

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

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Pharmacie Industrielle

**FORMULATION PHARMACEUTIQUE D'UNE EMULSION
BUVABLE A BASE D'HUIL ESSENSIELLE
D'ARTEMISIA ABSINTHIUM L**

Présenté par : LARBI Mohamed

JAWABRI Adel

Encadré par :

Promotrice: Mme CHEMAT. Z

Co-promotrice: Mme BANIDJEDRI.S

Année universitaire 2015/2016

Dédicace

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tous simplement que : Je dédie ce mémoire à :

A Ma tendre Mère SALIMA: Tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.

A Mon très cher Père FAROUK: Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

A Mon cher et adorable frère Abdelatif, à mes sœurs Wahiba, Leila, Aicha et leurs maris, leurs enfants, En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

Nullé dédicace ne pourrait exprimer mes sentiments et mon profond attachement.

A tout membre de ma famille, LARBI et HAZI

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère. À mes amis de toujours : Ali, Adel, Zaki, Billel, Ousama, Salim, Billel, Fawzi, Abdelaziz, Jaafar, Billel, Moghni. N. En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble. Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

À toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail à tous ceux que j'ai omis de citer.

LARBI MOHAMED

REMERCIEMENTS

Nous remercions « ALLAH », le tout puissant de nous avoir donné la force et le courage pour accomplir ce travail.

Ce travail a été effectué au niveau de l'université Saad Dahleb de Blida 1.

Nos vifs remerciements s'adressent tout d'abord à Mme CHEMAT-DJENNI .Z, qui a accepté d'encadrer notre mémoire et pour l'aide qu'elle a pu apporter à travers ses conseils avisés.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à Mme BANI-DJEDRIS, nous la remercions tout particulièrement pour sa disponibilité et son aide précieuse sans la quelle ce travail n'aurait pas pu être réalisé.

Nous voudrions remercier aussi Mme HADJ ZAINA, Responsable de master en Pharmacie Industrielle, pour sa disponibilité et ses précieux conseils.

Nous tenons à exprimer nos reconnaissances à nos professeurs de Pharmacie Industrielle.

En fin, nous remercions nos famille, nos amis et tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

MERCI !

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
DEDICASE	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
ABREVIATION	
NOMENCLATURE	

PARTIE THEORIQUE

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

CHAPITRE 1 SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Introduction	3
1.2 Historique	3
1.3 Origine et distribution géographique	3
1.4 Etude botanique et biologique de l'absinthe	4
1.4.1 Classification classique	4
1.4.2 Noms communs.....	4
1.5 Biologie de l' <i>Artémisia absinthium</i> L.....	5
1.5.1 L'appareil végétatif de l' <i>Artémisia absinthium</i> L.....	5
1.5.2 L'appareil reproducteur de l' <i>Artémisia absinthium</i> L	6
1.6 Exigences écologiques	7
1.6.1 Climatiques	7
1.6.2 Edaphique	7
1.7 Utilisations de l'Absinthe	7
1.7.1 Propriétés thérapeutiques.....	7
1.7.2 Usage culinaire	8
1.7.3 Stimulant digestif	8
1.7.4 Vermifuge	8

1.7.5	Anti-inflammatoire.....	8
1.7.6	Insecticide	9
1.8	Travaux antérieurs effectués sur <i>l'Artemisia absinthium L</i>	9
1.8.1	Composition chimique de l'Absinthe	9
1.8.1.1	Substances amères.....	9
1.8.1.2	Huiles essentielles.....	9
1.9	Activités biologiques d' <i>Artemisia Absinthium L</i>	10
1.9.1	Activité antimicrobienne.....	10
1.9.2	Activité antioxydante.....	10
1.9.3	Activité insecticide.....	11
1.10	Généralité sur les Huiles Essentielle.....	11
1.10.1	Huile essentielle.....	11
1.10.1.1	Définition.....	11
1.10.1.2	Intérêts.....	11
1.10.1.3	Propriétés physiques.....	12
1.10.2	Composition chimique des huiles essentielles.....	12
1.10.2.1	Monoterpènes.....	12
1.10.2.2	Sesquiterpènes.....	12
1.10.2.3	Composés aromatiques.....	13
1.10.3	Technique d'extraction.....	13
1.10.3.1	Entrainement à la vapeur d'eau.....	13
1.10.3.2	Hydrodistillation.....	14
1.10.3.3	Hyrodifffusion.....	14
1.10.3.4	Extraction assistée par micro-onde.....	15
1.10.3.5	Extraction par gaz supercritique.....	15

CHAPITRE 2
FORMULATION PHARMACEUTIQUE D'UNE EMULSION
BUVABLE

2	Formulation pharmaceutique d'une Emulsion buvable.....	17
2.1	Généralités sur la formulation	17

2.2	Différents domaines existant dans la formulation.....	17
2.2.1	Formulation agro-alimentaire	17
2.2.2	Formulation cosmétique.....	18
2.2.3	Formulation pharmaceutiques	18
2.3	Emulsions buvables	18
2.3.1	Définition des émulsions buvables.....	18
2.3.2	Formulation d'une émulsion buvable	19
2.3.3	Instabilité des émulsions.....	19
2.3.4	Balance Hydrophile Lipophile (HLB).....	20
2.4	Dispersion liquide-liquide	21
2.4.1	Emulsions H/E	22
2.4.2	Emulsions E/H	22

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE3 MATERIELS ET METHODES

3.1	Matière végétale.....	25
3.1.1	Récolte, traitement et conservation.....	25
3.1.2	Identification botanique.....	26
3.2	Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	26
3.2.1	Détermination de l'influence de la masse végétale à traiter.....	26
3.2.2	Détermination de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne de l' <i>Artemisia absinthium</i> L.....	26
3.3	Mode opératoire et appareillage.....	26
3.3.1	Calcul du rendement en huile essentielle	28
3.4	Propriétés physico-chimiques et organoleptiques.....	28
3.5	Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS)	28
3.6	Formulation pharmaceutique et étude phytochimique.....	29

3.6.1 Formulation d'une émulsion buvable à base d'huile essentielle <i>d'Artemisia Absinthium L</i>	29
3.6.1.1 Etude de pré-formulation.....	29
3.6.1.2 Formulation	32
3.6.2 Caractérisation de l'émulsion buvable.....	34
3.6.2.1 Caractérisation physico-chimique.....	34
3.6.2.2 Tests des activités biologiques (Tests d'activités antimicrobiennes)	35
3.6.2.3. Test d'activité pharmacologique (test anti-inflammatoire)	38
3.6.2.4 Test d'activité pharmacologique (Tests de toxicité)	41

CHAPITRE 4

RESULTATS ET DISCUSSION

4.1 Extraction de l'huile essentielle d' <i>Artemisia Absinthium L</i> par hydrodistillation.....	44
4.1.1 Paramètres influençant le rendement en HE.....	44
4.1.1.1 Influence de la masse végétale	44
4.1.1.2 Evolution du rendement en HE en fonction de la durée d'extraction (cinétique)	45
4.2 Caractérisation de l'huile essentielle d' <i>Artemisia Absinthium L</i>	46
4.2.1 Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle.....	46
4.2.2 Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle <i>d'Artemisia Absinthium L</i>	47
4.3 Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	47
4.4 Formulation pharmaceutique et étude phytochimique	50
4.4.1 Formulation et Caractérisation de l'émulsion buvable à base d'huile essentielle <i>d'Artemisia Absinthium L</i>	50
4.4.1.1 Formulation.....	50
4.4.1.2 Caractérisation de l'émulsion buvable.....	50
4.5 Activités biologiques	53
4.5.1 Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	53
4.5.2 Evaluation de l'activité antifongique.....	56
4.6 Test d'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	59

4.6.1. Pourcentage d'œdème	60
4.6.2. Pourcentage de réduction d'œdème	61
4.7 Tests de toxicité	62
4.7.1 Tests de Toxicité d'HE et de l'émulsion buvable d'Artemisia Absinthium L	62
CONCLUSION GENERALE	63
APPENDICE	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

CONCLUSION

Le présent travail vise à valoriser une plante médicinale et aromatique très répandue dans le monde et en Algérie, connue sous le nom d'Absinthe. Notre étude a porté sur l'extraction de l'huile essentielle de cette plante et la formulation d'une émulsion buvable.

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation à l'échelle laboratoire. L'étude de certains paramètres influençant le rendement de l'huile essentielle nous a permis d'obtenir un rendement maximal de l'ordre de 0,52%. L'analyse par CG/MS de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* montre la présence du composé Azulene avec un pourcentage de 25,95%.

Nous avons abordés les différentes techniques de mise en œuvre pour la formulation de l'émulsion buvable ainsi que les méthodes de caractérisation utilisées.

Les tests d'activités antimicrobiennes effectués sur l'huile essentielle et l'émulsion buvable d'absinthe, ont montré que l'huile essentielle avait des actions de sensibilités inhibitrices contre, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*, et *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* par rapport à l'émulsion buvable. Ces résultats présentent un intérêt concernant l'huile essentielle pour des applications phytosanitaires, comme des procédés de lutte biologique basés sur des substances naturelles afin d'éradiquer les infections d'origine fongique et en vue d'une utilisation dans le cadre d'une agriculture biologique.

L'étude de l'activité anti-inflammatoire *in vivo*, nous a amené à déduire que l'émulsion buvable d'*Artémisia absinthium* est efficace à administrer aux souris. L'émulsion buvable a exercé une activité anti-inflammatoire, qui a induit un taux de réduction d'œdème de 35,70%. Ce taux est proche à celui obtenu par Clofénal, qui a provoqué une réduction d'œdème de 37,53%. Les résultats obtenus lors de cette étude sont très intéressants, mais des études complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets.

Après l'administration de l'huile essentielle d'*Artémisia absinthium L.* et l'émulsion buvable à des souris chez les quelles, nous avons remarqué, aucune mortalité ou anomalie n'est constaté après 48 heures chez les souris, donc les deux produits sont conformes et non toxiques.

Néanmoins, il serait judicieux en guise de perspectives de :

- Etudier l'activité antioxydante de huile essentielle et l'émulsion buvable d'*Artémisia absinthium* de la région de Blida (Soumaa) ;
- Tester l'émulsion buvable sur d'autres germes phytopathogènes ;
- Déterminer le ou les principes actifs responsables de l'activité antimicrobienne de l'huile afin de produire des formules antifongiques naturelles;
- Confirmer nos résultats en étudiant la même espèce provenant des différentes régions d'Algérie;
- Formulation d'une autre forme pharmaceutique (gel, crème, ...) à base d'huile essentielle d'*Artémisia absinthium L.*

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : L'espèce d' <i>Artémisiaabsinthium L</i>	4
Figure1. 2: Touffe d'absinthe originale.....	5
Figure1. 3 : Feuilles d'absintheoriginale	6
Figure 1.4 : Fleurs d' <i>Artémisia absinthium L</i>	6
Figure1.5:Habitat d' <i>Artémisia Absinthium L</i>	7
Figure1.6 : Schéma du dispositif de l'entraînement à la vapeur d'eau.....	13
Figure 1.7 :Schéma du dispositif de l'hydro-distillation.....	14
Figure1.8:Montage d'hyrodiffusion.....	14
Figure 2.1: Représentation des différents types d'émulsion.....	19
Figure 2.2:Mécanismes d'instabilité des émulsions.	20
Figure 2.3 :Schéma d'un émulsifiant.....	21
Figure2.4 :Schéma d'une gouttelette H/E.....	21
Figure 2.5: Schéma d'une gouttelette E/H.....	22
Figure 2.6: représentent émulsions H/E.....	22
Figure 2.7: représentent émulsions E/H.....	23
Figure2.8: HLB de l'émulsifiant.....	23
Figure 3.1 : Schéma directeur des différentes étapes de notre étude.....	24
Figure 3 .2 : Localisation de la récolte de la plante absinthe sur la région de Blida.....	25
Figure 3.3 : Parties aériennes séchées de <i>l'Artemisia absinthium L</i>	25
Figure 3.4 : Montage de l'hydrodistillation.....	27
Figure3.5 : Rhéomètre Anton PaarModular Compact RhéomètreMCR 302.....	30
Figure 3.6 : Centrifugeuse.....	30
Figure 3.7 : Préparation de l'émulsion buvable par un homogénéiseur.....	33
Figure 3.8 : Illustration de la méthode d'aromatogramme.....	36
Figure 3.9: Différentes étapes de l'activité anti inflammatoire.....	41
Figure3.10 : Différentes étapes du test de Toxicité.....	43
Figure 4.1: Influence de la masse de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle.....	44
Figure 4. 2 : Evolution du rendement en fonction du temps.....	46
Figure 4.3: Huile essentielle de l'Absinthe.....	47
Figure 4.4 :Spectre chromatographiqueGC/MS d'analyse de l'huile essentielle	

de l’Absinthe extraite par hydrodistillation.....	49
Figure 4.5: Observation microscopique de la formulation N21.....	51
Figure 4.6 : Courbe d’écoulement de l’essai type.....	52
Figure 4.7 : Aromatogrammes des bactéries testées avec l’huile essentielle de l’absinthe et l’émulsion buvable.....	56
Figure 4.8 : Histogramme des diamètres des zones d’inhibition des Bactéries	56
Figure 4.9 : Aromatogrammes des champignons testées avec l’émulsion buvable et l’huile essentielle de l’absinthe.....	58
Figure 4.10 : Histogramme des diamètres des zones d’inhibition des champignons	59
Figure 4.11 : Pourcentage d’œdème chez les trois lots.....	61
Figure 4.12: Pourcentage de réduction d’œdème de l’émulsion buvable et de produit de référence	61
Figure 4.13 : Absence de mortalité après 48 h.....	62

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1 : Souches microbiennes testées et leurs références.....	36
Tableau 4.1: Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'<i>Artemisia</i> <i>Absinthium L</i>.....	46
Tableau 4.2 : Propriétés physico-chimiques l'huile essentielle d'<i>Artemisia</i> <i>Absinthium L</i>.....	47
Tableau 4.3 :Composition chimique de l'huile essentielle de l'Absinthe.....	48
Tableau 4.4: Matrice d'expériences.....	50
Tableau4.5 :Représentation des essais stables de la formulation.....	51
Tableau 4.6:Paramètres rhéologiques des deux modèles du l'émulsion buvable.....	53
Tableau 4.7 : Les diamètres des zones d'inhibitions d'HE et del'EB.....	54
Tableau 4.8: Résultats d'activités anti-inflammatoires.....	60

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de la Normalisation

ATCC : American Type Culture Collection

°C : Degré Celsius

CG/SM : Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectrométrie de masse

GSD : Gélose Sabouraud dextrose

g : Gramme

HD : Hydrodistillation

HE : Huile essentielle

Kg : Kilogramme

MH : Muller Hinton

min : Minute

ml : Millilitre

mm : millimètre.

nm : nanomètre

PA : Principe Actif

ZI : Zone d'inhibition

% : Pourcentage

Q : Quantité

EB : Emulsion Buvable

HE : Huile essentielle

TA: Tensioactif

PF : Produit Fini

PH : Potentiel hydrogène.

GX : Gomme xanthane.

NOMENCLATURE

Symboles	Désignations	Unité
V	Vitesse de sédimentation	[cm/s]
r	Rayon moyen des particules	[μm]
η	Viscosité du milieu dispersant	[Pa.s]
g	Accélération de la pesanteur	[cm^2/s]
F	Energie de surface	[N/m^2]
A	La surface de la particule	[μm^2]
τ	Contrainte de cisaillement	[Pa]
$\dot{\gamma}$	Vitesse de cisaillement	[s^{-1}]
η_a	Viscosité apparente	[Pa.s]
τ_0	Contrainte seuil	[Pa]
d	Densité relative	
$M_{\text{H}_2\text{O}}$	Masse de l'eau	[g]
Méb	Masse de l'émulsion buvable	[g]
M_0	Masse de pycnomètre vide	[g]
CV	Coefficient de variation	
m	Moyenne	
S	Ecart type	
K	Indice de consistance	
η_0	Viscosité du palier newtonien à faible taux de cisaillement	[Pa.s]
η_0	Viscosité du palier newtonien à faible taux de cisaillement	[Pa.s]
n	Indice de loi de puissance.	
$\dot{\gamma}_c$	Vitesse de cisaillement critique	[s^{-1}]

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1 Présentation de la plante *Artemisia absinthium* L :

1.1 Introduction :

Les Astéracées constituent l'une des plus vastes familles du règne végétal, c'est la deuxième après les orchidées. Cette famille comprend plus de 20.000 espèces végétales. Le métabolisme terpénique est généralement intense chez cette famille qui élabore une grande variété de structures : mono, sesqui, di, et tri-terpénique. La famille des Astéracées comprend de nombreuses plantes aromatiques et médicinales. Parmi les genres importants : *Artémisia* avec 300 espèces. Ils sont utilisés dans une grande partie des pharmacopées locales en raison de leurs diverses propriétés médicinales [6].

1.2 Historique :

L'absinthe est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues. Depuis le temps les plus reculés ; on l'utilisait dans la thérapeutique. Selon Gilly [7] ; « *bsinthium* » signifie : douceur et avec le préfixe *a* privatif *absinthium* signifie : sans douceur. C'est une boisson alcoolisée très renommée appelée aussi « La Fée verte ». Cependant, l'huile est toxique et la plupart des pays ont interdit sa fabrication depuis le début du 20^{ème} siècle La plante fut déclarée toxique à cause de la présence des thuyones. Ce n'est qu'en 1999 qu'il est à nouveau permis de cultiver, de distiller et de consommer la plante [7].

1.3 Origine et distribution géographique :

L'absinthe, plante herbacée très aromatique, est originaire du sud de la Sibérie et du Cachemire. L'espèce est cultivée dans les pays Balkans, en Angleterre, en France, Afrique du nord (Algérie et Maroc) et elle est également présente dans l'est de l'Amérique du nord au Canada et en Turquie [8].

1.4 Etude botanique et biologique de l'absinthe :

1.4.1 Classification classique :

L'absinthe appartient : [9]

- **Règne :** *Plantae*.
- **Sous-règne :** *Tracheobionta*
- **Division :** *Magnoliophyta*
- **Classe :** *Magnoliopsida*
- **Sous-classe :** *Arteridae*
- **Ordre :** *Astérales*
- **Famille :** *Astéracées (eae)*
- **Genre :** *Artemisia*
- **Espèce :** *Artemisia absinthium L*



Figure 1.1 : L'espèce d'*Artémisia absinthium L* [10]

1.4.2 Noms communs :

- *En Algérie (nom vernaculaire)*

Diverses appellations sont attribuées à l'*Artémisia absinthium L*. En Arabe : *Chiha Coracani, Chaibet el Adjouz, Degnatech Cheik, Chiba, Chedjret Merieme* [11]

- *Dans d'autres pays*

L'*Artemisia absinthium L* possède plusieurs autres appellations à travers l'Europe telle que [7] :

- 1) **Nom Français :** *Absinthe*.
- 2) **Nom Anglais :** *Wormwood*.
- 3) **Nom Allemand :** *wermut*.

4) **Nom Espagnol :** *encens*.

5) **Nom Italien :** *assenzo*.

1.5 Biologie de l'*Artémisia absinthium* L. :

C'est une plante vivace (figure1.2) pouvant atteindre **90** cm à **1** m de haut, recouverte de poils soyeux blancs argentés et de nombreuses glandes oléifères. Son odeur est très forte, sa saveur est fortement amère et aromatique [12].

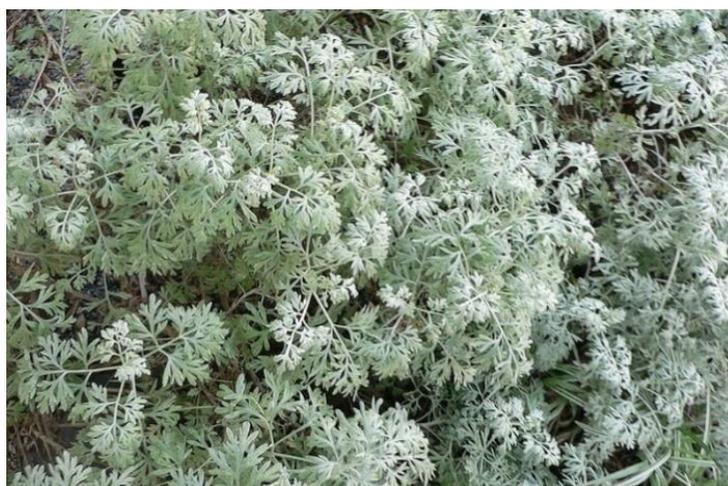


Figure1. 2: Touffe d'absinthe originale

1.5.1 L'appareil végétatif de l'*Artémisia absinthium* L: [13]

- **Racine** : La plante possède un rhizome dur.
- **Tige** : Les tiges sont souterraines, ligneuses ; dressés et rameuses. Les fragments de tige sont rigides, gris argentés, à l'extérieur sont anguleux et possèdent une moelle interne.
- **Feuilles** : L'absinthe possède des grosses touffes de feuilles recouvertes d'un fin duvet gris pale (figure 1. 3) dont les feuilles sont composées, opposées à la base, puis alternes pour le reste de la plante. Elles sont très découpées, plumeuses, pennatilobées en trois lobes dentés. Les feuilles basilaires mesurent jusqu'à 25 centimètres de long et sont longuement pétiolées (Figure 1.4). Les feuilles caulinaires sont brièvement pétiolées, moins divisées. Les feuilles au sommet peuvent même être simples et sessiles (sans pétiole). Involucre blanchâtre à folioles linéaires. Les rameaux portent à leurs extrémités des petits capitules

globuleux. Elles sont vert grisâtre au dessus et vert argenté, Presque blanches et soyeuses, sur le dessous.



Figure1. 3 : Feuilles d'absinthe originale [13].

1.5.2 L'appareil reproducteur de *l'Artémisia absinthium L* : [13]

➤ **Fleur et inflorescence** Les fleurs sont jaunes, (figures 1.4) tubulaires.

La floraison a lieu de juillet à septembre. Inflorescence en petits capitules (composée) globuleux souvent pendants, à leur tour réunis en grappes ou longs panicules feuillés et ramifiés, parfois terminales. Bractées florales en rangs peu nombreux avec Pappus souvent présent.



Figure 1.4 : Fleurs d'*Artémisia absinthium L* [13].

➤ **Fruits et graines** Le fruit de l'absinthe est un akène, fruit sec non soudé à la graine dont la dissémination est de type barochore. Les graines tombent à coté de la plante en automne [13].

1.6 Exigences écologiques :

1.6.1 Climatiques :

La plantation de la l'*Absinthe* exige des endroits bien ensoleillés ; une terre souple, légère. Aime les sols riches en azote, elle peut pousser dans les régions à faible pluviosité et sa culture est possible également dans des zones arides et sèches [14].

1.6.2 Edaphique :

L'absinthe n'est pas exigeante en sol, elle pousse dans les plaines, montagnes, pentes, régions secs et arides, terrains rocheux et le bord des routes, Elle réussit sur des sols acides et sols argileux calcaires (figure 1.5). Cette plante est disséminée également dans les régions incultes. Elle est même indiquée pour mettre en valeur les terrains pauvres et inaptes aux autres cultures [14].



Figure1.5: Habitat d'*Artémisia Absinthium L* [14].

1.7 Utilisations de l'Absinthe :

1.7.1 Propriétés thérapeutiques :

L'absinthe est un excellent tonique amer, elle est légèrement diurétique, emménagogue et vermifuge. C'est l'un des meilleurs toniques stomatiques contre la dyspepsie, la gastrologie et les insuffisances hépatiques [15]. Les substances amères présentes dans cette espèce lui confèrent des propriétés thérapeutiques [16].

La plante possède également une action antitoxique en cas d'intoxication au Plomb [16]. D'autres utilisations sont décrites comme remède populaire, l'absinthe

jouait d'une grande réputation comme tonique, contre l'anémie et l'arthrite [15]. Et par voie externe, contre le retard de cicatrisation.

Des études menées en 1995 au Pakistan ont conclu, que l'absinthe possède une activité hépato protectrice élevée grâce à son action inhibitrice sur les enzymes responsables des métabolites dans le foie [17]. Ces propriétés thérapeutiques s'expliquent par la présence des composés terpéniques (sesquiterpènes lactone et monoterpènes).

1.7.2 Usage culinaire :

L'absinthe est en fait très peu utilisée en tant qu'épice. En raison de sa saveur amère très prononcée, elle ne doit être utilisée qu'avec parcimonie (quelque fragment de feuilles). Or sa consommation est prohibée dans de nombreux pays en raison de ses fortes teneurs en thuyone neurotoxique, entraînant des troubles nerveux, des hallucinations et des convulsions [18].

1.7.3 Stimulant digestif :

En stimulant la production du suc gastrique et de la bile, l'Absinthe améliore la digestion et l'absorption des aliments. Elle élimine aussi les flatulences et ballonnements. La teinture d'Absinthe favorise la digestion, Elle aide le corps à retrouver sa vitalité après une longue maladie [17].

1.7.4 Vermifuge :

L'absinthe est un remède traditionnel pour éliminer les vers comme en témoigne son nom en anglais, qui signifie tue-vers [17].

1.7.5 Anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire de l'Absinthe lui permet de traiter certaines maladies, ces principes amers sont des azulénogènes qui peuvent fournir le carbure anti-inflammatoire, c'est leur transformation en azulènes qui leur confère des qualités anti-inflammatoire. Cette plante est parfois prescrite comme antidépresseur. [16].

1.7.6 Insecticide

L'absinthe est un insecticide ou insectifuge. [19]. D'après les travaux effectués par Bouksil et al [20]. Chabab [21]. Hamdani et al [22]. L'huile essentielle de cette plante a une activité insecticide certaine dans le contrôle de *Callosobruchus maculatus* (ravageur de niébé) et contre *Tribolium costaneum herbst* (ravageur de blé dur) et la *sitophilus oryzae* (ravageur des grains de céréales) respectivement.

1.8 Travaux antérieurs effectués sur *l'Artémisia absinthium L*

La majorité des travaux effectués sur l'espèce d'*Artémisia absinthium L.* a porté sur les huiles essentielles, les extraits, et leurs activités biologiques. D'autres travaux sont effectués sur l'identification des polyphénols.

1.8.1 Composition chimique de l'Absinthe :

Selon Wichtl et al [23], Heinrich et al [24], les constituants chimiques de l'Absinthe sont les substances amères (0.15-0.4%) et les huiles essentielles (0.2-1.5%).

1.8.1.1 Substances amères

Les principes amers contenus dans la plante ne constituent pas un groupe homogène. Toutes ces substances, qui peuvent être très différentes, sont liées entre elles par l'armature de leur goût.

Le taux des principes amers dans une feuille fraîche de l'Absinthe augmente au cours de l'année jusqu'à être multiplié par six à la floraison. Le genre est riche en différentes lactones sesquiterpéniques [7]. Parmi ces substances on distingue :

- ✓ Les lactones sesquiterpéniques dimères
- ✓ Les lactones sesquiterpéniques monomères

1.8.1.2 Huiles essentielles

La composition chimique de l'huile essentielle varie selon le chimiotype considéré, Elle varie également selon les conditions géographiques et climatiques (température, altitude, précipitation, hauteur, direction du vent, période de cueillette, etc.), et selon la phase de développement de la plante [25].

Selon Gilly [7] l'huile essentielle de l'Absinthe possède une saveur amère et brûlante, sa densité varie entre 0,925 et 0,950. Cette huile contient beaucoup de

composants mono et sesquiterpènes qui ont été identifiés dans cette huile. De nombreuses publications munie par Basta et al, Chaisson et al, ont décrit la composition chimique et l'activité biologique de l'huile essentielle d'Absinthe [26- 27]. Ces travaux mettent en évidence la grande variabilité chimique de l'huile essentielle en fonctions des paramètres cités ci précédemment.

La majorité des travaux effectués sur l'espèce d'*Artemisia absinthium L.* a porté sur les huiles essentielles, les extraits, et leurs activités biologiques. D'autres travaux sont effectués sur l'identification des polyphénols, ainsi que sur les flavonoïdes.

1.9 Activités biologiques d'*Artemisia Absinthium L*

1.9.1 Activité antimicrobienne

L'effet antimicrobien de l'huile essentielle de l'*Artemisia absinthium L.* provenant de la Croatie a été constaté et décrit par différents auteurs Kaul et al. Selon ces auteurs, le taux élevé de thuyone est la principale cause de l'activité antimicrobienne de l'huile [33].

Kordali et al. [30] on menés une étude afin de montrer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de l'absinthe provenant de la Turquie, ils ont constaté que l'absinthe a un pouvoir antifongique vis-à-vis de toutes les espèces fongiques testées .

Des études au centre agricole Scotlandais mettant l'accent sur la nature antimicrobienne des huiles volatiles ont révélé que l'huile (d'Absinthe africaine), constituée d'un mélange de mono-terpènes, est active contre plusieurs souches bactériennes entre autre: *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Brevibacterium linens* et *Yersinia enterocolitica* [10].

1.9.2 Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'absinthe a été étudiée par divers auteurs. Kordali et al. [30] ont mené une étude afin de montrer l'activité antioxydante de l'huile essentielle de l'absinthe provenant de la Turquie. Il a été constaté qu'il est difficile de déterminer les composants responsables de l'activité antioxydante. L'huile essentielle de l'Absinthe riches en composants phénoliques à montré une forte activité antioxydante, la thuyone peut être le responsable de l'effet antioxydant car l'absence de

ce composé dans quelques espèces d'*Artemisia* est fortement liée au faible taux d'activité antioxydante.

Par la suite Lopes-Lutz [28] a évalué l'activité antioxydante d'*Artemisia absinthium* L.

1.9.3 Activité insecticide

L'activité insecticide de l'Absinthe a été déterminée par Derwiche et al. [29], ils ont conclu que l'effet insecticide de l'huile essentielle de l'Absinthe est dû essentiellement à l'abondance de thuyone, l'acétate de sabinyl et aussi à tous les constituants chimiques contenus dans huile.

Une étude récente en 2014 a été réalisée par Dhen N, Mjdoub O, ces auteurs ils ont reportés que la potentialité insecticide de l'huile essentielle de l'Absinthe, a été investiguée contre deux insectes ravageurs à savoir *Rhyzopertha dominica* et *spodoptera littoralis*. L'huile essentielle de l'Absinthe a montré une forte toxicité par fumigation contre les adultes de R.dominica, un insecte des denrées stockées, avec des concentrations létales CL₅₀ de 18,23µl d'air et CL₉₀ de 41,74µl d'air [35-36].

1.10 Généralité sur les Huiles Essentielle :

1.10.1 Huile essentielle

1.10.1.1 Définition

Selon la norme NF T 75-006 de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) une huile essentielle est définie comme « le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [37].

1.10.1.2 Intérêts

Selon MILPIED [38], les huiles essentielles ont certainement un rôle dans la plante : il s'agit d'une sécrétion qui induit une augmentation de la production de certains composants pour inhiber la germination en hiver, protéger la plante contre les parasites, les insectes, les herbivores et favoriser la fécondation en attirant certains insectes.

1.10.1.3 Propriétés physiques

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent un certain nombre de propriétés physiques communes. Elles sont liquides à température ambiante, très odorantes, volatiles, ces essences ne sont que très rarement colorées. Leur densité est le plus souvent inférieure à celle de l'eau. Elles possèdent également un indice de réfraction souvent élevé [39].

Le pouvoir rotatoire est l'une des propriétés principales des huiles essentielles. Il permet à certaines substances de dévier le plan de la lumière. Chaque espèce végétale produit une huile essentielle dont les composés ont des pouvoirs rotatoires définis. Il permet la mesure quantitative de l'activité optique de l'huile essentielle.

Les huiles essentielles sont aussi de nature hydrophobe, totalement solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau. Ces substances ne contiennent aucun corps gras contrairement à une huile végétale [39].

1.10.2 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants, distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane [40].

1.10.2.1 Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). [40] Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales.

1.10.2.2 Sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{24}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurelles, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques,

polycycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature [40].

1.10.2.3 Composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon [40].

1.10.3 Technique d'extraction

Ils existent plusieurs procédés d'extraction des huiles essentielles :

1.10.3.1 Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter [39]. Durant le passage de la vapeur d'eau à travers la plante, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action des vapeurs pour former un mélange eau et huile essentielle en deux phase, une phase organique et une phase aqueuse.

L'avantage de cette technique est d'éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant affecter la qualité des huiles essentielles.

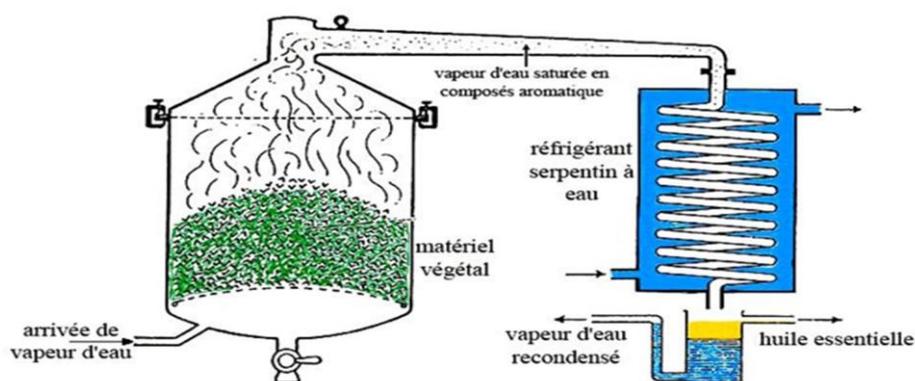


Figure1.6 : Schéma du dispositif de l'entraînement à la vapeur d'eau.

1.10.3.2 Hydrodistillation

Le principe de cette technique consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement des cellules et la libération des molécules odorantes, ensuite le mélange est refroidi, une fois condensées, eau et huile essentielle sont séparés du fait de leurs différences de densité [39].

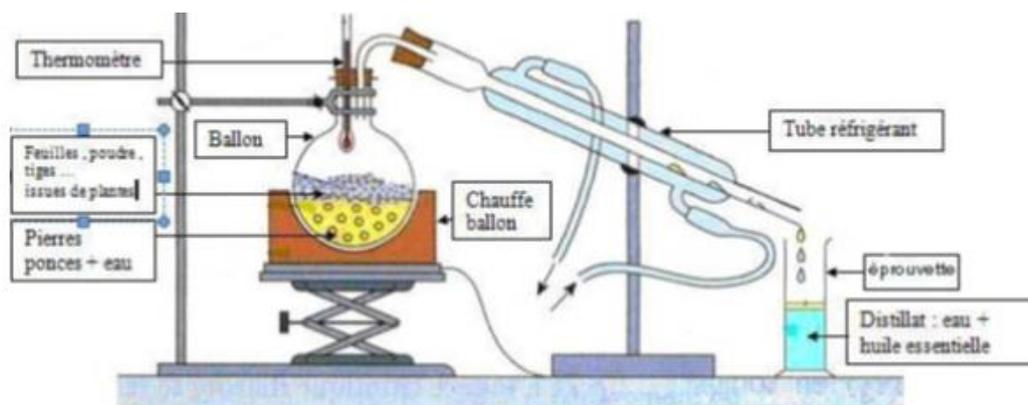


Figure 1.7 : Schéma du dispositif de l'hydro-distillation.

1.10.3.3 Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

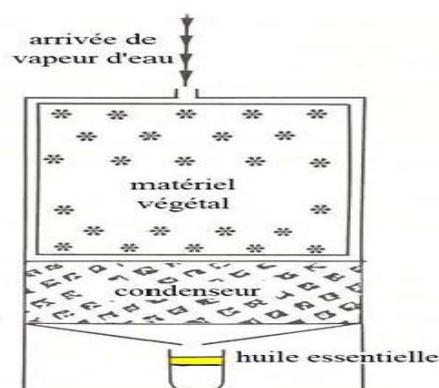


Figure1.8 : Montage d'hydrodiffusion

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur [39].

1.10.3.4 Extraction assistée par micro-onde

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques [41]. Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol), pour l'extraction des composés polaires ou bien en présence d'un solvant qui n'absorbe pas les microondes, (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extrait.

1.10.3.5 Extraction par gaz supercritique

Cette technique d'extraction permet d'extraire les principes actifs de la plante sans chauffage, le principe de ce procédé repose sur l'état supercritique du gaz carbonique, qui dans certaines conditions de pression et de température, se comporte comme un fluide qui a une densité d'un liquide et une viscosité d'un gaz. Il diffuse à travers les cellules de la plante, et extrait les principes actifs [42].

Les avantages de cette extraction sont :

- L'obtention des extraits aromatiques 100% naturels, sans trace de solvants.
- Dans ce procédé le risque de dégradation des produits fragiles est éliminé, à cause de la température adéquate (32 °C).

Les avantages de CO₂ supercritique sont:

- Facilité de manipulation,
- Non toxique, inflammable et sans odeur,
- Bon marché et disponible avec une grande pureté.

L'extraction par le fluide supercritique est une méthode très rapide. Elle permet, par simple changement des conditions de pression et de température, d'optimiser l'extraction et l'obtention d'extraits de grande qualité.

CHAPITRE 2

FORMULATION PHARMACEUTIQUE D'UNE EMULSION BUVABLE

2 Formulation pharmaceutique d'une Emulsion buvable

2.1 Généralités sur la formulation

La formulation est une opération industrielle consistant à fabriquer un produit homogène et stable, non toxique (pour une grande majorité d'applications), possédant des propriétés finales spécifiques et répondant aux exigences d'un cahier des charges fonctionnel (CDCF), en mélangeant des substances diverses [43].

C'est une activité technologique. Son objectif est la conception et la mise au point de produits artisanaux ou industriels. De nos jours la formulation est devenue l'une des branches les plus importantes de la chimie grâce au développement et l'innovation qui ne cessent d'accroître, elle consiste à mélanger différents composants afin d'en arriver à une formule permettant d'avoir un produit stable, non toxique et homogène, elle concerne non seulement le domaine pharmaceutiques, mais ainsi le domaine parapharmaceutiques, cosmétiques et l'agro-alimentaires, etc.

2.2 Différents domaines existant dans la formulation

La formulation touche toutes les industries de transformation de la matière depuis les industries amont produisant les matières premières jusqu'aux industries aval, directement en contact avec l'utilisateur final (industriel ou grand public), qui fabriquent des formulations prêtes à l'emploi on site :

2.2.1 Formulation agro-alimentaire

L'industrie alimentaire est basé sur quatre principe qui sont : la transformation des produits par cuisson ou fermentation, l'extraction, séparation ou bien la purification des constituants des produits naturels, d'effectuer des mélanges pour obtenir les goûts et les textures voulues, et enfin de stabiliser les produits de l'agriculture et de la pêche par séchage, traitement thermique ou frigorifique, etc.

2.2.2 Formulation cosmétique

Par définition, la cosmétique, terme générale appliqué à toute substance ou préparation destinée à être mise en contact avec les divers parties superficielles du corps humains ou avec les dents et les muqueuses buccales en vue exclusivement ou principalement de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de corriger les odeurs corporelles et/ou de les protéger ou les maintenir en bon état (CE 14/06/93) [49].

2.2.3 Formulation pharmaceutiques

Ce type de formulation consiste en générale au développement pharmaceutique et transformer un principe actif en un médicament [44]. Le développement regroupe plusieurs étapes de pré-formulation, formulation et optimisation [45-47].

L'utilisation des méthodes d'études de criblage des facteurs est très utile pour comprendre et définir l'influence des différents facteurs, la possibilité d'existence d'interactions entre les uns et les autres, et ainsi de prendre les bons choix pour la conduite d'une bonne formulation. [48]

2.3 Emulsions buvables

2.3.1 Définition des émulsions buvables

Une émulsion buvable est un système comprenant au moins deux liquides non miscibles, dont l'un est dispersé dans l'autre, sous une forme plus ou moins stable. Une émulsion est souvent décrite comme une dispersion de gouttelettes de l'une des phases dans l'autre. On distingue donc une phase dispersée et une phase dispersante [50].

Pour que l'émulsion soit durable (c'est-à-dire que l'état dispersé demeure lorsque l'agitation mécanique cesse), il est nécessaire d'utiliser un agent émulsionnant ou émulsifiant. Son rôle est de stabiliser le système dispersé en inhibant les phénomènes de dégradation. Les tensioactifs, les polymères et les solides divisés sont des agents émulsionnants. Ceux les plus largement utilisés sont les tensioactifs.

Selon la concentration des 3 composants (eau-huile-tensioactif(s)) et la méthode de préparation de l'émulsion (tailles des gouttelettes), les mélanges obtenus se présentent sous différents types [51] (Fig.2.1) :

- émulsions simples hydrophiles-lipophiles (H/L) ou lipophiles-hydrophiles (L/H),
- émulsions multiples L/H/L ou H/L/H qui sont des dispersions d'émulsion,

- émulsions submicroniques dont la taille des particules est inférieure à 1 micromètre,
- nano émulsions dont la taille des particules ne dépasse pas quelques centaines de nanomètre.

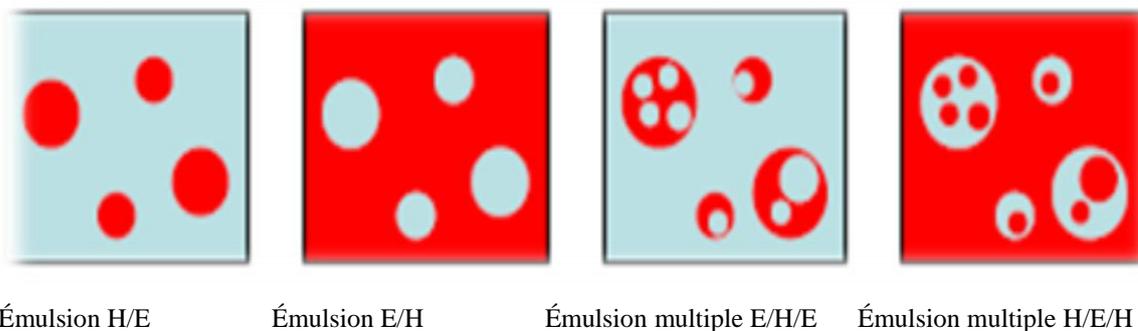


Figure 2.1: Représentation des différents types d'émulsion. [51].

Sachant que :

- ✓ En rouge: phase huileuse, en bleu: phase aqueuse.

2.3.2 Formulation d'une émulsion buvable :

Dans une émulsion buvable, aux trois éléments de base (huile, eau et émulsionnant) viennent s'ajouter des constituants divers : principes actifs, épaississants, aromatisants, colorants, conservateurs, etc., dans chaque cas, les trois constituants de base doivent être choisis avec beaucoup de soin pour avoir une émulsion aux caractéristiques bien déterminées [52].

2.3.3 Instabilité des émulsions

Le terme « stabilité des émulsions » désigne la capacité d'une émulsion à résister aux modifications de ses propriétés dans le temps. Les mécanismes physiques les plus communs responsables de l'instabilité des émulsions, sont illustrés schématiquement dans la (figure 2.2).

L'instabilité est divisée en 2 ordres :

- Instabilité d'ordre biologique ;
- Instabilité d'ordre physique tel que :
 - ✓ Le crémage et sédimentation
 - ✓ La coalescence

- ✓ La floculation
- ✓ Le murissement d'Ostwald

Cette instabilité est liée à divers facteurs :

Tension interfaciale

Elle tend à diminuer la surface de séparation et à rassembler les particules. C'est le phénomène de coalescence au cours duquel les particules dispersées grossissent pour aboutir à la séparation des phases.

Pesanteur

Elle tend à faire migrer les particules dispersées au sein de la phase dispersante en fonction de leur masse volumique ce qui aboutira au crémage ou à la sédimentation.

Potentiel électrocinétique (Potentiel Zeta)

La valeur du potentiel Zêta doit être élevée pour maintenir les particules dispersées éloignées les unes des autres. Lorsque les charges des particules sont totalement neutralisées, elles se rejoignent et provoquent la floculation [53].

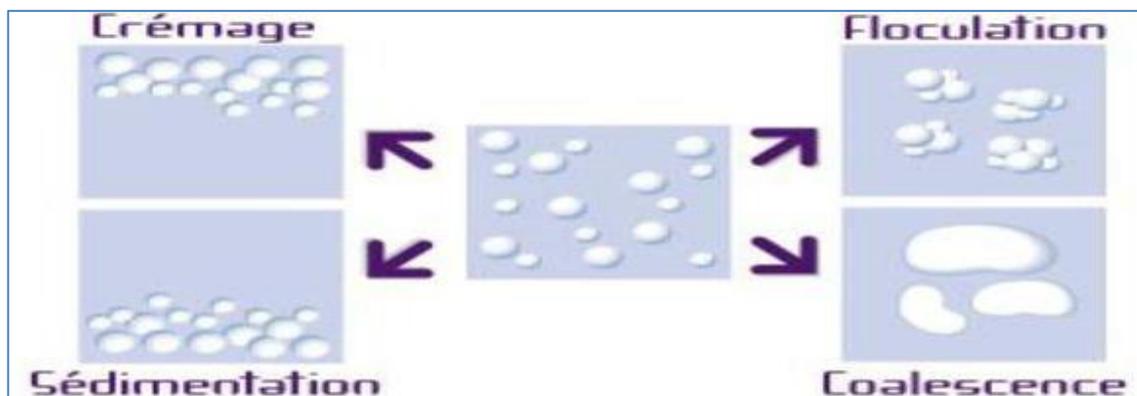


Figure 2.2:Mécanismes d'instabilité des émulsions. [54].

2.3.4 Balance Hydrophile Lipophile (HLB)

La balance hydrophile - lipophile (H.L.B) est une caractéristique des surfactifs. Elle est étroitement liée à la structure de la molécule. Elle représente l'équilibre entre les groupements hydrophiles et lipophiles et sa valeur est d'autant plus élevée que le surfactif est plus hydrophile. La valeur H.L.B est fonction directe de la partie hydrophile dans la molécule de surfactif, elle est élevée lorsque la fraction hydrophile est prédominante ; elle est faible si la molécule est plus lipophile qu'hydrophile.

2.4 Dispersion liquide-liquide

L'émulsion consiste à mélanger de manière stable deux phases non miscibles. Dans notre cas, il s'agit de l'eau et de l'huile. Lorsqu'on mélange ces deux phases par simple battage mécanique, assez énergiquement, l'émulsion semble se réaliser mais elle se sépare au bout de quelques temps (comme une vinaigrette). Pour stabiliser l'émulsion, on doit introduire un émulsifiant.

Un émulsifiant est une molécule dite amphiphile, parce qu'elle possède une partie hydrophile (qui aime l'eau) et une partie lipophile (=hydrophobe, qui aime l'huile). On peut la schématiser par la figure 2.3.

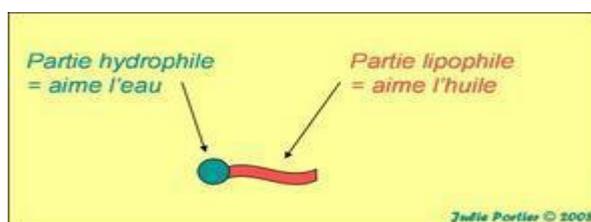


Figure 2.3 : Schéma d'un émulsifiant

Quand on introduit un émulsifiant dans un mélange d'eau et d'huile, il va réorganiser la matière de manière à ce que sa partie hydrophile soit en contact avec l'eau et sa partie lipophile en contact avec l'huile. Pour cela, une seule solution : former des gouttelettes. En fonction de la nature de l'émulsifiant, des proportions Huile/Eau (et certainement d'autres paramètres dont je n'ai pas encore connaissance) on obtiendra :

- Soit des gouttelettes d'huiles dans l'eau [55] :

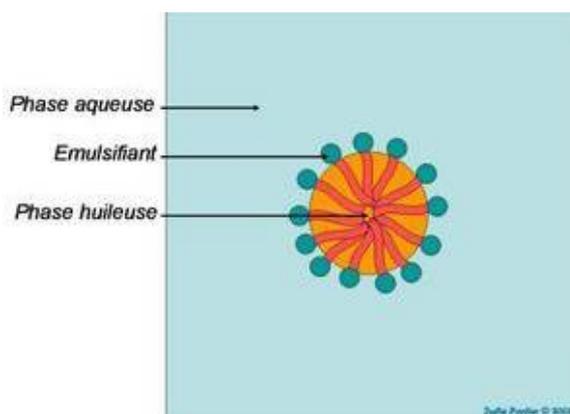


Figure 2.4 : Schéma d'une gouttelette H/E

- Soit des gouttelettes d'eau dans l'huile :

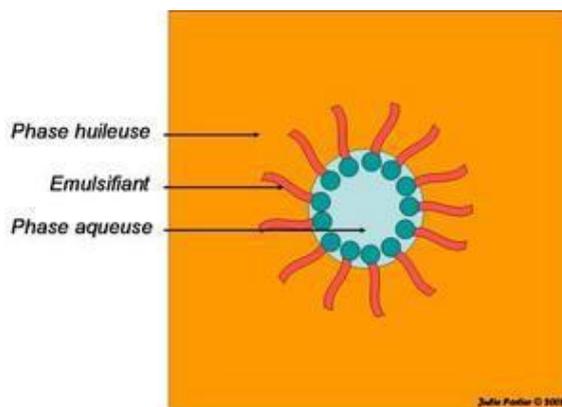


Figure 2.5: Schéma d'une gouttelette E/H

Selon les deux cas, on obtiendra alors une émulsion « huile dans eau » H/E ou « eau dans huile » E/H.

2.4.1 Emulsions H/E

L'huile est sous forme de gouttelettes entourées par l'émulsifiant (Figure 2.6). L'eau constitue la phase continue. Ce type d'émulsion a un fort pouvoir hydratant et pénètre rapidement. Quand on l'étale sur la peau, l'émulsion se rince facilement à l'eau, sans savon.

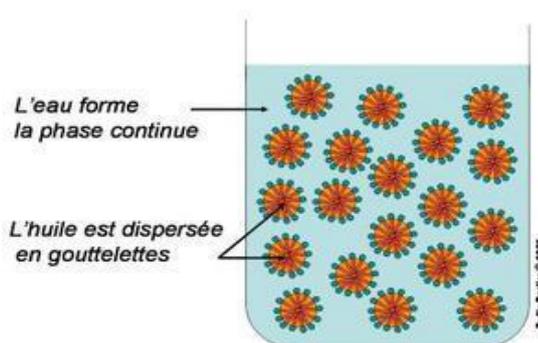


Figure 2.6: représentent émulsions H/E

2.4.2 Emulsions E/H

L'eau est sous forme de gouttelettes stabilisées par l'émulsifiant et dispersées dans la phase huileuse qui est continue (Figure 2.7). Ce type d'émulsion donne des crèmes nourrissantes et riches, qui laissent un film gras sur la peau. Elles ne se rincent pas à l'eau. Les émulsions E/H se conservent plus longtemps car les gouttelettes d'eau

sont « protégées » par l'huile. Les proportions Huile/Eau ne déterminent pas le sens de l'émulsion.

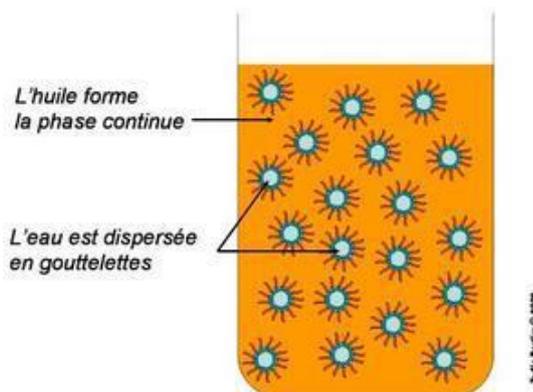


Figure 2.7: représentent émulsions E/H.

La phase continue n'est pas forcément la phase majoritaire. On peut avoir une émulsion Huile dans Eau même en introduisant 60% d'huile et 40% d'eau par exemple. Il y aura alors un grand nombre de gouttelettes d'huile [55].

Le sens de l'émulsion (H/E ou E/H) dépend en premier lieu de l'émulsifiant choisi. Pour faire simple, un émulsifiant très lipophile (qui se dissout facilement dans l'huile) donnera des émulsions E/H. Au contraire, un émulsifiant qui se dissout facilement dans l'eau donnera des émulsions H/E.

Pour caractériser les émulsifiants, on peut utiliser l'échelle HLB (Hydrophilic-Lipophilic Balance). Plus l'émulsifiant est hydrophile, plus l'HLB est élevé (Figure 2.8).



Figure 2.8 : HLB de l'émulsifiant

Les émulsifiants qui ont un HLB autour de 7/8 (certaines lécithines par exemple) peuvent donner des émulsions H/E et E/H. Dans ce cas, c'est la phase introduite majoritairement qui sera la phase continue.

CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

Le schéma directeur des différentes étapes de notre étude est illustré sur la figure 3.1 par l'organigramme suivant :

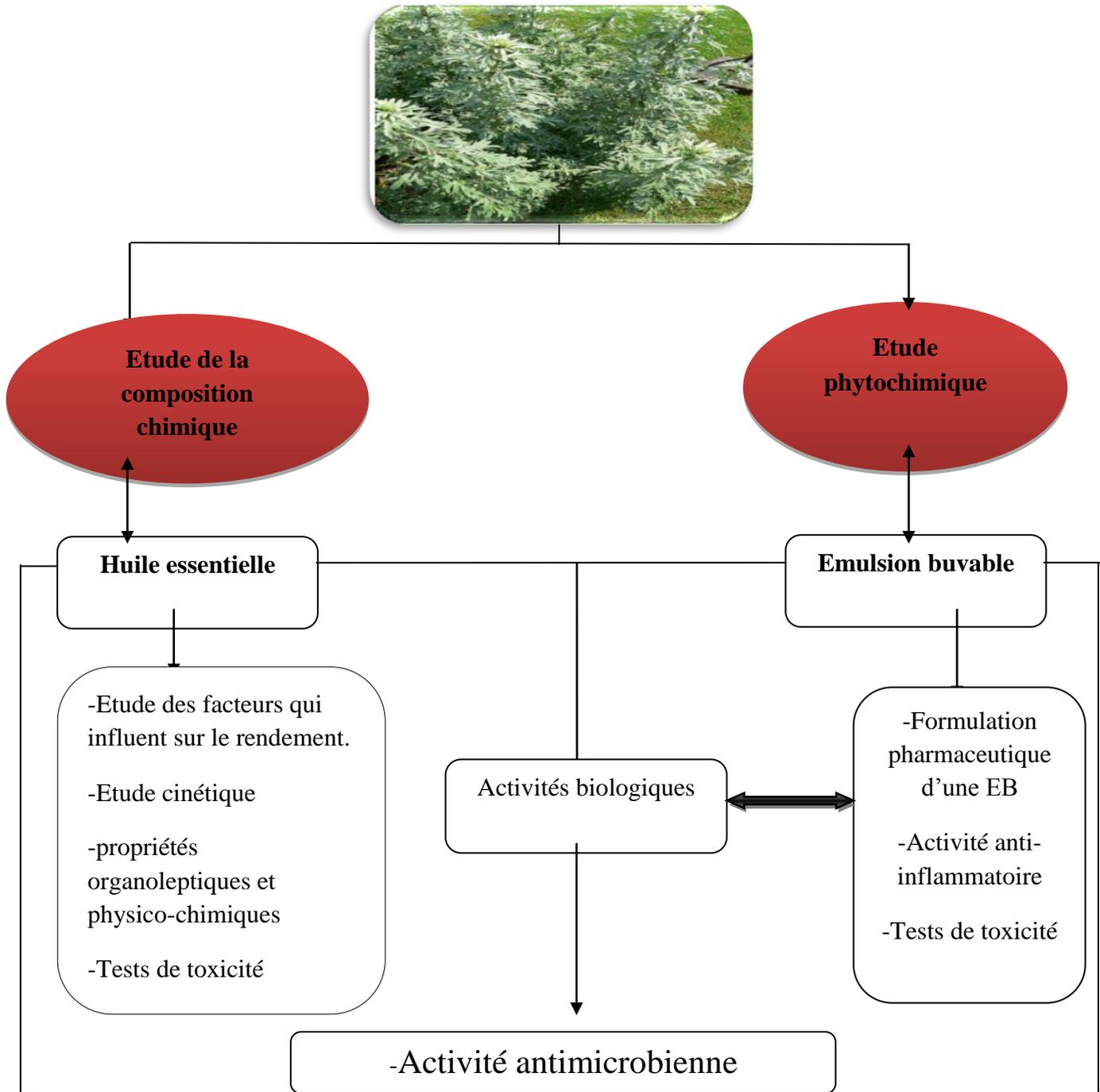


Figure 3.1 : Schéma directeur des différentes étapes de notre étude.

3.1 Matière végétale

3.1.1 Récolte, traitement et conservation

La matière végétale que nous avons utilisée lors de notre expérimentation est : l’Absinthe (*Artemisia absinthium L*) qui a été récoltée en Mars 2016. La plante provient de la région de Soumaa de la Wilaya de Blida située à 50 km au nord d’Alger (figure 3.2). La région de Soumaa possède un climat continental, humide, froid en hiver et sec et chaud en été.



Figure 3 .2 : Localisation de la récolte de la plante absinthe sur la région de Blida.

Les parties aériennes de la plante, représentées sur la figure 3.3, ont été séchées à température ambiante, à l’abri de la lumière et dans des endroits bien aérés (pour éviter les moisissures) et ont été conservées dans des sacs.



Figure 3.3 : Parties aériennes séchées de *l'Artemisia absinthium L.*

3.1.2 Identification botanique

L'identification et la systématique de la plante ont été confirmées au niveau du laboratoire de botanique du département d'Agronomie de l'Université Saâd Dahleb Blida1.

3.2 Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

L'extraction de l'huile essentielle de *l'Artemisia absinthium L* a été réalisée à l'échelle laboratoire du Département Génie des procédés de l'université Saad Dahleb Blida 1, en utilisant le procédé d'hydrodistillation. Nous avons étudié l'influence de certains paramètres sur le rendement en huile essentielle :

- ✓ La masse de la matière végétale.
- ✓ Le temps d'extraction (la cinétique).

3.2.1 Détermination de l'influence de la masse végétale à traiter

Nous avons effectué une série d'extraction en faisant varier la masse de 50g à 200g et en fixant le temps d'extraction constant pour chaque essai.

3.2.2 Détermination de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne de *l'Artemisia absinthium L*

Nous avons procédé à l'extraction de l'huile essentielle en réalisant des essais de 30 min à 120 min. notre objectif principal est d'optimiser le temps nécessaire pour obtenir le rendement maximale.

3.3 Mode opératoire et appareillage

La matière végétale de la partie aérienne (feuilles, tiges, fruits), préalablement pesée et broyée, beigne dans 500 ml d'eau dans un ballon de capacité de 1L.

Le ballon est relié à un réfrigérant par l'intermédiaire d'un T de distillation. La vapeur d'eau produite entraîne les constituants volatiles, qui après refroidissement et condensation dans le réfrigérant, sont recueillies dans le récipient (figure 3.4) à différents intervalles du temps pendant toute la durée de l'extraction qui dure 2 heures.



Figure 3.4 : Montage de l'hydrodistillation.

Le distillat recueilli subit un relargage par l'ajout de quelques cristaux de chlorure de sodium (le NaCl ayant plus d'affinité à l'eau que l'huile essentielle incite celle-ci à flotter puisque les huiles essentielles sont moins denses que l'eau).

L'hydrolat est ensuite transvasé dans une ampoule à décanter où l'huile essentielle est séparée de l'eau par une extraction liquide-liquide au moyen de l'éther diéthylique. Nous avons obtenu alors deux phases : une phase aqueuse, et une phase organique contenant l'huile essentielle. Cette opération est répétée deux fois afin de récupérer le maximum de l'huile essentielle. Nous avons récupéré la phase étherée qui est placée préalablement sur un desséchant de type sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) afin d'éliminer toute trace éventuelle d'eau.

L'huile essentielle est récupérée après l'évaporation de l'éther diéthylique dans un rotavape. L'huile essentielle récupérée est pesée afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse végétale. Cette huile essentielle est conservée dans le réfrigérateur à l'abri de la lumière et à une température de 4°C en vue de l'analyser.

3.3.1 Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite et la masse de la matière végétale, il est exprimé en pourcentage % et calculé par la formule suivante [35] :

$$R (\%) = M(HE) / M (MV) \times 100$$

Ou :

R(%) : Rendement en huile essentielle (en g) pour 100 g de matière sèche.

M(HE) : Masse de l'huile essentielle (g).

M(MV) : Masse de la matière végétale sèche utilisée (g).

3.4 Propriétés physico-chimiques et organoleptiques

Les propriétés organoleptiques (aspect, couleur, odeur) et physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle de l'*Artemisia absinthium L* extraite par hydrodistillation. Nos essais ont été effectués selon un protocole précis et obéissent aux normes édictées par AFNOR [37]. Les modes opératoires sont donnés en Annexe A.

3.5 Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS)

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation d'*Artemisia absinthium L* a été analysée à au sein du centre de recherche d'analyse physico-chimique (CRAPC) à Busmail, en utilisant un chromatographe Hewlett packard série Agilent 6890 N, couplée à un spectromètre de masse Hewlett packard, série Agilent 5973, avec les conditions opératoires suivantes :

Injecteur

Température : 250°C

Mode d'injection : Splitless

Volume injecté : 0,2 µl

Colonne

Type : Hp-5ms

Dimensions : long 30m * D int 250 µm * épaisseur film 0,25 µm

Phase stationnaire : diphényle (5%) – Diméthyl arylène siloxane

Température du four : 60°C pendant 8 min, 2°C/min jusqu'à 280°C, 10 min

Gaz vecteur : Hélium pur 99,9998 %

Débit GV : 0,5 ml/min.

Détecteur de masse

Température de l'interface : 280 °C

Type d'ionisation : électronique

Intensité du filament : 70 Ev

Type de l'analyseur de masse : Quadripôle

Température du quadripôle : 150 °.

3. 6 Formulation pharmaceutique et étude phytochimique

3.6.1 Formulation d'une émulsion buvable à base d'huile essentielle d'*Artemisia Absinthium L*

Nous avons abordé les différentes techniques de mise en œuvre pour la formulation de l'émulsion buvable ainsi que les méthodes de caractérisation utilisées [44].

3.6.1.1 Etude de pré-formulation

➤ Matériel utilisé pour la préparation des essais

- Homogénéisateur.
- Plaque d'agitation.
- Verreries courantes de laboratoire (Bécher de 250 ml, éprouvette 100ml).
- Balance électronique.
- Thermomètre.

➤ Matériel utilisé pour la caractérisation

- PH mètre de-type WTW INOLAB.
- Rhéomètre: L'étude du comportement rhéologique de l'émulsion buvable est réalisée à l'aide d'un rhéomètre rotatif type ANTON PAAR PHYSICA RHEOLAB MCR 302 muni d'un système de mesure de type « plan-plan » de 20 mm de diamètre. Ce dernier est piloté par un microordinateur qui permet la commande, la saisie et l'analyse des résultats d'étude.



Figure3.5 : Rhéomètre Anton PaarModular Compact RhéomètreMCR 302.

- Microscope optique : La microscopie optique est une technique très utile pour l'étude de l'émulsion buvable, un microscope assez puissant permet de visualiser des particules de taille supérieure au micromètre.

L'étude microscopique a été effectuée sur un microscope optique de type OPTIKA à têtes trinoculaire rotatives sur 360°et des objectifs achromatique de 10 x, 40x et 100x et capable de capturer des photos de haute résolution.

- Centrifugeuse (pour l'étude de stabilité accélérée): Les principaux phénomènes d'instabilité sont appréciés dans une éprouvette graduée par l'observation à intervalles de temps réguliers et sous des conditions physiques rigoureuses.

La coalescence des gouttes ou le déphasage ont été recherchés par centrifugation en utilisant une centrifugeuse de type Hettich zentraifugen-EBA20-à vitesse constante (6000 tr/mn pendant 10 minutes).



Figure 3.6 : Centrifugeuse.

❖ **PRODUITS UTILISES :**

• **Lécithine de soja (TA) :**

La lécithine de soja est un émulsifiant végétal très intéressant pour ses propriétés émoullientes et son excellente affinité avec la peau. Les lécithines sont des émulsifiants

naturels présents notamment dans les fèves de soja, les graines de tournesol et de colza, mais aussi dans le jaune d'œuf. Les lécithines couvrent une large gamme de HLB variant de 2 à 12, ce qui permet de choisir celle qui sera la plus adaptée au type d'émulsion choisie.

La lécithine que nous avons utilisée est une lécithine de soja déshuilée contenant 95% de phospholipide avec une HLB=8, soluble dans l'eau. Incorporée dans les émulsions, elle en augmentera la stabilité.

• **Conservateur BIO (Pépin de pamplemousse) :**

Souvent désigné par l'abréviation EPP, ce conservateur d'origine naturelle permet de prolonger la durée de vie des produits pharmaceutiques qui contiennent une phase aqueuse [56].

Cette version de l'extrait de pépins de pamplemousse est à usage comme conservateur pharmaceutique exclusivement ; elle n'est pas adaptée à la voie interne, ni à une utilisation pure. Elle n'a aucun effet thérapeutique documenté [56].

➤ **L'eau déminéralisée :**

Liquide incolore et inodore, (Milieu de dispersion)

➤ **Xanthane($C_{35}H_{49}O_{29}$)_n :**

Le xanthane (E 415) est un polysaccharide exocellulaire produit par une bactérie appelée « *Xanthomonas campestris* » intervenant dans le métabolisme de certains végétaux.

La gomme xanthane (GX) est un polymère à caractère anionique, de masse molaire très élevée de l'ordre de $1,5 \times 10^6$ et 5×10^6 g/mol selon la fermentation, souvent neutralisé dans les produits alimentaires par la présence de cations. La gomme xanthane est soluble dans l'eau froide. La solubilisation de cette gomme se fait en deux étapes. La première étape est la dispersion des grains constituant la poudre (l'individualisation des particules). La dispersion sera d'autant plus rapide que la taille des grains est élevée. La deuxième étape est l'hydratation, Les molécules d'eau se fixent progressivement sur les macromolécules et réduisent de ce fait les interactions soluté-soluté, jusqu'à l'individualisation des macromolécules. La gomme xanthane est insoluble dans la plupart des solvants organiques.

La gomme xanthane accepte bien les mélanges avec des sels et d'autres hydrocolloïdes; elle forme des gels de consistance diverse avec les galactomannanes.

Longtemps, seule la gomme xanthane a été autorisée pour les applications alimentaires comme agent épaississant, gélifiant, stabilisant et suspendant [59].

➤ **Glucose :**

Le glucose est un edulcorant, Poudre fine, inodore de couleur blanche, soluble dans l'eau, ce dernier est utilisé dans la formulation afin d'assurer le goût sucré de l'émulsion buvable.

3.6.1.2 Formulation

Le but de cette partie est d'optimiser la formulation d'une émulsion buvable, anti-inflammatoire, antimicrobienne. Pour ce faire on utilise des techniques des plans d'expériences qui permettent de planifier les essais de formulation, de rationaliser le nombre et d'assurer la qualité des résultats [45].

A. Méthode des plans d'expériences

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt Y , et des variables X_i . Pour cela, il faut suivre des règles mathématiques telles que les plans d'expériences si l'on s'intéresse à une fonction du type : $Y = F(X_i)$ permettant de lier une réponse à différentes variables. Cette méthode permet d'obtenir un maximum d'informations avec le minimum d'expériences.

Un expérimentateur qui lance une étude s'intéresse à une grandeur qu'il mesure à chaque essai. Cette grandeur s'appelle la « réponse », c'est la grandeur d'intérêt. La valeur de cette grandeur dépend de plusieurs variables ou encore « facteur » [45].

➤ **La Modélisation en Surface de Réponse(RSM)**

La matrice d'expériences qui répond à l'objectif du RSM est un plan de mélange de type D-optimal. Cette matrice générée par un algorithme du logiciel MODDE 6.0, contient 21 essais, dont 4 représentant le centre de gravité du plan, afin de vérifier la reproductibilité. Le D-optimal permet la réalisation d'un nombre minimal d'essais et l'obtention d'un maximum d'information avec un minimum de variabilité.

B. Méthode de préparation de l'émulsion buvable

Le mode opératoire se résume comme suivant :

➤ **Préparation de la phase aqueuse**

La phase aqueuse n'est d'autres que l'eau déminéralisée dans lequel on a fait dissoudre du tensioactif (TA) qui est la lécithine de soja, le glucose et le xanthane comme viscosifiant. Le mélange est porté sur un agitateur magnétique, jusqu'à fusion complète de tous les composants.

➤ **La phase organique**

La phase organique est l'huile essentielle *d'Artemisia Absinthium L* extraite dans la première partie de notre travail.

➤ **Préparation de l'émulsion buvable**

La phase aqueuse et la phase organique (l'HE *d'Artemisia Absinthium L*) sont met sous agitation mécanique à température de 25-30°C pendant dix minutes puis homogénéisé à l'aide d'un homogénéiseur de type ULTRA-TURRAX (IKA T10 Basic) afin d'assurer une bonne stabilité de l'émulsion formulé, on introduit l'extrait de pépin de pamplemousse comme conservateur (2 gouttes pour 100 g d'émulsion).



Figure 3.7 : Préparation de l'émulsion buvable par un homogénéiseur.

3.6.2 Caractérisation de l'émulsion buvable

3.6.2.1 Caractérisation physico-chimique

a. Contrôle du pH : la mesure du pH est un paramètre important étant donné que le produit est conçu afin qu'il soit consommé directement par l'être humain.

b. Évaluation de la stabilité et vieillissement accéléré

Les principaux phénomènes d'instabilité des émulsions buvables sont appréciés dans une éprouvette graduée par l'observation à intervalles de temps réguliers et sous des conditions physiques rigoureuses.

La coalescence des gouttes ou le déphasage ont été recherchés par centrifugation en utilisant une centrifugeuse de type Hettich zentraifugen-EBA20 (voir figure 3.6) à vitesse constante de 6000 tr/mn pendant 10 minutes.

C. Caractérisation morphologique

Le but de cette caractérisation est l'évaluation de la dispersion des particules dans la phase continue. L'observation de l'état morphologique a été effectuée avec un microscope optique sous un agrandissement de (10x100).

d. Détermination de la viscosité apparente par la rhéologie

Le test qui porte notre intérêt et celui des courbes d'écoulement en régime continu sous cisaillement variable, se traduisant par la viscosité apparente, en fonction de la vitesse de cisaillement, :

Les courbes d'écoulement ont été obtenus on faisant varier la vitesse de cisaillement par pas logarithmique de **0,06 à 1000 s⁻¹**, avec un nombre de point de mesure de **23**, et un temps de mesure pour chaque point suffisamment long pour atteindre l'état d'équilibre, auquel la viscosité enregistre un palier se traduisant par un équilibre dynamique des deux cinétiques antagonistes de déstructuration – restructuration.

Pour le traitement de modélisation des courbes d'écoulement d'équilibre, on privilégie l'utilisation du logiciel STATISTICA qui offre une multitude de technique de méthodes d'optimisation non linéaires se basant sur un calcul itératif

e. Mesure de la densité relative

La densité relative est mesurée par un pycnomètre. Le pycnomètre est pesé à vide puis rempli d'eau à une température maintenue 20°C, par la suite il est rempli avec l'émulsion buvable puis pesé à la même température.

La densité relative « d » est déduite à partir de la relation suivante :

$$d = \frac{M_{éb} - M_o}{M_{H2O} - M_o}$$

Où :

d : densité relative.

M_{H2O} : masse de l'eau.

M_{éb} : masse de l'émulsion buvable.

M₀ : masse de pycnomètre vide.

3.6.2.2 Tests des activités biologiques (Tests d'activités antimicrobiennes)

➤ Etude de l'activité antimicrobienne de l'Emulsion Buvable et de l'HE d'*Artemisia Absinthium L*

Pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'émulsion buvable, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé appelée aromatoگرامme.

➤ Technique en milieu solide : Méthode des aromatoگرامmes

L'aromatoگرامme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée Antibioگرامme [60]. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des Produits à tester et de s'appliquer à un grand nombre d'espèces bactériennes [61].

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible à la substance testée, plus il est petit plus la bactérie est résistante selon l'illustration de la figure 3.8.

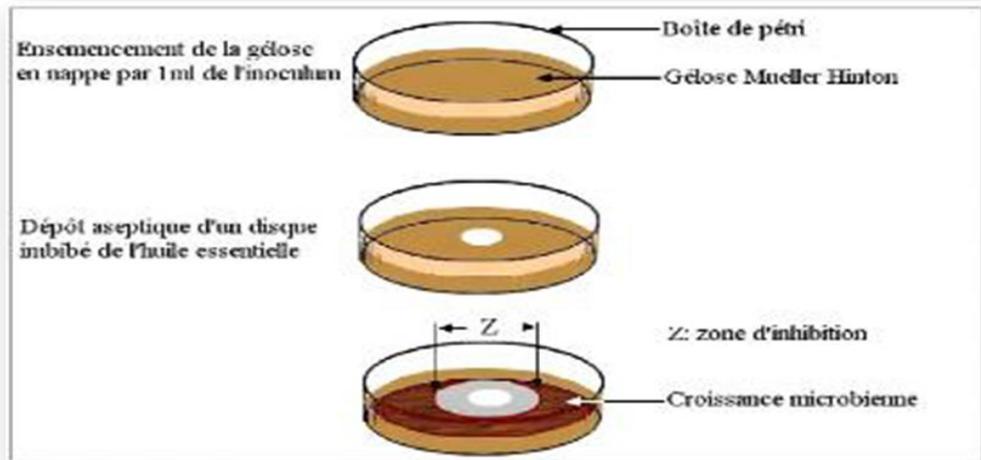


Figure 3.8 : Illustration de la méthode d'aromatogramme.

➤ **Microorganismes utilisés**

Les tests antimicrobiens ont été réalisés au niveau du laboratoire d'hygiène de Blida, pour les bactéries et les champignons.

Les souches utilisées dans notre étude sont référencées ATCC (American Type Culture Collection). Ils sont résumés dans le tableau 3.1 et ont été choisis pour leurs contaminations élevées sur les denrées alimentaires et leur pathogénicité.

Les tests sont réalisés sur quatre bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Bacillus*), et sur trois Champignons (*Candida albicans*, *sacare* et *Aspergillus flavus*).

Tableau 3.1 : Souches microbiennes testées et leurs références.

Souches	Espèces bactériennes utilisées	Gram	Référence ATCC
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	(-)	25922
	<i>Staphylococcus aureus</i>	(+)	25923
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(-)	27853
	<i>Bacillus ceureus</i>	(+)	10876
Champignons	Sacare	/	4006
	<i>Candida albicans</i>	/	24433
	<i>Aspergillus flavus</i>	/	2035

➤ **Milieux de culture**

Suivant la méthode employée et selon les souches, les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- Gélose Nutritive et Gélose Mueller Hinton (MH) pour les bactéries,
- Gélose Sabouraud dextrose (GSD), appelée communément Sabouraud Merck pour les champignons.

➤ **Protocole expérimental**

• **Préparation de préculture:**

Les tests antimicrobiens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de (18 à 24 heures). Le repiquage des souches est effectué par ensemencement de la souche microbienne dans un milieu liquide. Les germes utilisés ont été cultivés sur gélose nutritive, les boîtes ainsi ensemencées sont incubées à 37°C pendant 18 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les champignons.

• **Préparation de l'inoculum:**

A partir des cultures jeunes. On prélève 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 10 ml d'eau physiologique stérile, on agite au vortex pendant quelques secondes. La standardisation de la suspension correspond à une concentration optimale de 10^7 à 10^8 germes/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm.

• **Ensemencement:**

Des boîtes de PETRIE stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la solution bactérienne, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

• **Dépôts des disques :**

A l'aide d'une pince stérile, les disques stériles de papier de Wathman 9 mm du diamètre, contenant l'huile essentielle et l'émulsion buvable d'*Artemisia absinthium L* sont déposés sur la surface gélosée. Après diffusion de l'HE et l'EB dans la gélose pendant 4 heures à température ambiante, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 25°C pendant 48 heures pour les champignons.

- **Lecture:**

La lecture s'effectue après l'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (le diamètre du disque inclus), La lecture se fait à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition [61].

- Non sensible(-) ou résistante : diamètre < 8 mm
- Peu sensible(+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- sensible (++) ou intermédiaire : diamètre compris entre 15 à 19 mm
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

3.6.2.3. Test d'activité pharmacologique (test anti-inflammatoire)

➤ Introduction :

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à diverse agression qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse, son but est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire, ou par anomalie quantitative ou qualitative des cellules intervenant dans l'inflammation.

La phytothérapie a été utilisée depuis des siècles pour traiter les affections, En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expériences des populations ainsi que de la médecine arabe classique [62].

C'est dans ce but s'inscrit notre travail qui consiste à évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'émulsion buvable à base d'huile essentielle de l'Absinthe, cette activité anti-inflammatoire a été faite au niveau de laboratoire de pharmacotoxicologie à Sidal Antibiotical Medea.

➤ Méthode d'œdème à la Carraghénine chez la souris selon Levy

La mise en évidence de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode de Levy [63].

➤ **Principe :**

L'injection de la Carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris, provoque une réaction inflammatoire qui peut être, réduite par un produit anti-inflammatoire. Cette étude permis de comparer la réaction de l'œdème plantaire après administration de dose différente de produit anti-inflammatoire et de produit de référence correspondant.

➤ **Mode opératoire :**

Le test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'émulsion buvable issue de la partie aérienne de l'Absinthe à une concentration de 0,01mg, sur l'œdème des pattes postérieures provoquées par l'injection d'une solution de la Carraghénine à 1 % chez les souris.

La préparation de la solution de la Carraghénine (1%) à été faite par une dilution de 50mg de la Carraghénine dans 5ml d'eau physiologique. Les souris albinos sont réparties en 3 lots de 5 souris dont le poids corporel est compris entre 18g et 23g.

➤ **Au temps T_0 :** Administrer aux trois lots les suspensions suivantes:

- **Lot témoin :** chaque souris reçoit 0,5 ml d'eau distillée
- **Lot essai 1 :** chaque souris reçoit 0,5 ml du l'EB à la dose 0,01 mg
- **Lot essai 2 :** chaque souris reçoit 0,5 ml du produit de référence (Clofenal) (Déclofénac de sodium à 12,5mg/kg)

➤ **Au temps $T_0+30\text{min}$:**

- La solution de la Carraghénine à 1% est injectée sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0,025ml à tous les souris mis en expérience.

➤ **Au temps $T_0+4\text{h}$:**

- Après avoir sacrifié les souris, couper les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et les pesés sur une balance analytique.

➤ **Expression des résultats**

- Calculer la moyenne arithmétique des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot.

- Calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) et (% de réduction d'œdème) par les formules suivantes [63] :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{Moyenne des poids de la patte gauche} - \text{Moyenne des poids de la patte droite}}{\text{Moyenne des poids de la patte droite}} \times 100$$

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

La figure 3.9 illustre les différentes étapes de l'activité anti-inflammatoire effectuée au niveau de laboratoire de pharmacotoxicologie à Sidal Antibiotic Medea.



Administration des solutions préparées Par voie orale.



Injecteion de la carraghénine à 1% sous L'aponévrose des pattes gauches.



Sacrifier les souris.



Couper les pattes postérieures à la Hauteur de l'articulation.



les pâtes coupées



Peser les pattes droites et gauches

Figure 3.9: Différentes étapes de l'activité anti inflammatoire

3.6.2.4 Etude de tests de Toxicité d'HE et de l'EB d'Artemisia Absinthium L

Pour évaluer le test de toxicité de l'huile essentielle et l'émulsion buvable nous avons adopté la méthode de l'essai de toxicité anormal par voie orale au niveau de laboratoire de pharmacotoxicologie à Sidal Antibiotic Medea [70].

A. Méthode de l'essai de toxicité anormal :

a. Principe :

Le contrôle consiste en l'administration à des souris, une dose unique et adéquate de produit par voie orale.

-Aucune mortalité ou anomalie ne doivent être constatées après 48 heures.

b .Matériels et Réactif :

➤ Matériels :

- Cages transparentes en polypropylène
- Balance analytique de précision
- Balance pour animaux de laboratoire
- Verrerie (bêchers, fioles, pipettes graduée)
- Canule pour gavage de 2ml
- Coton hydrophile
- Fiche cartonnée pour écrire les renseignements des produits à analyser

- Porte fiche
- Alcool

➤ **Produit à analyser :**

- Echantillon (produit fini ou matière première)
- Dosage
- N °de lot
- provenance

➤ **Réactif biologique :**

- Animaux : Souris Albinos
- Origine : Antibiotical-SAIDAL –MEDEA
- Sexe : male ou femelle
- Poids : 17 à 24 g
- Nombre : 05
- Conditions d'hébergement :
 - ✓ Temperature : 20 – 24°C
 - ✓ Humidité:50 ±10%

c. Mode opératoire :

- Les souris sont mises à jeun la veille (minimum 18 heures) et privées d'eau 1heurs avant l'essai.
- Placer la sonde du côté gauche de la bouche de la souris avec un angle de 45° et l'insérer délicatement en longeant le palais
- Redresser la seringue au vertical en douceur et la descendre sans qu'il y ait de résistance. On ne doit jamais forcer.
- Administrer le volume à tester (l'HE et l'EB d'Artemisia Absinthium L de concentration 0,01mg) et retirer la sonde.

Sachant que :

- La quantité de substance à examiner est indiquée dans la monographie.
- La durée de l'injection est de 15 à 30 Secondes sauf indication contraire dans la monographie.

d. Interprétation des résultats :

- Sauf indication de la monographie faire la lecture 24 heures après l'essai.
- Absence de mortalité : le produit est conforme.
- 2 Souris ou plus meurent durant la période d'observation : le produit est non conforme.
- 1 Souris meurent durant la période d'observation : refaire l'essai dans mêmes conditions que précédemment [71]:
 - ✓ Absence de mortalité : le produit est conforme.
 - ✓ Mortalité durant la période d'observation : le produit est non conforme.

La figure3.10 illustre les différentes étapes de tests de Toxicité effectuée au niveau de laboratoire de pharmacotoxicologie à Sidal Antibiotic Medea.

➤ **Au temps T_0** : Administrer aux deux lots les suspensions suivantes:

- **Lot essai 1** : chaque souris reçoit 0,5 ml du l'EB.
- **Lot essai 2** : chaque souris reçoit 0,5 ml de l'huile essentielle *d'Artemisia Absinthium L.*



Administration des solutions testées par voie orale. Noté les résultats après 48 h.

Figure3.10 : Différentes étapes du test de Toxicité.

CHAPITRE 4 : RESULTATS ET DISCUSSION

Dans ce chapitre nous allons exposer et discuté l'essentiel des résultats expérimentaux obtenues de l'extraction et caractérisation de l'huile essentielle et l'émulsion buvable formulée.

4.1 Extraction de l'huile essentielle d'*Artemisia Absinthium L* par hydrodistillation

4.1.1 Paramètres influençant le rendement en HE

Les paramètres qui influent sur le rendement en huile essentielle sont :

- La masse végétale
- Le temps d'extraction (la cinétique d'extraction)

4.1.1.1 Influence de la masse végétale

Pour ce premier paramètre, nous avons considéré le temps d'extraction constant de 2h et nous avons varié la masse végétale de 50 à 200 g. La figure 4.1 illustre la variation du rendement en fonction de la masse végétale.

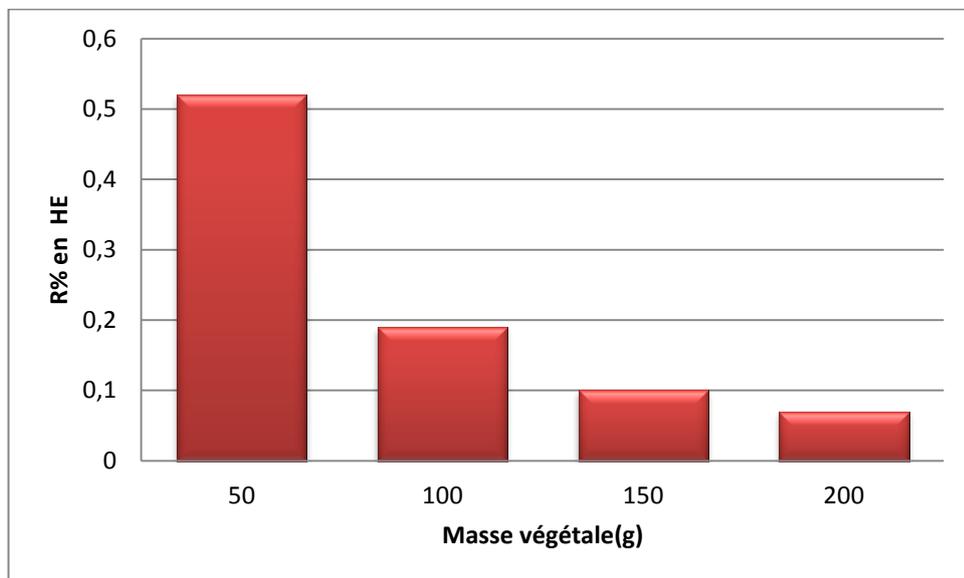


Figure 4.1 : Influence de la masse de la matière végétale sur le rendement en huile essentielle

Nous constatons, d'après ces résultats que le rendement en HE varie inversement avec l'augmentation de la masse de la matière végétale, il est maximal lorsque la masse est égale à 50 g. Lorsque la masse augmente les rendements diminuent. Cela est dû probablement au tassement de la matière végétale. En effet, un tassement insuffisant ou excessif de la matière végétale impose à la vapeur d'emprunter des chemins préférentiels, sans entrer en contact effectif avec l'ensemble de la matière végétale, et par conséquent le rendement diminue. Pour ces raisons, nous avons opté pour une masse végétale de 50 g qui semble être la masse optimale à traiter dans le dispositif d'extraction pour un ballon de capacité de 1L.

Le rendement en HE de 0,25% est similaire à celui trouvé par Weiss et al [64] par contre, d'après les travaux de Orav et al [65], les rendements en HE de différentes régions de Tunisie ont donné des valeurs plus importantes : Gafsa (1,24%), kasserine (1,87%) et Ghar dimaou (2.22%). Cette différence en rendement peut être attribuée à de nombreux facteurs : stade de croissance, condition pédoclimatiques et édaphique de la région, technique d'extraction, etc.

4.1.1.2 Evolution du rendement en HE en fonction de la durée d'extraction (cinétique)

En théorie, la durée d'extraction est le temps nécessaire à la récupération de la totalité de l'huile contenue dans la matière végétale. Or en pratique, il est difficile de récupérer toute l'huile. Ce temps correspond alors au moment pour lequel nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Il détermine la fin du processus. Lors de cette étude, un suivi cinétique a été réalisé sur l'extraction de l'huile essentielle de la matière végétale (la partie aérienne) par HD.

Pour cette étude nous avons choisi les paramètres qui ont donné le rendement le plus élevé c'est à dire (50g) de la partie aérienne d'*Artemisia Absinthium L*, et le temps d'extraction de (2h). La figure montre la cinétique d'hydrodistillation de l'HE.

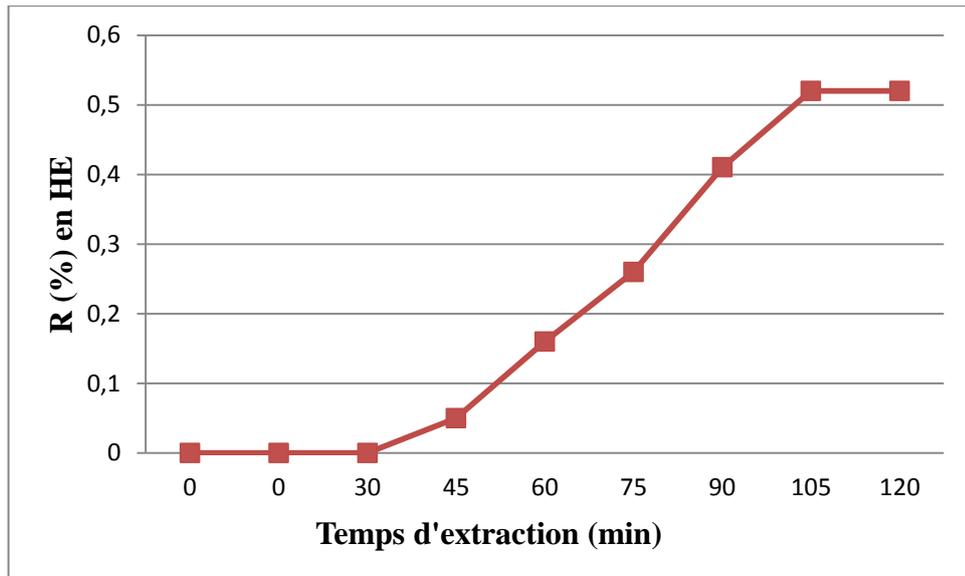


Figure 4. 2 : Evolution du rendement en fonction du temps

D'après la figure 4.2, nous constatons que la cinétique se divise en trois étapes :

- La première étape correspond au temps mort il est de l'ordre de 30 min, cette étape durant laquelle aucune extraction d'huile essentielle ne se produit.
- La deuxième étape représente une extraction plus ou moins rapide. On observe une augmentation significative du rendement.
- La troisième étape correspond à une ligne horizontale qui enregistre la fin d'extraction et au cours de cette étape la courbe tend vers un palier qui correspond au rendement maximal possible de l'ordre de 0,52 %.

4.2 Caractérisation de l'huile essentielle d'*Artemisia Absinthium L*

Les propriétés organoleptiques et physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle.

4.2.1 Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle

L'huile essentielle de la partie aérienne d'*Artemisia Absinthium L* obtenue par hydrodistillation représenté sur la figure 4.3, présente les caractères organoleptiques regroupés dans le tableau 4.1

Tableau 4.1: Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'*Artemisia Absinthium L*

Aspect	Couleur	Odeur
Liquide	Bleu foncée	Aromatique caractéristique de la plante



Figure 4.3: Huile essentielle de l’Absinthe.

4.2.2 Propriétés physico-chimiques de l’huile essentielle *d’Artemisia Absinthium L*

Les résultats des analyses physico-chimiques sont regroupés dans le tableau 4.2

Tableau 4.2 : Propriétés physico-chimiques l’huile essentielle *d’Artemisia Absinthium L*

Indice de réfraction	1,375
Indice d’acide	2,2
Indice d’ester	26,6

Nous constatons que la valeur de l’indice de réfraction de l’huile essentielle mesurée est supérieure à l’indice de réfraction de l’eau à 20°C (1,333).

L’indice d’acide (IA) donne une idée sur le taux des acides libres dans l’HE. Une valeur élevée indique une dégradation d’HE (hydrolyse des esters) durant sa conservation. Dans notre étude la valeur d’indice d’acide est faible ce qui prouve une bonne conservation de l’huile essentielle [37]

L’indice d’ester de notre HE est très élevé (26,6).

4.3 Analyse de l’huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS)

L’huile essentielle extraite par hydrodistillation a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Le tableau 4.3 regroupe la composition qualitative et quantitative de l’huile essentielle.

Tableau 4.3 : Composition chimique de l'huile essentielle de l'Absinthe

Ordre d'élution	Noms de composés	Temps de rétention (min)	Pourcentage
1	&.-Pinene	11.449	0.530%
2	β.-Myrcene	12.630	0.646%
3	3-Carene	13.430	0.268%
4	1,4-Cyclohexadiene	14.852	0.441%
5	Cyclohexadiene,	17.208	0.343%
6	&Thujone	20.529	1.337%
7	βThujone	21.676	45.646%
8	Benzene	25.801	0.958%
9	Caryophyllene	41.788	2.101%
10	3-ethenyl- Cyclopentene	44.973	0.321%
11	(+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene	45.658	0.844%
12	Naphthalene	51.692	1.002%
13	Cyclohexene	51.918	0.782%
14	-2,6-Octadien-1-ol	52.988	0.422%
15	Acide benzoïque	53.378	0.594%
16	1-Naphthalenol	53.788	2.541%
17	2-Naphthalenemethanol	55.099	0.958%
18	2-Naphthalenemethanol	55.769	3.415%
19	Azulene	60.265	25.95%
20	1-ethyl-3,5-dimethyl- Benzene	74.025	1.685%

4.4 Formulation pharmaceutique et étude phytochimique

4.4.1 Formulation et Caractérisation de l'émulsion buvable à base d'huile essentielle d'*Artemisia Absinthium L*

4.4.1.1 Formulation

La matrice d'expériences proposée par le logiciel est donnée dans le tableau 4.4.

Tableau 4.4: Matrice d'expériences.

N° Essai	Ordre aléatoire	(Q) en Xanthane (g/100ml)	(Q) en Glucose (g/100ml)	(Q) en Conservateur (g/100ml)	(Q) en HE (g/100ml)	(Q) en TA (g/100ml)	EAU Volume en (ml)
N1	7	0,003	0,05	0,001	0,02	0,0025	0,9235
N2	15	0,003	0,05	0,001	0,0145	0,005	0,9265
N3	1	0,001	0,05	0,001	0,02	0,005	0,923
N4	10	0,003	0,05	0,001	0,02	0,005	0,921
N5	6	0,001	0,05	0,001	0,019	0,0025	0,9265
N6	12	0,003	0,05	0,001	0,017	0,0025	0,9265
N7	14	0,001	0,05	0,001	0,0165	0,005	0,9265
N8	2	0,001	0,05	0,001	0,02	0,00333333	0,924667
N9	18	0,001	0,05	0,001	0,0173333	0,00416667	0,9265
N10	17	0,003	0,05	0,001	0,02	0,00416667	0,921833
N11	16	0,003	0,05	0,001	0,0163333	0,005	0,924667
N12	3	0,003	0,05	0,001	0,0181667	0,005	0,922833
N13	8	0,003	0,05	0,001	0,0161667	0,00333333	0,9265
N14	21	0,0023333	0,05	0,001	0,02	0,0025	0,924167
N15	19	0,0016666	0,05	0,001	0,02	0,005	0,922333
N16	13	0,0016666	0,05	0,001	0,0183334	0,0025	0,9265
N17	4	0,0023333	0,05	0,001	0,0151667	0,005	0,9265
N18	11	0,002	0,05	0,001	0,018375	0,00375	0,924875
N19	5	0,002	0,05	0,001	0,018375	0,00375	0,924875
N20	9	0,002	0,05	0,001	0,018375	0,00375	0,924875
N21	20	0,002	0,05	0,001	0,018375	0,00375	0,924875

D'après la matrice d'expérience on a fait 21 formulations de l'émulsion buvable

4.4.1.2 Caractérisation de l'émulsion buvable

a. Caractérisation physico-chimique

Le tableau 4.5 résume les résultats des essais de stabilité avec le contrôle du pH et de la densité relative aux essais formulés :

Les tests de stabilité ont été effectués avec une centrifugeuse afin d'accélérer la séparation des deux phases, les essais qui présentent une bonne stabilité sont repris sur le tableau 4.5.

Tableau 4.5 : Représentation des essais stables de la formulation

Essai N°	Stabilité	pH (23°C)	Densité
N4	stable	5,74	1,028
N10	stable	5,44	1,025
N12	stable	5,98	1,026
N18	stable	5,28	1,025
N21	stable	6,06	1,024

Nous remarquons que les émulsions buvables stables ont été obtenues pour une concentration de 0,05% en tensioactif et 0,003% en viscosifiant concernant les essais (N4, N10, N12). Il a été noté que la formulation N12, N18, N21 a permis l'obtention d'une émulsion buvable stable pour une même concentration en huile essentielle.

Le paramètre le plus important après l'étude de la stabilité est la teneur en pH de ces émulsions buvables, donc d'après ces résultats l'essai optimal de ces formulations est N21.

b. Caractérisation morphologique

La figure 4.5 suivante représente l'observation microscopique de la formulation N21. La photo montre qu'il existe une bonne dispersion de l'huile essentielle et même les autres particules de formulations présentent une taille homogène dans le milieu de dispersion.

Les autres observations microscopiques des essais N4, N10, N12, N18 sont illustrées dans l'appendice(E).

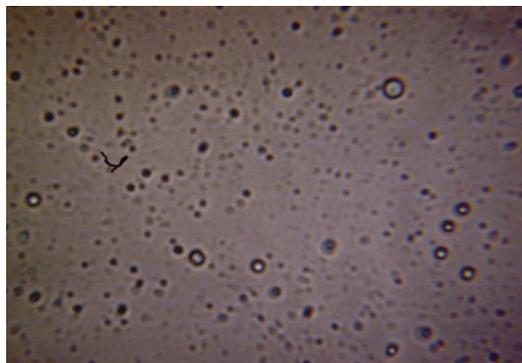


Figure 4.5 : Observation microscopique de la formulation N21.

c. Caractérisation rhéologique

Sur la figure 4.6, nous représentons les courbes d'écoulement en termes de viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement. A première vue, le comportement de l'émulsion buvable est globalement non newtonien, vue la variation affichée de la viscosité. Toutefois, il apparait clairement la présence de deux zones distinctes : une zone au comportement newtonien dans la gamme de cisaillement $< 0,06 \text{ s}^{-1}$ et une deuxième zone rhéofluidifiante s'étalant jusqu'à une valeur de cisaillement de 1000 s^{-1} .

Les autres courbes d'écoulement des essais N4, N10, N12, N18 sont illustrées dans Appendice(D).

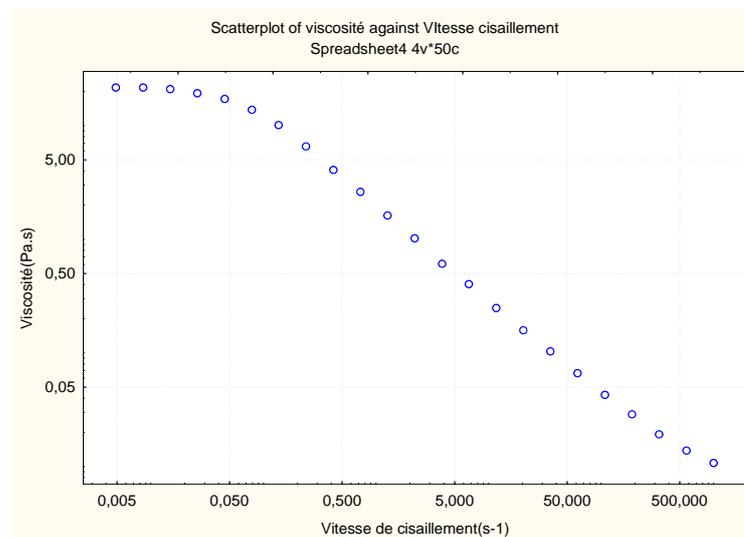


Figure 4.6 : Courbe d'écoulement de l'essai type.

La modélisation rhéologique des courbes d'écoulement expérimentales par le modèle de Cross et le modèle de Carreau permet de faire ressortir des paramètres caractéristiques représentatifs du comportement de l'émulsion buvable formulée.

L'équation du modèle de Cross est sous la forme :

$$\eta - \eta^\infty = \frac{\eta_0 - \eta^\infty}{1 + (K\dot{\gamma})^n}$$

L'équation du modèle de Carreau est sous la forme :

$$\eta - \eta^\infty = \frac{\eta_0 - \eta^\infty}{(1 + K\dot{\gamma})^2)^n}$$

Où :

K : est le temps caractéristique nécessaire pour obtenir un début de déstructuration et donc un comportement rhéofluidifiant de la suspension. Nous préférons substituer ce paramètre par son inverse, qui a la dimension d'une vitesse de cisaillement, défini comme étant la

vitesse de cisaillement critique, $\dot{\gamma}$ critique nécessaire pour vaincre la structure et provoque une déstructuration partielle de la dispersion.

η_0 : La viscosité du palier newtonien à faible taux de cisaillement où à cisaillement nul.

η_∞ : La viscosité du deuxième plateau newtonien à taux de cisaillement élevé.

n : Indice de loi de puissance.

Le tableau 4.6 résume les résultats des paramètres rhéologiques des modèles utilisés ainsi que la qualité de l'ajustement qui est donnée par la valeur du coefficient de détermination R^2 .

Tableau 4.6 : Paramètres rhéologiques des deux modèles du l'émulsion buvable.

	Modèle de Carreau					Modèle de Cross				
	η_0 (Pa.s)	η_∞ (Pa.s)	$\dot{\gamma}_c$ (s ⁻¹)	n	R^2	η_0 (Pa.s)	η_∞ (Pa.s)	$\dot{\gamma}_c$ (s ⁻¹)	n	R^2
Lot N°21	21,29	0,0048	0,060	0,42	0,99	26,30	0,0065	0,066	0,89	0,97

À la lumière de cet ajustement, le modèle qui répond le mieux aux résultats expérimentaux avec $R^2 > 0,99$ est celui de Carreau.

4.5 Activités biologiques

4.5.1 Evaluation de l'activité antimicrobienne

Nous avons étudié *in vitro* le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle et l'émulsion buvable d'*Artemisia Absinthium L* par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé. Le pouvoir antimicrobien de ces échantillons est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm).

Les résultats des observations effectuées sur l'effet de l'huile essentielle et l'émulsion buvable sur la croissance des souches bactériennes sont regroupés dans le tableau 4.7.

Tableau 4.7 : Les diamètres des zones d'inhibitions d'HE et de l'EB.

Souches	Espèces bactériennes utilisées	Huile Essentielle	Emulsion Buvable
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	12 mm	11 mm
	<i>Staphylococcus aureus</i>	12 mm	10 mm
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2 mm	0mm
	<i>Bacillus</i>	15 mm	0mm
champignons	Sacare	15 mm	13mm
	<i>Candida albicans</i>	15 mm	0mm
	<i>Aspergillus flavus</i>	15 mm	0mm

Après l'incubation, nous remarquons l'apparition des zones d'inhibition avec des diamètres différents qui entourent les disques imprégnés de l'huile essentielle et l'émulsion buvable, cela s'explique par le fait que les souches bactériennes et les champignons, sont plus au moins sensibles vis-à-vis de nos échantillons.

D'après le tableau 4.7 nous remarquons que :

- La bactérie *Staphylococcus aureus* est peu sensible à l'HE et à l'émulsion buvable avec des zones d'inhibitions respectives de 12 mm et de 10 mm .
- *Le Bacillus* est sensible vis-à-vis de l'huile essentielle avec un diamètre d'inhibition de 15 mm Cependant, une absence totale de la zone d'inhibition vis-à-vis de l'émulsion buvable.
- *L'Escherichia coli* est peu sensible vis-à-vis de l'huile essentielle et de l'émulsion buvable avec des zones d'inhibitions respectives de 12 mm et 11 mm.
- *Le Pseudomonas aeruginosa* a manifesté un effet de non sensibilité ou résistante vis-à-vis de l'huile essentielle, avec un diamètre de 2mm, cependant une absence totale de la zone d'inhibition vis-à-vis de l'émulsion buvable.

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que les bactéries sont plus sensibles à l'HE. Par ailleurs, nos résultats concordent avec ceux de Sura baykan et al. [66-67] qui ont étudié l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'absinthe qui a montré la présence des zones d'inhibition pour les bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

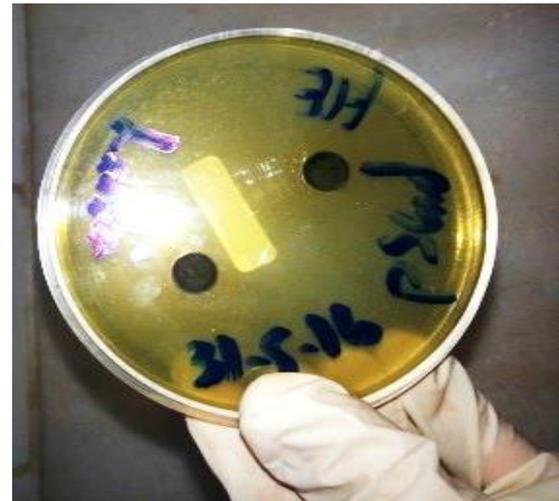




Figure 4.7 : Aromatogrammes des bactéries testées avec l'huile essentielle de l'absinthe et l'émulsion buvable.

L'histogramme présenté sur la figure 4.8 indique une comparaison entre le comportement de l'huile essentielle et l'émulsion buvable de vis-à-vis des souches microbiennes.

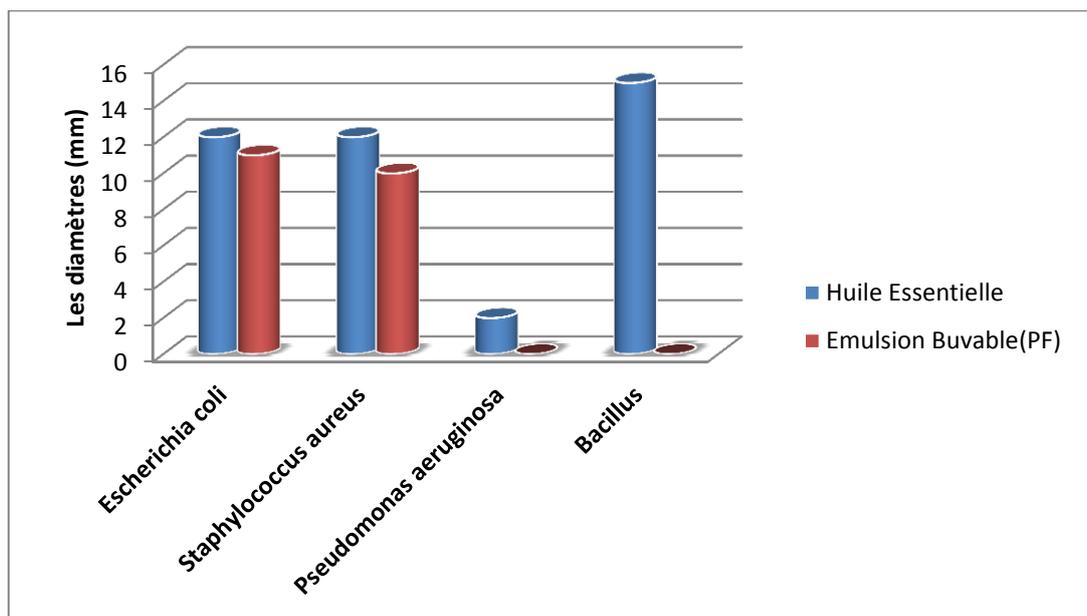


Figure 4.8 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des Bactéries.

4.5.2 Evaluation de l'activité antifongique

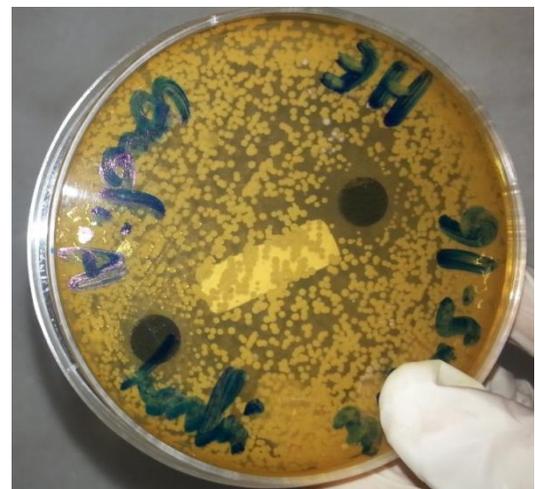
L'huile essentielle et l'émulsion buvable de l'*Artemisia absinthium L* ont été testés sur trois champignons à savoir, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Aspergillus flavus* afin d'évaluer son pouvoir antifongique.

D'après le tableau 4.6, nous remarquons que :

- Le champignon *Aspergillus flavus* est sensible à HE, avec une zone d'inhibition de 15 mm, cependant une absence totale de la zone d'inhibition vis-à-vis de l'émulsion buvable.
- *Candida albicans* est sensible vis-à-vis de l'huile essentielle avec un diamètre d'inhibition de 15mm, cependant une absence totale de la zone d'inhibition vis-à-vis de l'émulsion buvable.
- Le *Saccharomyces cerevisiae* est sensible vis-à-vis de l'huile essentielle avec un diamètre d'inhibition de 15mm, par contre peu sensible vis-à-vis de l'émulsion buvable qui a donné une zone d'inhibition de 13mm

Cette activité antifongique de l'huile essentielle d'absinthe peut être expliquée par sa richesse en composés oxygénés monoterpéniques, comme la thuyone qui agit comme des antiseptiques et antimicrobienne.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus dans la littérature. Cependant, Lopes-Lutz et al [28] ont étudié le pouvoir antifongique sur plusieurs souches de l'HE d'*Artemisia absinthium L. de Canada* notamment pour le *Candida albicans* et l'*Aspergillus flavus*, ils ont obtenus respectivement des zones d'inhibitions de 13mm et 18mm.



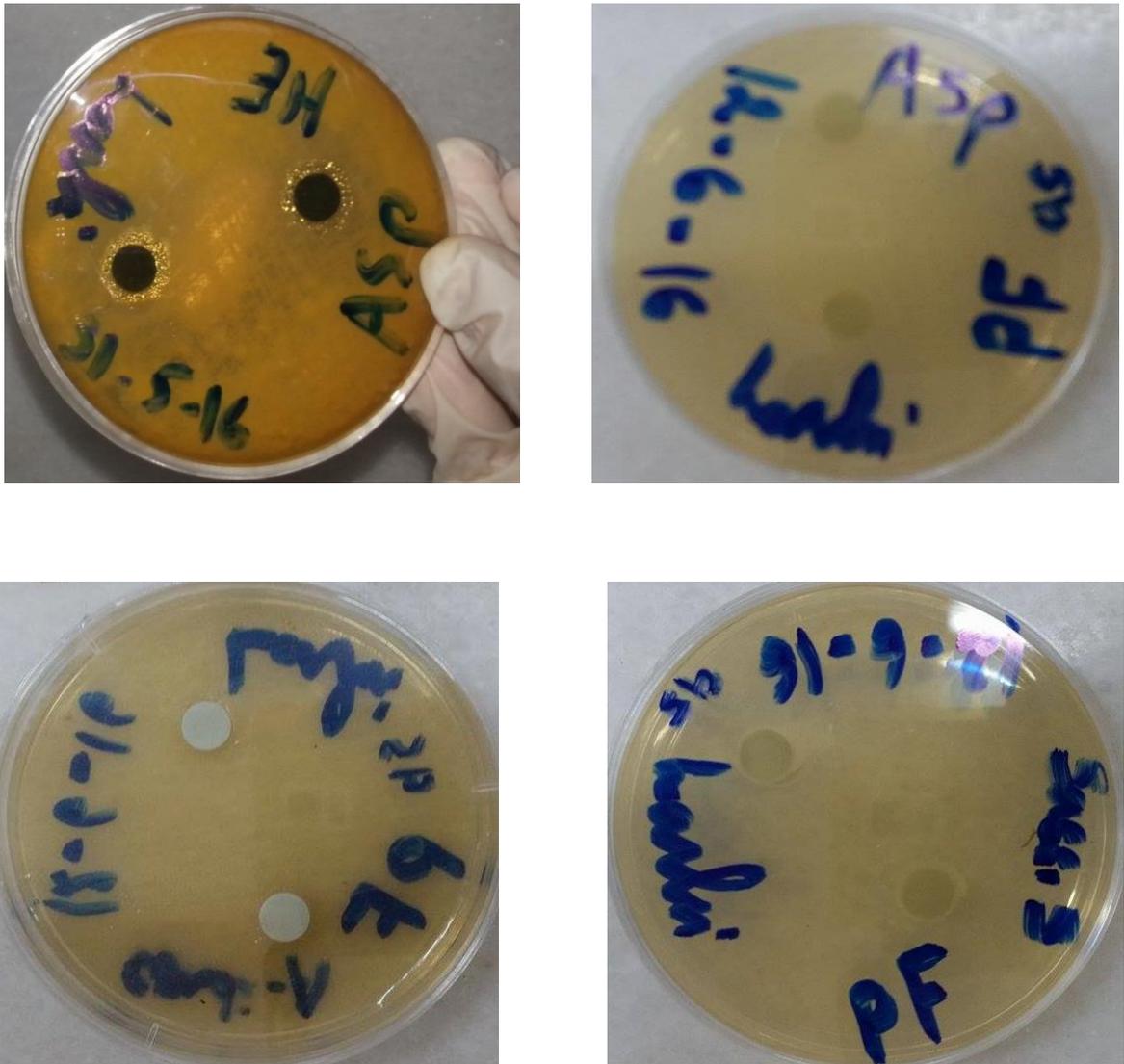


Figure 4.9 : Aromatogrammes des champignons testées avec l'émulsion buvable et l'huile essentielle de l'absinthe.

L'histogramme suivant présente le comportement de l'huile essentielle et l'émulsion buvable vis-à-vis des champignons testés.

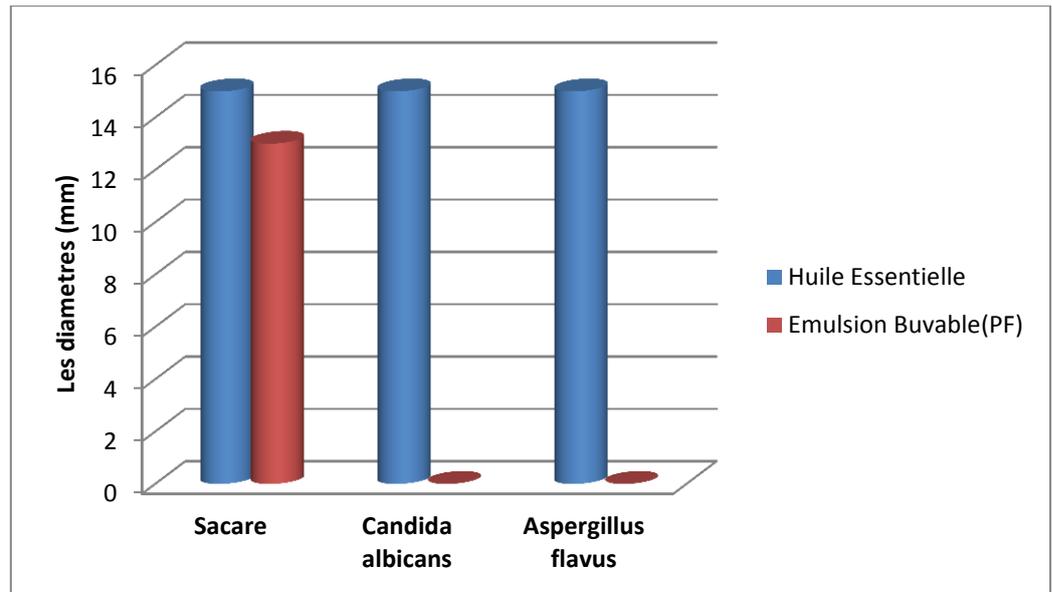


Figure 4.10 : Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des champignons.

4.6 Test d'activité anti-inflammatoire *in vivo*

Après l'administration de l'eau physiologique, le produit de référence (Clofénal), et l'émulsion buvable à des souris chez les quelles, nous avons provoqué une inflammation, par l'injection de la carraghénine à 1%, dans la surface plantaire des pattes postérieures. Nous avons mesuré les poids des pattes postérieures en (g) chez les trois lots. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 4.7 et illustrés par les figures 4.11 et 4.12

Tableau 4.8: Résultats d'activités anti-inflammatoires

Témoin (Eau physiologique)		La référence (Clofénal)		L'émulsion Buvable d'Artemisia Absinthium L	
Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)	Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)	Poids pattes gauches (g)	Poids pattes droites (g)
0,2088	0,1839	0,1852	0,1729	0,1751	0,1405
0,2102	0,1705	0,1950	0,1611	0,1822	0,1505
0,2197	0,1683	0,2150	0,1701	0,1733	0,1582
0,2474	0,1570	0,1960	0,1622	0,1554	0,1327
0,2248	0,1821	0,1768	0,1540	0,1940	0,1562
La moyenne =0,2221	La moyenne =0,1723	La moyenne =0,1936	La moyenne =0,1640	La moyenne =0,1760	La moyenne =0,1476
% d'œdème=28,9 %		% d'œdème =18,50 %		% d'œdème=19,02 %	
		% de réduction de l'œdème =37 ,5 3%		% de réduction de l'œdème =35,70 %	

4.6.1. Pourcentage d'œdème

L'injection de la carraghénine, entraîne une augmentation significative du pourcentage de l'augmentation du volume des pattes gauches par rapport aux pattes droites, des souris témoins, de groupe standard et celle de groupe traités par l'émulsion buvable; après les 30 min de l'expérimentation. Ce qui prouve bien que la carraghénine à induit une réaction inflammatoire engendrant un œdème.

Au cours de ce test, nous avons constaté une diminution pour les lots témoins, l'émulsion buvable d'absinthe et le produit de référence (Clofénal) des pourcentages d'œdèmes respectivement 28,9%, 19,02 %, et 18,50% préalablement provoqués par l'injection de la carraghénine (figure 4.11).

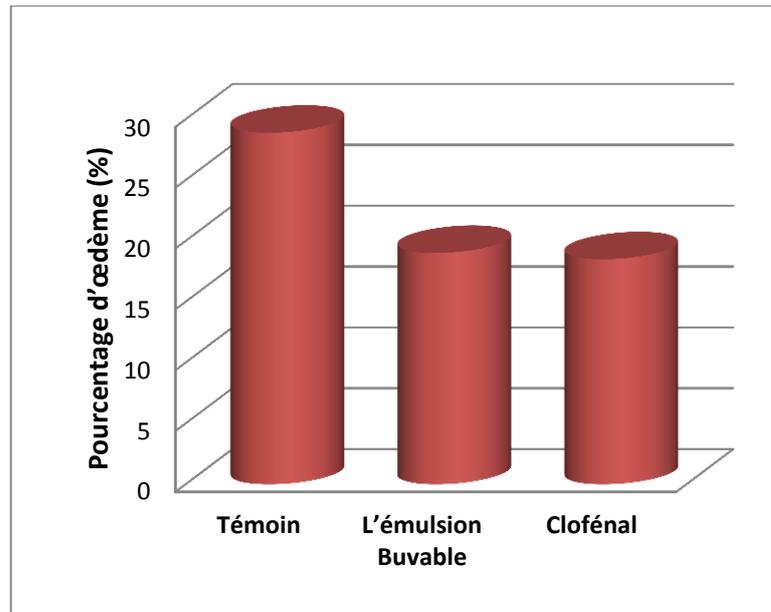


Figure 4.11 : Pourcentage d'œdème chez les trois lots

4.6.2. Pourcentage de réduction d'œdème

Dans les quatre heures qui ont suivi le traitement, nous avons remarqués que, l'émulsion buvable d'absinthe, a induit un taux de réduction d'œdème de 35,70%. Ce taux est proche à celui obtenu suite au traitement à la base de Clofénal. En effet, ce dernier a provoqué une réduction d'œdème de 37,53%, ce qui confirme que l'émulsion buvable d'absinthe a exercé une activité anti-inflammatoire.

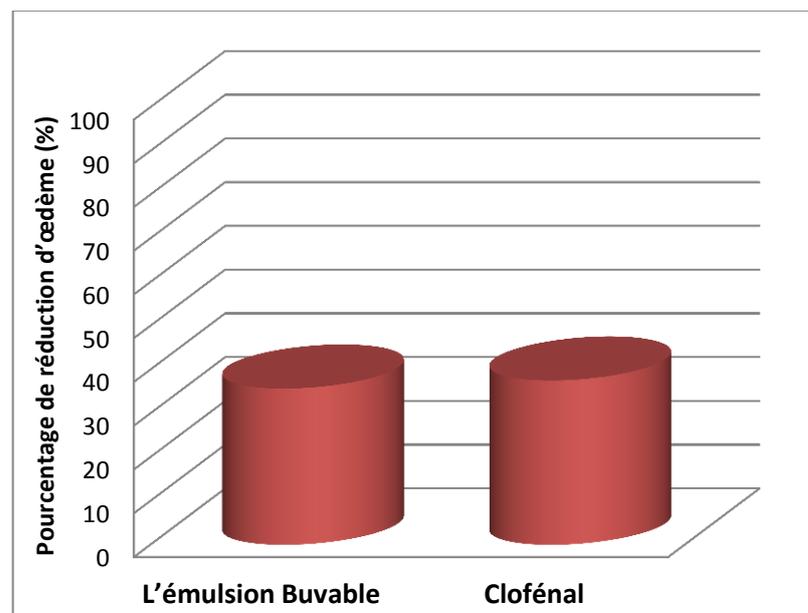


Figure 4.12: Pourcentage de réduction d'œdème de l'émulsion buvable et de produit de référence

Ces résultats concordent avec plusieurs recherches qui montrent que l'activité anti-inflammatoire d'HE d'*Artemisia absinthium L* peut s'expliquer en partie par la présence dans les feuilles des composés polyphénoliques comme les tanins et les flavonoïdes

De plus, de nombreuses études semblent indiquer que les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires et qu'ils sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ils peuvent aussi moduler l'adhésion des monocytes durant l'inflammation en inhibant l'expression des médiateurs inflammatoires [68].

Des études menées par Hadi. A et al. ont démontré que les constituants ou les composants phytochimique d'*Artémisia absinthium L*. telle que les flavonoïdes, les tanins, les caroténoïdes et les polyphénols sont responsables de l'activité anti-inflammatoire [69].

De plus, la présence de l'Azulene de 25,95% dans notre l'HE d'*Artémisia absinthium L*. est responsable de l'activité anti-inflammatoire.

4.7 Tests de toxicité :

4.7.1 Tests de Toxicité d'HE et de l'émulsion buvable d'Artemisia Absinthium L

Après l'administration de l'huile essentielle d'*Artémisia absinthium*, et l'émulsion buvable à des souris chez les quelles, nous avons remarqué, aucune mortalité ou anomalie ne doivent être constatées après 48 heures chez les souris, donc les deux produits sont conformes d'après les techniques pharmacologiques de Sidal [70-71].



Figure 4.13 : Absence de mortalité après 48 h.

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis bien longtemps.

La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles, ils sont alors appelés « Plantes aromatiques ». Un grand nombre de plantes aromatiques possèdent des propriétés biologiques très intéressantes [1].

Cependant, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme anti-inflammatoire et antimicrobienne, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'utilisation rare ou moins fréquente ou non connues en médecine [2].

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artemisia*, ce dernier est largement localisé surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Artemisia absinthium L.*

Cette plante est largement utilisée pour traiter les troubles digestives, les ulcères, les brûlures, la diarrhée,...etc. a constitué le sujet de plusieurs études [3-5] qui s'intègre dans le contexte global de la mise en valeur de la biodiversité des plantes aromatiques et médicinales algériennes en générale et des espèces du genre *Artémisia* en particulier pour leurs propriétés médicinales. Le genre *Artemisia* est l'un des plus importants de la famille des *Asteraceae*. Il a été enregistré onze espèces d'*Artémisia* en Algérie [3].

Artemisia absinthium L communément appelé « Chedjret Merieme » [4]. Cette espèce a été utilisée depuis l'antiquité dans la médecine populaire. Traditionnellement celle-ci est utilisée comme un antipyrétique, un antimicrobien, dans le traitement des plaies, des insecticides et d'autres [5]. Cependant, à notre connaissance, aucune étude détaillée n'a été réalisée auparavant sur l'absinthe poussant spontanément au centre d'Algérie particulièrement à Blida (Soumaa).

La formulation est aujourd'hui une des branches les plus importantes de la chimie.

Dans ce contexte, nous nous proposons de formuler une émulsion buvable Lipophiles/Hydrophiles conforme à l'usage pharmaceutique, respectant les exigences de la chimie verte et répondant aux besoins des consommateurs.

Au cours de cette étude, nous avons étudié la caractérisation de l'huile essentielle de l'absinthe grâce à la détermination de sa composition chimique. Ainsi que son activité biologique et formulation Pharmaceutique d'une émulsion buvable. Dans ce travail, nous avons aussi effectué, une étude d'activité biologique de l'émulsion buvable à base d'huile essentielle de l'absinthe comme antimicrobienne, anti-inflammatoire ainsi que le test de toxicité.

Notre travail sera donc réparti en deux parties :

- La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique dans laquelle nous présentons la matière végétale, son utilisation et les travaux dont elle a fait l'objet. Ainsi qu'un aperçu sur les généralités des huiles essentielles.
- La deuxième partie sera consacrée à la formulation de l'émulsion buvable, matériels et méthodes employés lors de cette étude ainsi que l'interprétation des discussions des résultats expérimentaux, nous terminerons par une conclusion générale et les perspectives des actions à mener.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **Leslev Bremness.** ; « Plantes aromatiques et médicinales, 700 espèces ».Ed. Tec & Doc, Paris, 2005.
- [2] **Mohamedi Z.** ; « Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. » Thèse de Magister, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, faculté des sciences, département de biologie, laboratoire Produits naturels 2005/2006.
- [3] **Quezel R. ; Santa S.** ; « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. » Tome 2. Ed, Centre National de la Recherche Scientifiques. Paris p977, 1963.
- [4] **Hose S.**; « DerWermut – *Artemisia absinthium* – Zeitschrift Phytother » 2002 23: 187-194.
- [5] **Kordali S. ; Cakir A. ; Mavi A. ; Kilic H and Yildirim A.** ; « Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential form three Turkish Artemisia species » J. Agric. Food Chem. 53, 1408 – 1416. 2005.
- [6] **Bruneton J.** ; « Plantes toxiques végétaux dangereux pour l'Homme et les animaux » Ed. Tec & Doc. Paris, p185, 2005.
- [7] **Gilly G.**; « Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse ». Ed. L'harmattan. Paris, p193-197, 2005.
- [8] **Swerdlov J.L.**; « Médecine des plantes qui guérissent de la nature » Washington DC, National Geographic Society. 2000.
- [9] **Ozenda P.**; « Flore du Sahara ». Ed, Centre National de Recherche Scientifique, 2éme édition. Paris p 662, 1983.
- [10] **Khebri S.**; « Étude chimique et biologique de trois artemisia ». Thèse de Magister, Université El-Hadj Lakhdar Batna, faculté des sciences, département de chimie 2010/2011.
- [11] **Ghemour G.**; « Les plantes médicinales dans la région des Ouadhia et Boghni ». Thèse d'ingénieur, U.M.M.T.O, Institut d'agronomie, 2004/2005.
- [12] **Dellile L.**; « Les plantes médicinales d'Algérie ». Ed. Berti, Alger. 2007.

[13] **Bordez L.**; « Grandes Absinthe *Arémisia absinthium L* » Faculté libre des sciences et technologies, Université Catholique de Lille, 1753.

[14] **Skiredj A.; Elattir H.; Elfadi A.**; « Bulletin mensuel d'information et de liaison du Programme National de Technologie en Agriculture » (PANTA) DERD, Rabat, 2002.

[15] **Schauenberg F.**; « Guide médicinales, analyse, description et utilisation des 400 plantes ». Ed. Delachaux et Nestlé, Espagne, p 396, 2006.

[16] **Ait Youcef M.**; « Plantes médicinales de Kabylie ». Préface de docteur Jean-Philippe Brette. Ed. Ibis. Presse. Paris, p 48-53, p 349, 2006.

[17] **Paule Iserin.**; « Encyclopédie des plantes médicinales ». Préface de Paule Iserin. ISBN : 2-03-560252-1.

[18] **Teuscher E.; Anton R.; Lobstien A.**; « Plantes aromatiques, Epices, aromates, condiments et huiles essentielles » Ed. Tech & Doc, Lavosier, Paris, (6), p 522, 2005.

[19] **KalembaD.;Gorga J.; Kurowaska A.; Majda T and Mielniczuk Z.**; « Analysis of essential oils in aspects of thier influence on insects. Part I. Essential oils of *Artemisia absinthium L* » *Zeszyty Naukowe Politechniki Lodzkiej, Technologia I Chemia Spozywcza* 589, 5 – 14. 1993.

[20] **Bouksil H.; Khelili A.**; « Activité biologique de trois huiles essentielles à l'égard d'un ravageur des denrées stockées ». Mémoire d'ingénieur, Institut d'agronomie, U.M.M.T.O, 2008/2009.

[21] **Chabab H.**; « Effet insecticide de trois plantes spontanées : le thym (*Thymus algeriensis*), le bourrache (*Borago officinalis L*) et l'absinth (*Artemisia absinthium L*) sur l'insecte ravageur de blé dur *Tribolium castaneum herbst* ». Mémoire d'ingénieur. Institut d'agronomie, U.M.M.T.O, 2009/2010.

[22] **Hamdani F/Z.; Aneur H.**; « Comparaison de l'activité insecticide des molécules des huiles essentielles de la lavande, l'absinth, l'origan, la citronnelle et le faux poivrier contre la *Sitophilus oryzae* ». 2009/2010.

[23] **Wichtl M. ; Anton R. ;** « Plantes thérapeutique-tradition, pratique officinale, sciences et thérapeutique ». 2ème édition, Ed. Tech & Doc, Paris, ISBN: 2-7430-0631-5. 2003.

[24] **Heinrich M.; Barnes J.; Gibbons S.**; « *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy* » Churchill Livingstone, Edinburg, 209 – 210, 2004.

[25] **Jarckovic J.; Mastelic M.; Juteau F.; Massoti V and Viano J.** ; « Chemical variability of *Artemisia vulgaris* L. Essential oils originated from the Mediterranean area of France and Croatia *Flavour.* » *Fragr. J.* (18): 436-440 (2003).

[26] **Basta C.; Tzakou O.; Couladis M.;** « *J. Essent. Oil Res* » 19, 316 – 318. 2007.

[27] **Chiasson H. ; Bélanger A. ; Bostanian N.; Vincent C. ; Poliquin A.** ; « Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia absinthium* L oil » *Journal of economic Entomology*, 94(1), 167-171-2001.

[28] **Lopez-Lutz D.; Alviano D.S.; Alviano C.S.; Kolodziejczyk P.P.;** « Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia* essential oils » *Phytochemistry.*; 69(8) : 1732-1738. 2008.

[29] **Derwiche E.; Benziane Z and Boukir A.;** « Chemical compositions and insecticidal activity of essential oils of three plants *Artemisia* species: *Artemisia Herba-Alba*, *Artemisia absthium* and *Artemisia Pontica* (Morocco) » *EJEAF Che*, 8 (11). 1202 – 1211. 2009.

[30] **Kordali S. ; Cakir A. ; Mavi A. ; Kilic H and Yildirim A. ;** « Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential form three Turkish *Artemisia* species » *J. Agric. Food Chem.* 53, 1408 – 1416. 2005.

[31] **Nezhadali A.; Parsa M.;** « Study of the volatile compounds in *Artemisia absinthium* from Iran using HS/SPME/GC/MS, *Advanced in Applied Science Reserch* » 1(3): 174 – 179. 2010.

[32] **Resaeinodehi A.; khangholi S.;** « Chemical composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* growing wild in Iran. » *Pakistan journal of biological sciences* 11 (6): 946-949. 2008.

[33] **Kaul V.; Nigam S.; Dhar L.;** « Antimicrobial activities of the essential oils of *Artemisia absinthium* L, *Artemisia Valesiaca Wall* and *Artemisia Vulgaris* L » *India J Pharmacot*, 38: 21 – 2 . 1976.

[34] **Baykan Erel S.; Reznicek G.; Senol S.G.; Karabay Yavasogulu N.U.;** **Konyalioglu S.; Zeybe A.;** « Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L, species from western Anatolia » *J.Biot* 36,75-85, 2012.

[35] **Oana Craciunescu.; Daniel Constantin.; Alexandra Gaspar.; Liana Toma. ; Elena Utoiu and Lucia Moldovan.;** « Polyphenol composition and antioxidant activity of extract from *Artemisia absthium* L » *Chemistry Central Journal* 2012.

[36] **Dhen N.; Majdoub O.; Tayeb W.; Laarif A and Chaib L.**; « Chemical composition and fumigant toxicity of *Artemisia abstrhium* essential oil against *Rhyzopertha dominica* and *Spodoptera litoralis* ». Tunisian Journal of Plant Protection 9: 57 – 65. 2014.

[37] **Association française de normalisation.** ; Recueils des normes françaises « Huiles essentielles ». ; AFNOR. ; Paris AFNOR NF T 75-006. 1986.

[38] **Milpied H.**; « Progrès en dermato- allergologie » Ed. John Libbey Eurotexte, p 128, Bordeaux. 2009.

[39] **Bruneton J.**; « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales » (3^{ème} édition). Paris. Ed. Techniques et documentations, Lavoisier, p 575. 1999.

[40] **Nicolas Rabasso.** ; « Chimie organique 1 : Généralités, étude des grandes fonctions et méthodes spectroscopiques. » (2^{ème} édition). Paris. Ed. Techniques et documentations, p 135. 1998.

[41] **Wang Z.** ; « Chimie organique 3 : Généralité, étude des grandes fonctions et méthodes spectroscopiques. » (3^{ème} édition). Paris. Ed. Techniques et documentations, p 255. 1999.

[42] **Bocevaska M.; Sovova H.**; « The journal of supercritical fluids » 40, 360 – 367. 2007.

[43] **AUBRY-Jean Marie & Gilbert SCHORSCH.** « TECHNIQUES DE L'INGENIEUR », Formulation - Présentation générale. j2110, 10/12/1999.

[44] **GIBSON, M.**, Pharmaceutical Preformulation and formulation. 2004: Interpharm/CRC.

[45] **G. COHEN**, Méthodologie des choix du galéniste : vers une optimisation de la formulation, in S.T.P. PHARMA. 1990. p. 20-23.

[46] Cavatur Raghu, K., N. VemuriMurti, and R. Suryanarayanan, Preformulation Studies for Tablet Formulation Development, in Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Volume 1: Unit Operations and Mechanical Properties. p. 465-484.

[47] Halbert Gavin, W., Preformulation, in Modern pharmaceuticals. p. 327-356.

[48] **F. RODRIGUEZ and P. MICHAUD**, Méthodologie expérimentale et optimisation, in Formes Pharmaceutiques pour application locale. 1996: Paris. p. 236-273.

- [49] Catherine BAURES, Sonia BEDDA, Emilie GARDERES, Lucie MOREAU, Mélanie RAULOT. «Entrez dans l'univers des controverses actuelles, des labels et de la réglementation », Les cosmétiques biologiques à la loupe. 2009.
- [50] Pascal BROCHETTE, technique de l'ingénieur j2150, Émulsification - Élaboration et étude des émulsions, 2013.
- [51] Le hir A, cohen Y. « Pharmacie galénique: bonnes pratiques de fabrication des médicaments ». Elsevier Masson, Paris, 2001, pp : 86-110.
- [52] ALAIN, L, Pharmacie galénique, Edition. Masson Paris. 2001.
- [53] Guery J. « Émulsions doubles cristallisables : stabilité, encapsulation et relargage ». Thèse doctorale de Physique et Chimie des Matériaux, Université Paris VI (France), Nov 2006, pp : 22-25.
- [54] CABANE Bernard, HENON Sylvie. Liquides, solutions, dispersions, émulsions, gels. Ed. Belin, 2007.
- [55] Fonteneau JM, klusiewicz P. « Travaux pratiques de préparation et de conditionnement des médicaments ». Groupe Liaisons, Bruxelles, 2008, pp : 29-66.
- [56] www.aroma-zone.com.
- [57] E.ROUY«Formulation d'un gel oxydant à matrice organique applicable à la décontamination nucléaire:propriétés rhéologiques,acido-basique et ozonolyse de la matrice»,thèse de doctorat, université Montpellier II (Octobre 2003).
- [58] E.JOUANNY«Stabilisation des émulsions d'intérêt pharmaceutique par des protéines et des polysaccharides :exemples de la β -lactoglobuline, de la gomme arabique et de la gomme xanthane»,thèse de doctorat, département de biopharmacie, université Paris-sud (2011).
- [59] I.ANDRESEN«Some biological functions of matrix components in enthic algae in relation to their chemistry and the composition of seawater». ACS Symp, (1977).
- [60] Benjilali B.; Tantaoui-elarki A.; Ismaili-alaoui M.; « Méthodes d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact directe en milieu gélosé ». Plant. Méd. Phytothérapie. 1986 ; 20, pp 155 – 167.
- [61] Fauchere J. ; Avril L. ; « Bactériologie générale et médicale ». Ellipses Ed Itent. Paris, 365. 2002.

- [62] **Ndiyaye M.; DieyeM.**; « Évaluation de l'activité anti-inflammatoire des feuilles d'*Annona Reticulata* (Annonacea) sur l'œdème aiguë de la patte de rat induit par la carraghénine » *Pharm.med trad afr.* Vol XIV pp179 – 186. 2006.
- [63] **Levy L.**; « Carrageenan paws edema in the mouse » *Life Sci* 8, pp601 – 606, 1969.
- [64] **Wiess R.F.; Thieme Verlag M.D.G.**; « *Wiess's Herbal Medicine* » (6ème édition). Stuttgart: Thieme, pp 79 – 80. 2001.
- [65] **Orav A.; Raal A.; Arak E.; Muurisepp M.; Kailas T.**; « Composition of the essential oil of *Artemisia absinthium* L of different geographical origins proceeding of the Estonian Academy of Sciences Chemistry » Vol .55, no .3, pp155 – 165. 2006.
- [66] **Sura Baykan Erel.; Gottfried Reznicek.; Serdar Gokhan Senoi.**; « Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia* L Species from western Anatolia, *Turk J Biol* » 36 (2012) 75 – 84.
- [67] **Wendakoon C.; Sakaguchi M.**; « Inhabitant of amino decarboxylase activity of *Enterobacter* aero-genes by active components in spices », *Journal of Food Products*, 58, 280 – 283, 1995.
- [68] **Mansouri Sadia.**; « Évaluation de l'effet anti-inflammatoire des trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium*, *Artemisia herba alba* Asso et *Hypericum scarboides* – *Etude in vivo* », Thèse de Doctorat. 2014/2015.
- [69] **Hadi A.; Hossien N.; Shirin P.; Najmeh N.; Abolfazl M.**; « Anti-inflammatory and Analgesic Activities of *Artemisia absinthium* L and Chemical Composition of its Essential Oil » *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 24(2), 38, 237 – 244. 2014.
- [70] Pharmacopée européenne 7.0.
- [71] *Techniques pharmacologiques R.SCi*, T3N°09Novembre(1974).