mm ;
- Non inhibitrice lorsque : diamètre de la zone d'inhibition < 10 mm

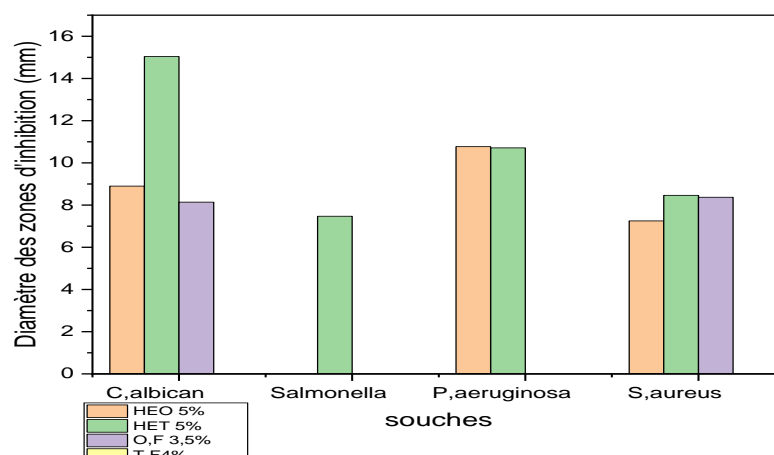


Figure 8.6 : Zones d'inhibition des souches testées produites par les huiles essentielles et les extraits méthanolique d'origan. F et Thymus. F

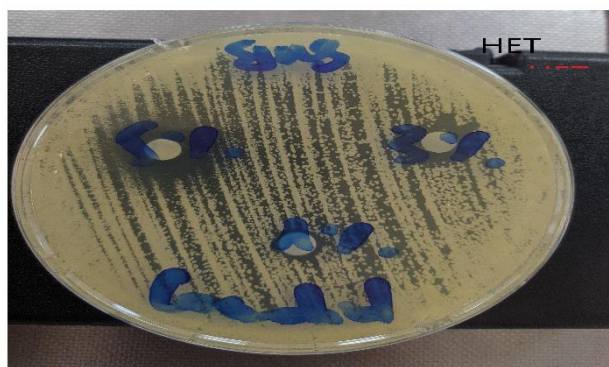


Figure 9.6 : activité antimicrobienne de HET 5%

D'après les valeurs du **Figure** et le **tableaux annex** et selon l'échelle citée par **Meena et Sethi (1994)** et **Ela et al., (1996)** les résultats obtenus peuvent s'interpréter comme suit :

- **Cas des bactéries Gram+ :** Les HE et les EM d'Origan floribundum et Thymus.F, ne montrent aucune activité inhibitrice sur Staphylococcus aureus.
- **Cas des bactéries Gram - :** les HE d'Origa, F et Thymus. F a montré une activité légèrement inhibitrice sur pseudomonas aeruginosa, et aucune activité inhibitrice sur Salmonella.
L'EM d'Origan.F et Thymus.F n'a montré aucune activité inhibitrice sur l'ensemble des souches testées.
- **Cas des levures :** Le HE d'Origa Floribundum et les EM d'Origan.F et Thymus..F, ne montrent aucune activité inhibitrice sur Candida albicans.

Par contre L'HE de Thymus.F a montré une activité légèrement inhibitrice sur *Candida albicans*.

VI.4. Evaluation de l'activité antioxydant

L'activité antiradicalaire des HE et les EM d'Origan.F et Thymus.F a été déterminée par la méthode de DPPH. Les résultats obtenus sont résumés dans les **tableaux (14 et15)** et représentés dans les **figures.**(9 .y)

- **Cas des HE :**

Tableau 14.6 : Les résultats de l'activité antiradicalaire d d'HET. et HEO

	HEO	HET
Les concentrations ($\mu g/ml$) :	Activité Antiradicalaire(%)	Activité Antiradicalaire(%)
50	13.86	37.64
100	20.13	40.91
200	36.46	47.44
400	48.33	61.40
600	79.2	71.4
800	92.87	80.10

L'absorbance (A)de contrôle = 0.3368

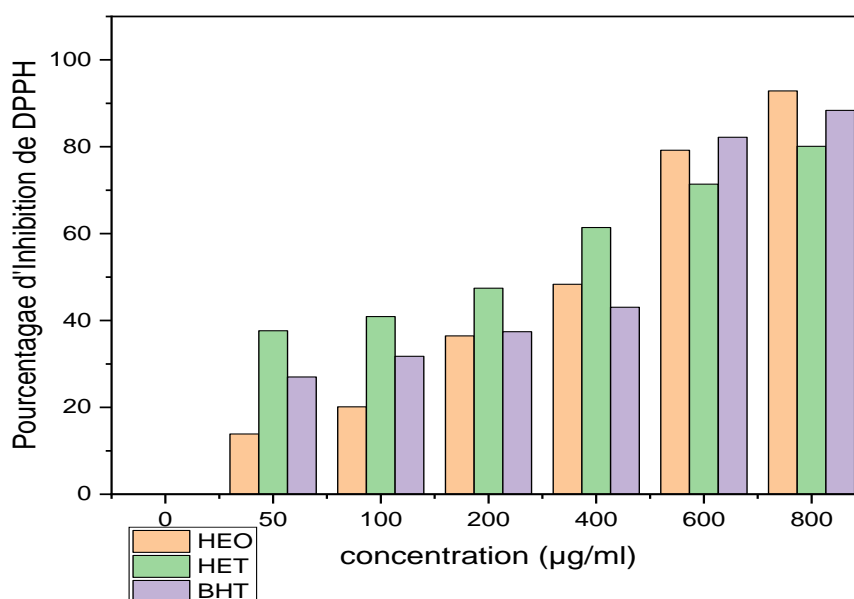


Figure 10.6 : Pouvoir réducteur DPPH de HE et EM d'Origan.F, et de Thymus.F

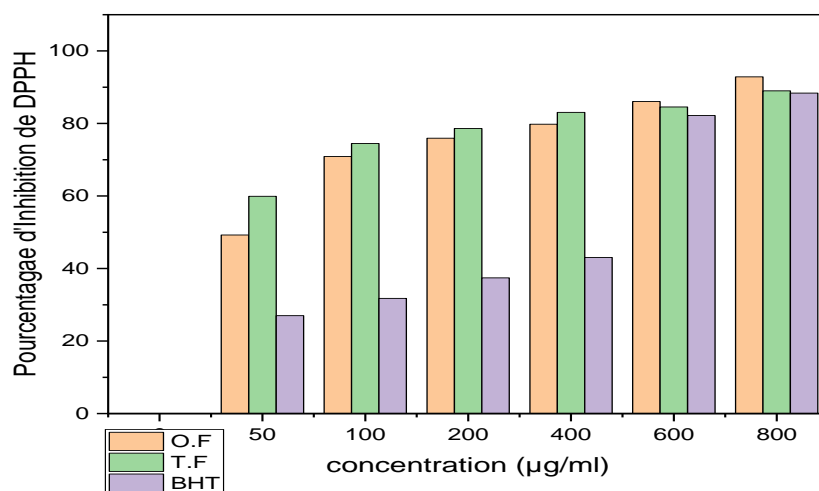
Les résultats obtenus montrent que les extraits de deux plantes révèlent une activité anti radicalaire. L'effet maximum d'inhibition de DPPH de l'extrait des. et. à la concentration de 400 (µg/ ml) est de 85,71 % et 86,91 % respectivement.

- **Cas des EM et BHT :**

Tableau 15.6 : Les résultats de l'activité antiradicalaire des EM d'origan. F , Thymus.F et le BHT

	O. F	T. F	BHT
Les concentrations (µg/ml) :	Activité Antiradicalaire(%)	Activité Antiradicalaire(%)	Activité Antiradicalaire(%)
50	49.25	59.91	27.01
100	70.90	74.46	31.76
200	75.95	78.62	37.41
400	79.80	83.07	43.05
600	86.04	84.56	82.2
800	92.87	89.01	88.39

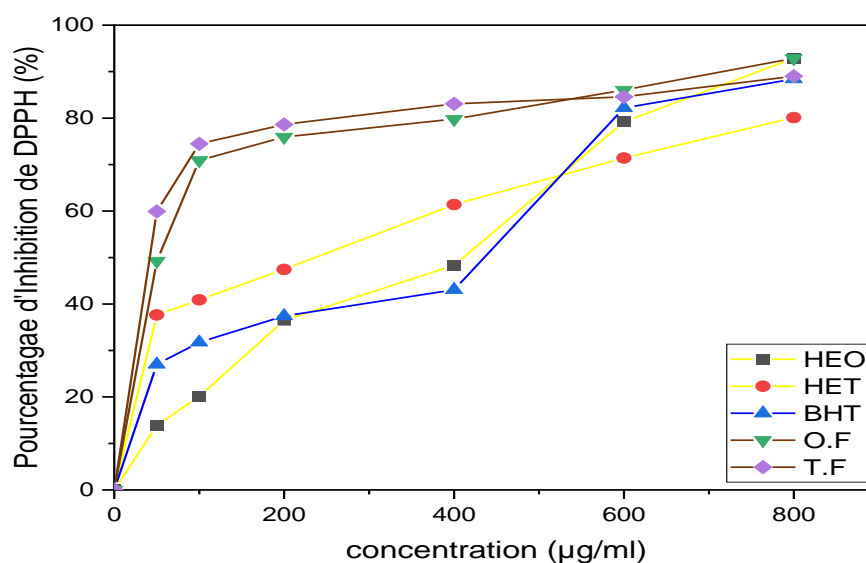
L'absorbance (A)de contrôle = 0.3368



D'après la **figure**, les pourcentages d'inhibition du radical DPPH augmentent au fur et à mesure que les concentrations des deux extraits augmentent. Cette augmentation d'inhibition du radical DPPH est significative en fonction de la concentration.

- **Détermination de l'IC₅₀ :**

IC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée. La concentration de l'échantillon essentiel pour inhiber 50% du DPPH radicalaire a été calculée par la régression linéaire des pourcentages d'inhibition calculés en fonction des différentes concentrations d'extraits préparés.



‘ **Figure 11.6 : Pouvoir réducteur DPPH de HE et EM d’Origan.F, et de Thymus.F**

Tableau 16.6 : les valeurs de IC 50

Plante	Y = a*x + b	R ²	IC 50(µg/ml)
HEO	Y= 0.106x + 10.439	0.984	373.301
HET	Y=0.057x + 35.808	0.99171	248.98
BHT	Y=0.086x+ 20.639	0.92854	339.43
O. F	Y=0.044x +59.907	0.7621	50
T. F	Y= 0.029x+67.691	0.72766	Inferieure a 50 (µg/ml)

Les valeurs d’IC50 trouvées pour les extraits étudiés sont représentées dans la **figure**
:

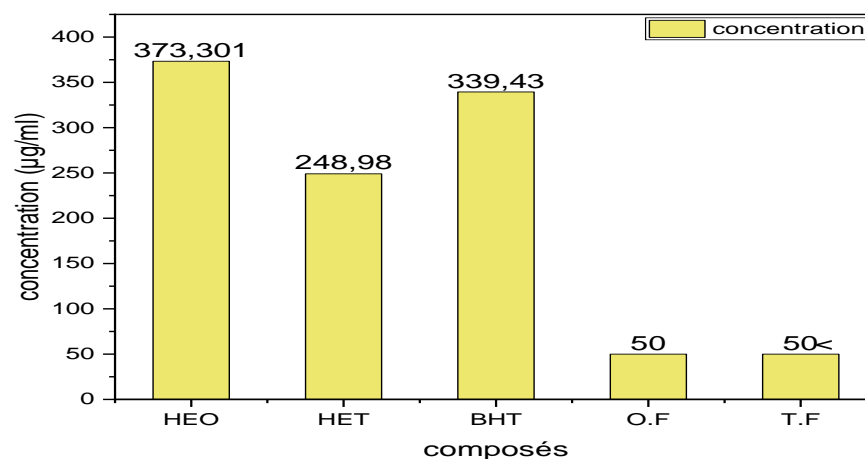


Figure 12.6 : Valeurs des IC50 des HE et d'extraits du O.F et T.F

VI.6. Résultats des formulations :

Après définition des excipients (les alcools gras, span60 et tween 80), ces derniers ont été mis en procès pour la réalisation des 18 crèmes présentent dans le plans d'expérience

Tableau 17.6. Plan Design Expert 13 des formulations Placébo

H (%P/P)	E (%P/P)	C18 (%P/P)	C16 (%P/P)	T80	S60
10	76	0,75	6,75	2,08	4,42
40	46	0,75	6,75	2,08	4,42
10	76	6,75	0,75	2,08	4,42
40	46	6,75	0,75	2,08	4,42
10	76	0,75	6,75	6,5	0
40	46	0,75	6,75	6,5	0
10	76	6,75	0,75	6,5	0
40	46	6,75	0,75	6,5	0
25	61	3,75	3,75	4,29	2,21
25	61	3,75	3,75	4,29	2,21
25	61	3,75	3,75	4,29	2,21

Tableau 18.6. Plan Design Expert 13 des formulations Serie E

<i>H</i> (%P/P)	<i>E</i> (%P/P)	C18 (%P/P)	C16 (%P/P)	T80	S60	TBH
25	63,5	2	2	4,29	2,21	1
25	61,5	3	3	4,29	2,21	1
25	59,5	4	4	4,29	2,21	1
25	60	3,75	3,75	2,08	4,42	1
25	60	3,75	3,75	3,97	2,53	1
25	60	3,75	3,75	5,27	1,23	1
25	60	3,75	3,75	6,5	0	1

VI.6.1. Caractérisations des crèmes :

Les crèmes formulés ont été subit aux différents tests de caractérisation Microstructurale, rhéofluidifiants et de stabilité pour pouvoir interpréter mieux leurs qualités et les effets de composants utilisés dans cette étude.

VI.6.1.1. Physico-chimique :

- **pH des crèmes :**

Les produits finaux ayant un pH compatible avec la peau humaine(placebos) et avec différentes consistances et leurs stabilités remarquées à l'œil nu (**Tableau**).

Les valeurs de pH des formulations (placebos) des crèmes allant de 5.192 à 6.316, Ces valeurs, qui se situent dans la plage du pH physiologique d'une peau saine, sont importantes pour la tolérance physiologique et une absence possible d'irritation cutanée dans les applications topiques.

Tableau 19.6. Mesure le ph des crèmes préparés

Formulation	Ph	Stability (5 mois à 24°C)
P1	6.267	S
P2	5.741	S
P3	5.420	S
P4	5.702	S
P5	5.501	S
P6	6.316	S
P7	5.198	Pas S

P8	5.421	Pas S
P9	5.210	S
P10	5.216	S
P11	5.223	S
E1	2.062	S
E2	2.028	S
E3	2.030	S
E4	1.960	S
E5	2.031	S
E6	2.078	S
E7	1.977	S

VI.6.1.2. Caractérisation microstructurale par microscopique :

Une observation microscopique a été effectuée en utilisant un microscope optique avec un grossissement X40, les observations microscopiques sont effectuées pour évaluer et mesurer la taille des gouttelettes, d'observer leurs formes et par conséquent examiner la stabilité microstructurale et leur homogénéité.

Serie E :

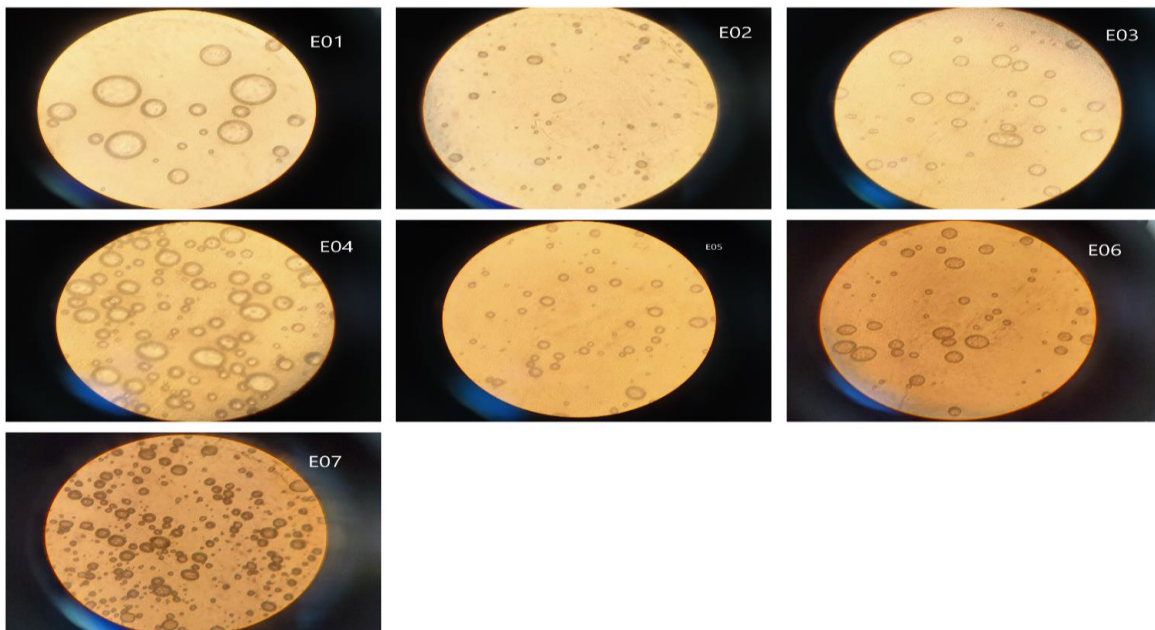


Figure 13.6. Les micrographes optiques prise à un grossissement X40 illustrant la morphologie des gouttelettes.

La **E06** a une distribution monomodale, et monodisperse qui lui donne l'avantage d'être choisie meilleure parmi toutes les formulations (Optimale).

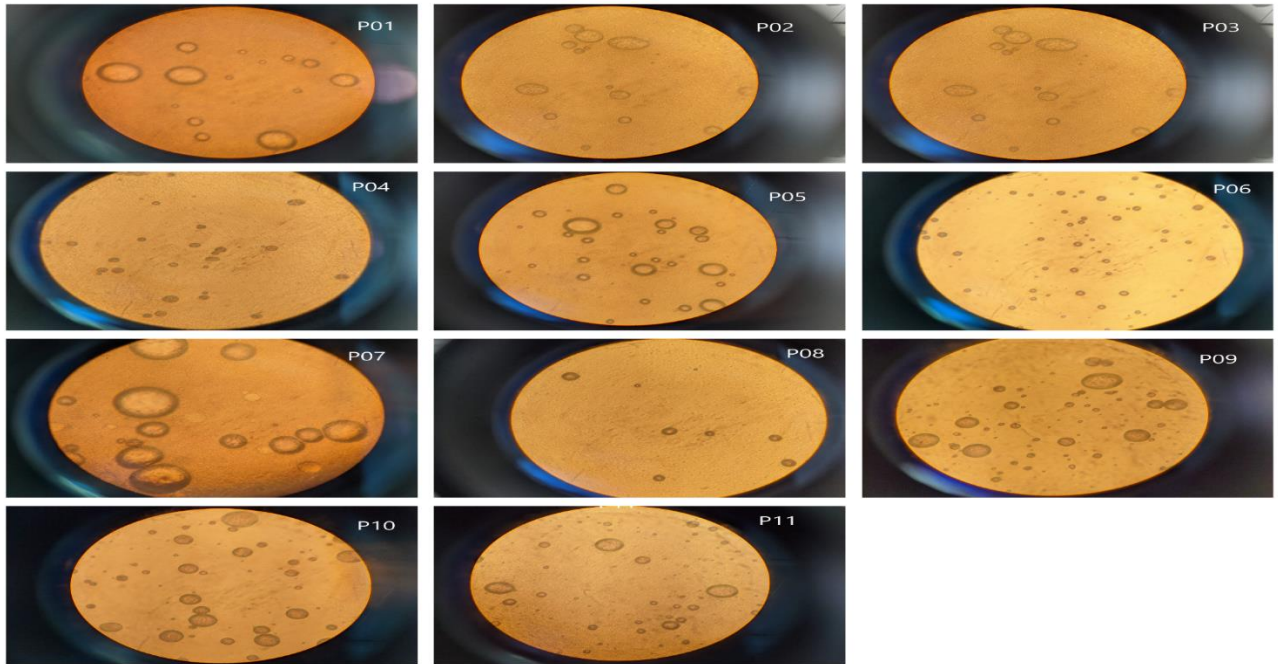


Figure 14.6. L'examen microscopique à un grossissement X40 pour formulation (P)

VI.6.1.3. Caractérisations rhéologiques des crèmes :

Ces caractéristiques ont pour but de déterminer le comportement et les paramètres rhéologiques et le comportement structurelles des formulations.(annexes)

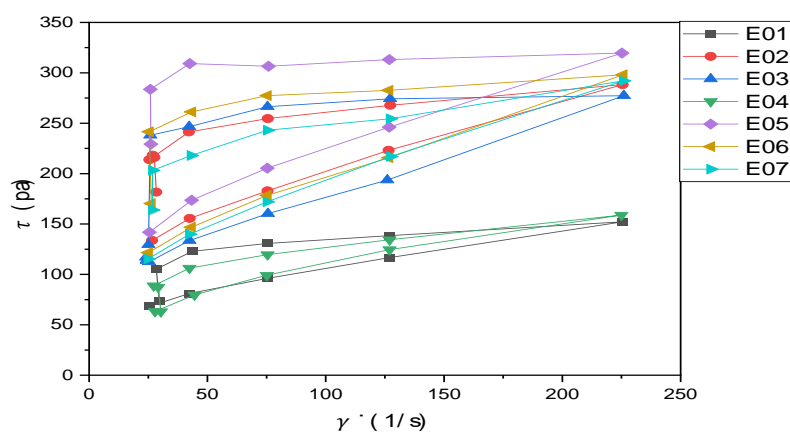


Figure 15.6 : étude réologique de la serie E

Toute les formulations représente un fluide thixotrope tonotopique
 Les crèmes taxotropiques assurer une meilleure distribution des principes actifs et la stabilité de la formulation.

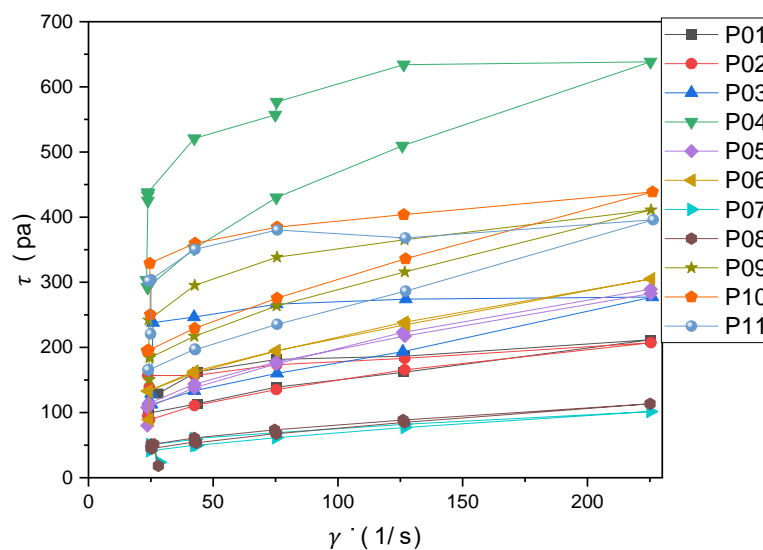


Figure 16.6 : étude réologique des placebos

Tous les formulation représente un fluide thixotrope sauf les formulations (P05,P07 et P08.)

VI.6.2. Résultat d'étude de stabilité :

Afin de prédire la stabilité physique des crèmes formulés à l'après une longue durée de vie, une étude de déstabilisation accélérée a été réalisée en utilisant la méthode des thermo cycles. Dans cette étude, toutes les formulations ont été résistés aux chocs thermiques et gravitationnels appliqués jusqu'à une étape extensive de cycles de déstabilisation, donc, après 6 cycles, les formulations ayant une phase interne élevée (P04, P02,P11 ,E04) ont subi a une séparation des phases quoi que ce soit leurs proportions en émulsifiant et Co émulsifiant, ce qui a donné lieu à une formation d'un surnageant limpide en haut et la base des tubes à essai et changement de couleur (P04, P02,P11 ,E04) indiquant leurs faible résistance, Andonova expliqua la cause de ce phénomène qu'elle est due à une tension interraciale déséquilibrée entre la microstructure et la force gravitationnelle, il faut mentionner que dans le même travail, l'étude s'est faite en utilisant la même composition ajouté dans cette étude, les premières signes d'instabilités ont été remarqués immédiatement après la formulation des crèmes, par contre, dans notre étude les formulations n'étaient pas instables avant que la déstabilisation été provoquée par le test de thermo-cycles, ce qui pourra être considérer comme une amélioration dans la microstructure et qui assure également la stabilité des crèmes qui possèdent des faibles proportions en phase interne.

Série E :



Figure 17.6 : d'étude de stabilité de la serie E

Série P :

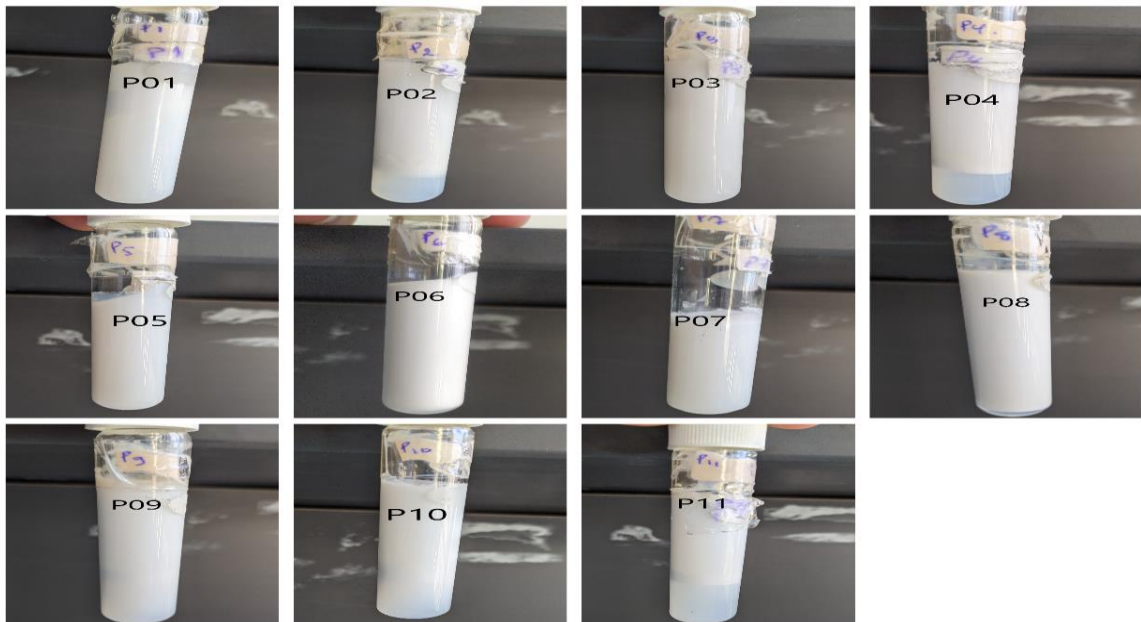


Figure 18.6 : d'étude de stabilité de la serie P

VI.6.3. Résultats de l'étude cinétique de libération de PA :

Les résultats de l'étude des cinétiques de libération lui ne sont pas conformes. à cause du pH acide qui influence la pénétration de la crème .

Solution :

En peut ajuster le pH des crèmes par triméthylamine.

VI.7. Optimisation et validation de la formulation optimale :

La formulation optimale a eu tous les critères nécessaires pour qu'elle soit choisie parmi tous les choix possibles. Le test de stabilité a montré que la structure est résistante aux stress thermique et gravitationnel, de plus, la microstructure a montré une distribution de taille. On a choisi la formulation E06 comme une formulation optimale.

VI.7.1. Formulation hybride :

- **pH des crèmes hybride :**

Tableau 20.6. Caractérisations préliminaires des crèmes hybride préparés

Formulation	pH	Stability (2 sem à 27°C)
HEO	6.12	S
HET	5.91	S
O	6.23	S

- **Résultat d'étude de stabilité des crèmes hybride :**

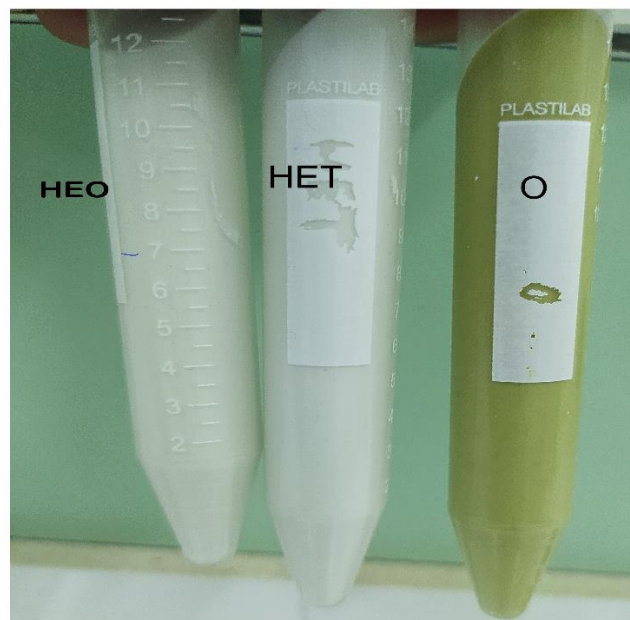


Figure 19.6. Résultat d'étude de stabilité pour chaque crème hybride

- **Sens d'émulsion**

Coloration au bleu de méthylène

On remarque qu'il y a eu solubilisation du bleu de méthylène dans tous les échantillons

préparés (Fig.20), donc on peut dire que nos émulsions sont de sens H/E



Figure 20 :Le test bleu de méthylène.

Tableau 21.6 :Type d'emulsion

Formulation	Type d'emulsion
P01	H/E
P02	H/E
P03	H/E
P04	H/E
P05	H/E
P06	H/E
P07	H/E
P08	H/E
P09	H/E
P10	H/E
P11	H/E
E01	H/E
E02	H/E
E03	H/E
E04	H/E
E05	H/E
E06	H/E
E07	H/E

HEO	H/E
HET	H/E
O	H/E

VI.7.2 Caractérisation microstructurale par microscopie :

Les crèmes hybride examiner au microscope optique avec un grossissement de X40 et X160

HEO:

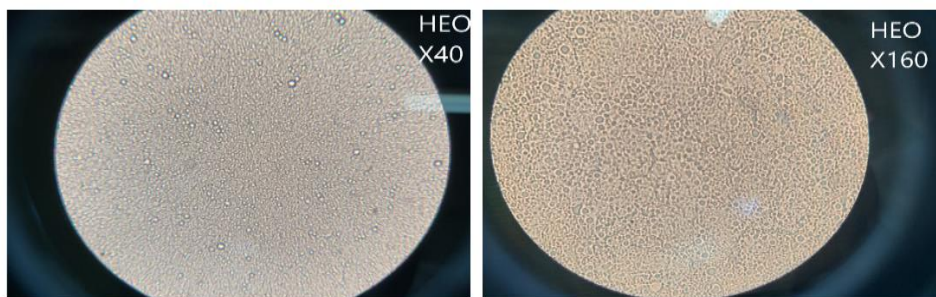


Figure 21.6 : Grossissement $\times 40$ et X160 (HEO)

HET :

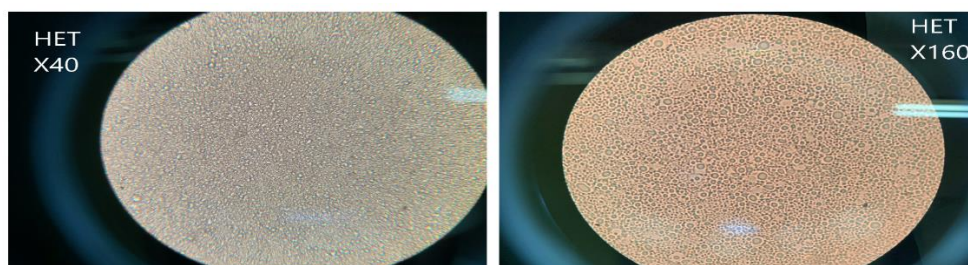


Figure 22.6 : Grossissement $\times 40$ et X160 (HET)

O :

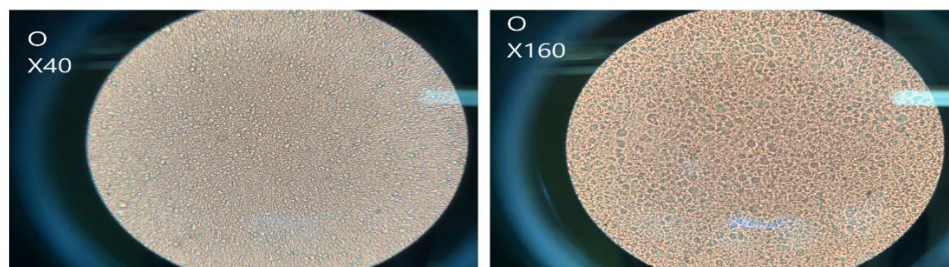


Figure 23.6 : Grossissement $\times 40$ et X160 (O)

VI.7.3. Caractérisations rhéologiques des crèmes Hybride :

- CAS DES HE :

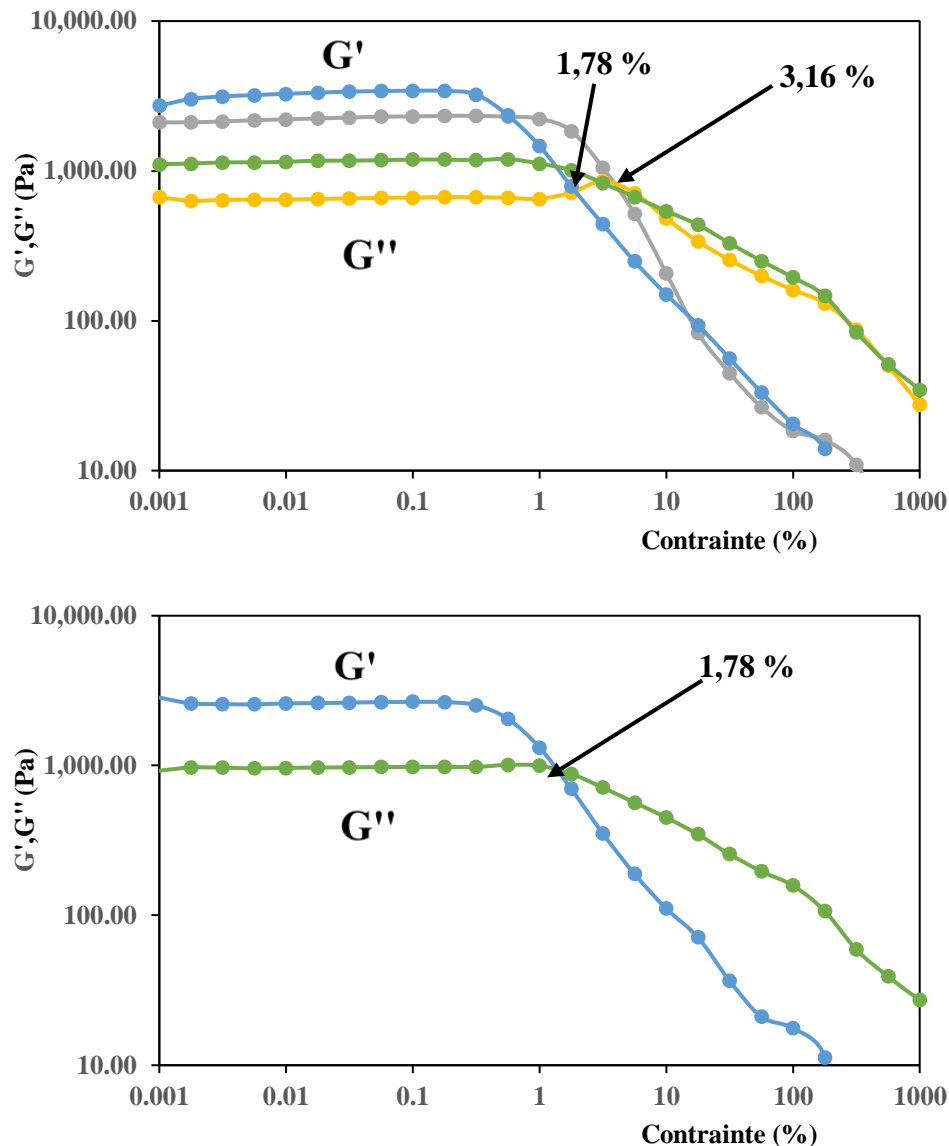


Figure 24.6 : Rhéogrammes des crèmes : a) huile essentielle de l'origan (G' gris et G'' vert) , du thymus (G' bleu et G'' jaune) et b) : de l'origan

Les modules de conservations G' des crèmes préparées à partir des huiles essentielles de l'origan, de l'huile essentielle du thymus et celle d'extrait méthanolique de l'origan sont constant et se situent au-dessus des profils des courbes des modules de perte G'' à cause du caractère élastique des crèmes capable de stocker l'énergie issue de l'application des contraintes. Cependant le caractère élastique sera remplacé par le caractère visqueux à partir des contraintes seuils au moment de l'inversion de G' et G'' . Ces tests de viscoélasticité permettent de confirmer la stabilité des crèmes préparées et de classer leurs stabilités selon l'augmentation de la contrainte seuil.

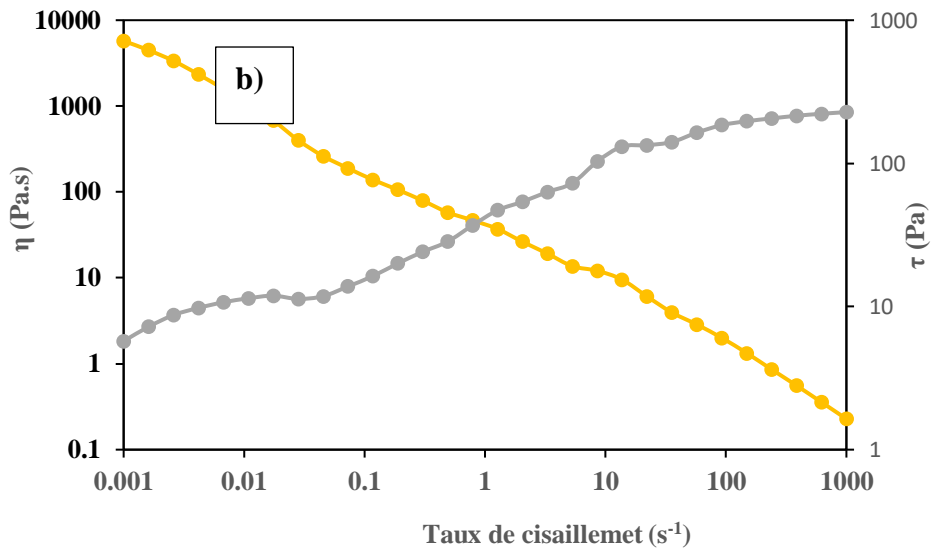
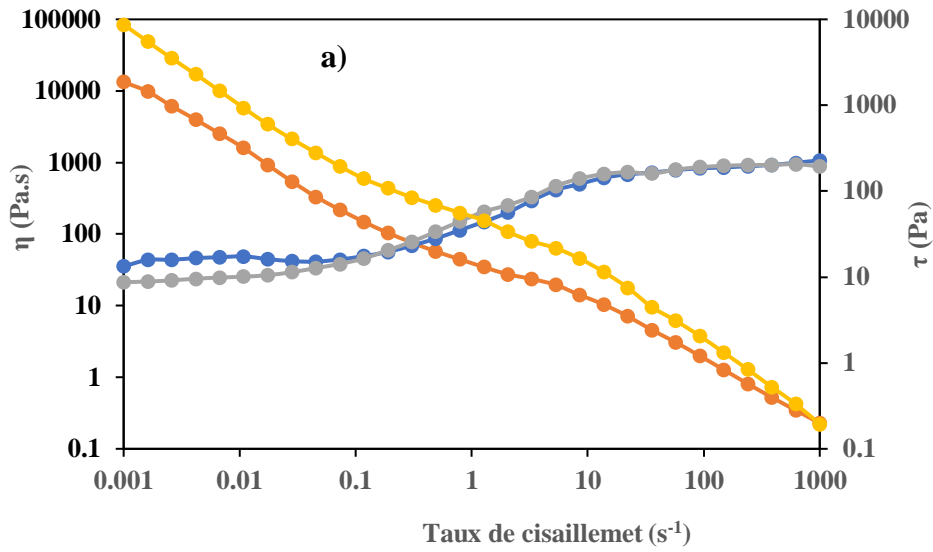


Figure 25.6 : Courbes d'écoulement des huiles essentielles a) origan, thymus et b) de l'origan.

Les courbes d'écoulements des crèmes préparées montrent qu'elles se comportent comme des fluides non newtoniens une propriété importante pour aboutir à une distribution et une absorption optimale du principe actif et par conséquent un effet thérapeutique certain.

Conclusion

L'utilisation des plantes médicinales dans la fabrication pharmaceutique revêt une grande importance. Ces plantes offrent une source naturelle de composés bioactifs qui peuvent être utilisés pour développer de nouveaux médicaments. Leur utilisation permet d'explorer de nouvelles voies thérapeutiques et de découvrir des traitements potentiels pour différentes maladies. De plus, les plantes médicinales offrent une alternative aux médicaments synthétiques, étant souvent mieux tolérées par l'organisme. Leur utilisation peut également contribuer à rendre les médicaments plus abordables et accessibles à un plus grand nombre de personnes.

Ce travail de recherche qui a porté sur l'étude de la composition chimique, caractérisation physicochimique et de l'activité antioxydante, antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits de deux Lamiaceae, afin d'élaborer une crèmes antifongique hybride.

Les résultats de ce travail de recherche, nous permettent de conclure ce qui suit :

- pour la cinétique d'extraction ; Au début de l'extraction, le volume (V) et le rendement (R %) en HE des deux plantes sont plus importantes. Par rapport au temps d'extraction.
 - Le Rendement maximal en HE des deux plantes est obtenu après 50 min. D'extraction.
 - L'huile essentielles d'Origan. F contient un rendement plus important que l'huile essentielle de Thymus.F.
 - Le screening phytochimique confirme la présence des groupes chimiques communs comme polyphénols, flavonoïdes, alcaloïdes, saponines et Tanins Galliques et d'une absence de Tanins catéchiques, anthocyanes, ainsi qu'il confirme une différence dans les terpénoïdes.
 - En ce qui concerne l'activité antioxydante, les résultats ont révélé que l'huile essentielle d'Origan possède une faible capacité anti-radicalaire et réductrice comparée à celle de l'antioxydant de synthèse (BHT).
- L'huile essentielle de Thymus.F et les deux extraits méthanoliques ont révélé une forte activité de piégeage des radicaux libres DPPH et un pouvoir réducteur puissant comparé à celle de l'antioxydant de synthèse (BHT).
- L'étude qualitative de l'activité antimicrobienne nous a permis de conclure que les huiles essentielles de Thymus expriment un pouvoir inhibiteur intéressant sur C.albican.
 - Enfin, les crèmes élaborés à partir des HE d'Origan.F et Thymus.F et l'extrait d'Origan.F sont conformes aux normes requises d'après les tests de stabilité et les profils rhéologiques.

Références bibliographiques

- [1] E. Guenther, *The Essential Oils.*, New York: D. Van Nostrand Company Inc, 1948, p. 427 p.
- [2] W. B. S. J. S. B. N. & M. W. Dhifi, «Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: a critical review,» *Medicines*, vol. 3, n° %14, pp. 25-39, 2016.
- [3] Association Française de Normalisation (AFNOR), *Huiles Essentielles, Tome 2, Monographies Relatives Aux Huiles Essentielles*, 6 éd., vol. 2, Paris: AFNOR, Association Française de Normalisation, 2000.
- [4] A. Carette Delacour, «La Lavande et son Huile Essentielle,» Université Lille 2, Lille, France, 2000.
- [5] S. M. & H. S. S. Pourmortazavi, «Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis,» *Chromatogr. A*, vol. 1163, pp. 2-24, 2007.
- [6] S. Burt, «Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review,» *International journal of food microbiology*, vol. 94, n° %13, pp. 223-253, 2004.
- [7] F. A. S. A. D. & I. M. Bakkali, «Biological effects of essential oils,» *Food. Chem.Toxicol.*, vol. 46, pp. 446-475, 2008.
- [8] J. M. Hurtel, *Huiles essentielles et Médecine. Aromathérapie et santé.*, 2006.
- [9] L. A. Couic-Mariner F, «Les huiles essentielles en pratique à l'officine,» *Actualités pharmaceutiques.*, vol. 52, pp. 31-3, 2013.
- [10] C. Pierron, *Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs*, 2014.
- [11] B. C., *Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées : Université de La Rochelle*, 2008.
- [12] C.-B. D. FERNANDEZ X, «Analyse des arômes. Techniques de l'ingénieur Analyse et caractérisation,» 2007.
- [13] L. Peyron, «Production of bitter orange neroli and petitgrain oils,» *Citrus : The Genus Citrus.*, p. 148, 2002.
- [14] D. Fasty, *Ma bible des huiles essentielles.*, Leduc Editions, 2007, p. 20 p.
- [15] F. e. Péroël, *L'Aromathérapie exactement*, Editions R. Jolois, 1990.
- [16] K. D. D. H. J. O. P. P. D. Y. L. I. & H. R. Dastmalchi, «Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract,» *Food. Sci. Tech LWT.*, vol. 41, n° %13, pp. 391-400, 2008.
- [17] S. V. A. K. Kristiawan M, «Isolation of Indonesian cananga oil using multi-cycle pressure drop process,» *Journal of Chromatography A*, vol. 1192, pp. 306-18, 2008.
- [18] Z. E. A. & V. P. Hromadkova, *Ultrasoundassisted extraction of water-soluble polysaccharides from the roots of valerian*, 2002.
- [19] M. H. N. S. H. & K. M. H. Entezari, «The direct effect of ultrasound on the extraction of date syrup and its microorganisms,» *Ultrasonics Sonochemistry*, vol. 11, n° %16, pp. 379-384, 2004.

- [20] M. P. L. & S.-B. C. Gonzalez-Briongos, «Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from wine samples: Optimization of the method.,» *Talanta*, vol. 69, pp. 1123-1129, 2006.
- [21] P. S. C.-F. T. G.-B. M. P. L. & S.-B. C. Cabredo, «Ultrasound-assisted extraction of volatile compounds from wine samples: Optimization of the method.,» *Talanta*, vol. 69, pp. 1123-1129..
- [22] M. T. S. B. P. K. D. a. T. B. Corrales, «Extraction of Anthocyanins from Grape By-Products Assisted by Ultrasonics, High Hydrostatic Pressure or Pulsed Electric Fields: A Comparison.,» *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Janvier 2008.
- [23] F. H. Z. & K. M. K. Chemat, «Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction.,» *Ultrasonics Sonochemistry.*, vol. 18, pp. 13-835, 2011.
- [24] H. M. L. C. & C.-M. J. L. Santos, *The Power of Ultrasound. Ultrasound in chemistry: Analytical Applications.*, C. W. V. G. & C. José-Luis, Éd., Weinheim, 2009, p. 171 p.
- [25] K. Suslick, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology.*, vol. 26, pp. 517-541, 1998.
- [26] C. Haunold, «Extraction de pyréthrines : analyse du procédé discontinuet de l'influence des ultrasons, modélisation et mise en œuvre d'un procédé continu.,» Thèse INP Toulouse., Toulouse, France, 1991.
- [27] S. L. A. A. A. H. B. P. V. & C. F. Chemat, «Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds.,» *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 19, n° % 13, pp. 188-195, 2004b.
- [28] M. B. P. A. P. T. e. P. S. Crabas N., «Extraction, séparation and isolation of fowl and dyes of *Officinalis calendula L.* And *Aloysiastriphylla Britton* by CO₂ supercritical.,» *Journal of Essential Oil Research*, vol. 15, n° % 14, p. 272, 2003.
- [29] S. Jouault, «La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Université de Lorraine,» Université de Lorraine, Nancy, France, 2012 .
- [30] J. M. & H. V. Lardry, «Les huiles essentielles : principes d'utilisation.,» *Kinesitherapie, la revue .*, vol. 61, n° % 17, pp. 18-23, 2007.
- [31] Groupe Fleurbec, *Plantes sauvages des lacs, rivières et tourbières.*, Saint-Augustin (Portneuf), Québec: Fleurbec, 1987.
- [32] B. Zougali, «Étude physico-chimique des plantes médicinales Algériennes,» Alger, 2012.
- [33] M. J. Richard H., *Les arômes alimentaires*, Tec.&Doc, Éd., Paris, France: Lavoisier, 1992, p. 438 p.
- [34] N. Benhabiles, «Comparaisons des huiles essentielles de deux espèces Algériennes de romarin : Extraction et étude analytique.,» Alger, 1995.
- [35] F. Richard, *Manuel des corps gras*, Tec.&Doc, Éd., Paris: Lavoisier, 1992, pp. 1228-1242.
- [36] J. L. Multon, *Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires*, Paris, France: Lavoisier, 2002, pp. 207-231.
- [37] D. L. D. S. S. & S. D. K. Madhavi, *Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives.*, New York: Marcel Dekker, Inc, 1996, p. 65 p.
- [38] S. & L. M. Caillet, «Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire.,» 2007.
- [39] A. Pauli, « Antimicrobial properties of essential oil constituents.,» *Int. J. Aromather*,

vol. 11, pp. 126-133, 2001.

- [40] D. A. A. K. & K. A. Kalemba, «Antibacterial and antifungal properties of essential oils.,» *Current medicinal chemistry*, vol. 10, n° %110, pp. 813-829, 2003.
- [41] K. S. e. B. J. O. (. i. G. Voukou D., «Origanum onites (Lamiaceae) in Greece: Distribution, volatile oil yield, and composition,» *Economic Botany*, vol. 42, 1988.
- [42] T. B. & C. S. Yen, «Synergistic effects of cinnamaldehyde in combination with eugenol against wood decay fungi,» *Biore. of Techno*, vol. 99, pp. 232-236, 2008.
- [43] C. K. M. C. A. E. E. N. S. A. T. H. S. A. Smith, «Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde, and cinnamic alcohol,» *Toxicology and applied pharmacology*, vol. 168, n° %13, pp. 189-199, 2000.
- [44] M. H. S. N. Y. N. K. & S. T. Naganuma, «A study of the phototoxicity of lemon oil,» *Archives of dermatological research*, vol. 278, pp. 31-36, 1985.
- [45] J. L. Abrassart, Aromathérapie essentielle: huiles essentielles et parfums pour le corps et l'âme., G. Trédaniel., 1997.
- [46] M. Werner, Les huiles essentielles : réveil du corps et de l'esprit., Vigot., 2001.
- [47] M. M. C. E. J. Y. O. K. K. N. S. K. K. & L. D. S. Won, «Use of headspace mulberry paper bag micro solid phase extraction for characterization of volatile aromas of essential oils from Bulgarian rose and Provence lavender.,» *Analytica chimica Acta*, vol. 631 , n° %11, pp. 54-61, 2009.
- [48] E. Z. Nkhili, Polyphénols de l'alimentation: extraction, interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant., Avignon, Janvier 2009.
- [49] J. Bruneton, Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales., 2e éd., T. & DOC, Éd., Paris, France: Lavoisier, 1993, p. 623P p.
- [50] W. G. Hopkins, Physiologie végétale, De Boeck Supérieur, 2003.
- [51] M. N. Clifford, « Chlorogenic acids and other cinnamates–nature, occurrence and dietary burden.,» *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 79, n° %13, pp. 362-372, 1999.
- [52] M. F. C. D. B. R. G. R. G. C. M. R. D'Archivio, «Polyphenols, dietary sources and bioavailability.,» *Ann Ist Super*, vol. 43, pp. 348- 361, 2007.
- [53] F. & N. M. Shahidi, Food Phenolics, Lancaster-Basel: Technomic pub. Co. Inc., 1995.
- [54] J. B. B. H. & M. G. P. Harborne, Phytochemical dictionary: Handbook of bioactive compounds from plants, 2 éd., London, UK: Taylor & Francis, 1999.
- [55] N. S. K. & S. S. Balasundram, «Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses,» *Food chemistry*, vol. 99, n° %11, pp. 191-203, 2006.
- [56] A. & Y. G. King, «Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals.,» *Journal of the American Dietetic Association*, vol. 99, p. 213–218, 1999.
- [57] P. Sarni-Manchado, «Composés phénoliques dans la plante-Structure, biosynthèse, répartition et rôles.,» chez *Les polyphénols en agroalimentaire*, C. V. e. T. e. D. Sarni-Manchado P, Éd., Paris, France, Lavoisier, 2006, pp. 390-399.
- [58] L. J. e. V. J. Psotová J., «Metal-Chelating Properties, Electrochemical Behavior, Scavenging and Cytoprotective Activities of Six Natural Phenolics.,» *Biomedical Papers*, vol. 2, pp. 147-153, 2003.
- [59] L. A. Hale, Screening Potato Genotypes for Antioxidant Activity, Identification of the Responsible Compounds, and Differentiating Russet Norkotah Strains Using Aflp and Microsatellite Marker Analysis, Office of Graduate Studies of Texas A&M University,

2003, p. 260 P.

- [60] J. J. F. A. & J.-A. C. Macheix, Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, PPUR presses polytechniques, 2005.
- [61] A. A. C. P.-B. L. A. F.-T. E. A. C. N. Aguilera-Carbo, «Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins,» *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 78, n° %12, pp. 189-199, 2008.
- [62] A. Scalbert, «Antimicrobial properties of tannins.,» *Phytochemistry*, vol. 30, n° %112, pp. 3875-3883, 1991.
- [63] J. Bruneton, Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, TEC&DOC, Éd., Paris: Lavoisier, 1999, p. 1120 p.
- [64] PubChem, «Pubchem,» National Library of Medicine. [En ligne].
- [65] Y. C. S. & Y. O. Wang, «Metabolic engineering of flavonoids in plants and microorganisms.,» *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 91, n° %14, p. 949..., 2011.
- [66] P. G. Pietta, «Flavonoids as antioxidants.,» *Journal of natural products*, vol. 63, n° %17, pp. 1035-1042, 2000.
- [67] H. M. H. O. S. S. I. V. M. O. & H. J. Isoda, «Analysis of the erythroid differentiation effect of flavonoid apigenin on K562 human chronic leukemia cells.,» chez *Chemico-biological interactions*, 2014, pp. 220: 269-277.
- [68] K. E. T. A. R. & B. D. J. Heim, «Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships.,» *The Journal of nutritional biochemistry*, vol. 13, n° %110, pp. 572-584, 2002.
- [69] A. B. Hendrich, «Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds.,» *Acta Pharmacologica Sinica*, vol. 27, n° %11, p. 27 p, 2006.
- [70] B. Halliwell, «Free radicals and antioxidants: a personal view,» *Nutritional Reviews*, vol. 52, n° %18, pp. 253-265, 1994.
- [71] F. M. A. & T. J. Mena, «Polyphenols against skin aging in polyphenols in human health and disease,» *pharmaceutica analytica acta*, vol. 1, pp. 819-830, 2014.
- [72] G. F. A. I. I. A. Z. A. P. G. & P. A. Ferrazzano, «Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review,» *Molecules*, vol. 16, n° %12, pp. 1486-1507, 2011.
- [73] T. Z. X. H. M. P. S. & X. X. Wu, «Structure-activity relationship of flavonoids on their anti-Escherichia coli activity and inhibition of DNA gyrase,» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 6, pp. 8185-8190, 2013.
- [74] H. & I. M. Tsuchiya, «Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*,» *Phytomedicine*, vol. 7, n° %12, pp. 161-165, 2000.
- [75] F. Couplan, Dictionnaire étymologie de botanique, Luisane, Éd., Paris, France: Nestlé, 2000.
- [76] F. M. M. M. M. & G. A. Naghibi, «Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology,» *Iranian journal of pharmaceutical research*, vol. 2, pp. 63-79, 2005.
- [77] M. Botineau, Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs., T. & Doc, Éd., Paris, France: Lavoisier, 2010, pp. 1021-1043.
- [78] K. Pistrick, «Notes on neglected and underutilized crops Current taxonomical

overview of cultivated plants in the families ' Umbelliferae and Labiatae.,» *Genetic resources and crop evolution*, vol. 49, n° %12, pp. 211-221, 2002.

- [79] S. R. C. & B. R. Meyer, *Botanique Biologie et Physiologie Végétales*, Paris, France: Maloine, 2004.
- [80] B. Messaili, *Botanique, systématique des spermaphytes*, Alger: OPU, 1995, p. 91 p.
- [81] P. & S. S. Quezel, *Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Desertiques Meridionales.*, 2 éd., Paris, France: Centre National de la Recherche Scientifique, 1963, p. 783 p.
- [82] S. V. F. M. e. J. D. Spichiger R. E., *Botanique systématique des plantes à fleurs*, 3 éd., Lausanne, 2004, p. 412.
- [83] B. M. S. M. e. K. M. Ruberto G., «Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum*,» *Desf. Flavour and Fragrance Journal*, vol. 17, pp. 251-254, 2002.
- [84] S. Garland, *Le livre des herbes et des épices*, Nathan, 1980.
- [85] S. Padulosi, *Oregano: Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano*, 8-12 May 1996, CIHEAM, Valenzano (Bari), Italy, vol. 14, S. Padulosi, Éd., Bioversity International, 1997.
- [86] A. K. E. P. W. & S. E. J. Ultee, «Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*,» *Applied and environmental microbiology*, vol. 65, n° %110, pp. 4606-4610, 1999.
- [87] S. AZOUDJ, «Valorisation des huiles essentielles de quelques espèces d'*Origanum* et *thymus* spontanées en Algérie,» 1999.
- [88] A. CHIKHOUNE, «Huiles essentielles de thym et d'origan,» 2007.
- [89] k. Fadli .S, «composition et activités antimicrobienne des huiles essentielles de thym et de l'origan,» Alger, 2005.
- [90] C. S. S. L. e. L. M. Oussalah M., «Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat,» *Meat Science*, vol. 73, pp. 236-244, 2006.
- [91] K. M. H. Z. A. I. Baser K.H.C., «Composition of the essential oil of *Origanum floribundum* Munby from Algeria,» *J. Essent. Oil Res*, vol. 12, pp. 753-756, 2000.
- [92] R. R. Lawrence B.M., «The botanical and chemical aspect of *Origanum*,» *Perfumer et Flavorist*, vol. 9, pp. 41-51, 1984.
- [93] A. .C, «Plante du mois : origan,» *Maroc-PAM*, n° %17, p. 4, 2006.
- [94] D. D. T. B. & C. C. T. Dob T., «Studies on the essential oils and antimicrobial activity of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut,» *Int. J. Aromath*, vol. 16, n° %12, 2006.
- [95] B. M. F. & D.-A. R. Nickavar, «Analysis of the essential oils of two *Thymus* species from Iran,» *Food chemistry*, vol. 90, n° %14, pp. 609-611, 2005.
- [96] E. Stahl-Biskup, *Thyme: The Genus Thymus*, 1 éd., E. & S. F. Stahl-Biskup, Éd., 2002.
- [97] N. Mebarki, «Extraction de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse-antimicrobienne,» Boumerdès, 2010.
- [98] H. S. T. I. H. D. H. K. S. T. Y. & M. K. Haraguchi, «Antiperoxydative components in *Thymus vulgaris*,» *Planta medica*, vol. 62, n° %13, pp. 217-221, 1996.
- [99] K. V. P. R. Š. A. & L. J. (. Ložienė, «Food chemistry,» *Radical scavenging and*

antibacterial properties of the extracts from different Thymus pulegioides L. chemotypes, vol. 103, n° 12, pp. 546-559, 2007.

- [100] M. R. N. Y. S. Z. E. F. J. & P. J. A. Viuda-Martos, «Antioxidant activity of essential oils of five spice plants widely used in a Mediterranean diet.,» *Flavour and Fragrance journal*, vol. 25, n° 11, pp. 13-19, 2010.
- [101] R. & K. A. Mehdioui, «Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de la forêt d'Amsittène: cas de la Commune d'Imi n'Tlit (Province d'Essaouira),» *Bulletin de l'Institut scientifique, Rabat, section Sciences de la vie*, n° 129, pp. 11-20, 2007.
- [102] E. D. J.-M. A. Ostojic, «Analyse structurale et biomécanique de la peau.,» *Chirurgie dermatologique*, 2017.
- [103] M. & W. K. Roberts, «Human skin morphology and dermal absorption,» chez *In Dermal Absorption and Toxicity Assessment*, Informa Healthcare, 2008, pp. 1-15.
- [104] E. & M. H. Smith, *Percutaneous penetration enhancers*, CRC/Taylor & Francis, 2006.
- [105] N. A. O. S. J. & I. A. O. Monteiro-Riviere, «Interactions of aluminum nanoparticles with human epidermal keratinocytes,» *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, vol. 30, n° 13, pp. 276-285, 2010.
- [106] I. N. K. K. M. T. Nikoh N., «Phylogenetic relationship of the kingdoms of Animalia, Plantae, and Fungi, inferred from 23 different protein species,» *Molecular Biology and Evolution*, vol. 11, pp. 762-768, 1994.
- [107] G. J. L. V. J. Bouchet PH., *Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée.*, Paris, France: Masson, 1999.
- [108] G. J.-L. P. Y.-F. V. J. Bouchet PH., *Les champignons. Mycologie fondamentale et appliquée.*, Paris: Masson, 2005.
- [109] B. J. D. G. L. B. S. C. B. P. P. Chabasse D., «Les moisissures d'intérêt médical,» *Cahier de formation*, n° 125, 2002.
- [110] J. Guillot, «Le diagnostic biologique des mycoses animales,» *Revue Française des Laboratoires*, n° 1310, pp. 57-64, 1999.
- [111] A. S. M. O. S. A. M. T. A. E. S. M. R. Al Shima, «Dermatophytes and other associated fungi in patients attending to some hospitals in Egypt.,» *Brazilian Journal of Microbiology*, vol. 46, n° 13, pp. 799-805, 2015.
- [112] A. J. G. G. C. D. H.-M. J. M. E. E. Q. G. G. J. Carrillo-Muñoz, «Terbinafine susceptibility patterns for onychomycosiscausative dermatophytes and *Scopulariopsis brevicaulis*,» *International journal of antimicrobial agents*, vol. 31, n° 16, pp. 540-543, 2008.
- [113] M. A. I. N. C. Ghannoum, «Dermatophytes and dermatophytoses,» chez *ClinicalMycology*, vol. 2, 2009.
- [114] G. C. e. C.-A. N. Chabasse D., *Mycologie médicale*, Paris: Masson, 1999, p. 324.
- [115] N. Kah, «Dermatophyties, candidoses et autres mycoses superficielles : rôles du pharmacien d'officine,» 2011.
- [116] J. A. A. D. B. J. D. A. C. A. C. A. & O. J. S. R. L. D. Oliveira, «Superficial mycoses in the City of Manaus,» *AnaisBrasileiros de Dermatologia*, vol. 81, n° 13, pp. 238-243, 2006.
- [117] M. M. A. (. , 2. .. Pihet, «Diagnostic biologique des candidoses.,» *Revue francophone des laboratoires*, n° 1450, pp. 47-61, 2013.
- [118] M. G. & J. A. D. Miller, «White-opaque switching in *Candida albicans* is controlled by mating-type locus homeodomain proteins and allows efficient mating,» *Cell*, vol.

- 110, n° %13, pp. 293-302, 2002.
- [119] N. C. V. C. M. & B. R. J. (. Papon, «Emerging and emerged pathogenic Candida species: beyond the Candida albicans paradigm,» *Plos Pathogens*, vol. 9, n° %19, 2013.
- [120] K. B. N. A. S. R. A. M. P. A. C. e. F. R. C. d. A. A. S. C. A. L. Merseguel, «Genetic diversity of medically important and emerging Candida species causing invasive infection,» *BMC infectious disease*, vol. 15, n° %11, p. 57, 2015.
- [121] N. & S. J. Contet-Audonneau, «Antifongiques et mycoses superficielles,» *Revue Française des Laboratoires*, n° %1332, pp. 37-48, 2001.
- [122] M. S. Lionakis, «New insights into innate immune control of systemic candidiasis.,» *Medical Mycology*, vol. 52, n° %16, pp. 555-564, 2014.
- [123] B. V. S. C. T. B. M. B. S. K. M. L. J. H. B. & J. I. D. Hebecker, «Dual-species transcriptional profiling during systemic candidiasis reveals organ-specific host-pathogen interactions,» 2016.
- [124] G. A., «Rôle centrale des Monocytes /Macrophages dans la défense anti-infectieuse ; implication de la polarisation M2 et des marqueurs associés. Dentine-1, Récepteur Mannose et Interleukine-10,» Toulouse. France, 2009.
- [125] N. Clere, «Quelle prise en charge pour les mycoses?,» *Actualités pharmaceutiques*, n° %1448, pp. 35-37, 2009.
- [126] K. K. R. H. S. G. Hänsel R, Drogen E-O, Berlin: Springer- Verlag, 1993, pp. 399-404.
- [127] K. Anikumar, «Enseigner la formulation chimique,» 2015.
- [128] N. & B.-H. C. Bouzaouit, «Response surface methodological study of glucose laurate synthesis catalyzed by immobilized lipase from candida cylindracea,» *In Biol. Forum*, vol. 8, pp. 420-427, 2016.
- [129] G. Blondet, «Système à base de connaissances pour le processus de plan d'expériences numériques,» 2017.
- [130] J. Goupy, «Pratiquer les plans d'expériences», Paris: Dunod, 2005.
- [131] G. Sens-Olive., Les huiles essentielles - généralités et définitions, dans *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*, Maloine, 1979, pp. 141-142.
- [132] P. Dubuisson., «Influence de la phase grasse et des polymères naturels sur les paramètres physico-chimiques en lien avec la perception tactile de l'émulsion,» 2016.
- [133] b. G. M. a. V. R. J.-L. G. a. A. a. Eléonore Bouyer a, «Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field,» *International Journal of Pharmaceutics*, 2012.
- [134] JulieGUERY, «émulsions doubles cristallisables: stabilité,encapsulation et relargage,» 2006.
- [135] O. DOUMEIX, Les opérations unitaires en génie : les émulsions biologiques, CRDP.
- [136] E. TUARAZ, «émulsion inverse très concentrées,» 2010.
- [137] A. G. HANSMOLLET, «formulation technology : emulsion, suspensions, solid forms,» wiley-vch, 2001, p. 63.
- [138] KDJALLOUL, «cours de pharmacie galéniquetome I,» OPU, 1989.
- [139] G. ACAMEDINA, «élaboration des émulsions natives issues des graines oleoprotéagineuses et transformation catalytique de la fraction lipidique en biolubrifiants ecolabellissables,» 2010.
- [140] KASSAD., «Etude d'une émulsion à visée anti inflammatoire destinée à la voie orale,»

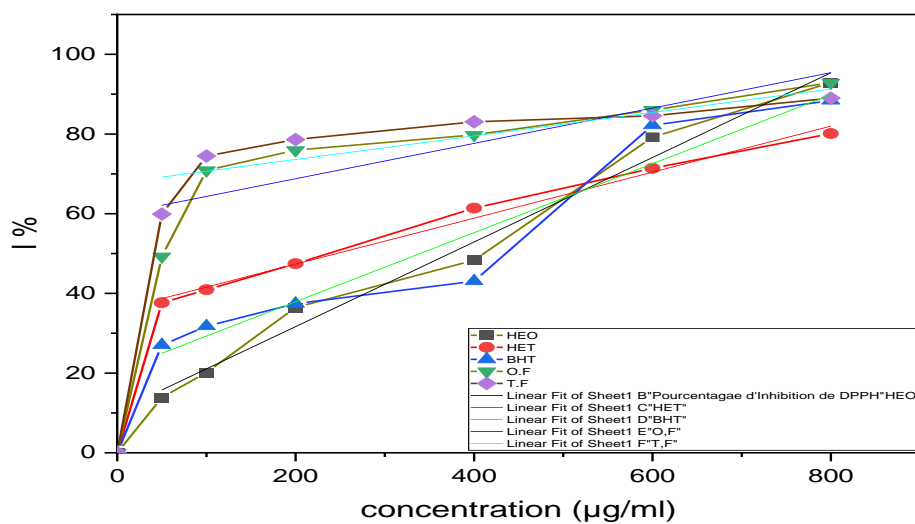
1991.

- [141] ROJASM., «Emulsification en Cuve Agitée : Rôle du Protocole Opérateur sur l'Inversion de Phase Catastrophique,» 2007.
- [142] T. D. G. N. V. T. DIMITROVA, «kinetics of cream formation by the mechanism of consolidation in flocculating emulsions,» *journal of colloid and interface science*, 2000.
- [143] M. BONNET, «libération contrôlée du magnésium par des émulsions doubles : impact de paramètres de formulation,» 2008.
- [144] T. FELICIE, «conception et mise en oeuvre d'un procédé intensifié continu de microencapsulation par polycondensation interfaciale,» 2009.
- [145] FOUILLOUXS., «Nano particules et microfluidique pour un système modèle d'émulsions de Pickering. Etude des mécanismes de stabilisation et déstabilisation,» 2011.
- [146] D. N. PETSEV, chez *emulsion: structure, stability and interactions*, Elsevier, 2004, pp. 353-354.
- [147] M. Rosen, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 3 éd., Hoboken: John Wiley & Sons, Inc, 2004.
- [148] S. KHELIL, «Etude de l'efficacité d'utiliser un tensioactif comme émulsifiant pour le lavage des sols contaminés par les hydrocarbures,» 2012.
- [149] Gibbs: J.W., *The collected work of J.W. Gibbs*, Longman's, Green, 1931.
- [150] K. D. S. D. L. SALLES, «approche thermodynamique et cinétique de l'extraction à deux phases aqueuses à l'aide de tension actif non ioniques,» 2004.
- [151] JEAN-LOUISSALAGER, «surfactifs : types et usages,» chez *cahier firp n°300*, 2e éd., université de los Andes, 2002.
- [152] BOUMENIR.A., «effet de l'interaction des tension actifs sur la stabilité d'une émulsion multiple,» Médea, 2002.
- [153] G. Chloé, «Synthèse de surfactifs à base de polyoxazoline : propriétés physico-chimiques et formulation,» 2011.
- [154] BROCHETTE.P, «Emulsification : Elaboration et étude des émulsions,» *Technique del'ingénieur, traité génie des procédés*, pp. 1-18, 1999.
- [155] H. L. S. M. J. G. M. W. L. T. Seak, «Ultrasonic Production of Nanoemulsions for Bioactive Delivery in Drug and Food Applications,» 2018.
- [156] T. D. oliveira., «Etude physico-chimique des émulsions industrielles en relation avec l'application,» 1997.
- [157] A. ALI., «Nanoémulsions d'intérêt pharmaceutiques stabilisées par la β -lactoglobuline,» 2016.
- [158] A. Szczesniak., «Classification of Textural Characteristics,» *Journal of Food Science*, 1963.
- [159] C. D. G. Cville, «Evaluating tactile properties of skincare products a descriptive analysis technique,» *Cosmet. Toilet.*, vol. 106, pp. 83-88, 1991.
- [160] N. B. B. S. M. & S. N. Mimica-Dukic, «Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L.(Lamiaceae) essential oil,» *Journal of agricultural and food chemistry*, vol. 52, n° 19, pp. 2485-2489, 2004.
- [161] Z. & K. A. Kabouche, *Etude phytochimique de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiaceae.*, 2005.
- [162] L. F. A. H. J. P. P. C. & J. N. (. Garnero, «Microwave imaging-complex permittivity

- reconstruction-by simulated annealing,» *IEEE Transactions on microwave theory and techniques*, vol. 39, n° %111, pp. 1801-1807, 1991.
- [163] N. Elenkova, Chimie analytique et méthodes physiques d'analyse, Bulgarie: technika Sofia, 1983.
- [164] A. F. d. N. (AFNOR), 1982.
- [165] Pharmacopée, 1997.
- [166] Pharmacopée, 1999.
- [167] M. Alexandre, 2017.
- [168] P. I. PENCHEV, «Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions,» 20/07/2010.
- [169] Z.-e.-H. H. M. Chemet F., «Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction,» *Ultrason. Sonochem.*, vol. 18, pp. 813-835, 2011.
- [170] C. P. e. G. C. (. Poux M., Génie de procédés durables, du concept à la caractérisation industrielle., Paris: L'usine nouvelle, Dunod, 2010.
- [171] Benamor, «Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs ; texturation par détente instantanée contrôlée.» 2008.
- [172] D. S. R. Y. H. T. A. C. K. & M. A. Diallo, «Étude des constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali.,» *Comptes Rendus Chimie*, vol. 7, n° %110-11, pp. 1073-1080, 2004.
- [173] R. O. R. L.-R. V. L. Singleton, «Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent,» *Methods Enzymol.*, vol. 299, 152 1999.
- [174] M. H. K. P. O. & D. W. Cuendet, «Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*,» *Helvetica Chimica Acta*, vol. 80, n° %13, pp. 1144-1152, 1997.
- [175] M. & B. F. Burits, «Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil.,» *Phytotherapy research*, vol. 14, n° %15, pp. 323-328, 2000.
- [176] P. Molyneux, «The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity,» *Songklanakarin J. Sci. Technol*, vol. 26, n° %12, pp. 211-219, 2004.
- [177] F. Giraud, «L'école, les cultures et la laïcité,» *L'autre*, vol. 4, n° %13, pp. 439-454, 2003.
- [178] T. H. N. & T. K. Koga, «Bactericidal activities of essential oils of basil and sage against a range of bacteria and the effect of these essential oils on *Vibrio parahaemolyticus*,» *Microbiological research*, vol. 154, n° %13, pp. 267-273, 1999.
- [179] W. C. M. E. & B. C. L. W. T. Brand-Williams, «Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity,» *LWT-Food science and Technology*, vol. 28, n° %11, pp. 25-30, 1995.

Annexes

Plantes	La partie utiliser	Date d'extraction	Lieu de récolte	Durée d'extraction	Rendement en %
Origan.F	Les feuilles et les sommités	27-04-2023	Hamмам Melouane	1h	4.49
Thymus.F	Les feuilles et les sommités	27-04-2023	Tizi Ouzou	1h	3.04



Equation	$Y = a*x + b$				
Plot	HEO	HET	BHT	O, F	T, F
Weight	No Weighting				
b	$10,43986 \pm 3,0265$	$35,8081 \pm 1,18597$	$20,63965 \pm 5,39378$	$59,90754 \pm 5,56924$	$67,69114 \pm 4,06015$
a	$0,10614 \pm 0,00673$	$0,05769 \pm 0,00264$	$0,0865 \pm 0,012$	$0,04436 \pm 0,01239$	$0,02953 \pm 0,00903$
Residual Sum of Squares	80,15224	12,3078	254,57802	271,41022	144,251
Pearson's r	0,99205	0,99584	0,96361	0,87302	0,85303
R-Square (COD)	0,98416	0,99171	0,92854	0,76217	0,72766
Adj. R-Square	0,9802	0,98963	0,91068	0,70271	0,65958

A

Tableau : Différents concentrations des solutions de quercétine.

Les solutions	1	2	3	4
C ($\mu\text{g/ml}$)	25	50	75	100

Tableau 16: Absorbance de différentes concentrations de quercétine.

C ($\mu\text{g/ml}$)	0	25	50	75	100
A	0	0,2038	0,4258	0,6467	0,9212

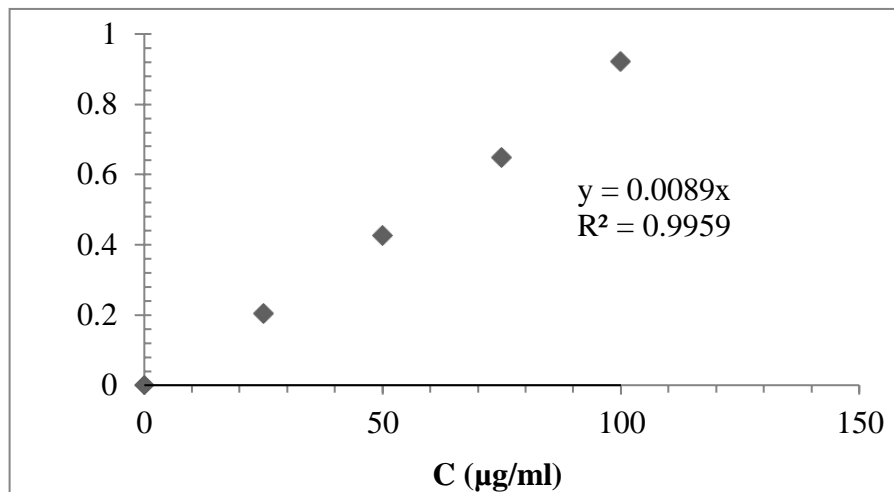


Figure : La courbe d'étalonnage de Quercétine

Dosage polyphénole :

Tableau 12 : Différents concentrations des solutions d'acide gallique.

Les solutions	1	2	3	4	5
C (mg/ml)	0,2	0,4	0,6	0,8	1

Tableau 13 : Absorbance de différentes concentrations d'acide gallique.

C ($\mu\text{g/ml}$)	0	20	40	60	80	100
A	0	0,2678	0,4051	0,5315	0,6765	0,9355

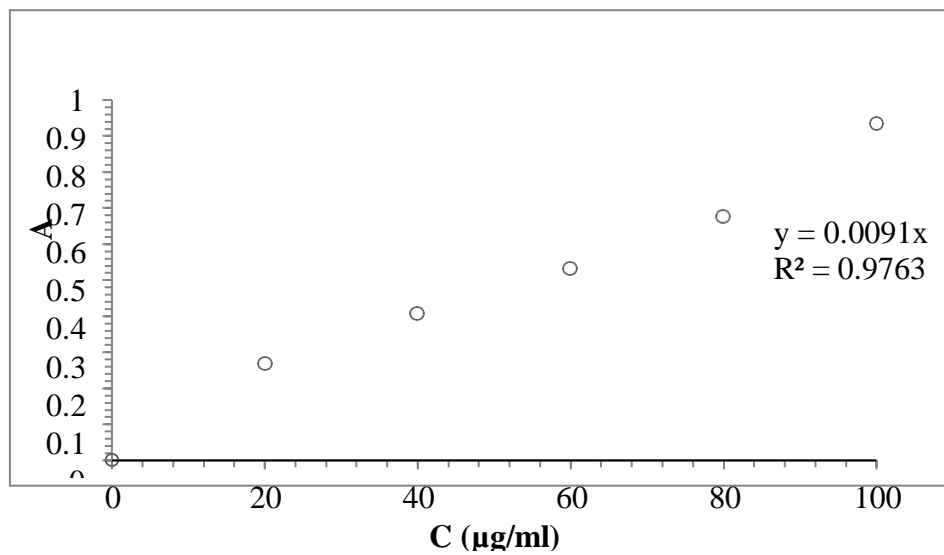


Figure : La courbe d'étalonnage d'acide gallique.

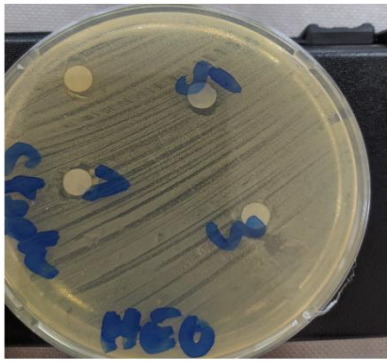
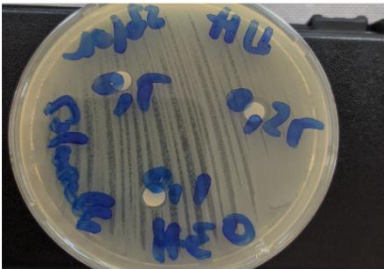
Cas des HE :

slouches concentration en %		C.albicans	salmonella	Pseudomonas aeruginosa	Staphylococcus aureus
		Diameter en mm			
HEO	5	8.90	-	10.77	7.25
	3	7.02	-	6.10	-
	1	-	-	-	-
	0.5	-	-	-	-
	0.25	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-
HET	5	15.04	7.47	10.71	8.46
	3	10.60	6.22	9.80	6.51
	1	7.59	-	8.77	6.27
	0.5	-	-	-	-
	0.25	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-

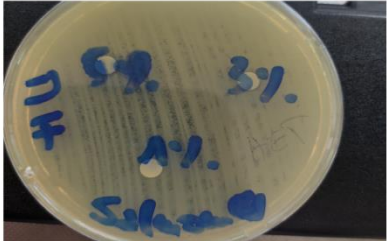
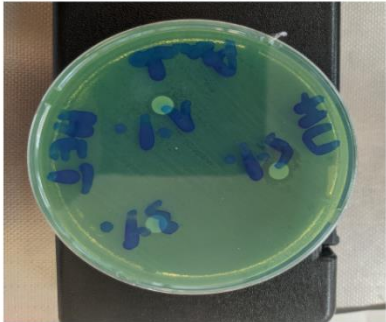
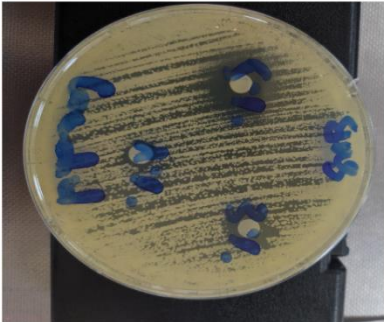
Cas des EM :

slouches concentration en %		C.albicans	salmonella	Pseudomonas aeruginosa	Staphylococcus aureus
		Diameter en mm			
O. F	3.5	8.14	-	-	8.37
	2	7.66	-	-	7.95
	1	6.89	-	-	7.54
	0.5	-	-	-	-
	0.25	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-
T. F	4	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	1	-	-	-	-
	0.5	-	-	-	-
	0.25	-	-	-	-
	0.1	-	-	-	-

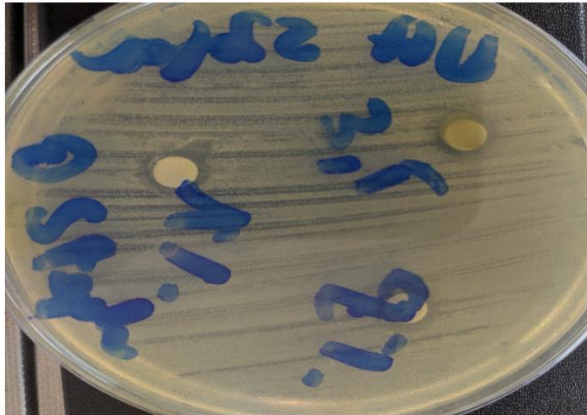
HEO



HET :



O;



Les concentrations ($\mu\text{g/ml}$) :	O. F		T. F		BHT	
	Absorbance	Activité Antiradicalaire(%)	Absorbance	Activité Antiradicalaire(%)	Absorbance	Activité Antiradicalaire(%)
50	0.1709	49.25	0.135	59.91	0.2458	27.01
100	0.098	70.90	0.086	74.46	0.2298	31.76
200	0.081	75.95	0.072	78.62	0.2108	37.41
400	0.068	79.80	0.057	83.07	0.1918	43.05
600	0.047	86.04	0.052	84.56	0.0598	82.2
800	0.042	92.87	0.037	89.01	0.0391	88.39
Contrôle	0,3368	/	0.3368	/	0.3368	/