République algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la recherche scientifique

Université Dr : Yahia Farés Médéa



Faculté de Technologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de master

Spécialité : Génie Des procédés Pharmaceutique

VALORISATION D'UNE PLANTE MEDICINALE ALGERIENNE PAR FORMULATION D'UN PRODUIT PHARMACEUTIQUE

Présenté par :

KHELIL OUSSAMA

HADJADJ AMIR KHALED

Proposé et Dirigé par :

MR. BELAISSA YAHIA

Année universitaire : 2019 - 2020

Remercîment

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à Mr BELAISSA Y, Maître de conférences à la faculté technologie Université de Médéa pour avoir encadré et dirigé ce travail.

Nous sommes conscientes de l'honneur que nous avons fait le membre du jury :

MR. LETTREUCH H (MCB) à l'université de MEDEA

Mm. TURKMEN N (MCB) à l'université de MEDEA

d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académique et professionnelles.

Nous exprimons nos profonds remerciements à l'encontre de nos parents qui nous ont enseigné la patience, la politesse, le sacrifice et qui ont toujours été là pour nous.

Enfin, nous ne saurons terminer cette série de remerciement sans penser à tous ceux qui de près ou de loin nous ont aidé et encouragé au cours de la réalisation de ce travail, recevez nos remerciements sincères

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut…

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, L'amour, le respect, la reconnaissance…

Aussi, c'est tout simplement que

Nous dédions ce mémoire …

À NOS CHERS PARENTS

Aucune dédicace ne saurait exprimer nos respects, notre amour éternel et notre considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour notre instruction et notre bien-être.

A NOS FRERES, ET SŒURS

A NOS AMIES ET NOS CAMARADES.

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

Enfin, Nous voudrons dédier ce mémoire à toutes personnes ayant participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Khaled et Oussama

Résumé :

Ce travail a pour objectif la valorisation d'une espèce médicinale, Inula viscosa, par ses propriétés anti-inflammatoire et antioxydante de son huile essentielle. L'analyse phytochimique qualitative réalisée sur les feuilles d'Inula viscosa a mis en évidence la présence des flavonoïdes, des tanins, des coumarines et des saponosides.

Le but final de notre travail est l'évaluation des pouvoirs anti-inflammatoires des huiles essentielles de I. Viscosa, par la formulation d'une crème anti-inflammatoire. L'obtention de ces huiles se fait par différents modes d'extraction à savoir l'enfleurage (l'extraction des parfums des fleurs), l'extraction par solvant organique et l'extraction par ultrason …etc. Et comme notre objectif est d'obtenir une huile essentielle bio on s'est intéressé à l'extraction par entrainement à la vapeur d'eau et hydrodistillation.

SUMMARY:

This work aims to enhance the value of a medicinal species, Inula viscosa, through its anti-inflammatory and antioxidant properties of its essential oil. Qualitative phytochemical analysis performed on Inula viscosa leaves revealed the presence of flavonoids, tannins, coumarins and saponosides.

The final goal of our work is to evaluate the anti-inflammatory powers of the essential oils of I. Viscosa, by formulating an anti-inflammatory cream. These oils are obtained by different extraction methods, namely enfleurage (the extraction of perfumes from flowers), extraction by organic solvent and extraction by ultrasound, etc. And since our goal is to obtain an organic essential oil, we looked at extraction by steam entrainment and hydrodistillation.

ملخص :

يهدف هذا العمل إلى تعزيز قيمة أحد الأنواع الطبية ، Inula viscosa ، من خلال خصائصه المضادة للالتهابات والمضادة للأكسدة في الزيت العطري. أظهر التحليل الكيميائي النباتي النوعي الذي تم إجراؤه على أوراق Inula viscosa وجود مركبات الفلافونويد والعفص والكومارين والصابونوزيدات

الهدف النهائي لعملنا هو تقييم القوى المضادة للالتهابات للزيوت الأساسية لـ I. Viscosa ، من خلال صياغة كريم مضاد للالتهابات. يتم الحصول على هذه الزيوت بطرق استخلاص مختلفة ، وهي التنقيط (استخراج العطور من الزهور) ، والاستخراج بالمذيبات العضوية والاستخلاص بالموجات فوق الصوتية ، وما إلى ذلك. وبما أن هدفنا هو الحصول على زيت أساسي عضوي ، فقد نظرنا في الاستخراج عن طريق سحب البخار والتقطير المائي

.

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique.

AFNOR Association Française de Normalisation.

BSA : albumine bovine serum.

CLHP : La chromatographie liquide à haute performance.

COX-2 : cyclo-oxygénase inductible.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse.

DPPH : 1,1-Diphényl-2-PicrylHydrazyl.

EAO : espèces réactives de l'oxygène.

ERO : espèces réactives de l'oxygène.

FeCl3 : Chlorure de fer.

GC : chromatogrammes.

GPC/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

HA : Hydrolat aromatique.

HCl : Acide chlorhydrique.

HE : Huile essentielle.

HV : Huile végétale.

H2SO4 : Acide sulfurique.

I : Inula.

iNOS : oxyde nitrique synthase inductible.

KOH : Hydroxyde de potassium.

nm : Nanomètre.

PH : Potentiel d'Hydrogène.

RMN : La Résonnance Magnétique Nucléaire.

% : pourcentage.

Liste Des Tableaux

Tableau 1 : Principaux modes d'action de quelques antioxydants..... 21

Tableau 2 : principaux résultats trouvés des travaux antérieurs 29

Tableau 3 : Composition chimique des huiles essentielles des feuilles (LE), fleurs (FL) et parties aériennes (AE) de D. viscosa..... 32

Tableau 4 : Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes *I-Viscosa* .....

(S1 & S2)..... 35

Tableau 5 : Caractéristiques chromatographiques des flavones-flavonols contenus dans l'extrait éthéré d'Inula viscosa (L.) identifiés par C.L.H.P à 365 nm..... 37

Tableau 6 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols de l'extrait éthéré d'*Inula viscosa (*L.) identifiés par C.L.H.P à 260 nm..... 39

Tableau 7 : Caractéristiques chromatographiques des aglycones libres de l'extrait éthéré de *Inula viscosa* (L.) identifiés par C.L.H.P à 365 nm 41

Tableau 8 : Formes galéniques les plus courantes 49

Liste des figures

Figure 1 : Aspect morphologique de la plante *inula viscosa*..... 4
Figure 2: Principales opérations industrielles d'extractio..... 13
Figure 3 : Distillation par entrainement à la vapeur d'eau..... 14
Figure 4 : Appareil de type Clevenger 15
Figure 5 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR..... 20
Figure 6 : Effets biologiques des polyphénols 24
Figure 7 : chromatogrammes GC de *D. viscosa* essential huile..... 31
Figure 8 : Profil chromatographique représentant les flavones-flavonols, détectés par C.L.H.P à 365 nm en mode gradient d'élution 36
Figure 9 : Profil chromatographique représentant les acides phénols détectés par C.L.H.P à 260 nm en mode gradient d'élution 38
Figure 10 : Profil chromatographique représentant les aglycones libres détectés par C.L.H.P à 365 nm en mode gradient d'élution 40

SOMMAIR

Introduction 1

CHAPITRE I : Généralité sur la plante médicinale Et les méthodes d'extraction d'huile essentielle :

PARTI I : Généralité sur la plante (I. VISCOSA) :

1.Généralité sur les plantes médicinales 2

2.La phytothérapie 2

3.La plante médicinale Inula viscose L. (Dittrichia viscose L 2

- Définition : 2
- Répartition géographique : 3
- Place dans la systématique : Inula viscosa (Dittrichia viscosa) : 3
- Description botanique : 4
- Composition chimique : 5

PARTI Il : Généralités sur les huiles essentielles :

1. Rappels historiques sur l'usage des plantes aromatiques : 5
2. Utilisation des huiles essentielles en aromathérapie 7
   - Industrie chimique : 7
   - Industrie pharmaceutique : 7
3. Définition : 7
   - Huile essentielle : 7
   - Huile végétale : 8
   - Essence : 9
   - Hydrolat aromatique (HA) : 9
4. Critères qualitatifs d'une huile essentielle : 10
5. Utilisation des huiles essentielles : 10
6. Précautions d'emploi des huiles essentielles : 10
   - Conseils D'utilisation : 11

PARTI III : Procédé d'extraction des huiles essentielles :

1. Historique : 11
2. Choix de la méthode d'extraction : 11
3. Principaux paramètres d'extraction : 12
4. Techniques d'extraction pour l'obtention d'huiles essentielles : 12

- Distillation par entrainement à la vapeur d'eau ou hydro-distillation : 14
- Expression à froid : 15
- Enfleurage : 15
- Extraction par gaz supercritique : 16
- Extraction par les solvants organiques : 16

5. Calcul du rendement en huile essentielle : 17
   - Les résultats du rendement en HE d'I. vescosa : 17

CHAPITRE II : Activité biologique de la plante :

INTRODUCTION 18

1. Radicaux libres et Stress oxydatif : 18

1.1. Radicaux libres : 18

1.1.1. Dommages oxydatifs des radicaux libres : 18

1.2. Stress oxydatif : 19

- Modes d'action des antioxydants : 20

1.3. LES COMPOSE PHENOLIQUES 21

1.3.1 Généralités : 21

1.3.2. Les produits naturels des plantes et leurs activités biologiques : 21

- A/ Les saponosides : 22
- B/les coumarines : 22
- C/les alcaloïdes : 23
- D/Les tanins : 23
- E/Les flavonoïdes : 23

1.3.3 Propriétés pharmacologiques et emplois : 24

2. Activité anti-inflammatoire : 24

2.1.Définition de l'inflammation : 24

2.2. Les molécules anti-inflammatoires : 25

2.3. Les médicaments Anti-inflammatoires : 25

- a/ Anti-inflammatoire non stéroïdiens : 26
- b/ Anti-inflammatoires stéroïdiens : 26
- c/Anti-inflammatoires d'origine végétale : 26

CHAPTRE III : Caractérisation chimique et biologique de la plante :

I. caractérisation chimique :

1. Test phytochimique (screening chimique) : 27
1.1. Préparation de l'infusé : 27
- Mise en évidence des tanins 27
- Mise en évidence des saponines 27
- Les coumarines 27
- Les glucosides 28
- Alcaloïdes 28
- Les anthocyanines 28
- Mise en évidence des flavonoïdes 28

1.2. Les résultats comparatifs : 28
- Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques : ... 29

2. Analyse d'huile inula viscosa : 29
2.1. Les méthodes d'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles : 29
- Chromatographie en phase gazeuse (CPG) : 30
- Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM) : 30
- La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) : 30
- La Résonnance Magnétique Nucléaire RMN 30

2.2. Resultat d'analyse qualitative et quantitative l'H.E d'I.Viscosa: 30
- Les resultats d'etude [36] : 30
- Les Résultat d'analyse par chromatogrammes GC : 30

Les resultats d'etude [21] : 33
- Les resultats d'etude [8] : 36
- Identification des flavones-flavonols et des acides phénols par la C.L.H.P : 36
- Identification des aglycones libres par la C.L.H.P : 39

3. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle : 41
3.1. Propriétés physiques : 41
- Indice de réfraction (ISO 280 :1999(75-112)) 41
- Densité (AFNOR, 2000) : 42

3.2. Propriétés chimiques : 43
- Indice d'acide (AFNOR 2000) : 43

- Indice d'ester (pharmacopée européenne, 2001) : 43
- Indice de saponification (ISO 3657, 2002) : 44

II. Caractérisation biologique :

1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro : 45
2. Activités pharmacologique de l'HE (Activité anti-inflammatoire in vivo) : 46

CHAPITRE IV : Formulation d'une crème à base d'huile essentielle dois donner le nom de la plante :

1/ Formulation : 48
2/ les formes galéniques des médicaments : 48
Définition : 48
3/ Formulation d'une crème : 49
Choix des excipent 49
Adjuvants auxiliaires : 50
Conclusion 51

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans ses rites religieux. L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations [1].

La phytothérapie est la science qui étudie le traitement par les plantes. Malgré l'industrie pharmaceutique, les plantes ne furent jamais abandonnées [2,3].

La croissance démographique dans le monde en développement et l'intérêt croissant manifesté au niveau des nations industrialisées ont considérablement augmenté la demande spécifique aux plantes médicinales et à leurs produits dérivés.

Dans le secteur agroindustriel et principalement des extractions, il existe différentes méthodes d'exploitation des plantes aromatiques, notamment la diversification de la production d'Huiles Essentielles.

Grâce à l'évolution et la diversification des techniques analytiques on peut aujourd'hui connaitre exactement la composition qualitative et quantitative des plantes [4].

Les plantes aromatiques sont caractérisées par leur richesse en principe active et en substances telles que les polyphénols et les flavonoïdes qui sont dotée des propriétés importantes et différentes [5].

L'objectif finale de ce travail est d'étudier la composition chimique et anti-inflammatoire de huiles essentielle de notre plante a fin de formuler une crémé de propriété principale anti-inflammatoire et procéder au contrôle de la qualité de la crème obtenu. Pour ce faire, nous avons organisé notre mémoire en quatre chapitres.

Dans le premier chapitre on donne des généralités sur la plante *Inula viscosa* (la structure, la forme et la répartition géographique) et sur les huiles essentielles et leur méthode d'extraction. Dans le deuxième chapitre on parle sur les activités biologiques de la plante en présentant leurs effets anti-inflammatoires. Et pour le troisième chapitre on parle sur la caractérisation chimique et bio de la plante (les tests et les analyses sont faits sur la plante) et même les résultats d'autres études et les propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle. Pour le quatrième chapitre on parle sure la formule d'une crème anti-inflammatoire à base de l'huile essentielle de la plante. Et à la fin de notre manuscrit nous avons mis une conclusion finale.

CHAPITRE I :

Généralité sur la plante INULA. VISCOSA

Et les méthodes d'extraction d'huile essentielle

PARTI I : Généralité sur la plante (I. VISCOSA)

1. Généralité sur les plantes médicinales

La nature est la source des agents médicinaux, dont les plantes constituent un patrimoine précieux pour l'humanité. Une croyance bien répandue est que toute plante soigne. L'homme a utilisé les plantes à d'autres fins que de la nourriture ; c'est l'usage des plantes comme des médicaments.

Les plantes médicinales sont connues pour produire certaines molécules bioactives qui possèdent différentes propriétés cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agro-alimentaires et industriels.

Grâce aux études scientifiques basées sur des méthodes analytiques et les expérimentations nouvelles, que le monde médical découvre de plus en plus, le bien fondé des prescriptions empiriques des plantes médicinales. [4]

2. La phytothérapie

La phytothérapie est l'une des plus anciennes médecines du monde. En Algérie elle existe depuis millier d'années, elle est définie comme étant la consommation ou l'utilisation par voie externe, de produits préparés à partir de plantes, sans passer par une étape de sélection des molécules, on ne consomme donc pas que le principe actif, mais tout ce que contient la plante. [4]

3. La plante médicinale Inula viscose L. (Dittrichia viscose L.)

- **Définition :**

L'inule visqueuse est une plante vivace de la famille des Asteraceae représentée par le genre *Inula*. Cette famille est l'une des plus distribuées dans le règne végétal et représentée principalement dans les régions tempérées est froides du globe. Cette grande famille comprend plus de 13 tribus répartis en 1500 genres et 23000 espèces. [4...6]

En Algérie, il en existe 109 genres répartis en 408 espèces. Parmi les genres appartenant à la famille composite, le genre Inula comprend une variété d'environ 90 espèces. Il est largement distribué dans le bassin méditerranéen. [4...6]

Le nom inule vient de l'encient nom de l'année. Probablement par déformation du grec hélénion. L'inule visqueuse est fréquente en région méditerranéenne. Où elle fleurit à la fin de l'été et au début de l'automne. Elle affectionne les anciennes cultures (friches), les décembres, les bords des routes et des chemins, formant d'abondantes touffes vertes à capitules jaunes, elle est considérée comme assez envahissante. Elle est l'un des quelques représentants du genre Dittrichia. [4...6]

- Inula : viendrait du grec : Inéo qui signifié je purge (Allusion à une propriété thérapeutique de la plante.

- Viscosa : veut dire visqueuse.

***Inula viscosa* (L.) Ail Ou *Dittrichia viscosa* (L.)**

- **Répartition géographique :**

Cette espèce est présente dans les Alpes-Maritimes, aux Pyrénées-Orientales, dans certains pays d'Europe comme l'Espagne, la France, l'Italie…etc... Elle se trouve aussi dans les pays de l'Asie tels que : La Chine, le Japon, la Korée…etc. Elle est commune dans l'ensemble des pays du Maghreb : la Tunisie, le Maroc et largement répandue dans le nord de l'Algérie et dans tout le pourtour méditerranéen jusqu'au cœur du Sahara. Elle se trouve aussi en Egypte.

L'inule visqueuse pousse sur les sols salés, les prairies humides et les bords de cours d'eau, les rocailles, terrains argileux un peu humide et les bords des routes.

- **Place dans la systématique : Inula viscosa (Dittrichia viscosa) :**

Selon, *Inula viscosa était* associée au genre Ditrichia (Ditrichia viscosa) car elle possède des poils glanduleux sur l'ovaire, ce qui n'est pas le cas des autres espèces du genre Inula, notent que l'inule visqueuse est classée dans la famille (Astéracées (Compositeae)).[5]

- **Noms vernaculaires :**

Français : Inule visqueuse.

Anglais : Woody fleabane.

Le nom en Arabe et en Amazigh : Magramane, Bagramane

- **Description botanique :**

Inula viscosa comme une plante annuelle herbacée, pérenne ou vivace chez laquelle les branches ligneuses bourgeonnent à chaque printemps. C'est une plante pouvant atteindre 120 cm de hauteur avec des tiges de 5-10 cm. [5]

Les feuilles sont oblongues, sessiles, alternes, dentées, glanduleuses sur les deux faces et visqueuses, dégagent pendant la phase végétative une forte odeur caractéristique, avec une racine pivotante lignifiée pouvant atteindre 30 cm de long. [5]

La floraison commence à partir du mois de Septembre, les inflorescences sont de longues grappes fournies de capitules jaunes. Les fleurs périphériques sont liguiliformes, celles du centre sont tubulaires. Les fruits sont des akènes velus à aigrette grisâtre.[7]



A. Capitule B. La feuille

Figure 1 : Aspect morphologique de la plante inula viscosa

- **Composition chimique :**

Cette plante contient une huile essentielle dont les composés majoritaires sont des sesquiterpénes,de la résine et de tanins. Elle contient également de l'inuline,des flavonoide,de la paraffine et des azulenes.on rapporte aussi la présence de mucilage et quelques sels minéraux. [8]

- **Usages thérapeutiques :**

Elle est utilisée pour ses activités :

- anti- -inflammatoires, antidiabétiques, antipyrétiques, Antiseptiques,
- pour traiter les troubles gastroduodénaux.
- effet antiulcérogénique a été attribué à la composition flavonique d'*Inula.viscosa*.
- L'extrait flavononique et l'huile essentielle d'Inulaviscosa montrent une activité Antifongique contre les dermatophytes et Candida spp.
- Anticatharrale. [9]

PARTI Il : Généralités sur les huiles essentielles

1. Rappels historiques sur l'usage des plantes aromatiques :

Les plantes aromatiques sont, depuis des millénaires, utilisées à des fins diverses sur tous les continents. Par exemple, elles sont employées dans l'alimentation (épices, condiments, herbes aromatiques), en médecine pour guérir certaines maladies ou encore en parfumerie. Ces connaissances ancestrales se sont transmises de génération en génération et à l'heure actuelle, on s'appuie encore très souvent sur ce savoir pour valoriser les plantes aromatiques et leurs produits dans un large axe « Plantes, santé, bien-être » [10].

Au Moyen-Âge, les apothicaires (ou pharmaciens) sont surnommés les « *aromatherii* », mettant en évidence l'importance qu'occupent les plantes aromatiques dans les préparations galéniques de l'époque [11].

Autour de l'an 1000, Avicenne (Ibno Sina) met au point le procédé d'extraction des HE par le processus d'entraînement à la vapeur d'eau ou hydrodistillation. Ce médecin arabo-musulman a également écrit de nombreux ouvrages médicaux consacrant une grande place aux HE [10].

Au temps modernes Monsieur René-Maurice Gattefossé, pharmacien et chimiste français est le précurseur de l'usage actuel des HE. C'est en se brulant la main, un jour de 1910, lors d'une explosion dans son laboratoire qu'il tente de se soigner par les médicaments. Malheureusement, ces derniers n'ont eu que très peu d'effet et il sera atteint de gangrène gazeuse. Découragé par l'inefficacité du traitement, il décide d'appliquer sur sa main de l'HE de lavande vraie dont il connait l'action antiseptique et cicatrisante. Il ressent alors un soulagement immédiat et la guérison ainsi que la cicatrisation de sa plaie sont d'une grande rapidité. Face à ce résultat, il décide de se consacrer à l'étude antimicrobienne des HE. Il créé en 1919, la Société française de produits aromatiques. L'étendue de ses recherches est publiée dans quelques-uns de ses ouvrages tels que « *Les Essences en thérapeutique* » ou encore « *Cicatrisation rapide des plaies par les huiles essentielles* ». C'est lui qui créé en 1935 le mot « aromathérapie », dans la revue professionnelle « *Parfumerie moderne* » pour désigner l'emploi des HE issues des plantes aromatiques dans le but de traiter les pathologies et d'améliorer la santé et le bien-être. L'année suivante, il publie un ouvrage « *Aromathérapie. Les huiles essentielles, hormones végétales* » mettant en évidence la relation entre la structure biochimique des molécules présentes dans les HE et leurs activités [12,13].

Dans les années 50, le docteur Valney chirurgien militaire, utilise avec succès les HE pour soigner certains blessés de la guerre d'Indochine. Lorsqu'il quitte l'armée, il fait de grandes conférences en France et à l'étranger sur ce qu'il appelle la « phyto-aromathérapie » et il publie en 1964, un ouvrage sur l'efficacité des HE nommé « *L'Aromathérapie ou traitement des maladies par les essences des plantes* » visant à promouvoir l'aromathérapie et la phytothérapie auprès du grand public [13].

Aujourd'hui, l'aromathérapie connaît un nouvel élan suite aux divers scandales sanitaires de l'industrie pharmaceutique (notamment l'affaire Médiator). Il est cependant important de ne pas opposer aromathérapie et allopathie « classique » mais au contraire, de les considérer comme complémentaires pour le bien être du patient.

Bien évidemment, les connaissances sur l'aromathérapie sont toujours de plus en plus importantes, en particulier les données pharmacologiques et les informations quant à leurs toxicités et efficacités cliniques. Beaucoup de pharmaciens ou de médecins lui font confiance et apportent leurs connaissances et leurs savoirs dans de nouvelles publications scientifiques [10].

2. Utilisation des huiles essentielles en aromathérapie

- **Industrie chimique :**

Elle utilise des isolats (substances pures isolées des huiles essentielles), comme matière première pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, etc .[14]

- **Industrie pharmaceutique :**

L'industrie pharmaceutique utilise les huiles essentielles dans le domaine des antiseptiques externes ; elle tire parti des propriétés bactériostatiques, bactéricides, antifongiques, protectrices, etc., des essences naturelles. A titre d'exemple, l'huile essentielle d'eucalyptus est largement utilisée en pharmacie pour ses propriétés antiinfectieuses, cicatrisantes, et pour la réparation des tissus (Holzner, 1977). Les huiles essentielles sont également utilisées pour l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale (Bruneton, 1993). Elles constituent également le support d'une thérapeutique particulière : l'aromathérapie (thérapie par les huiles essentielles des plantes aromatiques) [14]

3. Définition :

- **Huile essentielle :**

Selon la pharmacopée européenne, une HE est un : « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » [10,12].

C'est un mélange de molécules variées, comprenant en particulier des terpènes, et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones). L'obtention des huiles essentielles par expression à froid (zestes). Dans ce dernier cas, une certaine ambigüité existe sur la dénomination d'huile essentielle. Pour ce type d'extrait le terme d'essence est aussi utilisé [5].

Beaucoup de végétaux renferment des HE, mais seulement en toute petite quantité, ne permettant pas l'extraction ou en rendant le prix excessivement cher. Seules les plantes dites « aromatiques » produisent des quantités suffisantes d'HE. Ces plantes appartiennent pour la plupart aux familles des Lamiaceae (lavande, thym, menthe…), des Lauraceae (cannelle, camphrier…), des Myrtaceae (eucalyptus, niaouli…), des Pinaceae (pin, cèdre, cyprès, genévrier…), des Rutaceae (citron, orange…) ou des Apiaceae (cumin, fenouil, anis vert…) [10].

Les huiles essentielles peuvent être extraites de différentes parties de la plante :

- Fleurs (pétales de rose),
- Ecorces de fruits (citron, bergamote, orange),
- Graines (anis),
- Feuilles (eucalyptus),
- Baies (genévrier),
- Boutons floraux (clou de girofle),
- Fruits (persil),
- Bois (santal, écorce de quinquina). [10 .12].

La teneur des plantes en huile essentielle est faible de l'ordre de 1 à 3 % à l'exception du clou de girofle de (14 à 19 %), du macis (10 à 13 %), de la noix de muscade (8 à 9 %), de la cardamone (4 à 10 %).

Les HE sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction, ou les effets biologiques. On retient 8 classes principales :

- Les carbures sesquiterpéniques et terpéniques,
- Les esters et alcools,
- Les aldéhydes et cétones,
- Les phénols,
- Les éthers et les peroxydes). [10,12].

- **Huile végétale :**

L'huile végétale (HV) est un corps gras obtenu par pression à froid d'une noix, d'un fruit ou d'une graine oléagineuse. Ce mode d'extraction est exclusivement mécanique et s'effectue à basse température afin de préserver la teneur en acide gras essentiels (oméga 3, 6 et 9), en vitamines liposolubles (vitamines A, D, E et K) et en antioxydants naturels (vitamine E), ne nécessitant, de ce fait, aucun additif . Les HV favorisent la diffusion des HE a travers la peau. Elles sont très riches en acides gras essentiels qui participent à la structure des membranes des cellules de la peau et la tonifient, l'assouplissent et la régénèrent. Elles sont également riches en vitamines liposolubles permettant ainsi de combattre le risque de dégénérescence et d'oxydation responsables du vieillissement prématuré de la peau. Il est important de ne pas confondre HV et HE, les deux sont lipophiles et se mélangent très bien ensemble mais la composition chimique est totalement différente [15].

Certaines plantes (telles que l'arnica, le calendula, la carotte ou encore le millepertuis) ne peuvent pas produire d'huile par pression mais leurs huiles sont retrouvées dans le commerce. On les obtient par macération dans une HV pour extraire par ladite huile les métabolites secondaires apolaires. Plus précisément, le procédé, assez simple, consiste à laisser macérer, en général plusieurs semaines, une partie de la plante (telles que les fleurs, les graines ou encore la totalité de la plante) dans de l'HV « de base » comme par exemple l'HV de tournesol. La préparation est ensuite filtrée et on obtient une HV enrichie en principes actifs apolaires contenus dans la partie de la plante choisie. On parle alors d'huiles de macération ou de macérats huileux [15].

- **Essence :**

L'essence est un terme désuet parfois utilisé pour parler des HE. Il correspond pour certains auteurs à l'HE obtenue par expression du péricarpe des *Citrus*. Il existe l'HE de citron et l'essence de citron. L'essence de citron est directement extraite par expression mécanique à froid et non pas par distillation à la vapeur d'eau. Elle n'a donc subi aucune modification biochimique. Le procédé d'expression à froid permet d'extraire également des molécules non volatiles comme par exemple, les furanocoumarines photosensibilisantes [10].

- **Hydrolat aromatique (HA) :**

L'hydrolat aromatique est l'eau distillée (vapeur d'eau recondensée) que l'on sépare de l'HE à la sortie de l'alambic. Elle est plus ou moins aromatisée selon les plantes distillées car elle se charge de molécules aromatiques hydrosolubles au cours de la distillation [10].

4. Critères qualitatifs d'une huile essentielle :

De nombreux paramètres entrent en jeux dans la qualité des huiles essentielles. Tout d'abord la sélection de la plante et le moment de la récolte sont primordiaux : les plantes doivent être identifiées botaniquement, et doivent provenir de culture sauvage, biologique, ou traditionnelle sans utilisation de pesticide ou autre produit chimique. Les plantes doivent être cultivées dans leurs biotopes d'origine. L'extraction doit être faite dans des conditions de rigueur de laboratoire, en maîtrisant les paramètres de température et de pression. Le stockage doit se faire dans des récipients adaptés aux huiles essentielles et à l'abri de la lumière et à des températures ne dépassant pas 25 degrés. Les huiles essentielles sont des extraits fragiles.[16]

5. Utilisation des huiles essentielles :

En Aérosol, avec un diffuseur électrique un vaporisateur ou un diffuseur à bougie. Cette méthode permet de diffuser dans l'air des très fines particules d'huiles essentielles et de bénéficier de leur effet par voie respiratoire. Utilisées de cette manière, les huiles essentielles permettent, tout en parfumant l'atmosphère, de purifier et d'assainir l'air. Le dosage devra toujours être très léger pour ne pas incommoder.

Par Voie Cutanée, les huiles essentielles pénètrent très facilement l'épiderme pour toucher ensuite tous les tissus, c'est pour cela que les huiles essentielles devront être choisies minutieusement pour leur compatibilité avec la peau. Le dosage devra être étudié, et le diluant choisi en fonction de l'activité recherchée.

Par Voie Orale, cette utilisation sera choisie uniquement sous prescription de votre thérapeute. Les huiles essentielles sont très concentrées et mal utilisée peuvent entraîner des intoxications sérieuses. [16]

6. Précautions d'emploi des huiles essentielles :

Conseils D'utilisation :

Les principales utilisations des Huiles Essentielles : soin thérapeutique, massage thérapeutique, soin dermocosmétique et capillaire, balnéothérapie, parfumerie et gastronomie. Les HE sont des extraits végétaux très concentrés. Pour toutes les voies d'adsorption, et plus particulièrement pour la voie orale, employer des excipients appropriés.

Les HE ne sont pas hydrosolubles : ne pas utiliser l'eau comme excipient, préférer les huiles végétales, une base lavante (shampoing, gel douche), de l'alcool ou une base de crème neutre. Pour la voie orale : diluer l'HE dans une huile végétale, dans du miel ou dans du sucre (sirop de sucre de canne).

PARTI III : Procédé d'extraction des huiles essentielles

1. Historique :

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide.

Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. Il était certainement connu des Chinois et des Indiens depuis 20 siècles avant J.C. Les Egyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques .

A l'apogée de leurs conquêtes en Afrique du Nord et en Espagne, les arabes le firent connaître aux Espagnols, lesquels à leur tour le propagèrent en Europe, à travers les possessions du Royaume d'Aragon, échelonnées tout le long des Côtes du Nord de la Méditerranée .[17]

2. Choix de la méthode d'extraction :

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte [17].

3. Principaux paramètres d'extraction :

Les principaux paramètres à prendre en compte dans les opérations fondamentales d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont [17] :

- **La volatilité :** est la mesure de la capacité d'une substance à se vaporiser.
- **La solubilité :** L'élévation de la température permet l'accroissement de la solubilité. Elle doit être limitée pour éviter les risques d'extraction des composés nuisibles et la dégradation thermique du soluté.
- **La taille et la forme des molécules constitutives :**
  - les substances d'origine végétale : rapidité des extractions, possibilité de travailler à des températures peu élevées, possibilité de couplage direct avec les chromatographies... ect.
  - Extraction d'un solide est difficile, pour facillite operation on ajoute des poudres
- **L'adsorption :** peut etre un proprieté indésirable,un composé a faible concentration pouvant etre complétement adsorbé sur les parois du recipint,de telle sorte qu'aux haute dilution ,on ne retrouve plus trace de l'analyte.

4. Techniques d'extraction pour l'obtention d'huiles essentielles :

L'extraction est une technique de séparation en génie chimique, elle utilise un moyen pour séparer sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange sur la base de ces propriétés chimiques et/ou physiques. Le moyen d'extraction doit être non ou peu miscible

avec les composants principaux du mélange alors que le composé à extraire doit posséder plus d'affinité avec le moyen d'extraction qu'avec les composants principaux du mélange. [18]

Il existe plusieurs modes d'extraction comme l'hydrodistillation, l'expression à froid, l'enfleurage, l'extraction par solvant organique, l'extraction par ultra-sons ect. Ces techniques d'extraction mettent en œuvre, en ligne la plupart du temps, plusieurs types d'opérations fondamentales.

La Figure 2 résume les techniques et les principales opérations industrielles les plus couramment utilisées.

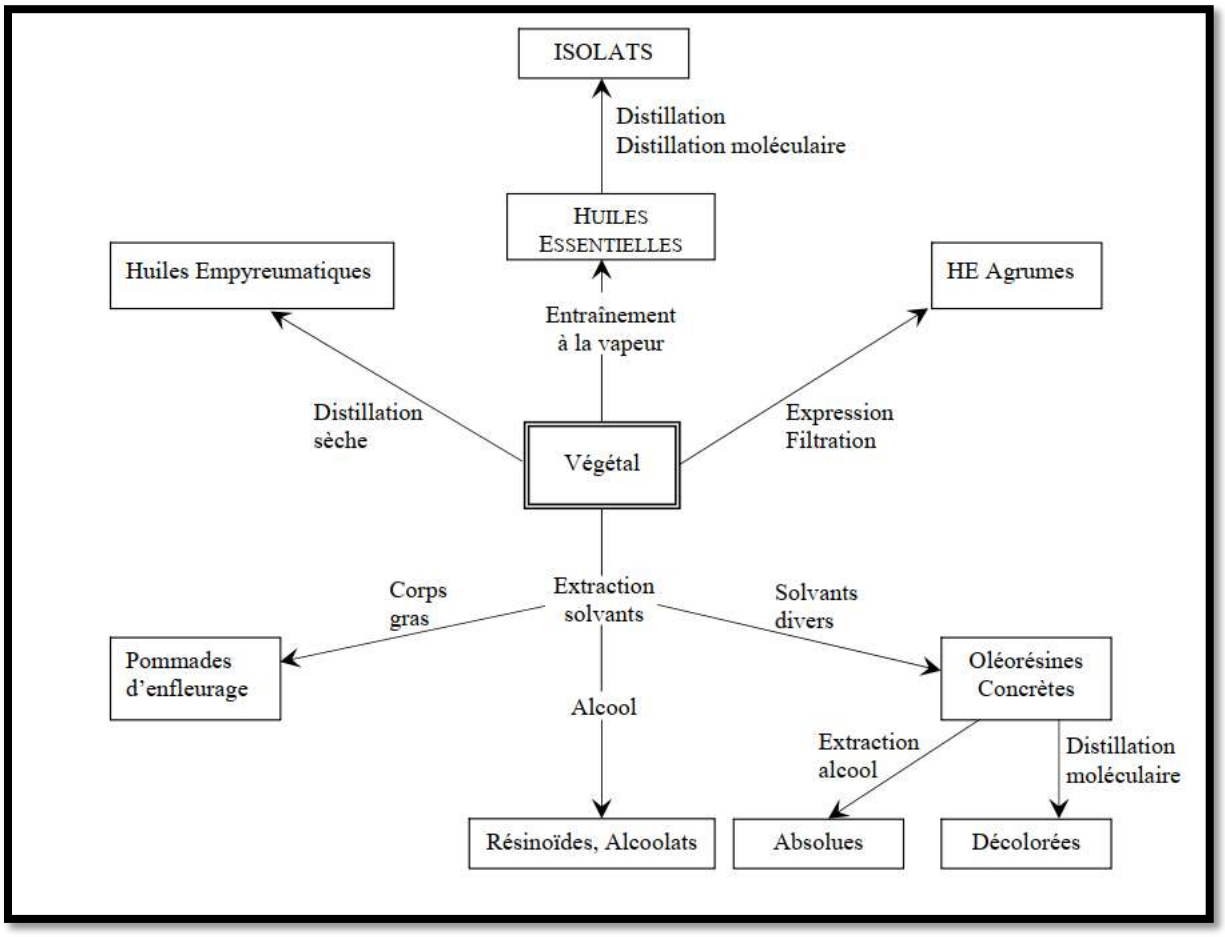


Figure 2 : Principales opérations industrielles d'extraction

l'AFNOR NF T 75-006 qui précise que seul l'entrainement à la vapeur, les procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus et la distillation à sec peuvent produire une huile

essentielle. Nous allons donc rappeler d'abord les différentes méthodes d'extraction les plus utilisées. [19]

- **Distillation par entrainement à la vapeur d'eau ou hydro-distillation :**

Cette technique utilise l'entraînement des substances aromatiques par la vapeur d'eau. Les plantes sont disposées entières ou broyées (lorsqu'il s'agit d'organes durs comme les racines ou les écorces) dans un appareil de type clevenger, sous l'effet d'une source de chaleur, l'eau se transforme en vapeur qui traverse alors la cuve contenant les plantes aromatiques. La vapeur d'eau ayant volatilisé et entraîné l'HE se condense ensuite dans le serpentin du réfrigérant et retourne donc à l'état liquide pour se séparer dans l'essencier ou vase florentin. L'étant hydrophobe et souvent moins dense que l'eau, surnage dans la majorité des cas à sa surface et est recueillie après décantation. Il est impératif que la distillation soit complète pour que tous les constituants aromatiques de l' soient récupérés. Par conséquent, les durées de distillation sont généralement longues. Elles varient en fonction des organes distillés de 1 à 24 heures [10.17]

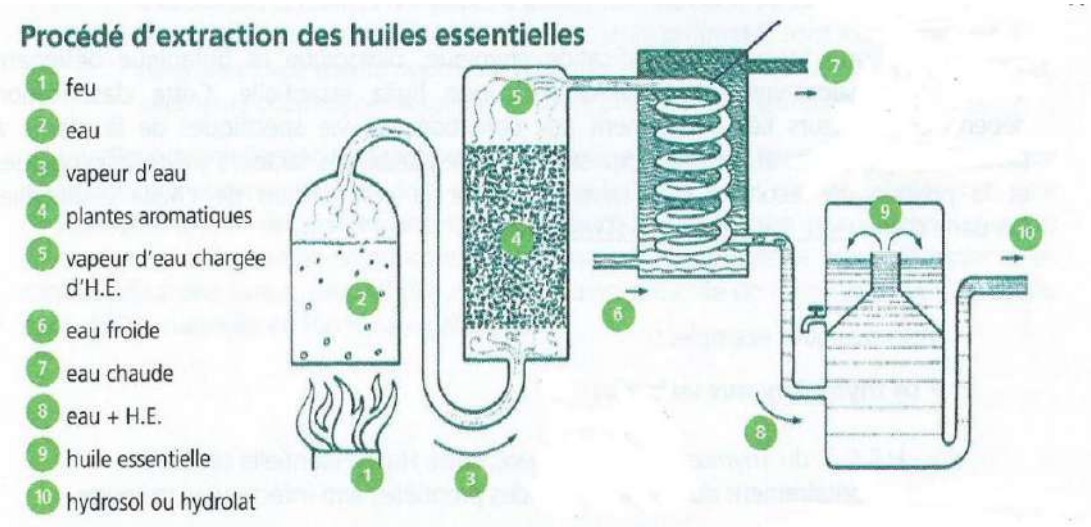


Figure 3 : Distillation par entrainement à la vapeur d'eau



Figure 4 : Appareil de type Clevenger

- **Expression à froid :**

C'est une technique utilisée pour l'extraction des HE des écorces des fruits de Citrus (Citron, Orange douce, Orange amer ou bigarade, mandarine…) .

1- Principe : les zestes des citrus sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices rompues est récupéré par un courant d'eau (procédé à froid)

2-Technique : selon le mode de rupture de la paroi du fruit nous avons : 1er cas : sur le fruit entier, on utilise des machines pellatrices qui exercent une action abrasive sur le fruit, lacérant sa surface externe et provoquant la mise en liberté de HE. 2ème cas : sur le fruit découpé en plusieurs quartiers on utilise des machines sfumatrices qui extrait HE en créant dans les écorces des zones de compression et dépression suffisante pour que HE puisse être libérée. [16, 20]

- **Enfleurage :**

Met à profit la liposolubilité des HE dans les corps gras, cette opération concerne l'extraction des parfums des fleurs, on obtient une pommade florale, il existe 2 variantes :
- Enfleurage à froid *:* on dépose des fleurs sur des plaques de verre recouverte d'une mince couche de graisse, puis on les remplace par des fleurs fraîches jusqu'à saturation du corps gras.[20]
- Enfleurage à chaud (digestion) *:* l'extraction se fait par immersion des fleurs dans le corps gras fondu (60 à 70°c).

- **Extraction par gaz supercritique :**

Cette technique est basée sur le fait que le gaz CO_2 lorsqu'il atteint un état supercritique présente un pouvoir de dissolution accrue vis-à-vis des HE.[20]

- **Extraction par les solvants organiques :**

Cette méthode est utilisée pour les organes végétaux présentant une concentration en essence relativement faible ou pour les essences que l'on ne peut extraire par distillation. Etant de nature huileuse, les essences sont solubles dans les solvants organiques. Un épuisement des plantes est effectué à l'aide d'un solvant volatil dont l'évaporation laisse un résidu cireux, très coloré et très aromatique appelé « concrète ». Le traitement de cette concrète par l'alcool absolu conduit à « l'absolue ». On utilise comme solvant organique volatil l'hexane, qui est le plus utilisé actuellement ; le benzène très utilisé dans le passé mais interdit pour des raisons de toxicité ; le propane ; le toluène, etc.…. L'extraction s'effectue en plusieurs étapes, on lave la matière avec le solvant deux à trois fois. Il semble que la presque totalité des produits odorants passe en solution dès la première extraction. Mais, étant donné que la matière traitée retient une forte proportion de la solution, il est nécessaire de pratiquer des dilutions successives avec de nouvelles charges de solvant (lavages). La matière épuisée retient une proportion importante de solvant. Il faut donc concentrer la solution en évaporant le solvant qui est recyclé pour d'autres lavages. La récupération du solvant atteint couramment 94 à 96 % de la quantité retenue. De ce fait une proportion résiduelle de solvants reste dans les concrètes d'où un risque de toxicité non négligeable. Pour cette raison, cette technique est limitée à l'industrie des parfums.[21]

5. Calcul du rendement en huile essentielle :

Le rendement en HE est le rapport entre la masse de l'huile récupérée (MHE) en (g) et la masse de la matière végétale (MMV) sèche utilisée en (g) multiplié par 100 .

$$R\% = (M_{HE}/M_{MV}) \times 100$$

Avec :

R : Rendement en huile essentielle en pourcentage (%).

M_{HE} : Masse de l'huile recueillie en (g).

M_{MV} : Masse de la matière végétale en (g).

- **Les résultats du rendement en HE d'I. vescosa :**

Les résultats des étudiant qui faire l'extraction (hydro-distillation) et calculer le rendement (Le rendement en huile essentielle pour 100g [4,5] de matière végétale sèche) :

Référence	**[5]**	**[4]**
Les résultats de R%	0,12%	0,21%

Le rendement qu'on a trouvé sont alors variés entre 0,12% et 0.21%, donc sont très faible, ils semblent dépendre du matériel employé, la méthode d'extraction, l'âge de la plante, l'origine de la plante et la période de récolte.

Le technique d'extraction utilisé (hydro-distillation) ne donne pas un excellent résultat, pour cela Il vaut mieux utiliser une technique comme enfleurage.

La quantité de huile essentielle à l'intérieur de la plante est très faible.

CHAPITRE II :

Activité biologique de la plante

INTRODUCTION

Le stress oxydant est impliqué dans de très nombreuses maladies comme facteur déclenchant ou associé à des complications, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes augmente la multiplication mitochondriale de radicaux [22].

Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l 'hypertension, et la maladie d'alzheimer en combattant le stress oxydant [23].

1. Radicaux libres et Stress oxydatif :

1.1. Radicaux libres :

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrement réactif. L'ensemble des radicaux libre et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (EAO) [24].

Les radicaux libres sont électriquement neutres ou chargés (ioniques) et comprennent l'atome d'hydrogène, le radical hydroxyle, l'anion superoxyde, le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée), etc.

Les radicaux libres sont des espèces chimiques très instables qui jouent un rôle dans l'action de certains traitements anticancéreux, de même qu'à l'origine du vieillissement.

Leur structure comprend un électron célibataire qu'ils cherchent à apparier en attaquant et en endommageant les molécules voisines. L'appellation " dérivés réactifs de l'oxygène " n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel peroxyde d'hydrogène (H2O2), peroxynitrite (ONOO) [25].

1.1.1. Dommages oxydatifs des radicaux libres :

Les phénomènes radicalaires augmente anormalement et par une diminution des défenses anti oxydants.La conséquence de ce déséquilibre va entrainer une agression appelée (stress oxydatif).Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés ; lipides ,

protéines , glucides et ADN .Cette oxydation provoque des dommages sur tout l'organisme, accélérant le vieillissement (maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives , cancer , diabète…..) et la dégradation des cellules et des tissus [26, 27].

1.2. Stress oxydatif :

Le stress oxydatif apparaît donc quand un déséquilibre se forme dans la balance anti/ pro- oxydants. C'est seulement à ce moment que les ERO vont exercer leur action délétère sur l'organisme.

Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols…) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire et présentent trois phases principales.
Une phase d'initiation qui peut être due à l'intervention d'un radical hydroxyle HO qui arrache un atome d'hydrogène en position

$$RH^{\cdot} + HO \rightarrow R^{\cdot} + H_2O \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (1)$$

Une phase de propagation : en présence d'oxygène, il se forme un radical peroxyde (ROO) qui déstabilise une deuxième molécule d'acide gras polyinsaturés AGPI et conduit à un hydroperoxyde lipidique (ROOH) et à un nouveau radical, assurant ainsi la propagation du processus :

$$R^{\cdot} + O_2 \rightarrow ROO^{\cdot} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (2)$$

$$ROO^{\cdot} + RH \rightarrow ROOH + R^{\cdot} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots (3)$$

Une phase de terminaison, où se recombinent différents radicaux formés pour aboutir à des composés stables :

$$R^{\cdot} + R^{\cdot} \rightarrow RR \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (4)$$

$$ROO^{\cdot} + R^{\cdot} \rightarrow ROOR \quad ROO^{\cdot} + ROO^{\cdot} \rightarrow ROOR + O_2 \quad \ldots\ldots\ldots (5)$$

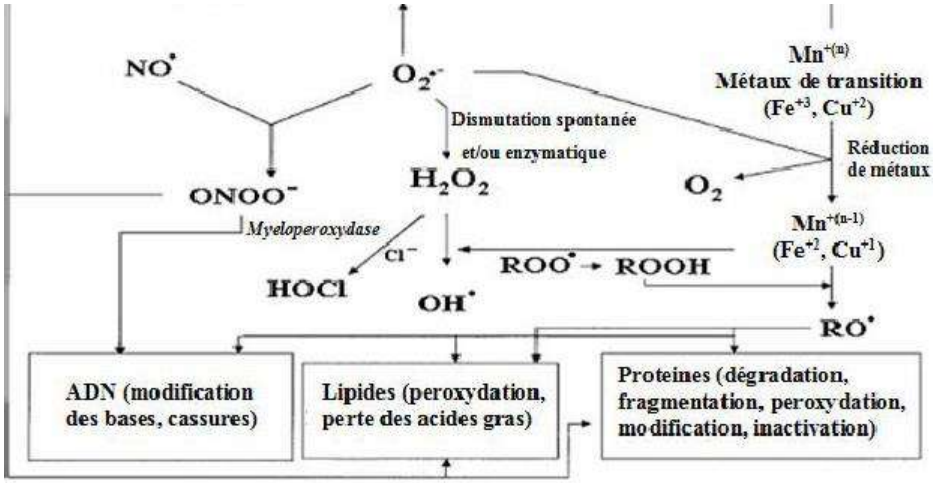


Figure 5 : Cibles biologiques et endommagement oxydatifs induits par les EOR [25].

- **Modes d'action des antioxydants :**

Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydant dont les mécanismes d'action sont différents [26, 28] (Tableau 1).

Tableau 1 : Principaux modes d'action de quelques antioxydants :

	NATURE	**MODE D'ACTION**
Defenses non enzymatiques	Vitamine E	piéger des radicaux libres
	Vitamine C	
	Bêta carotène	
	Bêta carotène	
	Bêta carotène	Fixation des métaux de transition
	acide urique…	piéger certains radicaux libres
	Superoxide dismutase	Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
	Catalase Métabolise	Métabolise H_2O_2

Defenses enzymatiques		
	Glutathion peroxydase	Action réductrice sur H_2O_2 et Les hydro peroxydes

1.3. LES COMPOSE PHENOLIQUES

1.3.1 Généralités :

C'est un très vaste groupe de substances dont l'élément structural commun c'est la présence d'au moins : un Noyau Aromatique lié à un groupement Hydroxyle (libre ou engagé).

Les composés phénoliques sont issus de deux voies biogénétiques différentes :

- Voie de l'acide chimique : acide cinnamique, acide benzénique, coumarines, lignanes…
- Voie de l'acide acétique (polyacétate) : chromones, quinones…

Il y a des composés d'origines mixtes telle que : les flavonoïdes, les tanins.

Définition : Les composés phénoliques sont des dérivés aromatiques hydroxylés non azotés dont les cycles aromatiques sont issus du métabolisme de l'acide chimique et/ou de celui d'un polyacétate [29].

1.3.2. Les produits naturels des plantes et leurs activités biologiques :

Les plantes produisent un grand nombre de composés, Ils ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Ils se sont surtout illustrés en thérapeutique et dépassent actuellement 100 000 substances identifiées. Les produits naturels des plantes peuvent être classés en deux catégories, les métabolites primaires et les métabolites secondaires : [30]

- **Les métabolites primaires** : ils ont un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement végétal, se retrouvent dans toutes les espèces ;
- **Les métabolites secondaires** : ils ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures. Ils sont des molécules

qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques, microorganismes pathogènes…etc. On conçoit donc que la plante puisse développer un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre. Ils sont différents dans les différentes espèces. Parmi eux : les terpènes, les flavonoïdes, les tannins, les saponosides, les alcaloïdes et les coumarines [30].

A/ Les saponosides :

Mot latin « sapon », l'herbe à savon [31] Ils sont des métabolites secondaires hétérosidiques présents dans de nombreuses plantes et quelques organismes marins. De nature amphiphile, ces molécules sont connues pour leur propriété tensio-active ou encore leur capacité à lyser les globules rouges (hémolyse) [25].

B/les coumarines :

Les coumarines sont des substances naturelles dérivant de la benzo-α-pyrone ; ils résultent de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxycinnamique. [29]

b.1/Répartition botanique et localisation dans la plante :

Dicotylédones : Rutacées (bergamote), Fabacées (fève Tonka), Apiacées (Khella), Logagnacées, Solanacées, Astéracées, Hippocastanacées (marronnier d'inde).

Les coumarines sont formées dans les feuilles et s'accumulent surtout dans les racines et les écorces, ainsi que dans les tissus âgés ou lésés.[29]

b.2/Structure chimique et classification :

Les coumarines possèdent une ou plusieurs fonctions phénoliques.

Les hydroxyles de ces coumarines peuvent être libres, éthérifiés ou engagés dans une liaison hétérosidique. On les divise en deux :

- Coumarines simples (ce sont les coumarines les plus répondues dans le règne végétal).
- Coumarines complexes (ils se constituent d'un noyau furane ou pyrane associé au noyau benzo-α-pyrone).[29]

C/les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des molécules d'origine naturelle. On les trouve principalement chez les végétaux, mais aussi chez les animaux et chez certains micro-organismes. Ils ont une nature basique, contenants de l'azote et sont pharmacologiquement actifs, ils sont utilisés aussi comme antalgiques majeurs (morphine), pour combattre l'excès d'acide urique (colchicine), comme substance paralysante/stimulante (curare, caféine), comme anticancéreux (vinblastine, vincristine). Ils sont aussi de forts agents antimicrobiens [25].

D/Les tanins :

En 1962, les tanins ont été définis comme des "composés phénoliques hydrosolubles ayant des poids moléculaires compris entre 500 et 3000, et en plus de donner les réactions phénoliques habituelles, et ils ont des propriétés spéciales telles que la capacité à précipiter des alcaloïdes, la gélatine et d'autres Protéines » [32]

La division classique des tannins était basée sur leur résistance ou non, sur l'hydrolyse en présence d'eau chaude ou les enzymes tannases, En conséquence, les tannins ont été regroupés en deux classes [32].

d.1. Les tanins hydrolysables :

Sont des esters d'acides galliques ou ellagiques

d.2. Les tanins Non hydrolys :

Les tanins condensés sont constitués de diverses unités flavonoïdes oligomères ou polymères [32].

E/Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Qui peuvent être rencontrés dans une large variété de fruits et de légumes consommés quotidiennement par l'être humain. En plus de leur rôle dans la pigmentation des végétaux, certains de ces composés présentent des activités biologiques d'intérêts, telles que des actions anti- antioxydants, anti-inflammatoires, antihypertenseurs, anti-influenza, antifongiques et antivirales [25].

1.3.3 Propriétés pharmacologiques et emplois :

Les composés phénoliques présentent un intérêt thérapeutique très limité, ex :

- Propriétés antiseptiques urinaires.
- Propriétés anti-inflammatoires.
- Propriétés antibactériennes et antifongiques.
- Propriétés anti carcinogènes, antiathérogènes, anti thrombotiques analgésiques, antibactériennes, antiviraux, anti-allergènes, vasodilatateurs [30].

En général, les drogues sont employées soit en nature ou sous forme galénique simple (poudre, extrait, teinture, crème……) [29].

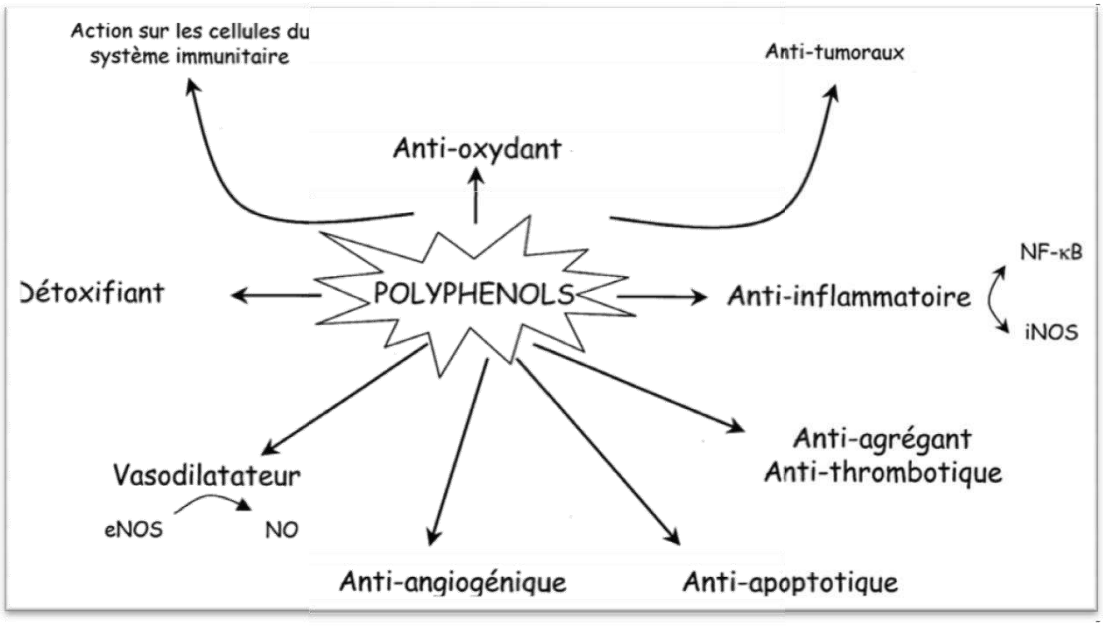


Figure 6 : Effets biologiques des polyphénols [25].

2. Activité anti-inflammatoire :

2.1.Définition de l'inflammation :

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimulinocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation

fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé [33].

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression. Ce processus comprend :

- des phénomènes généraux : exprimés biologiquement par le syndrome inflammatoire et cliniquement de façon variable, le plus souvent par de la fièvre et éventuellement une altération de l'état général [13].
- des phénomènes locaux : l'inflammation se déroule dans le tissu conjonctif vascularisé. Les tissus dépourvus de vaisseaux (cartilage, cornée) sont incapables de développer une réaction inflammatoire complète. Les tissus épithéliaux n'ont pas de rôle actif dans le déroulement de la réaction inflammatoire mais ils peuvent être altérés par l'agression qui déclenche l'inflammation puis être réparés au cours de la phase terminale de l'inflammation.[29].

La réponse inflammatoire peut être divisée en trois phases :

• Une phase d'initiation qui fait suite à un signal de danger d'origine exogène ou endogène et qui met en jeu des effecteurs primaires.

• Une phase d'amplification avec la mobilisation et l'activation d'effecteurs secondaires.

• Une phase de résolution et de réparation qui tend à restaurer l'intégrité du tissu agressé.

L'inflammation est un mécanisme mis en jeux pour favoriser l'élimination de l'infection et/ou la réparation des tissus lésés. C'est un processus normalement véhiculé par des cellules dites inflammatoires telles que les macrophages et les neutrophiles mais aussi par les cellules endothéliales [29].

2.2. Les molécules anti-inflammatoires :

Les polyphénols peuvent exercer, au niveau moléculaire, des effets anti-inflammatoires qui sont dépendants de leur structure spécifique. Les fonctions de macrophage, y compris la production de cytokines, peut également être affectée par certains flavonoïdes par la modulation de la cyclo-oxygénase inductible (COX-2) et l'oxyde nitrique synthase inductible (iNOS). Plusieurs études expérimentales ont rapporté les effets immuns modulateurs des composés phénoliques sur l'immunité humorale et cellulaire [33].

2.3. Les médicaments Anti-inflammatoires :

Ce sont des médicaments qui limitent l'amplitude et la durée des réactions inflammatoires, ils atténuent les signes de l'inflammation. [29]

a/ Anti-inflammatoire non stéroïdiens :

Les anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, anti-pyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sont sur le marché mondial. [6]

b/ Anti-inflammatoires stéroïdiens :

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien .Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la production est stimulée par l'ACTH libérée selon un cycle nycthéméral par le lobe antérieur de l'hypophyse. [6]

c/Anti-inflammatoires d'origine végétale :

Les plantes anti-inflammatoires regroupent des espèces de diverses familles dont les principes actifs présumés responsables de l'activité anti-inflammatoire sont de nature chimique variée. Dans ce contexte. [6]

CHAPTRE III :

Caractérisation chimique et biologique de la plante

I. caractérisation chimique

1. Test phytochimique (screening chimique) :

Ce test qualitatif a pour but de connaitre la composition en métabolites secondaires des feuilles *d'Inula viscosa*, basé sur les changements de couleur. Il est effectué, soit sur la poudre, soit sur l'infusé.

Le screening phytochimique consiste à déterminer les différentes classes des métabolites secondaires et ceci par des réactions de caractérisation qualitative .[4]

1.1. Préparation de l'infusé :

Mettre à infuser 20g de la poudre sèche dans 100ml d'eau distillée bouillante, pendant 15 min. L'extrait obtenu est filtré par un papier filtre. [4]

- **Mise en évidence des tanins**

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant 1 ml de l'extrait à 2 ml d'eau distille et 2 à 3 gouttes de solution de $FeCl_3$ à 1%**.** L'apparition d'une coloration bleu-vert indique la présence des tanins catéchiques ; s'il se développe une coloration bleue –noire, ceci indique la présence des tanins galliques **.** [34]

- **Mise en évidence des saponines**

Les saponosides sont caractérisés par un indice de mousse, leur détection est réalisée en ajoutant 1 ml de l'extrait à 2 ml d'eau distillée, puis la solution est agitée fortement pendant 2 min. Le mélange est ensuite abandonné pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante, supérieur 1cm indique la présence des saponosides **.** [34]

- **Les coumarines**

Faire bouillir à reflux 2g de poudre dans 20ml d'alcool éthylique pendant 15 min puis filtrer. A 5ml du filtrat, sont rajoutées 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% . La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.[4]

- **Les glucosides**

L'essai effectué consiste à ajouter quelques gouttes de H_2SO_4 à 96% (acide sulfurique) à 2g de poudre végétale. La formation d'une coloration rouge brique qui vire vers le violet indique la présence des glucosides.[4]

- **Alcaloïdes**

La caractérisation des alcaloïdes est effectuée à partir des réactifs de Bouchardat (réactif iodoioduré), de Dragendorff (réactif de l'iodo-bismuthate de potassium) et réactif de Mayer (tétraiodomercurate de potassium). 3ml de chaque extrait est réparti dans 3 tubes à essai. Dans le premier tube, sont ajoutées 2 gouttes de réactif de Dragendorff. Dans le deuxième tube, sont ajoutées 2 gouttes de réactif de Bouchardat et dans le troisième 2 gouttes de réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité brun-rougeâtre, rouge-orangé et blanc jaunâtre respectivement dans les tubes, indique une réaction positive. [34]

- **Les anthocyanines**

5ml de l'infusé sont mélangés avec 4ml d'hydroxyle d'ammoniac à 30%. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des anthocyanines.

- **Mise en évidence des flavonoïdes**

Méthode 1 :5 ml d'extrait est traité avec 1 ml d'HCl concentré, quelque tournure de magnésium et 1 ml d'alcool iso- amylique. L'apparition d'une couleur rose ou rouge qui se développe après 3 minutes indique la présence des flavonoïdes **.** [34]

Méthode 2 : Introduire 10g de la poudre sèche dans 150ml de HCl à 37%, dilué à 1%. Laisser pendant 24h puis filtrer et procéder au test suivant : A 10ml du filtrat rajouter 5ml de NH_4OH à 30%, le milieu est ainsi basique. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration jaune dans la partie supérieure du tube

1.2. Les résultats comparatifs :

D'après les résultats des travaux d'étude phytochimique [17,18,20] sur la poudre des feuilles d'Inula viscosa ont montré que cette plante contient : des flavonoïdes, des saponosides, des tanins, des coumarines et absence des alcaloïdes.

- Résultats des réactions de caractérisation des différents groupes chimiques :

(-) : absence ; **(+) : présence**

Tableau 2 : Principaux résultats trouvé des travaux antérieurs

ÉLÉMENT	NÉCESSAIRE		
	[20]	[17]	[18]
Les tanins	+	+	+
Les saponosides	+	+	+
Les coumarines	+	*	+
Les flavonoïdes	+	+	+
Les anthocyanines	-	*	-
L'amidon	-	*	-
Les glucosides	-	*	+
Les alcaloïdes	-	-	-

2. Analyse d'huile inula viscosa :

2.1. Les méthodes d'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles :

Quel que soit le domaine d'utilisation des huiles essentielles (parfumerie, cosmétique, industrie pharmaceutique et agroalimentaire), une parfaite connaissance de leur composition chimique est nécessaire pour en contrôler la qualité et y déceler une éventuelle spécificité en vue de leur valorisation. Ainsi l'analyse des huiles essentielles, qui consiste en des méthodes de séparation et d'identification des composants, reste une étape importante. Cependant, elle demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques.

Plusieurs méthodes existent :

- **Chromatographie en phase gazeuse (CPG) :**

C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. Elle permet l'individualisation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention (Ir).[21]

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

Le but de combiner entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM, après séparation chromatographique, est d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique. Le principe consiste à transférer les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse par la phase mobile (le gaz vecteur) dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres.[21]

- **La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) :**

Cette technique est indiquée pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour effectuer des préfractionnements. Elle peut être couplée également à un analyseur de masse. [21]

- **La Résonnance Magnétique Nucléaire RMN**

Parmi toutes les techniques spectroscopiques, la RMN est la technique de choix pour la caractérisation des molécules organiques ; elle permet l'accès à des informations concernant le squelette et la fonctionnalisation des molécules. [21]

2.2. Resultat d'analyse qualitative et quantitative l'H.E d'I.Viscosa:

- Nous avons fait une comparaison entre les résultats des autres travaux [35] :

- **Les Résultat d'analyse par chromatogrammes GC :**

Dans la figure Chromatogrammes GC de l'huile essentielle de *D. viscosa* des feuilles (a), des fleurs (b) et de la partie aérienne (c). Identification du pic: 1 1,8-dehydro-cineole; 2 n-nonanal; 3 para-mentha-1,5-dien-8-ol; 4 α-terpineol; 5 α-copaene; 6 (E)-β-damascenone; 7 (Z)-β-damascenone; 8 1-tetra-decene; 9 α-cedrene; 10 (E)-caryophyllene; 11 aromadendrene; 12 geranyl acetone; 13 allo-aromadendrene; 14 cis-thujopsadiene; 15 β-chamigrene; 16 γ-muurolene; 17 β-selienene; 18 10,11-epoxy-calamenene; 19 δ-selienene; 20 cis-β-guaiene; 21 α-muurolene; 22 epizonarene; 23 α-cuprenene; 24 δ-cadinene; 25 α-cadinene; 26 α-copaen-11-ol; 27 α-calacorene; 28 (E)-nerolidol; 29 caryophyllene oxide; 30 1-hexadecene; 31 fokienol; 32 guaiol; 33 isolongifolan-7-α-ol; 34 1-epi-cubenol; 35 muurola-4,10(14)-dien-1-β-; 36 gymnomi-trone; 37 epi-α-cadinol; 38 cedr-8(15)-en-9-α-ol; 39 α-eudesmol; 40 α-cadinol; 41 14-hydroxy-(Z)-; 42 14-hydroxy-9-epi-(E)-; 43 ishwarone; 44 epi-nootkatol; 45 8-α-11-elemodiol; 46 β-costol; 47 13-hydroxy-valencene; 48 1-octadecene.

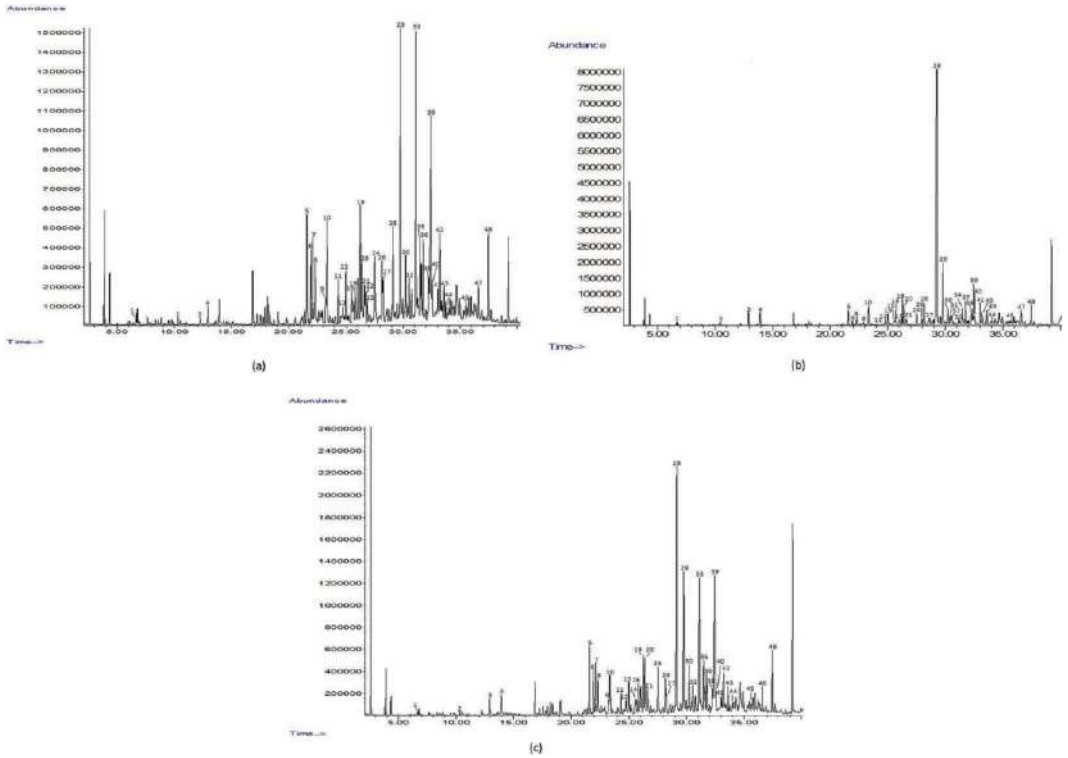


Figure 7 : chromatogrammes GC de *D. viscosa* essential huil

Tableau 3 : Composition chimique des huiles essentielles du feuilles (LE), fleurs (FL) et parties aériennes (AE) de *D. viscosa.*

Peak number	Compound	(HP-5)	RI (Literature)	LE	FL	AE
1	1,8-dehydro-cineole	992	991	tr	0.2	tr
2	n-nonanal	1104	1100	t r	0.3	tr
3	para-mentha -1,5-dien-8-ol	1168	1170	tr	0.9	0.7
4	α-terpineol	1191	1188	1.1	1.4	1.2
5	α-copaene	1376	1376	3.2	1.2	2.8
6	(E)-β-damascenone	1384	1384	2.3	0.3	1.9
7	(Z)-β-damascenone	1388	1387	0.8	tr	tr
8	1-tetradecene	1392	1389	1.9	0.7	1.7
9	α-cedrene	1415	1411	0.7	tr	0.6
10	(E)-caryophyllene	1418	1419	4.0	1.9	2.4
11	aromadendrene	1443	1441	1.3	tr	0.8
12	geranyl acetone	1454	1455	tr	0.7	tr
13	allo-aromadendrene	1460	1460	1.5	1.0	1.3
14	cis-thujopsadiene	1472	1467	1.2	tr	0.9
15	β-chamigrene	1475	1477	tr	0.7	tr
16	γ-muurolene	1476	1479	1.5	0.5	1.0
17	β-selienene	1485	1490	tr	0.8	tr
18	10,11-epoxy-calamenene	1490	1491	-	0.6	-
19	δ-selienene	1490	1492	3.8	-	2.5
20	cis-β-guaiene	1493	1493	2.5	1.6	2.8
21	α-muurolene	1498	1500	1.6	0.8	1.8
22	epizonarene	1501	1501	1.0	tr	tr
23	α-cuprenene	1505	1505	0.6	tr	tr
24	δ-cadinene	1523	1523	2.8	1.2	3.0
25	α-cadinene	1535	1538	tr	0.8	tr
26	α-copaen-11-ol	1540	1540	1.9	2.2	1.7
27	α-calacorene	1542	1545	1.3	tr	1.2
28	(E)-nerolidol	1565	1563	2.8	40.7	11.0
29	caryophyllene oxide	1581	1580	9.9	6.0	6.7
30	1-hexadecene	1592	1589	2.2	1.5	2.2
31	fokienol	1597	1596	tr	1.1	tr
32	guaiol	1600	1600	1.5	1.1	1.5
33	isolongifolan-7-α-ol	1616	1619	10.3	0.6	6.3
34	1-epi-cubenol	1627	1628	tr	1.3	tr
35	muurola-4,10(14)-dien-1-β-	1627	1631	2.6	tr	2.3
36	gymnomitrone	1630	1632	1.9	tr	1.2
37	epi-α-cadinol	1641	1640	tr	0.4	tr
38	cedr-8(15)-en-9-α-ol	1648	1651	1.4	1.2	1.2

39	α-eudesmol	1653	1653	9.1	3.7	7.9
40	α-cadinol	1656	1654	1.3	0.7	1.1
41	14-hydroxy-(Z)-	1669	1667	tr	0.4	tr
42	14-hydroxy-9-epi-(E)-	1673	1669	0.9	1.4	0.6
43	ishwarone	1684	1681	1.0	1.1	1.1
44	epi-nootkatol	1695	1699	tr	0.4	tr
45	8-α-11-elemodiol	1745	1747	tr	0.6	0.8
46	β-costol	1769	1767	tr	Tr	1.2
47	13-hydroxy-valencene	1769	1768	1.2	1.2	tr
48	1-octadecene	1792	1790	2.7	1.6	2.8
	Sesquiterpenes hydrocarbons			27.0	10.5	21.1
	Oxygenated sesquiterpenes			45.8	64.7	44.6
	Oxygenated monoterpenes			4.2	3.5	3.8
	Others			6.8	4.1	6.7
	Total			**83.8**	**82.8**	**76.2**

- **RT ***: temps de rétention.
- **RI**: indice de rétention déterminé sur un HP5-MS fusionné colonne de silice par rapport à une série de n-alcanes (C8-C26) .
- **tr**: trace, pourcentage inférieur à 0,1%.

principalement classés comme terpénoïdes. Ainsi, oxygéné Sesquiterpènes représentent plus de 45,8%, 64,7% et 44,6% des composés volatils des fleurs, des feuilles et Parties aériennes, respectivement.

- **Les resultats d'etude [21] :**

L'analyse chromatographique (CPG-Ir & CPG/SM) des huiles essentielles des deux stations S1 (Nedrouma) et S2 (Ain Temouchent) a permis d'identifier 58 composés. Les identifications sont établies au Laboratoire de l'université de Corse et à l'aide des bibliothèques commerciales.

Les résultats des analyses sont regroupés dans le Tableau 4 ci-dessous :

Tableau 4 : Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes *I-Viscosa* (S1 & S2) .

N°	Composés	TR	S1(%)	S2(%)
1	α-pinene	14.36	35.39	
2	Sabinene	16.10	2.43	
3	β-pinene	16.38	1.51	
4	mycene	16.91	2.93	
5	α phellandrene	17.77	1.84	
6	p-cymene	18.64	1.27	
7	β- phellandrene	19.22	37.76	
8	γ-terpinene	20.84	1.60	
9	linalool	22.68	0.42	
10	Terpinen-4-ol	27.91	0.46	
11	myrtenol	28.60	0.11	
12	Bornyl acetate	34.97	1.36	
13	E-β-caryophyllene	43.83	1	3.72
14	Caryophyllene oxyde	52.61	1.25	
15	β-eudesmol	56.35	0.14	6.95
16	Epi-α-bisabolol	58.19	1.63	0.98
17	nonanal	22.54		0.07
18	γ-terpinolene	28.38		0.45
19	decanol	29.10		0.29
20	tridecene	35.54		0.24
21	Theaspirane I	35.97		0.20
22	Cis-3-hexenyl tiglate	36.83		0.45
23	Theaspirane II	37.22		0.02
24	Geranyl acetone	44.55		0.11
25	Guaia-6,9-diene	45.04		0.91
26	α-humulene	45.79		1.14
27	alloaromadendrene	46.32		0.47
28	α-curcumene	46.97		0.14
29	γ -muurolene	47.20		0.85
30	Gemacrene	47.58		0.07
31	Cis-β-guaiene	47.82		1.19
32	ledene	48.31		0.23

33	α-muurolene	48.70	0.13
34	γ -cadinene	49.06	0.17
35	β-curcumene	49.25	0.08
36	Cis/trans calamenene	49.38	0.16
37	cadinene	49.57	0.61
38	E-nerolidol	51.38	0.27
39	Cis-3-hexenyl benzate	51.61	0.62
40	spathulelenol	51.90	0.81
41	Caryophyllene oxyde	52.91	11.50
42	globulol	53.36	4.33
43	copaborneol	53.80	0.21
44	β-oplapenone	54.04	0.36
45	Humulene epoxyde II	54.23	0.76
46	aromadendrene	55.18	2.42
47	γ -eudesmol	55.56	0.69
48	Epi-cubenol	55.69	1.57
49	α-eudesmol	55.83	1.23
50	Trans muurolol	56.19	0.58
51	7,α-eudesmol	56.99	0.90
52	bulesol	57.44	1.61
53	α-bisabolol	58.34	1.61
54	Endes-,11-en-4α-ol	58.71	1.88
55	2-pentadecanone	59.13	1.18
56	Pentadecanal	59.70	0.86
57	γ –curcumen-15-al	61.50	1.07
58	E-phytol	79.12	0.41

Les classes ce composés caractéristiques de l'huile essentielle De La Partie Aérienne D'i.Viscosa (S1). Les Analyses Chromatographiques (Cpg-Ir & Cpg/Sm) Révèlent Que :L'huile Essentielle De I. Viscosa Est Caractérisée Par La Prédominance Des Monoterpènes Hydrocarbonés (84.73%) Avec Le B- Phellandrene (37.76 %) Comme Composé Majoritaire Et D'autres Composés En Quantités Relativement Plus Faibles En Sesquiterpènes

Hydrocarbonés (1%), Sesquiterpènes Oxygénés (3.02%) Et En Monoterpènes Oxygénés (2.35%).

Les Classes De Composés Caractéristiques De L'huile Essentielle D'i. Viscosa (S2). Cette Huile Essentielle Est Proportionnellement Composée De Sesquiterpènes Oxygéné (27,16%) Avec B-Eudesmol (6.95%) Comme Composé Majoritaire, Sesquiterpènes Hydrocarbonés (24.48%) Le Composé Principal Est L'oxyde De Caryophyllène (11.50%) ; Les Oxygénés Non Terpéniques (1.47 %).

- Les résultats d'étude [8] :

Les aglycones flavoniques de *Inula viscosa* (L.) ont été étudiés et testés dans différents domaines, ce qui a révélé les activités suivantes : antiinflammatoire, antioxydante et sur l'induction ageotropique de la croissance radiculaire.

- **Identification des flavones-flavonols et des acides phénols par la C.L.H.P :**

Le passage en C.L.H.P de l'extrait contenant les aglycones flavoniques (après hydrolyse acide) à 365 nm dans le mode gradient d'élution nous a permis d'obtenir le profil représenté dans la **figure 8.**

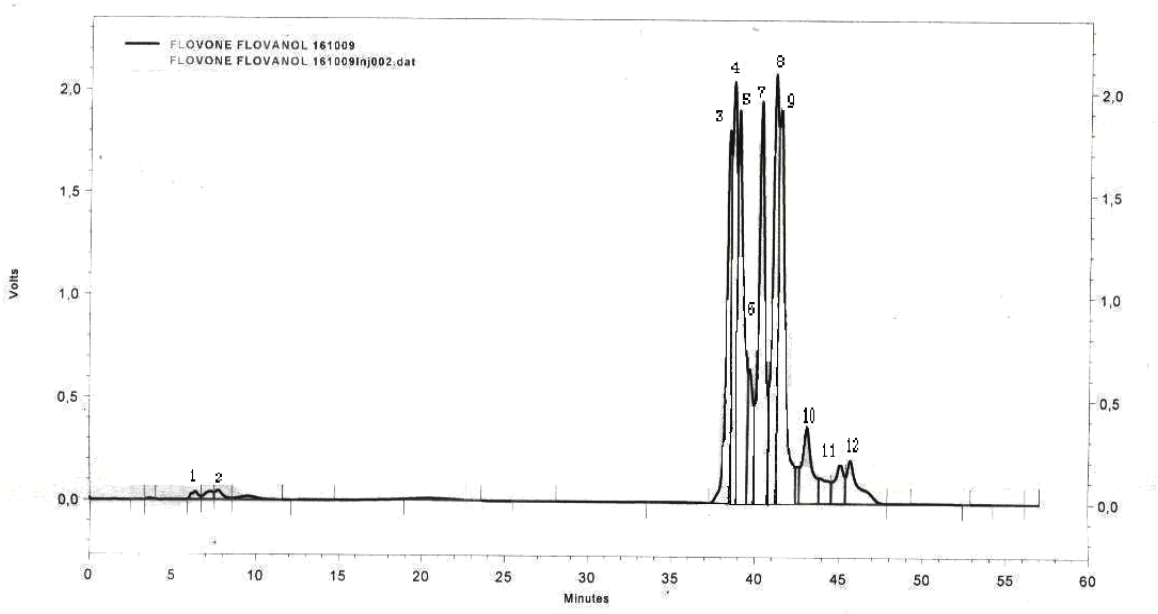


Figure 8 : Profil chromatographique représentant les flavones-flavonols, analysés par C.L.H.P à 365 nm en mode gradient d'élution

Le profil fait apparaître des pics correspondants à 12 composés flavoniques, dont les caractéristiques chromatographiques sont regroupées dans le **tableau 5.**

Tableau 5 : Caractéristiques chromatographiques des flavones-flavonols contenus dans L'extrait éthéré de *Inula viscosa* (L.) identifiés par C.L.H.P à 365 nm :

Pic	Temps de rétention (min)	Composé identifié	Teneur relative (%)
1	6.358	Taxifoline	0.23
2	7.717	Taxifoline 7 méthyl	0.35
3	38.383	Lutéoline	13.34
4	38.633	Quercétine	15.25
5	38.950	Kaempférol	14.06
6	39.60	Isorhamnétine	4.76
7	40.283	Chrysoeriol	14.3
8	41.108	Tricine	15.49
9	41.425	Rhamnétine	16.68
10	43.075	Apigénine	2.74
11	45.100	Naringénine	1.31
12	45.692	Rhamnocitrine	1.43

La comparaison des temps de rétention avec ceux de la bibliographie (Ouafi, 2007) permet l'identification de 12 composés flavoniques :

5 Flavones : Lutéoline, Chrysoeriol, Tricine, Naringénine et Apigénine.
5 Flavonols : Isorhamnétine, Quercétine, Rhamnocitrine, Rhamnétine et Kaempférol.
2 Flavanols : Taxifoline, Taxifoline 7 méthyl.

La comparaison de la somme des teneurs relatives des flavones avec celle des flavonols, nous indique qu'il existe une parité dans leur distribution au sein de la plante sous forme de O- glycosides (52.18 % contre 47.18 %).

Le changement de la longueur d'onde de 365 nm à 260 nm (longueur d'onde caractéristique des acides phénols) nous a permis d'avoir un nouveau profil chromatographique pour le même extrait **(Figure 9)**.

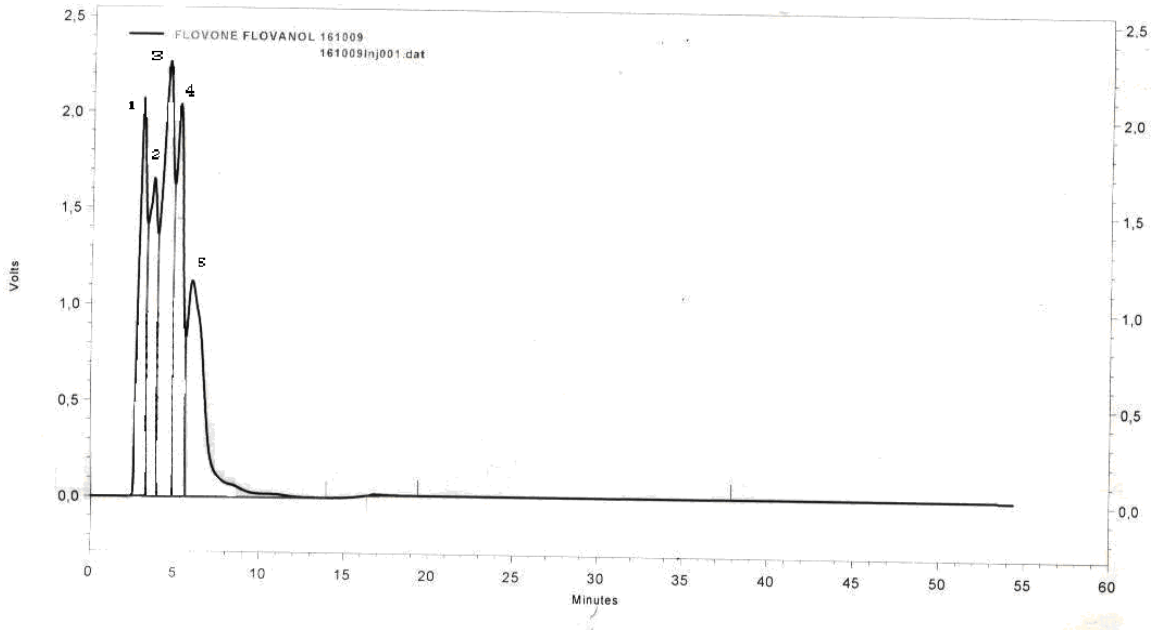


Figure 9 : Profil chromatographique représentant les acides phénols analysés par C.L.H.P à 260 nm en mode gradient d'élution.

Les pics obtenus sont bien séparés. La comparaison de leurs temps de rétention avec ceux de la bibliographie et des étalons injectés dans les mêmes conditions (Acide dicofol 4-5 quinique et Acide chlorogénique) nous a permis de détecter la présence de 05 acides phénols dont les caractéristiques sont regroupées dans le **tableau 6.**

Tableau 6 : Caractéristiques chromatographiques des acides phénols de l'extrait éthéré de *Inula viscosa* (L.) identifiés par C.L.H.P à 260 nm.

Pic	Temps de rétention (min)	Composé identifié	Teneur relative (%)
1	2.975	Acide dicafeoyl 3-5 quinique	22.69
2	3.617	Acide dicafeoyl 3-4 quinique	18.07
3	4.492	Acide dicafeoyl 4-5 quinique	24.61
4	5.142	Acide chlorogénique (cafeoyl 3 quinique)	22.3
5	5.950	Acide coumarique	12.3

A partir du ce tableau nous relevons que les 5 composés identifiés sont tous de la série cinnamique avec une forte présence (notable à partir des teneurs relatives) de l'acide chlorogénique et ses 3 isomères (pics 1, 2 et 3).

- **Identification des aglycones libres par la C.L.H.P :**

L'analyse de l'extrait méthanolique (récupéré à partir de la phase éthérée) par C.L.H.P à la longueur d'onde 365 nm nous a permis d'obtenir le profil représenté dans la **figure 10.**

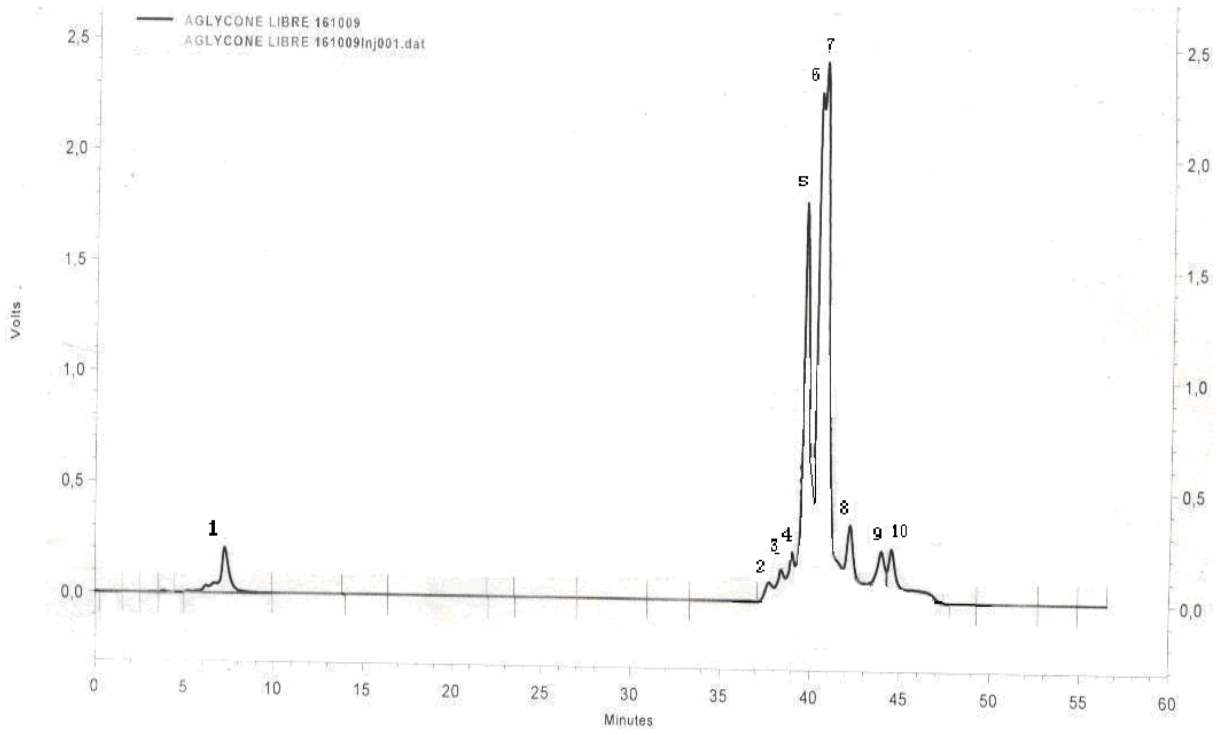


Figure 10 : Profil chromatographique représentant les aglycones libres détectés par C.L.H.P à 365 nm en mode gradient d'élution.

La comparaison des temps de rétention avec ceux de la bibliographie permet l'identification de 10 composés flavoniques (**Tableau 7**) :

5 Flavones : Lutéoline, Chrysoeriol, Tricine, Naringénine et Apigénine.

4 Flavonols : Isorhamnétine, Quercétine, Rhamnétine et Kaempférol.

1 Flavanonol : Taxifoline.

Tableau 7 : Caractéristiques chromatographiques des aglycones libres de l'extrait éthéré de *Inula viscosa* (L.) identifiés par C.L.H.P à 365 nm.

Pic	Temps de rétention (min)	Composé identifié	Teneur relative (%)
1	7.24	Taxifoline	2.85
2	37	Lutéoline	0.95
3	38.8	Quercétine	1.9
4	39	Kaempférol	2.85
5	39.650	Isorhamnétine	22.38
6	40.683	Chrysoeriol	28.57
7	41.00	Tricine	30.47
8	42.175	Rhamnétine	4.28
9	43.933	Apigénine	2.85
10	44.492	Naringénine	2.85

Ils remarquent que les deux composés Rhamnocitrine et Taxifoline 7 méthyl sont présents dans l'extrait éthéré après hydrolyse et absents dans l'extrait éthéré obtenu sans hydrolyse ce qui signifie qu'ils existent dans cette plante à l'état substitué (O- glycosides).

De plus, en considérant les teneurs relatives des composés mis en évidence, ils peuvent déduire que les flavones sont dominants à l'état libre avec une somme des teneurs égale à65.69 % par rapport à celle des flavonols libres avec seulement 31.41 %.

3. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle :

3.1. Propriétés physiques :

- **Indice de réfraction (ISO 280 :1999(75-112))**

C'est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'aire dans l'huile essentielle maintenue à une température constante. [36]

L'indice de réfraction IR, à la température de référence t, est donné par l'équation suivante :

Où :

$$IR = nt' + 0{,}0004 \times (20 - T')$$

- **nt'** : valeur de lecture obtenue à la température t'.
- **T'** : température en °C de l'échantillon.

Cet indice peut être mesuré par un réfractomètre selon le protocole suivant :

Nettoyer soigneusement le prisme du réfractomètre puis mettre quelques gouttes de l'HE sur le prisme, tournez les vis de réglage en regardant dans la lunette jusqu'à l'obtention de deux plages égales, l'une étant sombre, l'autre claire et enfin lire le résultat dans l'échelle qui se trouve au-dessous des deux plages.

- **Densité (AFNOR, 2000) :**

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile essentielle à 20°C, à la masse d'un volume égale d'eau à 20°C. Elle constitue un point de repère important. Sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE.[5]

- **Mode opératoire et calcul :**

Nous pesons une fiole vide d'une capacité de 5 ml à l'aide d'une balance. Remplir la fiole avec de l'eau distillée, peser la fiole pleine. Effectuer les mêmes opérations, en remplaçant l'eau par notre HE.

La densité est calculée d'après la formule suivante :

$$D_{20} = \frac{m2 - m0}{m1 - m0}$$

Où **:**

m0 : masse en gramme de la fiole vide.

m1 : masse en gramme de la fiole remplie d'eau.

m2 : masse en gramme de la fiole remplie d'HE.

3.2. Propriétés chimiques :

- **Indice d'acide (AFNOR 2000) :**

L'Indice d'acide (**Ia**) est le nombre en milligramme de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres renfermés dans 1g d'HE.

1g d'HE est mélangé à 5ml d'éthanol à 96%, rajouter 5 gouttes de phénophtaléine (indicateur coloré). La solution est introduite dans un erlenmeyer et est titrée par une solution alcoolique de potasse (0,1 N) jusqu'à ce que la solution vire au rose. L'Indice d'acide (Ia) est calculé comme suit [5] :

$$Ia = V.C.56,11/m$$

Où :

Ia : Indice d'acide.

V : le volume en ml de la solution de KOH utilisée pour le titrage.

C : la concentration en mol / l de la solution de KOH.

M : la masse en gramme de l'HE.

56 ,11 : masse molaire de KOH.

- **Indice d'ester (pharmacopée européenne, 2001) :**

L'indice d'ester (**Ie**) est le nombre en milligramme de potasse (KOH), nécessaire pour neutraliser les acides libérés par hydrolyse en milieu basique (saponification) des esters contenus dans 1g d'HE.

Dans un ballon, introduire 1g d'HE et ajouter à l'aide d'une burette 25 ml d'une solution alcoolique de KOH 0,5 N et des fragments de pierre de ponce. Adopter le tube en verre au ballon et le placer sur un bain d'eau bouillante et laisser pendant 15 min. Par la suite, laisser refroidir, démonter le tube et ajouter 20ml d'eau puis 5 gouttes de phénophtaléine. Enfin, titrer l'excès d'hydroxyde de potassium avec la solution d'acide chlorhydrique (HCl).[5]

L'indice d'ester (Ie) est calculé selon la formule suivante :

$$Ie = 28,05/m.\ (V_0 - V_1) - Ia$$

Avec :

V_0 : le volume en ml de la solution de HCL (0,1N) mesuré pour l'essai à blanc.

V_1 : le volume en ml de la solution de HCL (0,1N) mesuré pour le calcul de Ie.

M : la masse en gramme de la prise d'essai.

Ia : indice d'acide.

- **Indice de saponification (ISO 3657, 2002) :**

L'indice de saponification (**Is**) est le nombre en milligramme de potasse (KOH), nécessaire pour saponifier la matière grasse dans les conditions opératoire spécifiées dans la présente Norme international.

Selon la **pharmacopée européenne (2001**), Is est calculé à partir de l'indice d'acide et de l'indice d'ester :

Is =Ie + Ia

II. Caractérisation biologique

1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro :

- Inhibition de la dénaturation des protéines :

L'activité anti inflammatoire in vitro de différents l'extraits de inula viscosa a été effectuée selon la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines la méthode consiste a préparé quatre solution [20] :

- Solution d'essai (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de sérum bovine albumine (BSA) 0,5% w/v et 0,05 ml de différents extraits de la plante avec des concentrations varier (250,500, 800, 1000, 1500, 2000 µg/ml).

- Solution contrôle (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml d'eau distillé.

- Solution contrôle produit (0,5 ml) composé de 0,45 ml d'eau distillé et 0,05 ml de différents extraits de la plante avec des concentrations variées (250, 500, 800, 1000, 1500, 2000 µg/ml).

- Solution standard (0,5 ml) composé de 0,45 ml de la solution aqueuse de BSA 0,5% w/v et 0,05 ml de la solution standard diclofénac sodium avec des concentrations variées (250, 500, 800, 1000, 1500, 2000 µg/ml).

Les échantillons ont été incubées à 37 ◦ c pendant 20 min, ensuit la température était augmenté jusqu'à 57 ◦c pendant 3 min. après refroidissement des tubes, 2,5 ml de la solution phosphate buffer saline (PH 6,3) a été ajouté aux solutions . .

L'absorbance a été lue par spectrophotomètre UV-visible à 255 nm et le pourcentage d'inhibition de la dénaturation des protéines été calculée comme suit :

Pourcentage d'inhibition = [100 - (DO Solution d'essai - DO Controle produit / DO Solution controle)] × 100

Le contrôle représente 100% des protéines dénaturées.

2. Activités pharmacologique de l'HE (Activité anti-inflammatoire in vivo) :

Les expériences ont été réalisées sur le modèle de l'œdème à la carragénine. [36].

Principe : Réduire, par des substances anti-inflammatoires, l'œdème provoqué chez les souris par l'injection intra-plantaire de la carragénine. C'est cette technique que nous avons utilisée dans notre méthodologie pour déterminer l'activité anti-inflammatoire [36].

Animaux utilisés : Le test a porté sur 15 souris mâles de masse variant entre 20 et 25 g, reparties en 3 lots aussi homogènes que possible en fonction de leur masse.

- Le premier lot a été traité par l'hydrolat de graine de nigelle ;
- Le deuxième lot a été traité par Diclofénac de sodium à raison de 12.5 mg ;
- Le troisième lot témoin a reçu uniquement de solution physiologique à 0.9% ;

Réactif :

- Solution de carragénine à 1% dissoute dans le liquide physiologique ;
- L'hydrolat de graine de nigelle ;
- Solution aqueuse de Diclofénac.

Matériel :

- Balance analytique ;
- Sonde gastrique ;
- Seringues graduées et aiguilles ;- Gants ;
- Cage ;
- Ciseaux.

Méthode :

opérateur mis les souris à jeun 18 heures avant le test.

- 1 heure avant de provoquer l'inflammation, opérateur administré par voie orale l'hydrolat de graine de nigelle au premier lot de souris.

- Les deuxième et troisième lot ont reçu respectivement, par la même voie, de solution physiologique et diclofénac sodique.

- L'inflammation est produite en injectant sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche des souris 50µl de la solution de carragénine à 1% : il se produit un œdème de la région métatarsienne.

- Les souris ont été remises en cage.

- opérateur sacrifié les souris, par rupture de la nuque, 3 heures après l'injection de la carragénine.

- opérateur ensuite coupé rapidement les pattes postérieures à la hauteur de l'articulation tarso-crurale et pesé sur une balance analytique.

- Opérateur calculé pour chaque souris, l'augmentation de la patte enflammée (patte postérieure gauche : PPG), qui a reçu la carragénine par rapport au poids de la patte saine (patte postérieure droite : PPD) selon la formule : PPG – PPD.

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée grâce au calcul du pourcentage d'inhibition de l'œdème (% Inhibition) selon la formule [36] :

$$\%\text{inhibition} = \frac{\text{M(PPG} - \text{PPD) groupe témoin} - \text{M(PPG} - \text{PPD) groupe traité}}{\text{M(PPG} - \text{PPD) groupe témoin}} \times 100$$

CHAPITRE IV :

Formulation d’une crème à base d’huile essentielle de la plante

1/ Formulation :

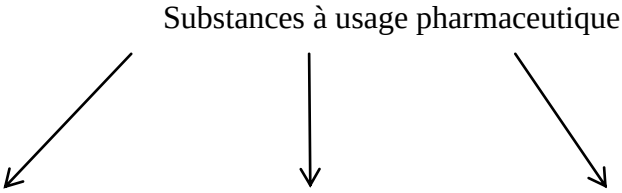
La formulation recouvre l'ensemble du savoir-faire nécessaires au développement et à la fabrication d'un produit commercial caractérisé par sa valeur d'usage et répondant à un cahier des charges préétabli [37].

Un produit formulé est obtenu par association et mélange de diverses matières premières d'origine synthétique ou naturelle parmi lesquelles on distingue généralement les matières actives qui remplissent la fonction principale recherchée et les auxiliaires de formulation qui assurent les fonctions secondaires, facilitent la préparation ou la mise en œuvre du produit commercial, ou prolongent sa durée de vie [37].

2/ les formes galéniques des médicaments :

Définition :

La galénique est la science et l'art de conserver et de présenter les médicaments, de la manière la plus adaptée à leur mode d'administration, avec la garantie d'un dosage précis, d'une stabilité satisfaisante et d'une utilisation simple permettant l'observance d'un traitement [38].



Substances actives Excipients Conditionnement

. (récipient + emballage extérieur + notice)

Le choix de la forme galénique découle de celui de la voie d'administration. Bien que l'éventail des possibilités ne cesse d'augmenter du fait des succès de la recherche galénique en ce domaine, on a presque toujours recours à un nombre limité de formes courantes.

Dans la majorité des cas, on se limite à une ou deux alternatives (tableaux 8).

Tableau 8 : Formes galéniques les plus courantes [42].

Voies	Formes principales
Orale	Comprimés, gélules, solutions ou suspensions aqueuses
Parentérale	Solutions aqueuses
Rectal	Suppositoires
Vaginale	Comprimés, solutions aqueuses
Ophtalmique	Solutions aqueuses
ORL	Solutions aqueuses pulvérisées ou non
Percutanée	crèmes et solutions

3/ Formulation d'une crème :

Un cosmétique est constitué d'une base (supérieur à 80%), d'adjuvants et de principes actifs qui participent à la mise en œuvre de la préparation. La formulation recouvre l'ensemble des opérations nécessaires à la réalisation d'un produit par mélange de matières premières. Elle consiste à associer les constituants d'un produit afin d'obtenir des propriétés spécifiques (qui répondent à un cahier des charges déterminé) [39].

Choix des excipents

Un excipient désigne toute substance autre que le principe actif dans un médicament, un cosmétique ou un aliment. Son addition est destinée à conférer une consistance donnée, ou d'autres caractéristiques physiques ou gustatives particulières, au produit final, tout en évitant toute interaction, particulièrement chimique, avec le principe actif.

Un excipient n'est donc pas défini par une composition chimique particulière mais par son utilisation, qui découle de ses propriétés physico-chimiques qui le rendent aptes à remplir son rôle d'excipient [37].

Pour les choix des excipients :

- Un bon excipient doit contribuer à donner à la préparation pour application cutanée une consistance permettant un étalement facile.

- Il doit être bien toléré et son pouvoir allergisant doit être faible .Il doit présenter le moins d'incompatibilités possibles avec les autres constituants et le conditionnement .
- Il doit en général faciliter la pénétration des principes actifs dans les tissus .
- Il doit être suffisamment stable pour permettre une bonne conservation .
- Si cela n'est pas incompatible avec d'autres propriétés, on lui demande aussi d'être lavable à l'eau et de ne pas tacher le linge . [40]

Adjuvants auxiliaires :

Agents de suspension et épaississants,

- Conservateurs : chlorure de benzakonuim, chloreridine, phénol, etc.
- Antioxydants : alpha-techoferol, butylhydroxytoluene, butylhydroxyanisole, etc.
- Facteurs de pénétration : Dimethyl sulamide (DMSO), Dimethyl formamide (DMF), Diethyl acétamide (DEA), etc.
- Parfums et colorants : oxyde de titane, oxyde de fer, etc.
- Solvants : eau distillée, EPPI, éthanol et polyol,
- Neutralisant de pH : acide lactique, HCH, NaOH, etc. [40]

Mélanger : Excipients hydrophiles + P.A. + TA hydrophiles = phase hydrophile → porter l'ensemble à une température à 50 -70 °C après additionner les 2 phases (en versant l'une dans l'autre) sous agitation et Continuer l'agitation quelques minutes tout en laissant refroidir. Après arrêter l'agitation, récupérer la préparation, procéder aux essais ensuit mesurer de la taille des globules et détermination du sens de l'émulsion après mesurer de la viscosité de la préparation. Ensuit essais de stabilité de la préparation (à la température, centrifugation) et à la fin dosage du P.A… [41].

CONCLUSION

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Une étude des propriétés antioxydante et anti-inflammatoire a concerné une plante appartenant à la famille des Astéracées, Inula viscosa, employée en Algérie grâce à ses effets thérapeutiques.

L'hydrodistillation, méthode de choix pour l'extraction de l'HE à partir des feuilles nous a permis de montrer que la plante donne un faible rendement

De plus, l'étude phytochimique des feuilles de l'inule visqueuse a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires tels que : les tanins, les saponosides, les coumarines et les flavonoïdes.

L'emploi de l'huile essentielle de inula vsicosa dans la fabrication des préparations médicamenteuses pour le traitement des maladies liés à la peau, notamment les problèmes inflammatoires est la raison pour laquelle nous nous sommes intéressés à son extraction.

Dans ce travail il a été question de développer une crème à base d'huile essentielle d'inula vsicosa qui a pour indication de nombreuses propriétés thérapeutiques comme l'anti inflammatoire.

Références bibliographiques

1. Lucchesi M. E.(2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de La Réunion

2. J.Verdrager. Ces médicaments qui nous viennent des plantes. Ed. S.A. Maloine. p.12-15, 1978.

3. M.Fernandez. De Quelques plantes dites médicinales et de leurs fonctions, Ed. Aenigma, p.09, 2003

4. Chaou Salma, Thèse Pour Diplôme D'état De Master Biochimie Applique : (Caractérisation Phytochimique De La Partie Aérienne De La Plante Médicinale Inula Viscosa L. (Asteraceae) De La Région De Djinnet (Boumerdes)), univ m'hamed bougara de boumerdès, année univ 2016/2017.

5. Canaud B ; Sénécal L ; Leray-Moragués H ; Picard-Gontiers A; Terrier N ;Morena M et Cristol J.P .(2003). L'accès vasculaire, une cause d'inflammation sous-estimée chez l'hémodialysé Néphrologie. Vol. 24 n° 7 : 353-358.

5. Bldjeillali Fatima Et Madouni Nora, Thèse Pour Le Diplôme D 'Etat De Master Phytothérapie Et Santé : (Evaluation De Quelques Activités Biologiques De L'huile Essentielle De L'inule Visqueuse *(Inula Viscosa).*univ blida1, année univ 2015/2016.

6. Boulahfa Rahima, Bourouba Abire Et Benzaiou Amina, Thèse Pour Diplôme D'état De Master Biologie Moléculaire Et Cellulaire : (Etude Phytochimique Et Evaluation In Vivo Et In Vitro De L'activité Anti-Inflammatoire De Certains Extraits De La Plante Médicinale Inula Viscosa), Univ 8 Mai 1945 Guelma, Juin 2017.

7. Amel Benyahia, Thèse Pour Diplôme D'état De Master En Chimie : Option : Molécules Bioactives : Synthèses Et Applications (Contribution A L'étude Phytochimique Et Activités Biologiques De Deux Plantes Médicinale Inula Viscosa Et Inula Montana).

8. Merah Soumia, These № D°ordre : 63/2010-M/S-N Pour L'obtention Du Diplôme De Magister En Sciences De La Nature :(Analyse Des Composes Phénoliques
De Inula Viscosa L. Recherche De Leurs Activités Biologiques),

9. Mémoire en Master Thème : Evaluation De L'activité Antioxydante Et Anti Inflammatoire De La Plante Médicinal Algérienne Inula. Viscosa Présenté Par Deghdak Hala Et Zaiter Rahma. Univ constantine1, année univ 2013/2014.

10. Velé Hélène, Thèse pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie (Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments).

11. Thèse Utilisations Thérapeutiques Des Huiles Essentielles : Etude De Cas En Maison De Retraite Par Florence Mayer.

12. BENOUALI Djillali, Master 2 : Contrôle de qualité (Extraction et identification des huiles essentielles), Année Universitaire 2015-2016.

13. Aromathérapie scientifique : https://afedi.com/Documentation/Article/108

Essentielles), Année Universitaire 2015-2016.

14. KENOUFI Meriem, thèse Pour l'obtention du diplôme de Doctorat 3ème CYCLE Filière : Biologie : (Caractérisation histologique, caryologique, phytochimique et activités biologiques de Senecio giganteus Desf et S. jacobaea L).

15. Source : Baudoux Dhttps://www.aroma-zen.com/therapies-naturelles/phytotherapie/livres-phytotherapie/huiles-vegetales-pures-naturelles-piece-pranarom-p-781.html.

16. article de HEVEA LINFINI VIGITAL : les huiles essentielles

17. Nabil Bousbia. Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Autre. Université d'Avignon, 2011. Français. ffNNT : 2011AVIG0243ff. fftel-0091511

18. Généralités sur les techniques d'extractions :

http://dspace.univtlemcen.dz/bitstream/112/5848/3/Chapitre-II.pdf

19. Sylvain SUTOUR,These pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE CORSE Discipline : Chimie Organique et Analytique (Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats).UNIVERSITE DE CORSE PASCAL PAOLI, le 11 juin 2010.

20. Dr Sahraoui, UN1901. Laboratoire de pharmacognosie. Article (Les Huiles Essentielles 2014/2015).

21. Leila LAKHDAR, Thèse N° : 28/14 CSVS pour le Diplôme d'État de Docteur en Sciences Odontologiques : (evaluation de l'activite antibacterienne d'huiles essentielles marocaines sur aggregatibacter actinomycetemcomitans : etude in vitro) .

22. AREF M et HEDED M., 2015 – Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médecinale Cleome arabica L (Région d'Oued Souf). Thèse Master Académique., Univ. sci. tech. EL-OUED, 82 p.

23. MEDDOUR A., YAHIA M., BENKIKI N., AYACHI A., 2013- Étude de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'un ensemble des parties de la fleur du Capparis Spinosa L. Lebanese Science Journal. Vol. (14): 49-60.

24. Favier, A. (2003). Le Stress Oxydant Intérêt Conceptuel Et Expérimental Dans La Compréhension des Mécanismes Des Maladies Et Potentiel Thérapeutique. L'actualité Chimique, P108-115.

25. Mémoire en Master Thème : Evaluation De L'activité Antioxydante Et Anti Inflammatoire De La Plante Médicinal Algérienne Inula. Viscosa Présenté Par Deghdak Hala Et Zaiter Rahma. Université constantine1, année universitaire 2013/2014.

26. Benhamou N. (2012). Activité Antioxydante Des Extraits Des Composés Phénoliques De Dix Plantes Médicinales De L'ouest Et Du Sud-Ouest Algérien. Thèse Université Aboubakar Belkaïd, Tlemcen, Algérie

27. Boubekri C. (2014). Etude De L'activité Antioxydante Des Polyphénols Extraits De Solanum Melongena Par Des Techniques Electrochimiques. Thèse Pour Le Doctorat Chemi, Université Mohamed Khider – Biskra.

28. Pastre J. (2005). Interet De La Supplémentation En Antioxydants Dans L'alimentation Des Carnivores Domestiques. Thèse Pour Le Doctorat Vétérinaire, L'université Paul-Sabatier De Toulouse

29. Laboratoire De Pharmacognosie Dr Sahraoui W

30. Mémoire en Master : L'activité Antioxydante, Anti-Inflammatoire Et Analgésique De Plante Médicinale algérienne Inula. Viscosa Présenté Par Derbal Nedjla Fedali Hanane

31. Jung, T, Bader, N., Grune, T. (2007) Oxidized Proteins: Intracellular Distribution and Recognition by The Proteasome. Archives Of Biochemistry And Biophysics.462 : 231-237.

32. Thèse de extraction des polyphénols de trois plantes médicinales (inula viscosa,
Pistacia lentiscus et olea europea sylvestris) et leurs activités anti-oxydante
In-vitro et anti inflammatoire in-vivo présenté par : mancer lamia & kessouri karima.

33. Mémoire De Etude De l'activité Antioxydante Et Antiinflammatoire De Quelques Plantes Seules Et En Association Présenté Par : Tachouaft Wenza & Takhedmit Siham

34. Mme BENCHAACHOUA. Abbassia, Thèse pour le Diplôme d'État de Docteur en Sciences Biologiques Option : Enzymes, Micro-organismes et Bio-industries :(Caractérisation et Valorisation d'une plante de la famille des astéracées de la région de Sidi Bel Abbès : Évaluation des substances bioactives de Silybum marianum)

35. Journal of Essential Oil Research , article (Composition chimique, antibactérienne et activités antioxydantes des huiles essentielles de fleurs, feuilles et parties aériennes du *Dittrichia* tunisien *Viscosa*. citer cet article: Nawres Gharred, Amal Dbeibia, Danilo Falconieri, Saoussen Hammami, Alessandra Piras & Sonia Dridi-Dhaouadi (2019) Pour créer un lien vers cet article: https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1612789

36. Kalafat Soumia Et Madjbar Kenza, Thèse Pour L'obtention Du Diplôme De Master En Génie Des Procèdes Spécialité : Génie Chimique (Extraction D'huile Essentielle Application A La Formulation D'une Pommade Anti-Inflammatoire).

37. Kalafat S Et Madjbar K., 2017 - *Extraction D'huile Essentielle Application A La Formulation D'une Pommade Anti-Inflammatoire*. Thèse De Master En Génie Des Procèdes, Univ. Gp. Blida, 77p.

38. Les Formes Galéniques Cours Ifsi 1ère Année /11 Décembre 2008 /Cindy Bourne

39. DERRAS M I., BECHLAGHEM M., 2017 – MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE. Diplôme en pharmacie, Univ. Fac. Med. TLEMCEN, 133 p.

40. Formes Pharmaceutiques Destinées A La Voie Cutanée Présenté Par : Dr Bencedira S/H

41. Formes Galéniques Administrées Par Voie Cutanée Professeur Denis Wouessi Djewe

42. BENAZIZ O. (Page consultée le 28 juillet 2020)- LES SUSPENSIONS PHARMACEUTIQUES, [En ligne]. Adresse URL: http://193.194.83.181/LES-SUSPENSIONS-PHARMACEUTIQUES-modifiy-.pdf .