

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE



SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB –BLIDA 1



FACULTE DE TECHNOLOGIE  
DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDE

Spécialité: **Pharmacie Industrielle**

**Mémoire de fin d'études**

En vue de l'obtention du diplôme de :

Master Professionnel

Intitulée

**Formulation de microparticules et d'un  
émulgel à base d'huile essentielle d'intérêt  
thérapeutique.**

Session juillet 2023

**Présenté par :**

M<sup>elle</sup> SELMOUNE Saida

Encadré par : **Mme AYACHI** Nabila

M<sup>elle</sup> ZANE Chaima

**Membres de Jury:**

Président : **M** Boutoumi

Examinatrice : **Mme** Brahim

Année universitaire : 2022-2023

## **Remerciements**

*Nous remercions tout d'abord "Allah" le tout puissant de nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*On tient à remercier très sincèrement notre promoteur **Mm AYACHI Nabila**, Professeur à l'université de Blida 1, faculté de médecine, pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant cette recherche, et pour son infinie gentillesse et encouragement, sa grande disponibilité constante. Permettez-nous d'exprimer nos profondes gratitude et notre estime pour nous avoir fait bénéficier de son expérience, sa rigueur scientifique, et surtout ses orientations, aussi bien pour l'ambiance sympathique qu'elle a créé et sa précieuse aide tout au long la période et de mettre à notre disposition tous les moyens nécessaires et de nous guider pour la réussite de cet humble travail. On a la chance d'être l'un de ses étudiants auprès d'un professeur de talent et d'une grande compétence et professionnalisme, elle nous a permis de profiter de l'étendue de sa connaissances.*

*De même, on remercie également l'ensemble de l'équipe du Laboratoire de recherche de l'Université de Saad Dahleb Blida 1 qui nous a bien accueilli, ça a été un vrai honneur de travailler au sein de cette équipe dans un environnement dynamique et sérieux et le CRD SAIDAL qui nous a prêté main forte pour l'accomplissement de ce thème.*

*Enfin, nous aimerons remercier l'ensemble des enseignants de Département de Génie des Procédés, surtout qui ont contribué à ce travail.*

*À tous ceux et celles qui nous ont aidés de près ou de loin, par un geste, une parole, ou un conseil, on leur dit merci infiniment.*

# *Dédicaces*

*Tout d'abord, je tiens à remercier mon dieu ALLAH , le tout puissant, miséricordieux, que je dois la réalisation et la réussite de cet humble travail qui vient décorer cinq ans de volonté, de passion, et d'effort incontestable*

*Je dédie ce Mémoire*

*A ceux qui donnent un sens à mon existence, à la lumière de mes yeux en témoignage de votre affection et de votre amour, pour votre patience et votre soutien pendant tous les moments que j'ai traversé.*

*A ma très chère mère et A mon très cher père*

*à la sens de l'amour GHAOUI EMEL et celui dont je porte le nom avec fierté BADER EDDINE*

*Ce travail est le résultat des efforts et des sacrifices que vous avez fournis pour mon éducation et durant toute une formation. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement, le respect et l'amour que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail en priant ALLAH le tout puissant de vous procurer santé, bonheur et longue vie.*

*A mes chers sœurs, Tamani , Fatma , Wahida et Zina ma belle chouchou - qui m'ont toujours soutenu.*

*A mes amis Asma , Samah et Amel*

*A mon cher binôme chaima et à toute sa famille*

*A tous ceux qui ont pris place dans mon cœur et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.*

*Imene*

## Résumé :

Le présent travail concerne la formulation de deux formes galéniques : un émulsion et des microcapsules à libération prolongée en vue d'encapsuler une huile essentielle de thym *Thymus vulgaris* appartenant à la famille des lamiacées. La technique de microencapsulation a été réalisée selon la méthode d'émulsification et réticulation par les ions calcium moyennant le polymère alginate de sodium.. Les microcapsules obtenue étaient de forme sphérique et une la libération du principe actif (HE de *Thymus vulgaris*) de type prolongé s'étalant sur six heures. En ce qui concerne l'émulsion, il a été préparé en deux étapes, la première consiste de préparer une émulsion de l'HE de type hydrophile /lipophile (H/L) ensuite la dispersion de cette émulsion dans un gel de Carbopol à différentes concentrations . Les formulations d'émulsion obtenues ont été par la suite caractérisées sur le plan physico-chimique, rhéologique et microbiologique.

## Abstract :

The present work concerns the formulation of two dosage forms: an emulsion and extended-release microcapsules to encapsulate an essential oil of thyme (*Thymus vulgaris* belonging to the Lamiaceae family). The microencapsulation technique was carried out according to the method of emulsification and crosslinking by calcium ions using the sodium alginate polymer. The microcapsules obtained were spherical in shape and a release of the active ingredient (EO of *Thymus vulgaris* ) of prolonged type spread over six hours. Regarding the emulsion, it was prepared in two steps, the first consists in preparing an emulsion of the EO of hydrophilic / lipophilic type (H / L) then the dispersion of this emulsion in a Carbopol gel at different concentrations. The emulsion formulations obtained were subsequently characterized physico-chemically, rheological and microbiologically .

## ملخص :

يتعلق العمل الحالي بصياغة شكلين من الجرعات: مستحلب وكبسولات دقيقة ممتدة الإطلاق لتغليف زيت أساسي لنبتة الزعيرة (تيموس فيلغاريس) ينتمي إلى عائلة لامياس . تم تنفيذ تقنية الكبسولة الدقيقة وفقا لطريقة الاستحلاب والتشابك بواسطة أيونات الكالسيوم و باستخدام بوليمر ألجينات الصوديوم. كانت الكبسولات الدقيقة التي تم الحصول عليها كروية الشكل وإطلاق العنصر النشط (لزيت الزعيرة الأساسي تيموس فيلغاريس) من النوع المطول المنتشر على مدى ست ساعات. فيما يتعلق بالمستحلب ، تم تحضيره على خطوتين ، الأولى تتمثل في تحضير مستحلب من الزيت الأساسي من النوع المحب للماء / المحبة للدهون من ثم تشتيت هذا المستحلب في هلام كاربوبول بتركيزات مختلفة. تم تمييز تركيبات جال المستحلب التي تم الحصول عليها في وقت لاحق فيزيائيا وكيميائيا وريولوجيا وميكروبيول .

---

# Sommaire

|   |    |
|---|----|
| Listes des figures  |    |
| Liste des tableaux  |    |
| Liste des abréviations  |    |
| <b>Introduction Générale</b> .....  | 1  |
| Synthèse bibliographique  |    |
| <b>Chapitre I : les formulations galéniques</b>                             |    |
| I. Microencapsulation et microparticules .....                              | 3  |
| I 1. Définition de la microencapsulation .....                              | 3  |
| I 2. Intérêt de la microencapsulation .....                                 | 3  |
| I 3. Caractérisations des microcapsules .....                               | 4  |
| A- Taille .....   | 5  |
| B- Structure interne .....  | 5  |
| I .4. Techniques de la microencapsulation .....                             | 6  |
| A- En fonction de la nature du support de dispersion... ..                  | 6  |
| B- En fonction de la nature du processus .....                              | 6  |
| I .5. Matière première principale utilisée dans la microencapsulation ..... | 8  |
| I 5.1 Alginate de sodium .....  | 8  |
| 5.1.1 Les propriétés des gels d’alginate .....                              | 9  |
| 5.1.2 Structure générale d’alginate .....                                   | 9  |
| 5.1.3 Mécanisme de gélification .....                                       | 10 |
| 5.1.4 Sources de l’alginate de sodium .....                                 | 11 |
| 5.1.5 .Domaines d’applications .....  | 11 |
| II. Emulgel .....   | 12 |
| II.1 .Définition .....  | 12 |
| II.2 .Intérêt de l’émulgel .....  | 12 |
| II.3 .Formulation .....   | 13 |
| II.4 .Caractérisation des émulgels .....                                    | 14 |
| <b>Chapitre II : plantes médicinales et huiles essentielles</b>             |    |
| II .1. Généralité sur les plantes médicinales.....                          | 16 |

|   |           |
|---|-----------|
| II .2 Définition des huiles essentielles.....                         | 16        |
| II .3 utilisations des huiles essentielles.....                       | 16        |
| II .4. Constituants chimiques des huiles essentielles.....            | 17        |
| II .5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....             | 18        |
| II .6. <i>Thymus vulgaris</i> .....                                   | 19        |
| 6.1 Description du <i>Thymus vulgaris</i> .....                       | 19        |
| 6.2 Nom commun .....  | 19        |
| 6.3 Classification de <i>Thymus vulgaris</i> .....                    | 20        |
| 6.4 Utilisations de <i>thymus vulgaris</i> .....                      | 20        |
| 6.5 Propriétés de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> ..... | 21        |
| 6.6 Composition chimique de <i>Thymus vulgaris</i> .....              | 22        |
| <b>Etude expérimentale.....</b>                                       | <b>23</b> |

### **Chapitre III : Matériels et méthodes**

|  |    |
|--|----|
| 1. Matériels .....   | 23 |
| 1.1 Matières premières.....  | 23 |
| A. présentation des matières premières utilisées.....  | 23 |
| B. Propriétés physicochimiques des matières premières.....   | 25 |
| C. Les équipements .....   | 26 |
| D. Matériels biologiques .....   | 26 |
| 2. Méthodes .....  | 27 |
| 2.1 Caractérisation de l'huile essentielle.....  | 27 |
| 2.1.1 Identification par spectroscopie infrarouge .....  | 27 |
| 2.1.2 Caractérisation de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> par spectroscopie UV-Visible..... | 27 |
| 2.1.3 Etude de l'activité antioxydante par le radical DPPH.....  | 29 |
| 2.1.4 Etude de l'activité antimicrobienne et antifongique de l'huile essentielle.....                    | 31 |
| 2.2. Méthodes de formulation.....  | 32 |
| 2 .2.1 Formulation des microparticules.....  | 32 |
| 2.2.1.2 Les essais de formulation .....  | 34 |
| 2.2.2 Procède de préparation de l'émulgel 0,5% et 1% .....   | 36 |

|   |    |
|---|----|
| 2.3 Méthodes de caractérisation .....   | 37 |
| 2.3.1 Caractéristiques de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> .....               | 37 |
| 2.3.1.1 Identification par spectroscopie infrarouge.....                                    | 37 |
| 2.3.1.2 Caractérisation de l'HE du <i>Thymus vulgaris</i> par spectroscopie UV-Visible..... | 37 |
| 2.3.2 Caractérisations des microparticules.....   | 38 |
| 2.3.2.1. Le rendement .....   | 38 |
| 2.3.2.2 Caractérisation par microscopie.....  | 38 |
| 2.3.2.3 Caractérisation rhéologique.....  | 38 |
| 2.3.2.4. Identification par spectroscopie infrarouge .....                                  | 40 |
| 2.3.2.5 Étude de libération in vitro .....  | 40 |
| 2.3.3 Caractérisations de l'émulgel .....   | 41 |
| 2.3.3.1 Caractérisation macroscopique .....   | 41 |
| 2.3.3.2 Caractérisation par microscopie.....  | 41 |
| 2.3.3.3 Caractérisation physico-chimiques de l'émulgel.....                                 | 42 |
| 2.3.3.4 Caractérisation rhéologique .....   | 42 |

#### **CHAPITRE IV : Résultats et discussions :**

|   |    |
|---|----|
| 1.1 Résultats de la Caractérisations de l'huile essentielle.....  | 44 |
| 1.1.1 Identification par spectroscopie infrarouge.....  | 44 |
| 1.2.1 Résultats de la Caractérisations de l'huile essentielle.....  | 46 |
| 1.1.2 Résultats de la Caractérisation de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> par spectroscopie UV-Visible ..... | 46 |
| 1.1.3 Résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante de l'HE par le radical DPPH.....                               | 48 |
| 1.1.4 Résultats de l'activité antimicrobienne et antifongique.....  | 50 |
| 1.2.3. Résultats de la caractérisation des microparticules.....   | 50 |
| -Détermination du rendement d'encapsulation .....   | 50 |
| 1.2.1.2 Résultats de la caractérisation par microscopie optique.....  | 51 |



|  |           |
|--|-----------|
| 1.2.1.3 Résultats de la caractérisation rhéologique des microparticules..... | 54        |
| 1.2.1.4 Résultats de la caractérisation par spectroscopie infrarouge .....   | 56        |
| 1.2.1.5 Résultats de l'étude de libération in vitro.....                     | 60        |
| 1.3 Résultats des caractérisations de l'émulgel .....                        | 61        |
| 1.2.5 Résultats de la caractérisation macroscopique.....                     | 62        |
| 1.2.3 Résultats de la caractérisation physico-chimiques.....                 | 63        |
| 1.3.3 Résultats de la caractérisation rhéologique.....                       | 64        |
| <b>Conclusion Générale .....</b>   | <b>67</b> |

## Liste des figures

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 1.</b> Intérêts de la microencapsulation .....  | 4  |
| <b>Figure 2.</b> Morphologie des microparticules et section longitudinale, sous le microscope électronique à balayage.....  | 5  |
| <b>Figure 3.</b> <i>Macrocystis pyrifera</i> (a) ; <i>Laminaria hyperborea</i> (b) et <i>Laminaria digitata</i> (c).....  | 8  |
| <b>Figure 4.</b> Caractéristiques structurelles des alginates : (A) monomères d'alginate, (B) structure chimique des monomères, (C)chaîne conformation et(D) distribution de blocs..... | 10 |
| <b>Figure 5.</b> Représentation de la structure en « egg box » et de la dimérisation entre $Ca^{2+}$ (cercles vides) et les atomes d'oxygène (cercles pleins) dans les blocs G.....     | 11 |
| <b>Figure 6.</b> Schéma des domaines d'application de la microencapsulation.....  | 12 |
| <b>Figure 7.</b> Schéma général de formulation des émulsions .....  | 14 |
| <b>Figure 8 .</b> Différentes parties du <i>Thymus vulgaris</i> (branches en fleurs ;fleur feuilles,) .....   | 19 |
| <b>Figure 9.</b> Les solutions de <i>Thymus vulgaris</i> préparées à différentes concentrations (identifier) .....  | 29 |
| <b>Figure 10.</b> Solution de DPPH .....  | 30 |
| <b>Figure 11.</b> Schéma représente le procédé de formulation des microcapsules .....   | 35 |
| <b>Figure12 :</b> Schéma représente le procédé de préparation de l'émulsion .....   | 36 |
| <b>Figure 13.</b> Les microcapsules en dissolution pendant 30min jusqu'à 6h.....  | 40 |
| <b>Figure 14.</b> L'émulsion (1% - 2 %) centrifugé .....  | 42 |
| <b>Figure 15.</b> Spectre d'absorption de l'HE de <i>Thymus vulgaris</i> dans l'UV-Vis .....  | 45 |
| <b>Figure16.</b> Courbe d'étalonnage de <i>Thymus vulgaris</i> en fonction de la concentration.....   | 46 |
| <b>Figure17.</b> Variation de la couleur de DPPH à différentes concentrations de <i>Thymus vulgaris</i> .....   | 47 |
| <b>Figure18.</b> Pourcentage d'inhibition de DPPH de <i>Thymus vulgaris</i> en fonction de la concentration.....  | 48 |
| <b>Figure 19.</b> Détermination d'IC <sub>50</sub> de <i>Thymus vulgaris</i> .....  | 49 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 20</b> .Courbe de viscoélasticité d'un essai type 3% .....  | 49 |
| <b>Figure 21</b> . La solution polymérique 3% dans l'eau ce microscope G*10 .....   | 51 |
| <b>Figure 22</b> . la dispersion de HET dans L'émulsion (essai préliminaire 3% ) ce microscope G*40 .....                   | 51 |
| <b>Figure 23</b> . Courbe d'écoulement D'un assai type ( 2%).....   | 54 |
| <b>Figure 24</b> . Courbe de viscoélasticité des microparticules d'un essai type (2%).....                                  | 55 |
| <b>Figure 25</b> . Le spectre infrarouge de l'alginate de sodium .....  | 56 |
| <b>Figure 26</b> .. Spectre IR des Microparticules de la formule 4 entre 450 et 4000 .....                                  | 58 |
| <b>Figure 27</b> . Le pourcentage de dissolution des formulations à ph 1.2... ..  | 59 |
| <b>Féfigure 24</b> . Le pourcentage de dissolution 6.8... ..  | 60 |
| <b>Figure 28</b> . Emulgel à base de l'HE de <i>Thymus vulgaris</i> 0.5%.....   | 61 |
| <b>Figure 29</b> . Grossissement ×4. ....   | 61 |
| <b>Figure 30</b> . Grossissement ×10... ..  | 61 |
| <b>Figure 31</b> . Résultat de test de centrifugation des deux formules de l'émulgel .....                                  | 62 |
| <b>Figure 32</b> . courbe de la viscoélasticité des emlgels .....   | 62 |
| <b>Figure 33</b> . Mesurer le <b>PH</b> pour les deux formules de l'émulgel préparés à base de <i>Thymus vulgaris</i> ..... | 63 |
| <b>Figure 34</b> . Résultat de test de centrifugation des deux formules de l'émulgel 1%-2% respectivement.....              | 63 |



## Liste des tableaux

|   |    |
|---|----|
| <b>Tableau 1.</b> Les propriétés des gels d'alginate .....  | 9  |
| <b>Tableau 2.</b> Les constituants chimiques des huiles essentielles .....                          | 17 |
| <b>Tableau 3.</b> Les méthodes d'extraction des huiles essentielles .....                           | 18 |
| <b>Tableau 4.</b> La calcification de la plante <i>Thymus vulgaris</i> .....                        | 20 |
| <b>Tableau 5.</b> Les propriétés de <i>Thymus vulgaris</i> .....                                    | 21 |
| <b>Tableau 6.</b> La composition chimique des majeurs composants de <i>Thymus vulgaris</i> .....    | 22 |
| <b>Tableau 7.</b> Les matières premières utilisées et leurs rôles .....                             | 24 |
| <b>Tableau 8.</b> Les propriétés physico-chimiques des matières premières .....                     | 25 |
| <b>Tableau 9.</b> Liste des équipements de préparation et de contrôle .....                         | 26 |
| <b>Tableau 10.</b> Les souches microbiennes utilisées .....   | 27 |
| <b>Tableau 11.</b> Les Matières Premières utilisées dans la formulation des microparticules.....    | 32 |
| <b>Tableau 12.</b> Les procédés de la microencapsulation .....                                      | 33 |
| <b>Tableau 13.</b> Matrice des essais de formulation des microparticules.....                       | 34 |
| <b>Tableau 14.</b> Matrice des essais de formulation des émulgels .....                             | 36 |
| <b>Tableau 15.</b> Conditions du test de dissolution.....   | 40 |
| <b>Tableau 16.</b> Courbe détalonnage de huile essentiel <i>Thymus vulgaris</i> .....               | 47 |
| <b>Tableau 17 :</b> la valeur d'IC50 de <i>Thymus vulgaris</i> .....                                | 49 |
| <b>Tableau 19 :</b> Le pourcentage du rendement pour chaque formulation .....                       | 50 |
| <b>Tableau 20 :</b> Les microparticules formés par la méthode directe et indirect ce microscop..... | 52 |
| <b>Tableau 21 :</b> Les microparticules formés par la méthode direct ce microscope.....             | 53 |
| <b>Tableau 22.</b> Valeur de G' et G'' des essais .....   | 53 |

## Liste des abréviations

- ATTC** . American Type Culture Collection
- DPPH** . 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
- EP** . Efficacité de piégeage
- G'** . Caractérise le comportement élastique
- G''** . A partie imaginaire de G'
- HET** . Huile Essentielle de *Thymus vulgaris*
- HL** . Hydrophilic Lipophilic .
- HE** . Huile Essentielle
- IC50** . Concentration Inhibitrice
- 50.PA** . Principe Actif.
- PH** . Ptentiel Hydrogène.
- SEM** . Scanning Electron Microscope
- TEM** . Transmission Electron Microscope
- Uv-vis** . Ultraviolet-visible



## Introduction Générale

---

L'extrait des plantes aromatiques et médicinales ne cesse de croître en raison de la demande croissante ainsi que de l'intérêt des consommateurs pour ces plantes à des fins médicinales, culinaire et autres applications anthropiques. Alors que les consommateurs sont de plus en plus informés sur les questions de santé, d'alimentation et de nutrition. Ils sont également sensibilisés au potentiel et aux avantages des plantes aromatiques et médicinales et de leurs métabolites. De nombreux métabolites secondaires sont produits par ces plantes (les huiles essentielles (HE), les composés phénoliques.....) [1]

Les huiles essentielles (HE) sont des liquides volatils naturels, extraits de diverses parties de plantes aromatiques, y compris les fleurs, les feuilles, les fruits, les graines, les bourgeons ou les racines, les écorces et les rhizomes, Elles sont utilisées dans les domaines de la médecine, de la conservation des aliments et arôme alimentaire depuis l'Antiquité. [2]

Ces composés volatils sont chimiquement instables et sensibles à la détérioration oxydative et la perte de composés volatils, en particulier lorsqu'ils sont exposés à l'oxygène, la lumière, l'humidité et la chaleur. La qualité d'un produit enrichi avec ce type de métabolites peut se détériorer en raison de la dégradation oxydative, la formation des goûts et des saveurs désagréables, et la génération de radicaux libres. Ces changements ont un effet négatif sur la stabilité au stockage, les propriétés sensorielles, et l'acceptabilité globale des produits développés.[3]

Afin de limiter la perte de la bioactivité pendant le traitement et l'entreposage des huiles essentielles, et pour contrôler la libération du composé au site souhaité, l'encapsulation de ces dernières est bénéfique avant leur incorporation dans les médicaments, les aliments ou autres produits. [4]

La microencapsulation, est une approche récente , qui consiste à emballer des substances sous forme de micro et nanoparticules et se définit comme un procédé permettant de piéger des agents actifs avec des matériaux enrobant. Elle consiste en l'encapsulation d'ingrédients, de polyphénols, d'additifs volatils, de colorants, d'enzymes et bactéries pour offrir aux produits une meilleure stabilité et éviter les pertes nutritionnelles et sanitaires. Parallèlement, la microencapsulation facilite la transformation de liquides en poudres solides pour la fabrication d'aliments et diminue les coûts de production. [5]



L'objectif de notre travail s'articule autour de la mise en forme galénique de l'huile essentielle de thym en deux présentations : des microparticules et un émulsion.

Les microparticules ont été formulées moyennant le polymère alginate de sodium selon le procédé d'émulsification et réticulation par les ions calcium, cinq formulations ont été réalisées en faisant varier les concentrations de polymère. Les microparticules ont été par la suite caractérisées sur différents plans physico-chimique et microbiologique.

Notre manuscrit est structuré en deux parties :

-Une partie bibliographique qui comporte deux chapitres qui porteront respectivement sur l'étude des formulations galéniques à savoir la microencapsulation et l'émulsion et un chapitre sur les huiles essentielles et la plante médicinale à l'étude.

Et une partie expérimentale comportant deux parties, la première présente le matériel expérimental utilisé et les méthodes adoptées dans les différentes études, Et la deuxième partie expose les différents résultats obtenus et leur discussion par rapport aux références issues d'une recherche bibliographique.

Nous terminons par une conclusion et des perspectives.

# **Chapitre I**

## **Les formulations galéniques**



## **I. La microencapsulation et les microparticules :**

### **I.1 Définition de la microencapsulation :**

La microencapsulation rassemble toutes les techniques qui permettent de piéger les matériaux actifs de diverses origines (liquide, solide, gazeux ou même une cellule vivante) dans un matériau. Ceci est l'exemple des ingrédients pharmaceutiques actifs ou des cosmétiques, des additifs alimentaires, des produits phytosanitaires ou des essences parfumées, en vue de leur immobilisation, leur protection, leur structuration, leur fonctionnalisation ou contrôle, leur transport et enfin leur libération dans un environnement prédéfini. [6].

### **I.2 Intérêt de la microencapsulation :**

Les principaux objectifs de la microencapsulation peuvent être résumés comme suit:

- Garantir une bonne protection de la substance encapsulée: la microencapsulation est une méthode de fabrication de particules fermées dans lesquelles le contenu est enveloppé à l'intérieur d'un film. Elle empêche non seulement la pollution secondaire du contenu encapsulé [7] mais aussi pour assurer la protection des ingrédients sensibles contre l'oxydation et les effets de l'environnement externe tels que la chaleur, l'humidité ou le pH pour maintenir le contenu stable pour une durée de vie plus longue.

- Contrôle de la libération du contenu encapsulé : La microencapsulation permet le transfert de masse entre l'intérieur et l'extérieur d'une microcapsule via le contrôle des propriétés physiques et chimiques de la membrane/ [7]. Elle peut être soit prolongée par diffusion à travers la membrane, soit déclenchée par éclatement de la membrane. En cas de diffusion, le contrôle de l'épaisseur de la membrane, de la porosité et du gradient de concentration spécifique des molécules, permet de moduler la délivrance en continu des

principes encapsulés. Par contre, s'il y a éclatement, tout le contenu se déverse au même moment [7]. C'est le phénomène de « dose dumping ».

- Facilite l'utilisation des produits liquides : La microencapsulation permet de conditionner les produits liquides sous forme solide. Cela facilite le transport des produits d'origine liquide [7] et réduit la perte de principes actifs volatils.

- Assurer la protection, la stabilisation d'un principe actif dans une formulation [8] et éviter l'incompatibilité entre médicaments [9], exemple de l'astaxanthine, un céto-caroténoïde principal encapsulé par de l'alginate pour améliorer sa stabilité [10].

- Réduire la toxicité comme ainsi que la sensibilité des personnes vis-à-vis des matériaux et produits toxiques. [9].



**Figure 1.** Intérêts de la microencapsulation.[10]

### **I.3 Caractéristiques des Microparticules :**

Les produits obtenus par les procédés de microencapsulation sont appelés microparticules ; aussi appelés boules ou perles. Ils diffèrent par leur taille, leur morphologie et leur structure interne.

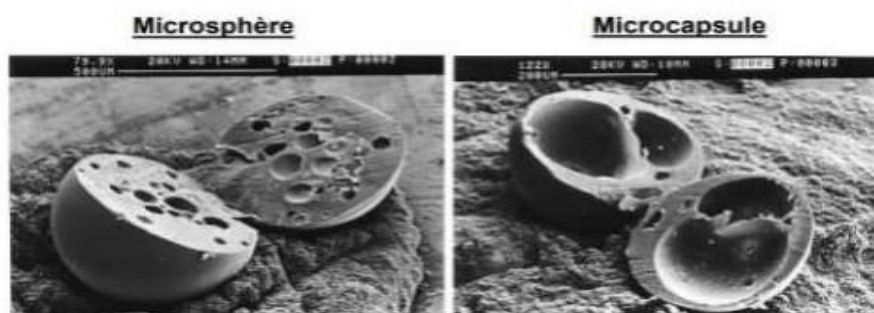
#### **A. Taille :**

L'encapsulation permet de produire des microparticules dont la taille est comprise entre  $1\mu\text{m}$  et  $1000\mu\text{m}$ , en dessous on parlera de nanoparticules et au-delà on parlera de minigranules [11]. Cette large gamme de tailles ainsi que la diversité des matériaux pouvant être utilisés pour former la matrice d'encapsulation (protéines, polysaccharides lipidiques, matériaux organiques/inorganiques et hybrides), offrent un large éventail d'applications et une évolution constante dans plusieurs domaines [11].

#### **B. Structure interne :**

Selon leur microstructure, les particules ainsi obtenues présentent deux types de morphologies des lignes distinctes qui définissent les microsphères et les microcapsules. [12] Ces deux types de particules obtenues dépendent des propriétés physico-chimiques du principe actif, du matériau d'enrobage, et de leur composition ainsi que de la technique d'encapsulation utilisée [13].

- Les Microsphères (structures matricielles) : constituées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice, dans lequel est finement dispersé le principe actif [12].
- Microcapsules (particules réservoirs) : constituées d'une cavité centrale contenant le principe actif entourée d'une coque en polymère [14].



**Figure 2.** Morphologie des microparticules et section longitudinale, sous le microscope électronique à balayage. [9].

#### **I.4 Techniques de la microencapsulation :**

Selon l'application prévue de la microencapsulation, la nature du polymère utilisé, les propriétés de la molécule encapsulée et la structure des particules souhaitée, un processus d'encapsulation est choisi [12].

Il existe plusieurs méthodes pour classer les techniques de la microencapsulation. En effet, les techniques peuvent être classées en fonction du support de dispersion utilisé ou de la nature du processus [12].

##### **a. En fonction de la nature du support de dispersion utilisé pendant les plafonds de préparation :**

- Dans un milieu liquide: coacervation, émulsification-évaporation, gélification des gouttes, polycondensation interfaciale et polymérisation dans le milieu dispersé.
- Dans un milieu gazeux: enrobage dans un lit d'air fluidisé «coulant par pulvérisation» et séchage de nébulisation / «séchage par pulvérisation».
- Dans un environnement supercritique: utiliser le liquide supercritique comme non-solvant: « Antisolvant de liquide supercritique» (SFA) procédés ou en utilisant un solvant de «l'expansion rapide du fluide supercritique», expansion rapide des solutions supercritiques »(RESS).

- En l'absence de solvant: sphéronisation et congélation de gouttes «congélation par pulvérisation» [6].

**b. En fonction de la nature du processus :**

❖ Processus physico-chimiques :

▪ **Technique de coacervation:** [6]

Les techniques de coacervation s'appliquent à des solutions colloïdales de substances macromoléculaires; le terme coacervation décrivant un changement de solubilité des solutions de colloïdes.

▪ **Technique par fusion à chaud du matériau support :**

La substance à encapsuler est dissoute ou dispersée dans le matériau support fondu.

L'ensemble est émulsifié dans une phase dispersante pour laquelle le principe actif n'a pas d'affinité: eau distillée lorsque la substance à encapsuler est lipophile, huile de silicone par exemple lorsqu'elle est hydrophile. La solidification des globules dispersés est obtenue par refroidissement brutal du milieu réactionnel.

▪ **Technique par évaporation de solvant :**

Cette technique permet d'encapsuler une grande variété de principes actifs solides ou liquides, hydrophiles ou lipophiles. Suivant la nature du principe actif, on obtient des systèmes réservoirs ou matriciels. [6].

❖ **Processus chimiques :**

▪ **Encapsulation par polymérisation interfaciale:**

Cette technique, qui est la plus récente, combine une émulsion eau dans huile (E/H) ou huile dans l'eau (H/E) et une réaction chimique entre deux réactifs à l'interface de la phase continue et de la phase dispersée.

▪ **Microencapsulation par polymérisation :**



Un monomère, le plus souvent vinylique ou acrylique tel le styrène ou le méthacrylate de méthyle, est solubilisé dans la substance à encapsuler en présence d'un amorceur organosoluble.

❖ **Processus mécaniques :**

Plutôt répandu dans l'industrie agro-alimentaire, s'apparentent souvent aux techniques d'enrobage. Les deux principales techniques sont celle par lit d'air fluidisé et celle par nébulisation ("spray-drying").

**I.5 Matière première principale utilisé dans la microencapsulation :**

**I.5.1 Alginate de sodium :**

Les premières expériences sur l'extraction des alginates à partir d'algues brunes ont été réalisées par le chimiste anglais E. C. Stanford à la fin du XIX<sup>ième</sup> siècle. En 1883, il découvrit une substance aux nombreuses et intéressantes propriétés, qu'il appela «algine». Leur production industrielle s'est développée ensuite aux USA dans les années 1930. L'alginate est un des biopolymères les plus polyvalents. Il est utilisé dans le secteur agro- alimentaire et l'industrie pharmaceutique [15]



**Figure 3.** *Macrocystis pyrifera* (a) ; *Laminaria hyperborea* (b) et *Laminaria digitata* (c) [15]

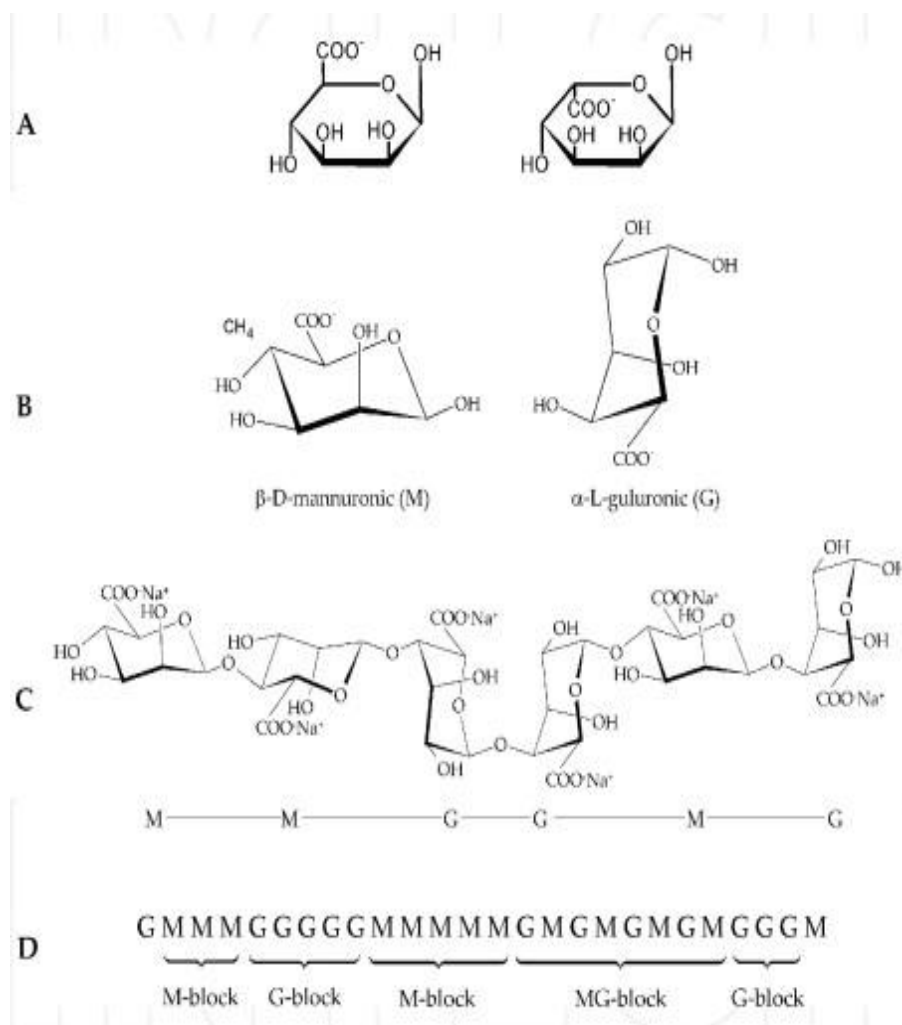
### 5.1.1 Propriétés des gels d'alginate:

**Tableau 1.** Les propriétés des gels d'alginate. [16-17].

|                   |   |
|-------------------|---|
| <b>Solubilité</b> | Les alginates sont solubles à froid et permettent ainsi d'obtenir facilement des solutions visqueuses. Grâce à sa solubilité dans l'eau, c'est l'alginate de sodium qui est le plus utilisé bien qu'insoluble dans l'éthanol et les solvants organiques |
| <b>Viscosité</b>  | la viscosité des alginates en solution. Les alginates commercialisés peuvent être dissous dans de l'eau chaude ou froide pour obtenir des solutions dont la viscosité s'étend de quelques centipoises à plusieurs centaines de centipoises .            |

### 5.1.2 .Structure générale :

L'acide alginique est un polymère naturel, linéaire, de structure hétérogène, constitué de deux unités monosaccharidiques : l'acide  $\beta$ -D-mannuronique et l'acide  $\alpha$ -L-guluronique. [18].

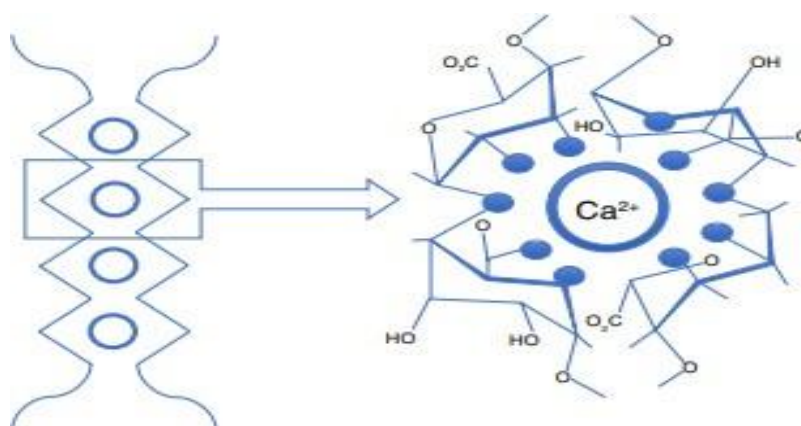


**Figure 4.** Caractéristiques structurales des alginate : (A) monomères d'alginate, (B) structure chimique des monomères, (C) chaîne conformation et (D) distribution de blocs. [19]

### 5.1.3 Mécanisme de gélification :

Les propriétés de gélification des alginate sont basées sur leur affinité pour certains ions et leur capacité à se lier à ces ions de façon sélective et coopérative.

La gélification des alginate, induite par des ions divalents, résulte de la capacité de ces composés à former des liaisons ioniques accompagnées de changements conformationnels. [20].



**Figure 5.** Représentation de la structure en « egg box » et de la dimérisation entre  $\text{Ca}^{2+}$  (cercles vides) et les atomes d'oxygène (cercles pleins) dans les blocs G (zigzags) (adapté de Fu et al.5). [19]

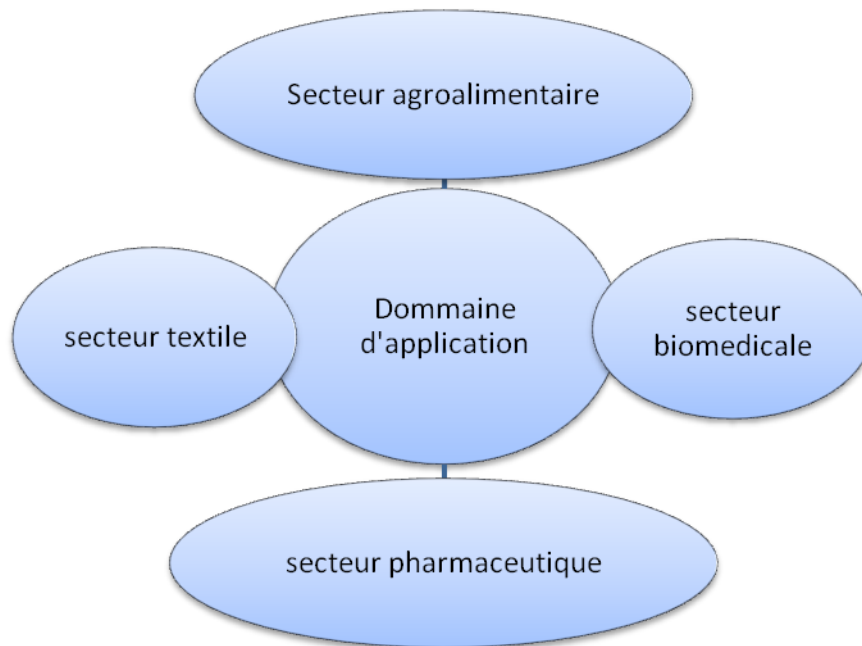
#### 5.1.4 Les sources de l'alginate :

L'alginate se trouve principalement dans le mucilage intercellulaire et les cellules des algues brunes sous forme de sels de calcium, de sodium et de magnésium d'acide alginique, offrant flexibilité et résistance mécanique à la plante [21, 22].

Les espèces d'algues brunes, les plus exploitées à des fins industrielles appartiennent à l'ordre des Laminariales, avec *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* et *Macrocystis pyrifera* [23]. Celles-ci sont récoltées sur les côtes rocheuses des États-Unis, en Grande Bretagne, en France (Bretagne), au Japon, en Chine ou encore en Norvège [24]

#### 5.1.5 Domaines d'application :

La microencapsulation étant une méthode de protection de divers principes actifs vis-à-vis des facteurs extérieurs, ce concept a été largement utilisé dans divers domaines d'application et reste en constante évolution, nous citons :



**Figure 6.** Schéma des domaines d'application de la microencapsulation. [24]

## II. Les Emulgels :

### II.1 Définition :

C'est est une combinaison entre un gel et une émulsion où la présence d'un agent gélifiant dans la phase aqueuse permet la conversion d'une émulsion classique en émugel. La capacité gélifiante de ces composés diminue la tension superficielle et interfaciale tout en augmentant la viscosité de la phase aqueuse ce qui leur confère une stabilité meilleure par rapport aux autres formes dermiques et en particulier les émulsions [28,29].

### II.2 Intérêts des émulgels [30, 31] :

- médicament hydrophobe peut être facilement incorporé en utilisant une émulsion H/E.
- Meilleure stabilité.
- Meilleure capacité de chargement.
- Faible coût de préparation.
- Effet prolongé du médicament (libération contrôlée).

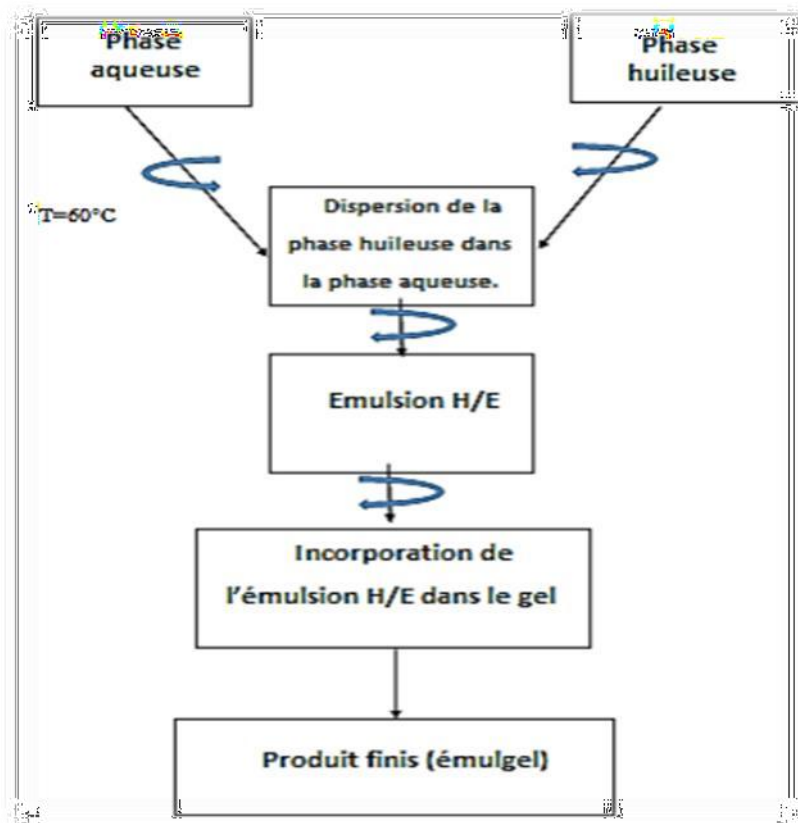
- Améliorer la conformité des patients.
- Éviter le métabolisme de premier passage.
- Médicaments auto-administrés.
- Arrêt du traitement si nécessaire.
- Convient aux médicaments à demi-vie courte et aux médicaments puissants.
- Système d'administration de médicaments spécifique au site.
- Éviter les incompatibilités gastro-intestinales.

### **II.3 Formulation des émulgels :**

Les systèmes émulgels intéressent actuellement les scientifiques pharmaceutiques en raison de leur potentiel substantiel à agir comme véhicule d'administration de médicaments en incorporant une large gamme de molécules médicamenteuses. Il s'agit soit d'une émulsion de type eau dans l'huile, soit d'une huile dans l'eau, qui se gélifie en la mélangeant avec un gélifiant.

L'incorporation de l'émulsion dans le gel en fait un système de libération à double contrôle et augmente également sa stabilité.

En raison du manque d'excipients insolubles et de l'excès de bases huileuses, il démontre une meilleure libération de médicament par rapport à un autre système d'administration de médicament topique. En raison du non-gras en raison de la présence de phase gel qui favorise une bonne observance du patient. [32].



**Figure 7.** Schéma général de formulation des émulgels. [33].

#### **II.4 Caractérisations des émulgels :**

Les méthodes de caractérisation des émulgels se rapprochent de celles des émulsions on peut citer :

##### **4.1 .Caractérisation Rhéologique :**

Les propriétés rhéologiques d'un gel telles que la viscosité et l'étalement sont cruciales pour déterminer ses performances et ses utilisations potentielles .Le comportement rhéologique joue un rôle important dans l'évaluation de la stabilité physique des préparations topiques pendant le stockage et les applications.

##### **4.2 Mesure de la taille des particules, l'indice de polydispersité et le potentiel Zéta**

Il est important de contrôler la taille des émulgels car elle affecte la perméabilité, l'absorption, la demi-vie biologique du PA mais aussi la stabilité physique de l'émulsion.

### **4.3 Morphologie :**

La caractérisation de la composition, de la déformation et de la structure interfaciale, de la morphologie, de la quantification des phases et de la distribution granulométrique des nanomatériaux est une étape critique du processus de conception. La microscopie électronique à balayage et à transmission (SEM/TEM) est largement utilisée à cette fin [34]. Le SEM est l'une des techniques expérimentales les plus connues pour étudier et évaluer l'imagerie et la caractérisation des microparticules et nanoparticules.

### **4.4 d'efficacité de piégeage :**

L'efficacité d'encapsulation des huiles essentielles dans l'émulgel a été étudiée en fonction de la quantité initiale d'huile essentielle. afin d'évaluer la quantité relativement d'HE piégée dans l'émulgel.

### **4.5 Études in vitro sur la libération de médicaments :**

Des études de libération de médicament à partir des émulgels, in vitro ont été réalisées à l'aide d'un tube de dialyse. La quantité de médicament libérée est tracée en fonction du temps L'évaluation de cette libération permet d'apprécier la cinétique de libération des PA encapsulé dans les émulgels où le gel Carbopol agit comme un réservoir dans lequel le médicament pénètre et traite la zone d'infection ciblée. [35].



# **Chapitre II**

**Plantes médicinales et huiles essentielles**



### **1. Généralité sur les plantes médicinales :**

Une partie de la population mondiale utilise la médecine traditionnelle pour guérir. Cette utilisation généralisée s'explique par son accessibilité et sa disponibilité de cette médecine dans les pays en développement d'un côté, et les effets nocifs des médicaments synthétiques de l'autre côté. Les plantes médicinales constituent une piste de recherche de nouveaux produits antibactériens plus efficaces en vue de l'émergence des souches très résistantes aux antibiotiques. Les plantes médicinales deviennent importantes pour la recherche pharmacologique et le développement ou la production de médicaments, non seulement lorsque les composants des plantes sont directement utilisés comme agent de thérapie, mais aussi comme matériaux de synthèse de médicament ou comme modèles de composés pharmacologique. [35]

### **2. Définition des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques présentes dans les cellules ou les glandes spécialisées de certaines plantes, utilisées pour se protéger des prédateurs et des ravageurs, mais aussi pour attirer des pollinisateurs. En d'autres termes, les huiles essentielles font partie du système immunitaire de la plante. Le célèbre alchimiste, médecin, physicien, astrologue, théologien et philosophe de Suisse, Paracelsus, l'a appelé huiles distillées des herbes -*quinta Essentia*- la quintessence de la plante, et donc le nom des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances volatiles hautement concentrées extraites de diverses parties de certaines espèces végétales, chacune avec des effets thérapeutiques et énergétiques spécifiques. Ces liquides volatils sont des substances moléculaires très complexes, extrêmement puissantes et précises comme action. L'extraction des huiles essentielles est coûteuse en raison de la grande quantité de matières premières nécessaires pour produire quelques millilitres d'huile. Cela explique les prix élevés requis pour une véritable huile essentielle. Par exemple, pour obtenir une seule goutte d'huile essentielle de rose, environ 60 roses [36-37].

### **3. Utilisations des huiles essentielles :**

Elles sont utilisées dans certains médicaments, en parfumerie, en phytothérapie ou comme aromatisant dans les aliments. Il faut distinguer l'activité de l'huile essentielle de celle de la plante infusée. Il y a souvent un seuil au-delà duquel ils peuvent devenir toxiques.

L'utilisation des plantes et des huiles est régie par le code de la santé publique. Depuis plusieurs années, les huiles essentielles ont envahi de nombreux produits de la vie quotidienne. On les trouve de plus en plus comme arômes alimentaires comme exhausteurs de goût (café, thé, tabac, vins, yaourts, plats cuisinés...). La cosmétique et principalement, la cosmétique biologique est également un secteur qui utilise de plus en plus d'huiles essentielles.

#### 4. Constituants chimiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles pures sont des mélanges de plus de 200 composants, des mélanges de terpènes ou de dérivés phénylpropaniques, dans lesquels les différences chimiques et structurales entre les composés sont minimales. Ils peuvent être classés en deux groupes :

- a. **Fraction volatile:** Huile essentielle constituent 90-95% de l'huile en poids, contenant Les hydrocarbures monoterpéniques et sesquiterpéniques, ainsi que leurs dérivés oxygénés ainsi que les aldéhydes, alcools et esters aliphatiques.
- b. **Résidu non volatil :** qui comprend 1 à 10 % de l'huile, contenant des hydrocarbures, des acides gras, des stérols, des caroténoïdes, des cires et des flavonoïdes [38].

**Tableau 2.** Les constituants chimiques des huiles essentielles. [39-40].

| Les groupes      | Propriétés   |
|------------------|--|
| <b>Terpènes</b>  | Antiseptique, calment et des sédatifs.   |
| <b>Alcools</b>   | antiseptique, antiviral, bactéricide et germicide.   |
| <b>Aldéhydes</b> | antifongique, anti-inflammatoire, antiseptique, antiviral, bactéricide désinfectant, sédatif.            |
| <b>Acides</b>    | anti-inflammatoire.  |
| <b>Esters</b>    | Les huiles essentielles contenant des esters sont utilisées pour leurs effets apaisants et équilibrants. |
| <b>Cétones</b>   | anti-catarrhal, proliférant cellulaire, expectorant, vulnérabilité.                                      |
| <b>Lactones</b>  | anti-inflammatoire, antiphlogistique, expectorant, fébrifuge.  |

**5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont extraites principalement par des méthodes parmi lesquelles :

**Tableau 3.** Les méthodes d'extraction des huiles essentielles. [41-42-43]

| <b>Méthode d'extraction</b>                  | <b>Procédé</b>   |
|--|--|
| <b>L'hydrodistillation</b>                   | Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique.   |
| <b>L'entraînement à la vapeur d'eau</b>      | La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ».  |
| <b>Micro-onde</b>                            | L'effet des microondes provoque une libération plus rapide de l'huile essentielle contenue dans la plante grâce à l'ouverture quasi instantanée des glandes et poils sécréteurs. Les microondes agissent de manière sélective sur les cellules végétale, vaporisant la matrice d'eau, provoquant la rupture des cellules et libérant directement l'arôme dans la cavité micro-ondes.                     |
| <b>Au gaz (CO<sub>2</sub>) supercritique</b> | L'originalité de cette technique d'extraction réside dans le type de solvant employé : Le CO <sub>2</sub> supercritique. Au-delà du point critique (P = 73,8 bars et T = 31,1 °C), possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction, et facilement modulable en jouant sur les conditions de température et de pression. |

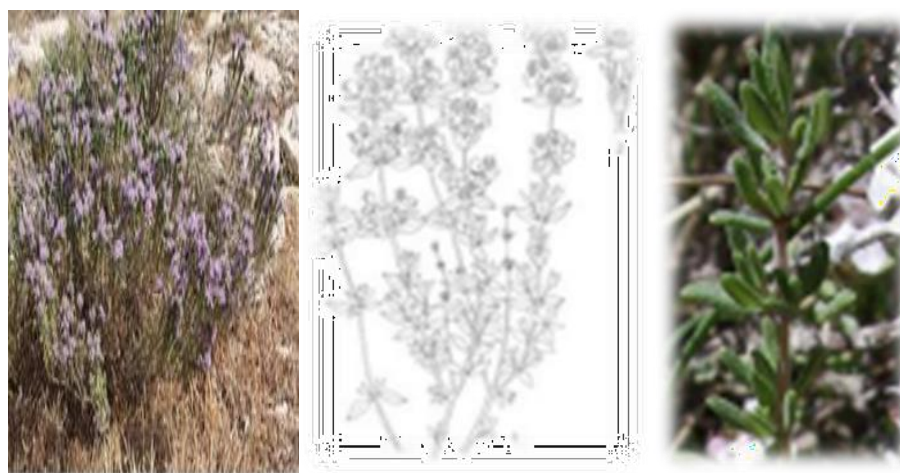
## 6. *Thymus vulgaris* :

### a. Description de *thymus vulgaris* :

*Thymus vulgaris* est l'un des plus grands genres de la famille des Lamiacées, avec plus de 350 espèces trouvées en Europe, en Asie et en Afrique du Nord [44] il s'agit d'une plante aromatique à fleurs qui pousse généralement comme un sous-arbuste de 5 à 30 cm de hauteur avec une racine ligneuse fibreuse et de petites feuilles gris verdâtre à bords étroits. Il a de nombreuses tiges dures et ramifiées (10-20cm de haut) et des fleurs qui fleurissent de mai à septembre avec un parfum distinctif peuvent de couleur blanche ou violette. En raison de son arôme fort dû au thymol, il est cultivé largement en tant qu'herbe culinaire [45], par le processus de distillation à la vapeur. Habituellement, les huiles essentielles présentent des monoterpènes et des sesquiterpènes et dans certains cas des phénylpropanoïdes dans leur composition. L'huile de thym est l'une des huiles commerciales les plus utilisées dans le monde et connue pour ses diverses propriétés comme conservateur alimentaire, antioxydant, antibactérien et antifongique. L'huile de thym est très efficace pour l'activité larvicide, de fortes propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et acaricide. [46].

### b. Nom commun :

Le nom scientifique du thym est *Thymus vulgaris*, Le terme grec pour le thym est dérivé du mot « fumiger », qui pourrait désigner le parfum produit par la combustion du thym comme de l'encens dans les anciens temples grecs. L'huile de thym est constituée de fortes concentrations de composés phénoliques [47]



**Figure 8.** Différentes parties du *thym vulgaris* (branches ; feuilles, et fleurs) [48]

**c. Classification de *Thymus vulgaris*:****Tableaux 4.** Clacification de la plante *thymus vulgaris* [49].

| <b>Règne</b>      | <b>Plante</b> |
|-------------------|---------------|
| <b>Sous règne</b> | Tracheobionta |
| <b>Division</b>   | Magnoliophyta |
| <b>Classe</b>     | Magnoliopsida |
| <b>Ordre</b>      | Astéridae     |
| <b>Famille</b>    | Lamiales      |
| <b>Genre</b>      | Lamiaceae     |
| <b>Espèce</b>     | Thymus        |

**6.4 Utilisations de *Thymus vulgaris* :**

- ✓ utilisé en médecine populaire roumaine pour ses propriétés expectorantes, antitussives, antispasmodiques, antispasmodiques, anthelminthiques, carminatives et diurétiques.[50]
- ✓ Les utilisations culinaires, cosmétiques et médicinales des plantes de la famille des Lamiaceae les ont fait ressortir parmi les herbes aromatiques au fil des ans. [51]
- ✓ La plante a été utilisée pendant des milliers d'années pour traiter l'alopecie, la plaque dentaire, les infections à dermatophytes, la bronchite, la toux, les troubles inflammatoires de la peau et la détresse gastro-intestinale [52].

6.5 Propriétés de *Thymus vulgaris* :Tableau 5. Les propriétés de *Thymus vulgaris*. [53-54-55] .

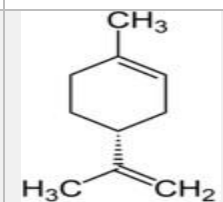
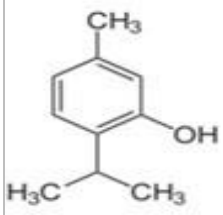
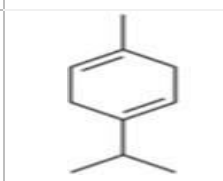
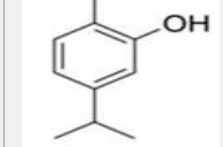
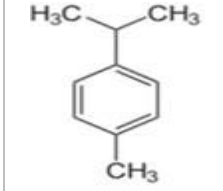
| Les propriétés            | Définition  |
|---------------------------|---|
| <b>Anti-fongique</b>      | L'application potentielle de carvacrol à partir de divers cultivars de <i>thymus</i> comme agents antifongiques a été signalée récemment (2020). l'activité antifongique de l'huile essentielle extraite de <i>T. vulgaris</i> contre huit espèces de levures et huit champignons filamenteux isolés de pathogènes d'infection fongique cutané-muqueuse.  |
| <b>Anti-inflammatoire</b> | Le <i>T-vulgaris</i> et surtout le carvacrol ont également supprimé de multiples marqueurs de l'inflammation dans divers tissus chez les animaux de laboratoire. Toutefois, les études ont utilisé différents modèles animaux, différents schémas posologiques et des doses beaucoup plus élevées que dans les régimes alimentaires humains, de sorte que leur pertinence pour la santé humaine est incertaine.           |
| <b>Anti-Oxydant</b>       | Le <i>T-vulgaris</i> avait le potentiel de protéger contre les dommages oxydatifs qui peuvent contribuer aux maladies chroniques du vieillissement. Cependant, ils sont difficiles à interpréter en raison des différents échantillons, modèles animaux et conceptions expérimentales évalués, bien qu'ils indiquent néanmoins que le thym a des actions générales de suppression de l'oxydation.                         |
| <b>Anti-Microbien</b>     | l'efficacité de l'HET-vulgaris contre les bactéries et champignons alimentaires testés. La synergie, l'antagonisme et les effets additifs, respectivement, des composants de l'HE nécessitent des recherches supplémentaires pour élucider les mécanismes sous-jacents à leur activité biologique, dans le but d'accéder à de nouveaux antiseptiques naturels applicables dans l'industrie pharmaceutique et alimentaire. |



### 6.6 Composition chimique de *Thymus vulgaris* :

Des études similaires en Pologne, en Iran, en Espagne et en Italie, respectivement, ont été signalées comme des composés majeurs dans le *T. vulgaris* eo p-cymène,  $\gamma$ -terpinène et thymol; ces différences peuvent être attribuées dans une large mesure aux différents chimio types mentionnés ci-dessus. [52].

**Tableau 6.** La composition chimique des majeurs composants de *Thymus vulgaris*

| <i>Thymus vulgaris</i>                   | Les pourcentages |       |       |      |       |       |            | Structure chimique  |
|--|------------------|-------|-------|------|-------|-------|------------|---|
| <b>Limonene (%)</b>                      | 0,18             | 39,39 | 0,015 | 0,3  | 24,11 | –     | –          |    |
| <b>(T. Thymol (%)</b>                    | 75,46            | 44,33 | 21,07 | 42,6 | 1,5   | 3,55  | 2,3-2,9    |   |
| <b><math>\Gamma</math>-Terpinene (%)</b> | 0,33             | 4,4   | 27,09 | 3    | 1,07  | 11,17 | 1,46-2,1   |  |
| <b>Carvacrol (%)</b>                     | 2,8              | –     | 0,005 | 32,3 | 2,74  | 58    | 0,82-1,4   |  |
| <b>P-Cymene (%)</b>                      | 4,17             | 1,68  | 41,04 | 4,1  | 0,55  | 12,8  | 12,89-20,6 |  |
| <b>Références</b>                        | [56]             | [57]  | [58]  | [59] | [58]  | [59]  | [59]       |   |

# **Chapitre III**

## **Matériels et méthodes**



## **Introduction :**

Dans Notre travail nous nous sommes ‘intéressées à la formulation galénique d’une huile essentielle de *Thymus vulgaris* connue pour ses propriétés antimicrobiennes et antifongiques.

Nous avons réalisé deux types de formulation : des microparticules et un émulgel :

- Pour la formulation de microparticules nous avons utilisé le procédé de gélification ionotropique avec l’alginate de sodium à différentes concentrations, les microparticules obtenues ont été caractérisées par spectroscopie UV-Vis, spectroscopie à infrarouge, la microscopie optique, la caractérisation rhéologique et le test de dissolution.
- La deuxième formulation consiste en un émulgel constitué d’une émulsion à base d’huile essentielle de thym, dispersée dans un gel .cette formulation a été caractérisée par microscopie optique et quelques paramètres physico-chimiques comme le pH et la conductivité et la caractérisation rhéologique.

Notre partie expérimentale a été réalisée en partie au laboratoire de recherche d’analyse fonctionnelle du département de génie des procédés et au laboratoire de contrôle qualité au site de production de Pharmal Dar El Beida Saidal.

## **1. Matériels :**

### **1.1 Matière premières :**

#### **A. présentation des matières premières utilisées :**

Nous énumérons les matières premières utilisées et leurs rôles dans la formulation, dans le tableau ci-dessous

Tableau 7. Les matières premières utilisées et leurs rôles [60, 61]

|                                      | <b>Matières premières</b>                   | <b>Rôle</b>                                  | <b>La formule</b>   | <b>Fournisseur</b>                   |
|--------------------------------------|---|--|---|--------------------------------------|
| <b>Formulation de microparticule</b> | <i>Huile essentielle de Thymus vulgaris</i> | Principe actif                               | /   | Vie Bio                              |
|                                      | <b>Alginate de sodium</b>                   | Agent enrobant                               | (NaC <sub>6</sub> H <sub>7</sub> O <sub>6</sub> )             | BIOCHEM Chemophara                   |
|                                      | <b>Polysorbate 80</b>                       | Emulsifiant                                  | C <sub>64</sub> H <sub>126</sub> O <sub>26</sub>              | CRD Sidal                            |
|                                      | <b>Chlorure de calcium</b>                  | agent de gélification                        | CaCl <sub>2</sub>   | SIGMA-ALDRICH                        |
| <b>Contrôle</b>                      | <i>Huile essentielle de Thymus vulgaris</i> | Principe actif                               | /   | Vie Bio                              |
|                                      | <b>Span 20</b>                              | Emulsifiant                                  | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>6</sub>                | CRD Sidal                            |
|                                      | <b>Polysorbate 80</b>                       | Emulsifiant                                  | C <sub>64</sub> H <sub>124</sub> O <sub>26</sub>              | CRD Sidal                            |
|                                      | <b>Propylène glycol</b>                     | Solubilisant                                 | C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>                  | Pharmal Sidal                        |
|                                      | <b>Triethanolamine</b>                      | Agent neutralisant                           | C <sub>6</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>3</sub>                | Pharmal Sidal                        |
|                                      | <b>Carbopol 940</b>                         | Agent gélifiant                              | (C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub> ) <sub>n</sub>  | Pharmal Sidal                        |
|                                      | <b>Méthanol 99,8%</b>                       | Diluant                                      | CH <sub>3</sub> OH  | Pharmal Sidal                        |
|                                      | <b>DPPH</b>                                 | permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire | C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> N <sub>5</sub> O <sub>6</sub> | Donné par le département de biologie |

**B. Propriétés physiques et chimiques des matières premières :**

Le tableau suivant donne les propriétés physicochimiques des matières premières utilisées.

**Tableau 8 :** Les propriétés physico-chimique des matières premières [61] :

| Formulation | Matières premières                 | Solubilité  | Masse molaire | Ph      | HLB  | Densité g/cm <sup>3</sup> |
|-------------|------------------------------------|---|---------------|---------|------|---------------------------|
|             | Alginate de sodium                 | Soluble dans l'eau  | 198,105 g/mol | /       | /    | 1,1 g/cm <sup>3</sup>     |
|             | Chlorure de calcium                | Soluble dans l'eau  | 110,98 g/mol  | 8,5     | /    | 2,15 g/cm <sup>3</sup>    |
|             | Polysorbate 80                     | Solubilité dans l'eau, éthanol, acétone.  | 1 310 g/mol   | 5 – 7   | 15.0 | 1,07 g/cm <sup>3</sup>    |
|             | Monolaurate de sorbitane (Span 20) | Soluble dans l'huile minérale, l'huile de coton, le méthanol, et l'éthylène glycol. | 346,46 g/mol  | /       | 8.6  | 1,032 g/cm <sup>3</sup>   |
|             | Triethanolamine                    | Soluble dans l'eau  | 149,188 g/mol | /       | 34   | /                         |
|             | Propylène glycol                   | Soluble dans l'éther. Insoluble dans les huiles                                     | 76,09 g/mol   | /       | /    | 1.036 g/cm <sup>3</sup>   |
|             | Carbopol                           | Soluble dans l'eau  | 72.06 g/mol   | 2.5-3.0 | > 29 | Faible densité            |

**C. Équipements** : les équipements utilisés sont représentés dans le tableau 9 :

|                         | <b>Equipements</b>   | <b>Marque</b>      |
|-------------------------|--|--------------------|
| <b>Préparation</b>      | Balance électronique   | OHAUS              |
|                         | Homogénéisateur  | IKA 25             |
|                         | Plaque chauffante  | VELP scientifica   |
|                         | Agitateur magnétique   | IKA 25             |
|                         | Agitateur à hélice   | Wisestir           |
| <b>Contrôle</b>         | Dissolutest  | ERWEKA             |
|                         | Centrifugeuse  | Eppendorf          |
|                         | Spectromètre infrarouge  | FTIR-8900          |
|                         | Spectromètre UV-visible  | SHIMADZU UV 1700   |
|                         | Rhéomètre  | Anton Paar MCR 102 |
|                         | Etuve  | U.More             |
| <b>Petits matériels</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tubes à essai, Spatule, Capsules</li> <li>- Pipettes 1 ml, 2 ml.</li> <li>- Micropipette de 100µl, 1000µl</li> <li>- Entonnoir, Bécher, éprouvette graduée, fiole jaugée.</li> <li>- verre de montre</li> <li>- Bec bunsen</li> </ul> |                    |

**Tableau 9.** Liste des équipements de préparation et de contrôle

**D. Matériels biologiques :**

Les souches microbiennes utilisées dans le contrôle microbiologique sont mentionnées dans le tableau

**Tableau 10.** Les souches microbiennes utilisées. [66].

| Souche microbienne            | Nature     | Gram         | ATCC  |
|-------------------------------|------------|--------------|-------|
| <b>Aspergillus</b>            | Champignon | gram positif | 9642  |
| <b>Escherichia coli</b>       | Bactérie   | gram négatif | 25922 |
| <b>Bacillus subtilis</b>      | Bactérie   | Gram positif | 1776  |
| <b>Pseudomonas aeruginosa</b> | Bactérie   | Gram négatif | 2315  |

## 2. Méthodes :

### 2.1 Caractérisation de l'huile essentielle de thym

#### 2.1.1. Caractérisation de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par Spectroscopie à Infra-rouge :

##### Principe :

La spectrophotométrie infrarouge est un moyen de caractérisation qui nous permet de déterminer et d'identifier la nature des liaisons chimiques et des groupes fonctionnels présents dans nos extraits.

Une pastille de KBR et des échantillons ont été préparés, qui sont ensuite placés dans le support et analysés dans le dispositif IR .

#### 2.1.2. Caractérisation de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par spectroscopie UV-Visible :

Afin d'évaluer la teneur en principe actif dans les formulations étudiées, une mise au point de la méthode de dosage du *Thymus vulgaris* par spectroscopie UV-Visible a été réalisée. Pour cela, il est nécessaire de déterminer la longueur d'onde optimale et la détermination des courbes d'étalonnage dans différents milieux, à savoir dans les solutions tampon à pH 1.2 et à pH 6.8

##### ❖ Préparation des solutions tampons :

La préparation des solutions tampon à pH 1.2 et 6.8 a été réalisée selon la méthode décrite par la pharmacopée Européenne 2017



- **Préparation de la solution tampon pH=1.2 :**

8.38ml de la solution d'acide chlorhydrique à 0.2M, puis on complète à l'eau distillée jusqu'à 1l. pH 1.2

- **Préparation de solution tampon pH 6.8 :**

Mélanger 250ml d'une solution de phosphate monopotassique 0.2M avec 112ml d'une solution hydroxyde de sodium 0.2M puis compléter à 1000ml avec l'eau purifié

- La préparation préalable de solution intermédiaire entrant dans la composition du tampon phosphate monopotassique 1.2M

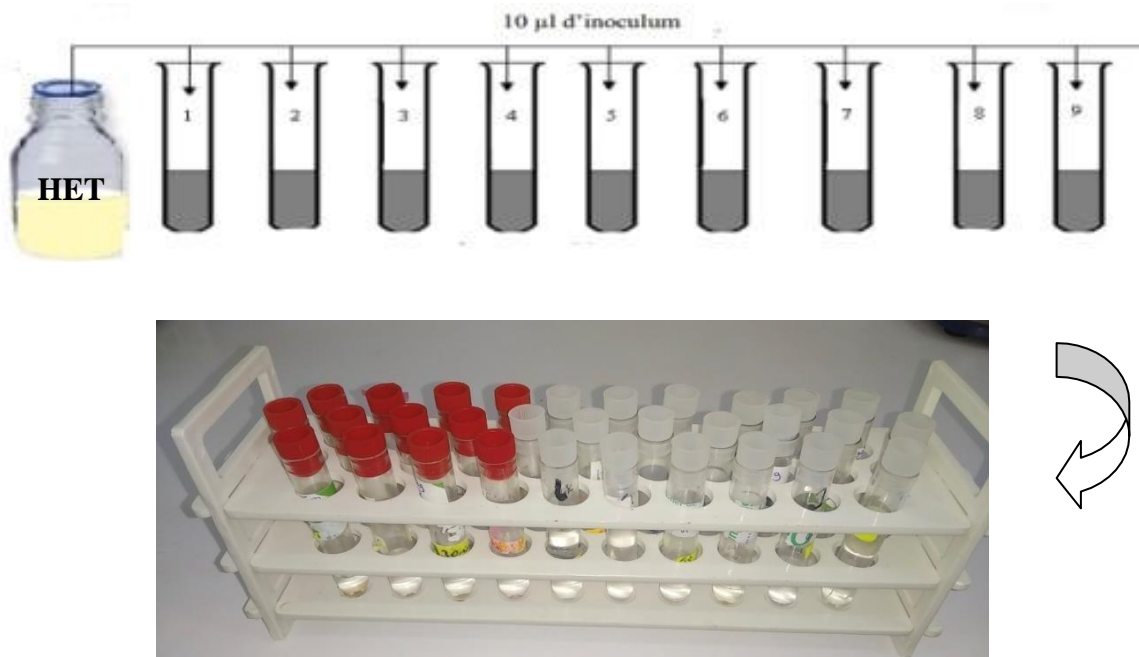
Dissoudre 27.22g de phosphate monopotassique dans 1000ml d'eau purifié

- Hydroxyde de sodium 0.2M

Dissoudre 8g d'hydroxyde de sodium dans 1000ml d'eau purifié

- ❖ **Détermination de la longueur d'onde optimale :**

Un balayage dans le domaine UV-Vis a été effectué afin de déterminer la longueur d'onde optimale  $\lambda_{max}$ , correspondant à l'absorption de la molécule *Thymus vulgaris* dans différents milieu de dissolution. Pour la détermination de  $\lambda_{max}$ , les solutions de *Thymus vulgaris* sont préparées à une concentration de 0,1 mg.ml<sup>-1</sup>. Les résultats montrent des pic d'absorptions maximums définis à une longueur d'onde  $\lambda_{max}$ = 275 nm



**Figure 9.** Les solutions de *Thymus vulgaris* préparées à déférent concentration (identifier)

### 2.1.3 Etude de l'activité anti-oxydante de l'HE par le radical DPPH :

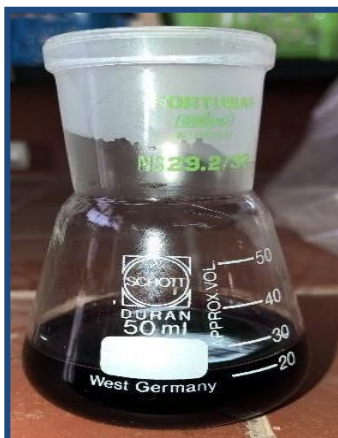
Le modèle de piégeage du radical DPPH stable est une méthode largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante dans un temps relativement court par rapport à d'autres méthodes [63]

#### ❖ Principe de test au DPPH :

Le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre instable, en acceptant un électron ou un radical hydrogène, il devient une molécule stable. L'effet des antioxydants sur ce radical se traduit par leur capacité à lui donner un radical hydrogène. Cette capacité de réduction (sur le radical DPPH) est déterminée par la diminution des absorbances à 515 nm, qui est induite par l'antioxydant. Cela est visualisé par le changement de couleur du violet au jaune.

- Préparation de solution de DPPH (0,04g/l) :

4 mg de DPPH est mélangé avec 100ml de méthanol 99,8%.



**Figure 10:** Solution de DPPH.

❖ **Mode opératoire :**

Pour réaliser l'analyse, 4 ml de la solution méthanolique de DP-PH (0,04 g/l) est ajouté à 100 µl de la solution de l'huile essentielle concentrations (1.6, 0.8, 0.4, 0,2, 0,1mg/ml). Le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 25 minutes. La longueur d'onde d'absorption maximale a été préalablement déterminée. Toutes les lectures sont effectuées à 515 nm.

▪ **Calcul du Pourcentage d'inhibition IC :**

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Abs c} - \text{Abs e} / \text{Abs c}) \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

Abs c : Absorbance du control négatif après 25 min d'incubation.

Abs e : Absorbance de l'échantillon après 25 min d'incubation.

▪ **Détermination de la concentration inhibitrice médiane (IC50) :**

L'IC50 est définie comme étant la quantité ou la concentration d'antioxydants nécessaire pour inhiber ou faire disparaître 50% des radicaux. Les IC50 sont calculées graphiquement

par des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testés. Pour chaque extrait une courbe de régression linéaire ( $Y = aX + b$ ) est établie afin de calculer l'IC50 qui permettra la caractérisation du pouvoir antioxydant des extraits. Une faible valeur de l'IC50 indique une forte activité antioxydante.

#### **2.1.4 Etude de l'activité antimicrobienne et antifongique sur l'HE :**

##### **Principe :**

L'étude a été réalisée par méthode de diffusion sur gélose, conçue initialement pour les antibiotiques, mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés d'huile essentielles. Cette méthode est reconnue comme fiable et reproductible, en plus de ça, elle constitue surtout aussi une étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs (**Dima, 2016**). Elle permet également de mettre en évidence l'effet antimicrobien de l'HE et de déduire la résistance et la sensibilité des souches microbiennes (**Amara et al., 2017**).

##### **❖ Mode opératoire :**

Le protocole suivi est celui décrit par **Haddouchi et al., (2016)**, qui est réalisé comme suit: Des géloses de Mueller Hinton (MH) coulées dans des boîtes de Pétri sontensemencées uniformément à l'aide d'une micropipette de 100 µl de chaque suspension bactérienne standardisée, celles-ci ont été étalées à l'aide d'un râteau de pipette Pasteur. Des disques de papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre, imprégnés avec 10 µl d'une d'HE additionnée de DMSO à raison de 5% (v/v) ont été laissées sécher pendant quelques instant (pas trop longtemps pour éviter l'évaporation de l'HE). Pour chaque souche bactérienne testée, ces disques ont été déposés au milieu des boîtes de Pétri contenant les gélosesensemencées. Les boîtesensemencées contenant les disques d'huile essentielle ont été mises à 4°C pendant 2 heures pour faciliter la diffusion d'HE. Le test a été répété deux fois. – L'incubation des boîtes se fait dans l'étuve à 37°C pendant 24h. La lecture des résultats s'est faite 24 heures après l'incubation par la mesure des diamètres des zones d'inhibition, ceci en mesurant la moyenne des deux diamètres perpendiculaires passant par le milieu du disque, qui sont ainsi déterminés comme un halo translucide autour du disque à l'aide d'une règle en (mm). Suivant le diamètre de la zone d'inhibition exprimé en (mm) autour de chaque disque, la lecture des résultats est faite comme suit [64]:

- Résistante (-): diamètre  $\leq$  8 mm.
- Modérément sensible (+): diamètre compris entre 8 et 14mm.
- Sensible (++) : diamètre compris entre 14 et 20mm.
- Extrêmement sensible (+++): diamètre  $>$  20mm.

## 2.2 Méthodes de Formulation :

### 2.2.1 Formulation des microparticules :

- **Choix des matières premières:**

Pour la formulation galénique, Nous avons effectué des recherches bibliographiques, qui nous ont conduits à un panel de matières premières. Selon la disponibilité, nous avons arrêté notre choix comme suit:

**Tableau 11.** Les Matières Premières utilisées.

| Les matières premières | Quantités utilisées |
|------------------------|---------------------|
| <i>Thymus vulgaris</i> | 8ml                 |
| Alginate de sodium     | 7 g                 |
| Polysorbate 60         | 2 g                 |
| Chlorure de calcium    | 36 g                |
| Huile végétale         | 400ml               |
| Talc                   | 0.2g                |
| L'eau distillée        | 750ml               |

- **Choix du procédé de préparation des microparticules :**

#### 2.2.1.1 Les essais de pré-formulation :

Pour orienter notre formulation nous avons mené des essais de préformulation dans lesquels nous avons réalisé deux procédés, un procédé direct et un procédé indirect dit par émulsification (tableau 12) .

**Tableau 12.** Les procédés de la microencapsulation.

|                | <b>Procèdes de la microencapsulation</b>  |   |
|----------------|---|---|
|                | <b>Procédé direct</b>   | <b>Procédé indirect</b>   |
| <b>Étape 1</b> | <p><b>Préparation de la solution d'alginate :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mettre la MP alginate de sodium dans un bécher contenant l'eau distillée, sous une agitation magnétique jusqu'à ce que le polymère se dissout complètement</li> </ul>  | <p><b>Préparation de l'émulsion d'HE dans d'alginate :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mettre la MP alginate de sodium dans un bécher contenant l'eau distillée, sous une agitation magnétique jusqu'à ce que le polymère se dissout complètement.</li> <li>- Prendre 20ml de la solution d'alginate de sodium puis ajouter le talc, l'huile essentielle de thym et le polysorbate 80</li> <li>- Mélangez avec une spatule puis mettez le mélange sous agitation pendant 10min.</li> </ul> |
| <b>Étape 2</b> | <p><b>Préparation de la solution de chlorure de calcium à 10% / :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Mettre la MP chlorure de calcium dans une fiole et faire dissoudre dans l'eau distillée.</li> </ul>  | <p><b>Préparation de la solution de Chlorure de calcium 10% :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dissoudre la MP chlorure de calcium dans une fiole de 100ml contenant de l'eau distillée</li> </ul>  |
| <b>Étape 3</b> | <p><b>Préparation des microparticules :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Prendre 20ml de la solution d'alginate de sodium puis ajoutez le talc, l'huile essentielle de Thym et le polydorbate 80 et Mélanger avec une spatule, Puis mettre le mélange sous une forte agitation en utilisant un agitateur à hélice.</li> <li>-Ajoutez goutte à goutte cette préparation à l'aide d'une seringue dans la solution de chlorure de calcium et laissez sous agitation pendant 1h.</li> <li>- A l'aide d'un filtre récupérez les microparticules obtenues et les rincer.</li> </ul> | <p><b>Préparation des microparticules :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Dans un bécher émulsifier 40ml de l'huile végétale avec 20ml de l'émulsion préparée sous une forte agitation, puis rajouter 50ml de la solution de chlorure de calcium et laisser sous agitation modérée pendant 1h.30, récupérer les microparticules par centrifugeuse et les rincer avec l'eau.</li> </ul>   |

**2.2.1.2 Les essais de formulation :**

Après les essais de préformulation nous avons réalisé autres formules de différentes concentrations (tableau 13) qui ont été préparées en suivant le procédé indirect par émulsification, les étapes sont illustrées dans le schéma ci-dessous :

**Tableau 13.** Matrice des essais de formulation des microparticules

| <b>Quantité en %</b> | <b>Alginate</b> | <b>Huile essentielle</b> | <b>Polysorbate 60</b> | <b>Chlorure de calcium</b> | <b>Eau distillée</b> |
|----------------------|-----------------|--------------------------|-----------------------|----------------------------|----------------------|
| <b>Essai 1</b>       | <b>2%</b>       | <b>1%</b>                | <b>0,25%</b>          | <b>9%</b>                  | <b>70%</b>           |
| <b>Essai 2</b>       | <b>3%</b>       | <b>1%</b>                | <b>0,25%</b>          | <b>9%</b>                  | <b>70%</b>           |
| <b>Essai 3</b>       | <b>4%</b>       | <b>1%</b>                | <b>0,25%</b>          | <b>9%</b>                  | <b>70%</b>           |
| <b>Essai 4</b>       | <b>5%</b>       | <b>1%</b>                | <b>0,25%</b>          | <b>9%</b>                  | <b>70%</b>           |

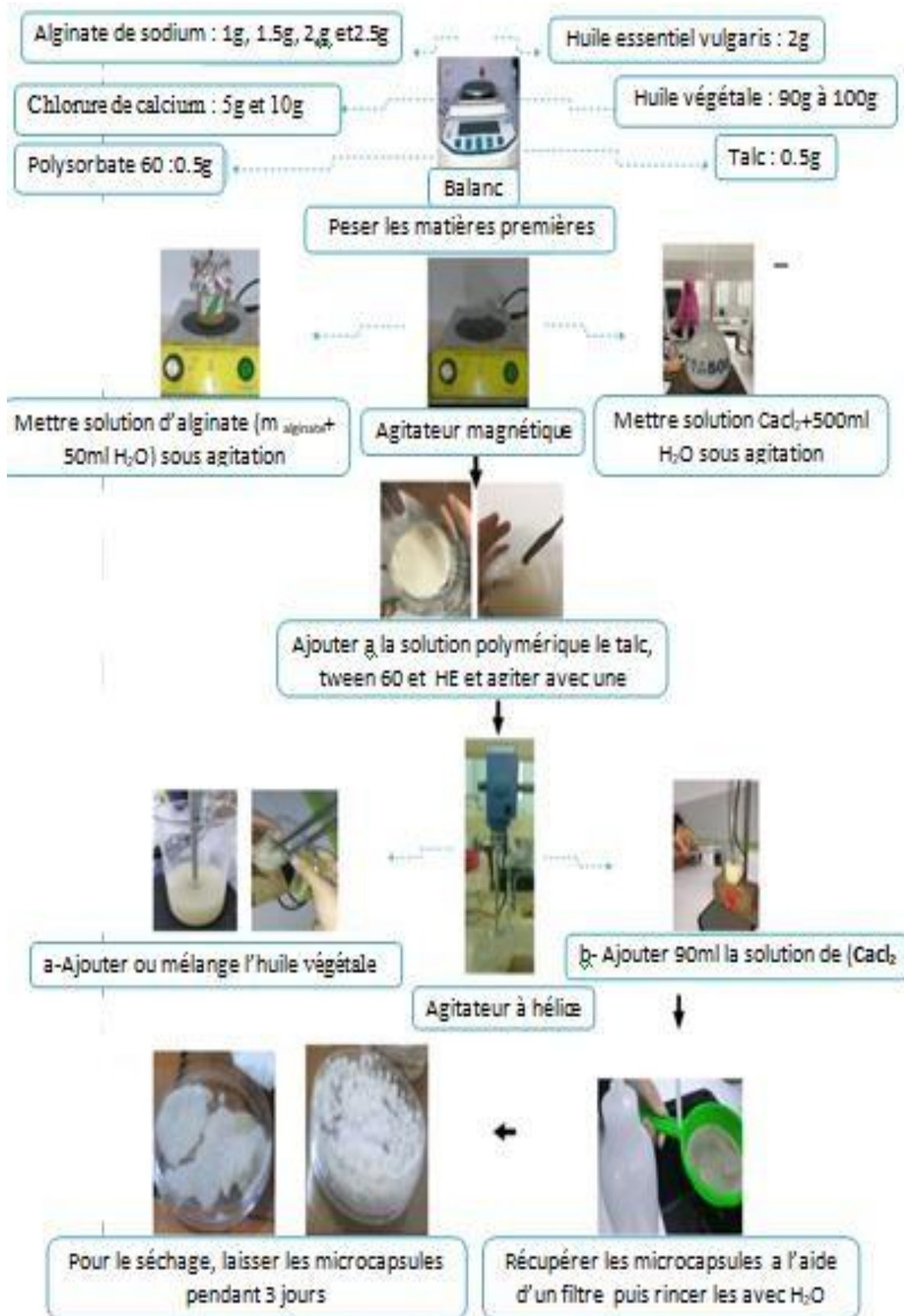


Figure 11: Schéma représentant le procédé de formulation des microcapsules.



### 2.2.2 Procède de préparation de l'émulgel 0,5% et 1% :

La formulation des émulgels 0.5% et 1% est composée de deux préparations, préparation d'une émulsion (H /E ou E/H) et un gel. Dans nos formulations, on a préparé deux émulgel.

**Tableau 14.** Matrice des essais de formulation d'émulgel.

| Quantité en %  | Huile essentielle | Carbopol 940 | Polysorbate 80 | Huile de paraffine | Span 20 | Eau distillé | Propylène glycol |
|----------------|-------------------|--------------|----------------|--------------------|---------|--------------|------------------|
| <b>Essai 1</b> | 0,50%             | 0,50%        | 2,50%          | 4,25%              | 0,75%   | 41,50%       | 2,50%            |
| <b>Essai 2</b> | 0,50%             | 1%           | 2,50%          | 4,25%              | 0.75%   | 41,50%       | 2,50%            |



**Figure12 :** Schéma représentant le procédé de préparation de l'émulgel.

## 2. 3 Méthodes de caractérisation :

### 2.3.1 Caractéristiques de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* :

Les caractéristiques physico-chimiques de l'HE utilisé sont données dans le tableau 8.

#### 2.3.1.1 Identification par spectroscopie infrarouge :

##### ❖ Le principe

La spectrophotométrie infrarouge est un moyen de caractérisation qui nous permet de déterminer et d'identifier la nature des liaisons chimiques et des groupes fonctionnels présents dans nos extraits.

Une pastille de KBR et des échantillons ont été préparés, qui sont ensuite placés dans le support et analysés dans le dispositif IR

#### 2.3.1.2 Caractérisation de l'HE du *Thymus vulgaris* par spectroscopie UV-Visible :

Les échantillons ont été analysés par spectroscopie dans le visible UV.

- **Détermination de la longueur d'onde optimale :** Un balayage dans le domaine UV-Vis a été effectué afin de déterminer la longueur d'onde optimale  $\lambda_{max}$ , correspondant à l'absorption de la molécule DS dans différents milieux de dissolution. Pour la détermination de  $\lambda_{max}$ , Les solutions de DS sont préparées dans les solutions tampon à pH 1,2 et à pH 6.8 à une concentration de 0,1 mg.mL<sup>-1</sup>
- **Détermination de la courbe d'étalonnage :** Les courbes d'étalonnage sont réalisées dans deux solutions tampons différentes qui sont le tampon gastrique pH 1,2 et le tampon intestinal pH 6.8. Les deux courbes d'étalonnage sont réalisées comme suivant :
  - ✓ Mesurer la densité optique (DO) pour chaque concentration à  $\lambda = 275$  nm.
  - ✓ Tracer la courbe d'étalonnage représentant  $DO = f(c)$ .

### 2.3.2 Caractérisations des microparticules

#### 2.3.2.1. Le rendement :

Le rendement représente la quantité de microcapsules récupérées à la fin de procédé de fabrication après séchage des microcapsules, il est calculé par rapport la matière sèche totale initiale PA et biopolymères selon la formule suivante :

$$R (\%) = Ps/Pt \times 100 \dots\dots\dots(2)$$

R: Le rendement en %.

Ps : Le poids des microparticules séchées.

Pt : Le poids total des matières premières.

#### 2.3.2.2 Caractérisation par microscopie :

- Le microscope optique :

La microscopie optique est une technique très utile pour l'étude des émulsions. Elle est un excellent moyen de surveiller la stabilité de ces systèmes pendant le vieillissement. La microscopie optique est une méthode d'analyse courante pour la multiplicité des systèmes, cette méthode donne une idée de la taille des gouttelettes internes, souvent de l'ordre du micromètre.

L'analyse microscopique des microparticules formulées a été réalisée à l'aide d'un microscope optique, l'échantillon est mis entre lame et lamelle et observé au grossissement G : X10 et G : X4.

#### 2.3.2.3 Caractérisation rhéologique :

La rhéologie a été définie comme l'étude de l'écoulement et de la déformation des matériaux. Les objectifs généraux des mesures rhéologiques sont:

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

Deux tests ont été effectués sur les émulsions d'HE , sur les microparticules obtenues après gélification et aussi sur les formulations d'émulgel

▪ **Le test d'écoulement :**

Des courbes d'écoulement ont été déterminées en régime continu sous cisaillement variable, traduisant la viscosité apparente  $\eta_{app}$  (Pas) en fonction de la vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma}$ (s<sup>-1</sup>).

Pour l'obtention de ces courbes, on fait varier la vitesse de cisaillement par pas logarithmique de 0,001 à 1000 s<sup>-1</sup>, avec un nombre de point de mesure de 5 par décade, et un temps de mesure entre deux points successifs variant de 30 à 2s à 20°C.

Ce test rhéologique nous permet de déterminer la viscosité de nos essais et pour cela nous avons utilisé un rhéomètre de marque Anton Paar 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 microparticules et des émulgels 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.

**2.3.2.4. Identification par spectroscopie infrarouge :****2.3.2.5 Étude de libération in vitro :**

L'étude de la libération est destinée à déterminer la vitesse de dissolution des principes actifs à partir des formes pharmaceutiques répondant aux normes de la pharmacopée (67).

Les informations suivantes sont données pour chaque préparation qui est soumise à l'essai de dissolution in vitro :



**Figure 13 .** les microcapsules en disoluteste pendant 30min jusqu'à 6h

**Tableau 15 :** Les conditions du test de dissolution.

| L'appareil utilisé          | Dissolutest ERWEKA |
|-----------------------------|--------------------|
| Le volume                   | 500ml              |
| La température du milieu    | 37±0.5°C           |
| La vitesse de rotation      | 50 tr.min-1        |
| L'intervalle de temps       | 30min-1h           |
| Le volume d'échantillonnage | 5ml                |

❖ **Mode opératoire:**

1. Introduire dans le récipient du test de dissolution le volume de 500ml du milieu de dissolution étudié (Solution tampon pH=1.2 ou Solution phosphorique Ph=6.8) Préparation des solutions tampon en annexe

2. Équilibrez l'appareil Dissolutest à la température  $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$
3. Introduire 0.3g des microparticules dans le dispositif.
4. Mettre l'appareil en marche à  $50 \text{ tr.min}^{-1}$  pendant 6heures.
5. Procédez à des prélèvements de 5mL d'échantillons à des intervalles de temps régulier.
6. Effectuer le dosage sur chacun des échantillons prélevés, par spectroscopie UV-VIS à 275nm.
7. La dissolution des microparticules est réalisée pendant 6h dans le milieu de dissolution pH 1.2 (milieu gastrique), et dans le milieu de pH 6.8 (milieu intestinale).

### **2.3.3 Caractérisations de l'émulgel :**

#### **2.3.3.1 Caractérisation macroscopique :**

Nous avons contrôlé les paramètres suivants : la couleur, la consistance, l'homogénéité et la texture

#### **2.3.3.2 Caractérisation par microscopie**

#### **2.3.3.3 Caractérisation physico-chimiques de l'émulgel :**

##### **▪ Mesure de pH :**

La mesure de pH est nécessaire, elle a été réalisée avec un pH-mètre muni d'une électrode pour produits visqueux. Le pH de l'émulgel en contact de la peau doit se situer à une fourchette allant de 5,5 à 6 car la peau est normalement légèrement acide, ce qui lui permet de développer une protection plus efficace contre les attaques naturelles et permanentes des micro-organismes.

##### **▪ Test de stabilité (centrifugation) :**

L'émulgel est centrifugé à 4000 rpm pendant 8-10 minutes pour vérifier la crémation ou la séparation des phases. Ce test est utilisé pour évaluer la stabilité physique.



**Figure 14 .** L'emulgel ( 1% - 2 % ) centrifuger

#### **2.3.3.4 Caractérisation rhéologique :**

- **Étude du comportement rhéologique:**

La rhéologie a été définie comme l'étude de l'écoulement et de la déformation des matériaux.

Les objectifs généraux des mesures rhéologiques sont:

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





# **Chapitre IV**

## **Résultats et discussions**

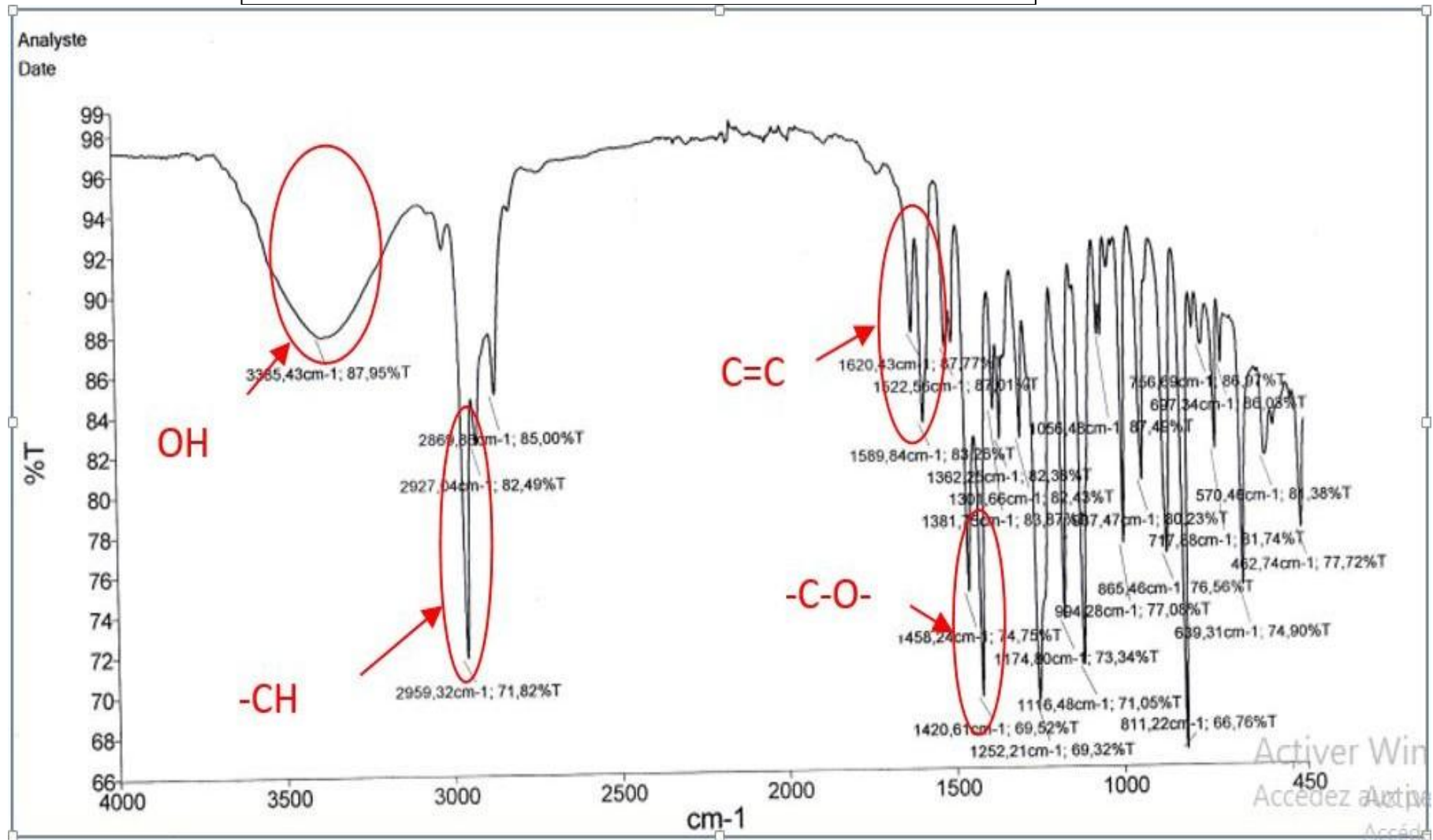
❖ Dans ce chapitre, nous donnerons les résultats obtenus lors des différentes caractérisations (le rendement, la morphologie, la caractérisation par spectrométrie UV-visible et par infra-rouge) et de l'huile essentielle et nos formules.

## **1.1. Résultats de la Caractérisations de l'huile essentielle :**

### **1.1.1 Identification par spectroscopie infrarouge :**

Conformément aux données de la littérature relatives aux modes de vibration des groupements fonctionnels dans l'infrarouge, nous avons attribué les bandes d'adsorption enregistrées aux différentes fonctions existantes .

Figure 15 . Le spectre infrarouge de l'HE de *Thymus vulgaris*

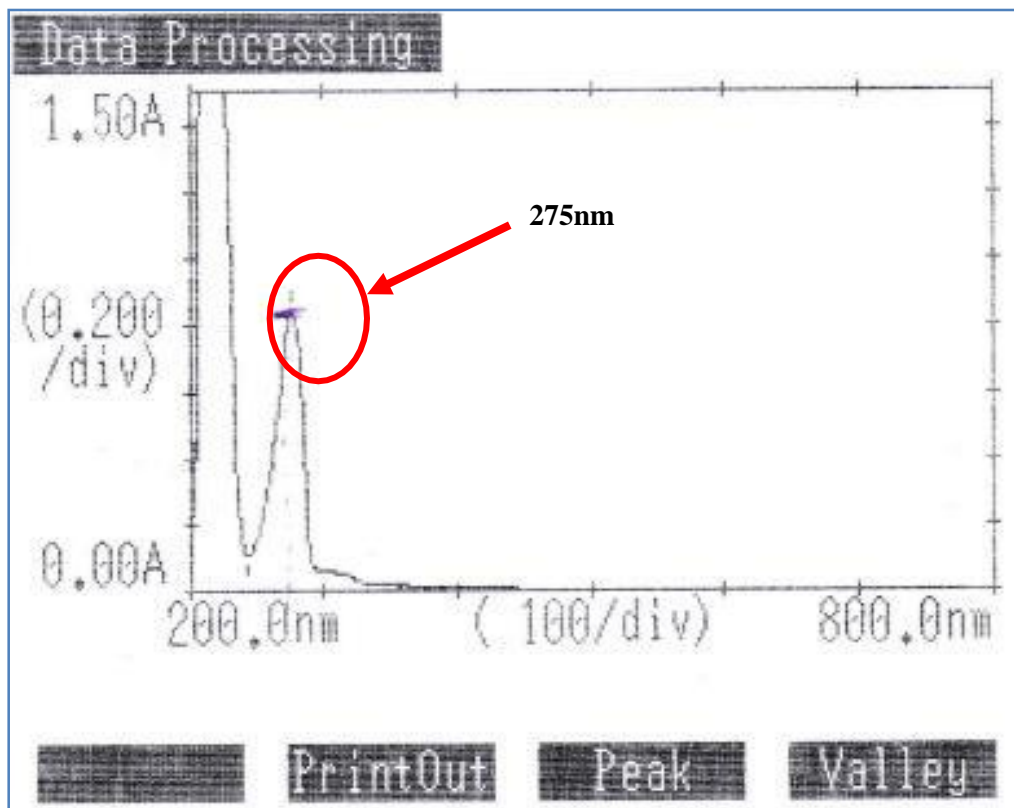


Le spectre de *thymus vulgaris* est présenté sur la figure 15 les bandes caractéristiques sont :

- **3385 cm<sup>-1</sup>** : une large bande caractéristique du groupement OH
- **2959 cm<sup>-1</sup>** : bandes caractéristiques des groupements carboxylates COO<sup>-</sup> symétrique
- **1420cm<sup>-1</sup>** : bande caractéristique des groupements C=C
- **811 cm<sup>-1</sup>** : bande caractéristique d'un composé cyclique

### 1.2.1 Résultats de la Caractérisation de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par spectroscopie UV-Visible :

Un balayage dans le domaine UV-Vis effectué nous a permis de déterminer la longueur d'onde spécifique d'absorption de l'HE dans l'UV-Vis, correspondant au maximum d'absorption enregistré après balayage . Le  $\lambda_{\max}$ , correspondant à l'absorption de l'HE de *Thymus vulgaris* dans différents milieu de dissolution.. Les résultats montrent des pics d'absorptions maximums définissant une longueur d'onde  $\lambda_{\max}$ = 275 nm (Figur13)



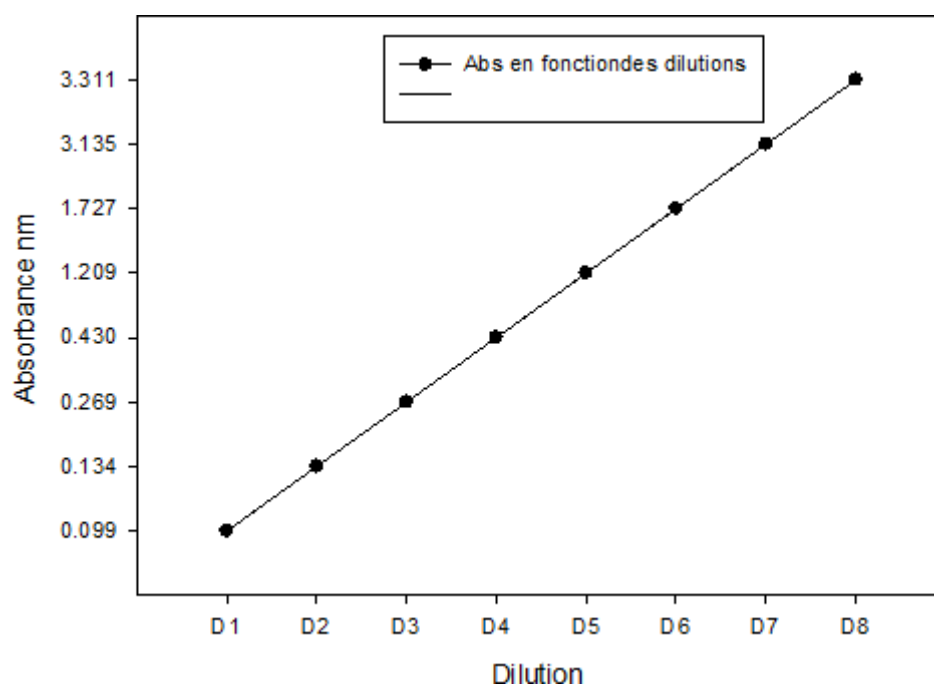
**Figure 16.** Spectre d'absorption de l'HE de *Thymus vulgaris* dans l'UV-Vis

**Tableau 16.** Le dosage de huile essentiel *Thymus vulgaris*

| Dilution   | D1    | D2    | D3    | D4    | D5    | D6    | D7    | D8    |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbance | 3.311 | 3.135 | 1.727 | 1.209 | 0.430 | 0.269 | 0.134 | 0.099 |

▪ **Détermination de la courbe d'étalonnage :**

-Les résultats sont représentés dans la :



**Figure 17 .** Courbe détalonnage de *Thymus vulgaris* en fonction de la concentration.

### 1.1.3 Résultats de l'évaluation de l'activité anti-oxydante de l'HE par le radical DPPH :

L'activité anti oxydante de *Thymus vulgaris* vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie UV-Visible, en suivant la réduction de ce radical par différente concentration de l'huile essentielle par son passage de la couleur violette à la couleur jaune (figure 18) mesurable à 515 nm.



**Figure 18 .** Variation de la couleur de DPPH à différentes concentrations de *Thymus vulgaris*.

#### ▪ Calcul du Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH

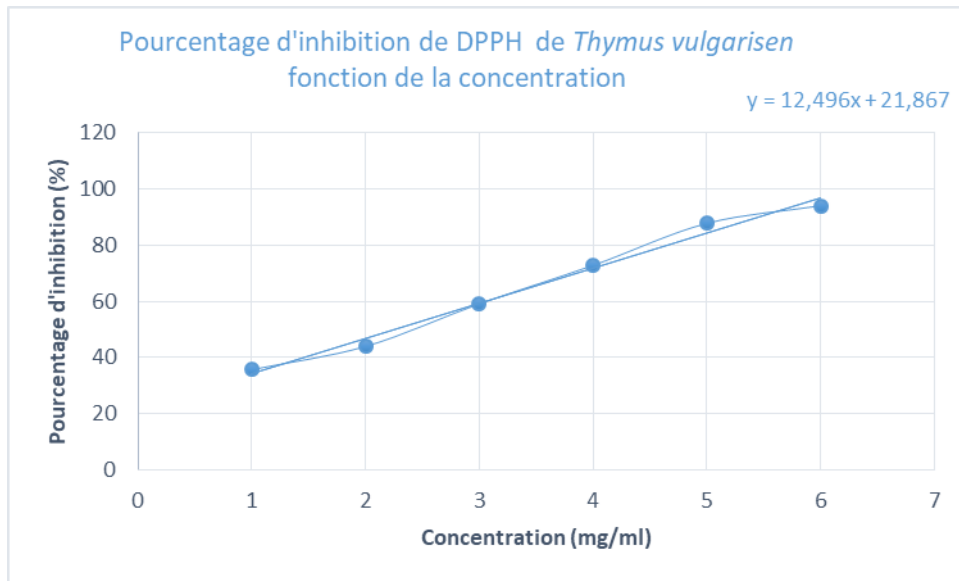
Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est calculé à l'aide de cette formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = (\text{Abs c} - \text{Abs e} / \text{Abs c}) \times 100 \dots\dots (1)$$

**Abs c :** Absorbance du control négatif après 25 min d'incubation.

**Abs e :** Absorbance de l'échantillon après 25 min d'incubation.

Le tableau ci-dessous représente Le pourcentage de réduction du DPPH en fonction des concentrations



**Figure 19.** Pourcentage d'inhibition de DPPH de *Thymus vulgaris* en fonction de la concentration.

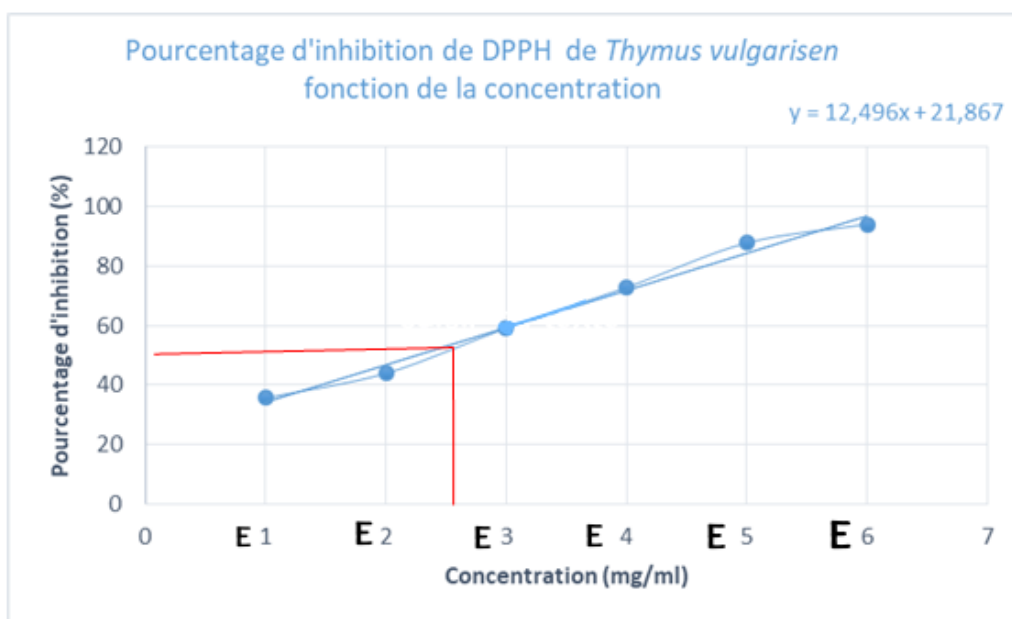
▪ **Détermination d'IC50 :**

La concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical libre DPPH ou IC50 a été déterminée à partir des équations des régressions linéaires de graphe

La valeur d'IC50 est représentée dans le tableau suivant :

**Tableau 17 :** la valeur d'IC50 de *Thymus vulgaris*

| Echantillon | <i>Thymus vulgaris</i> |
|-------------|------------------------|
| IC50        | 0.24 mg/ml             |



**Figure 20.** Détermination d'IC50 de *Thymus vulgaris*

- L'évaluation de l'activité anti-oxydante de *Thymus vulgaris* par la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que cette huile essentielle présente une activité anti-oxydante remarquable vis à vis du radical DPPH avec une IC50 de 0,24 µg/ml. Cette activité augmente avec l'élévation des concentrations de l'huile essentielle (dose dépendante).

#### 1.1.4 Résultats de l'activité anti-microbienne :

##### •Commentaire :

- Il s'est avéré qu'aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée vis-à-vis de aspergillus Escherichia coli. Ces bactérie possède un potentiel de résistance très élevé visa vis de l'huile essentielle.

#### 1.2 Résultats de Caractérisation des formulations :

##### 1.2.2 Résultats de la caractérisation des microparticules :

##### ▪ Détermination du rendement d'encapsulation :

Le pourcentage de rendement de chaque formulation a été calculé par la formulation suivante :

$$R (\%) = \frac{P_s}{P_t} \times 100$$

R: Le rendement en % ..... (2)

Ps : Le poids des microparticules séchées.

Pt : Le poids total des matières premières.

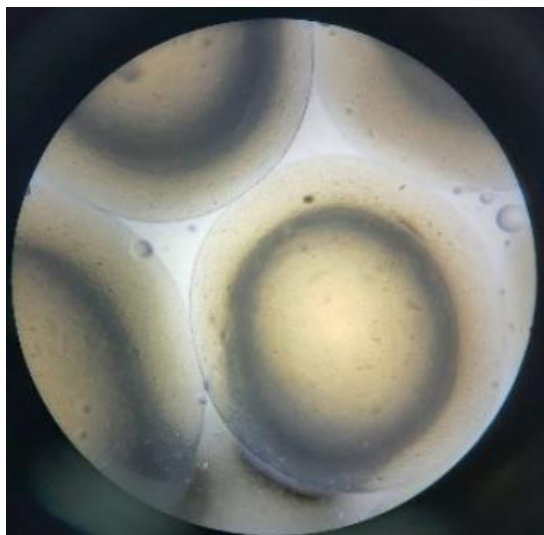
**Tableau 18 :** Le pourcentage du rendement pour chaque formulation.

| Formulation | $Q_{seche}$ | $Q_{totale}$ | R % |
|-------------|-------------|--------------|-----|
| F1 (2%)     | 2.40g       | 6.46g        | 63% |
| F2 (3%)     | 2.78g       | 6.83g        | 59% |
| F3 (4%)     | 2.95g       | 7g           | 58% |
| F4 (5%)     | 2.60g       | 6.65g        | 62% |
| F5 (6%)     | 2.58        | 6.63g        | 61% |

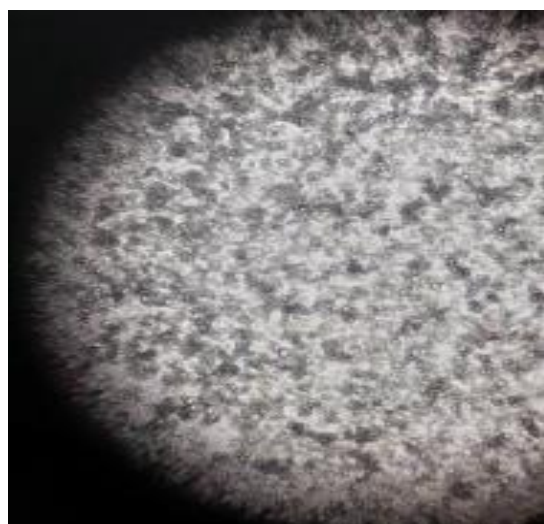


Au vue de ces résultats on remarque que les rendements d'encapsulation sont compris entre 58 et 63 % ce qui parait intéressant comparé aux résultats des études antérieurs sont élevés.

### 1.2.3 Caractérisation par microscopie optique :

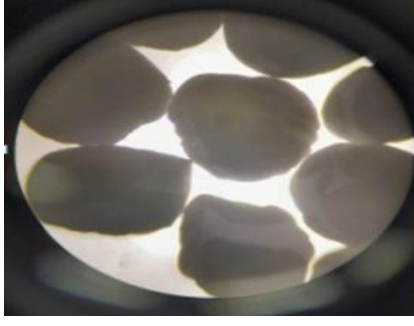
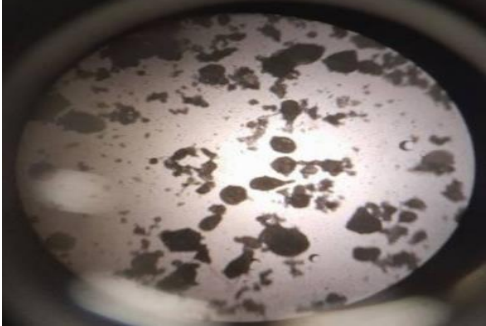

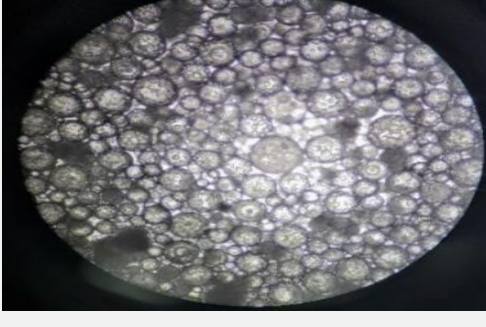


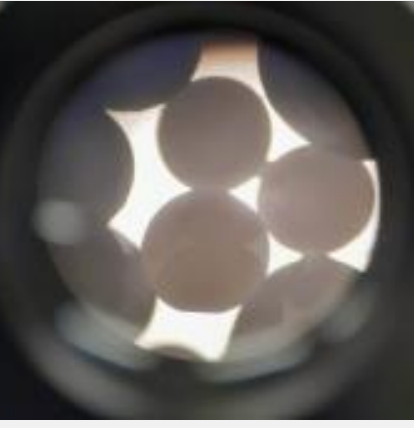
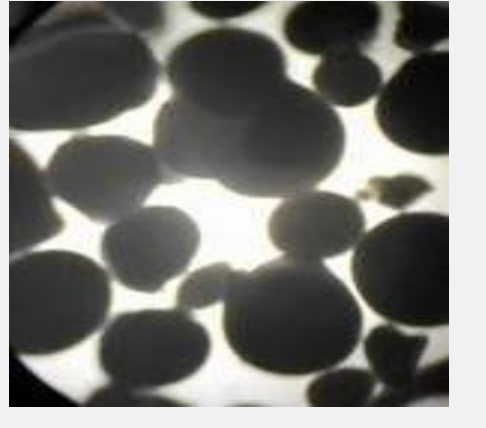


**Figure 21.** La solution polymérique 3% dans l'eau ce microscope G\*10


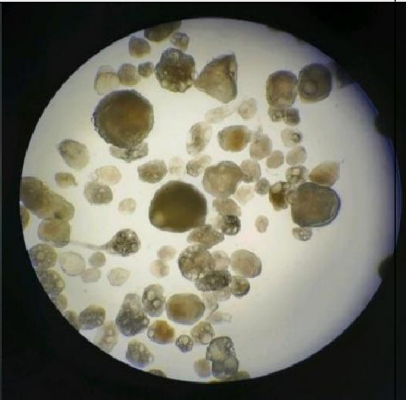
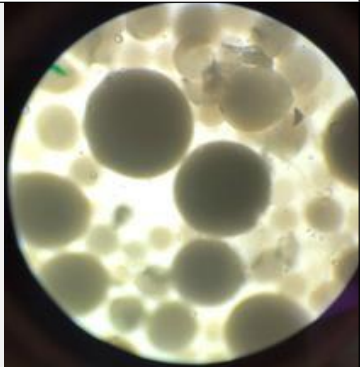
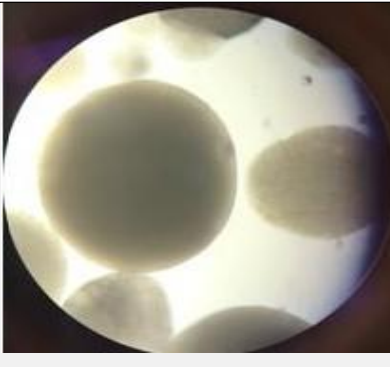
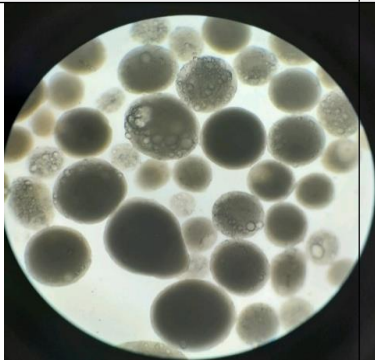
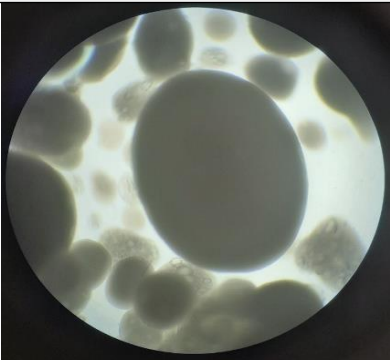

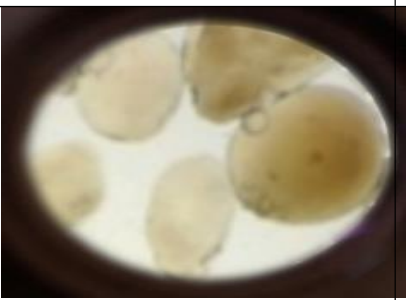


**Figure 22.** la dispersion de HET dans L'émulsion (essai préliminaire 3% ) ce microscope G\*40

**Tableau 19** .les microparticules formés par méthode direct et indirect ce microscope optique

| La formulation | Les figures   |  |
|----------------|---|--|
|                | Méthode direct G*4  | Méthode indirect G* 4  |
| $F_1 (3\%)^1$  |    |    |
| $F_2 (3\%)^2$  |   |   |
| $F_3 (5\%)^1$  |  |  |
| $F_4 (5\%)^2$  |  |  |

**Tableau 20 .** Les microparticules formés méthode indirect ce microscope optique :

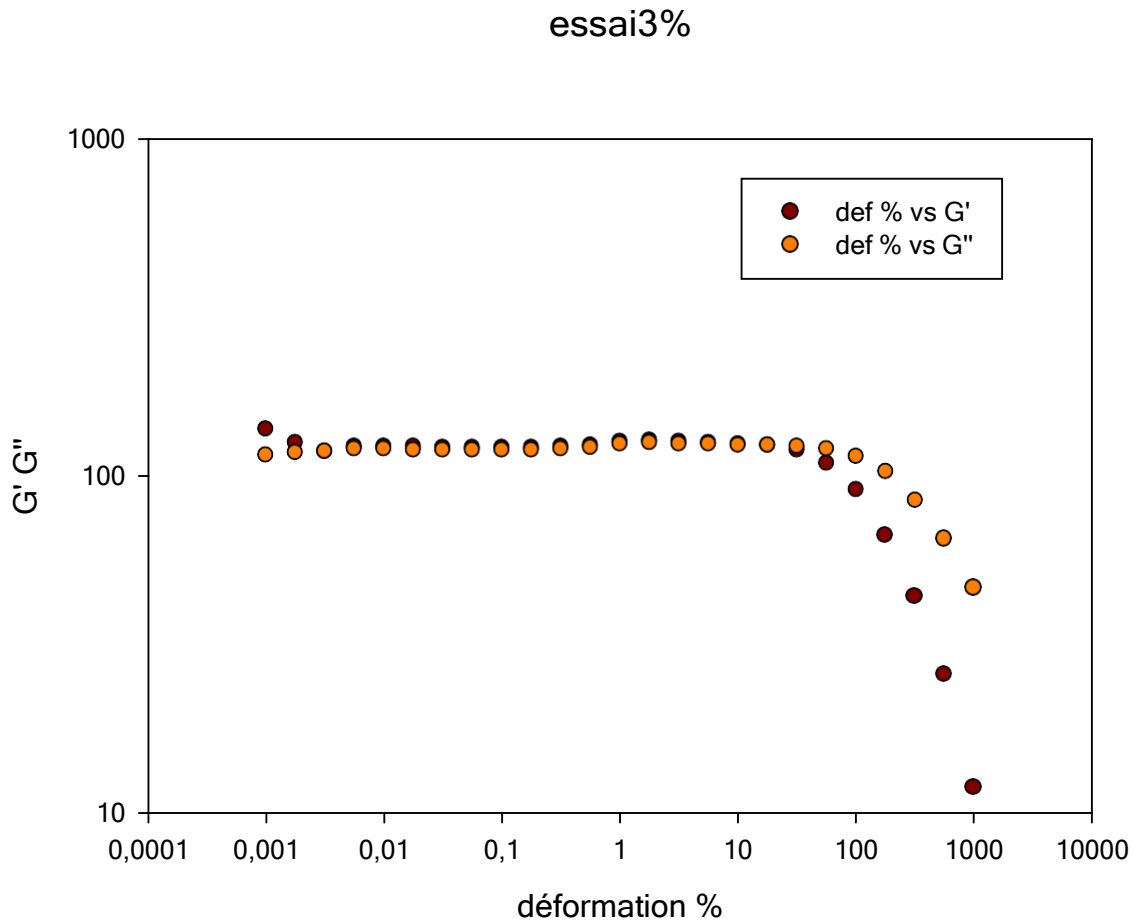
| La formulation               | Les Figures   |  | Description   |
|------------------------------|---|--|---|
|                              | Grossissement *4  | Grossissement *10  |   |
| <b><math>F_1</math> (2%)</b> |    |    | Microparticul<br>e sphérique<br>de taille plus<br>ou homogène |
| <b><math>F_2</math> (3%)</b> |   |   | Microparticul<br>e sphérique<br>de taille plus<br>ou homogène |
| <b><math>F_3</math> (4%)</b> |  |  | Microparticul<br>e sphérique<br>de taille plus<br>ou homogène |
| <b><math>F_4</math> (5%)</b> |  |  | Microparticul<br>e sphérique<br>de taille plus<br>ou homogène |

### 1.2.3 Caractérisation rhéologique des microparticules :

❖ **caractérisation des émulsions d'HE :**

▪ **Test de viscoélasticité :**

Nous représentons ci-joint un graphe caractéristique du test de viscoélasticité d'un essai type



**Figure 23** .Courbe de viscoélasticité d'un essai type 3%

• **Commentaire :**

L'évolution des deux modules de conservation  $G'$  et de perte  $G''$  en fonction de la déformation de cisaillement est illustrée dans la (figure ). Aux faibles déformations, on remarque bien que les deux modules sont constants, ce qui correspond au domaine de la viscoélasticité linéaire, appelé, LinearVisco-ElasticRange ,LVE range. Dans ce domaine, le comportement des microsphères est viscoélastique et les déformations enregistrées sont récupérables.. Lorsque la déformation dépasse une certaine valeur, on remarque que  $G'$  diminue et intercepte  $G''$  au point de gel. A ce stade le comportement s'inverse et devient

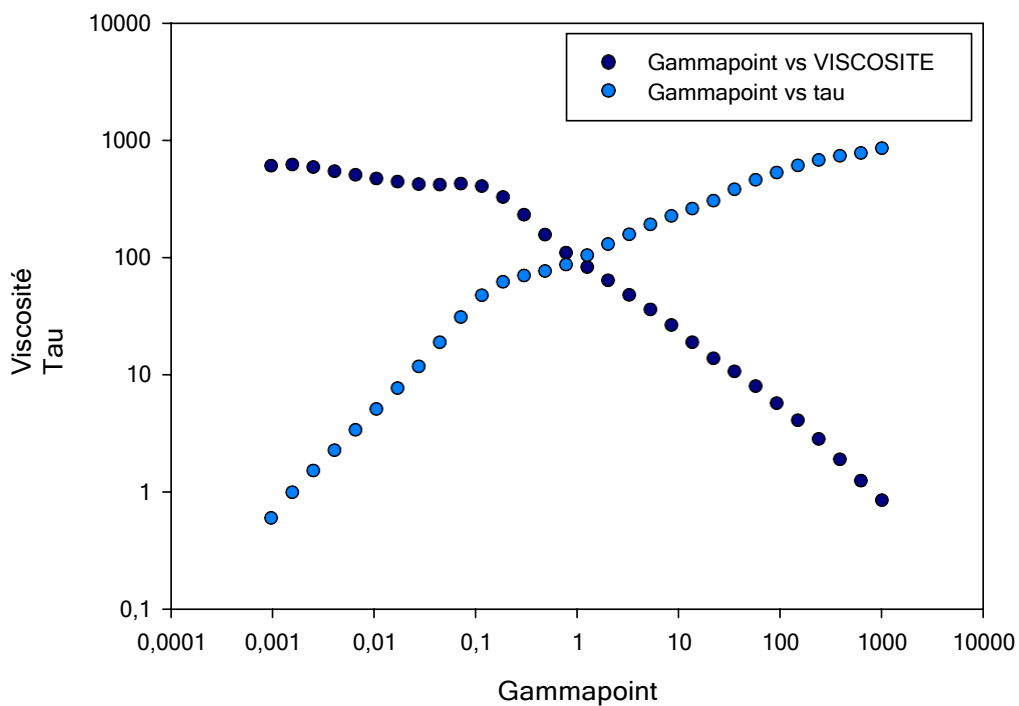
celui d'un liquide plastique, auquel cas, les déformations ne sont plus réversibles.

Les valeurs du module de conservation  $G'$  et le module de perte  $G''$  des autres essais sont représenté dans le tableau ci-joint

**Tableau 21.** Valeur de  $G'$  et  $G''$  des essais

| Formulations | $G'$ (%) | $G''$ Pas |
|--------------|----------|-----------|
| F1           | 10       | 1.76      |
| F2           | 10       | 1.23      |
| F3           | 1        | 7,22      |
| F4           | 31,6     | 2,45      |

variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement



**Figure 24 .** Courbe d'écoulement D'un assai type ( 2%)

• **Commentaire :**

La figure montre comment varie la viscosité apparente de l'émulsion d'HE en fonction de la vitesse de cisaillement. On peut remarquer la présence de deux zones :

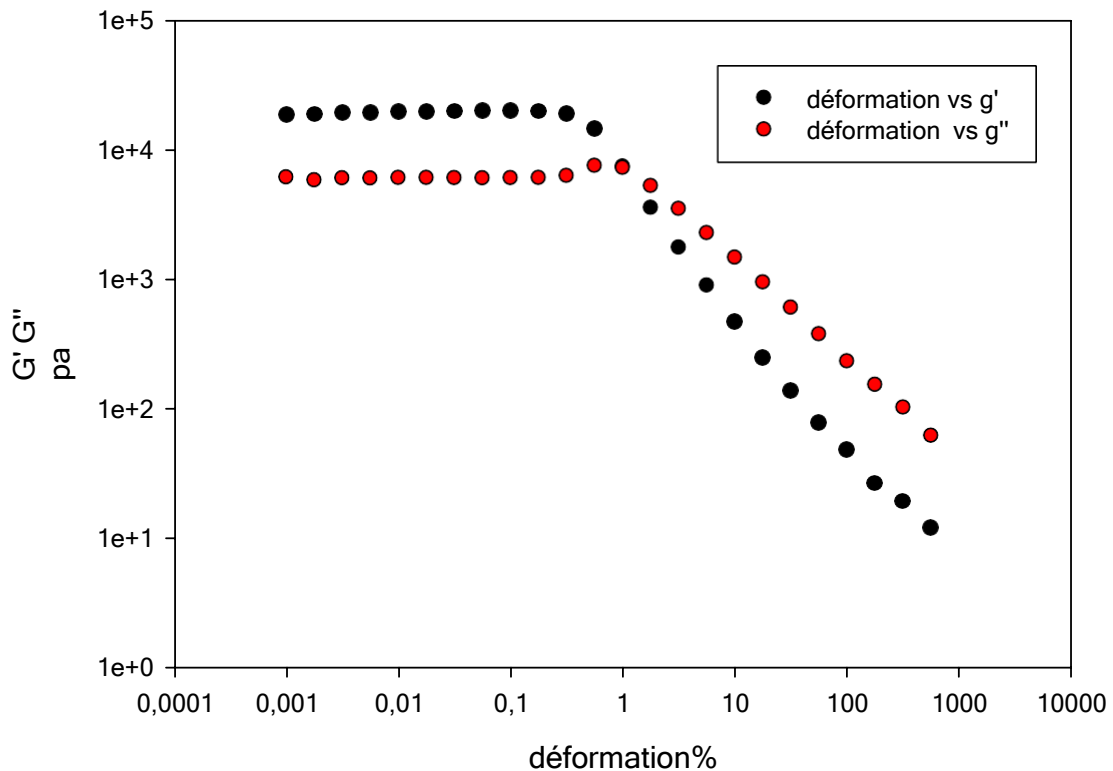
- ✓ Aux très faibles cisaillements, la viscosité enregistre un petit plateau qui suggère un comportement liquide newtonien. La viscosité de ce palier est dite viscosité au taux de cisaillement nul (zero shear viscosity).
- ✓ Au-delà d'une certaine valeur de cisaillement critique, on remarque que la viscosité commence à chuter progressivement, ce qui correspond au comportement d'un fluide rhéofluidifiant. Le paramètre caractéristique de cette zone est la vitesse de cisaillement critique, dénoté  $\dot{\gamma}$ .

**1.2.3 Résultats de la caractérisation rhéologique des microparticules :**

❖ **caractérisation des émulsions d'HE :**

▪ **Test de viscoélasticité :**

Test de viscoélasticité des microparticules d'un essai type



**Figure 25 .** Courbe de viscoélasticité des microparticules d'un essai type (2%)

**Tableau 22.** Les valeurs de la viscoélasticité

| Les formulations | G' (%) | G'' Pas |
|------------------|--------|---------|
| F1               | 10     | 1,47    |
| F2               | 9,98   | 3,29    |
| F3               | 9,97   | 4,96    |
| F4               | 5,62   | 6,27    |

#### 1.2.4 Résultats par spectroscopie infrarouge :

La spectroscopie infrarouge a été appliquée pour la caractérisation de :

- L'alginate de sodium
- Les quatre formulations

##### 1/-Spectre IR de L'alginate de sodium :

- Le spectre d'alginate est présenté sur la figure 26 les bandes caractéristiques sont :
  - **3257 cm<sup>-1</sup>** : une large bande caractéristique du groupement OH
  - **1597 cm<sup>-1</sup>** : bandes caractéristiques des groupements carboxylate COO<sup>-</sup> asymétrique
  - **1407 cm<sup>-1</sup>** : bandes caractéristiques des groupements carboxylates COO<sup>-</sup> symétrique
  - **1025 cm<sup>-1</sup>** : bande caractéristique des groupements C-O-C
  - **947 cm<sup>-1</sup>** : bande caractéristique d'un composé cyclique

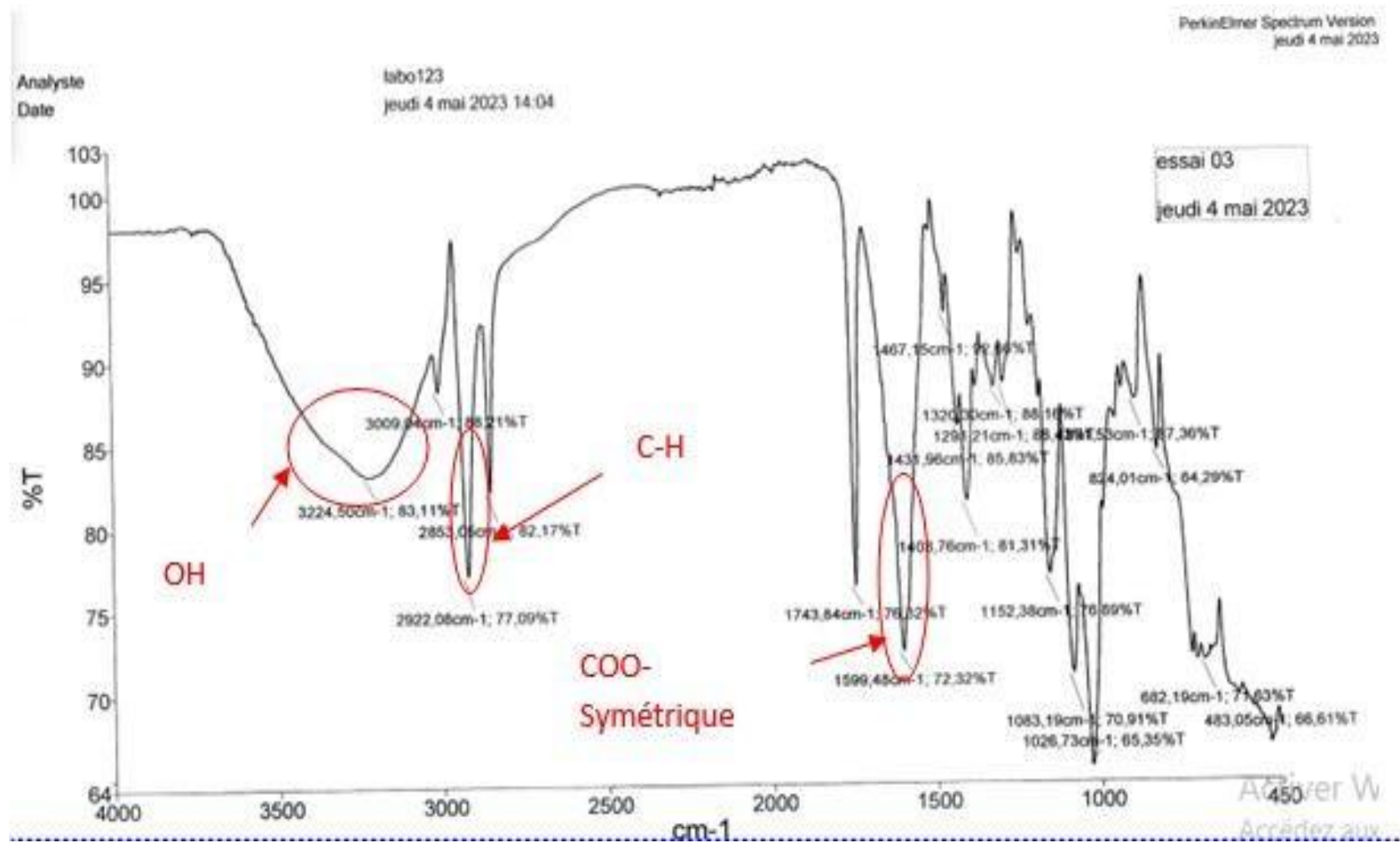


Figure 26. Le spectre infrarouge de l'alginate de sodium.



2/-Spectre IR-TF des microparticules :

- Les figures ci-dessous représentent le spectre I

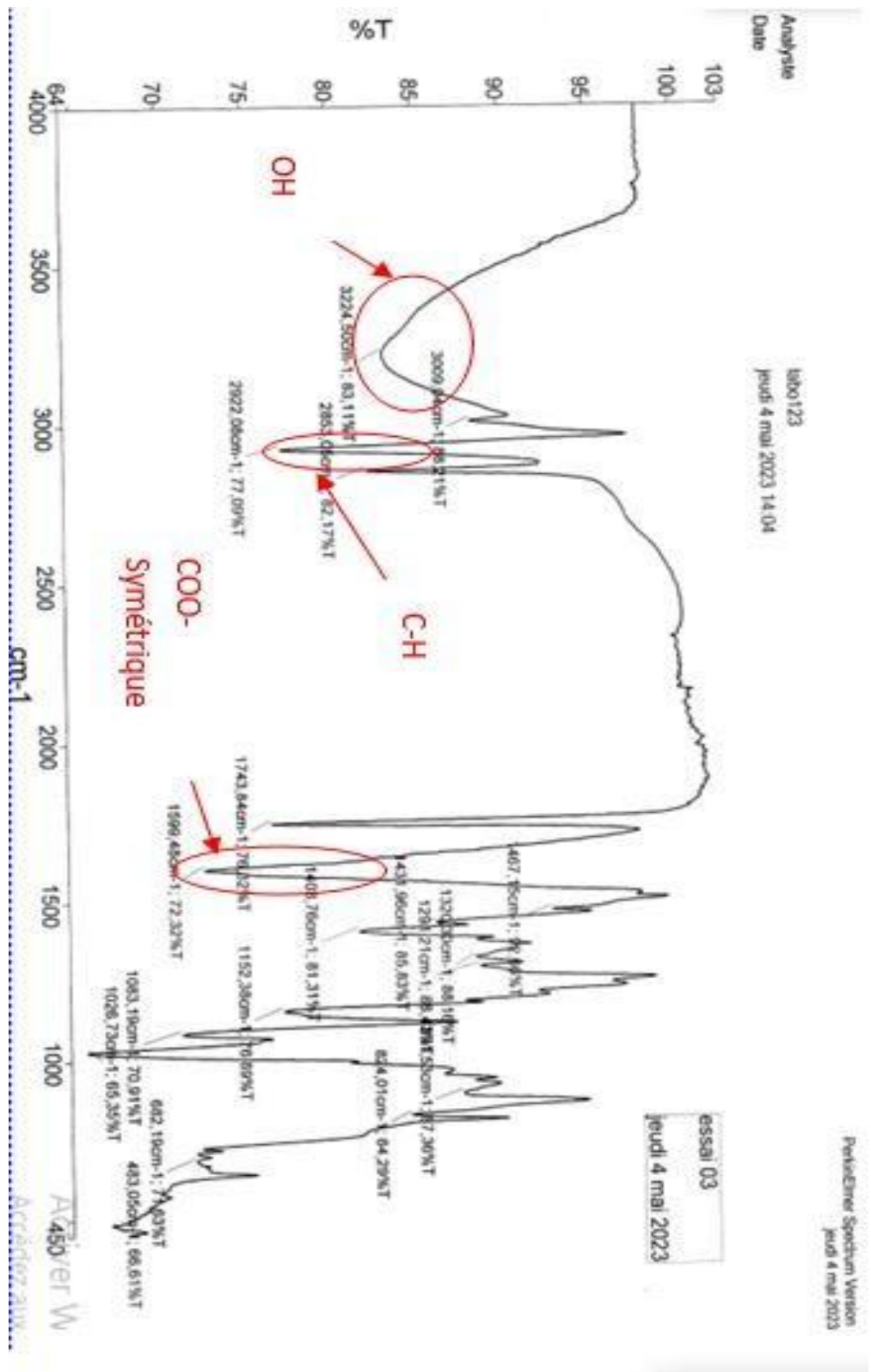
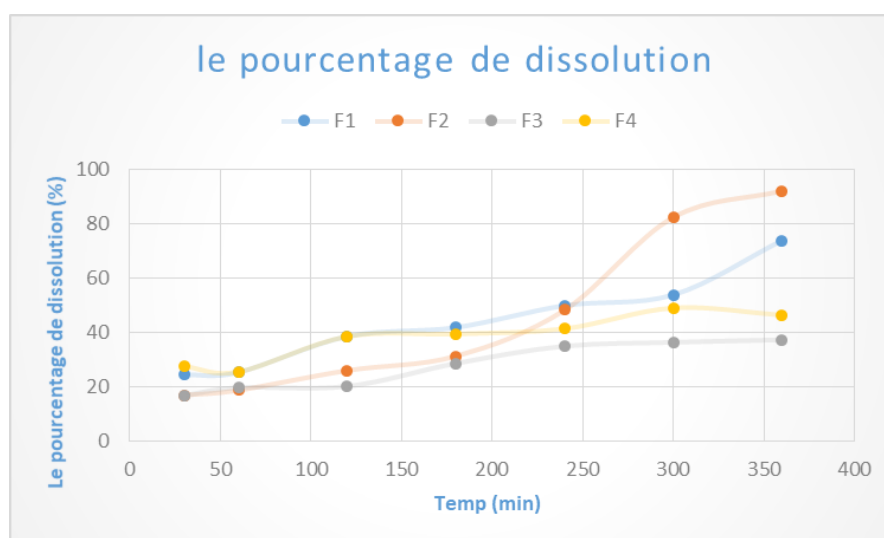


Figure 27. Spectre IR des Microparticules de la formule 4 entre 450 et 4000 cm-1

- En comparant les spectres IR de *Thymus vulgaris* à celui des microparticules, nous remarquons l'apparition de toutes les bandes qui sont déjà apparues dans le spectre IR de *Thymus vulgaris*. Donc il n'y a pas de modification de la structure suite à une interaction. Il y a apparition des bandes correspondantes à l'alginate de sodium situées à 3257 cm<sup>-1</sup>, 1597 cm<sup>-1</sup> et 1407 cm<sup>-1</sup>. [60]

### 1.2.5 Etude de libération in vitro :

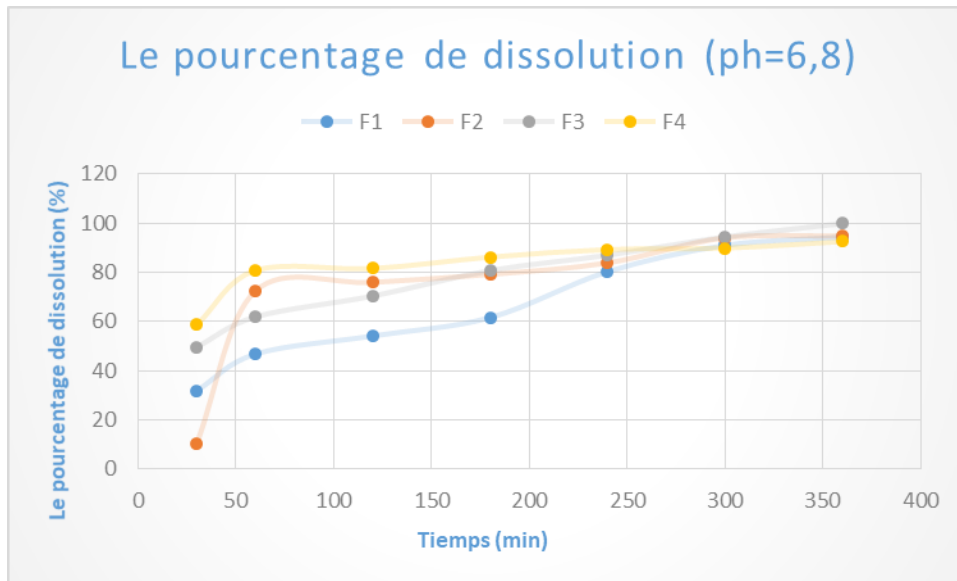
Les figures suivantes représentent le pourcentage de dissolution des quatre formules dans **Ph=1,2** et **Ph=6,8**



**Figure 28 .** Le pourcentage de dissolution des formulations à ph 1.2.

- **Commentaire :**

A ph 1.2 la libération de l'HE à partir des microparticules est faible (Inférieur à 25% à la première heure) et ce raison de l'insolubilité de la matrice dans ce milieu.



**Figure 29** Le pourcentage de dissolution 6.8

• **Commentaire :**

A partir des résultats obtenus, le profil de dissolution essais obtenus présente un caractère ralenti qui se prolonge sur 4H ceci démontre le type à libération prolongée de l'HE à partir des formulations réalisées.

**1.3 Résulta Caractérisations de l'émulgel :**

**1.3.1 Caractérisation macroscopique :**

- ✓ Aspect et couleur : La figure ci-dessous confirme que la préparation possède un aspect homogène et de couleur blanche caractérisé et d'un étalement facile.



**Figure 30 .** Emulgel à base de l'HE de *Thymus vulgaris* 0.5%.

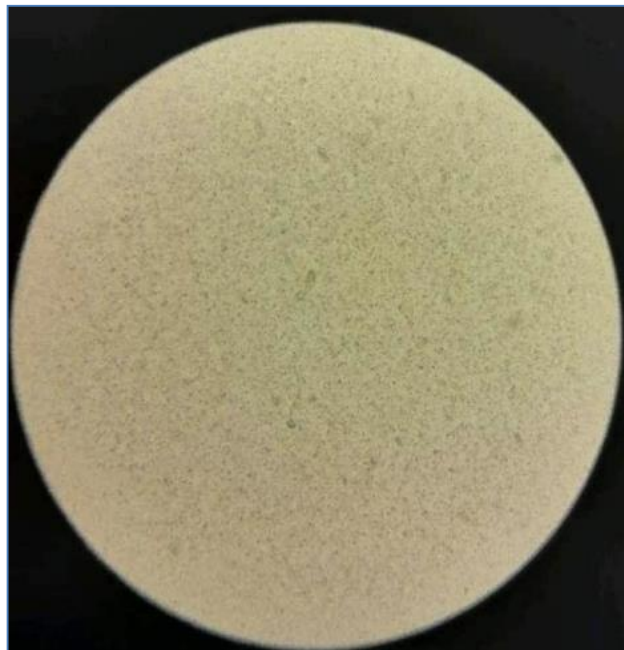
✓ Odeur : La préparation d'émulgel a une odeur caractéristique de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*.

### 1.2.3 Résulta Caractérisation microscopique :

▪ **Microscope Optique** : Les deux émulgels a examiné sous un microscope à lumière pour étudier la structure globulaire de la base du gel, ils sont dilués de manière appropriée et examiner au microscope optique avec un grossissement de 4 et 10.



**Figure 31.** Grossissement  $\times 4$



**Figure 32 .** Grossissement  $\times 1$

- Les photos microscopiques démontrent un aspect homogène avec des globules de l'HE très petits, de forme régulière dispersés de façon homogène .

### 1.3.3 Résultats Caractérisation physico-chimiques

#### ▪ Mesure de pH :

Les deux formules de l'émulgel préparés à base de *Thymus vulgaris* possèdent un pH de 5.807 et 5.709 conformes aux normes établies par les recommandations relatives aux préparations semi solides (pH = 5.5-6.5).



**Figure 33.** Mesurer le **PH** pour les deux formules de l'émulgel préparés à base de *Thymus vulgaris*

#### ▪ Evaluation de la stabilité :

Centrifugation : L'observation visuelle indique que les deux préparations sont stables (pas de séparation des phases) avec une couleur homogène comme est montré dans la figure 34 ci- dessous.



**Avant**

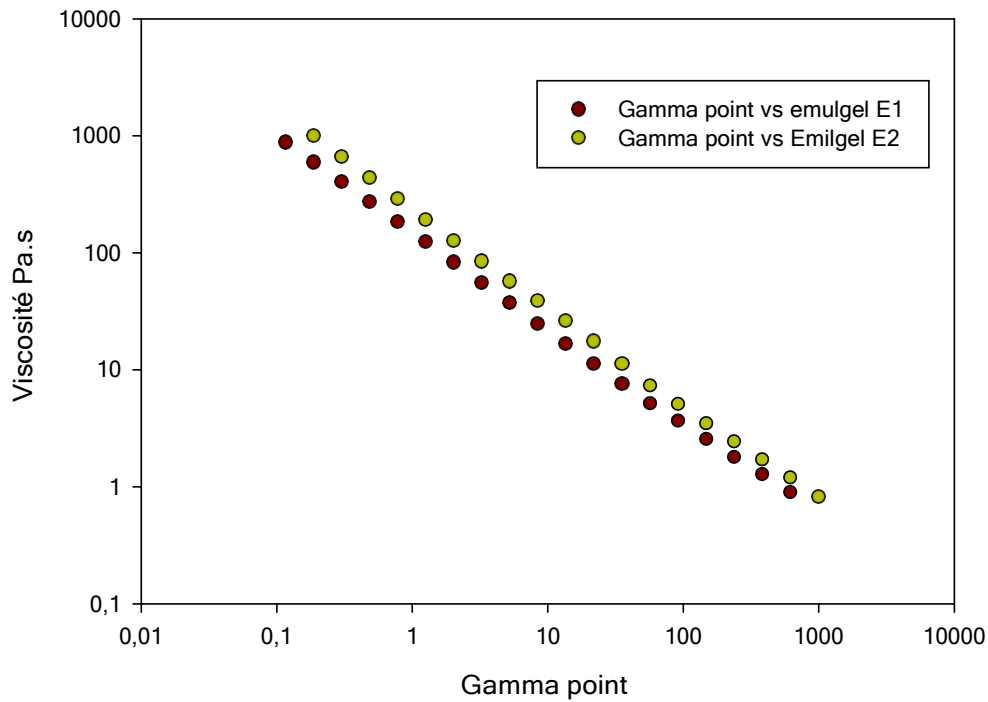


**Après**

**Figure 34.** Résultat de test de centrifugation des deux formules de l'émulgel 1%-2% respectivement.

### 1.3.4 Résulta Caractérisation rhéologique :

Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement



**Figure 35** . courbe de la viscoélasticité des émulgels

• **Commentaire :**

La figure montre la variation de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement des deux essais emulgel réalisés. On remarque qu'on a un seul tronçon, au-delà d'une certaine valeur de cisaillement critique, on remarque que la viscosité commence à chuter progressivement ce qui correspond au comportement d'un fluide rhéofluidifiant, et ce pour les deux essais , avec une viscosité plus importante pour l'essai 2 pour lequel la concentration de l'agent gélifiant (CARBOPOL) est plus importante .



## Conclusion Générale

---

De nos jours, le monde industriel et plus précisément l'industrie pharmaceutique, porte un intérêt particulier sur la résolution des problèmes liés à la stabilité, l'efficacité, l'administration, le contrôle de la vitesse et le site de libération des matières actives dans les différentes formes galéniques. La microencapsulation connaît donc un essor important dans ce domaine, où elle trouve de nombreuses applications et répond à pas mal de difficultés.

Le développement d'un procédé d'encapsulation requiert une démarche complexe qui consiste à choisir son type, définir les matières premières utilisables, étudier leurs compositions et les paramètres opératoires à exécuter.

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie présente un grand intérêt dans la recherche biomédicale. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. Ces plantes possèdent des composés qui ont des propriétés anti inflammatoires et anti oxydante.

Dans ce contexte, l'activité antioxydante, antimicrobienne et antifongique de l'huile essentielle *Thymus vulgaris*, les tests physico-chimiques, organoleptiques, les comportements rhéologiques ont été évalués.

Les spectres d'IRTF des différentes formulations enregistrés mettant en évidence la présence d'une substance aromatique, la fonction hydroxyle.

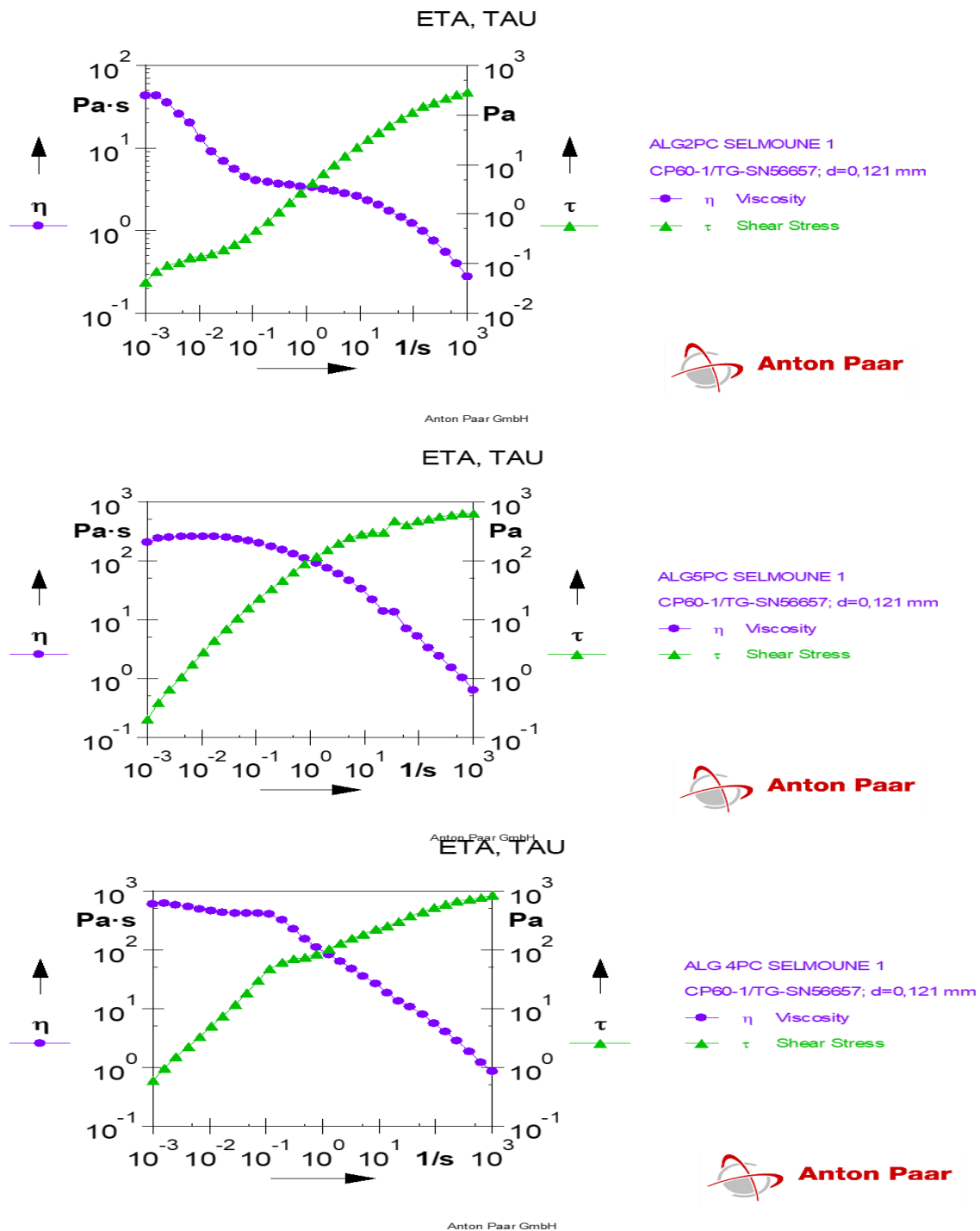
La formulation d'émulgel à base de *Thymus vulgaris* répond aux tests organoleptiques et physico-chimiques.

La recherche de l'activité antioxydante, antimicrobienne et antifongique a montré que l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* ainsi que l'émulgel possèdent une activité antioxydante, antimicrobienne et antifongique.



# **Annexe**

**Annexe 1 : Courbes d'écoulement des différents essais de solution polymériques réalisées.**



**Figure 1. Courbes d'écoulement des solutions polymérique à T= 20°C**

## Annexe 1 : Courbes des viscoplasticités des différentes formulations de réalisées.

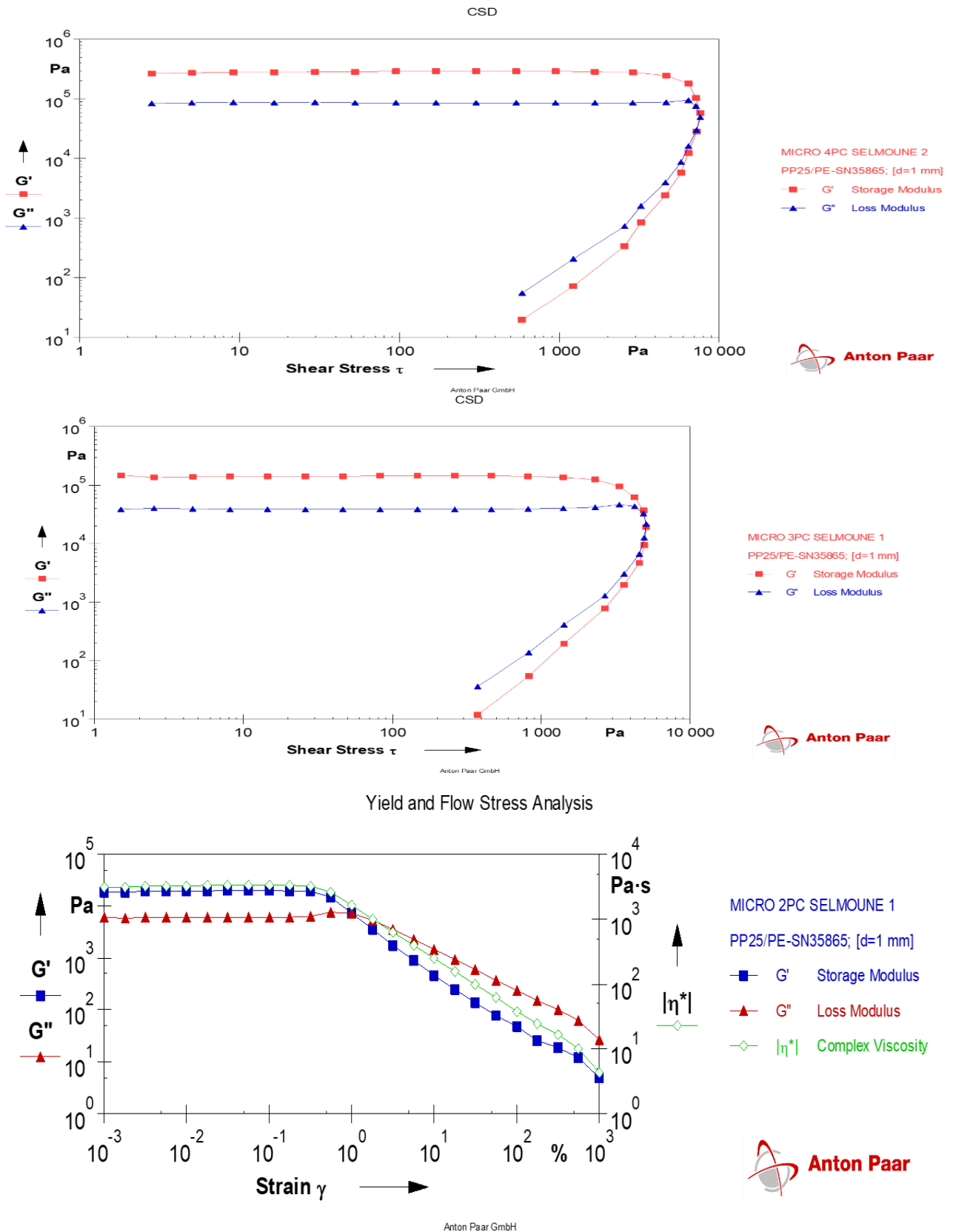
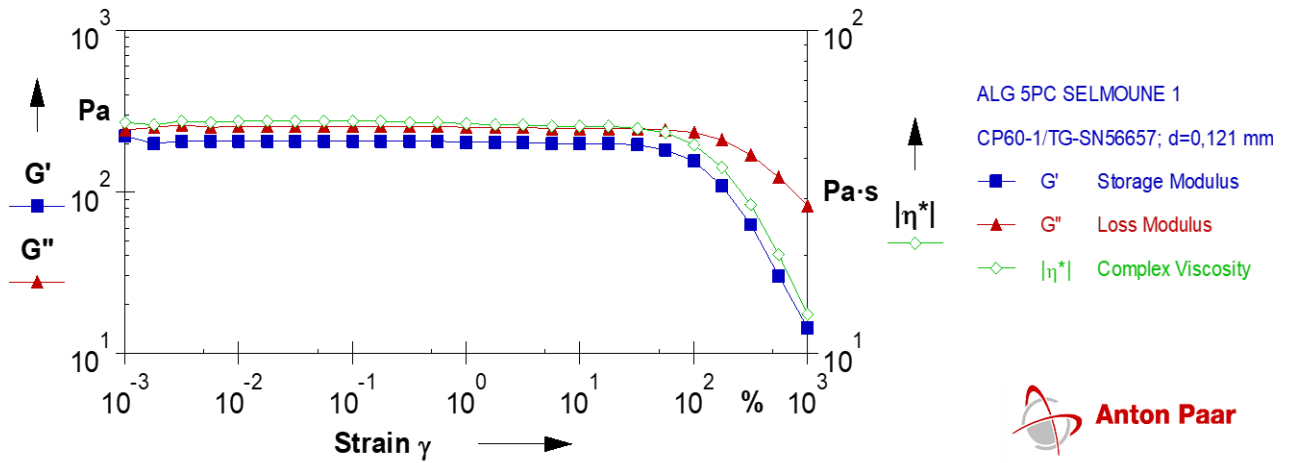


Figure 2: Courbes de viscoélasticités des différentes formulations des microparticules.

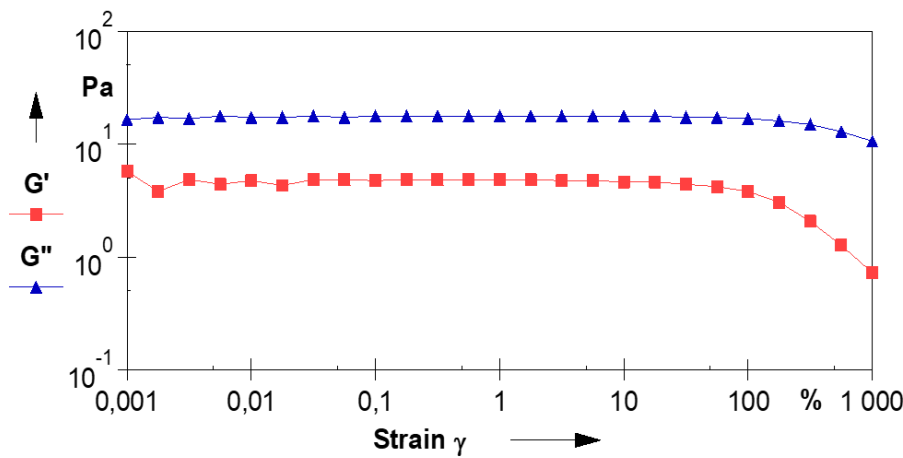
## Annexe 2 : Courbes des viscoplasticités des différents essais de solution polymériques réalisées.

Yield and Flow Stress Analysis



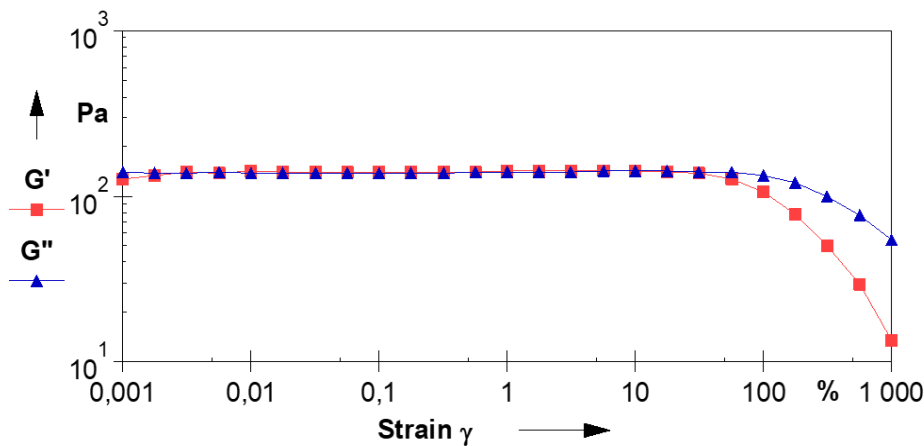
Anton Paar GmbH

CSD

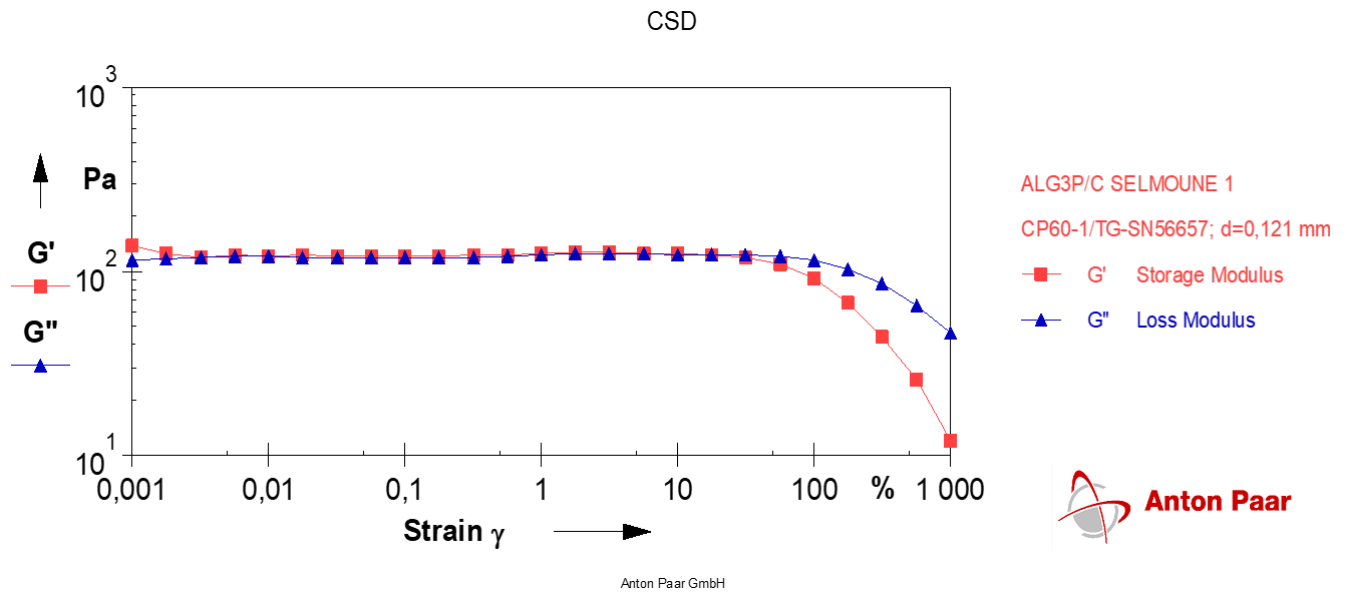


Anton Paar GmbH

CSD

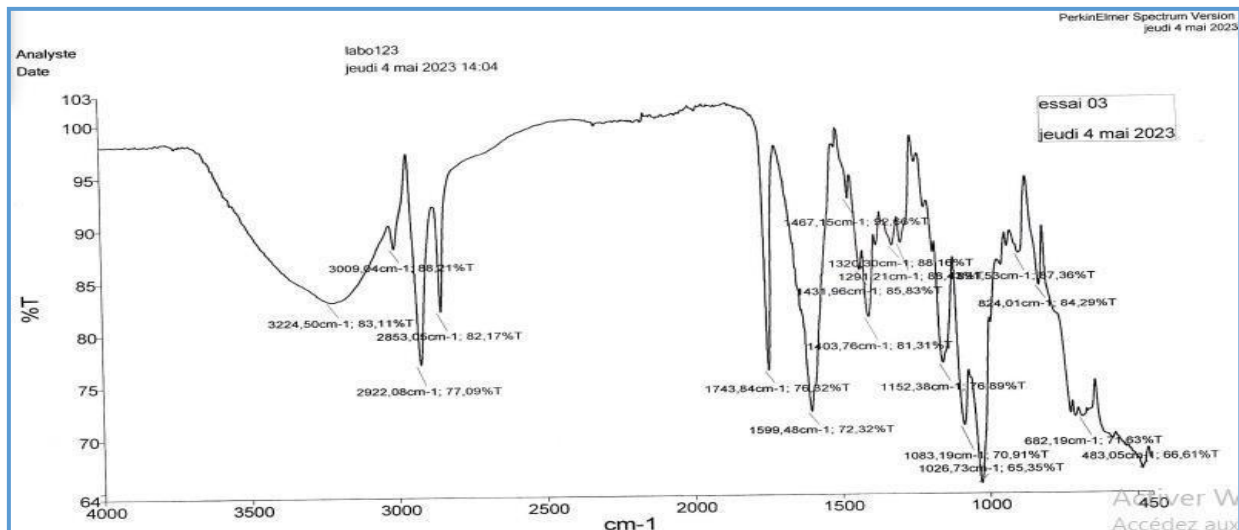
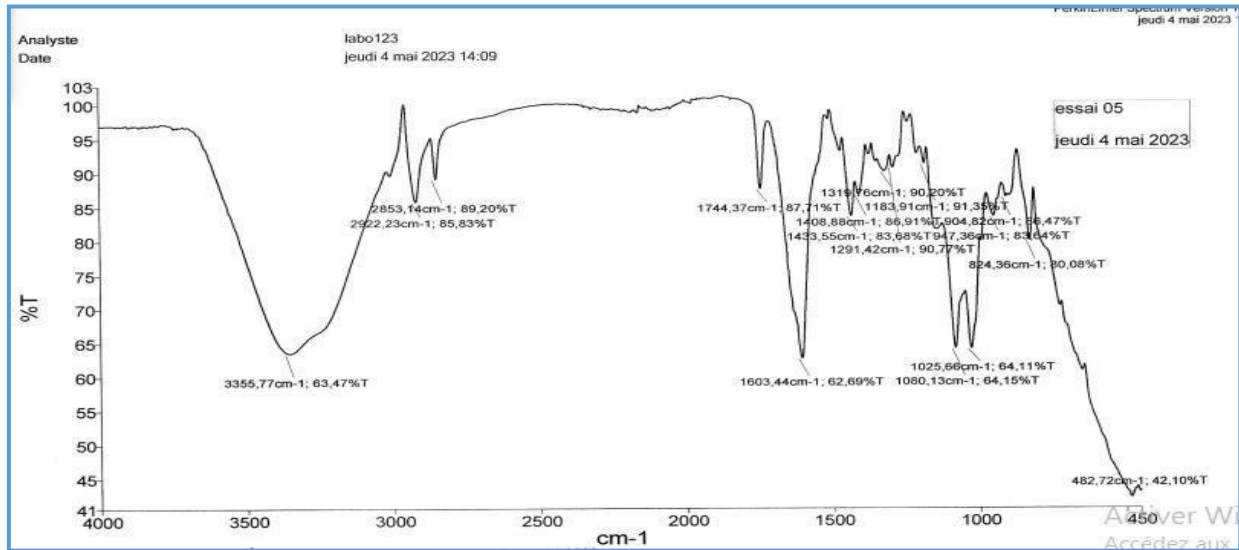


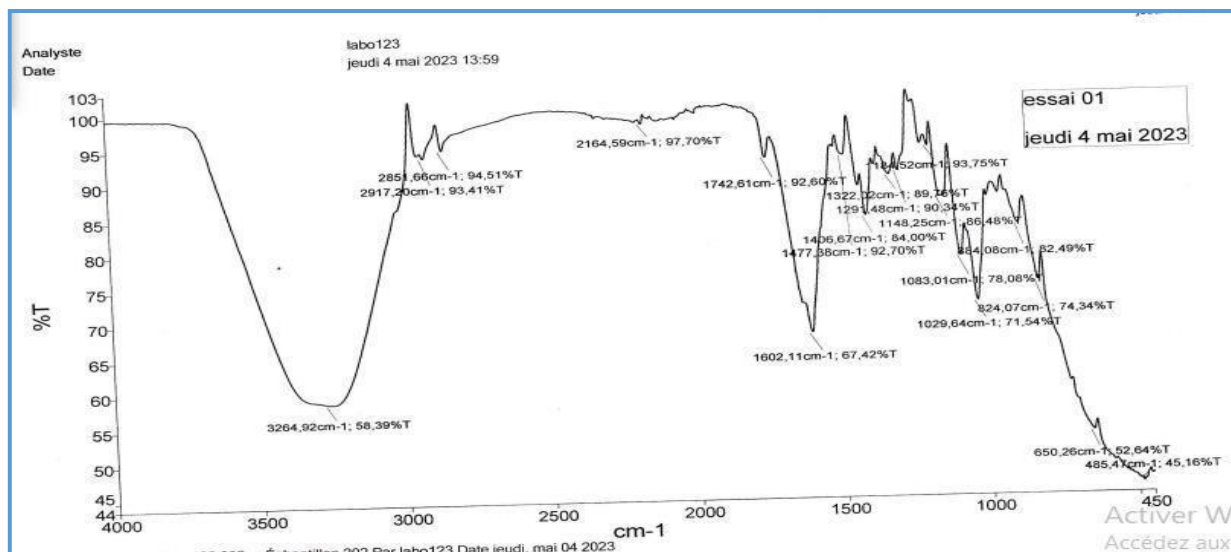
Anton Paar GmbH



**Figure 3 : Courbes de viscoélasticités des différents essais de formulation des Solutions polymériques.**

**Annexe 3 : Les Spectres IR des différentes formulations des Microparticules**





**Figure 4 :** Les spectre IR des différentes formulation de Microparticules.



**Figure :** Huile essentielle de thym à thymol utiliser



- [1]. Malik S. Essential Oil Research: Trends in Biosynthesis, Analytics, Industrial (2019) . Applications and Biotechnological Production. Springer International Publishing.703p.
- [2]. Shaaban H.A.E., El-Ghorab A.H., et Shibamoto T. (2012). Bioactivity of Essential Oils and Their Volatile Aroma Components: Review. Journal of Essential Oil Research 24 (2): 203-12.
- [3]. Velasco J., Dobarganes C., et rquez-Ruiz G. (2003). Variables affecting lipid oxidation in dried microencapsulated oils. Grasas y Aceites.54. (3):304-1.
- [4]. eirão C, Duarte C, Bourbon A, Pinheiro A, Isabel N. Januário, António A. Vicente, M.Luísa et Ivonne Delgadillo. (2013). Potentiel d'inuline pour l'encapsulation et la livraison contrôlée de l'huile essentielle d'origan. Food Hydrocolloids. 33.199-206
- [5]. Weibin B., Li B., Li W., Chen W., Chen F., et Shu C. (2021). Encapsulation. In Anthocyanins: Chemistry, Processing & Bioactivity. Springer Nature. Singapore. 185-200p
- [6]. Ben Messaoud G. Structuration et contrôle de l'architecture de capsules à cœur liquide à base d'hydrogel d'alginate par association de biopolymères. [Thèse]. Université de Lorraine ;2015
- [7]. Zahaf M. Formulation de microcapsules à libération prolongée à base de principe actif très peu soluble ou insoluble et caractérisation biopharmaceutique [Mémoire]. Blida : Université Blida1 ; département de chimie industrielle ; 2014.
- [8]. Guendouzen H. Bousnan M. Formulation et caractérisation des microparticules à base de biopolymères [Mémoire]. Bejaia : Université Abderrahmane Mira; 2017.
- [9]. S.-F. Lin, Y.-C. Chen, R.-N. Chen, L.-C. Chen, H.-O. Ho, Y.-H. Tsung, M.-T. Sheu, D.-Z. Liu, Improving the stability of astaxanthin by microencapsulation in calcium alginate beads, PloS one. 11 (2016) e0153685
- [10]. Vincent E. Les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie, application à la construction d'un biomatériau [Thèse]. Université HENRI POINCARÉ - NANCY 1; 2010.
- [11]. Arrouj. C B. Hanane, Etude d'un procédé de microencapsulation par émulsification d'un principe actif anti-inflammatoire et caractérisation biopharmaceutique. [Mémoire]. Bejaïa. Université A. Mira ; 2016



- [12].Benyahia S ; Abdallah Bouamrane.A. Encapsulation de la doxycycline et de l'aspirine :étude de l'effet des paramètres physicochimiques de préparation sur la stabilité des microcapsules d'alginate. [Mémoire]. Khemis Miliana : Université Djilali Bounaâma ; 2017.
- [13].Merakchi A. Etude de la formulation d'un principe actif (la metformine) dans des polymères biodégradables [mémoire]. Bejaia : Université A.mira ; 2012.
- [14].Gouin S. " Microencapsulation : industriel appraisal of existing technologies and trends". Trends in Food Sci. and Technol. 15, (2007), 330- 347.
- [15]. Desprairies M. Société Degussa- texturant systems. " Les hydrocolloïdes autres que l'amidon ". Septembre 2002
- [16]. Annadurai G., Juang R.-S and Lee D.-J. " Factorial design analysis for adsorption of dye on activated carbon beads incorporated with calcium alginate ". Adv. Environ. Res. V.6, (2002), 191-198
- [17].Diliana, D. S. " Arsenic oxidation of *Cenibacterium arsenoxidans*: Potential application in bioremediation of arsenic contaminated water Thèse de l'Université Louis Pasteur, (2004), Strasbourg I Et de l'Université de Sofia ". St. Kliment Ohridsky."
- [18]. Daemi H, Barikani M. Synthèse et caractérisation des nanoparticules d'alginate de calcium, le sel d'homopolymannuronate de sodium et ses nanoparticules de calcium. Sci Iran.2012;19(6) : 2023–8.
- [19]. Florián-Algarín V et Acevedo A, Rhéologie et gélification thermotrope de solutions aqueuses d'alginate de sodium.J Pharm Innov 5:37–44 (2010)
- [20].Colwell R.R., Pariser ER, Sinskey Anthony J. Biotechnology of marine polysaccharides. Proceedings of the third anual MIT Sea Grant College program lecture and seminar,1984.
- [21].Papageorgiou, S. K., Katsaros F. K., Kouvelos E. P., Nolan J. W., Le Deit H. and Kanellopoulos N. K. " Heavy metal sorption by calcium alginate beads from *Laminariadigitata* ". J. Hazard. Mat. 137, (3), (2006), 1765-1772.
- [22].Papageorgiou, S. K., Kouvelos E. P. and Katsaros F. K. " Calcium alginate beadsfrom *Laminaria digitata* for the removal of Cu<sup>+2</sup> and Cd<sup>+2</sup> from dilute aqueousmetal solutions ". Desalination. 224, (1-3), (2008), 293-306.

- [23].Lagoa. R., Rodrigues J.R." Evaluation of dry protonated calcium alginate beads for biosorption applications and studies of lead uptake ". Appl. Biochem. Biotechnol. 143, (2007), 115-128.
- [24].Raymond .C ,Rowe, Paul .J ,Sheskey, Marian.E, Quinn., "Handbook of pharmaceutical excipients,6ème edition, Pharmaceutical Press" ,(2009).
- [25]. S. Rabeau (2009), Etude d'un procede continu d'une microencapsulation basée sur un micromélangeur , mémoire de doctorat, université Nancy ( France).
- [26].Dawson. R. M. C, et al, Neugebauer.J. M., "Data for Biochemical Research, 3rd ed., Oxford University Press ,p. 289., Detergents: An overview". Methods Enzymol., 182, 247 (NewYork, NY: 1986), (1990).
- [27].SUNIL KUMAR YADAV, MANOJ KUMAR, ANUPAMAA TIWARA, ASHUTOSH SHUKLA. « Emulgel »: A new approach for enhanced topical drug delivery. 2016.
- [28].Pakhare A. V. ;Deshmane S. V. ;Deshmane S. S. ;Biyani K. R. Design and Development of Emulgel Preparation Containing Diclofenac Potassium. Asian Journal ofPharmaceutics. Oct-Dec 2017. (Suppl) 11 (4).
- [29].Joshi B, Singh G, Rana AC, Saini S and Singla V. (2011). Emulgel: A comprehensive Review on the recent advance in topical drug delivery. International Research Journal of Pharmacy, 2(11), 66-70.
- [30].Panwar S, Mukhopandhay S and Kothiyal P. (2015). Emulgel: A novel approach for topical drug delivery system. International Journal of Pharmaceutical Research and Bio- Science, 4(4), 209-223.
- [31].Y. Cohen, C. Jacquot. « Abréges phamacologie ». s.l. : 5eme edition, 2001. pp. 326-327.
- [32].Y.E. Hamza, A.M. Molokhia, I.I. Soliman, F.H. Ahmed, N.A. Soliman. « Formulation and evaluation of topical preparations containing phenol and local vesicants » s.l. : Az J Pharm Sci, 2002. pp. 412-432. 29.
- [33]. Formulation, évaluations in vitro et in silico de l'émulsion d'huile essentielle d'anis (Pimpinella anisum L.) avec des effets antimicrobiens améliorés Shamshir Khan 6 et Aftab Alam 2,\* Gels 2022

- [34]. Rahmani Soraya, Kanoun Khedoudja ,Ali Nahari Abdelkader and Harir Noria Bio- chemical study of essential oils of *Thymus vulgaris* on pathogenic strains responsible for urinary tract infections International Journal of Minor Fruits, Medicinal and Aromatic Plants. Vol. 8 (2) : 43-53, December 2022.
- [35]. Ghaderinia P, Shapouri R. Assessment of immunogenicity of alginate microparticle containing *Brucella melitensis* 16M oligo polysaccharide tetanus toxoid conjugate in mouse, Banat's Journal of Biotechnology (2017), 8(16), 83–92.
- [36]. Anastas PT, Warner JC. Green Chemistry: Theory and Practice. New York: Oxford University.
- [37]. composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse,, Québec: l'université du Québec à Chicoutimi. Mémoire, 2008.
- [38]. Rao, V.P.S. Extraction of essential oil and its applications.” National Institute of Technology Rourkela, (2006).
- [39]. H. Samir, Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaïa, Ouargla: mémoire de magister, 2009.
- [40]. I. Rivera, Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe, France: Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse,, 2006.
- [41]. M. E. LUCCHESI, Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, Université de La Réunion: thèse, 2005.
- [42]. A , Tayseer Sh. Mahmood , M. A J Alqayim , Shahad Tareq Anticoagulant and antioxidant activities of *thymus vulgaris* in dexamethasone treated female adulte Ola E. 4Jan., 2023.
- [43]. A , Tayseer Sh. Mahmood , M. A J Alqayim , Shahad Tareq Anticoagulant and antioxidant activities of *thymus vulgaris* in dexamethasone treated female adulte Ola E. 4Jan., 2023.
- [44]. Parisa Gupta, Shabad Preet, Ananya & Navneet Singh Preparation of *Thymus vulgaris*(L.) essential oil nanoemulsion and its chitosan encapsulation for controlling mosquito vectors [www.nature.com/scientificreports](https://www.nature.com/scientificreports) Scientific Reports 2022)

[45]. Desta, K.T.; Kim, G.S.; Abd El-Aty, A.; Raha, S.; Kim, M.-B.; Jeong, J.H.; Warda, M.; Hacımüftüoğlu, A.; Shin, H.-C.; Shim, J.-H. Flavone polyphenols dominate in *Thymus schimperii* Ronniger: LC–ESI–MS/MS characterization and study of anti-proliferative effects of plant extract on AGS and HepG2 cancer cells. *J. Chromatogr. B* 2017, 1053, 1–8.

[46].Prabodh Satyal ,, Brittney L. Murray , Robert L. McFeeters and William N. Setzer ,Essential Oil Characterization of *Thymus vulgaris*from Various Geographical Locations Alchemy Aromatic LLC, 621 Park East Blvd., New Albany, IN 47150, USA; Department of Chemistry, University of Alabama in Huntsville, , 24 October 2016; .

[47]. Giedre Kasparaviciene,1,2 Zenona Kalveniene,1,2 Alvydas Pavilonis,3 Ruta Marksiene,4 Jurgita Dauksiene,1 and Jurga BernatonieneEvidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2018, Article ID 9431819.

[48]. TOUHAMI Aicha Etude chimique et microbiologique des composants des Huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l’Est Algérien pendant les deux périodes de développement DOCTORAT en Sciences Année : 2017

[49].Borugă O, Jianu C, Mișcă C, Goleț I, Gruia AT, Horhat FG ;*Thymus vulgaris* essential oil: chemical compositionand antimicrobial activity *Journal of Medicine and Life* Volume 7, Special Issue 3, 2014

[50]. Mahmoudi, H.; Marzouki, M.; M’Rabet, Y.; Mezni, M.; Ouazzou, A.A.; Hosni, K. Enzyme pretreatment improves the recovery of bioactive phytochemicals from sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves and their hydrodistilled residue by-products, and potentiates their biological activities. *Arab. J. Chem.* 2020, 13, 6451–6460.

[51]. Mohamed Nadjib Boukhatem , Mohamed Amine Ferhat, Abdelkrim Kameli , Fairouz Saidi1 , Houria Taibi and Teffahi Djamel Valorisation de l’essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieux in aromatherapy *International Journal of Innovation and Applied Studies* ISSN 2028-9324 Vol. 8 No. 4 Oct. 2014, pp. 1418-1431©2014 .

[52].Vassiliou, E.; Awoleye, O.; Davis, A.; Mishra, S. Anti-Inflammatory and Antimicrobial Properties of Thyme Oil and Its Main Constituents. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 6936.

[53].Par : TOUHAMI Aicha Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement DOCTORAT en Sciences Année : 2017

[54] .Sateriale, D. Forgione, G. De Cristofaro, G.A.; Pagliuca, C. Colicchio, R.; Salvatore, P.; Paolucci, M.; Pagliarulo, C. Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Essential Oil against Foodborne Illness Pathogens, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Typhimurium and *Bacillus cereus*. *Antibiotics* 2023, 12, 485

[55]. Abdelhamed, F.M.; Abdeltawab, N.F.; ElRakaiby, M.T.; Shamma, R.N.; Moneib, N.A. Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities of *Thymus vulgaris* Essential Oil Nanoemulsion on *Acne Vulgaris*. *Microorganisms* 2022, 10, 1874.

[56]. Sateriale, D.; Forgione, G.; De Cristofaro, G.A.; Pagliuca, C.; Colicchio, R.; Salvatore, P.; Paolucci, M.; Pagliarulo, C. Antibacterial and Antibiofilm Efficacy of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Essential Oil against Foodborne Illness Pathogens, *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* Serovar Typhimurium and *Bacillus cereus*. *Antibiotics* 2023, 12, 485.

[57]. Hassiba Ben Bouali University of Chlef Bio-chemical study of essential oils of *Thymus vulgaris* on pathogenic strains responsible for urinary tract infection 1 Biotechnology and Agronomic Sciences Department, Natural Sciences and Life Faculty, , Algeria. *Molecular Microbiology, Health and Proteomics Laboratory, Journal of Minor Fruits, Medicinal and Aromatic Plants*. Vol. 8 (2) : 43- 53, December 2022

[58]. Pandur, E.; Micalizzi, G.; Mondello, L.; Horváth, A.; Sipos, K.; Horváth, G. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Essential Oils Prepared at Different Plant Phenophases on *Pseudomonas aeruginosa* LPS-Activated THP-1 Macrophages. *Antioxidants* 2022, 11, 1330.

[59]. Essential Oils Composition and Antioxidant Properties of Three *Thymus* Species Hamzeh Amiri Department of Biology, Lorestan University, P.O. Box 465, Khoram-Abad, Iran Correspondence should be addressed to Hamzeh Amiri, amiri\_hlu@yahoo.com Received 17 January 2011; Revised 4 April 2011

[60]. R, Rowe. P, J, Sheskey. M, E, Quinn. Handbook of Pharmaceutical Excipients 6th Ed. London, Chicago, Pharmaceutical Press.2009.

[61].National Library of Medicine. (2022). Explorez la chimie. **Bethesda**, États-Unis de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

[62]. Alves Filho, E. G., Silva, L. M. A., de Brito, E. S., Castro, D. R., Bezerra, J. A., Sanches, E. A. & Campelo, P. H. (2021). Effet de la lueur et des décharges de barrière diélectrique plasma sur le profilage chimique volatil et non volatil du jus de camu-camu. *Technologie des aliments et des bioprocédés*, 14(7), 1275–1286.

[63] R., Diallo, D., Diarra, S., Ekoumon, C., Bougoudougou, F. 2006. Activité antibactérienne et antalgique des deux recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires

[64] Djabou N., Lorenzi V., guinoiseau F., Andreani S., Guiliani M. C., Desjobert J. M., Bolla J. M., Costa J., Berti L., Luciani A., Muselli A., (2013). Phytochemical composition of Corsican Teucrium essential oils and antibacterial activity against food borne or toxiiinfection pathogens. *Food Control*. 30: 354-363. et la cystite au Mali. *Mali Medical*, 1: 18-24.