

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTÉ : des sciences

DÉPARTEMENT : de chimie

N° :



DOMAINE : Science de la matière

FILIERE : Chimie

OPTION : CHIMIE PHARMACEUTIQUE.

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par :

Neché Djamana

Rahli Sara

Intitulé :

**Investigation phytochimique et biologique d'une
plante médicinale et préparation des formes
pharmaceutiques semi-solides pour application
cutanée**

Soutenu devant le jury composé de :

Dr. BOUCHELOUCHE Kenza	Université Mohamed Boudiaf de M'sila	Présidente
Dr. MOHAMADI Sabrina	Université Mohamed Boudiaf de M'sila	Rapporteur
Dr. MERITATE Faiza	Université Mohamed Boudiaf de M'sila	Examinatrice

Année universitaire : 2021/2022



ACKNOWLEDGEMENTS

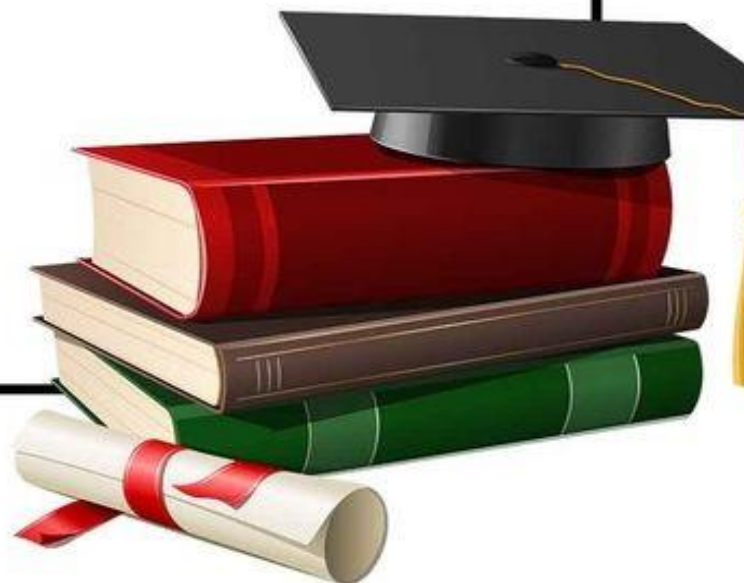
First of all, praise to Allah the almighty for giving us the strength to complete this reseash.

*We would like to express our gratitude, appreciation, and respect to our dear teacher and supervisor **Mohamadi Sabrina** for her help, support and guidance to accomplish this work.*

We thank also all the membres of the jury for their kindness and precious evaluation of our humble piece of research.

*To those who helped us in this work «**Hibat el Rahman Brahimi** », «**Ben hlima nadjat**»*

Last but not least, special thanks go to our beloved families and friends for their encouragement and moral support.



DEDICATION

In the name of Allah, the most gracious the most merciful, all praise to him without him this work would never been done.

With all my love I dedicated This work to :

*My beloved parents : **Abdelkader, Hadda**, who had always been a source of encouragement to me not to give up, and always provided me with the moral strength to rest apoission and hardship. Thank to both of them for believing in me*

*My Brother and Sisters «**Mohamed, Meriem, Ahmed, Malak, Abdallah, Nour, Nagham**», and big Brother's wife« **Fatima** » who never left my side and always inspired and pushed me to be a better Person*

*To my precious Partner **Sara** for her precious help and support*

To all my lovely friends, relatives and colleagues.

*Special dedication to my friends « **Bochra, Iman, Ikram, khowla, Amira, Asma** », who supported me a lot and encourage me to improuve myself.*

This humble work is gratefully dedicated to myself and myself determination that will make the dream a reality

DJAMANA

DEDICATION

How beautiful it is for a Person to offer the precious thing he owns to the most precious ones

I dedicate this humble work to :

The meaning of life the secret of existence and tenderness, my beloved mother

The one who taught me to climb the ladder of life with wisdom and patience my dear father

To his everlasting love in my veins, and my heart is filled with their memories, my brothers

Bader Eddine, Aymen

*My precious Partner **Djamana** for her precious help support*

*My support in my life, my future husband «**Boubeker**»*

My friends and colleagues who Share my Joy and sorrow

Kaiche Meriem for her help

*Special dedication to my friend«**Asma**»*

To Everyone who taught me a letter in this life

All the membres of Rahli, and Bokadem families,

Special thanks to all membre of my future husband family

SARA

Résumé

Rétama sphaerocarpa (L) Boisse est parmi les plantes médicinales utilisées dans le domaine de la médecine traditionnelle et le domaine pharmaceutique pour son effet curatif, cette plante appartient à la famille fabaceae, qui est présente en Espagne, au Portugal, en Afrique du sud et en Algérie.

L'objectif des travaux présentés dans ce mémoire est l'étude phytochimique, dosage des polyphénols et flavonoïdes, L'évaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne ainsi que la préparation des formes galéniques à base des extraits de cette plante obtenus par macération à l'aide de solvant de polarité différente (éthanolique, éther de pétrole), ainsi que l'extraction aqueuse par décoction et infusion.

Divers tests de screening phytochimique que nous avons également permis de montrer la présence de tannins gallique, mucilage, saponosides, flavonoïdes total, les alcaloïdes, triterpène, ainsi que la présence des tannins catéchique en faibles quantités.

Nous avons déterminé la teneur des polyphénols totaux par la méthode colorimétrique a l'aide d'un réactif de folin-ciocalcu, l'extrait éthanolique est le plus riche en polyphénols ($159.29 \pm 31.85 \mu\text{gEAG} / \text{mg}$). Dans le dosage des flavonoïdes totaux, nous avons utilisé une méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3). L'extrait éthanolique a enregistré la valeur la plus élevée ($39.77 \pm 4.45 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$).

Les résultats de l'activité antioxydant étudiées par le test DPPH ont montré que l'extrait actif par sa valeur de IC_{50} ($167.56 \pm 2.84 \mu\text{g} / \text{ml}$) est l'extrait éthanolique.

Les extraits d'éther de pétrole, éthanolique, décoction, et infusion ont révélé une activité considérable contre les bactéries *Pseudomonas aeruginosa*.

Enfin, les forme galéniques (pommades, crèmes) sont préparées a base des extraits de plantes *Rétama sphaerocarpa* (L) Boisse (principe actif) avec une série des tests pour contrôler la qualité.

Mots –clés : *Rétama sphaerocarpa* (L) Boisse, flavonoïdes, Fabaceae, activité antioxydant, activité bactérienne, pommades, crèmes.

Abstract

Rétama sphaerocarpa (L) Boisse is among the medicinal plants used in the field of traditional medicine and the pharmaceutical field for its curative effect, from the fabaceae family, present in Spain, Portugal, South Africa and Algeria.

The objective of the work presented in this thesis is the phytochemical study, polyphenol and flavonoid dosage, evaluation of the antioxidant activity, bacterial activity as well as the preparation of galenic forms based on extracts of this plant obtained by maceration using a solvent of different polarity (ethanolic, petroleum ether), as well as aqueous extraction by decoction and infusion.

Various phytochemical screening tests also allowed us to detect the presence of gallic tannins, mucilage, saponosides, total flavonoids, alkaloids, triterpene, as well as the presence of catechin tannins in small quantities.

Where we determined the dosage of total polyphenols by the colorimetric method using a folin-ciocalcu reagent, the ethanolic extract rich in polyphenols ($159.29 \pm 31.85 \mu\text{gEAG} / \text{mg}$). As for the determination of total flavonoids, we used an aluminum trichloride (AlCl_3) method. The ethanolic extract recorded the highest value ($39.77 \pm 4.45 \mu\text{g EQ} / \text{mg}$).

The results of the antioxidant activity studied by the DPPH test showed that the active extract by its value of IC_{50} ($167.56 \pm 2.84 \mu\text{g} / \text{ml}$) is the ethanolic extract.

Petroleum ether extract, ethanol, decoction, and infusion revealed considerable activity against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria.

Finally, the galenic forms (ointments, creams) are prepared based on *Rétama sphaerocarpa* (L) Boisse plant extracts (active ingredient) with a series of tests to control the quality.

Keywords: *Rétama sphaerocarpa* (L) Boisse, flavonoids, Fabaceae, antioxidant activity, bacterial activity, ointments, creams.

ملخص

نبتة *Rétama sphaerocarpa(L) Boisse* من بين النباتات الطبية المستخدمة في مجال الطب التقليدي والصيدلة لآثارها العلاجية، من عائلة fabaceae موجودة في اسبانيا والبرتغال ، جنوب إفريقيا والجزائر.

الهدف من العمل المقدم في هذه المذكرة هو الدراسة الفيتو كيميائية، تحديد المركبات الفينولية والفلافونويدات، تقييم نشاط مضادات الاكسدة ومضادات البكتيريا وكذلك تحضير أشكال الجالينيك على أساس المستخلصات لهذه النبتة التي تم الحصول عليها عن طريق النقع باستخدام مذيبات ذات قطبية مختلفة (éthanol, éther de pétrole)، كذلك عن طريق الاستخلاص المائي بالإغلاء والتسريب. كما أتاحت لنا اختبارات الفحص الكيميائي النباتي المختلفة بالكشف عن وجود التانن غاليك، الهلام النباتي، السبوزيدات، الفلافونويدات، الالكالويدات وتري تربين ، بالإضافة إلى ذلك وجود التانن كاتيشيك بكميات قليلة في النبتة المدروسة .

حيث قمنا بتحديد اجمالي المركبات الفينولية عن طريق التغير اللوني باستعمال كاشف folin-ciocaleu، المستخلص الايثانولي غني بالمركبات الفينولية ($159.29 \pm 31.85 \mu\text{gEAG/mg}$)، اما بالنسبة لإجمالي المركبات الفلافونويدية استخدمنا طريقة ثلاثي كلوريد الالمونيوم (AlCl_3) . المستخلص الايثانولي سجل أكبر قيمة ($39.77 \pm 4.45 \mu\text{g EQ/mg}$).

أظهرت نتائج نشاط مضادات الأكسدة التي تمت دراستها بواسطة اختبار DPPH أن المستخلص النشط بقيمته IC_{50} ($167.56 \pm 2.84 \mu\text{g/ml}$) هو المستخلص الإيثانولي.

أظهر كل من مستخلص ايثر دو بترول، ايثانوليك ، الاغلاء والتسريب نشاط كبير ضد بكتيريا

Pseudomonasaeruginasa

وفي الأخير تم تحضير أشكال الجرعة المراهم والكريمات) وذلك باستعمال مستخلصات *Rétamasphaerocarpa Boisse(L)* عنصر فعال) مع إجراء سلسلة من الاختبارات لمراقبة جودة هذه المراهم والكريمات .

الكلمات المفتاحية: *Rétama Sphaerocarpa (L)Boisse*، الفلافونويدات ،البقوليات ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للبكتيريا، مراهم ، كريمات .

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Abs:absorbance

AlCl₃: trichlorure d'aluminium

cm: centimètre

°C: degré Celsius

DPPH:2,2 diphényl – 1-picrylhydrazyl

DMSO:diméthyle sulfoxyde

EAG: équivalent en acide gallique

EQ: équivalent en Quercétine

Ex Dé : extrait décoction

Ex Ifni:extrait infusion

Ex E : extrait éthanolique

Ex EP: extrait éther de pétrole

FeCl₃: chlorure de fer

g:gramme

H/L: eau dans huile

Hcl :acide chlorhydrique

H₂SO₄ : acide sulfurique

IC₅₀: concentration d'inhibitrice a 50 %

I%: pourcentage d'inhibition

mg: milligramme

µg: microgramme

mL: millilitre

mm: millimètre

min: minute

nm: nanomètre

NH₄OH: hydroxyde ammoniac

Na₂CO₃ : carbonate de sodium

pH: potentiel en hydrogène

R: le rendement

UV: ultra-violet

%: pourcentage

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Récolte des plantes.....	5
Figure 2 : séchage les plantes	6
Figure 3: conservation des plantes.....	7
Figure 4 : Evolution des feuilles chez fabaceae	9
Figure 5: La fleur de fabaceae	9
Figure 6: Le fruit de fabaceae.....	10
Figure 7: structure chimiques de certains pseudo- alcaloïdes	18
Figure 8: structure chimique des proto-alcaloïdes.....	18
Figure 9: Structure chimique de l'isoprène	19
Figure 10: La structure générale acide hydroxy benzoïques	20
Figure 11: Structure générale acide hydroxycinnamiques	20
Figure 12: Structure d'une molécule coumarine	20
Figure 13: structure de quelques tannins condensés.....	21
Figure 14: structure de quelques tannins hydrolysables	22
Figure 15: Structure de base des flavonoïdes	22
Figure 16: Macération des feuilles	24
Figure 17: Infusion des feuilles	24
Figure 18: décoction des tiges et feuilles.....	25
Figure 19: coupe transversale de la peau.....	27
Figure 20: La zone profonde	28
Figure 21: hypoderme-anatomie.....	28
Figure 22: Image de l'espèce de <i>Rétama Sphaerocarpa.(L).Boiss</i>	39
Figure 23: Préparation de l'extrait de l'infusion	41
Figure 24: préparation de l'extrait de décoction.....	41
Figure 25: Montage de rotavapeur.....	42
Figure 26: schéma de tranformation du DPPH de sa forme active à celle inactive	47
Figure 27: Rendements des extraits de <i>Rétama Sphaerocarpa</i> exprimés en pourcentage.	54
Figure 28: courbe d'étalonnage d'acide gallique	58
Figure 29: La teneur en polyphénols totaux des différents extraits.....	58
Figure 30: Courbe d'étalonnage du quercétine.....	59
Figure 31:La teneur en flavonoïdes des différents extraits.....	59

Figure 32: Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait de l'infusion.....	60
Figure 33 : Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait Ethanolique	60
Figure 34: Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait de décoction	60
Figure 35: Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait étherique.....	61
Figure 36 : Valeurs de IC50 des extraits pour l'activité piégeant les radicaux libres par la méthode de DPPH	61
Figure 37: les résultats de test de type d'émulsion.....	67
Figure 38: les résultats de test de stabilité des crèmes	68

LISTE DES TABLEAUX

Tableau N° 1: La structure de base de divers flavonoïdes et composés apparent	23
Tableau N° 2: Facteurs principaux influençant la pénétration cutanée	32
Tableau N° 3: Caractéristique général des bactéries testées.....	48
Tableau N° 4 : Rendement des extraits	54
Tableau N° 5 : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits sur la souche <i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	62
Tableau N° 6 : Résultats des tests macroscopiques des pommades	63
Tableau N° 7 : Résultat de test d'homogénéité des pommades.....	64
Tableau N° 8: Les résultats de test de pH des pommades	65
Tableau N° 9: Les résultats des tests macroscopiques des crèmes.....	66
Tableau N° 10: Résultats de test d'homogénéité des crèmes.	66
Tableau N° 11: Les résultats de test de pH des crèmes.....	67

TABLE DE MATIÈRE

Acknowledgements.....	I
DEDICATION.....	III
Résumé.....	IV
LISTE DES abréviations	VII
LISTES DES FIGURES	VIII
LISTE DES TABLEAUX	X
Table de matière.....	XI

Chapitre01 :

Rappel bibliographique sur la plante étudiée

1. Plante médicinales.....	5
2. L'intérêt de l'étude des plantes médicinales.....	5
3. Les conditions optimales pour obtenir le meilleur des plantes	5
3.1. Récolte	5
3.2. Séchage	6
3.3. Conservation	7
4. Phytothérapies	7
5. La famille fabaceae	8
5.1. Habitat et Distribution de la Famille Fabaceae.....	8
5.2. Description botanique des fabaceae.....	8
5.3. Phytothérapie des fabaceae.....	10
5.4. Toxicité des fabaceae	11
6. Le genre <i>Rétama</i>	12
6.1. Usage traditionnelle du genre <i>Rétama</i>	12
6.2. Caractéristiques botaniques du genre <i>Rétama</i>	13
7. L'espèce <i>Rétamasphaerocarpa</i>	13
7.2. Distribution géographique de <i>Rétamasphaerocarpa</i>	14
7.3. Nomenclature de la plante <i>Rétamasphaerocarpa</i>	14
7.4. Position systématique de <i>Rétama sphaerocarpa</i>	14

Chapitre02 :

Les métabolites secondaires

Introduction.....	17
1. Les métabolites secondaires	17
2. Classification des métabolites secondaires	17
2.1. Les alcaloïdes	17
2.1.1. Les pseudo –alcaloïdes	17

2.1.2. Les proto-alcaloïde	18
2.2. Les terpenoïdes.....	18
2.3. Les polyphénols	19
2.3.1. Les acides phénoliques	19
2.3.2. Les coumarines.....	20
2.3.3. Les Tannins	21
2.3.4. Les flavonoïdes	22
3. Les méthodes d'extractions des métabolites secondaires	24
3.1. Extraction par macération.....	24
3.2. Extraction par infusion	24
3.3. Extraction par décoction.....	25
3.4. Extraction par hydrodistillation	25
3.5. Extraction par solvant organique sur appareillage soxhlet.....	25

Chapitre 03:

Formes Pharmaceutiques destinées & la voie cutanée

1. Constitution de la peau et phénomène de cicatrisation	27
1.1. Définition de la peau	27
1.2. Paramètres de la pénétration cutanée.....	28
1.3. Phénomène de cicatrisation	29
2. La forme pharmaceutique semi solides pour application cutanée	30
2.1. Généralité	30
2.2. Définition des préparations semi-solides pour application cutanée	30
3. Classification des préparations pharmaceutiques semi solides	30
3.1. Les pommades.....	30
3.2. Les crèmes (émulsions)	31
3.3. Les pâtes.....	31
3.4. Les gels	31
4. Facteurs influençant la perméabilité de la peau	32
5. Méthodes de formulation et de préparation des formes pharmaceutique semi solides pour application cutanée.....	33
5.1. La préparation dans l'officine.....	33
5.2. La préparation dans l'industrie	34
6. Contrôle des formes pharmaceutiques semi-solides	35
7. Mode de conditionnement et de stockage des formes pharmaceutiques semi solides	35

PARTIE EXPERIMENTAL

Chapitre 01 :

Matériel et méthodes

1. Matériel 39	
1.1 Matériel végétale	39

1.2.Excipients	40
1.2.1.cire d'abeille.....	40
1.2.2.Vaseline	40
1.2.3.La gomme arabique.....	40
1.2.5.Huile d'olive.....	40
1.2.6.Triéthanolamine	40
2. Méthode	41
2.1 Méthode d'extraction	41
2.1.1 Extraction par l'infusion.....	41
2.1.2 Extraction par Décoction.....	41
2.1.3 Extraction par macération hydro-alcoolique.....	41
3.Screening photochimique	43
3.1 Préparation des solutions.....	43
3.2 Tests chimique d'identification	43
3.2.1 Recherche des tanins totaux	43
3.2.2 Recherche de saponoside.....	44
3.2.3 Recherche des mucilages.....	44
3.2.4 Recherche des coumarines	44
3.2.5 Recherche des flavonoïdes	44
3.2.5.1 Flavonoïdes total	44
3.2.5.3 Réaction à la cyanidine.....	45
3.2.6 Recherche des alcaloïdes.....	45
4.Dosage des polyphénols	46
6. Evaluation de l'activité antioxydant	47
7. Evaluation de l'activité antimicrobienne	48
7.1 Préparation des milieux de culture	48
7.2 Préparation de l'inoculum	48
7.3 Préparation des disques	48
7.4 Dilution des extraits	49
7.5 Lecture	49
8.Etude galénique.....	49
8.1 Préparation des pommades.....	49
8.2 Formulation des crèmes.....	50
8.2.1 Formule type de préparation d'une émulsion	50
9.Contrôle des pommades et crèmes formulées.....	51
9.1 Caractères macroscopique.....	51
9.2 Mesure du PH.....	51
9.3 Homogénéité	51
9.4 Essais de stabilité	52

9.5 Stabilité à la chaleur et froid.....	52
9.6 Sens d'émulsion	52
9.7 Etude de la tolérance cutanée	52

chapitre 02 :

résultats et discussions

1.Procèdes d'extraction	54
2 .Screening phytochimique	55
3. Dosage des polyphénols	57
4. Dosage flavonoïdes	58
5. L'activité antioxydant évalué par le teste DPPH	59
6. l'activité antibactérienne	62
7. Résultats des formes galéniques	63
7.1 Contrôles des pommades formulées	63
7.1.1 Tests macroscopique	63
7.1.2 Homogénéité	64
7.1.3 Détermination de pH	65
7.1.4 Test de stabilité	65
7.1.5 Test cutané	65
7.2 Contrôle des crèmes formulées.....	66
7.2.1 testes macroscopique	66
7.2.2 Homogénéité	66
7.2.5 Détermination de pH	67
7.2.4 type d'émulsion.....	67
7.2.5Test de stabilité	68
8.2.6 Stabilité à la chaleur et froid.....	68
8.2.7 Test cutané	68
CONCLUSION GENERALE	71
Références bibliographiques	73

The background is a light-colored marble with greyish veins. A large, thin gold oval frame is centered on the page. Inside the frame, the text "INTRODUCTION GÉNÉRALE" is written in a bold, black, sans-serif font.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTIN GENERALE

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence des composés naturels bioactifs appelés « les métabolites secondaires ». Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante [1].

Les plantes sont une source riche de substances biologiquement actives qui ont un effet significatif sur la peau humaine et peuvent présenter une variété de propriétés, à la fois médicinales dans le cas de certaines maladies de la peau et favorisant la protection de la peau, notamment grâce à des effets antioxydants et antimicrobiens.

L'Algérie est riche en plantes médicinales d'être utilisées dans différents domaines à savoir en médecine, pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire de leurs propriétés thérapeutiques. C'est pourquoi nous intéressons à la recherche sur les plantes médicinales et notre choix porte sur le *Rétama .Sphaerocarpa.(L).Boiss.* Appartenant des familles fabaceae Cette plante largement utilisées dans la médecine traditionnelle comme purgatif anthelminthique, antiseptiques et sédatives dans les plaies etc. et les diverses examens biologique de ce genre ont montré qu'il possédé activités anti-inflammatoire, antioxydant plus élevée antibactérien.

Les diverses investigations phytochimiques menées sur cette famille et plus particulièrement sur le genre *Rétama* ont montré une richesse remarquable en métabolites secondaires comme les flavonoïdes et les polyphénols [2].

Les composés photochimiques d'intérêt thérapeutique peuvent être dérivés de nombreuses parties des plantes telles que l'écorce, les feuilles, les fleurs, les racines, les fruits, les grains, etc. avec un teneur différent et Ces composés biologiquement actifs peuvent être isolés des plantes par des méthodes traditionnelles, à savoir la macération, la décoction, l'infusion etc. ils peuvent également isolés par des techniques modernes physicochimiques et biologiques [3].

Notre travail porte sur les études phytochimiques de l'espèce *Rétama.Sphaerocarpa. (L).Boiss* et l'évaluation de l'activité biologique ainsi que la préparation de quelques formes pharmaceutiques semi solide.

Ce manuscrit est divisé en deux parties :

La première partie : c'est la partie théorique qui se compose en trois chapitres :

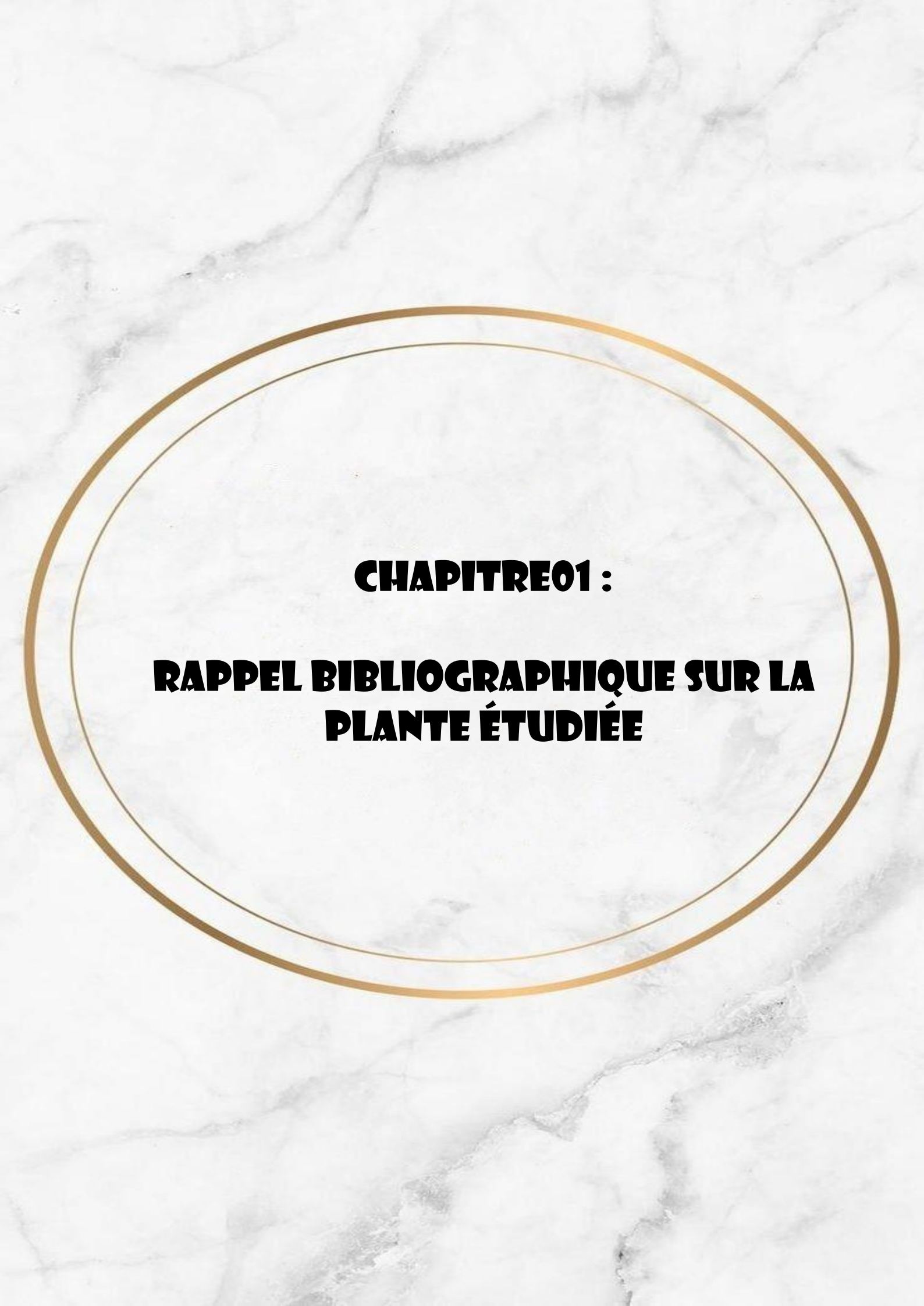
- Le premier chapitre renferme sur l'étude bibliographique des plantes médicinales et une étude botanique sur la famille, et le genre et de l'espèce de *Rétama.Sphaerocarpa. (L).Boiss.*
- Le second chapitre apporte sur les différentes classes de métabolites secondaires et quelques méthodes d'extraction.
- Le troisième chapitre a abordé des généralités sur la peau et les formes semi solide pour application cutané.

La deuxième partie : Est la partie expérimentale qui se divise en deux chapitres

- Le premier chapitre concerne les matériels et les méthodes utilisées dans ce travail, l'étude phytochimique des extraits issus de l'espèce *Rétama.Sphaerocarpa. (L).Boiss* qui repose principalement sur la quantification des composés phénoliques et flavonoïdes et une évaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne et enfin la préparation des formulations semi-solide pour application cutanée avec une série de tests pour contrôler la qualité.
- Le deuxième chapitre présente une discussion des résultats obtenus.
Nous terminerons ce travail par une conclusion générale.

The background is a light-colored marble with grey and white veining. A large, thin gold oval frame is centered on the page, enclosing the text.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE01 :
RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA
PLANTE ÉTUDIÉE

1. Plante médicinales

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française comme une «drogue» végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses». Une «drogue végétale» est une plante ou une partie de plante utilisée, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais[4].

2. L'intérêt de l'étude des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus [5].

La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés [6].

Les plantes médicinales, sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs [7].

3. Les conditions optimales pour obtenir le meilleur des plantes

3.1. Récolte

Chaque partie de la plante a la plus grande concentration d'ingrédients actifs à un moment précis de l'année, lorsqu'elle est récoltée. Le bon moment pour cueillir peut varier en fonction de l'altitude, en particulier lorsqu'il fleurit [8].



Figure 1 : Récolte des plantes

3.2. Séchage

Les plantes médicinales peuvent être séchées de plusieurs manières : à l'air libre (à l'abri de lumière directe du soleil) : en couches minces sur des étagères, dans des pièces ou des bâtiments avec une ventilation grillagée ; si cette méthode est appropriée, à la lumière directe du soleil ; dans des étuves de séchage, chambres de séchage, séchoirs solaires ; près du feu (chauffage indirect) ; dans des fours ; par lyophilisation ; dans des fours à micro-ondes) ; à l'aide d'équipements infrarouge .

Si possible, la température et l'humidité doivent être contrôlées pour éviter d'altérer la composition chimique active. La méthode de séchage et la température ont un effet considérable sur la qualité du matériel végétal médicinal obtenu. Il faut faire attention aux conditions sèches.

Dans le cas d'un séchage naturel à l'air libre, le matériel végétal médicinal doit être étalé en fines couches sur le râtelier et mélangé ou retourné souvent. Le support doit être placé à une hauteur suffisante pour une circulation d'air aisée. Il faut veiller à obtenir un séchage uniforme, évitant ainsi la croissance de moisissure.

Le séchage direct sur le sol doit être évité. Le matériel végétal médicinal sera placé sur une bâche, un drap ou autre pièce de toile...

En cas de séchage à l'intérieur, les conditions telles que le temps de séchage, la température et l'humidité doivent être déterminées en fonction de la partie de la plante (racines, feuilles, tige, écorce, fleurs, etc.) Et de l'existence de constituants volatils tels que des huiles essentielles [9].



Figure 2 : séchage les plantes

3.3. Conservation

Cassez les plantes séchées au soleil en petits morceaux, mettez-les dans une boîtes en verre hermétique, un sac en papier épais, fermez avec du ruban adhésif, ou utilisez un bouchon de liégé...n'oubliez pas d'étiqueter chaque récipient avec le nom et du cueilleur, et ranger endroit sombre et sec [8].

Le but de la conservation est de protéger la plante de lumière du soleil, de l'humidité, des odeurs pénétrantes, des gaz, de la poussière, des moisissures, des insectes et d'autres facteurs de dégradation [10].



Figure 3: conservation des plantes

4. Phytothérapies

Le mot phytothérapie vient de deux mots grecs qui signifient essentiellement «guérir avec les plantes». C'est une pratique millénaire basée sur des connaissances empiriques, transmise et enrichie par d'innombrables généralisons. La phytothérapie, méthode de traitement qui utilise les effets des plantes médical [11].

On distingue deux types de phytothérapie

✚ La phytothérapie traditionnelle

Les plantes médicinales sont la ressource thérapeutique la plus importante depuis des siècles. Un ensemble de connaissances s'accumule par l'observation et l'expérience sans les outils de la science. Dans le cadre de l'approche globale, certaines propriétés des plants médicinales actifs n'ont été isolés qu'au début du 19^{ème} siècle, et les plantes ou parties de plantes ont été utilisées comme parmi ceux-ci, des transitions mineures sont vécues (trempage, infusion, alcoolat, etc.). Même, il est impossible d'observer les activités possibles des plantes aux organismes il ne peut être détecté qu'en modifiant les symptômes du patient [12].

✚ La phytothérapie moderne

Avec les progrès de la chimie moderne, les recherches sur les plantes médicinales ont permis de déterminer les mécanismes d'action qui régissent l'utilisation de propriétés thérapeutiques reconnues. Traditionnel, ouvre également la voie à l'utilisation d'extraits ou de produits de synthèse. Ce dernier a révélé une activité plus importante et répétable dans laquelle les plantes médicaments sont capables de présenter de plus grandes différences d'efficacité en termes de qualité, et quantitativement [10].

5. La famille fabaceae

La Famille des fabaceae (de famba, fève) constituent une troisième famille ; les angiospermes (par le nombre qu'elles représentent). Son unité est attribuée à son fruit, appelé la gousse ou légume, pour lequel il est plus connu sous un autre nom : le haricot. Le type arborescent de cette famille prédomine dans les régions chaudes, tandis que le type herbacé prédomine dans les régions tempérées [13]. Ce pendant, la préférence de cette plante les familles d'habitats arides ou semi-arides sont associées à leur métabolisme dépendant de l'azote, que l'on pense être une adaptation au climat et eux changements imprévisibles de l'habitat. En effet, la fixation de l'azote par la symbiose légumineuse-rhizobium permet à cette famille d'obtenir des niveaux élevés d'azote ammoniacal au niveau racinaire en fonction de ses besoins métaboliques [14]. La famille se compose de variétés horticoles, dont beaucoup sont récoltées pour l'alimentation, à la fois pour la consommation animale (trèfle, luzerne, haricots rouges), pour l'huile (cacahuètes, soja), leurs fibres et bois comme combustible, leur utilisation en médecine (spartéine extraite de genêt de balais, réglisse) ou chimique [14].

Les fabaceae sont l'une des plus grandes familles de plantes à fleurs avec 19400 espèces réparties dans le monde entier [13].

5.1. Habitat et Distribution de la Famille Fabaceae

La famille est cosmopolite. Elle est particulièrement concentrée dans les régions subtropicales et tempérées chaudes, comme en Afrique du sud ou sur le pourtour méditerranéen. Les régions tropicales abritent essentiellement des espèces ligneuses, que les régions tempérées regorgent d'espèces herbacées [15].

5.2. Description botanique des fabaceae

Les fabaceae sont des arbres, des arbustes ou des lianes ligneuses, caduques ou persistantes, ou encore des herbes annuelles, vivaces ou pluriannuelles. Quelques espèces tropicales sont épiphytes et d'autres, grimpantes, elles développent des tiges vrillées, tournant généralement

dans le sens des aiguilles d'une montre, plus rarement dans le sens inverse (phaseolus, wisteria), ou des vrilles axillaires, ou encore des crochets. Quelquefois, les feuilles sont réduites, la fonction photosynthétique étant transférées aux tiges, ou modifiées en phyllodes [16].

- Les feuilles sont bien développées, généralement alternes mais parfois opposées à verticillées comme chez les Mribelieae, spirales ou distiques. Pluinées ou non, elles sont très majoritairement stipulées, les stipules étant intrapétiolaires, en épines ou développant des glandes.

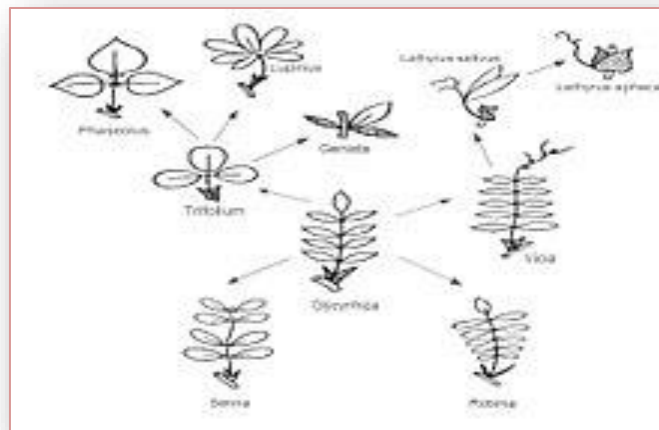


Figure 4 : Evolution des feuilles chez les fabaceae

- Les fleurs sont solitaires ou rassemblées en panicules, en fascicules, en racèmes, en épis ou en têtes axillaires et terminales ou opposées aux comme chez certains membres des Bossiaeca.

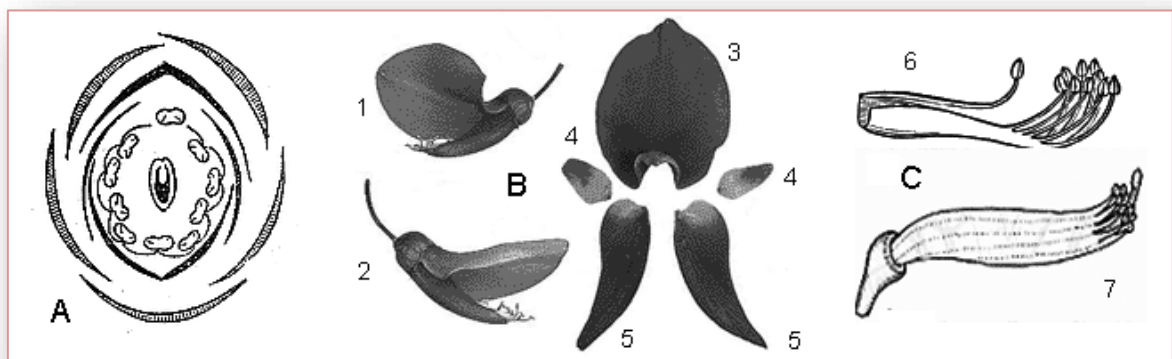


Figure 5: La fleur de fabaceae

A-Diagramme floral chez phaseolus vulgare ; B- La corolle chez Erythrina crista-galii : 1et 2 vues des fleurs, 3 étendards,4ailes et 5carènes ; C- Androcée diadelphie 6 et monadelphie7

- Le fruit est un légume charnu ou non, déhiscent ou plus rarement indéhiscent, parfois lomentacées. La déhiscence est double : ventrale, le long de ligne de suture du carpelle, et dorsale, au niveau de la nervure principale de la feuille carpellaire. La gousse peut, chez certaines espèces, se transformer secondairement [17].

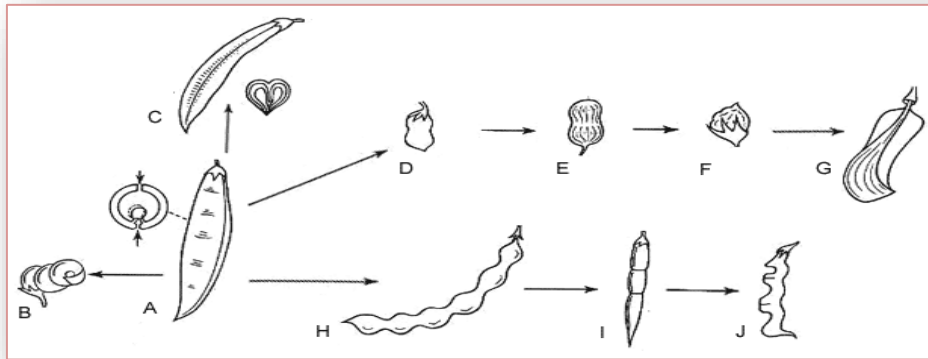


Figure 6:Le fruit de fabaceae

- A- La gousse typique des Fabaceae chez Phaseolus.
 B- Gousse spiralée chez Medicago stavia.
 C- Gousse à intraflexion chez Astragalus.
 D- Gousse bisperme chez Lens culinaris.
 E- Gousse pauciséminée devenue indéhiscente chez Arachis hypogea.
 F- Gousse uniséminée et indéhiscente de type akénoïde chez Lanthyrus.
 G- Gousse monosperme, indéhiscente et ailée de type samaroïde chez Toluifera.
 H- Gousse lomentacée Sophora japonica.
 I- Gousse articulée chez Coronilla.
 J- Gousse articulée chez Hippocrepis.

5.3. Phytothérapie des fabaceae

De nombreuses espèces appartenant à la famille des fabaceae ont des propriétés thérapeutiques. Les exemples suivants peuvent nous faire prendre conscience de l'utilité des fabaceae dans le domaine des applications thérapeutique. Dans ce qui suit, nous énumérerons quelques exemples de fabaceae qui ont des usages thérapeutiques traditionnels [18-19] :

- Les graines de fenugrec, riches en mucilages et en tannins, ont longtemps été employées pour la confection de cataplasmes émollients et pour prendre du poids.
- La gomme extrait du caroubier est employée comme adjuvant des régimes amincissants car, tout en ayant un fort caractère épaississant, il est totalement dénué de pouvoir nutritif.
- Les séné (fruits et folioles) produits à partir de Cassia acutifolia et C .angustifolia ont des propriétés laxatives dues à des dérivés anthracéniques.

- La pulpe de tamarin, aux mêmes propriétés mais aux constituants différents, a la même utilisation.
- L'oléorésine de *Copaifera*, servant à la confection du baume de capahu, a longtemps eu une réputation internationale dans le traitement de gonorrhée.
- Le baume de Pérou est employé en usage externe comme cicatrisant et antiseptique ; il contient 6 à 8 % de benzoates et près de 60% de «cinnaméine » (mélange de benzoates et de cinnamates de benzyle et de cinnamyle). Il est très employé dans la fabrication de cosmétiques et de produits d'hygiène.
- Le baume de Tolu renferme sensiblement les mêmes composés ; il est employé en usage interne comme antiseptiques et expectorant.
- Les racines de la réglisse, *Glycyrrhiza glabra*, contient des saponosides et des flavonoïdes et présente des activités anti-inflammatoire, expectorante et antispasmodique ; plus récemment, une activité oestrogénique a été mise à jour.
- Les rameaux de *Cytisus scoparius* contiennent un alcaloïde, la spartéine, qui présente des activités analeptiques et cardiaque. La plante renferme aussi des amines aromatiques dont l'hydroxytyramine aux propriétés vasoconstrictrice et hypertensive.

Ces composés d'origine végétale possédant des propriétés similaires à celles exercées par les oestrogènes, sont qualifiés de «phytoestrogènes» Ces propriétés ouvrent la possibilité d'applications thérapeutiques ou curatives pour les troubles hormonaux substitutifs, voire les cancers hormone-dépendants, sont principalement dans les *fabaceae* [20-21].

5.4. Toxicité des *fabaceae*

De intoxication directe ou indirecte par certains métabolites secondaires présentes dans chez certaines espèces de la famille des *fabaceae* [22].

- Toxicité hépatique et cardiopulmonaire due à la présence d'alcaloïdes pyrrolizidiniques chez les espèces de *Salicynia*, en particulier *Salvia rosenbergii*, suite à la consommation de grains contaminés par des graines, ou après utilisation de ces plantes pour traiter des états grippaux ou asthmatiques.
- Contamination suite à la présence de champignons du type *Aspergillus* développés sur les graines en cas d'humidité, et qui élaborent des aflatoxines cancérigènes.
- La glycyrrhizine de la réglisse, présente une action minérale- corticoïde, qui se traduit par une rétention de sodium et d'eau, accompagnée d'une perte de potassium. Cela provoque un œdème au niveau de la face, des anomalies cardiaques, d'où un risque d'hypertension.

- Maladie du favisme, maladie génétique, affectant les populations après absorption de fèves, se traduisant par des troubles neurologiques et hématologiques. Cela est dû au manque d'une enzyme, la glucose-6-phosphate-déshydrogénase qui joue un rôle de détoxification.

6. Le genre *Rétama*

Les légumineuses du genre *Rétama* comportes quatre espèces *Rétama. Monosperma* (L) Boiss, *Rétama. Raetam* (forssk) Webb, *Rétama. Sphaerocarpa*(L) Boiss, et *Rétama. Dasycarpa* (cosson) .ce sont des plantes pérennes arbustives appartenant à la sous –famille des papilionideae et à la tribu des Genisteeae et sont largement distribués dans le nord de l'Afrique, dans les îles canaries, dans le sud de l'Europe et dans l'Est de l'Asie [23].

Le genre *Rétama* est un genre d'espèces représenté par des arbustes ou arbrisseaux de un à quatre mètres de longs rameaux «joncailles » dépourvus ou avec peu de feuilles (xéromorphes) dans le but de s'adapter au milieu désertique où l'eau est rare [24].

En Algérie, trois espèces rattachées à ce genre sont signalées : *Rétama monosperma* Boiss, *Retama. Raetam* Webb. et *Retama. Sphaerocarpa* (L) .Boiss [25].

6.1. Usage traditionnelle du genre *Rétama*

Les espèces du genre *Rétama* sont utilisées en phytothérapie. Ainsi *Rétama. Sphaerocarpa* est connue depuis longtemps pour l'effet bénéfique sur le lavage rectal ; les tiges et les feuilles en purée avec du miel, il est recommandé de le prendre par voie orale comme émétique ; la décoction des feuilles administré comme purgatif et vermifuge ;

Les racines sont très utilisées partout en fumigations ou en lavements vaginaux et comme abortif [26]. On utilisé traditionnellement aussi pour traiter le diabète et hypertension [27]. Cette espèce est utilisée en Espagne pour diminuer les douleurs articulaires, le rhumatisme, la guérison des plaies [28] en Algérie, *R. sphaerocarpa* constitue un remède de la rage [29].

- ***Rétama Monosperma*** : au Maroc, les feuilles de cette plante sont utilisées en décoction, comme purgatif et vermifuge. les tiges et les feuilles apprêtées avec du miel, s'emploient comme émétique [26].
- ***RétamaSphaerocarpa*** : les graines sont utilisées en médecine populaire marocaine pour traiter les maladies urologique et néphrologique [30].
- ***Rétama Raetam***: est une espèce connue dans la médecine traditionnelle marocaine pour traiter les maladies de la peau, la cicatrisation des plaies, le rhumatisme et elle est utilisée dans les soins en cas de morsures de scorpion [31]. La poudre des feuilles et des fleurs séchées de *R. Raetam* est utilisées comme un cicatrisant dans la circoncision, un antiseptique

et sédatif dans les soins locaux des plaies, blessures, ulcérations de la peau et boutons purulents. elle est donnée comme vomitif, purgatif et vermifuge. les racines sont utilisées comme abortif et elles sont utilisées aussi comme un traitement de la gale [26-32]. les feuilles préparées en infusion, sont préconisées pour combattre les douleurs abdominales. les tiges font aussi l'objet d'une utilisation thérapeutique. en effet, le mélange de la poudre des tiges avec l'huile d'olive est très efficace dans le traitement des plaies et des douleurs de dos. la partie végétative de la plante est cicatrisante. elle est conseillée également pour traiter les irritations des yeux ; ainsi que pour traiter la diarrhée et les maladies fiévreuses [33].

6.2. Caractéristiques botaniques du genre *Rétama*

D'après Quézel et santa (1962), les Rétamas sont des arbrisseaux portant de longs rameaux jonciformes et soyeux, caractérisés par :

- des feuilles très caduques, les inférieurs sont trifoliolés, alors que les supérieurs sont simples et unifoliées.
- des fleurs, unisexuées en petites grappes latérales, réparties sur de courts racèmes, avec petite calice bilabié, à lèvres supérieurs profondément bidentées, pétales à onglets plus ou moins soudés au tube staminal, étendard dressé avec 10 étamines monadelphes. Elles sont de deux couleurs selon l'espèce : blanches pour *Rétama Monosperma* et *Rétama Raetam* ; jaunes pour *Rétama Sphaerocarpa*.
- le fruit est une étroite gousse indéhissante de moins de 2 cm, acuminées, avec une extrémité aigue, portant une à deux graines [2].
- les tiges sont rigides, leurs parois extérieures très épais, l'épiderme est recouvert d'une épaisse couche cornée [34].
- les stomates sont rares et sont confinés dans des cryptes revêtues entourées de poils où l'air y est toujours humide et l'évaporation est fortement réduite [34].
- les racines sont profondes et touchent en permanence la couche humide du sol leur Accès à dix mètres [35].

7. L'espèce *Rétamasphaerocarpa*

7.1. Description botanique

Rétama sphaerocarpa (L) Boiss. C'est une arbustes de 1 à 2 m de long , à branches pubescentes plus ou moins dressées, caractérisés par très petites fleurs jaunes (5-6 mm) en grappes latérales de vieilles branches, feuilles gosses très petites, globuleuses, jaune – brun de 7-13× 7-5 . Ces plantes préfèrent ranch de roche [25].



Figure 8: *Rétamasphaerocarpa* (tiges, fleurs, fruits)

7.2. Distribution géographique de *Rétamasphaerocarpa*

Le *Rétama sphaerocarpa* est largement répandu en Espagne, au Portugal et en Afrique du sud. Très rare dans le nord du Sahara. En Algérie il y a *R. sphaerocarpa* en kabylie, Ghardaïa, les plaines de Batna, Ain sefra, Bouira, et maadid de M'silla [36, 25].

7.3. Nomenclature de la plante *Rétamasphaerocarpa*

Rétama sphaerocarpa (L) Boiss appartient à : **la famille defabaceae, genrerétamaet espèce sphaerocarpa**. Les noms communs de cette plante sont : En arabe«Rtem» [26], en berbère«tillugwî, illugwî, allugû, talggû»[25], et en français «Rétame»[25].

7.4. Position systématique de *Rétama sphaerocarpa* [25]

Régne : *Végétal*

Embranchement : *phanérogames*

Sous embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Dicotylédones*

Ordre :*Fabales*

Genre :*Rétama*

Famille : *Fabaceae*

Espèce : *Rétama Sphaerocarp(L)*

7.5. Usage traditionnelle de *Rétama sphaerocarpa*

En Algérie, *Rétama Sphaerocarpa* est utilisées comme drogue nommée chemma préparée à partir des rameaux de l'espèce. Les tiges et les feuilles, pillées avec du miel, absorbées par voie orale, sont utilisées comme vomitif. Les racines de cette espèce sont très utilisées, comme abortif, en fumigations ou en lavements vaginaux. En Algérie on prépare le pain à manger avec la tisane des branches de *Rétama sphaerocarpa* pour guérir de la rage chez l'homme. Ces

branche sont données à manger telles quelles aux animaux atteints de rage [26].

7.6. Intérêt thérapeutique de *Rétama sphaerocarpa*

Ils sont utilisés comme plante de guérison avec des effets cicatrisant dans les circoncisions, antiseptiques, antipyrétiques et anti diarrhéiques, la décoction de parties aériennes de *R .sphaerocarpa*, sont utilisés en médecine traditionnelle pour le traitement du diabète, l'hypertension et les rhumatismes, ainsi que anti –inflammatoires. en plus *R. sphaerocarpa* comporte une activité antioxydant, antimicrobienne et antifongique [37].



CHAPITRE 02 :
LES MÉTABOLITES SECONDAIRES

Introduction

Les plantes sont d'une grande importance pour la vie humaine et la diversité environnementale, car elles contiennent une grande partie des composés qui contribuent aux réactions enzymatiques ou biochimiques qui se produisent dans l'organisme et se caractérisent par deux groupes de métabolites : les métabolites primaires et métabolites secondaires. [51].

1. Les métabolites secondaires

Le terme "métabolites secondaires" a historiquement été utilisé pour désigner tous les composés qui ne sont pas des "métabolites primaires" c'est-à-dire les métabolites qui ne sont pas essentiels pour les croissances, le développement et la reproduction d'un organisme [38].

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils sont nécessaires à sa défense contre les agressions extérieures et ils comprennent un vaste éventail de composés qui, à ce jour, totalisent à plus de 200000 structures définies [38].

2. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires peuvent être grossièrement divisés en trois groupes principaux de composés chimiques : les alcaloïdes, les composés phénoliques, les terpénoides [39].

2.1. Les alcaloïdes

Initialement définis comme des substances azotées, basiques, d'origine naturelle et distribution restreinte, les alcaloïdes ont une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et ils possèdent une activité pharmacologique significative ; pour certains auteurs, ils sont issus du seul règne végétal.

Ils existent à l'état de sels et ils sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé. Ces éléments caractérisent ce que l'on peut appeler les alcaloïdes vrais. Nombre d'auteurs distinguent par ailleurs :

2.1.1. Les pseudo –alcaloïdes

Présentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas des dérivés des acides aminés.

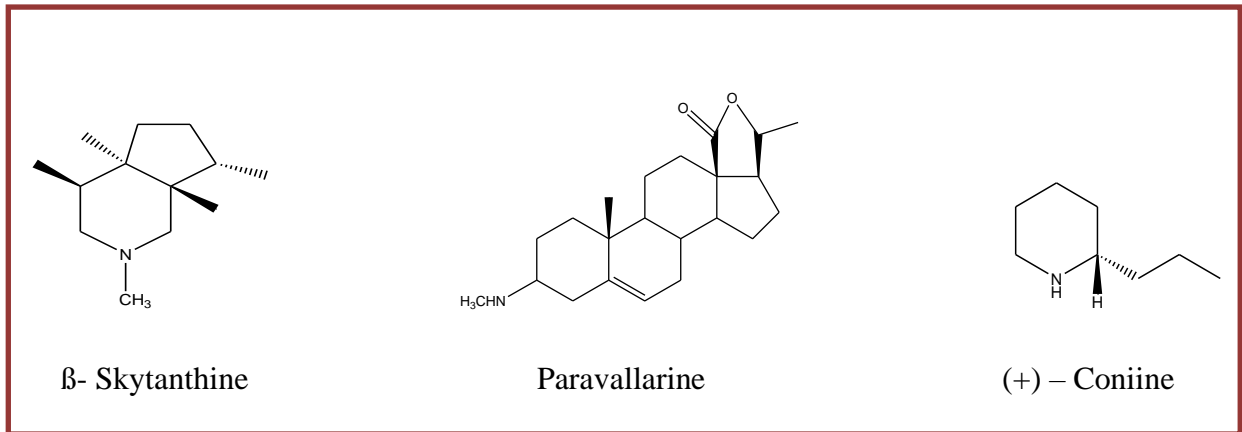


Figure 7: structure chimiques de certains pseudo- alcaloïdes

2.1.2. Les proto-alcaloïde

Sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique; ils ont une réaction basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés [6].

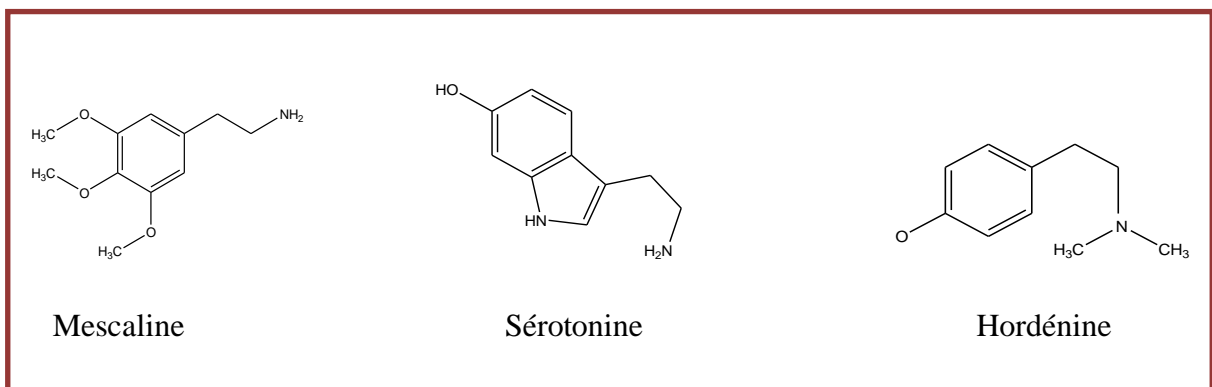


Figure 8:structure chimique des proto-alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités pharmacologiques qui s'exercent dans les domaines les plus variés tels qu'au niveau du système nerveux central (dépresseurs : morphine, scopolamine; stimulants : strychnine, caféine), au niveau du système nerveux autonome (sympathomimétiques, sympatholytique, parasymphomimétiques inhibiteurs des cholinestérases, anticholinergiques, ganglioplégiques), anesthésiques locaux, antifibrillants, antitumoraux, antipaludiques, vasodilatateur cérébral, ganglioplégiques ainsi que amoebicides [45].

2.2. Les terpénoides

Les terpénoides sont des composés constitués d'unités isoprène en C_5 ou héli terpène. Ils se distinguent des autres classes de métabolites secondaires par leur origine commune et leur nature hautement lipophile (hydrophobe)

Les terpénoïdes inférieurs sont caractérisés par leur volatilité et leur odeur piquante intense.

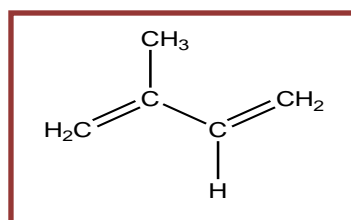


Figure 9: Structure chimique de l'isoprène

En fonction du nombre d'atomes de carbone, on distingue : monoterpénoïdes (C₁₀) ; sesquiterpénoïdes (C₁₅) ; diterpénoïdes (C₂₀) ; sesterpénoïdes (C₂₅) ; triterpénoïdes (C₃₀) ; tétraterpénoïdes (C₄₀) et les polyterpénoïdes qui contiennent un multiple n de 5C, avec n=9 à 10⁵[40]. Les terpènes sont les molécules les plus répandues et connues dans les huiles essentielles pour leurs nombreuses propriétés thérapeutiques. Les plus importants sont : le limonène, le δ-3-carène, le carotène, le β-pinène et l'α-pinène.

Utilisations des terpénoïdes éprouvées pour la chimioprévention et la chimiothérapie de diverses maladies pour antibactérien, antifongique, antiparasitaire, antiviral, antioxydant, anti-allergène, antispasmodique, anti-hyperglycémiant, agents anti-inflammatoires, anti-neoplasiques et immunomodulateurs [52].

- **Les huiles essentielles**

Une huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique sans chauffage [6].

Les huiles essentielles ont des utilisations thérapeutiques en médecine humaine de la manière suivante : ses propriétés anticancéreuses, anti-nociceptives, anti-phlogistiques, antivirales, antibactérien et antioxydants [41].

2.3. Les polyphénols

Groupe de métabolites secondaires caractérisés par la présence d'au moins un noyau aromatique (six atomes de carbone liés en un hexagone) possédant un ou plusieurs groupes hydroxyles, substitués ou non. [40]

Il existe de nombreuses classes de polyphénols :

2.3.1. Les acides phénoliques

Le terme d'acide -phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils sont représentés par deux classes :

- **Acides -phénols dérivés de l'acide benzoïque (Acides hydroxy benzoïques)**

Les acides –phénols en C5-C1, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque, sont très communs aussi bien sous forme libre que combinés à l'état d'ester ou d'hétéroside l'acide gallique et son dimère (l'acide hexahydroxydiphénique)sont les éléments constitutifs des tanins hydrolysables

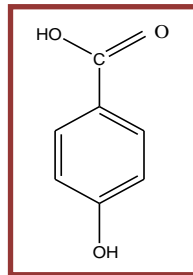


Figure 10: La structure générale acide hydroxybenzoïques

- **Acides –phénols dérivés de l'acide cinnamique (acides hydroxycinnamiques)**

La plupart des acides-phénols en C6-C3(acides4- coumarique, caféique, férulique, sinapique)ont une distribution très large ;les autres (ex: acides 2-coumarique)sont peu fréquents rarement libres , ou alors ce sont des artefacts d'extraction [42].

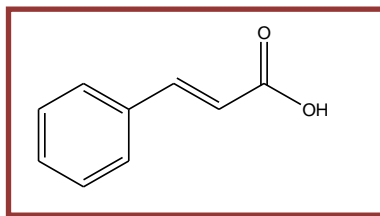


Figure 11: Structure générale acide hydroxycinnamiques

Plusieurs étude ontété fait pour l'activité biologique des acides phénoliques montrent des activités : antibactériennes, antiulcéreuses, antiparasitaires, antifongiques, antioxydants [51].

2.3.2. Les coumarines

Les coumarine sont des 2H-1-benzopyran -1-ones que l'on peutconsidérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy –Z-cinnamiques .plus d'un millier de coumarines ont été décrites et les plus simples d'entre elles sont largement distribuées dans tout le règne végétal [3] .

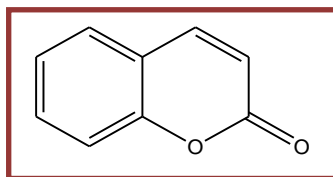


Figure 12: Structure d'une molécule coumarine

La coumarine et ses dérivés ont des propriétés biologiques végétales, [5]. Bactériostatiques et anti fongiques, ils ont un effet antioœdémateux [46].

2.3.3. Les Tannins

Groupe hétérogène de dérivés phénoliques végétaux ayant la propriété de précipiter les solutions d'albumine et de rendre la peau imputrescible en se fixant sur les protéines. Leur poids moléculaire varie de 500 à 3000. Ils sont largement distribués chez les plantes supérieures dans les vacuoles, le cytoplasme et parfois dans les parois cellulaires. Les tannins se rencontrent dans les feuilles, les tissus vasculaires, l'enveloppe des graines, le liège, les fruits non murs, les galles, etc [40].

Il est classique de distinguer deux grands groupes de tannins différant à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tannins hydrolysables et les tannins condensés.

- **Les tannins condensés**

Sont des oligomères ou polymères de flavane-3-ols (éventuellement de flavane-4,3-diols) dérivés de la (+)-catéchine ou de ses nombreux isomères.

Les tannins condensés sont très abondants dans certains organes végétaux consommés ou utilisés par l'homme, par exemple de nombreux fruits (pomme, prune, fraise ...) ou des boissons fermentées ou non (thé ; vin ; cidre) [43].

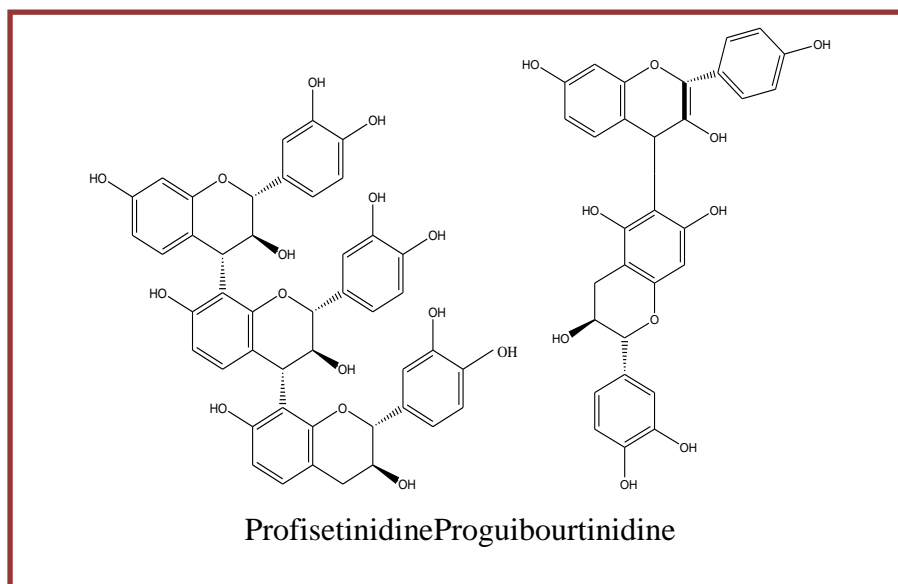


Figure 13: structure de quelques tannins condensés

• Les tannins hydrolysables

Ils sont abondants chez les dicotylédones et certains arbres en sont des sources industrielles : tannins de chêne ; de châtaignier ; tannin de chine ou de Turquie extraits respectivement d'un arbuste du genre rhus ou de quercus tinctoria [43].

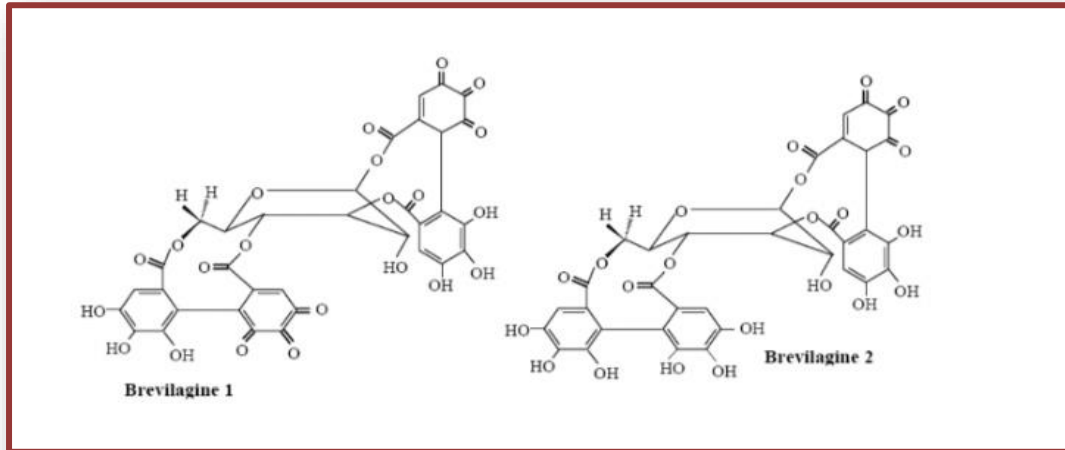


Figure 14: structure de quelques tannins hydrolysables

Les décoctions riches en tannins et autres préparations pharmaceutiques sont les plus couramment utilisées habituellement en externe contre l'inflammation buccale, la mucosite, la bronchite, saignements locaux, brûlures et gelures, plaies, inflammation cutanée, hémorroïdes et transpiration excessive. [47], utilisation interne : on utilise les tanins dans des cas de catarrhe intestinal ; de diarrhée, d'affections de la vésicule, ainsi que lors d'empoisonnement par des alcaloïdes végétaux les tannins servent d'antidote (contrepoison) [48].

2.3.4. Les flavonoïdes

Sont des pigments incolores ou colorés .ce sont des composés poly phénoliques, largement répandus dans le règne végétal, avec plus de 4000 structure décrites et dont la liste s'allonge constamment avec le développement de nouvelles techniques analytiques. Certains d'entre eux ont des propriétés pharmacologiques divers (anti radical libre notamment) [40].

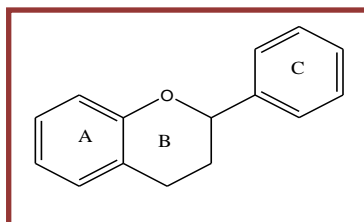


Figure 15: Structure de base des flavonoïdes

En fonction de leur structure chimique, les flavonoïdes peuvent être subdivisés en flavanols, anthocyanines, flavanones, flavones, isoflavones et flavanonols (tableau1) [44].

Tableau1: la structure de base de divers flavonoïdes et composés apparent

Class	Structure	R3	R4	R5	Exemple
Falvones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéoléine
		OH	OCH3	H	Diosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine
Isoflavones		R5	R7	R4	
		OH	OH	OH	Genistine
		H	O-GLU	OH	Daidezine
Anthocyanidine		H	OH	H	Pelargondine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Flavanones		H	OH	H	Narigénine
Flavanols		OH	OH	H	Catéchine

Les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical ou on leur reconnaît des activités antivirales, anti tumorales, anti inflammatoires, antiallergiques et anticancéreuses [48]. Les flavonoïdes peuvent réduire le diabète ou aussi empêcher, et cela en inhibant l'enzyme aldose réductase. Certains flavonoïdes peuvent entraver l'athérosclérose et par conséquent réduire le risque des maladies cardiovasculaires [50].

3. Les méthodes d'extractions des métabolites secondaires

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des métabolites secondaires tels que :

3.1. Extraction par macération

C'est une technique séculaire qui est couramment utilisée. Il s'agit d'exposer la matière végétale au solvant, avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée, pendant une durée prédéterminée. Elle dépend de la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction et est déterminée par un certain nombre de facteurs tels que la qualité de la substance végétale, la concentration en soluté de l'échantillon, la nature du solvant et la période d'extraction [53, 54].



Figure 16: Macération des feuilles

3.2. Extraction par infusion

C'est la forme de préparation la plus simple et elle est préparée en versant de l'eau faire bouillir et bien tremper des parties de plantes fraîches ou séchées pour en extraire leur principes médicinaux. Convient pour l'extraction de pièces fines ou hachées végétaux : fleurs, feuilles, graines, écorces et racines avec des constituants volatils ou thermolabiles comme les huiles essentielles [55].



Figure 17: Infusion des feuilles

3.3. Extraction par décoction

Il convient à l'extraction de substances végétales dures ou très dures : bois, écorces, les racines ou les plantes avec des composants peu solubles tels que l'acide salicylique. Il convient de faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans l'eau pendant 10 à 30 minutes pour l'extraction de principes médicinaux [55].



Figure 18: décoction des tiges et feuilles

3.4. Extraction par hydrodistillation

Est une méthode normalisée d'extraction des huiles essentielles, et uniquement pour le contrôle qualité. Ce procédé est de loin le plus populaire car il s'applique à la plupart des plantes. Il s'agit d'immerger le matériel végétal dans un bain-marie. L'ensemble est ensuite porté à ébullition, généralement à pression atmosphérique, car l'HE est insoluble dans la vapeur, lorsque la vapeur est introduite dans l'eau sur les plantes, elle se charge au passage des huiles [56].

3.5. Extraction par solvant organique sur appareillage soxhlet

L'extraction par solvant organique à chaud est une technique populaire. L'idée de base derrière cette méthode consiste à immerger la plante dans un solvant organique volatil chaud, ou produire des produits qui ne peuvent pas être récoltés par d'autres méthodes, que ce soit pour l'augmentation de la production [42]. Le mécanisme interne de régénération du solvant dans l'unité soxhlet permet l'encapsulation des plantes dans des boîtes de cellulose toujours entrant en contact avec des solvants purs. Solubilité, sélectivité, stabilité, chimiquement inerte et température d'ébullition pas trop élevée pour permettre d'éliminer complètement le choix d'affecter le solvant. Cette méthode comprend l'épuisement de la matière végétale avec des solvants à bas point d'ébullition, qui sont ensuite extraits par distillation sous pression réduite.



**CHAPITRE 03:
FORMES PHARMACEUTIQUES
DESTINÉES & LA VOIE CUTANÉE**

1. Constitution de la peau et phénomène de cicatrisation

La peau constitue une barrière protectrice entre le corps et l'environnement extérieur contre les dommages physiques, les agents pathogènes, la perte de liquide, et a des fonctions immuno-neuroendocriniennes qui contribuent au maintien de l'homéostasie du corps.

1.1. Définition de la peau

La peau, appelée aussi tégument (du latin **tegumentum**, couverture), est l'organe le plus lourd et le plus étendu de l'organisme, pesant 4 kg et représentant une surface de 2 m²[57].

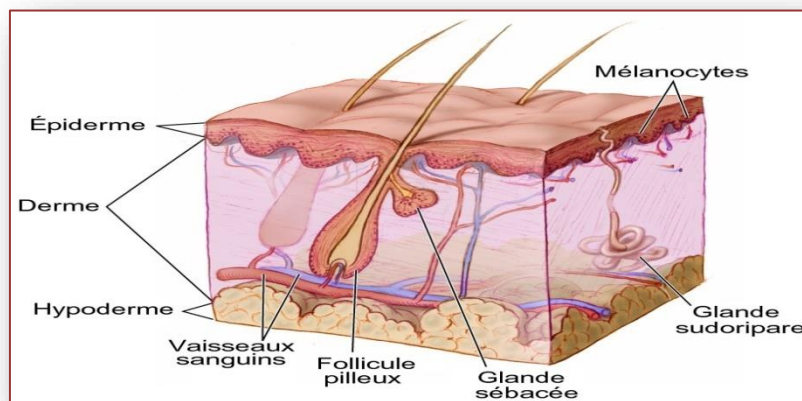


Figure 19: coupe transversale de la peau.

Sur un Plan structural, La peau est constituée de trois tissus superposés (l'épiderme, le derme et l'hypoderme). Les deux premiers correspondant au tissu cutané alors que le dernier régit le tissu sous cutané.

- **L'épiderme** : est un épithélium de revêtement, sa fonction principale est la protection de l'organisme contre les agressions extérieures [58].

Un tissu épithélial de revêtement mesurant entre 0,05mm à 1,5mm d'épaisseur il est constitué de plusieurs couches cellulaires [58].

- **Le derme** : Le derme a une épaisseur de 0,1 à 0,5 cm. C'est un tissu conjonctif composé de fibres de collagène (70%) et de fibres élastiques dans une matrice extracellulaire riche en proteoglycanes et glycoprotéines.

Le derme a un rôle dans la régulation de la température, de la pression et de la douleur. [59].



Figure 20: La zone profonde

- **L'hypoderme** : L'hypoderme est la couche la plus profonde de la peau et constitue 15 à 20 % du poids corporel. C'est un réseau de cellules graisseuses (adipocytes) qui sont regroupées sous forme de lobules et attachées au derme par des fibres de collagène et d'élastine. Elle agit comme isolant thermique [59].

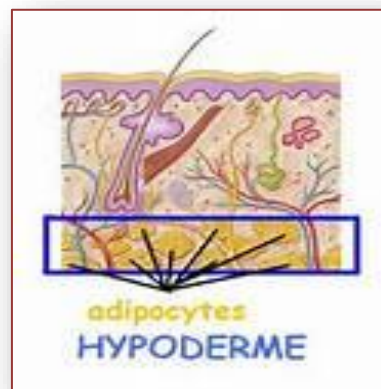


Figure 21: hypoderme-anatomie

1.2. Paramètres de la pénétration cutanée

L'absorption percutanée est le transfert d'une substance d'un milieu à travers la peau du Song à l'extérieur. L'étape d'infiltration est la diffusion passive. Ça dépend de la pente la concentration de molécules présentes dans le support et surface épidermique. Après avoir absorbée, la substance est distribuée dans l'organisme après avoir été métabolisée ou non, elle est transformée par l'organisme et éliminée. Au sein de l'épiderme, la couche cornée est considérée comme une barrière à la diffusion [60].

Il peut y avoir deux de pénétration des particules : l'une par diffusion passive, à travers les espaces intercellulaires de la couche cornée et travers les cellules cornées elles-mêmes dite voie transépidermique, l'autre empruntant les annexes cutanées comme les follicules pilo-sébacés et /ou les glandes sudoripares, dite voie transannexille [61-62].

1.3. Phénomène de cicatrisation

La peau humaine occupe des fonctions essentielles au bon développement de l'organisme. C'est pourquoi, l'intégrité de celle-ci est affectée lors d'une blessure, un mécanisme se met en place afin de la restaurer. Ce phénomène est le phénomène de cicatrisation [73]. Il décrit 4 phases :

1.3.1. L'hémostase ou la coagulation de la lésion qui s'installe immédiatement après le saignement : une arrivée des thrombocytes, avec une vasoactivation sous tendue par l'histamine et la sérotonine, une fabrication de fibrine qui emprisonne le sang et finalement une déshydratation qui ferme la plaie et continue la transformation des tissus [74].

1.3.2. L'inflammatoire cette réponse est la conséquence de la présence de signaux de «dégâts», à la fois mécaniques et chimiques perçus par les cellules au niveau de la plaie ainsi que les vaisseaux à proximité rompus [75]. Cette période est vite résorbée si une infection ne complique pas la cicatrisation. C'est le moment où l'action médicale ou chirurgicale doit entrer en action [74].

1.3.3. Le stade de granulation de la plaie : c'est une période plus ou moins longue avec quatre séquences qui s'organisent et se complètent [74].

- La première de ce processus est une chaîne de mise en place de tropocolloïdes pour développer et fixer les formes de collagènes de type I et II.
- La deuxième est une phase de remplacement de la matrice de collagène par une nouvelle forme.
- La troisième réalise une angiogenèse obligatoire à l'étape de granulation des tissus naissants, avec une grande quantité de facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire, le facteur de transformation β , l'angiogénine et l'angiostatine les collagénases et la plasmine vont résorber les membranes initiales permettant une migration cellulaire de cellules de l'endothélium qui se multiplient pour fabriquer de nouveaux capillaires sanguins.

1.3.4 Le remodelage, phase ultime de la cicatrisation : Une contraction des berges de la plaie arrive un phénomène complexe bien décrit par Madden en 1973 qui identifiait un phénomène particulier de fibroblastes appelés myofibroblastes, ayant des similarités avec les coussins de fibres musculaires lisses contractiles des artérioles [74].

2. La forme pharmaceutique semi solides pour application cutanée

2.1. Généralité

La forme pharmaceutique d'un médicament s'appelle aussi sa forme galénique. La forme pharmaceutique doit permettre une administration simple du médicament, avec une posologie précise et garantir une stabilité physicochimique du médicament la plus Longue possible [65].

Chaque médicament est composé de deux constituants :

- **Le principe actif** : c'est la substance responsable de l'effet pharmacologique du médicament.
- **Les excipients** : ce sont les substances qui permettent de fabriquer la forme galénique recherchée, qui n'ont pas de propriétés pharmacologiques et ne doivent pas interagir avec les La forme pharmaceutique doit être adaptée au traitement de la maladie spécifique [65].

2.2. Définition des préparations semi-solides pour application cutanée

Ce sont des formulations de consistance semi-solide destinées à être appliquées sur la peau ou certaines muqueuses pour une action locale ou transdermique sur des principes médicamenteux [66].

Elles présentent un aspect homogène. Elles sont constituées d'un excipient, simple ou composé, dans lequel sont habituellement dissous ou dispersés un ou plusieurs P.A.

La préparation peut contenir d'autres excipients : agents antimicrobiens, des antioxydants, émulsifiants ou épaississants ... [66]

3. Classification des préparations pharmaceutiques semi solides

Les principales formes pharmaceutiques semi-solides pour application cutanée sont : les pommades, les crèmes, gels et pâtes ...

3.1. Les pommades

Les pommades sont en générale des systèmes monophasiques qui ne contiennent pas d'eau, dans lesquels peuvent être dispersées des substances liquides ou solides [67].

Selon la nature de l'excipient, nous pouvons classer les pommades de la manière suivant :

- **Pommades hydrophobes ou lipophiles**

Ces pommades n'absorbent que de petites quantités d'eau. Les excipients les plus communément utilisés pour leur préparation sont : la vaseline, la paraffine liquide, la paraffine solide, les huiles végétales, les graisses animales, les glycérides synthétiques, les cires et les polyalkylsiloxanes liquides [68].

- **Pommades absorbent d'eau**

Elles peuvent absorber de quantités importantes d'eau, leurs excipients sont ceux de pommades hydrophobes dans lesquels sont incorporés des émulsifiants de type eau dans huiles (E/H) tels que la graisse de laine, les alcools de graisses de laine, les esters de sorbitanne, les mono glycérides et des acidesgras [68].

- **Pommades hydrophiles**

Ces des préparations dont l'excipient sont miscibles dans l'eau .elles constituées par des mélanges de polyéthylène glycols (marcogols) liquides et solides et peuvent contenir de quantités appropriées d'eau [68].

3.2. Les crèmes (émulsions)

Les crèmes sont des préparations multiphasés constituées d'une phase lipophile et d'une phase aqueuse.On distingue :

- **Les crèmes lipophiles**

Ce sont des émulsions E/H ou la phase externe est lipophile .Ces préparations contiennent généralement des agents émulsifiants qui stabilisent les émulsions eau dans l'huile tels que des alcools de graisse de laine, des esters de sorbitan et des monoglycérides [69].

- **Les crèmes hydrophiles**

Ce sont des émulsions H/E ou la phase externe aqueuse.Ces préparations contiennent des agents émulsifiants capables de stabiliser les émulsions huile dans eau tels que des savon de sodium ou de trolamine, des alcools gras sulfatés, des polysorbates et esters d'acides et d'alcools gras polyox-éthylènes, éventuellement en combinaison avec des agents émulsifiants eau dans l'huile[69].

3.3. Les pâtes

Les pâtes sont des systèmes biphasiques composant d'une phase interne et d'une phase externe. Dans le cas des pâtes contenant un pourcentage élevé de solides dispersés (jusqu'à 505 voire supérieur).

Les pâtes comme les pommades peuvent être hydrophobes ou hydrophiles, selon la base utilisée, mais bien souvent hydrophobe sauf dans le cas des pâtes à l'eau [69].

3.4. Les gels

Les gels sont constitués de liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés.

- **Gels lipophiles**

Les gels lipophiles (olégels) sont des préparations dont l'excipient est habituellement de la

paraffine liquide additionnée de polyéthylène, ou des huiles grasses gélifiées par de la silice colloïdale ou des savons d'aluminium ou de zinc.

- **Gels hydrophiles**

Les gels hydrophiles (hydrogels) sont des préparations dont l'excipient est habituellement de l'eau, du glycérol ou du propylène glycol gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés tels que l'amidon, des dérivés de la cellulose, des carbomères ou des silicates de magnésium-aluminium [70].

4. Facteurs influençant la perméabilité de la peau

L'absorption cutanée est dépendante de la physiologie de la peau, Caractéristiques chimiques de la molécule d'intérêt, des conditions d'application, de l'utilisation d'excipients et de la formulation du produit [63].

La pénétration cutanée est modulée par plusieurs facteurs relatifs au composé appliqué, au type de formulation, aux conditions d'application, et au site d'application (tableau 2[64])

Tableau N° 2: facteurs principaux influençant la pénétration cutanée

	Paramètres modulant la pénétration
Composé	-Taille et poids moléculaire -Coefficient de partage eau /lipides -Ionisation en fonction du ph (gradient de ph cutanée) -Concentration appliquée-solubilité
Formulation	-Type de formulation : gel, solution, crème... -Excipients utilisé -PH
Conditions d'application	-Température -Humidité -Occlusion -Durée de contact -Dose par unité de surface -Surface de peau exposée
Site d'application	-Type de peau (race, âge sexe) -zone (cheveux, front, bras...) -Hydratation de la peau -Présence de lésions

	-Métabolisme -Vitesse de desquamation
--	--

5. Méthodes de formulation et de préparation des formes pharmaceutique semi solides pour application cutanée

Selon les BPF, au cours de leur fabrication les préparations pour application cutanée peuvent s'avérer particulièrement vulnérables aux diverses contaminations, notamment celles d'origine microbienne s'il y a une phase aqueuses. Dans une ligne directrice particulière, l'attention est attirée sur les précautions à prendre en ce qui concerne les locaux, le matériel et le nettoyage. L'utilisation de matériel en verre est à éviter et l'acier inoxydable de qualité supérieure est recommandé pour toutes les parties en contact avec les produits. Il faut être particulièrement exigeant pour les qualités d'eau à utiliser. Le texte insiste sur la validation des procédés de nettoyage et de désinfection et sur le maintien de l'homogénéité des mélanges au cours des transferts et des stockages Lisseuse[60].

5.1. La préparation dans l'officine

Les préparations semi-solides pour application cutanée sont presque toutes faites au mortier.

Certaines préparations peuvent se faire à la température ordinaire. On arrive ainsi à obtenir un mélange homogène en triturant ensemble principes actifs et excipients. Mais souvent, il est nécessaire de faire fondre au préalable les excipients, et ceci pour plusieurs raisons :

- Pour que le malaxage soit plus facile
- Pour pouvoir y dissoudre plus facilement les principes solubles
- Pour améliorer le mélange d'excipients de points de fusion très écartés
- Pour faciliter les émulsions qui se font mieux à une certaine température.

Dans tous les cas, on malaxe jusqu'à complet refroidissement du mélange sinon on risque une séparation des constituantes lisseuses [60].

- **Pour les pommades**

Le procédé général de la préparation des pommades est le suivant :

- Peser tous les composants ;

- Faire fondre conjointement tous les composants au point de fusion adéquat sous agitation modérée pour assurer l'homogénéité ;
- Ajouter le principe actif sous agitation. Continuer l'agitation jusqu'à obtention d'une bonne dispersion.

Si le principe actif est thermolabile, son incorporation devrait se faire à froid.

- Quand l'incorporation directe dans la pommade de quelques principes actifs en raison de leurs caractéristiques est difficile, il est possible de les disperser d'abord dans un solvant de polarité adéquate puis les introduire dans cette pommade[67].

- **Pour les crèmes**

- Peser les composants de la phase huileuse, inclure les émulsionnants, les réunir dans un même récipient.
- Peser les composants de la phase aqueuse et les réunir dans un même récipient.
- Si tous les composants de l'émulsion sont fluides à la température ambiante, procéder à l'émulsification sans chauffage.
- Si le chauffage est nécessaire, les composants thermolabiles ou volatiles qu'ils soient principes actifs ou excipients sont ajoutés à la fin de l'étape de refroidissement.
- Chauffer la phase huileuse à la température de fusion la plus haute des composants de cette phase, sous agitation modérée pour assurer l'homogénéité.
- Chauffer la phase aqueuse à la même température que la phase huileuse, sous agitation modérée pour garantir l'homogénéité.
- Emulsifier par addition de la phase aqueuse sur la phase huileuse .la vitesse d'addition, la durée de l'opération, la vitesse de l'agitation, employées dépendent des caractéristique de chaque formulation.
- A la fin du processus de l'émulsification procéder à la stabilisation du système en maintenant une agitation modérée durant le refroidissement.
- Incorporation du principe actif :
 - Principe actif thermolabile ou insoluble dans la phase externe ; le dissoudre ou le disperser dans la plus petite quantité d'un solvant qui a la polarité adéquate (ex : glycérine, propylène glycol, huile de vaseline...etc.).L'incorporer lorsque la température de l'émulsion a chuté à 30 °C– 35 °C.
 - Principe actif hydrosoluble, non thermolabile, le dissoudre dans la phase aqueuse.
 - Principe actif liposoluble, non thermolabile, le dissoudre dans la phase huileuse [67].

5.2. La préparation dans l'industrie

Le matériel les plus couramment utilisés est tout d'abord un mélangeur à mouvement

planétaire et racleur, équipé d'un jeu de fouets de formes variées choisies en fonction de la consistance de la pommade : crochets simples pour les pommades les plus dures pour les autres de forme plus complexe.

La virole de ces mélangeurs doit être équipée d'une double enveloppe, dans laquelle circule le fluide chaud pendant le processus de mélange, suivi de fluide froid, pour assurer un refroidissement suffisamment rapide. Il est essentiel de pouvoir réguler avec précision la température tout au long du processus de fabrication.

- Pour les émulsions, on a recours soit à l'homogénéisateur à filière, soit au broyeur colloïdal
- Pour les pommades contenant des poudres, on peut utiliser soit le broyeur à trois cylindres ou lisseuse [60].

6. Contrôle des formes pharmaceutiques semi-solides

Les produits semi-solides sont souvent des systèmes complexes d'une stabilité relative, ce qui explique la diversité des essais proposés. Dans le période de conception, une grande diversité de contrôles est nécessaire pour définir les caractéristiques du nouveau médicament.

Les contrôles ont pour but de vérifier que la préparation est toujours conforme aux spécifications du dossier d'AMM. Sélectionnés de mise au point, ils sont plus approfondis que les essais de routine.[60]

Plusieurs méthodes sont utilisées pour le contrôle de qualité des pommades. Parmi celles-ci nous pouvons citer :

- L'observation des caractères macroscopiques des pommades surtout la consistance, la couleur, l'odeur et stabilité ;
- La vérification de l'homogénéité ;
- La mesure du potentiel d'hydrogéné (PH) ;
- L'établissement du profil chromatographique par des méthodes chromatographiques [71].

7. Mode de conditionnement et de stockage des formes pharmaceutiques semi solides

L'acte conditionnement correspond à tous les opérations, y compris le remplissage et l'étiquetage, que doit subir un produit vrac en vue de devenir un produit fini(une préparation terminée).nous distinguons :

- **Conditionnement primaire**

Le récipient ou toute autre forme de conditionnement avec lequel le médicament ou le médicament expérimental se trouve en contact direct.

- **Conditionnement extérieur ou secondaire**

L'emballage dans se trouve placé le conditionnement primaire le cas échéant[72].

Les préparations pour application cutanée peuvent être conditionnement en pots, mais cela est assez exceptionnel. En tubes, les risques de souillures entre deux applications sont moins grands.

En pharmacie, on utilise peu les tubes en matières plastiques qui ont l'inconvénient de reprendre leur forme initiale après une pression, avec, comme conséquence, une rentrée d'air dans le tube après chaque prélèvement. Actuellement, c'est surtout l'aluminium qu'on emploie [60].



PARTIE EXPÉRIMENTALE



CHAPITRE 01
MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel

1.1 Matériel végétale

Le matériel végétale utilisé dans cette étude est qui connu sous le nom scientifique de *Rétama Sphaerocarpa(L).Boiss.*

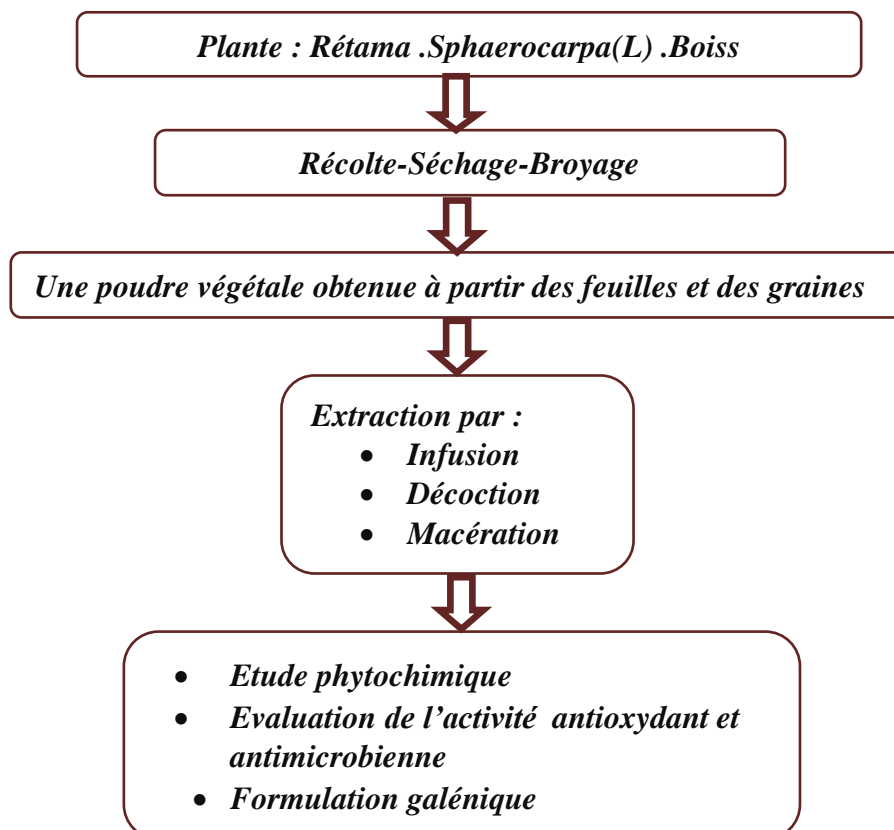


Figure 22: Image de l'espèce de *Rétama Sphaerocarpa(L).Boiss*

Récolte : La plante *Rétama Sphaerocarp(L).Boiss* a été récoltée durant le moins Mars 2022, de la région Maadid.

Séchage : La plante a été séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré, à une température ambiante pendant deux semaines, Puis stockées dans des sacs en papier.

Broyage : le matériel végétal séchée a été broyées à l'aide d'une broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre fine. La poudre obtenue subit à différentes méthodes d'extractions



1.2. Excipients

Sont des composants qui n'ont pas d'effet pharmacologique (inertes), mais qui sont nécessaires à la fabrication, à l'administration ou à conservation des médicaments.

1.2.1. cire d'abeille

La cire d'abeille est le matériau constitutif des parois cellulaires construites par les abeilles mellifères (et éventuellement d'autres espèces du genre *Apis*) de la famille des Apidae. Il se compose d'esters d'acides gras et des divers alcools à longue chaîne. Utiliser de la cire blanche dans une pommade pour la consistance. Les onguents contenant un pourcentage élevé de cire sont appelés cérats. Purifier la cire d'abeille par des plusieurs lavages avec l'eau distillée bouillie, après fusion (vers 110-120°C) pour tuer les germes et pour éliminer divers débris végétaux par une filtration.

1.2.2. Vaseline

C'est une substance de consistance pâteuse, de couleur blanchâtre, légèrement translucide, insipide et inodore. Il fond entre 38 et 42°C. C'est une dispersion d'hydrocarbures plus ou moins solides et liquides. Largement utilisé comme excipient pour pommade.

1.2.3. La gomme arabique

Les gommes sont des exsudats de plantes se solidifiant par dessiccation. Elle provient d'une plante de la famille des mimosacées.

Leur emploi comme excipient tient de leur propriété à donner avec l'eau des gels, des solutions ou des dispersions colloïdales plus ou moins visqueuses.

1.2.4. Glycérine pure

Le glycérol est le constituant essentiel de la glycérine officinale. C'est un liquide incolore, visqueux et inodore au goût sucré. Elle entre dans la composition de nombreuses préparations dermatologiques et cosmétiques. Utilisé pour éviter la dessiccation des pommades.

1.2.5. Huile d'olive

L'huile d'olive est une huile végétale obtenue en pression froide des olives. L'huile d'olive possède également une capacité occlusive qui accroît l'hydratation de la peau pour favoriser le passage cutané des molécules médicamenteuses.

1.2.6. Triéthanolamine

Est un composé organique visqueux contenant à la fois de la tri-amine et du tri-diol, est un composé incolore, utilisé comme activateur de PH ou épaississant pour les formulations cosmétiques, et favorise la formation de mélanges intimes entre liquides non miscibles en modulant la tension superficielle (eau et huile d'olive).

2. Méthode

2.1 Méthode d'extraction

2.1.1 Extraction par l'infusion

A 10 g de poudre de drogue nous avons ajouté 100 ml d'eau bouillant. Après 3h de contact, l'infusé refroidi a été filtré et desséché dans l'étuve à 45°C.

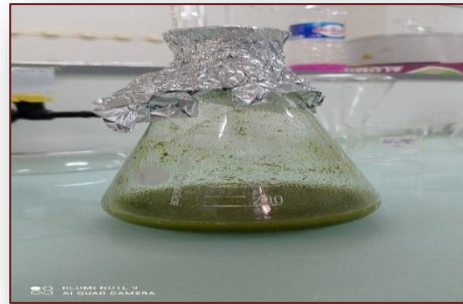


Figure 23:Préparation de l'extrait de l'infusion

2.1.2 Extraction par Décoction

Nous avons effectué une décoction aqueuse à 10%(10g de poudre de drogue ont été mis dans 100ml d'eau distillée et portés à ébullition pendant1h. Le décocté refroidi a été filtré et desséché dans l'étuve à 45°C

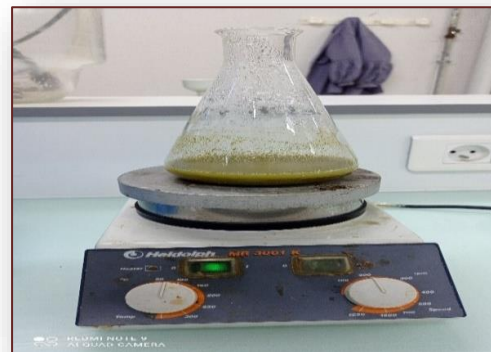


Figure 24: préparation de l'extrait de décoction

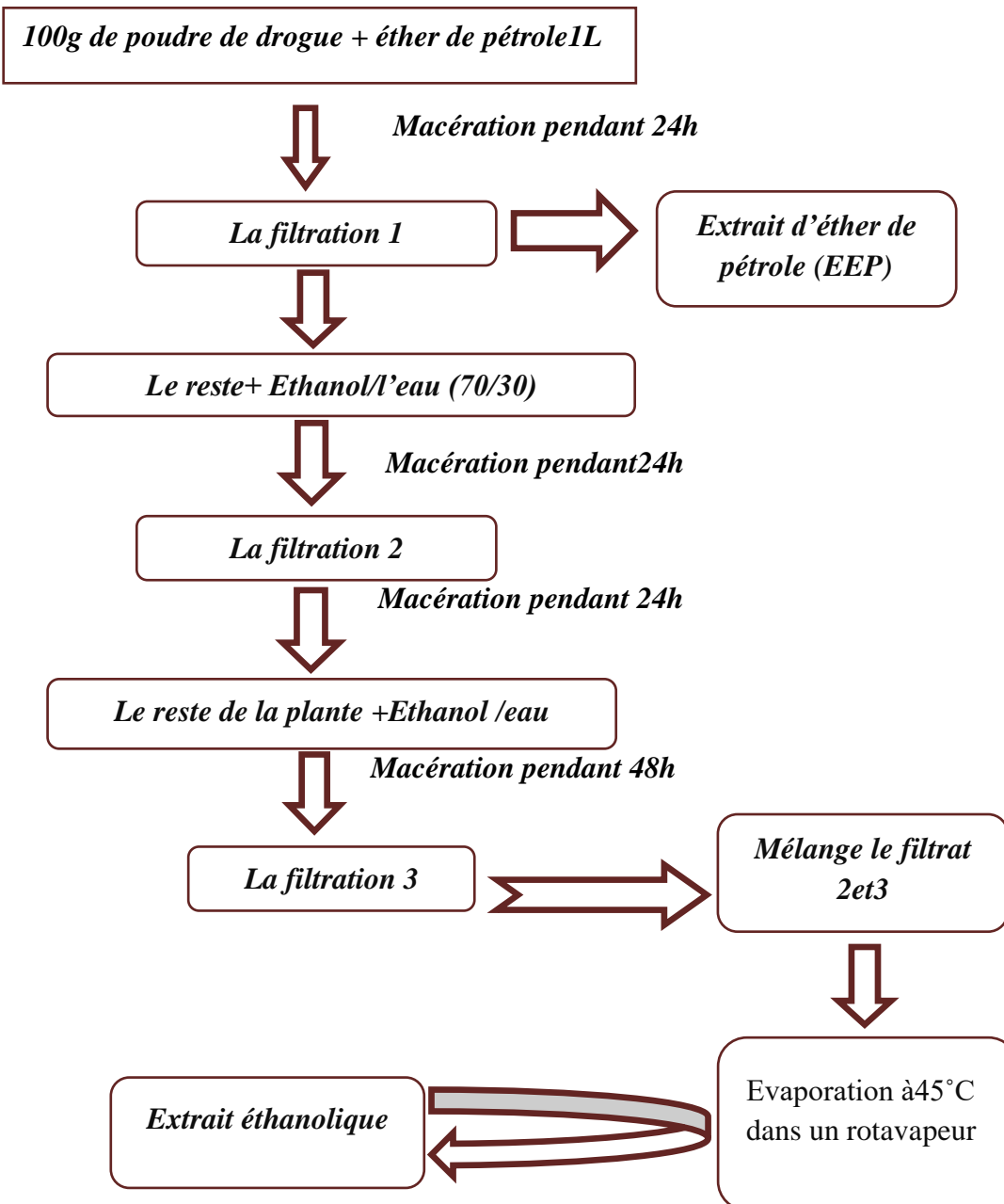
2.1.3 Extraction par macération hydro-alcoolique

La poudre du matériel végétal (feuilles et tiges, 100g) est mise à macérer à température ambiante dans l'éther de pétrole et puis dans un mélange hydro alcoolique (Ethanol /Eau ; 70/30.V/V). Cette macération est répétée 3 fois avec renouvellement du solvant et dure dans chaque cas de 24 à 48 heures. Le mélange a été filtré et soumis à une évaporation à 45°C dans un rotavapeur.



Figure 25:Montage de rotavapeur

Le processus d'extraction par macération hydro-alcoolique se résume comme suit :



3. Screening photochimique

Il s'agit d'une étude qualitative visant la recherche des principaux groupes chimiques (Alcaloïdes, polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponosides, composés réducteurs, composés cyanogénétiques ...)[76].

Les grandes familles de métabolites secondaires ont été recherchées dans les plantes suivant les méthodes classiques de caractérisation. Les tanins et polyphénols ont été identifiés par le test FeCl_3 et le réactif de Stiasny ; les flavonoïdes par la réaction à la cyanidine ; les saponosides par le test de mousse ; les triterpènes et stéroïdes par le test de Liebermann-Bouchard et enfin les alcaloïdes par les tests de Mayer et Dragendorf [77].

Les grandes familles ont été caractérisées par des réactions colorées et des précipitations en tube et par la chromatographie en couche mince.

Les groupes chimiques ont été caractérisés par des réactions colorées et de précipitations en tube et par la chromatographie en couche mince [78]. Ces tests s'effectuent soit sur la poudre soit sur l'infusé à 5% afin de mettre en évidence la présence ou l'absence des métabolites primaire et secondaires.

3.1 Préparation des solutions

a) Préparation de l'infusé à 5%

5g de poudre végétale a été mélangée avec 100 mL d'eau distillée chaude. Le mélange est filtré après 15 à 20 min. Puis on ajoute à 100mL d'eau distillée.

b) Préparation de l'extrait éthérique

Une quantité de poudre végétale (10g) extrait avec 15 mL d'éther d'éthylque (macération pendant 24 h).

c) Préparation de l'extrait hydro-alcoolique

La même quantité de poudre végétale (10g) extrait avec 100mL de méthanol (70) (macération pendant 24).

3.2 Tests chimique d'identification

On a réalisé différents tests pour rechercher les métabolites secondaires de notre plante.

3.2.1 Recherche des tanins totaux

Test1

A5 mL d'infusé, on ajoute quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 dilué 1%.

- L'apparition d'une coloration vert-noirâtre indique la présence des tanins.

Test 2

A 30 mL d'infusé, on ajoute 15mL de Réactif de stiasny (10mL de formol à 40+ 5mL d'HCl concentré).Le tout est chauffé au bien-Marie à 90°C pendant 15 min.

- L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques.

Test 3

Nous avons filtré et saturé le filtrat avec l'acétate de sodium pulvérisé et filtré, on ajoute quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 .

- L'obtention de la couleur bleu indique la présence des tanins galliques, non précipités par le réactif stiasny.

3.2.2 Recherche de saponoside

10mL d'infusé est placé dans un tube à essais, agiter pendant 15 secondes puis déposer pendant 15 minutes.

- Une hauteur de la mousse persistante supérieure à 1cm indique la présence des saponosides

3.2.3 Recherche des mucilages

A 1ml d'infusé, on ajoute 5mL d'éthanol absolu. Le mélange est laissé 10 min.

- On remarque l'apparition d'un précipité floconneux indiquant la réaction positive

3.2.4 Recherche des coumarines

Évaporer 5ml de l'extrait éthanolique jusqu'à l'obtention d'un volume de 1 mL, ajouter 1mL d'eau chaude au mélange, après l'agitation le volume total est divisé en deux l'un sert de témoin et l'autre est ajouté à 0.5ml de NH_4OH (10%) puis examiner sous lampe UV à 366nm.

- L'émission de fluorescence indique la présence des coumarines.

3.2.5 Recherche des flavonoïdes

3.2.5.1 Flavonoïdes total

On prend 2mL d'extrait alcoolique, et on le rend basique par l'ajout de NH_4OH à (10%).

- L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieure du tube indique la présence des flavonoïdes.

3.2.5.2 Les anthocyanes

A 5mL d'extrait alcoolique ont été ajoutés 15mL d' H_2SO_4 à (10%) (Milieu acide), et après l'agitation, le mélange a été ajouté à 5mL d' NH_4OH à (10%) (Milieu basique).

- En présence d'anthocyanes, la couleur accentuée par l'acidification, puis vire au bleu violacée en milieu basique.

3.2.5.3 Réaction à la cyanidine

Mettre 5mL d'extrait alcoolique dans un tube à essai puis ajouter 5mL d'alcool chlorhydrique (éthanol à 95° alcoolique + eau distillée +HCl concentré à partie égale en volume) +1mL d'alcool isoamylique et une petite quantité de copeaux de magnésium.

Aspect de la couche colorée de surnageant d'alcool iso amylique :

- Rose orangée indique la présence de flavones
- Rose violacée caractéristique des flavonols
- Rouge indique la présence de flavonols et des flavanols.

La réaction à la cyanidine n'a pas ajouté de copeaux de magnésium et a été chauffée au bain-marie pendant 15minutes.

- En présence de leuco anthocyane, il produit une couleur rouge cerise ou violacée ; les catéchols donnent une teinte brun-rouge.

3.2.6 Recherche des alcaloïdes

Pour détecter la présence les alcaloïdes nous avons utilisé deux méthodes :

Test 1

A 2mL d'infusé, ont été ajoutées quelque goutte de réactif de dragendorff.

- Considérez la précipitation avec cette réactive preuve de la présence d'alcaloïdes.

Test 2

On prépare la solution d'analyse : 5g de poudre végétal a été mélange avec 25mL d'acide sulfurique concentré dilué à 10% avec l'eau distillée. Le mélange est filtré après 24h.

5 gouttes de réactif de Dragendorff ont été ajoutées à 1mL de filtrat

- La présence de alcaloïdes est confirmée par leur extraction.

3.2.7 Recherche des stérols et des trierpènes

Prendre 5mL de l'extrait étherique séché à sec, le résidu obtenu est dissout dans 0.5 mL l'anhydride acétique anhydre, puis dissous dans 0.5 mL de chloroforme, nousavons mis dans le fond du tube à essai à l'aide d'une pipette 1 mL de H₂SO₄concentré.

Le changement de coloration est observé pendant une heure :

- Une coloration : bleu-vert indique la présence des triterpènes
- En cas de réaction positive présence des stérols, il se forme anneau rouge-brunâtre au violet a la zone de contact de deux liquides, la couche surnageant étant grise ou violette.

4. Dosage des polyphénols

La teneur totale en polyphénols a été estimée à l'aide de méthodes simples à réaliser utilisant de Folin-Ciocalteu [79] Cécibase sur la réduction en milieu alcalin d'un mélange de phosphoyungsticéne (WO_4^{2-}), phosphomolybdéne (MoO_4^{2-}) du réactif de folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation d'un produit de réduction de couleur bleu. Ces derniers présentent un maximum d'adsorption à 760nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon [80].

Mode opératoire

Pour évaluer la teneur en polyphénols des extraits, 100µL de chaque extrait, convenablement dilué est ajouté à 500µL du réactif de folin ciocalteux (dilué 10 fois dans l'eau distillé), Après 4min, 400µL d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (7.5 % dans l'eau distillé) sont ajoutés, Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant 2 heures à l'aide de la lumière. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre UV à 725 et 750 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (10-140µg/mL). La concentration des polyphénols est calculée à partir de la droite d'établissement établie avec l'acide gallique. Les résultats obtenus sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligrammes d'extrait (µg EAG/mg d'extrait).

5. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée selon la méthode au trichlorure d'aluminium décrite par de Bahorun et al (1999). Le dosage des flavonoïdes est réalisé à l'utilisation de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), qui forme des complexes très stables avec les groupements hydroxyles des flavonoïdes de couleur jaune et absorbe à une longueur d'onde de 430nm [81].

Mode opératoire

Pour évaluer la teneur de flavonoïdes de l'extrait, 1mL de chaque extrait convenablement dilué, 1mL d'une solution d' $AlCl_3$ (2% dans du méthanol absolu) sont ajoutés. Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant 10min à l'aide de lumière ; L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre UV à 430nm contre le blanc sans extrait.

Préparation de blanc

1ml de méthanol, 1mL d'une solution d' $AlCl_3$ sont ajoutés. Le mélange est bien agité et incubé à température ambiante pendant 10min.

6. Evaluation de l'activité antioxydant

La capacité antioxydant de nos extraits exprimé par la donation d'un électron ou d'un atome d'hydrogène, est mesurée par une méthode spectrophotométrique au DPPH[82].

Le composé chimique 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl(DPPH) est une radical libre utilisé comme réactif .il possède une coloration violette foncée qui va se transformes en jaune, ce qui diminue son absorbance à 517nm, lors .il est réduit par les composés antioxydants en lui donnant un proton ou un électron[83].

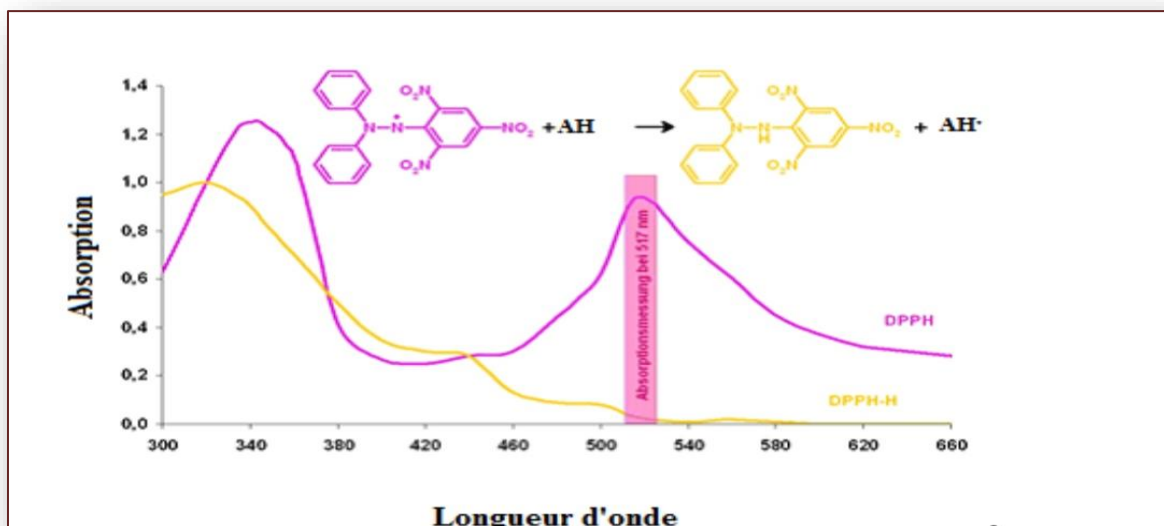


Figure 26: schéma de tranformation du DPPH de sa forme active à celle inactive

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des différents extraits, 50 µl de chacune des différentes concentrations d'extraits ou de standards (quercétine, rutine et BHT) ont été incubés avec 1.25mL d'une solution méthanoïque de DPPH à 0.004%. Après un moment l'incubation pendant 30 min, la réaction de transfert d'hydrogène de l'antioxydant vers le DPPH suivi par le spectre visible en enregistrant la réduction de la bande d'absorption DPPH à 517 nm. La capacité antioxydant de l'extrait a été déterminée en évaluant le pourcentage l'inhibition l'absorption des radicaux libres DPPH :

$$\% \text{ d'inhibition} = 100(A_{\text{control}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{contrôle}}$$

A_{control} : Absorbance sans antioxydant

$A_{\text{échantillon}}$: Absorbance avec antioxydant

7. Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'étude de l'activité antibactérienne est réalisée par la méthode de diffusion sur milieu solide.

Il repose sur la diffusion de l'extrait, contenant les principes actifs, à partir des disques déposés sur un milieu solide. L'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques révèle la sensibilité de la souche bactérienne vis-à-vis de l'extrait utilisé, plus la zone d'inhibition est grande, plus la sensibilité de la souche est grande [84].

Les germes qui ont été utilisés pour détecter l'activité antimicrobienne des extraits de l'espèce *Rétama. Sphearcarpa. (L). Boiss.* Ce sont fournis par le laboratoire institut Pasteur d'Algérie annexe de M'sila.

Tableau N° 3:Caractéristique général des bactéries testées

Nom de la souche	Références	Gram
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	Positif
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	Négative
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	Négative

- On choisit l'antibiotique gentamicine comme une référence

7.1 Préparation des milieux de culture

Nous avons utilisé le milieu Muller Hinton pour étudier la sensibilité des souches bactériennes aux différents extraits de *Rétama.Sphaerocarpa. (L).Boiss.*

Le milieu gélosé a été versé dans des boîtes de pétri de façon à obtenir une épaisseur de 4mm pour les boîtes d'un diamètre de 90mm. Laisser refroidir et solidifier le milieu gélosé en plaçant les boîtes avec les couvercles en place sur une surface fraîche.

7.2 Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé à partir des colonies jeunes de bactéries, et de l'eau physiologique 0.9% stérile. Des colonies ont été prélevées d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans un volume d'eau physiologique.

7.3 Préparation des disques

Un disque de papier filtre d'un diamètre de 6mm préparé avec du papier Whatman, et placé sur la surface des boîtes d'inoculation après stérilisation.

7.4 Dilution des extraits

Les différents extraits (infusion, décoction, extrait éthanolique et extrait étherique) sont dilués progressivement dans le DMSO afin de préparer chaque extrait une gamme de solution ayant des concentrations de 200,100, 50, 25,12.5, 6.25, 3.12, et 1.5 mg/mL introduit dans des tubes à essai stériles auxquels 1mL de DMSO sont additionnés. Les solutions issues de chaque type d'extrait ont été déposées à la surface des disques avec 15µl de chaque extrait, les boîtes de pétrie sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant quelques temps et mises à l'étuve pendant 24h.

7.5 Lecture

L'activité antibactérienne de chaque extrait a été appréciée par l'apparition des zones d'inhibition autour les disques.

8. Etude galénique

8.1 Préparation des pommades

Nous avons effectué plusieurs tests préliminaires en modifiant la qualité des excipients pour trouver une formulation de pommade aux propriétés adaptées (meilleure consistance et meilleure stabilité).

8.1.1 Préparation des pommades absorbant l'eau

Nous avons formulé trois pommades absorbent l'eau à 10% aux extraits éthanoliques comme un principe actif associé à différents excipients tels que : la vaseline, la gomme arabique, le glycérol et l'huile d'olive.

Formulation 1

Extrait éthanolique.....	0.4(g)
Huile de d'olive	0.4(g)
Cire d'abeille	0.4(g)
Eau purifiée.....	0.5(g)
Vaseline blanche.....	3.3(g)

Formulation 2

Extrait éthanolique.....	0.4 (g)
Eau purifiée.....	0.4 (g)
Glycérine Pure	0.6 (g)
Cire d'abeille	0.6 (g)
Vaseline blanche	3 (g)

Préparation

Dans un bécher, on fait fondre la cire d'abeille blanche dans l'huile d'olive au bain marie à 60°C. Ensuite nous avons trituré avec un pilon, dans un mortier en porcelaine, la quantité d'extrait correspondante à 0.5g de poudre et la quantité des excipients fondus et la vaseline blanche préalablement chauffées à une température ne dépassant pas 30°C. Les excipients ont été ajoutés en petite quantité jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. La quantité d'eau a été ajoutée progressivement au mélange en triturant légèrement jusqu'à homogénéisation. Une spatule a été utilisée afin de détacher la pommade du pilon et de mettre la pommade dans le pot en verre. La pommade ainsi obtenue a été appelée pommade absorbe l'eau.

Formulation 3

Extrait éthanolique.....	0.4(g)
Eau purifiée.....	0.6(g)
La gomme arabique	0.25(g)
Glycérine pure.....	0.25(g)
Vaseline blanche.....	3.5(g)

Méthode de préparation

Dans un bécher, on fait fondre la vaseline au bain marie à 30°C, Dans un autre bécher, on dissout la gomme et la glycérine dans l'eau. Nous avons ensuite introduit l'extrait dans la vaseline fondu puis on triture avec un pilon dans un mortier préalablement chauffé jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. La solution aqueuse a été ajoutée progressivement au mélange en triturant légèrement jusqu'à homogénéisation. La pommade ainsi obtenue a été appelée pommade absorbe l'eau.

8.2 Formulation des crèmes

Nous avons préparé des crèmes à base des quatre extraits (décoction, infusion, éthérique, éthanolique), avec les excipients : vaseline, glycérol, cire d'abeille, gomme arabique, triéthanolamine, et huile d'olive. Ces formulations étaient destinées à étudier l'influence d'excipients et l'émulsifiant sur la stabilité et la consistance des préparations obtenues.

8.2.1 Formule type de préparation d'une émulsion

- Phase aqueuse : l'eau et les extraits aqueux (décoction, infusion et éthanolique)
- Phase huileuse : l'huile d'olive.

Le choix de cet ingrédient est basé sur le fait que c'est un produit naturel, non allergisant,

ayant un pouvoir adoucissant pour la peau

- Facteur de consistance et viscosifiant : cire d'abeille.
- Agent humectant : glycérol.

Formulation

Extraits	0.4(g)
Cire d'abeille	0.2(g)
Huile d'olive.....	2.4(g)
Eau	6.5(g)
Glycérol	0.2(g)
Gomme arabique	0.2(g)
Triéthanolamine	0.1(g)

Méthode de préparation

La phase aqueuse (eau, glycerol et triéthanolamine) était Introduite dans un bécher en verre, et la phase huileuse(huile d'olive avec la cire d'abeille).Dans un autre bécher identique. Les deux béchers, avec leur phase respectiveétaient ensuite placés dans un bain marie à 70° C. Lorsque les deux phases ont atteint la température de 60°C, nous avons versé la phase huileuse goutte à goutte dans la phase aqueuse sous agitation on maintenue le mélange dans bain marie pendant 5 min en agitant jusqu'à obtention d'une masse homogène. La préparation était retirée de bain marie et laisser à l'air libre afin de permettre son refroidissement progressif finalement on obtient une crème homogène.

9. Contrôle des pommades et crèmes formulées

9.1 Caractères macroscopique

La consistance, la couleur, l'odeur et la stabilité de chaque formulation ont été notées.

9.2 Mesure du PH

La potentiel d'hydrogéné (PH) de chaque pommade a été déterminé en étalant une petite quantité de chaque pommade sur un papier PH .

9.3 Homogénéité

Nous vérifions l'homogénéité des pommades en étalant quelques quantités de chaque pommade et crème sur une surface plane à l'aide d'une spatule, la répartition régularité ou non des extraits dans les excipients.

9.4 Essais de stabilité

Stabilité à la centrifugation : soumettre les émulsions à des accélérations relativement élevées (de l'ordre de 300 tours /min) à l'aide d'une centrifugeuse .puis observer l'aspect des émulsions, noter les instabilités éventuelles : crémage, sédimentation, séparation de phases.

9.5 Stabilité à la chaleur et froid

Les études de stabilité ont consisté à suivre l'évolution dans temps, d'un certain nombre de paramètres spécifiques à certaines formulations. Celles-ci étaient en effet laissées au repos à la température du laboratoire et examinées après et vérifier 0 jours, 1 semaine, 2 semaines, 1 mois et 2 mois de conservations

Les Variables ou paramètres examinés, notamment les caractéristiques organoleptique (Consistance, couleur, odeur, aspect) de la préparation, présence ou absence de phénomènes émulsification et décantation, séparation de phases, homogénéité et enfin viscosité préparer.

9.6 Sens d'émulsion

La détermination du sens de l'émulsion est indispensable pour éliminer toute éventuelle inversion de phase. Cet examen est réalisé pour toutes les crèmes préparés par la méthode suivant :

Méthode des colorants : nous ajoutons à une goutte de l'émulsion un colorant hydrosoluble «bleu de méthylène », si l'émulsion est de type H/L la coloration se propage dans l'émulsion.

9.7 Etude de la tolérance cutanée

On applique le produit sous patch occlusif ou semi-occlusif sur dix volontaires, au niveau du bras ou du dos, pendant 24 ou 48 heures. Le but est de détecter la présence ou non de réactions cutanées (sous contrôle médical ou dermatologique).



CHAPITRE 02
RÉSULTATS ET
DISCUSSIONS

1. Procèdes d'extraction

La préparation des extraits a été réalisée en utilisant deux méthodes d'extraction. Des extraits organiques (éthanol et éther de pétrole) qui sont obtenus par macération et des extraits aqueux par macération à chaud dans de l'eau distillée.

Différents extraits ont été préparés à savoir :

- L'extrait de l'infusion (ExInf.).
- L'extrait de décoction (Ex Déc.).
- L'extrait d'éther de pétrole (Ex EP).
- L'extrait d'éthanolique (Ex EtOH).

Le rendement de l'extraction qui est le rapport entre la masse de l'extrait et la masse de la matière végétale séché. Il calculé à l'aide de la formule suivant :

$$R(\%) = (M_{\text{extrait}} / M_{\text{Plante}}) \cdot 100$$

Où :

R_{Extrait} : le rendement d'extrait en %

M_{Extrait} : la masse d'extrait en gramme.

M_{Plante} : la masse de la plante de départ en gramme.

Tableau N° 4 : Rendement des extraits

Extrait	Ext Inf.	Ext Déc	Ext EP	Ext EtOH
Masse d'extrait(g)	9.3	11.2	5.1	14.68
Masse de plante(g)	50	50	100	100
Rendement%	18.6	22.4	5.1	14.68

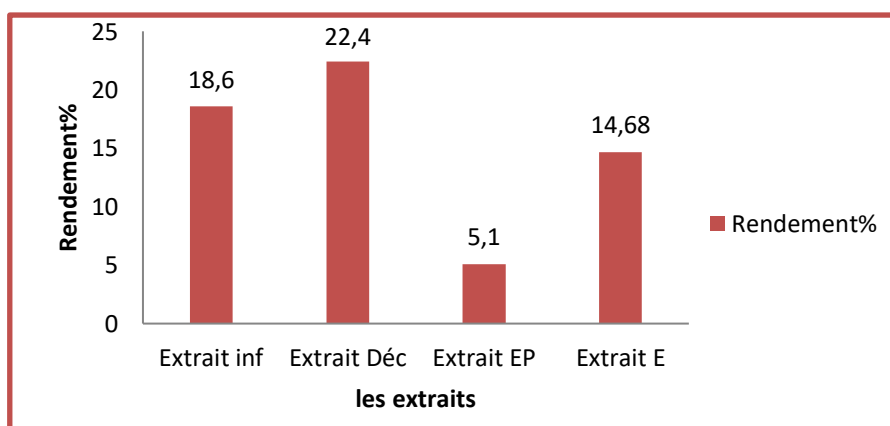


Figure 27: Rendements des extraits de *Rétama Sphaerocarpa* exprimés en pourcentage.

Selon les résultats obtenus, nous remarquons que le rendement le plus élevé est de l'extrait de décoction avec une valeur de 22.4% suivi par l'extrait éthanolique et l'extrait infusion avec des rendements de 14.68% et 18.6% respectivement, tandis que le plus faible rendement est celui de l'extrait de l'éther de pétrole, soit 5.1%, D'après nos résultats, nous avons constaté que le taux d'extraction varie en fonction de la méthode d'extraction et du solvant utilisé dans l'extraction.

2 .Screening phytochimique

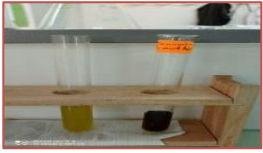

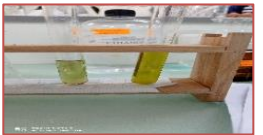
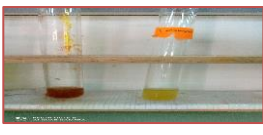
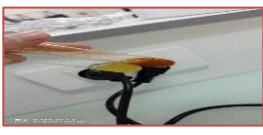
Le screening photochimique est basé essentiellement sur des réactions de précipitation et des réactions de coloration spécifique aux différents métabolites secondaires.

Les résultats de ce test sont reportes dans le tableau 2 .Sachant que :

- : Test négatif**
- + : Test faiblement positif**
- ++ : Test positif**
- +++ : Test fortement positif**

Tableau 2 : les résultats de screening phytochimique

Métabolites secondaires		Observation	Résultats observés (présence/absence)
Les tanins	Catéchique	L'obtention d'un précipité	(+++) 
	Gallique	L'obtention de la couleur bleu	(++) 
Les saponosides		Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1cm	(+++) 
Les mucilages		l'apparition d'un précipité floconneux	(++) 
Les coumarines		Absence de l'émission de fluorescence	(-) 
Triterpènes		La présence une coloration bleu-vert	(+++) 
	Totaux	L'apparition d'une couleur jaune claire	(+++) 

Les flavonoïdes	Les anthocyanes	Absence une coloration bleu-violacée en milieu basique	(-) 
	Cyanidine	Absence la couleur rose violacée indique l'absence des flavonones, flavonols et flavononols	(-) 
L'eucoanthocyane		L'absence de coloration rouge cerise ou violacée	(-) 
Les alcaloïdes	Test1	Précipité orange ou coloration rouge orange	(++) 
	Test2	Précipité rouge orange	(+++) 

Les résultats montrent que la plante de *Rétama.Sphaerocarpa. (L) .Boiss*, riche en quantités importantes de métabolites secondaires tel que : les tannis totaux, les saponosides, les flavonoïdes, les alcaloïdes, triterpènes et mucilage .Mais, les stérols, coumarine ; anthocyanes, cyanidine et l'eucoanthocyane sont totalement absents.

3. Dosage des polyphénols

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard et la teneur en polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait ($\mu\text{g EAG /mg}$).

L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 725 et 750 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour déterminer la quantité des polyphénols qui est représentée ci-dessous :

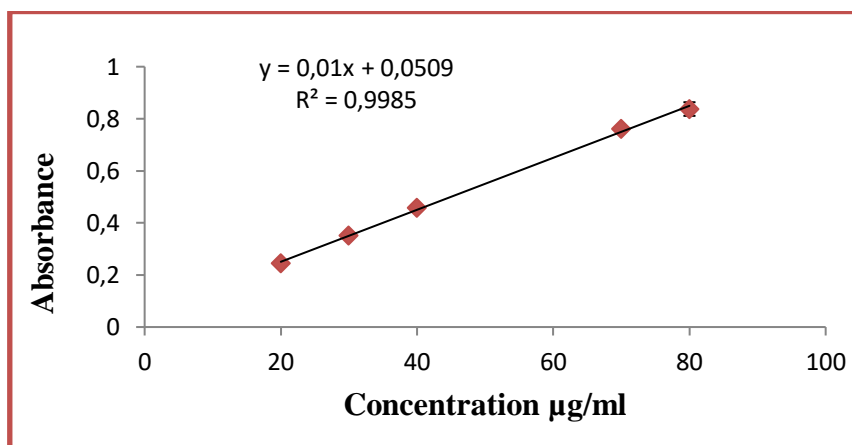


Figure 28: courbe d'étalonnage d'acide gallique

La teneur des polyphénols est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique ($y = 0.01x + 0,05$) et $R^2 = 0.998$.

Les résultats de concentration en polyphénols totaux des différents extraits de *R.Sphaerocarpa. (L).Boiss* sont représentés dans la figure suivante :

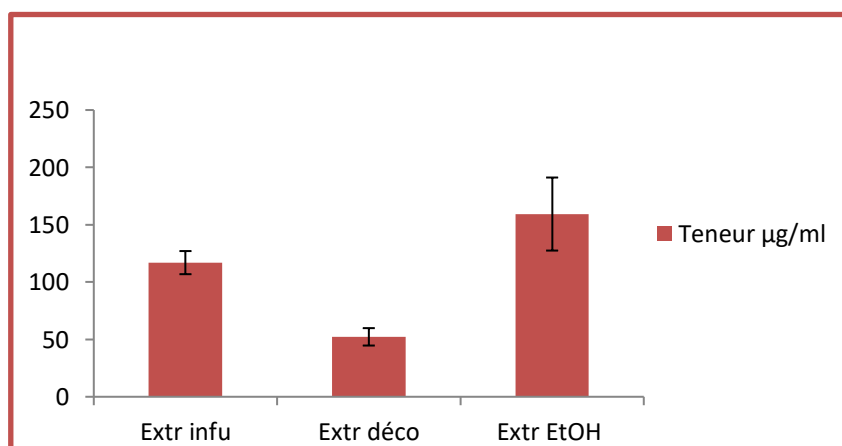


Figure 29: La teneur en polyphénols totaux des différents extraits

Les résultats indiquent que l'extrait éthanolique représente une teneur élevée en polyphénols avec une teneur ($159.296 \pm 31.85 \mu\text{gEAG} / \text{mg}$), et les deux extraits infusion et décoction représentent les teneurs ($116.966 \pm 10.08 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$) et ($52.255 \pm 7.59 \mu\text{g EAG} / \text{mg}$) respectivement. La décoction est la plus pauvre en polyphénols.

4. Dosage flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été déterminés par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl_3).

La quercétine a été utilisée comme standard et la teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalents de la quercétine par gramme d'extrait ($\mu\text{g EQ} / \text{mg}$).

L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage suivante :

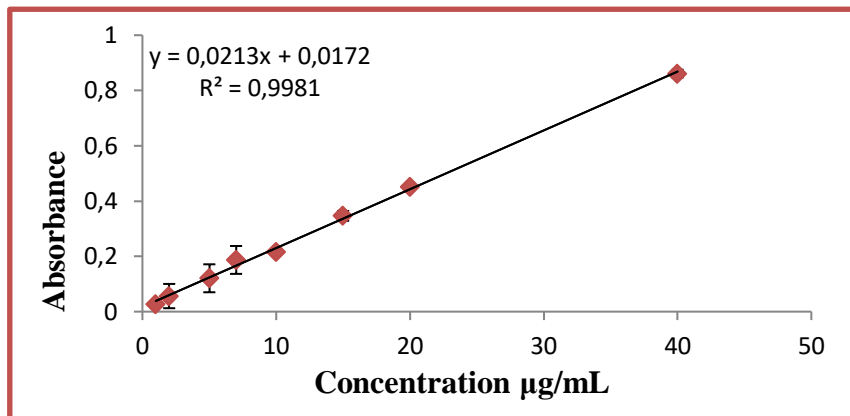


Figure 30: Courbe d'étalonnage du quercétine

La teneur des flavonoïdes des trois extraits de plante étudié ont été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type : $y = 0.021 + 0.017$ sachant que $R^2 = 0.998$. Les résultats de la teneur en flavonoïdes des différents extraits de *Rétama. Spherocarpa. (L).Boiss.* Sont représentés dans la figure suivant :

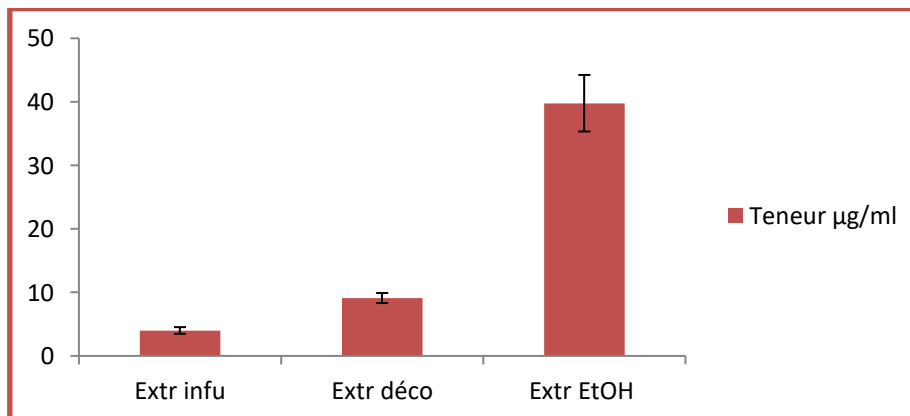


Figure 31: La teneur en flavonoïdes des différents extraits

L'analyse des résultats du dosage des flavonoïdes montre que l'extrait éthanolique est le plus riches en flavonoïdes avec une teneur ($39.779 \pm 4.45 \mu\text{g EQ/mg}$), par la suite vient l'extrait de décoction ($9.1136 \pm 0.786 \mu\text{g EQ/mg}$), tandis que l'extrait d'infusion a montré une valeur ($4.007 \pm 0.521 \mu\text{g EQ/mg}$).

5. L'activité antioxydant évalué par le teste DPPH

L'activité antioxydante des différents extraits à été évaluée par le test DPPH, par la réduction de ce radical libre qui a été contrôlée par différentes doses de l'extrait, la transition du violet au jaune peut être mesurée par spectrophotométrie UV-Visible 517nm.

Les résultats obtenus pour les différents extraits sont présentes dans les figures suivantes :

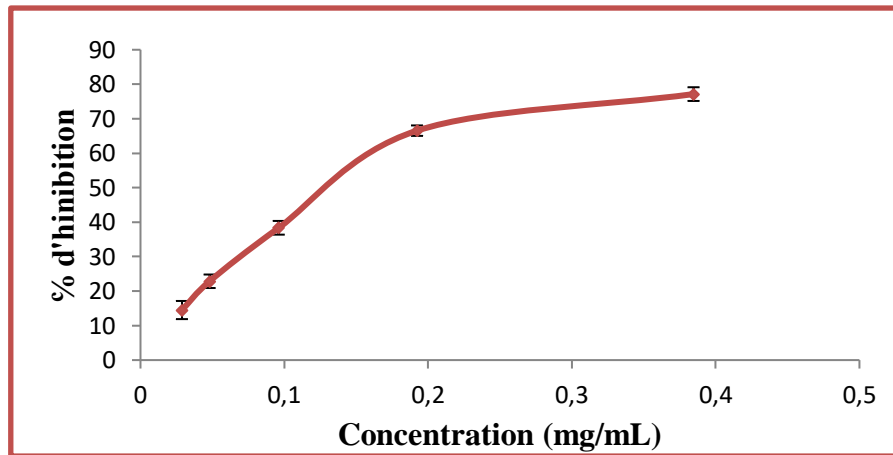


Figure 32: Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait de l'infusion.

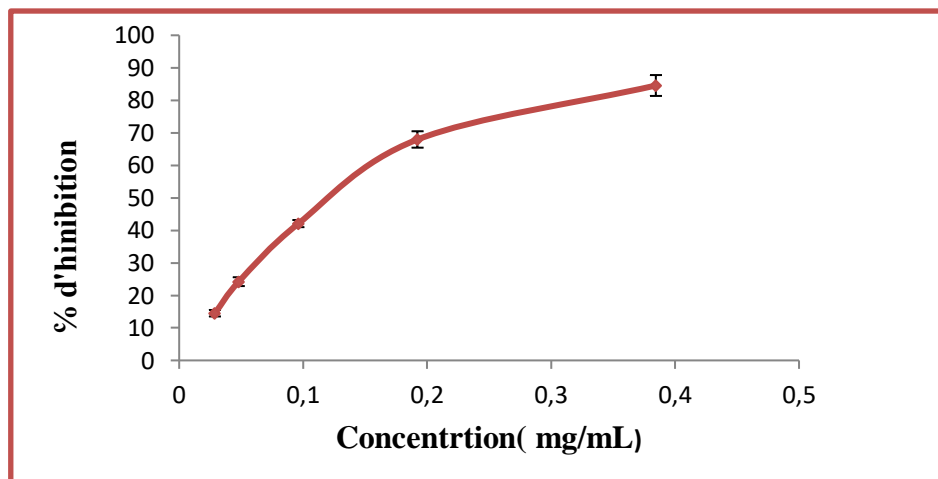


Figure 33 : Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait Ethanolique

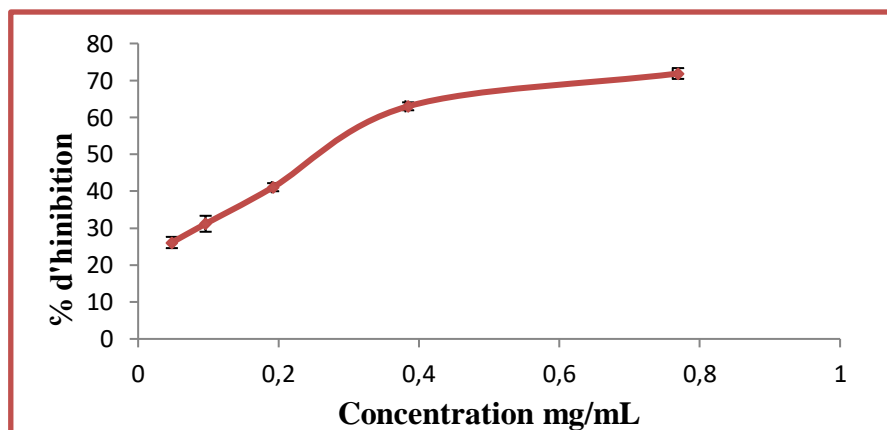


Figure 34: Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait de décoction

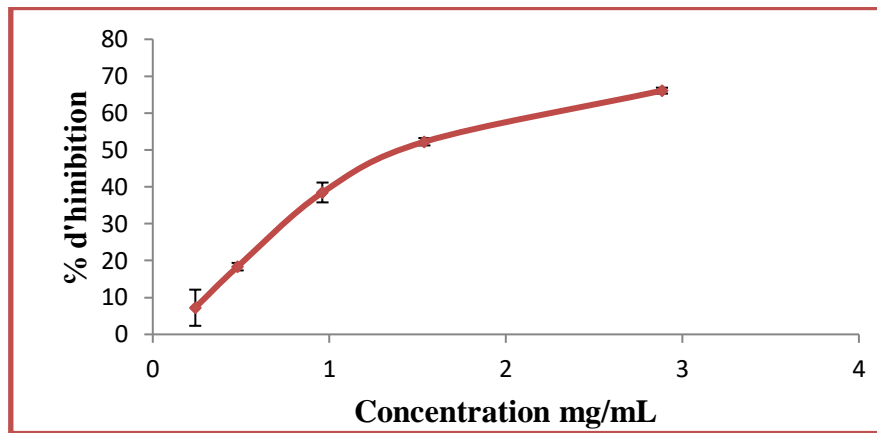


Figure 35: Activité inhibitrice du radical DPPH par l'extrait étherique

Les valeurs d'IC₅₀ des différents extraits ont été déterminées à partir de la courbe qui représente le pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations utilisées.

Les valeurs d'IC₅₀ de l'activité de piégeage des radicaux libres des extraits par la méthode DPPH sont présentées dans la figure suivante :

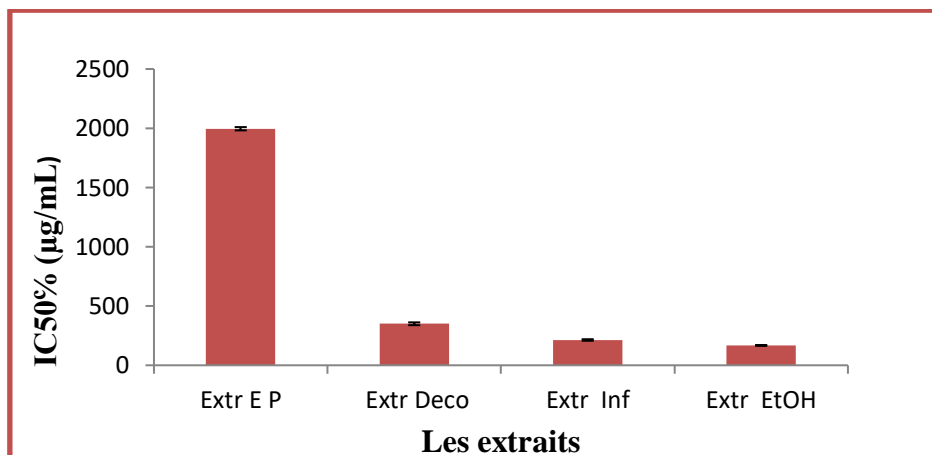


Figure 36 : Valeurs d'IC₅₀ des extraits pour l'activité piégeant les radicaux libres par la méthode de DPPH

Nos résultats montrent que l'extrait éthanolique est le plus actif, sa valeur de IC₅₀ ($167.566 \pm 2.8486 \text{ mg/ml}$) par la suite vient l'extrait de l'infusion et décoction avec une activité considérable, leurs IC₅₀ successives ($213.363 \pm 6.42 \text{ mg/ml}$) et ($350.199 \pm 11.82 \text{ mg/ml}$), par contre l'extrait éther de pétrole présente un IC₅₀ plus élevé ($1996.0182 \pm 13.90 \text{ mg/ml}$) ce qui montre est le plus faible.




La forte activité d'extrait éthanolique pourrait s'expliquer par la présence des polyphénols et des flavonoïdes qui sont détectés en grande quantité dans cet extrait.

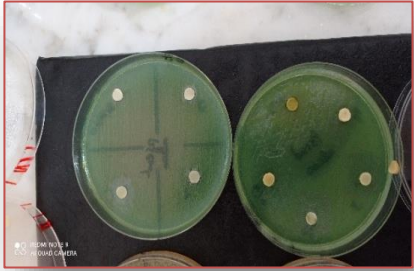
6. l'activité antibactérienne

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis des souches testés, nous avons utilisé la méthode des disques. Après 24 heures d'incubation, les diamètres des zones d'inhibitions obtenus avec les différents extraits sont regroupés dans le tableau2

Les résultats ont montré que ces extraits ont une activité inhibitrice sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* et ne présentent aucun effet sur les deux souches bactériennes testés (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*)

Tableau N° 5 : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits sur la souche *PseudomonasAeruginosa*.

Extrait	Concentration de l'extrait (µg/disque)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Photos des boîtes de pétri
Extrait infusion.	200	19	
	100	18.5	
	50	18	
	25	14	
	12.5	13	
	6.5	11	
	3.5	9	
	1.5	7	
	H ₂ O (témoin)	6	
Extrait Décoction	200	25	
	100	20	
	50	13	
	25	12	
	12.5	11	
	6.5	10	
	3.5	9.5	
	1.5	8	
	H ₂ O (témoin)	7.5	
Extrait Etherique	200	30	
	100	28	
	50	20	
	25	15	
	12.5	13	
	6.5	12	
	3.5	8	
	1.5	7	
	DMSO (témoin)	6	

Extrait	200	29.5	
EthOH.	100	28	
	50	20	
	25	15	
	12.5	13	
	6.5	12	
	3.5	8.5	
	1.5	7	
	DMSO (témoin)	6	

D’après le tableau 3 les résultats révèlent que les quatre extraits avec des différentes concentrations possèdent un effet sur la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*. Cette dernière est hautement sensible à l’extrait éthanolique et étherique avec des diamètres de l’ordre de 29 mm et 30 mm respectivement. Pour les deux extraits aqueux, ils montrent aussi une bonne activité contre *P. aeruginosa* avec des diamètres de 19 mm et 25 mm.


7. Résultats des formes galéniques



7.1 Contrôles des pommades formulées

7.1.1 Tests macroscopique

Les résultats des tests macroscopiques des pommades formulées (couleur, consistance et odeur) sont représenté dans le tableau suivant :

Tableau N° 6 : résultats des tests macroscopiques des pommades




Pommades		Paramètres		
		Couleur	Consistance	Odeur
Pommade absorbe l'eau	Formule1 : 	Marron claire	Pâteuse	Odeur de l’huile d’olive

	<p>Formule2 :</p> 	Vert d'olive	Pâteuse	Odeur de l'huile d'olive
	<p>Formule 3 :</p> 	Vert d'olive	Pâteuse	Odeur de l'huile d'olive

7.1.2 Homogénéité

Les résultats de test d'homogénéité des pommades formulées sont reportés dans le tableau7

Tableau N° 7 : résultat de test d'homogénéité des pommades

Pommades absorbent l'eau	Homogénéité	Photos
Formule1	Pommade homogène	
Formule 2	Pommade non homogène	
Formule 3	Pommade homogène	

Après avoir appliqué une fine couche de la pommade sur une surface plane, à l'aide d'une

spatule, on ne voit pas des grumeaux dans l'extrait éthanolique de **formulation 1 et 3**. Ils sont parfaitement homogène, par contre la **formulation 2** contient des petites grumeaux, ce qui signifie qu'il est hétérogène.

7.1.3 Détermination de pH

Les résultats de test de pH des pommades formulées sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau N° 8: les résultats de test de pH des pommades

Paramétré	Pommade absorbant l'eau		
pH	Pommade F1	Pommade F2	Pommade F3
	5	6	6

La détermination des pH réalisées grâce à l'utilisation de papier pH pour les pommades, a permis de montre que le pH de notre préparation varie entre 5 et 6. Les valeurs obtenues des pommades à base de l'extrait éthanolique de diverse formes indiquent que le pH est compatible avec les applications cosmétiques puisqu'il est proche du pH de la peau, qui se situe généralement entre de 4.5.

7.1.4 Test de stabilité

Au cours du temps, les pommades formulées peuvent expirera cause des conditions de conservation par exemple température ambiante (28°C) et la et duré de conservation (1semain, 2 semaines, 1 mois, à 6mois).

Les pommades sont stables, mais à une température supérieure à 30°C, elles commençant à foudre, on observe la formation des champignons due à l'absence de conservateur et la présence d'eau pour les extraits aqueux qui aurait pu créer les conditions d'humidité favorable à la multiplication des microorganismes.

Nous sommes en train de suivre les changements qui pourraient survenir sur l'aspect, l'odeur ou l'homogénéité de nos pommades pour une période maximale de 6 mois.

7.1.5 Test cutané





L'effet secondaire est nul après 24 heures de l'application des pommades sur la peau.

7.2 Contrôle des crèmes formulées

7.2.1 testes macroscopique

Les résultats des tests macroscopiques des crèmes formulées dans le tableau suivant :

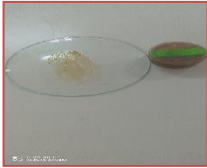



Tableau N° 9: les résultats des tests macroscopiques des crèmes

Crèmes	Paramètres			
	Couleur	Consistance	Odeur	Photos des crèmes
Crèmes issu de l'extrait d'infusion	Caramel	Semi-solide	Odeur de l'huile d'olive et l'extrait	
Crèmes issu de l'extrait de décoction	Marron clair	Semi-solide	Odeur de l'huile d'olive et l'extrait	
Crème issu de l'extrait éthanolique	Marron foncé	Semi-solide	Odeur de l'huile d'olive et l'extrait	
Crème issu de l'extrait d'éther de pétrole	Verte militaire	Semi-solide	Odeur de l'huile d'olive et l'extrait	

7.2.2 Homogénéité

Les résultats de test d'homogénéité des crèmes formulées sont reportés dans le tableau suivant :

Tableau N° 10: résultats de test d'homogénéité des crèmes.

Paramètre	Crème issu de l'extrait d'infusion	Crème issu de l'extrait de décoction	Crème issu de l'extrait éthanolique	Crème issu de l'extrait éther de pétrole
Homogénéité	crème homogène 	Crème homogène 	Crème homogène 	Crème homogène 

Après avoir appliqué une fine couche de crème sur une surface plane, à l'aide de la spatule, nous avons constaté l'absence des grumeaux dans toutes les crèmes formulés, ce qui a rendu nos crèmes sont parfaitement homogènes.

7.2.5 Détermination de pH

Les résultats de tests de pH des crèmes formulées sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau N° 11: les résultats de test de pH des crèmes

Paramétré	Crème issu de l'extrait infusion	Crème issu de l'extrait décoction	Crème issu de l'extrait éther de pétrole	Crème issu de l'extrait éthanolique
Ph	6	6	5	6

La détermination des pH réalisée grâce à l'utilisation de papier de pH pour les crèmes, a permis de montrer que le pH de nos préparations ont des valeurs de pH =5 pour la Crème issu de l'extrait éther de pétrole et pH=6 pour les autres crèmes ,cet résultat montre que tous les crèmes sont compatibles avec l'utilisation de cosmétique car ils sont proches du pH de la peau.

7.2.4 type d'émulsion

Les résultats de test de type d'émulsion des crèmes formulés sont représentés dans la figure suivant :



Figure 37: les résultats de test de type d'émulsion

Les résultats de l'inspection effectuée sur le type de crème par le colorant « bleu de méthylène» indique que les quatre crèmes sont hydrophiles (L/H). Ce qui indique la bonne tolérance, le pouvoir pénétrant et la facilité de nettoyage avec l'eau de nos crèmes.

7.2.5 Test de stabilité

Après avoir soumettre les émulsions à des accélérations relativement élevées à l'aide d'une centrifugeuse, on observe que l'aspect des crème sa base des quatre extraits n'a pas changé cela veut dire que les crèmes sont stables et homogène, il n'y a pas de séparation des phases, crémage ou sédimentation.

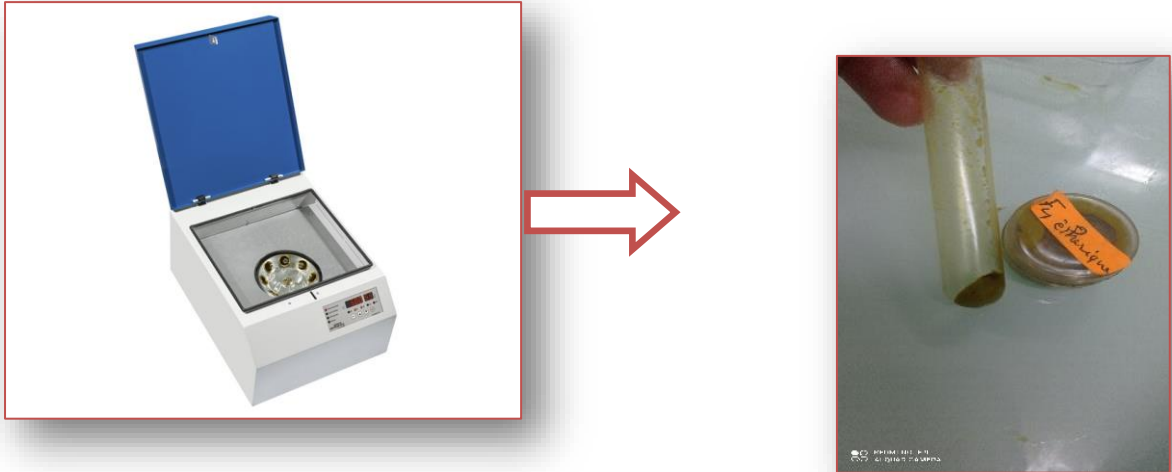


Figure 38: les résultats de test de stabilité des crèmes

8.2.6 Stabilité à la chaleur et froid

Les résultats des crèmes préparations ont montré que les crèmes à base de quatre extraits sont stables pendant 3 semaines, Nous sommes en train de suivre les changements sur l'aspect, l'odeur et l'homogénéité de nos crèmes pour une période maximale de 6 mois.

8.2.7 Test cutané

Après l'application des crèmes sur la peau pendant 24 heures, on ne voit aucun effet secondaire sur la zone d'application.

The background is a light-colored marble with grey veining. A large, thin gold oval frame is centered on the page, enclosing the text.

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION GENERALE

Notre étude est basée sur l'espèce *Rétama.Sphaerocarpa.(L).Boisse* qui appartient à la famille des fabaceae, qui est parmi les familles les plus importantes et les plus utilisées en médecine traditionnelle. Cette espèce contient des éléments très efficaces qui ont de nombreuses propriétés biologiques utiles pour le traitement de plusieurs maladies.

A partir des tests de screening phytochimique de cette plante, les résultats montrent la présence des divers métabolites secondaires tel que : les alcaloïdes, les saponosides, mucilage, triterpène, tannins, flavonoïdes. Cette diversité explique les multiples usages en médecine traditionnelle.

L'évaluation de l'activité antioxydant de divers extraits à l'aide de la méthode DPPH a montré que l'extrait éthanolique est le plus actif.

Les différents extraits de cette plante ont été analysés quantitativement par spectrophotomètre UV-visible pour identifier la teneur en flavonoïdes et polyphénols. Les résultats montrent que l'extrait éthanolique est le plus riche en composés phénoliques et en flavonoïdes.

L'étude de l'activité antibactérienne a montré que les différents extraits de *Rétama Sphaerocarpa (L) Boisse* ont une grande activité contre la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats obtenus ont permis de préparer des formes pharmaceutiques semi solide (pommades et crèmes) à base des extraits issus de cette plante comme principe actif et des différents excipients naturelles. Ils sont destinées a appliqué par voie cutanée. Ces préparations sont soumises à divers tests de qualité telle que (homogénéité, stabilité, pH...) qui confirment leurs conformités aux normes pharmaceutiques.

Après les études et les expériences que nous avons menées et les résultats obtenus, il est nécessaire de faire des études approfondies et complémentaire comme la cicatrisation sur les modèles des plaies par l'application de ces formulations sur les rats car les produits naturels, telles que les plantes médicinales permettent de cicatriser les plaies et les brulures.



RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] **BOUDJOUREF., Mourad. (2018).** Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits d'Artemisia campestris L. Thèse de doctorat.
- [2] **Bensaid., Sara. ouissem., Ep. Mazouzi. (2021).** Étude phytochimique et Biologique des plantes médicinales algériennes rétama sphaerocarpa L., lepidium Draba L.et Cedrus atlantica, université frères mentouri Constantine 1, faculté des Sciences exactes, département de chimie, spécialité chimie pharmaceutique, Diplôme de doctorat de 3^{ém} cycle, p8.
- [3] **Ouedraogo., S. Yoda., J. Traore., T. K., Nitiema., M. Sombie., B. C. Diawara., H. Z. & Semde., R. (2021).** Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 15(2), 750-772.
- [4] **Sofowora., A. (2010).** Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique, Edition Karthala p.22.
- [5] **Iserin., P. (2001).** Larousse Encyclopédie des plantes médicinales, Ed Larousse -Bordas paris.
- [6] **Bruneton., J. (2009).** pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales, 4e éd, revueet augmentée, éditions médicinales internationales, Tec & Doc, paris, France.
- [7] **DECAUX., I. (2002).** Phytothérapie : mode d'emploi, Le Bien Public, 2002, p. 6.
- [8] **DEBAISIEUX., F. POLESE., J. (2009).** Plantes médicinales. Edit Debaisieux. France.P : 4-5., 8-9.
- [9] **MONDIALE DE LA SANTÉ. (2003).** Organisation. Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. In : Directines OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratique de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. p. vi, 76-vi, 76.
- [10] **Belguitar., M. (2015).** Les plantes médicinales de la région de Ksar Chellala, Tiaret. Mem.Master. Université de Tiaret.60p
- [11] **GAHBICHE., S. (2009).** les phytothérapies, école supérieure des sciences et techniques de la sante de Sousse.

- [12] **JORTIE, S. (2015).** La phytothérapie, une discipline entre passé et futur: de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel, thèse, université Bordeaux 2 p : 21-22.
- [13] **Dupont., F. Guignard., J.L. (2007).** Abrégé de Botanique 14ème édition. Editions Masson, Paris p285-155.
- [14] **WOJCIECHOWSKI., Martin. LAVIN., F. Matt., et SANDERSON., Michael., J. A. (2004).** Phylogeny of légumes (Légumineuse) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. American journal of botany vol. 91, no 11, p. 1846-1862.
- [15] **BOUKAABACHE., Rabia. (2015).** Recherche et détermination des métabolites secondaires de plantes issues de la famille des fabaceae.
- [16] **De WIT H., (1963).** Les plantes du monde. Ed° Hachette Paris, pp 308-323.
- [17] **Lindl., F. (1836).** Systematic Botany, Editions 2, p 148.
- [18] **Blondel., (1887).** Manuel de matière médicale avec 358 figures dans le texte. Paris, Ed. Octave Doin 121.
- [19] **Spichiger., R. Savolainen., E.V.V and figeat., Lausanne., M. (2000).** Botanique systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelle des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. Polytechniques et Universitaires Romandes.Ed.Presses 25 ,29 ,182-187.
- [20] **Tham., D .M, Gardner., C.D and Haskell., W .L. (1998).** Potential Health Benefits of Dietary Phytoestrogens, A Review of the clinical ; Epidermiological ; and Mechanistic Evidence.journal of clinical endocrinology and metabolism, 83,2223-2235.
- [21] **MURKIES., Alice L., WILCOX., Gisela., et DAVIS., Susan., R. (1998).** Phytoestrogens. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, vol. 83, no 2, p. 297-303.
- [22] **Michel., BOTINEAU., (2010).** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Tec & doc, 2010.DOC (Ed) ,597-639.
- [23] **Zohary., M. (1959).** A revision of the genus Reteam (Boiss). Bull RES Coune Isr 7(D): 1-2.

- [24] **Evanari., M. Shanan., L. Tadmor., N.H. (1971).** the Negev. Harvard university presse, Cambridge, Massachusetts.
- [25] **Quézel., p. & S., Santa. (1962).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions méridionales. CNRS, paris. **Boulila F. G. Depret, A. Boulila. D .Belhadi. S .Benallaoua & G. Laguerre, (2009).** – Rétama species growing in different ecological –climatic areas of northeastern Algeria have a narrow range of rhizobia that form a Novel phylogénétic clade with in the Brady rhizobium genus. Syst. Appl. Microbiol. 32 (4) 245-255...306. 1170
- [26] **Bellakhdar., J, (1997).** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires, éd. Ibis press, 418-419. Saint-Etienne
- [27] **Tahraoui., A., El-Hilaly., J. Israili., Z. H., Iyousi, B. (2007).** Ethnopharmacological Survey of plants used in the traditional treatment of Hypertension and diabetes in Southeastern morocco (errachidia province). Journal Of éthnopharmacology, 110(1), 105-117.
- [28] **Benitez., G. (2007).** El uso de las plantas a través de la cultura tradicional lojena. Investigacion etnobotànica Del municipio de Loja. Foundation Ibnal –Jatif de Estudios y cooperation cultural, Loja.
- [29] **Louaar., S., Akkal, S. Bousetla., A. Medjroubi., K. Djarri., L. Seguin., E. (2005).** Phytochemical study of Rétama sphaerocarpa. Chemistry of Natural compounds, 41(1), 107-108 .
- [30] **Teixidor-Toneu., I. Martin., G. J. Ouhammou., A. Puri., R. K. Hawkins., J. A. (2016).** An Ethnomedicinal survey of a Tashelhit-speaking community in the High Atlas, Morocco. Journal of ethnopharmacology, 188, 96-110.
- [31] **Abouri., M. El Mousadik., A. Msanda., F. Boubaker., H. Saadi., B. Cherifi., K. (2012).** An ethnobotanical survey of medicinal plants used in the Tata Province, Morocco. International Journal of Medicinal Plants Research, 1(7), 99-123.
- [32] **Viegi., L. Ghedira., K. (2014).** Preliminary study of plants used in ethnoveterinary Medicine in Tunisia and in Italy. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Médecines, 11(3), 189-199.

- [33] **Rebbas., K. Bounar., R. Gharzouli., R. Ramdani., M. Djellouli., Y. Alatou., D. (2012).** Plantes d'intérêt médicinale et écologique dans la région d'Ouanougha (M'sila, Algérie). *Phytothérapie*, 10(2), 131-142.
- [34] **Shalaby., A. F. Monayeri., M. O. Etman., M. N. El Habibi., A. M. Youcef., N. M. (1972).** Germination of some desert medicinal plant under different condition. *Desert. Inst. Bull., A.R. E.*, 22(2): 433-444.
- [35] **Zohary., M. (1962).** Plant life of Palestine and Jordan 163:3515-523.
- [36] **Lazaro., M. L. Martín-Cordero., C. Iglesias-Guerra., F. & González., M. A. (1998).** An Isoflavone glucoside from *Rétama sphaerocarpa* Boissier *Phytochemistry.*, 48(2), 401-402.
- [37] **Hammouche-Mokrane., N. León-González., A. J. Navarro., I. Boulila., F. Benallaoua., S. & Martín-Cordero., C. (2017).** Phytochemical Profile, Antibacterial Activity of *Rétama raetam*, and *R. sphaerocarpa* cladodes from Algeria. *Natural Product Communications*, pp. 1857
- [38]. **Hartmann., T. (2007).** From waste Products to ecochemicals : fifty years research of plant secondary metabolism *.phytochemistry*, 68, 2831-2846.
- [39]. **Hopkins., W. G. (2003).** *Physiologie végétale* .de Boeck & l'acier, Bruxelles, Belgium.
- [40] **Abderrazak., M. (2007)** Joël Reynaud, *la Botanique de A à Z* 1662 Définition p 114-298.
- [41] **Buchbauer., G. (2010).** Biological activities of essential oils. In: Baser ., k . H.C., Buchbauer., G. (Ed.), *Handbook of Essential Oils : Science, Technology, and application* .CRC presse /Taylor & Francis Group, Boca Raton, pp.235-280.
- [42] **Bruneton., J. (1999).** *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 3^e édition, p240 ; 24, p748.
- [43] **JEAN-JACQUES., MACHEIX ANNIE., FLEURIET CHRISTIAN., JAY-ALLEMAND.(2005).** Les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes
- [44] **LEONARD Effendi., YAN Yajun ., et KOFFAS., Mattheos., AG.(2006).** Functional expression of a P450 flavonoid hydroxylase for the biosynthesis of plant-specific hydroxylated

flavonols in Escherichia coli. Metabolic engineering, vol. 8, no 2, p. 172-181.

[45] **Djilani A., legseir B., soulimani ., R ., dicko A., younos C. (2006).** New extraction technique for alkaloids. J braz chem soc 17:518-520.

[46] **Poulton., J.E. (1990).** Cyanogenesis in plants. Plant physiology ; 94:401-405 .

[47] **François., Couplan ., Eva., Styner. (1994).** Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques, Delachaux et Niestlé, p. 32-33.

[48] **volak., J. et stdola., J. (1983).** «Plantes médicinales ».GRUND, paris.

[49] **Cohen H.J., Chovaniec M.E. (1978).** « superoxide generation by digitonin stimulated guineapig granulocytes Abasis for continuous assay for monitoring superoxide Production and for the study of generating system » Journal .Clin . Invest, 61, 1081-1087.

[50] **Signal., P.K ., petk au A. , Gerrad J.M. , Mol CELL., Biochem. (1988).** « Free Radical in health and disease » .121-122.

[51] **François Nsemi ., M. (2010) .** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydant et étude de leurs propriétés biologiques, thèses de doctorat, université de Verlaine-Metz, spécialité : chimie organique p 78. 47

[52] **Ben Abdelkader., Tarek. (2012).** Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, lavandula stoechas sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique, thèses de doctorat, de l'école normale supérieure de kouba-alger, Algérie et de l'université jean- Monnet de Saint-Etienne, France, discipline : biologie et écophysiologie végétale.

[53] **Spigno., G. Tramelli L., De Faveri D., M. (2007).** “Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics”. Journal of Food Engineering, 81: 200-208.

[54] **Budic-Letoc., I. Lovric., T. Pezo., I. Klujuzuric., JG.(2005).** “Study of dynamics of Polyphénols extraction during traditional and advanced maceration processes of the Babic grape variety”. Food Technology and Biotechnology, 43(1) : 47-53.

[55] **Benzeggouta., N. (2014).** Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées (Doctoral dissertation, Thèse De Doctorat en

pharmaco-chimie, Université de Constantine. p 6, 7.

[56] **Melle Ait chaouche. Ferial Sabrina. (2018)**, composition chimique et activité antioxydant, antimicrobienne et insecticide des huiles essentielles et des extraits de deux lamiaceae, thèse doctorat en sciences agronomiques, école nationale supérieure agronomique (ENSA) el -Harrach – Alger p 8, 9.

[57] **MÉLISSOPOULOS., Alexandre.et LEVACHER., Christine. (1998)**. La peau Structure et physiologie. Editions Médicales Internationales, Allée de la Croix Bossée, F-94234 Cachan cedex, Tec et doc, Paris, vol. 11.

[58] **OLBRDAD., Touria. (2013)**. Le derme artificiel dans la reconstruction cutanée. *Sciences pharmaceutiques*, Matriderm® et Integra®.

[59] **EL AYARI., Abderrahmane. (2014)**. Systèmes de délivrance des médicaments au niveau cutané.

[60] **Alain le Hir., jean- Claude chaumeil., Denis., Brossard. (2009)**. Pharmacie galénique : Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, Editions masson.9^e édition.p338-369.

[61] **GUITOU., Marie-Anne(2014)**. Nanoparticules et santé : des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO₂.these de doctorat en pharmacie, Université deBordeaux.

[62] **Bachelez., H. Basset., S. Crickx., B. (2005)**. Comprendre la peau. Les grandes fonctions de la peau. *Ann Dermatol Venereol*. 132(8S49-68).

[63] **ABADIE., Sophie. (2018)**. Caractérisation d'un explant de peau humaine par microscopie 3D et application à la dermo-cosmétique. Thèse de doctorat. Université Paul Sabatier-Toulouse III.

[64] **Piérard., GE. Petit., L. Uhoda. , IPiérard-Franchimont., C. Henry de Hassonville ., S. (2003)**. Absorption cutanée. *Encycl Méd Chir,Cosmétologie et Dermatologie Esthétique*. 50-130-A-10:1-6.

[65] **Caruba., Thibaut. Jaccoulet., Emmanuel. (2015)**.Pharmacologie et thérapeutiques, édition Masson, 2e éditionp22.

- [66] **Dr., HAMICIA. (2019 /2020).**les préparations semi- solides pour application cutanée.
- [67] **Souad., NAIMI. (2021).**PHARMACINE D'officine, l'abrégé de l'Arte préparatoire Edition.p33-36.
- [68] **DEMBÉLÉ., Daouda Lassine. (2011).**Formulation de pommade antalgique et anti-inflammatoire à base de securidaca longepedunculata Fresen Polygalaceae.
- [69] **Bolzinger, M. A., Briançon, S., CHEVALIER, Y., & François, P. U. E. L. (2015).** Formulation des systèmes pâteux ou préparations semi-solides.
- [70] **ZERROUK ., N. ARNAUD., P. (2007).** Formes pharmaceutiques topiques. In : Annales de dermatologie et de vénéréologie. Elsevier Masson., p. 24-26.
- [71]**Konipo., A. (2001).** Etude du marché des Médicaments Traditionnels Améliorés (M.T.A) et mise au point de pommades dermiques à base de Mitracarpus scaber- Zucc (Rubiaceae) ; Thèse de Doctorat en Pharmacie – Bamako, 77 pages].
- [72] **EL YASSINI., Sara. (2016).**Quelle place pour les préparations pharmaceutiques aujourd'hui et à l'avenir.
- [73] **Chaib., Y. (2020).** Mise au point par génie tissulaire d'un modèle de peau contenant des cellules immunitaires d'origine dermique : application à la cicatrisation cutanée.
- [74] **Terral., D. C.** Rôle possible de l'acupuncture dans les processus de cicatrisation des plaies chroniques : théorie, recherche, application clinique.
- [75] **Thomas., M. (2018).** Rôle de l'ostéopathie dans l'amélioration de la qualité de cicatrisation post chirurgicale (Doctoral dissertation).
- [76] **BAMMOU., Mohamed. DAOUDI., Amine. SLIMANI., Ikram. Et al. (2015).** Valorisation du lentisque «Pistacia lentiscus L.» : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. Journal of applied biosciences, 2015, vol. 86, p. 7966–7975-7966–7975.
- [77]**Bruneton., J. (1999).**Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicina les Technique& documentation-Lavoisier 1120 p.

- [78] TRAORÉ., Korotoumou. HAIDARA., Mahamane. DENOUE., Adama et al. (2019). Criblage phytochimique et activite biologiques de quatre plantes utilisees au mali dans la prise en charge du paludisme chez les enfants. *European scientific journal*, 2019, vol. 15, no 6, p. 212-226.
- [79] Singleton., VL. Rossi., JA. (1965). Colorimetry of total phenolics phosphomolibdie with *phosphotungstic acids reagents*. *American Journal of Enologie and Viticulture*, 16(3): 144-158.
- [80] Boizot., N. Charpentier., J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composésphénoliques des organes d'un arbre forestier : Méthodes et outils pour d'observation etl'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, *Le Cahier des Techniques deL'INRA*, 79-82.
- [81] DJERIDANE., A. YOUSFI., M. NADJEMI., B. et al. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. *Food chemistry*, vol. 97, no 4, p. 654-660.
- [82] Burits., M. Bucar., F. (2000).Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. *Phytotherapy Research* 14, 323-328.
- [83] CUENDET., Muriel. HOSTETTMANN., Kurt. POTTERAT. Olivier et al. (1997). Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei*. *Helvetica Chimica Acta*, vol. 80, no 4, p. 1144-1152.
- [84] Belaiche ., P. (1979). *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Ed Moloine, Paris. pp 123.