

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université a. Mira de Bejaia



Faculté de Technologie
Département de Génie des procédés
Laboratoire de Génie pharmaceutiques

Mémoire EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master

Domaine : Science et Technologie Filière : Génie des Procédés
Spécialité : Génie Pharmaceutique

Présenté par

MAKHLOUFI Zohra et MAMERI Chahinez

Thème

«Extraction et évaluation des propriétés anti-oxydantes et antibactériennes de la plante *Thymus vulgaris*. Application à la formulation d'une pommade. »

Devant le jury composé de :

Soutenue le : 03/07/2022

Président : M^r K. Belhamel

Examineur : M^{me} N. Belhadj

Encadrante : M^{me} H. Belkacemi

Co-encadrante : M^{elle} F. Benchallal

Année Universitaire : 2021/2022



Remerciement

Nous adressons en premier lieu notre reconnaissance à dieu le tout puissant, de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce modeste travail.

Ensuite, on tient à remercier :

- * Mme **Belkacemi.H** pour son encadrement, ses conseils et ses encouragements. Malgré ces surcharges, elle a toujours su trouver du temps pour nous guider. On tient aussi à la remercier pour le temps qu'elle nous a consacré à la correction de notre mémoire.
- * La Co-encadrante Mme **Benchallal.F** pour son aide, sa patience, elle était toujours disponible pour nous aider et répondre à nos questions tout en suivant de manière régulière de l'avancement de notre mémoire.
- * Mr **Belhamel.K** d'avoir accepté de présider le jury
- * Mme **Belhadj. N** d'avoir accepté d'examiner notre mémoire
- * A tous les enseignants qui ont contribué à notre formation
- * Le personnel du laboratoire de génie pharmaceutique

Nos remerciements les plus vifs s'adressent aussi à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Enfin, un grand merci à « Hakima » qui nous a ramené la plante dans son village.



Dédicace

♥ Je souhaiterais exprimer ma plus sincère gratitude à mes parents. Je suis là aujourd'hui grâce à eux, je leur doit cette réussite. Ils m'ont toujours soutenus tout au long de mon parcours, même dans les périodes difficiles, mon bonheur était et restera toujours leurs priorités.

Ensuite je dédie ce modeste travail A mes frères et sœurs les plus chères à mes yeux qui m'ont appris de ne jamais baisser les bras malgré tout,
A mes beaux-frères Hakim et Sofiane.

À mon grand-père, grand-mère, mes oncles et tantes, et tous mes cousins et cousines.

Je remercie plus particulièrement ma binôme et copine Chahinez « chany » un bon moment de partage de joie, de peine et de galère ça auraient était plus dur sans toi.

Enfin, à mes amis et mes collègues pour tous les bons moments et le soutien que vous m'avez apporté, j'espère créer avec vous encore de nombreux beaux souvenirs.

MAKHOLOUFI Zohra



Dédicace

♥ Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je te remercie Papa Slimane et Maman Hadjira, pour tout le soutien et l'amour, la tendresse que vous me porter depuis mon enfance, je vous dois cette réussite.

Ensuite je dédie ce modeste travail a ma sœur kenza et mon frère Mohamed, les plus chères à mes yeux qui m'ont appris de ne jamais baisser les bras malgré tout.

À mon grand-père, grand-mère, mes oncles et tantes, et tous mes cousins et cousines,
A toute ma famille BALOUL et MAMERI.

A ma belle-famille ABDELMERAIM,

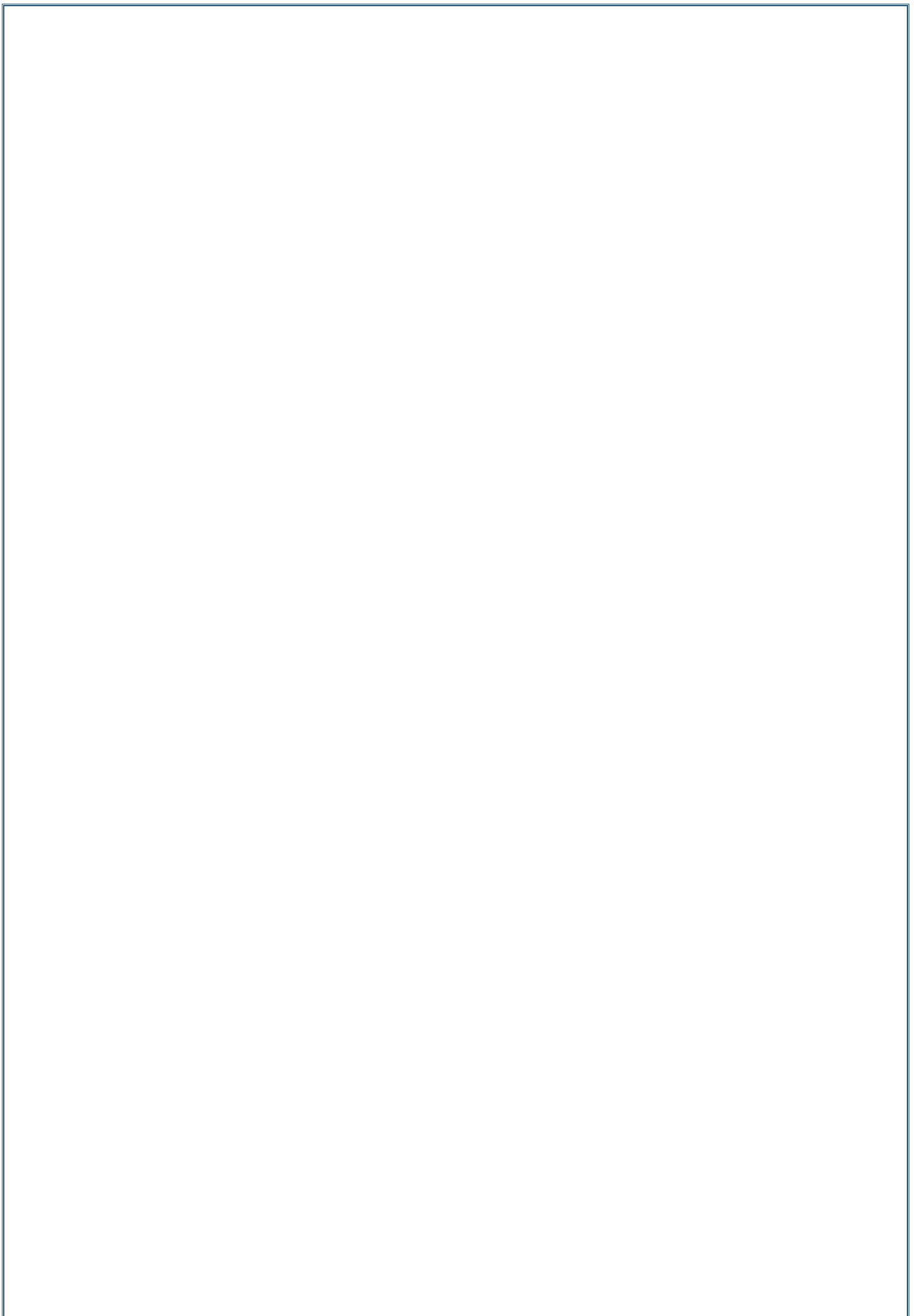
A mon cher fiancé ALI, merci infiniment pour les encouragements permanents, les conseils, le soutien moral que tu m'as apporté depuis que l'on s'est rencontrés
« GLG ».

Je dédie ce travail plus particulièrement à ma binôme et copine Zohra « zouza », un bon moment de partage de joie, de peine ça auraient était plus dur sans toi.

Enfin à mes amis et mes collègues pour le soutien qu'ils m'ont apporté, j'espère crée avec vous encore de nombreux beaux souvenirs.

MERCI à tous ceux qui ont été toujours là pour moi.

Chahinez MAMERI



Liste des abréviations

Abréviation	Mot complet
Abs	Absorbance
AG	Acide gallique
AlCl₃	Trichlorure d'aluminium
B. Sub	Bacillus Subtiles
DPPH	1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl
E. Coli	Escherichia Coli
G-N	Gélose Nutritive
HE	Huile essentielle
MeOH	Méthane
M-H	Muller Hinton
Na₂CO₃	Carbonate de sodium
PA	Principe actif
Qr	Quercétine
SM	Solution mère

Liste des figures

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
I.1.1	Schéma global qui résume le métabolisme végétal	P.4
I.2.2	Carte de répartition géographique mondiale de la famille des Lamiaceae	P.8
I.2.3	Illustration de la morphologie de <i>Thymus vulgaris</i> L	P.10
I.2.4	Aspect morphologique et classification de la plante <i>T.vulgaris</i>	P.11
I.3.5	Les d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes.	P.15
I.4.6	Mise en forme d'un médicament	P.18
I.4.7	Forme galénique	P.19
I.4.8	Illustration de la pommade	P.21
II.1	Thymus frais	P.23
II.2	Thymus sec	P.23
II.3	Schéma explicatif de l'extraction par Clevenger	P.24
II.4	Montage expérimental de l'extraction par le Clevenger	P.25
II.5	Equilibre acido-basique et formation de l'intermédiaire basique de l'acide Gallique	P.26
II.6	Principe de la réaction du réactif de Folin-Ciocalteu	P.26
II.7	Schéma des étapes de la préparation d'échantillon de l'extrait du thymus	P.28
II.8	Structure chimique du thymol	P.28
II.9	Formule chimique de la quercétine	P.30
II.10	Schéma de réaction des flavonoïdes avec chlorure d'aluminium.	P.30
II.11	Schéma des étapes de préparation de l'échantillon	P.31

II.12	Schéma des étapes de préparation des solutions incubées	P.32
II.13	Représente la formule globale du DPPH	P.32
II.14	Schéma des étapes de dilutions de l'extrait HE et de mesure de l'activité anti-oxydante par le DPPH.	P.34
II.15	Présentation de la bactérie <i>Escherichia coli</i>	P.35
II.16	Présentation de la bactérie <i>Bacillus subtilus</i>	P.36
II.17	Protocole de préparations des dilutions	P.37
III.1	L'huile essentielle obtenue par extraction de la plante <i>thymus vulgaris</i>	P.43
III.2	HE de thymus frais	P.45
III.3	HE de thymus sec	P.45
III.4	Histogramme représentant la variation du rendement en fonction de l'état du végétal	P.46
III.5	Courbe d'étalonnage de l'AG pour le dosage des polyphénols	P.48
III.6	Courbe d'étalonnage du thymol	P.49
III.7	Courbe d'étalonnage des flavonoïdes	P.50
III.8	Courbe d'étalonnage pour l'activité anti-oxydante au radical libre DPPH de l'extrait du thymus.	P.51
III.9	Test antibactérien (E. Coli et B. sub) avec l'HE avant l'incubation	P.52
III.10	Zones d'inhibitions des deux souches (après l'incubation)	P.53
III.11	La zone d'inhibition de l'huile essentielle concentrée	P.54
III.12	Les pommades formulées selon la pharmacopée	P.55
III.13	Résultats du test d'inhibition de la croissance bactérienne par les formulations pommade à base d'extrait de thymus sur les souches d' <i>Escherichia Coli</i> et <i>Bacilus Subtilus</i>	P.57

Liste de tableaux

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
I.1.1	Exemple de quelques plantes médicinales	P.6
I.2.2	Noms vernaculaires de thymus vulgaris	P.10
I.2.3	Composition chimioque de thymus	P.12
I.4.4	Les formes galéniques les plus courantes.	P.19
II.1	Références de l'échantillon utilisé	P.22
II.2	Les dilutions de la solution mère d'AG	P.27
II.3	La dilution de la solution du thymol	P.29
II.4	Préparation des étalons de Quercétine	P.31
II.5	Les dilutions de l'huile essentielle	P.33
II.6	Souches bactériennes	P.36
II.7	Les phases utilisées pour la fabrication de la pommade	P.39
III.1	Caractéristique organoptique de l'HE de thymus	P.44
III.2	Rendement en HE de thym sec et humide	P.46
III.3	Résumer des résultats obtenus du rendement et les dosages	P.51
III.4	Les différentes dilutions et les zones d'inhibitions	P.52
III.5	Résultats des valeurs de pH mesuré	P.56
III.6	Diamètre d'inhibition des 3 préparations	P.57
III.7	Les contrôles et les caractéristiques des 3 formulations de la pommade	P.58

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

Chapitre I :

Etude bibliographique de la plante *thymus vulgaris L officinalis*

Partie 01 : généralités sur les plantes médicinales

I.1.1. Les plantes médicinales	3
I.1.2. Le métabolisme	3
I.1.3. Classification des métabolites	4
I.1.3.1. Métabolites primaires... ..	4
I.1.3.2. Métabolites secondaires.....	4
I.1.4. Exemples de quelques plantes médicinales	5
I.1.5. Effets thérapeutiques des plantes médicinales.....	7

Partie 02 : le thymus vulgaris Lamiaceae

I.2.1. Présentation de la famille des Lamiaceae	7
I.2.2. Présentation du thymus	8
I.2.3. Origine et Distribution géographique... ..	9
I.2.4. Description botanique de la plante.....	10
I.2.5. Noms vernaculaires... ..	10

I.2.6. Classification	11
I.2.7. Quelques espèces de genre <i>Thymus</i>	11
I.2.8. La Composition chimique du thymus vulgaris	11
I.2.9. Principes actifs du thym.....	12
I.2.10. Propriétés thérapeutiques du thymus vulgaris	12
I.2.11. Activité antibactérienne du thym	13
I.2.12. Quelques maladies traitées par le thym	13
a) Psoriasis	13
b) Sinusite aigue de l'adulte.....	13
c) Infection urinaire	13
d) d/ Les diarrhées.....	14
I.2.13. Recommandation thérapeutiques.....	14

Partie 03 : Les huiles essentiels et méthodes d'extraction

I.3.1. Définition.....	15
I.3.2. Méthodes d'obtention des huiles essentielles	15
I.3.3. Utilisation des huiles essentielles	15
a) En pharmacie	16
b) En cosmétologie.	16
c) En agriculture	16
I.3.4. Conservation des huiles essentielles.....	16
I.3.5. Les radicaux libres.....	17
I.3.5.1. Définition.....	17
I.3.5.2. Origine.	17
I.3.5.3. Définition du stress oxydatif.....	17

Partie 04 : Forme galénique

I.4.1. Définition	
-------------------	--

d'un

médicament	18
I.4.2. Mise en forme d'un médicament	18
I.4.3. Formes galéniques des médicaments.....	19
I.4.4. Préparation cutanée « les pommades ».....	20
a) Définition de la pommade	20
I.4.5. La Couche dermique (peau).....	21

Chapitre II :

Matériels et méthodes

II.1. Equipements et appareillage utilisés... ..	22
II.2. Verrerie et petits matériels de laboratoire	22
II.3. Réactifs chimiques	22
II.4. Matière végétale	23
II.4.1. Cueillette	23
II.4.2. Prétraitement de la plante.....	23
II.4.2.1. Nettoyage et lavage	23
II.5. Obtention de l'extrait	24
II.5.1. Extraction d'huile essentielle	24
II.6. Analyse et quantification par spectroscopie UV-visible	26
II.6.1. Dosages des polyphénols totaux	26
II.6.2. Dosage du Thymol	29
II.6.3. Dosage des flavonoïdes	30
II.6.4. Activité anti-oxydante	33
II.6.5. Etude de l'activité antibactérienne	35
II.6.5.1. Les bactéries utilisées.....	35
II.6.5.2. Préparation du milieu gélosé.....	37
II.6.5.3. Conservation des souches	38
II.6.5.4. Préparations des solutions diluées.....	38
II.6.5.5. Spectrophotométrie UV	38
II.6.5.6. Méthode de diffusion des disques sur le milieu solide.....	38

II.6.6. Préparation d'une pommade a l'officine.....	39
II.6.7. Formulation de la pommade antibactérienne	39
II.6.9. Contrôle de qualité de la pommade.....	41

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. Aspect de l'huile essentielle extraite par Clevenger	43
III.2. Le rendement de l'extraction.....	44
III.3. Quantification des composants de l'extrait.....	47
III.3.1. Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux.....	47
III.3.2. Teneurs en polyphénols totaux	47
III.3.3. Dosage du thymol	48
III.3.4. Dosage des flavonoïdes	49
III.3.5. L'activité antioxydant.....	50
III.4. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle à partir de la méthode de diffusion par disque.....	51
III.4.1. Cas de l'huile essentielle concentré	53
III.5. contrôle qualité de la formulation antibactérienne	54
III.5.1. Caractérisation de la pommade.....	54
III.6. Action antibactérienne de la pommade.....	56

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Introduction général

Depuis l'antiquité, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal, voire l'unique recours de la médecine de nos grands-parents. Cependant, malgré le développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies qui étaient souvent mortelles, les plantes médicinales et les remèdes qu'on pouvait en tirer ne furent jamais totalement abandonnés et les gens ne cessèrent jamais de faire appel à la médecine traditionnelle, ce qui a conduit à maintenir une tradition thérapeutique connue depuis nos ancêtres. [1]

Les plantes médicinales sont utilisées comme soin à diverses maladies humaines, sont des plantes ayant des vertus thérapeutiques, favorisent l'hygiène de vie, elles nous offrent un médicament naturel qui permet des traitements plus globaux et moins agressifs. [2]
Les huiles essentielles font partie de ces produits naturels extraits de plantes médicinales et aromatiques, qui sont connues pour leurs propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. [3]

En effet, beaucoup d'entre elles ont des propriétés antitoxiques, antivirales, antioxydantes et antiparasitaires. Plus récemment on leur attribue des propriétés anti cancéreuses. [4]

L'huile essentielle de *Thymus Vulgaris* riche en Thymol et carvacrol est douée de propriétés antibactériennes et antifongiques facilement mets-en évidence in vitro. [5]

Le thym « *Zaatar* » est une plante médicinale aromatique très utilisée en médecine traditionnelle et comme condiments alimentaires. Elle contient plusieurs composés bioactifs dont le thymol, le carvacrol, les flavonoïdes utilisés dans les préparations alimentaires, pharmaceutiques et en parfumerie. [6]

Thymus vulgaris, à titre d'exemple, regroupe un grand nombre d'espèces. Il couvre une large gamme d'activités biologiques: antiseptiques, antibactériennes, antifongiques, antispasmodiques et anti oxydantes. [7-8]

L'objectif de ce travail est d'étudier la composition chimique et les propriétés antibactériennes des huiles essentielles de *thymus vulgaris* afin de formuler une pommade de propriété principale antibactérienne et de procéder au contrôle de qualité des pommades obtenues ;

Dans la première partie, une revue bibliographique sera présentée sur la description utilisée dans ce travail, les huiles essentielles et les généralités sur la pommade seront également présentées dans cette partie.

La deuxième partie du manuscrit présentera le matériel et les méthodes utilisés, notamment l'extraction des huiles essentielles et l'analyse de leur composition chimique ; les différents dosages (polyphénols, flavonoïdes, thymol, et antioxydants) et l'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de la pommade terminera cette deuxième partie.

Les résultats obtenus, suivis de la discussion, la liste des figures de la manipulation puis la conclusion et les perspectives feront l'objet du deuxième et la troisième partie, respectivement. Les références bibliographiques constitueront la dernière partie du manuscrit.



Chapitre I.

Recherche bibliographique

Une revue bibliographique sera présentée, sur la description des plantes médicinales, puis sur la plante étudiée dans ce travail, les huiles essentielles et les notions générales sur les formes galéniques des médicaments.

Chapitre I

Etude bibliographique sur la plante *thymus vulgaris L officinalis*

Partie 01 : Généralités sur les plantes médicinales

I.1.1. Les plantes médicinales

Les plantes sont utilisées dans toutes les cultures, en raison de leurs effets médicinales. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé « O.M.S » n'estime que la médecine traditionnelle ne couvre pas les besoins de soins en terme de santé primaires avec un pourcentage de 80% de la population mondiale.[9]

La préparation et l'utilisation d'extraits de plantes médicinales sont transmises d'une génération à une autre. Ce sont des pratiques empiriques, basées sur des connaissances ancestrales, ignorant ainsi la manière dont ces extraits agissent sur le corps humain. Avec la révolution scientifique et tous les progrès des domaines (médecine, pharmacie, biologie, botanique, pharmacologie, toxicologie, pharmacologie ...) les cibles et les mécanismes moléculaires des extrais végétaux sont mieux clarifiés.[10]

La flore algérienne se caractérise par sa diversité florale : flore méditerranéenne, saharienne et paléo tropicale, avec plus de 3000 espèces estimées appartenant à plusieurs familles végétales. Ces espèces sont pour la plupart spontanées, avec un nombre important (15%) d'espèces endémiques. Cela confère à la pharmacopée traditionnelle une richesse incommensurable. Les objectifs fixés étaient un inventaire des plantes médicinales en Algérie et une évaluation chimique et pharmaceutique dont leurs buts est de renforcer ainsi que rationaliser leurs usages traditionnels et d'isoler des composés d'intérêts thérapeutiques.[11]

I.1.2. Le métabolisme

L'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent dans un organisme est appelé « métabolisme » le métabolisme de la plante verte produit avant tous des glucides et de protides. Une fraction de glucide est ensuite transformée en composés divers, dont les lipides sont les plus importants pour la plante. Mais le métabolisme fournit aussi plusieurs corps secondaires que l'homme utilise dans son arsenal thérapeutique, il s'agit des hétérosides, des alcaloïdes, des stéroïdes, et des composés phénoliques. Les végétaux nous fournissent aussi des vitamines, des oligo-éléments et des antibiotiques.[12]

I.1.3. Classification des métabolites

Les réactions chimiques qui ont lieu dans le protoplasme des cellules végétales donnent naissance à deux types de produits : les métabolites primaires et les métabolites secondaires.

I.1.3.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires comprennent de petites molécules telles que les sucres, les acides aminés, les acides tricarboxyliques ou les intermédiaires du cycle de Krebs, les protéines, les acides nucléiques et les polysaccharides. Les métabolites primaires sont similaires dans toutes les cellules vivantes.[13]

I.1.3.2. Métabolites secondaires

On appelle métabolites secondaires des composés biosynthétisés naturellement par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal.

Un métabolite secondaire est une molécule qui, par exclusion, n'appartient pas au métabolisme primaire. Les métabolites secondaires sont historiquement plus spécifiques aux plantes, bactéries et champignons, mais on découvre également des métabolismes spécifiques à certains groupes d'animaux. [14]

- Un schéma explicatif est représenté ci-dessous :

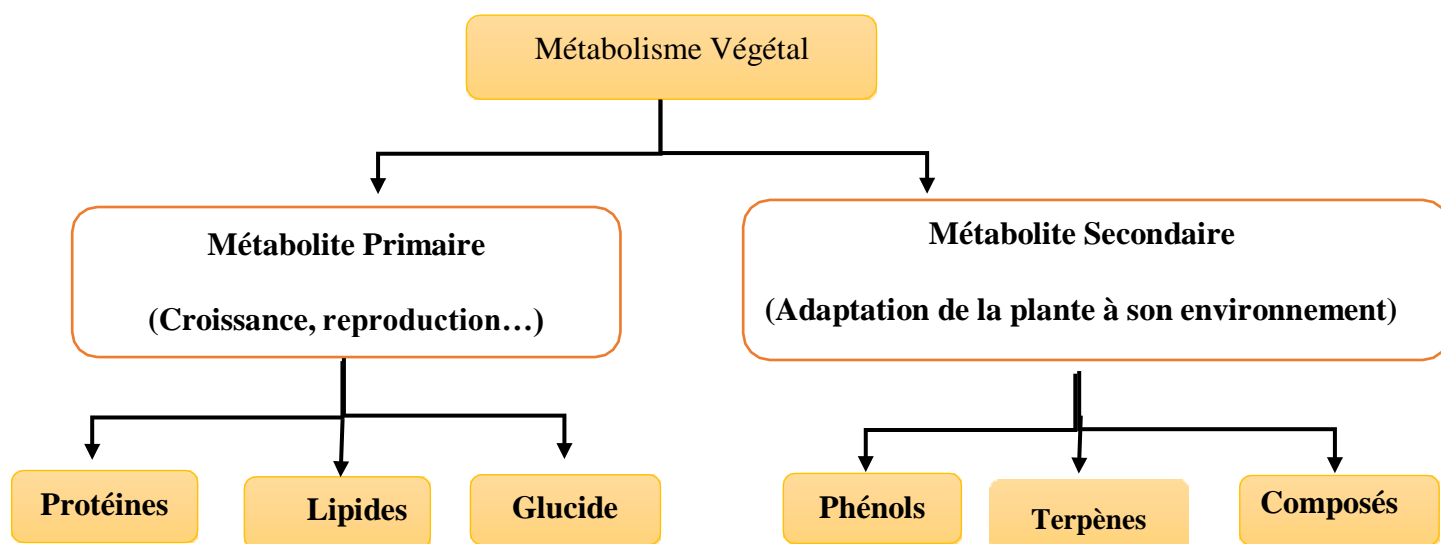


Figure I.1.1.Schéma global qui résume le métabolisme végétal

I.1.4. Exemples de quelques plantes médicinales






Les plantes médicinales et aromatiques jouent un rôle important surtout dans le cadre de la valorisation du patrimoine naturel, et ceci en raison de leurs efficacités dans la recherche pharmacologique et dans le développement des médicaments.

Il existe un nombre important de plantes médicinales avec des morphologies et propriétés propre à chaque plante, on cite quelque exemple :

L'oranger ;olivier ; fenouil ; l'ail ;Aloe vera ; cassis ; Clou de girofle ; fenugrec ; théier ;
Menthe poivrée ; Sauge officinale ; Galéga ; les algues ; Curcuma ; Gingembre...

Dans le **tableau I.1.1** ci-dessous on trouve cinq plantes médicinales avec leurs différentes caractéristiques (Habitat, propriétés, morphologies) :

Tableau I.1.1. Présentation de différentes plantes médicinales

Plante	Habitat	Propriétés	Morphologies
Camomille <i>Tanacetumparthenium</i>	Région méditerranéenne, très répandue en Europe	Agent calmant de douleur de colique, d'indigestion, de dents...[15]	
Romarin <i>Rosmarinus</i>	Les régions du bassin méditerranéen ; les contrées de l'Europe.	Anti spasmodiques, soulagement des douleurs respiratoires, inhibition de la genèse des tumeurs.[16]	
Tidikth <i>Pistacia</i>	Nord Algérien Sud d'Europe	Remède efficace contre : l'asthme, la diarrhée, l'ulcère gastrique.[17]	
La lavande <i>Lavandula angustifolia</i>	Elle est cultivée à travers le monde, partout où elle peut trouver du soleil à profusion.	contre les spasmes, les insomnies, les maladies infectieuses, les affections des voies respiratoires (asthme, bronchite, tuberculos...)[15]	
Citronnier <i>Citrus limon</i>	Arbre préférant une exposition ensoleillée n'apprécie pas les sols calcaires, il résiste peu au froid	Contre la tuberculose pulmonaire et osseuse, les états fébriles, les ulcères d'estomac, l'insuffisance hépatique, les vomissements et il sert aussi à prévenir les épidémies.[15]	

I.1.5. Effets thérapeutiques des plantes médicinales

Les plantes médicinales favorisent un mode de vie sain, elles nous fournissent des médicaments naturels. En éliminant la plupart des effets secondaires, La phytothérapie assure un traitement plus holistique et moins agressif.[19]

- ✓ **Plante à propriété antidépressive** : certaines plantes possèdent des principes actifs bénéfiques pour le traitement des troubles de l'humeur transitoires et des dépressions légères par un effet qui stimule le système nerveux.
- ✓ **Plantes stimulantes et apéritives** : certaines plantes sont riches en vitamine C, considérées comme stimulantes, comme y'a d'autres qui contiennent des composants amers qui stimulent l'appétit et favorisent ainsi la prise de poids.
- ✓ **Les plantes à propriété hormonale** : certaines espèces sont utiles pour soulager les règles douloureuses.
- ✓ **Les plantes qui soulagent la constipation** :utilisées dans le traitement de la constipation sont repartis en deux groupes : les plantes laxatives, les plantes laxatives stimulantes.
- ✓ **Les plantes utilisées dans le cas d'une inflammation** : Certaines plantes possèdent des principes actifs qui leur confèrent des propriétés anti-inflammatoires, qui s'accompagnent souvent d'effets analgésiques. Ce sont des plantes utiles pour le traitement des inflammations aiguës comme l'entérite, et des douleurs inflammatoires chroniques comme l'arthrose.

Partie 02 : le *thymus vulgaris Lamiaceae*

I.2.1 Présentation de la famille des Lamiaceae

La famille des Lamiacées, anciennement appelée Labiées en raison de la corolle à deux lèvres de ses fleurons, c'est l'une des plus grandes familles dans le règne végétal. Elle comprend environ 240 genres et 7200 espèces.[20]

Elle est divisée en sept sous-familles : Ajugoideae, Lamioideae, Nepetoideae, Prostantheroidea, Scutellarioideae, Symphorematoideae et Viticoideae. [21]

C'est une famille d'une grande importance en raison de ses applications dans l'industrie alimentaire, la parfumerie et la thérapie. C'est l'une des sources mondiales de parfums et d'extraits les plus largement utilisées, son large spectre d'utilisation est dû à ces fortes

propriétés antibactériennes, antifongique, anti- inflammatoire et antioxydants. Elle est distribuée dans le monde entier, mais principalement dans le bassin méditerranéen à l'Asiecentrale.[22]

Dans la flore Algérienne, il existe 28 genres et 146 espèces dans la famille des Lamiacées, Certains genres sont difficiles à identifier du fait de leur forte variabilité.[23]

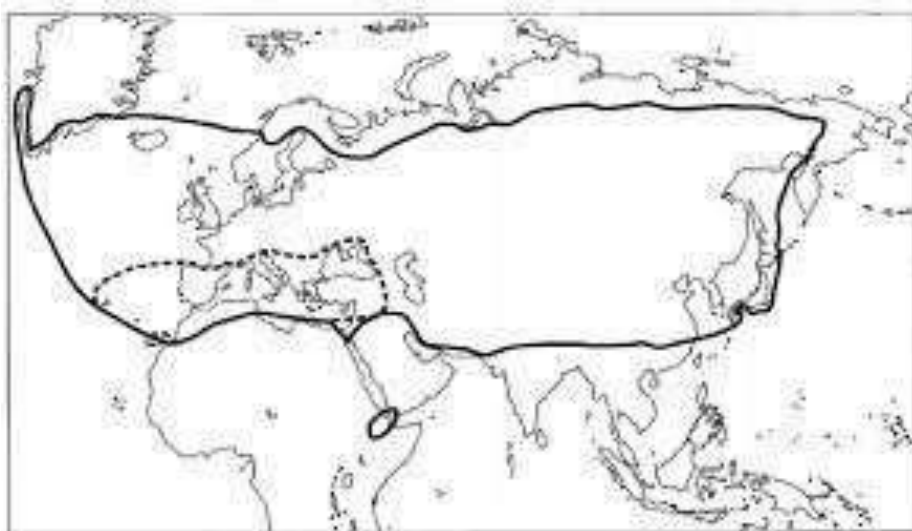


Figure I.2.2. Carte de répartition géographique mondiale de la famille des Lamiaceae. [24]

I.2.2 Présentation de Thymus vulgaris L

La plupart des espèces végétales cultivées dans le monde ont des vertus Thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Ils sont utilisés aussi en médecine classique et en phytothérapie. Parmi ces plantes, on prend *le thymus vulgaris L* comme exemple.[25]

Le thymus aussi appelé thym, est une plante condimentaire appartenant à la famille des Labiées.

Le genre *Thymus L.* comprend environ 215 espèces d'herbes vivaces et des sous-arbustes. Il pousse spontanément sur les coteaux arides de la méditerranée. Il est couramment utilisé dans le domaine thérapeutique en raison de ses propriétés Pharmacologiques, aromatiques, antispasmodique, antiseptique, antitussif et expectorant. C'est l'une des espèces les plus utilisées dans la médecine populaire pour Stimuler l'action de toutes les fonctions corporelles et est utilisée pour l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle.[26]

Le Thym pousse bien sur des endroits naturels sur sol légers et calcaires ; mais il prospère aussi sur des sols argileux riches et non inondés, il a besoin d'un endroit ensoleillés

et il supporte relativement bien la sécheresse. C'est aussi sur des sols pauvres (maquis, buissons rocheux) que son arôme se développe le mieux. Dans les régions soumises à de fortes gelées, une protection hivernale est recommandée. Elle se multiplie par semis en surface (germination à la lumière), réalisé à mi-avril, ou plus rarement, en août, avec un écartement des rangs d'environ 20 à 30 cm, de préférence sur des sols sableux légers. Un pré-labour sous châssis est également possible à partir de la mi-mars, suivie d'une plantation définitive.[27]

I.2.3. Origine et Distribution géographique

Le nom *Thymus* vient probablement du latin "thymus" qui signifie « parfumé » ou du grec "thymos" qui signifie "courage" ou "force"[28]

Thymus vulgaris L officinalis est indigène de l'Europe du sud, on le rencontre depuis la moitié orientale de la péninsule ibérique jusqu'au sud-est de l'Italie, en passant par la façade méditerranéenne française.[29]

- **Dans le monde**

Le thym est réparti entre l'Europe, l'Asie occidentale et la méditerranée [30].

Il est largement distribué dans le nord-ouest de l'Afrique (Maroc, Tunisie, Algérie et Libye), l'Ethiopie montagneuse et le sud-ouest de l'Arabie, à travers la péninsule égyptienne du Sinaï. Il est également présent dans région Macaronésienne (Canaries, Madère et Açores) et dans l'Himalaya. Il peut même atteindre les confins des tropiques et du Japon, au nord il pousse en Sibérie, et en nord de l'Europe jusqu'aux confins du Groenland.[31]

La région méditerranéenne occidentale est considérée comme le centre d'origine du genre thym, les espèces de *T. vulgaris* provenant notamment du sud de l'Europe, de l'Espagne à l'Italie.[32]

Le thym est maintenant largement cultivé au Portugal, en France, en Allemagne, en Espagne, en Italie, en Algérie, au Maroc, en Tunisie, en Egypte, en Turquie, en Chine, en Russie, au Royaume-Uni et les Etats-Unis d'Amérique.[33]

- **En Algérie**

Il existe plus de 300 espèces de thym dans le monde, dont 12 se trouvent en Algérie et 9 sont endémiques.

Ces espèces sont réparties tout au long du territoire national, du Nord d'Alger à l'Atlas saharien, et de Constantine à Oran.[34]

I.2.4. Description botanique de la plante

Le thym est un arbuste aromatique dont la hauteur des tiges ne dépasse pas les 40 cm, que l'on trouve presque partout sur la bordure occidentale du bassin méditerranéen, caractérisé par de nombreuses formes, une densité qui permet à la plante de pousser n'importe où. [15]

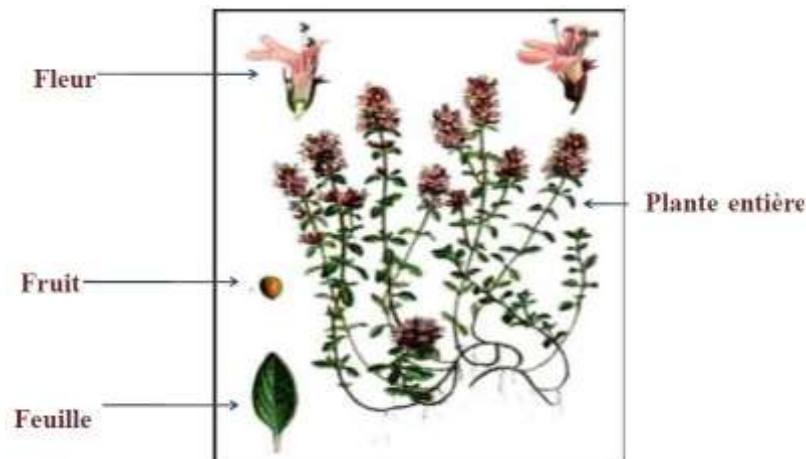


Figure I.2.3. Illustre la morphologie de *thymus vulgaris L* [15]

I.2.5 Noms vernaculaires

Le thym est une plante très populaire qui porte plusieurs noms, dont certains sont indiqués dans le tableau [35]

Tableau I.2.2. Noms vernaculaires de *thymus vulgaris*

Langue	Nom
Anglais	Thym, Garden thym
Français	Thym, tarigoule
Arabe et kabyle	Thizaatrin, Zaatar,(ز عتر)
Allemand	Thymain, echterthymain
Espagnole	Timone, temello, tomillo, tomell

I.2.6. Classification

Pour classer le thym en se basant sur ses caractéristiques morphologiques[34], on a adapté la classification présentée ci-dessous :

- Règne : *Plantae*
- Division : *Magnoliophyta*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Ordre : *Lamiales*
- Famille : *Lamiaceae*
- Genre : *Thymus*
- Espèce : *Thymus vulgaris L.*



Figure I.2.4.Aspect morphologique et classification de la plante *Thymus vulgaris*

I.2.7. Quelques espèces de genre *Thymus*



♣ *Thymus ciliatus*



♣ *Thymus capitatus*



♣ *Thymus algeriensis*



♣ *T. fontanesii*



♣ *T. munbyanus*



♣ *Thymus numidicus*

I.2.8. La Composition chimique du *thymus vulgaris* :

Le *Thymus vulgaris* a une composition chimique variée car il renferme des huiles essentielles et des polyphénols qui sont présentés dans le **tableau I.3** suivant :

Tableau I.2.3.Classification de divers composés de l'huile essentielle du thym [35]

Type de composant	Classe du composant	Teneur %
Huiles essentielles	Thymol	44,4 - 58,1[30]
	γ -terpene	14.1
	p-cymene	9,1 - 18,5[30]
	linalool	4.0
	myrcene	3.5
	α -pinene	2.8
	α -thujene	
Composés phénoliques	Thymonine	-
	Cirsilinéol	-
	8-méthoxy-cirsilinéol	-
	Tannins complexés	-
	Tannins condensés	-
	Acide caféique	-
	Acide rosmarinique	-
	Apiginin	19 à 99
Luteolin	11 à 42	

I.2.9. Principes actifs du thym

Le thym comporte plusieurs molécules intéressantes qui se retrouvent dans les différents organes de la plante [34].

Ces molécules sont :

- **Le thymol**
- **Les acides phénoliques** : Acide caféique acide rosmarinique.
- **Les flavonoïdes** : Hesperédine, eriotrécine, narirutine, lutéoline.
- **Les polyphénols** : Tanin.

I.2.10. Propriétés thérapeutiques du thymus vulgaris

Les feuilles du thym sont riches en huile essentielle et en polyphénols, dont les propriétés sont utilisées en phytothérapie, elles sont très antiseptiques et peuvent être utilisés pour traiter les infections pulmonaires. Ses propriétés antiseptiques agissent également sur le système digestif, notamment en cas de diarrhée.[35]

I.2.11. Activité antibactérienne du thym

L'effet antibactérien du thym est dû aux composants résidant dans l'huile essentielle à titre d'exemple : thymol et carvacrol, ainsi à sa teneur en polyphénols. Ces derniers jouent un rôle très important dans la protection du végétal. Parmi ces composés, les flavonoïdes qui ont une capacité d'agir sur les protéines virales et inhibent la réplication du rétrovirus du SIDA, ils ont également une action sur diverses bactéries en inhibant leurs enzymes métaboliques, en séquestrant les substances nécessaires à la croissance microbienne et en chélatant des métaux tels que le fer.[35]

I.2.12. Quelques maladies traitées par le thym

Le thym peut être utilisé pour les infections sanguines (anémie), le psoriasis, la sinusite aigue, l'infection urinaire et il est conseillé aussi en cas d'arthrose ou d'un rhumatisme.

a. Psoriasis

Le psoriasis est une dermatose érythème to-squameuse chronique fréquente dans des localisations caractéristiques (coudes, genoux, région sacrée du cuir chevelu, ongles, ...etc.)

Le psoriasis justifie toujours un traitement local mais dans les formes étendues, la phytothérapie est aujourd'hui le traitement de référence. Les traitements généraux utilisés exceptionnellement doivent faire l'objet d'initiations bien posées et d'une surveillance rigoureuse et précise.[35]

b. Sinusite aigue de l'adulte

La sinusite aigue purulente correspond à une infection d'une ou de plusieurs cavités sinusiennes par des bactéries, les sinusites aigue maxillaires sont les plus fréquentes. L'examen clinique est souvent limité à l'observation d'une rhinorrhée purulente.

Les principales bactéries impliquées dans les sinusites sont *Hamophilus influenzae* et *Streptococcus pneumoniae* avec une forte proportion de souches résistantes aux antibiotiques.[35]

c. Infection urinaire

Les définitions pratiques de l'infection urinaire sont basées sur le nombre de germes présents dans les urines, ce qui ne signifie pas sûrement une infection.

L'arbre urinaire est stérile, à l'exception de la flore des derniers centimètres de l'urètre distal qui est diverse et reflète à la fois la flore digestive (les entérobactéries, les streptocoques et les anaérobies), la flore cutanée (streptocoques à coagulase négative, corynébactéries) et la flore génitale (lactobacilles chez la femme).[35]

a. Les diarrhées

La diarrhée causée par des micro-organismes est principalement causée par deux mécanismes la production de toxines et la capacité des micro-organismes pathogènes à coloniser l'intestin. Certaines toxines sont soit ingérées telles qu'elles sont, soit produites dans la lumière ou le tissu épithélial du tube digestif. Le choléra est un exemple de diarrhée sécrétoire pure sévère. Klebsiella produit des entérotoxines qui provoquent des sécrétions dans le corps sans aucun dommage aux muqueuses. [35]

I.2.13. Recommandation thérapeutiques

Le thym peut être administré à forte doses et souvent ainsi qu'on obtient. En cas d'indications précises, il est préférable d'utiliser une spécialité pharmaceutique standardisée. Le thym peut être utilisé sous trois formes. [35]

- ✓ **Tisane** : faire infuser à couvert deux cuillères à café de la poudre de plante finement broyée dans une tasse d'eau bouillante pendant 5 min, puis filtrer et boire une tasse plusieurs fois par jours.
- ✓ **Teinture** : prendre 5 à 10 gouttes de la préparation médicamenteuse liquide obtenue par l'action de l'alcool sur la poudre finement broyée du thym, plusieurs fois par jours dans un peu d'eau ou sur un morceau de sucre, pour le traitement de la toux spasmodique aigue.
- ✓ **Extrait fluide** : prendre une demi cuillère à café de la poudre finement broyée du thym, plusieurs fois par jour, diluer dans un peu d'eau, pour le traitement des courbatures stomatiques et intestinales.

Les effets des plantes médicinales sont traditionnellement connus, mais il y a lieu d'ajouter que leurs vertus thérapeutiques peuvent varier avec la partie de la plante utilisée ou encore selon le type de plantes qui sont associées entre-elle .

Partie 03: Les huiles essentiels et méthodes d'extraction

I.3.1. Définition :

Une huile essentielle appelée aussi essence est un mélange de substances aromatiques volatiles peu complexe issue et produit par les plantes utilisées comme moyen de défense contre les ravageurs phytopathogènes.[36]

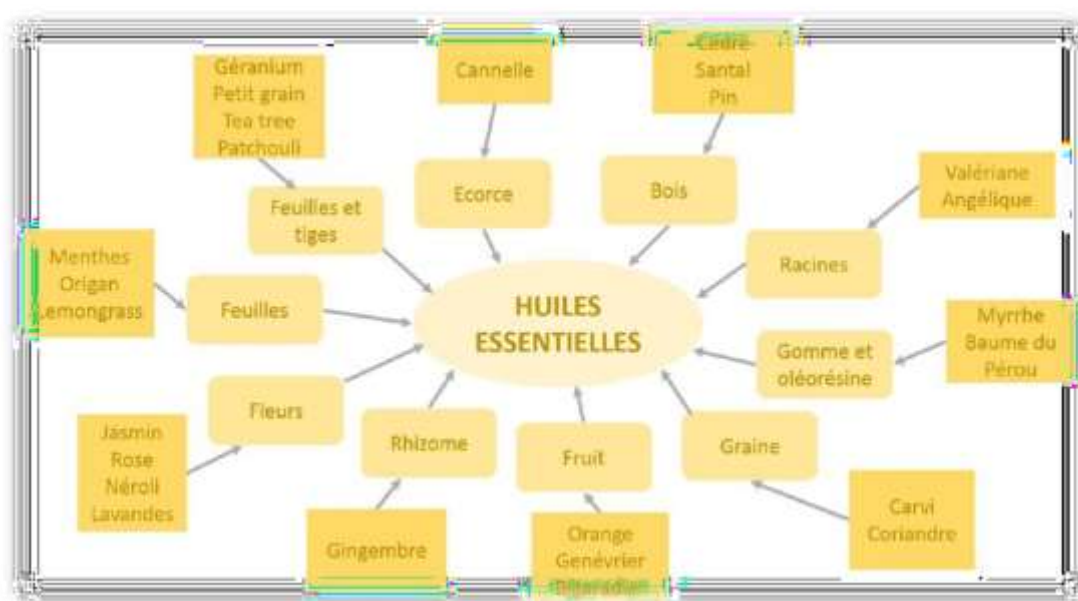


Figure I.3.5. Les d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes.

I.3.2. Méthodes d'obtention des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction comme l'hydro distillation, l'expression à froid, l'enfleurage, l'extraction par solvants organiques, l'extraction par ultra-sons ...etc. Dans ce cas on a eu recours à la méthode d'extraction par hydro distillation.

L'extraction des huiles essentielle par hydro distillation est réaliser par un appareil de Type Clevenger. Il comprend un ballon de capacité de deux litres contenant de l'eau Bouillonnante en contact direct avec la matière végétale. Ce ballon est connecté à un Réfrigérant qui sert à condenser la vapeur d'eau contenant l'huile essentielle extraite, le distillat est récupéré dans un ballon ou un erlen.[36]

I.3.3. Utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont aujourd'hui omniprésentes dans notre quotidien : dans des produits cosmétiques, dans des produits d'hygiène ou dans des parfums d'ambiance, dans des huiles aromatiques destinées aux massages bien-être, ou encore commercialisées sous forme de complexes visant à purifier notre air pollué. Elles trouvent également un intérêt grandissant auprès de l'industrie et de l'agroalimentaire.

On estime à environ 3000 le nombre d'huiles essentielles connues et autour de 300 celles ayant un intérêt commercial, principalement pour l'industrie du parfum et des arômes.[36]

a) En pharmacie :

Le contenu des plantes en essence et la nature chimique des constituants leurs confèrent de grandes perspectives d'application, ces substances sont d'un grand intérêt pour le domaine médicale et pharmaceutique.

En effet, les huiles essentielles ont un champ d'activité très large, elles inhibent la croissance des bactéries, et des levures [37] également des moisissures de plus elles sont très efficaces sur les microorganismes résistants aux antibiotiques.[38]

b) En cosmétologie :

Le secteur d'hygiène et l'industrie des cosmétiques sont également des consommateurs, la majorité des produits cosmétiques contiennent une quantité de l'huile essentielle comme élément parfumant et aussi élément assurant une odeur agréable.[39]

c) En industries agroalimentaires :

Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées dans la conservation des denrées alimentaires et cela grâce à leur activité antimicrobienne à large spectre sans pour autant dénaturer le goût car ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires. [40]

d) En agriculture :

Les pesticides naturels basés notamment sur les huiles essentielles représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons.

Les huiles essentielles sont utilisées comme agent de lutte biologique dans plusieurs cas y compris le cas de niébé infectée par *Callosobruchus maculatus*. [41]

I.3.4. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile et obligatoire dans le but de limiter les risques de dégradation, ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons opaques à l'abri de la chaleur et de la lumière.[42]

I.3.5. Les radicaux libres

I.3.5.1. Définition :

Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, ayant un électron non apparié.[43] C'est une espèce chimique qui peut être formée par la perte ou le gain d'électron à partir d'un composé non radical.[44]

Il est cliniquement hyperactif et capable d'extraire un électron des molécules voisines pour combler le vide de leur orbitale.[44]

Ainsi le radical est très instable, très réactive (une demi vie très courte).[45]

I.3.5.2. Origine :

Les radicaux libres peuvent être d'origine exogène : produits des radiations, polluants de l'air, solvants organiques, inflammatoires (issus des macrophages, des leucocytes polynucléaires), anesthésiques, pesticides, Cytokines, rayons UV, rayons X et gamma(imagerie médicale), tabac, alcool et drogues.[46]

I.3.5.3. Définition du stress oxydatif

Le métabolisme cellulaire continu produit de petites quantités d'espèces réactives de l'oxygène. Cette production est très élevée dans certaines conditions qui conduisent à un stress oxydatif, qui serait défini comme un déséquilibre entre la production et la destruction de ces molécules. En raison de leur capacité à détruire presque tous les types de molécules de l'organisme, les espèces réactives de l'oxygène ont été impliquées dans un large éventail de pathologies. La production d'espèces réactives de l'oxygène augmente avec le développement d'un stress oxydatif incontrôlé serait l'un des facteurs secondaires contribuant au mauvais pronostic de ces maladies.[46]

Partie 4 : forme galénique

I.4.1. Définition d'un médicament :

Un médicament est une substance utilisée pour prévenir, soulager ou guérir une maladie ou ses symptômes. [47]

Toute substance ou composition qui présente des propriétés thérapeutiques ou prophylactiques pour une maladie humaine ou animale, et toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou l'animal, ou pouvant être administrée pour établir un diagnostic médical ou en exerçant des propriétés pharmacologiques, immunologiques ou métaboliques ayant pour fonction de restaurer, corriger ou altérer sa fonction physiologique.[48]

4.2. Mise en forme d'un médicament

Un médicament se compose de principe(s) actif(s), d'excipient(s), l'ensemble étant contenu dans un récipient. [49]

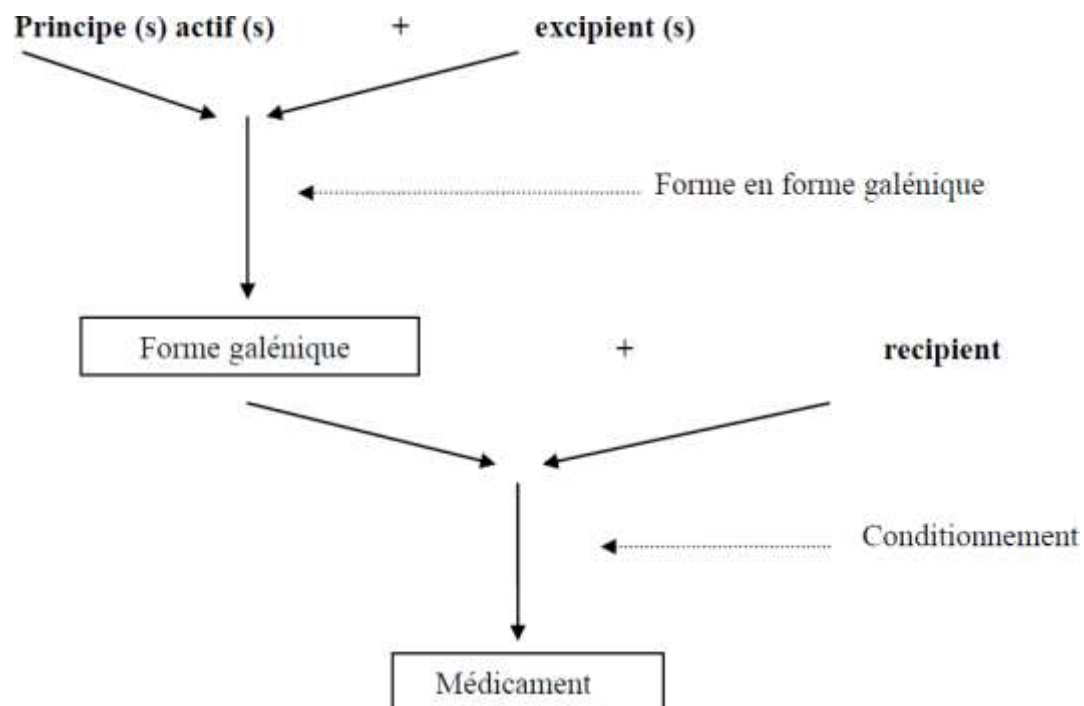


Figure I.4.6.Mise en forme d'un médicament.

I.4.3. Formes galéniques des médicaments :

Une formulation galénique est une forme distincte dans laquelle sont placés le principe actif et les excipients (substances inactives) pour constituer le médicament. Il correspond à l'aspect physique final du médicament qui sera utilisé chez le patient : comprimé, gélule, sachet, solution buvable, suspension injectable, etc.

En fonction des excipients appropriés, la forme pharmaceutique est généralement choisie pour que les principes actifs atteignent le plus facilement et le plus rapidement l'organe ou la zone du corps auxquels ils sont destinés, tout comme elle peut également adapter le médicament aux contraintes spécifiques d'un patient.[50]

Les différentes formes galéniques les plus courantes sont résumées dans la **figure I.4.7** et le tableau [51]



Figure I.4.7. Les formes galéniques

Tableau I.3. Les formes galéniques les plus courantes.

Voies	Forme principales
Orale	Comprimés, gélules, solutions ou suspensions aqueuses
Parentérale	Solutions aqueuses
Rectale	Suppositoires
Vaginale	Comprimés, solutions aqueuses
Ophthalmique	Solutions aqueuses
ORL	Solutions aqueuses pulvérisées ou non
Percutanée	Pommades et solutions

I.4.4. Préparation cutanée « les pommades »

I.4.4.1 Définition de la pommade

Les pommades sont des préparations de consistance douce pour la peau, elles sont généralement constituées de plusieurs principes actifs dissous dans des excipients. Aujourd'hui, cet excipient est essentiellement gras. Mais avant les premières pommades étaient faites avec de la pulpe de pomme...d'où le nom. On distingue les onguents dermiques (pour la peau), ophtalmiques (pour les yeux) et anaux (pour l'anus). Ils peuvent être utilisés pour des effets protecteurs ou thérapeutiques locaux, ou des effets plus généraux. Les pommades consistent en une matrice monophasique dans laquelle des substances liquides ou solides peuvent être dispersées.

Les pommades consistent en une matrice monophasique dans laquelle des substances liquides ou solides peuvent être dispersées. On distingue les pommades hydrophobes, les pommades absorbant l'eau, et les pommades hydrophiles.[51]

♣ Pommades hydrophobes : Les onguents hydrophobes (lipophiles) n'absorbent généralement qu'une petite quantité d'eau. Les substances les plus couramment utilisées pour formuler de telles pommades sont la vaseline, la paraffine liquide, les graisses végétales ou animales, les glycérides synthétiques.



Figure I.4.8. Illustration de la pommade

I.4.5. La Couche dermique (peau)

La peau est bien sûr un organe vivant à l'interface entre l'organisme et l'environnement. Ses propriétés quantitatives varient selon la partie anatomique du corps humain et dépendent de l'âge et du sexe. La connaissance du comportement mécanique de la peau a des implications pour le diagnostic des maladies dermatologiques et pour tester l'efficacité des produits cosmétiques sur la peau.[52]

La peau contient des structures qui confèrent la sensibilité au toucher (cellules de Merkel et nocirécepteurs) l'immunité (cellules de Langerhans), la protection contre les radiations UV (mélanocytes), la réparation et métabolisme. Enfin, la peau est un organe vivant en continuelle régénération et réparation. Son renouvellement dure 28 jours. Il est continu et peut être accélère en cas de blessure. [53]



Chapitre II.

Matériels et méthodes

Dans cette partie expérimentale, nous exposons d'abord le matériel et les méthodes utilisées, pour l'extraction, le dosage des polyphénols et les flavonoïdes, le thymol et l'activité antioxydant.

Ainsi que les analyses biologiques (activité antibactérienne), ensuite les étapes de la formulation de la pommade et procéder au contrôle de qualité de la pommade obtenue.

Chapitre II

Matériels et méthodes

II.1. Equipements et appareillage utilisés

Les différents équipements et appareillages utilisés dans cette étude pour l'ensemble des essais d'extraction et d'analyses réalisés sont comme suit :

- Spectrophotomètre UV-visible thermoscientific Genesys
- Etuvememert
- Balance analytique de précision à 4 chiffres
- pH-mètre
- Bec bunsen

II.2. Verrerie et petits matériels de laboratoire

La verrerie utilisée lors de notre manipulation :

- Bécher de capacité : 10ml, 50ml ;
- Fioles de 25ml, 50ml ;
- Une vingtaine des tubes à essais, porte tubes ;
- Pipettes de 1ml, 2ml,5ml ;
- Pipette pasteur ;
- Micro pipette, ambouts ;
- Spatules, micro-spatule, pissettes, papier absorbant, papier aluminium, para film, poires d'aspiration;
- Boîtes pétries ;
- Cuves en quartz pour l'UV ;
- Ecouillons ;
- Papier wattman ;

II.3. Réactifs chimiques

- Eau distillée
- Méthanol max 99%
- Ethanol 96%
- DPPH 99% sigma aldrich
- Acidegallique standard 99% sigma aldrich

- Quercétine standard 99% sigma aldrich
- Thymol standard 98% acros
- AlCl₃98% Biochem
- Na₂CO₃99% biochem
- FoleinCiocalteu99% biochem
- Milieu de cultures : Gélose Nutritive, Mueller Hinton
- Eau physiologique
- Vaseline officinale
- L'huile de vaseline
- L'huile essentielle de thymus

II.4. Matière végétale

II.4.1. Cueillette

Le Thym (*Thymus vulgaris*) a été cueilli le 02 avril 2022 dans la Région montagneuse appelée Berdoune, Daïra d'Amizour– Bejaia.

L'identification botanique a été réalisée à l'aide de l'expérience des anciens habitants de la région puis par un herboriste qualifié et un botaniste.

L'ensemble des informations de la plante étudiée sont résumé dans le **tableau II.1** ci-dessous :

Tableau II.1 Références de l'échantillon utilisé

Nom scientifique	Date de récolte	Lieu de récolte	partie étudiée	Poids récolté
<i>Thymus vulgaris L</i> <i>Officinalis</i>	02/04/2022	Berdoune, wilaya de Bejaia	Feuilles et tiges	500 gramme

II.4.2. Prétraitement de la plante

II.4.2.1. Nettoyage et lavage

La réalisation du nettoyage de notre plante a été effectuée par le rinçage des feuilles avec de l'eau du robinet puis l'égouttage.

On a étalé sur une surface propre et sèche environ 250g de feuilles de thymus, et laisser à l'air libre (à l'abri de la lumière), pendant quelques heures.

Tandis que l'autre moitié a été bien séchée pour une durée de quelques jours.

Les **Figures II.1** et **II.2** ci-dessous illustrent le thym sous ses deux aspects frais et sec :



Figure II.1 Thym frais



Figure II.2 Thym sec

II.5. Obtention de l'extrait

Les extraits bruts ont été obtenus en utilisant de l'eau distillée comme solvant d'extraction.

II.5.1 Extraction d'huile essentielle

Les huiles essentielles ont été obtenues à l'aide d'un distillateur de Type Clevenger.

Présentation du système utilisé « Clevenger »

Le montage de Clevenger est désigné par le nom de son inventeur Joseph Franklin Clevenger.

Cet appareil permet l'extraction d'huiles essentielles à partir d'échantillon de plantes, Ces éléments suivants le composent :

- ✓ un ballon à un fond rond de capacité de 1 Litre;
- ✓ une pièce de verrerie modifiée (tube vertical combiné avec réfrigérant et une burette munit d'un robinet en verre).
- ✓ Un tube de retour pour la partie aqueuse du distillat relie l'extrémité inférieure de la burette au tube vertical (Système de recyclage).

Un schéma explicatif est représenté dans la **figure II.3** ci-dessous :

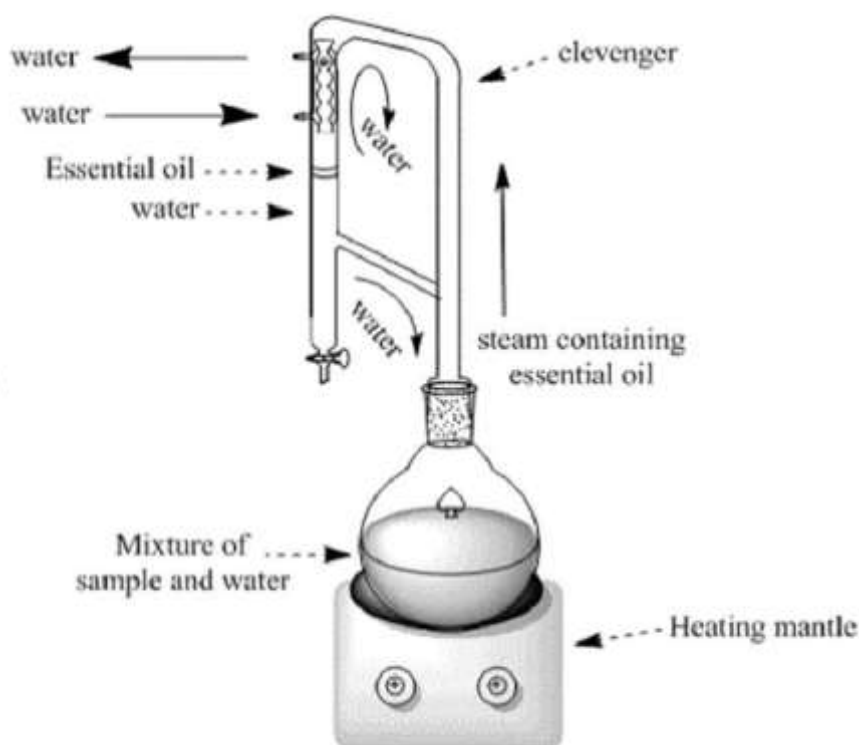


Figure II.3 Schéma explicatif de l'extraction par Clevenger

✚ Procédé :

Le ballon placé dans un appareil appelé chauffe ballon contient environ 800ml d'eau distillée comme solvant que l'on fait bouillir en contact direct avec une masse de 43g du végétal pesée avec une balance sensible (les feuilles ont été découpées à une dimension d'environ 1cm). La vapeur monte dans la tubulaire jusqu'au réfrigérant, et le condensat passe à la burette graduée,

L'huile décante et forme une couche au-dessus de l'eau qui passe dans le ballon par la conduite en diagonale.

Après 3heures d'extraction, il est possible de mesurer directement dans la burette le volume d'huile recueillie en effectuant la lecture sur la graduation.

Chaque huile, après extraction a été subdivisée en deux parties :

- ↳ La première a servie à l'analyse chimique,
- ↳ La deuxième a été utilisée pour étudier les tests antibactériens *in Vitro*.

Les huiles, après leur extraction, sont récupérées et conservées dans de petits flacons opaques et stockées à 4°C avant leurs utilisations.

La figure II.4 ci-dessous résume le système utilisé ;



Figure.4.Montage expérimental de l'extraction par le Clevenger

II.6.Analyse et quantification par spectroscopie UV-visible

II.6.1.Dosages des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols a été effectué à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible à mono faisceau à deux compartiments de type GENESYS 10S UV-VIS, cette technique a permis d'éliminer l'absorbance du blanc et donner directement la densité optique des substances considérées dans l'échantillon. Pour s'assurer que les résultats sont fiables, le dosage de chaque composé phénolique a été réalisé en trois essais, puis le calcul des moyennes des valeurs a été fait pour chaque échantillon.

Le dosage des polyphénols totaux, utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrite en 1965 par Singleton et Rossi [54]. Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diversifiées.

Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$).

La coloration produite, dont l'absorption maximum à 765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

La Figure II.6 montre le principe de la réaction de l'acide gallique avec le molybdène.

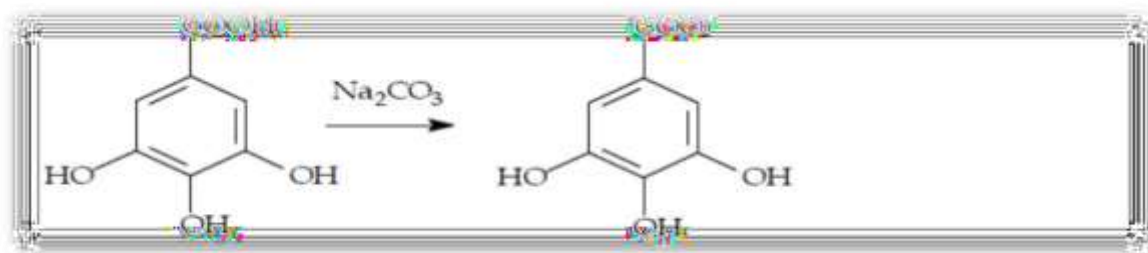


Figure II.5. Equilibre acido-basique et formation de l'intermédiaire basique de l'acide Gallique

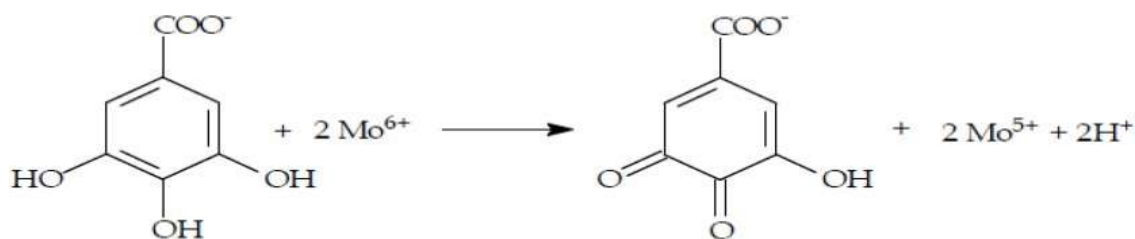


Figure II.6.Principe de la réaction du réactif de Folin-Ciocalteu

Mode opératoire

1. La préparation des 3 différentes solutions suivantes :

❖ Solution mère d'acide gallique d'une concentration de 2mg /ml :

20mg d'AG dans 10ml d'eau distillée

❖ Solution de Folin-Ciocalteu d'une concentration de 0.1 mg /ml :

1ml de Folin-ciocalteu dilué dans 9ml d'eau distillée

- ❖ Solution de carbonate de sodium d'une concentration de 0.075 mg/ml:

18.75g de Na₂CO₃ dissouts dans 250ml d'eau distillée

2. Préparation des étalons de l'Acide Gallique,

On prépare une série d'étalons par dilutions de la solution mère d'AG de concentration 2mg /ml selon le **tableau II.2**

Tableau II.2 les dilutions de la solution mère d'AG

Étalons	E₁	E₂	E₃	E₄	E₅	E₆	E₇
Solution mère d'AG (ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
Eau distillée (ml)	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3

Puis on procède aux mélanges de 0.4 ml de chaque solution étalon (de E₁ à E₇), avec 2 ml de réactif de folin-Ciocalteu et 1.6 ml de solution de Na₂CO₃.

On agite chacune des solutions étalons, puis on laisse déposer pendant 2h pour développer la coloration bleue du complexe.

On mesure par la suite les absorbances des solutions à 765 nm par rapport au blanc contenant 0.4 ml d'eau distillée + 2 ml de Folin et 1.6 ml de carbonate de sodium, préparé dans les mêmes conditions que les étalons.

3. Dosage de l'extrait :

On doit d'abord diluer la solution d'extrait concentré, puis préparer la solution diluée pour le dosage des polyphénols, selon le schéma qui suit :

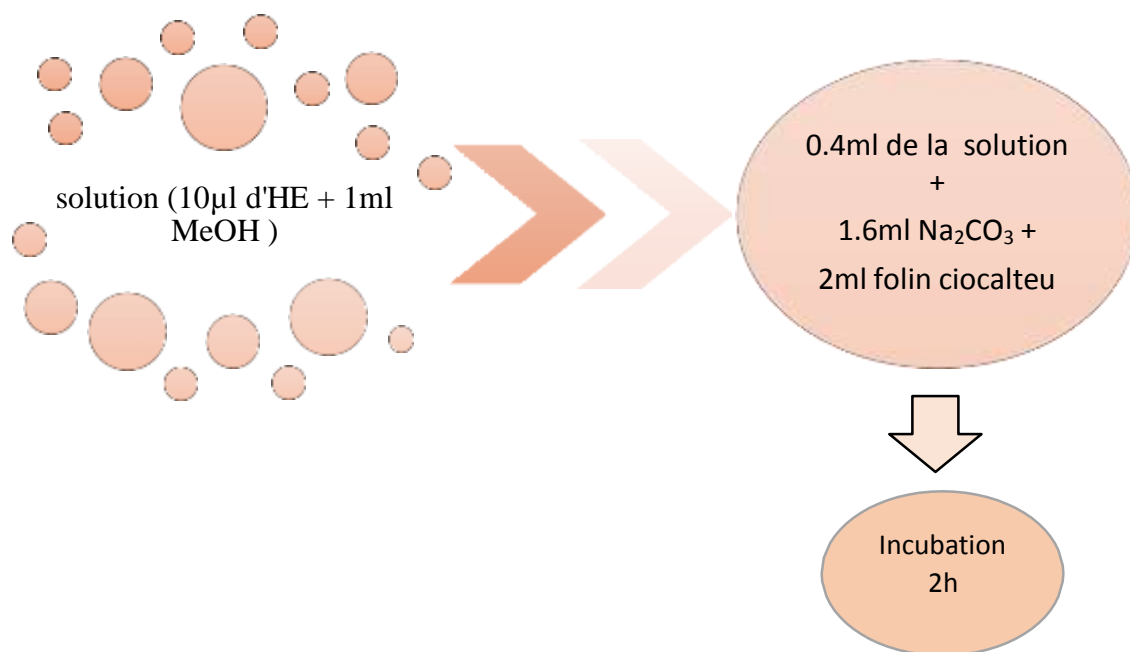


Figure II.7 Schéma des étapes de la préparation d'échantillon de l'extrait du thymus

4. La lecture de l'absorbance a été réalisée au spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 765 nm contre un **blanc** constitué de 2 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/10 et de 1.6 ml de la solution Na₂CO₃ plus 0.4 ml d'eau distillée.

II.6.2. Dosage du Thymol

La structure chimique du thymol est représentée ci-dessous :

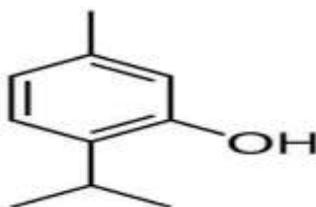


Figure II.8. Structure chimique du thymol.

Mode d'opérateur

1. Préparation de la solution mère de thymol de concentration 2mg/ml :

20 mg de thymol dans 10 ml d'éthanol

2. Préparation des étalons de la solution mère précédente :

Tableau II.3. La dilution de la solution mère du thymol

Etalons	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅
Solution mère de thymol (ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Ethanol (ml)	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5

3. Préparation de l'échantillon d'extrait

On doit diluer au préalable le concentré de thymus ainsi :

10 µl d'HE dans 5 ml d'éthanol

4. La lecture des absorbances a été effectuée en faisant passer ces étalons dans l'UV à une longueur d'onde de 274 nm (longueur d'onde maximale d'absorption du thymol), contre un blanc qui contient de l'éthanol seulement.

II.6.3. Dosage des flavonoïdes

Principe

Le dosage des flavonoïdes se fait à l'aide des réactifs suivants :

- La quercétine (C₁₅H₁₀O₇) qui est un composé organique de couleur jaune,
- Le trichlorure d'aluminium (AlCl₃) qui est un sel de couleur blanche,

Le mélange des deux, abouti à la formation d'un complexe jaune qui absorbe à 430 nm

Les figures II.9 Et II.10 montrent, la formule générale de la Quercétine et la réaction avec le trichlorure d'aluminium :

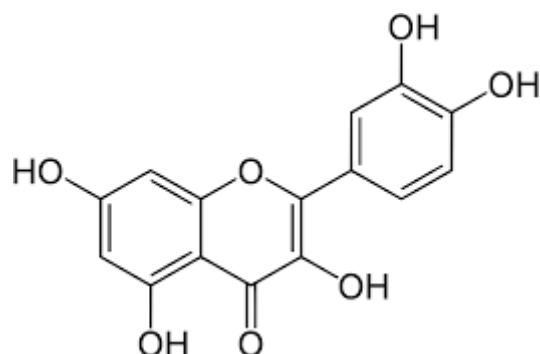


Figure II.9. Formule chimique de la Quercétine

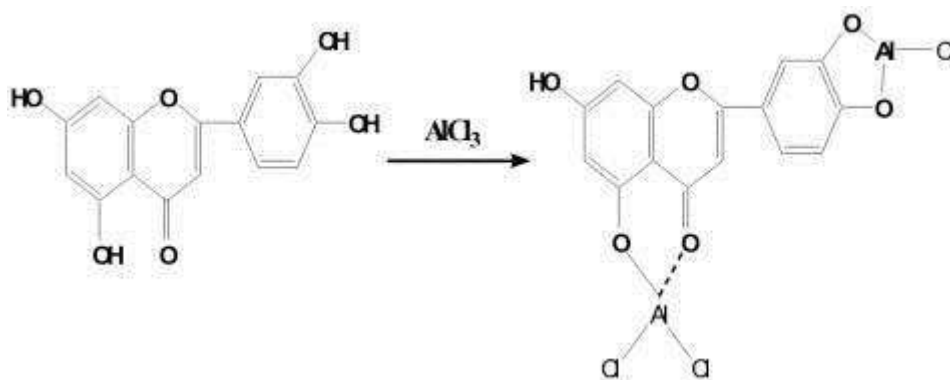


Figure II.10. Schéma de réaction des flavonoïdes avec chlorure d'aluminium.

Mode opératoire

1. Préparation des 2 solutions :

❖ Solution de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 2% :

2g de sel $AlCl_3$ sont dissous dans 100 ml de MeOH

❖ Solution mère de Quercétine :

On dissout une prise d'essai de 15mg de quercétine dans 7.5 ml de MeOH.

2. Préparation des étalons de Quercétine de concentration 2mg/ml :

On doit effectuer une série de dilutions de la solution mère de Quercétine, pour préparer les étalons selon le **tableau II.4**.

Tableau II.4 préparation des étalons de Quercétine

Étalons	E ₁	E ₂	E ₃	E ₄	E ₅	E ₆	E ₇
Solution mère de Qr (ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	1	1.5
MeOH (ml)	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9	8.5

Ensuite, on doit effectuer les mélanges de 0.4 ml prélevé de chacun des étalons (de E₁ à E₇), avec 2 ml de solution de AlCl₃ dans différents tubes à essai.

On agite puis on laisse au repos pendant 15 min pour développer la couleur jaune du complexe stable, avant de mesurer les absorbances des étalons à 430 nm, par rapport au blanc.

3. Préparation de l'échantillon de l'extrait.



La Figure II.11. Schéma des étapes de préparation de l'échantillon.

On prépare le blanc contenant seulement 0.4 ml de Méthanol mélangé avec 2 ml d'AlCl₃.

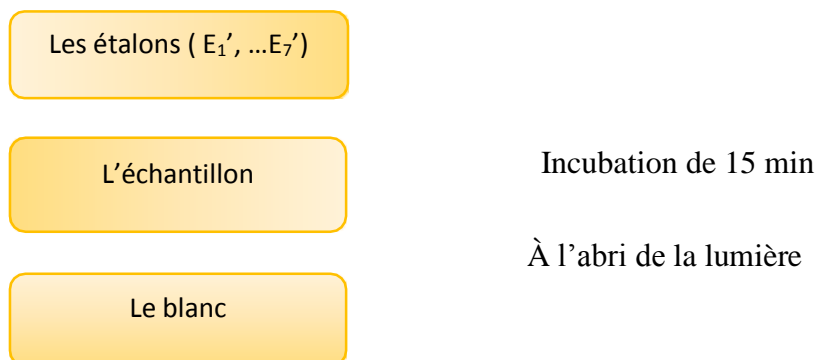


Figure II.12 Schéma des étapes de préparation des solutions incubées

4. La lecture de l'absorbance a été réalisée au spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 430 nm contre un **blanc**.

II.6.4. Activité anti-oxydante

Principe

Le composé utilisé pour la mesure du dosage des antioxydants est le DPPH qui est un radical libre azoté organique avec une couleur purple foncé.

Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée à un antioxydant, sa couleur passe du violet au jaune de l'hydrazine correspondante.

Sa formule chimique (2, 2-diphényl 1-picrylhydrazyle) (C₁₈H₁₂N₅O₆). Ce composé est utilisé pour le dosage des antioxydants. Sa synthèse chimique représentée ci-dessous :

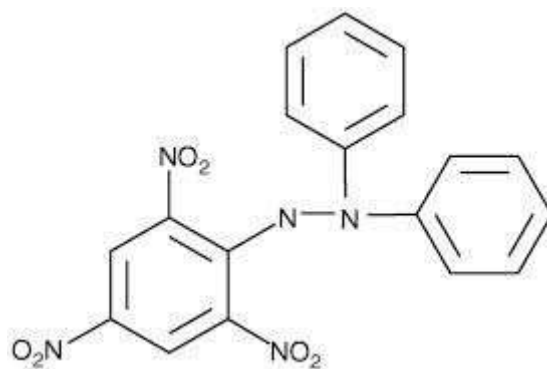


Figure II.12 représente la formule globale du DPPH

Mode opératoire

1. Préparation de la solution DPPH de concentration de 0.036 mg /ml

On dissout une prise d'essai de **2 mg de DPPH** pur avec le MeOH dans une fiole de 50 ml, on complète au trait de jauge avec le solvant.

2. Préparation des solutions diluées de l'HE

On réalise une série de dilutions de l'extrait concentré dans le MeOH selon le **tableau II.5** ci-dessous, pour étudier l'effet de la concentration en huiles essentielles sur l'activité anti-oxydante.

Tableau II.5 les dilutions de l'huile essentielle

Solutions diluées de l'extrait	E1	E2	E3	E4	E5
HE (µl)	10	20	40	60	80
MeOH (ml)	1	1	1	1	1

Dans cette étape, on a associé le pouvoir d'inhibition antioxydant des huiles essentielles avec un témoin qui se compose d'un mélange de (1ml de MeOH + 2 ml de solution de DPPH). Ainsi, 50 µl de chacune des solutions diluées de l'extrait des HE est mélangé à 2 ml de DPPH. On laisse agir pendant 30 min, puis on procède à la mesure des absorbances à 517 nm par rapport au blanc.

L'absorbance de la solution témoin doit être mesurée de la même manière que les solutions diluées des HE.

3. Schéma de préparation des solutions diluées de l'extrait des HE et de mesure de l'activité anti-oxydante :

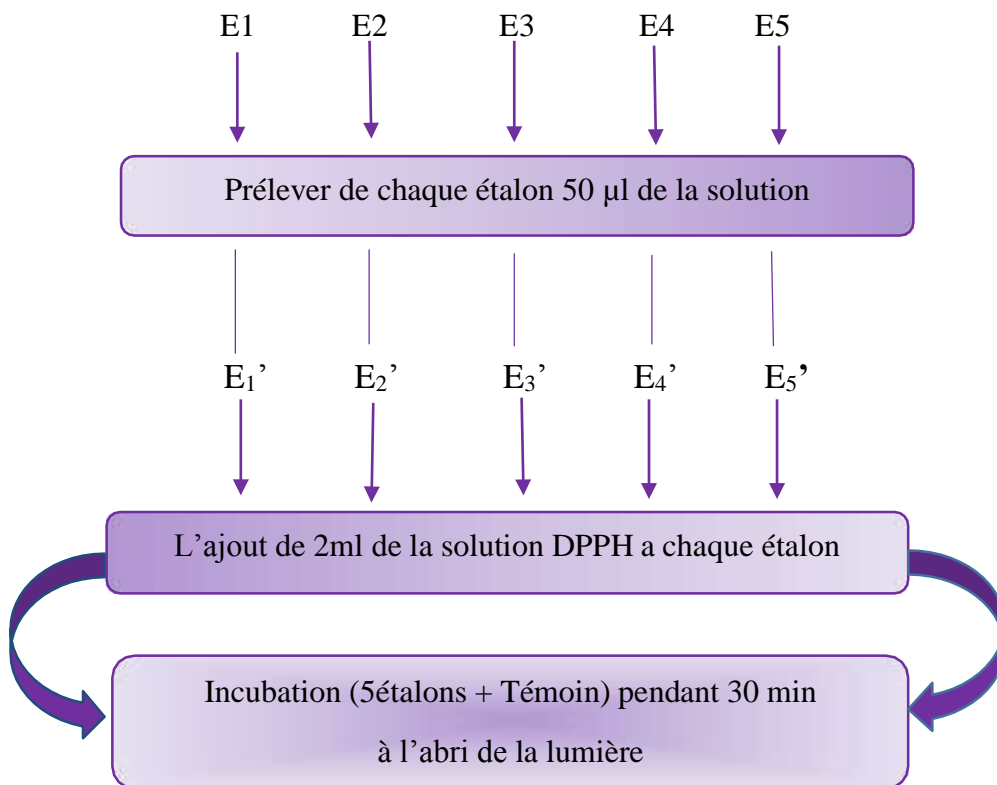


Figure II.14 Schéma des étapes de dilutions de l'extrait HE et de mesure de l'activité Anti-oxydante par le DPPH.

4. On a fait passer les 5 derniers échantillons dans l'UV visible en fixant une longueur d'onde de 517 nm.

II.6.5. Etude de l'activité antibactérienne

II.6.5.1. Les bactéries utilisées

* *Escherichia Coli*

Escherichia coli (bacille à Gram négatif), commensal du tube digestif, est la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les infections urinaires. Elle peut aussi provoquer des diarrhées par des mécanismes très divers, ainsi que diverses infections communautaires ou nosocomiales

Habitat :

E. coli fait partie de la flore digestive de l'homme et des animaux. C'est l'espèce prédominante de la flore fécale humaine aéro-anaérobie. Sa présence dans l'eau est un indice de contamination fécale.[54]

Caractères cultureux :

Aéro-anaérobies facultatifs Culture facile sur milieux ordinaires, lactosés. Sur milieux solides après 18-24h les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre. Pousse sur milieux sélectifs pour entérobactéries type Mac Conkey, Drigalski.[54]

Voir la figure II.15

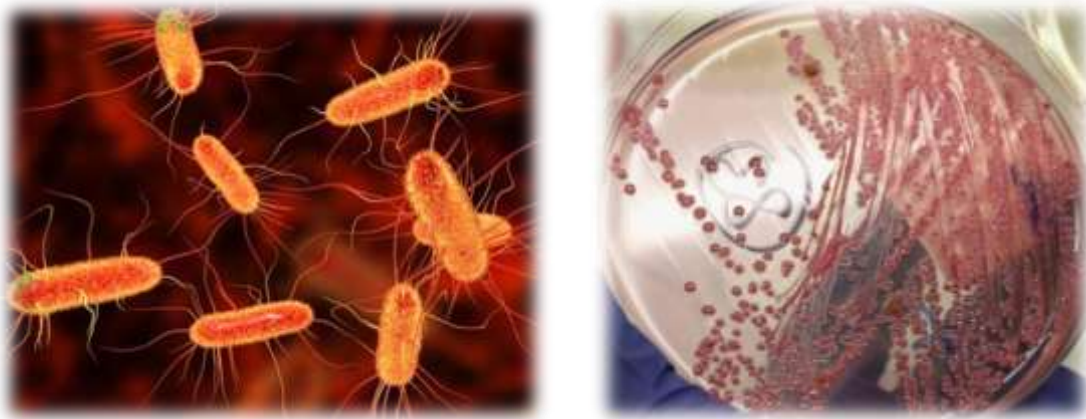


Figure II.15. Présentation de la bactérie *Escherichiacoli*

✱ ***Bacillus subtilis***

Le genre Bacillus appartient à l'embranchement des Firmicutes, classe des Bacilli, ordre des Bacillales, Famille des Bacillaceae. Il comprend 268 espèces réparties en 3 groupes sur la base de la morphologie de l'endospore et du corps bactérien. Bacillus subtilis appartient au second groupe avec son endospore ellipsoïdale non déformante. Bacillus subtilis fait partie d'un groupe taxonomique complexe dont les membres sont difficilement différenciables phénotypiquement, on donc recourt à des méthodes moléculaires comme la MALDI-TOF qui permet de distinguer les protéines produites par ces bactéries ainsi que le contenu cellulaire en acides gras permettant de les différencier.

Morphologie : Bacille à Gram positif, gros, droit, mobile par des cils péritriches, capsulé, en forme de bâtonnets de 2µm de diamètre et dont la longueur peut atteindre 7µm, formant des spores ellipsoïdales ou cylindriques en position centrale, paracentrale ou subterminales dans le corps bactérien. [55]



Figure II.16. présentation de la bactérie *Bacillus subtilis*

II.6.5.2. Préparation du milieu gélosé

a) Repiquage

Les deux souches bactériennes ont été choisies pour leur pathogénicité et leur multi-résistance.

Ce sont des espèces Gram négatif et Gram positif, pathogènes et responsables d'infections graves chez l'homme.

Tableau II.6. Souches bactériennes

Souche	Gram
<i>Escherichia coli</i>	Négatif
<i>BacillusSubtilis</i>	Positif

✚ Milieu de culture

- ✓ Gélose nutritive (milieu de dénombrement ; culture)
- ✓ Gélose Mueller Hinton pour l'antibiogramme (milieu de l'activité antibactérienne).

Le repiquage de ces bactéries a été effectué sur un milieu contenant de la gélose nutritive, 24h avant leurs utilisations.

II.6.5.3. Conservation des souches :

Les souches sont conservées à 6°C dans des Boites de pétrie stériles contenant milieu de Culture (gélose nutritive).

II.6.5.3.1. Stérilisation

Après avoir nettoyé et désinfecter le plan de travail, on a allumé le Bec Benzène afin de garder la stérilité du milieu et procéder à la réalisation de notre manipulation.

II.6.5.4. Préparations des solutions diluées

Le blanc contient de l'eau physiologique.

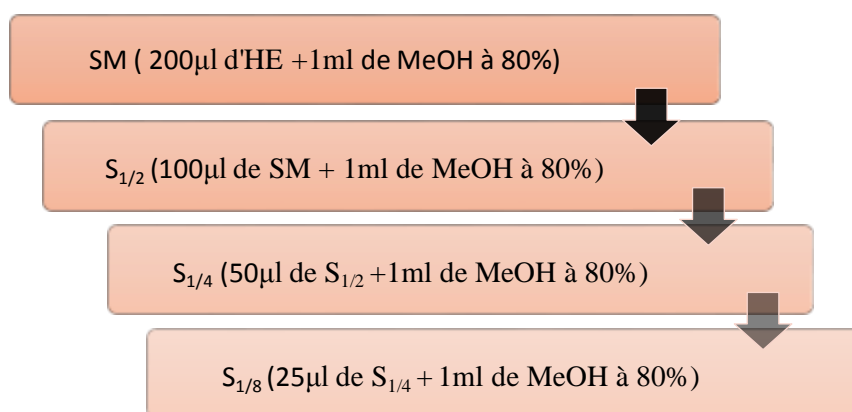


Figure II.17. protocole de préparations des dilutions.

II.6.5.5. Spectrophotométrie UV

2 colonies de la bactérie prélever avec un fils en platine et mise dans 9ml de l'eau physiologique, puis cette suspension est ajustée au standard à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,13 lue à 625 nm.

II.6.5.6. Méthode de diffusion des disques sur le milieu solide :

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage, à l'aide d'un écouvillon stérile, introduit dans la suspension bactérienne et essoré contre la paroi interne du tube, réaliser des stries parallèles et aussi serrées que possible à la surface d'une boite de Pétri préalablement coulée avec la gélose de Mueller- Hinton.

Répéter l'opération deux fois en tournant la boîte 60° et en tournant l'écouvillon sur lui-même.

Des disques de papier filtre, de 6 mm de diamètre, sont préparés et stérilisés. Ils sont ensuite imprégnés dans 5 ml de l'extrait testé dilué dans du MeOH à 80%, et déposés à la surface de la boîte de pétrieensemencée, l'opération est répétée trois fois.

Dans une boîte pétrie similaire (M-H plus la bactérieensemencée) on a introduit sur un disque une quantité de l'huile essentielle concentré au centre de cette boîte.

Les boîtes de Pétri sont laissées 2h dans le réfrigérateur pour un pré diffusion de l'extrait avant d'être incubées à 37°C pendant 24 h.

II.6.6. Préparation d'une pommade a l'officine

Vaseline

Du point de vue chimique, la vaseline est un mélange purifié d'hydrocarbures saturés à longues chaînes, solides et liquides. Son inertie chimique et physiologique en fait un véhicule idéal pour protéger les ingrédients actifs délicats, pour créer des pommades pour les peaux les plus sensibles, ou pour formuler les produits avec un pH acide ou alcalin. Sa nature chimique et sa microstructure colloïdale définissent ses qualités multiples. Grâce à sa consistance semi-solide, la vaseline peut être employée comme un agent structurant idéal pour les pommades hydrophobes. En fonction de ses propriétés telle que la viscosité, le point de goutte ou la capacité d'absorber l'huile, elle peut être utilisée comme régulateur de consistance ou stabilisateur d'émulsion.

Ainsi toute les lectures effectuées sur les matières premières utilisées nous ont permet de regrouper les propriétés physico-chimique des produits utilisés.

Huile de vaseline

L'huile de vaseline est un produit dérivé de la vaseline, ces propriétés permettent de la retrouver : en médecine comme laxatif, en pharmacie pour la préparation de la pommade, en parfumerie dans l'extraction des essences...

II.6.7. Formulation de la pommade antibactérienne

Les propriétés d'un mélange dépendent généralement de sa composition, et il est fréquent que l'on veuille traduire les variations d'une propriété en fonction de la concentration des divers constituants.

Notre travail a pour objectif la recherche d'une composition optimale pour formuler une pommade antibactérienne.

Matières premières

Les matières premières utilisées lors de la formulation sont :

- ✓ Huiles essentiel de thym
- ✓ Huile de vaseline
- ✓ Vaseline officinale

La formulation doit être effectuée en mélangeant deux phases, une dite grasse (phase A) et l'autre dite organique (huileuse) (phase B), les produits utilisés ainsi que les fonctions de chaque composé sont regroupés sur le **tableau II.7** suivant :

Tableau II.7. Les phases utilisées pour la fabrication de la pommade

Phases	Composés	Fonction
Phase A	Huile essentielle Huile de vaseline	Principe Actif Excipient
Phase B	Vaseline	Excipient

Nous avons élaboré 3 différentes formulations (3 dosages) de la pommade en faisant varier la concentration du principe actif tout en maintenant les 20g de la masse globale de chaque préparation :

➤ **1^{ère} préparation**

Avant de procéder à la formulation il faut d'abord stériliser toutes la verrerie pour éliminer tous les risques de contaminations de nos produits selon la méthode suivante :

La verrerie a été incubée dans l'eau de javel, bien rincé à l'eau de robinet puis à l'eau distillé et finalement stérilisée dans l'étuve pendant quelques minutes.

Protocole opératoire

En utilisant une balance analytique on a pesé :

- Huile essentiel de thym **0.125g**
- Huile de vaseline **1.875g**
- Vaseline officinale..... **18g**

D'une part, une quantité de 18g de vaseline a été dissoute à l'aide d'un bain marie, d'une autre part on a introduit d'HE de thym (pipeter par une micropipette) dans 1.875g d'huile de vaseline avec une légère agitation.

L'excipient (vaseline bien fondue) a été incorporé en petites quantités dans le bécher (phase A), en gardant l'agitation jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène (une répartition régulière du PA)

➤ 2^{ème} préparation :

Pour la formulation de notre pommade, on a fait fondre 17.9875g vaseline officinale dans un bain marie, on a pesé 1.875g de l'huile de vaseline à l'aide d'une balance sensible puis pipeter à l'aide d'une micropipette 156 µl de l'huile essentiel de thym.

Une fois l'huile de vaseline et l'HE de thym sont bien mélanger, on va verser la vaseline fondu aux huiles précédant par fractions, sans arrêter l'agitation manuelle jusqu'à homogénéisation.

Après avoir versé toute la quantité du mélange dans un autre pot en verre, on a enfin bien fermé le couvercle

➤ 3^{ème} préparation :

Pour cette formulation, faire fondre 18.0125g de vaseline officinal dans un bain marie, on pesant 1.875g de l'huile de vaseline à l'aide d'une balance sensible puis pipeter 127.8 µl de l'HE de thym en utilisant une micropipette

Après avoir mélangé le deux huiles avec la vaseline fondue on verse le tout dans un autre pot en verre, enfin on ferme le couvercle du pot.

II.6.8. Remplissage et conditionnement :

Verser le mélange homogène obtenu dans un pot d'une contenance de 25 ml, en verre déjà stérilisé dans l'étuve à 180°C.

La mise en pot se fait manuellement ; chaque pot est pesé afin de vérifier le poids après remplissage d'où le couvercle doit être bien fermé.

II.6.9. Contrôle de qualité de la pommade

Les variables ou paramètres qui définissent le contrôle de qualités sont divers :

a) Analyse organoleptique :

- **Aspect :** c'est un examen visuel de la fluidité, et l'homogénéité de la pommade.
- **La couleur :** on a examiné la couleur de la pommade.
- **L'odeur :** c'est un examen olfactif, car chaque produit présente sa propre odeur caractéristique.

b) Analyses physico-chimiques

- **Essai d'homogénéité :**

La vérification de l'homogénéité de la pommade s'est faite en l'étalant en couche mince sur une surface plane à l'aide d'une spatule. La répartition régulière ou non des extraits dans l'excipient a été notée.

- **Potentiel hydrogène :**

La mesure du ph se fait à l'aide d'un appareil appelé PH metre Il doit être proche de celui de la peau [4,2_6].

c) Test micro biologiques :

L'objectif de cette partie est de tester notre produit fini, en déterminant son efficacité bactéricide, et ceci par la méthode des puits.

 **Protocole expérimentale**

D'un côté, le repiquage des 2 bactéries (E.Coli et B.Sub) a été effectué dans de la G-N. On a fait fondre le milieu M-H dans un bain marie, ensuite, on a versé dans les 2 boites de pétri à raison de 15 ml par boite, on laisse refroidir et solidifier sur paillasse.

Après avoir standardisé nos 2 bactéries avec de l'eau physiologique en utilisant l'UV visible, on a passé directement à l'ensemencement des 2 bactéries dans les 2 boites pétri.

A l'aide des pipettes pasteur stérilisées, on s'est servi à faire des puits au sein du milieu M-H, d'abord, on a introduit une couche fine de la G.N au bas des puits, le puit F1 s'agit de la première préparation, F2 (+10%) pour la 2eme préparation et F3(-10%) pour la 3eme préparation ajoutant à ça un 4ème puits contenant de la vaseline seule comme témoin négatif.

On les laisse diffuser pendant 2h dans le réfrigérateur avant de les incuber dans l'étuve à 37°C, pendant une durée de 24h.



Chapitre III.

Résultats et discussion

Ce travail a été réalisé au laboratoire de recherche au niveau de «L'université A-Mira, Bejaïa».

Cette partie expérimentale décrit le matériels et méthodes utilisées dont :

- ↳ l'extraction de l'huile essentielle de la plante étudiée « *Thymus vulgaris.L* » avec de l'hydro distillation, détermination du rendement, caractérisation par UV visible, suivi par la détermination des teneurs en polyphénols totaux, thymol et en flavonoïdes.
- ↳ Etude de l'activité antibactérienne par DPPH et microbiologique (activité anti bactérienne en utilisant deux souches de gram déférents *Escherichia Coli* et *Bacillus subtilus*).
- ↳ Formulation d'une pommade antibactérienne ainsi que les analyses de contrôle qualité appliqués.

Chapitre III. Résultats et discussions

III.1 Aspect de l'huile essentielle extraite par Clevenger

L'huile essentielle de plante *Thymus Vulgaris.L* obtenue par hydro distillation (dispositif Clevenger), et cela pendant 3h de temps, est représentée dans la figure III.1.

Elle est sous forme de couche liquide (supérieure) de couleur jaune immiscible à l'eau (couche inférieure).

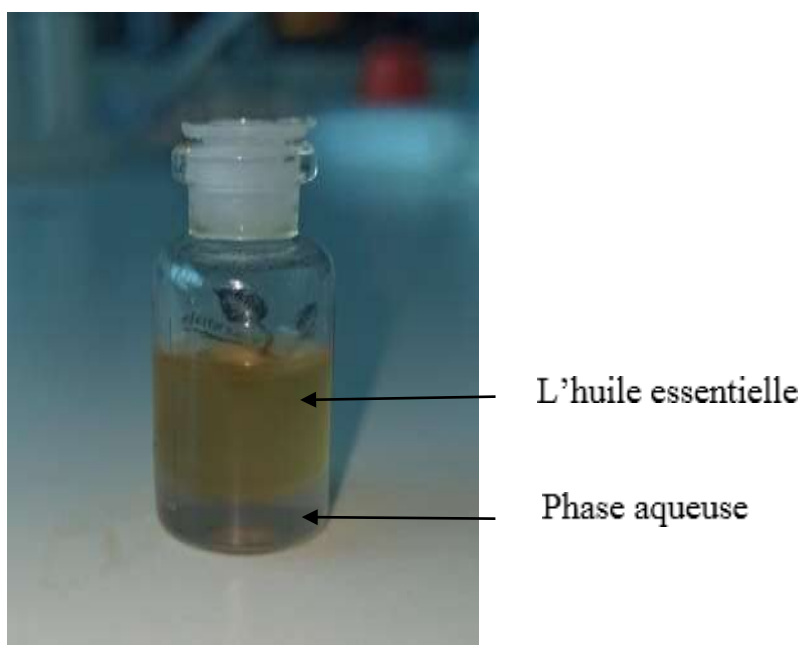


Figure III.1 L'huile essentielle obtenue par extraction de la plante *thymus vulgaris*

▪ Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle sont présentées dans le **tableau III.1** et la **Figure III.2** ci-dessous :

Tableau III.1 Caractéristique organoleptique de l'huile essentielle *Thymus vulgaris*

Caractéristique Espèces	L'odeur	La couleur	L'aspect physique
<i>Thymus vulgaris L</i>	Aromatique acre, caractéristique de l'espèce végétale	Jaune clair	Liquide

III.2 Le rendement de l'extraction

Le rendement des extraits de la plante est exprimé en pourcentage massique par rapport à la matière humide et à la matière sèche.

Le rendement de l'huile essentielle de *thymus vulgaris L* a été quantifié comme étant le rapport entre la masse des HE récupérées (mHE) et la masse de la matière végétal (mV) exprimé avec la même unité de la masse, selon la relation suivante :

$$R\% = (mHE / mV) \times 100$$

Avec :

- ✓ R : rendement (%)
- ✓ mHE : masse de l'huile essentielle (g)
- ✓ mV : masse de matière végétale (g)

Les **Figures III.2** et **Figure III.3** représentent l'huile essentielle extraite à partir des feuilles fraîches et des feuilles séchés.



Figure III.2 HE de thymus frais



Figure III.3 HE de thymus sec

D'après la photo de la **figure III.2**, l'huile essentielle est de couleur jaune plus net et le volume d'huile est plus réduit, tandis que la quantité d'huile extraite des feuilles séchées est plus importante et de couleur jaune pale (**photo de la figure III.3**).

Les valeurs des volumes et le rendement obtenu sont représentées dans le **tableau III.2** suivant :

Tableau III.2 Rendement en HE de thym sec et humide

Végétal	Masse (g)	Volume HE (ml)	Rendements (%)
Plante fraîche	183.4002	1.5	1.320
Plante sèche	128.7865	2.4	2.112

La **figure III.4** Ci-dessous résume le rendement qui est proportionnellement liée aux volumes des HE extraites des feuilles humides ou sèches :

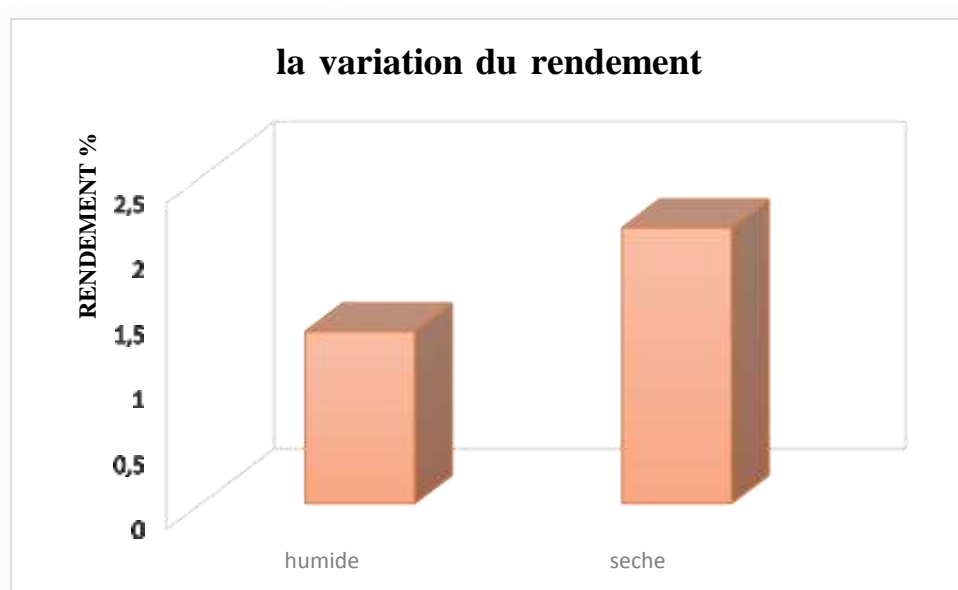


Figure III.4 Histogramme représentant la variation du rendement en fonction de l'état du végétal

D'après les précédents résultats, le rendement de la matière sèche est relativement plus élevé que celui de la matière humide, ce faible rendement en HE est probablement dû à une perte d'HE dans la phase aqueuse (plante humide), le matériel végétal se trouve immergé dans l'eau qui dissout plusieurs constituants de l'HE ...

D'après notre étude comparative nous avons pu tirer comme conclusion que l'espèce (*thymus vulgaris*) sur laquelle on a travaillé est plus riche quantitativement par rapport au travail fait au pare avant.

Prenant l'exemple de Bouira, le pourcentage de l'huile essentielle a donné un taux de 1.11% par (Boukrif et al, 2019). En effet, en dehors de l'Algérie, une étude est faite par (Kazemi et al) au Mexique en 2012 qui obtient 1.7% d'HE.

De nombreux facteurs de la plante, comme son origine influencent le rendement, la teneur, les caractéristiques physico-chimiques, les conditions environnementales, le séchage, la période et le milieu de récolte, les pratiques culturales et l'âge du matériel végétal. [56]

III.3 Quantification des composants de l'extrait

III.3.1 Teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux

L'étude quantitative des extraits bruts, obtenus à partir des feuilles de *Thymus vulgaris*, réalisée par dosage spectrophotométrique avait pour objectif la détermination de la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes. La raison principale pour le choix de ces substances réside dans le fait que la majorité des effets pharmacologiques des plantes leurs sont attribués.

III.3.2 Teneurs en polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue à la longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus ont permis d'abord de tracer une courbe d'équation :

$Y = 0.0075 X - 0.1308$ avec $R^2 = 0,988$, ils sont présentés dans la **Figure III.5**

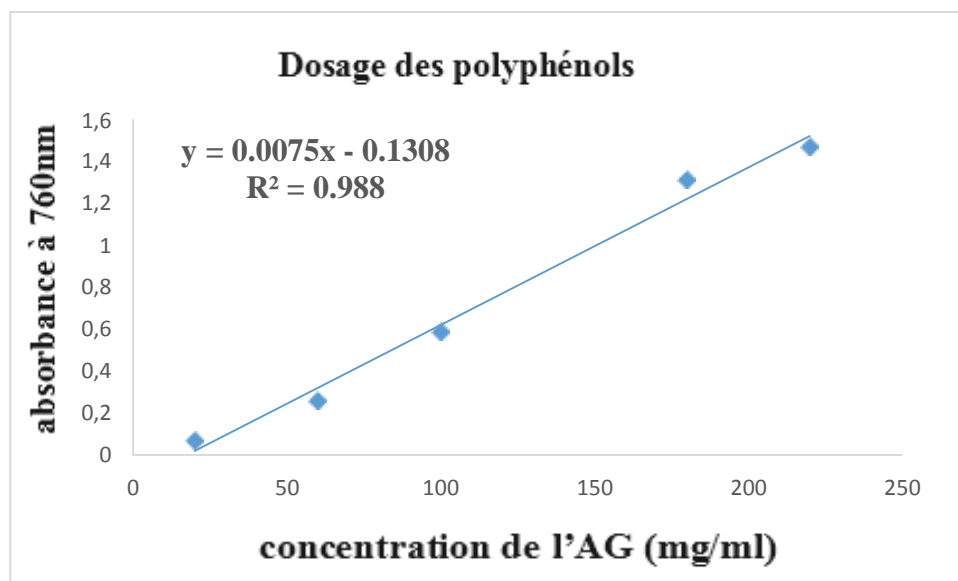


Figure III.5 courbe d'étalonnage de l'AG pour le dosage des polyphénols

L'absorbance de notre échantillon est égale à 2.051.

D'après la courbe d'étalonnage (Figure III.5), la teneur en polyphénols a été enregistré par le dosage d'acide gallique en mg d'acide gallique / ml, en remplaçant y dans l'équation de la courbe par l'absorbance de notre échantillon déjà retrouvé 2.051 on a retiré la concentration des polyphénols qui est égale à **278.125 mg d'acide gallique / ml**

L'estimation de la concentration a montré que cette teneur est élevée en polyphénols. Ce résultat confirme la richesse de la plante étudiée en substances polyphénoliques.

III.3.3 Dosage du thymol

Le dosage du thymol a été réalisé dans l'éthanol, il a été utilisé comme standard pour la quantification des HE par mesure des absorbances à la longueur d'onde de 274 nm spécifique au thymol. Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe d'étalonnage, ayant l'équation $Y=12.81x + 0.0064$; $R^2 = 0.9979$ (figure III.6).

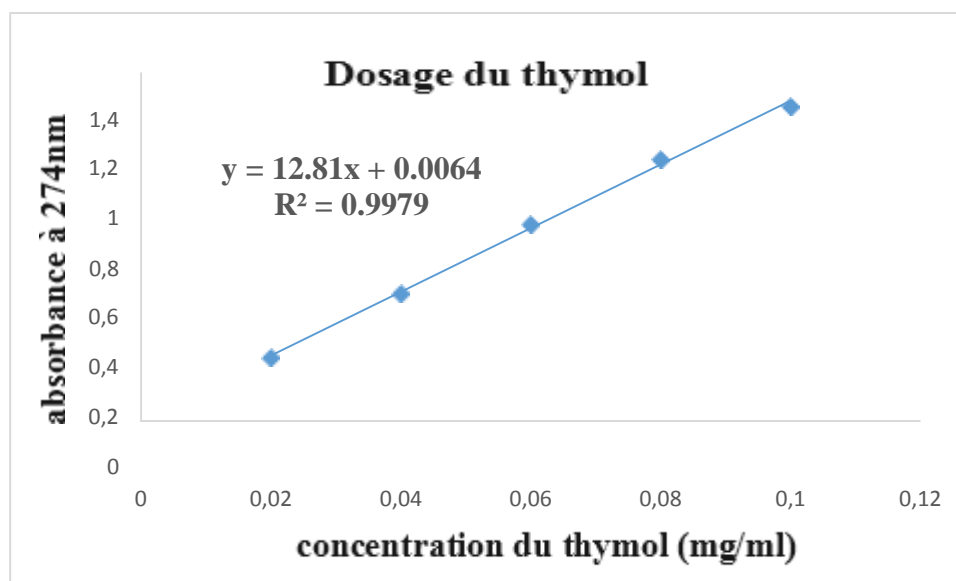


Figure III.6: courbe d'étalonnage du thymol

La quantité de thymol a été rapportée en milligramme de thymol par millilitre (mg/ ml), à partir de la courbe d'étalonnage. La concentration de thymol qui a été enregistrée est de **33.146 mg de thymol / ml**.

III.3.4 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de complexation par le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

La courbe d'étalonnage a l'équation suivante ; $y = 0.0094x + 0.0128$ avec $R^2 = 0.9931$, à l'aide de cette dernière on a pu tirer la concentration. (Figure III.7).

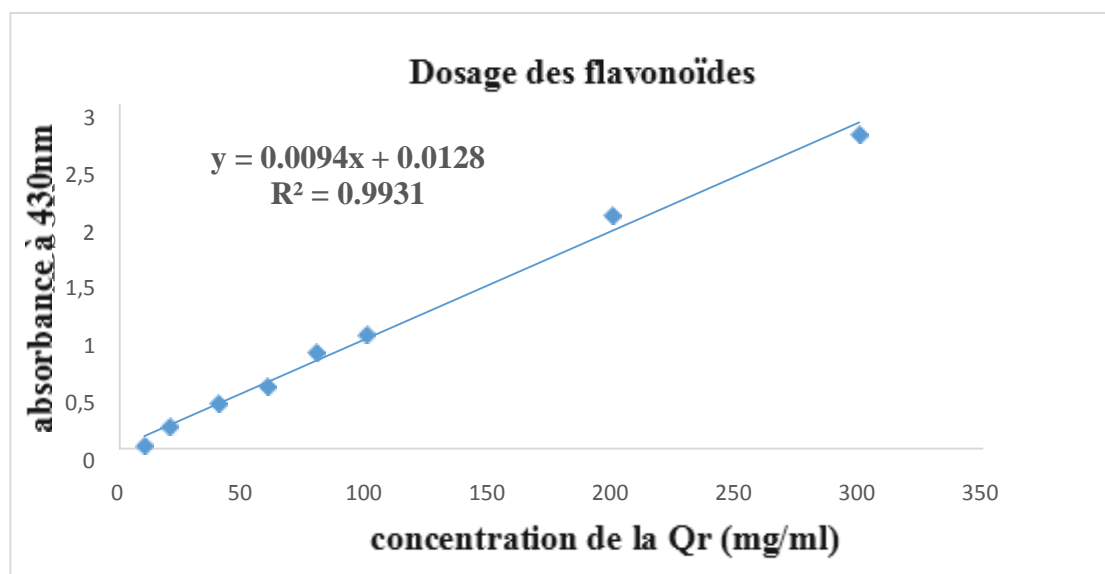


Figure III.7 courbe d'étalonnage des flavonoïdes

Cette droite d'étalonnage a permis l'évaluation de la teneur en flavonoïdes totaux dans la plante étudiée, et cette quantité a été rapportée en milligramme de quercétine par millilitre.

Les résultats obtenus, **figure(III.7)**, révèlent une concentration de **55.319 mg de la Qr /ml** en flavonoïdes.

III.3.5 L'activité antioxydante

Pour évaluer les propriétés antioxydantes du *thymus vulgaris*, la méthode avec le radical libre DPPH a été utilisée pour évaluer l'activité antioxydante de l'extrait de la plante.

La courbe d'étalonnage du DPPH est établie à partir de la droite de régression $y = 1.87x - 10.48$ avec $R^2 = 0.9989$ (Figure III.8)

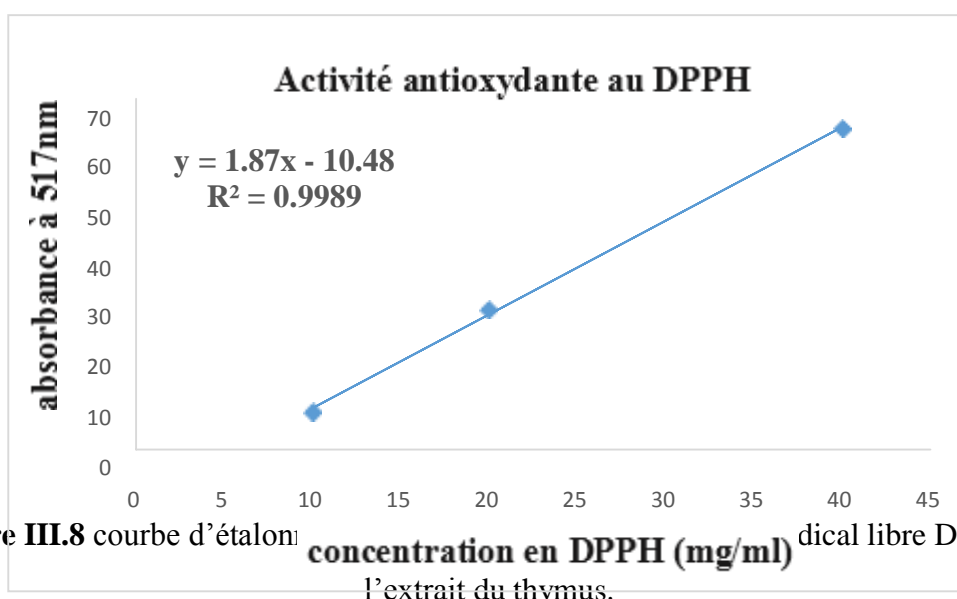


Figure III.8 courbe d'étalon de l'activité antioxydante au DPPH de l'extrait du thymus.

La mesure de l'activité anti-radicalaire exprimée en mg/ml de DPPH, nous obtenons une concentration de **28.461 mg de DPPH / ml**.

Tableau III.3. Résumer des résultats obtenus du rendement et les dosages

Rendement (%)	Concentration (mg / ml)			
	Dosage des polyphénols	Dosage des flavonoïdes	Dosage du thymol	Activité antioxydant
3.432	278.125	55.319	33.146	28.461

III.4 Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle à partir de la méthode de diffusion par disque

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *thymus vulgaris* a mis en évidence des diamètres d'inhibition plus au moins important.

La figure III.9 ci-dessous représente les tests antibactériens avant l'incubation dans l'étuve à 37°C.



Figure III.9 test antibactérien (E. Coli et B. sub) avec l'HE avant l'incubation



Figure III.10 zones d'inhibitions des deux souches (après l'incubation)

Les résultats globaux obtenus quant à l'activité antibactérienne des HE du *thymus vulgaris*, sont regroupés dans le **tableau III.4**

Tableau III.4 les différentes dilutions et les zones d'inhibitions

	<i>Escherichia Coli</i> (gram-)				<i>Bacillus sub</i> (gam+)				Témoin
	SM	S ₁	S ₂	S ₃	SM	S ₁	S ₂	S ₃	Méthanol à 80%
Dilutions									
Volumes (µl/ml)	200	100	50	25	200	100	50	25	
Φ (mm) d'inhibition	6	5	2	4	4	8 – 4	1	3	

D'après les résultats du **tableau III.4**, on observe que les diamètres d'inhibition varient entre 2 et 6 mm.

Pour la bactérie *Escherichia coli* (gram -), et pour la 2^{ème} bactérie qui est *Bacillus subtilis* les valeurs du diamètre d'inhibition sont dans l'intervalle 1- 6mm et pour les différentes concentrations (solution mère SM plus concentrée et les solutions diluées S₁, S₂, S₃). Les résultats sont illustrés par la **figure III.10**, qui montre les zones d'inhibition du test antibactérien de l'extrait.

L'action antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'huile essentielle du thym, par contre pour le disque témoin (E.Coli) ainsi que le témoin et la dilution ¼ (B.Sub), on a observé l'absence de cette zone inhibitrice autour des disques.

Ces résultats montrent clairement que la diminution du diamètre des zones d'inhibition correspond à une diminution de la concentration de l'huile essentielle, après incubation dans l'étuve à 37°C.

Des travaux ont souligné que, plus les teneurs en phénols sont élevées, plus l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles est grande. [57-58]

III.4.1 Cas de l'huile essentielle concentré

dans cette étape, on a pu déterminer la zone d'inhibition de l'huile essentielle concentré contre la bactérie E.Coli. la **figure III. 11** ci-dessous représente le résultats obtenus.



Figure III.11 la zone d'inhibition de l'huile essentielle concentrée

D'après la **figure III.11**, on a remarqué une forte activité antibactérienne, avec un diamètre d'inhibition de 19mm.

Cela traduit un tapis antibactérien présent autour du disque ce qui a montré que l'huile essentielle pure du *Thymus vulgaris* a une très forte activité envers la souche *E. Coli*.

III.5 contrôle qualité de la formulation antibactérienne

III.5.1 Caractérisation de la pommade

a) les analyses organoleptiques

Les résultats des analyses organoleptiques de notre pommade sont :

- ✓ Couleur : blanche
- ✓ Odeur : agréable inspiré par la plante de thym
- ✓ Aspect : onctueux sans présence de grumeaux à l'étalement



Figure III.12 les pommades formulées selon la pharmacopée.

b) Homogénéité

Après l'étalement d'une couche mince de notre pommade sur le dos de la main, visuellement on ne voit aucune présence des grumeaux

c) Le potentiel d'hydrogène

Parmi les paramètres les plus importants pour le contrôle de notre produit fini est la mesure du pH, pour cela, nous avons procédé à un test à l'aide d'un pH mètre et papier PH.

Les valeurs de pH mesurés avec un pH mètre après 3 jours de la formulation sont regroupés dans le **tableau III.4.**

Tableau III.5 résultats des valeurs de pH mesuré

Préparations	1 ^{ère} préparation	2 ^{ème} préparation (+10%)	3 ^{ème} préparation (-10%)
pH			
pH (T= T ambiante)	6.43	6.10	5.80
pH (T= 40°C)	5.65	5.57	5.55

D'après le **tableau III.5**, on a pu constater que les valeurs des pH sont dans les normes pour les 3 formulations à température ambiante,

D'autre part on a remarqué qu'à 40 °C, les valeurs des pH enregistrées sont un peu moins par rapport à celles obtenus à température ambiante.

L'exploitation des précédents résultats nous a permis de dire que les valeurs du pH obtenus pour les 3 formulations, que ce soit à température ambiante ou à température de 40 °C, sont dans l'intervalle de pH cutané « 5 à 6 ».

On conclut donc que notre formulation pommade répond à la norme de la pharmacopée pour le paramètre du pH.

III.5 Action antibactérienne de la pommade

Notre but dans cette partie est de démontrer si la pommade formulé à un pouvoir antibactérien sur les souches utilisées.

Nous avons organisé les résultats obtenus envers les souches testées dans le **tableau III.6** Ci-dessous :

Tableau III.6 diamètre d'inhibition des 3 préparations

Formulations	Diamètres d'inhibition (mm)	
	E.Coli	B.Sub
1ère formulation	4	4
2 ^{ème} formulation	4	4
3 ^{ème} formulation	0	0
Vaseline seule	0	0

La méthode utilisée consiste à évaluer la résistance de ces deux bactéries contre la pommade élaborée. En mesurant les diamètres des zones d'inhibition observées sur les boîtes de pétri (Figure III.12)



Figure III.13 résultats du test d'inhibition de la croissance bactérienne par les formulations pommade à base d'extrait de thymus sur les souches d'*Escherichia Coli* et *Bacillus Subtilis*.

On a remarqué d'après les valeurs du **tableau III.5** et les photos de la **figure III.11**, que les diamètres des zones d'inhibition de la première et de la 2^{ème} préparation est de 4mm pour les deux souches (E.Coli et B.Sub). Par contre aucun effet inhibiteur n'a été observé sur la croissance des deux souches, dans les puits de la formulation 3 avec une dose inférieure de 10% par rapport à la dose moyenne et aussi dans le puits de la vaseline seule (excipient).

Le **tableau III.7** rassemble les contrôles et caractéristiques des pommades des trois formulations préparées

Tableau III.7 les contrôles et les caractéristiques des 3 formulations de la pommade

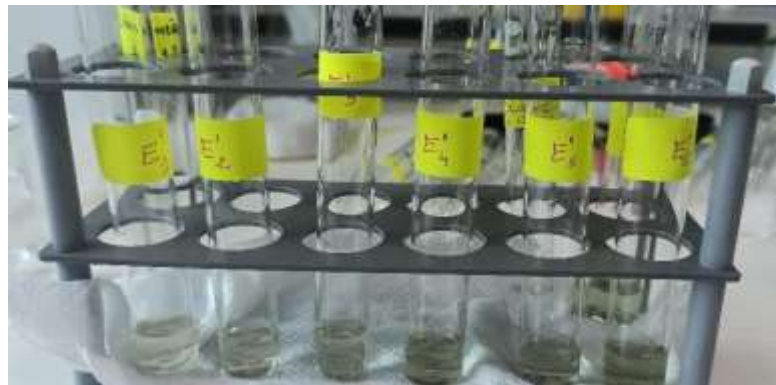
	1 ^{ère} préparation	2 ^{ème} préparation	3 ^{ème} préparation
Couleur	Blanche		
Odeur	Forte	Plus forte	Moins forte
pH (à 37°C)	6.43	6.10	5.80
pH (à 40°C)	5.65	5.57	5.55
ϕ (mm) des deux souches	4	4	0

L'extraction de l'HE

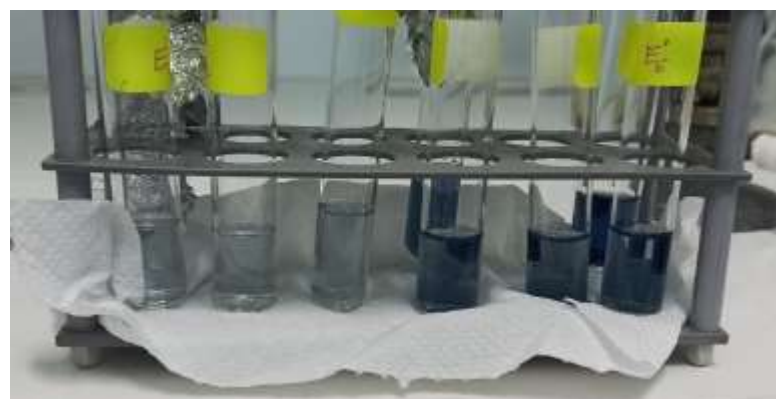


Dosage des polyphénols

- avant l'incubation



- Après l'incubation :



Dosage des flavonoïdes

- Avant l'incubation



- Après l'incubation



- Activité antioxydant



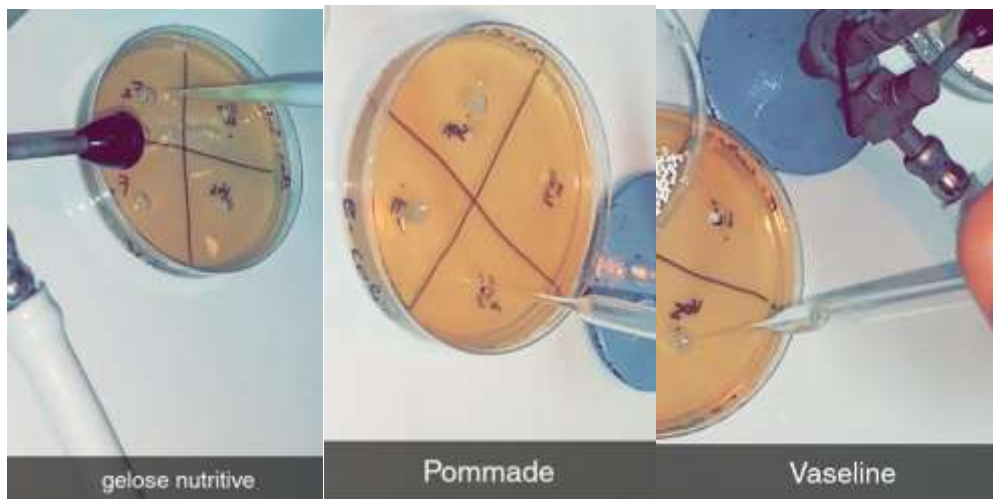
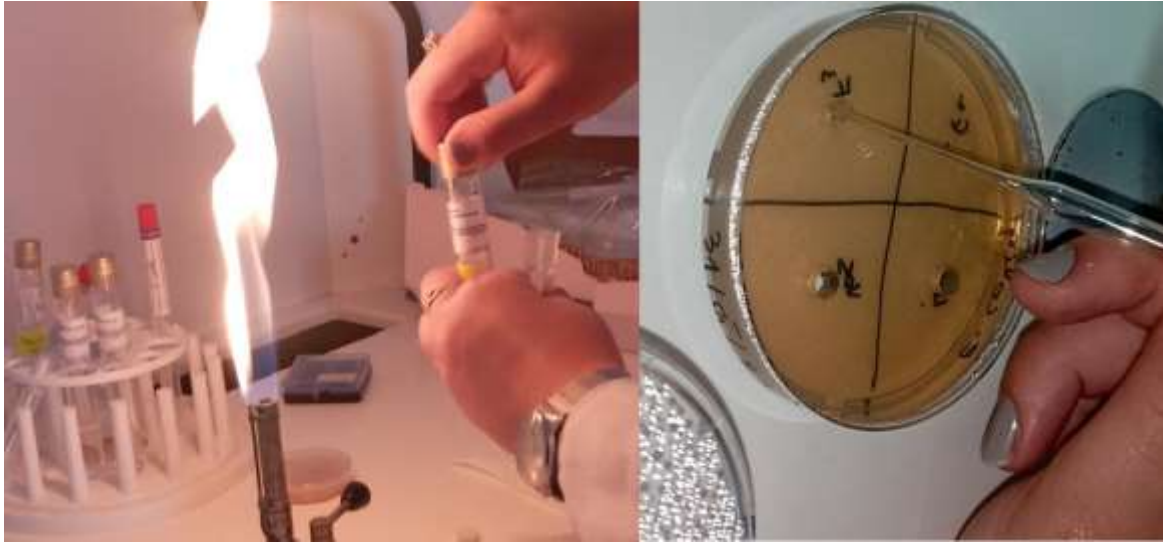
- Après l'incubation



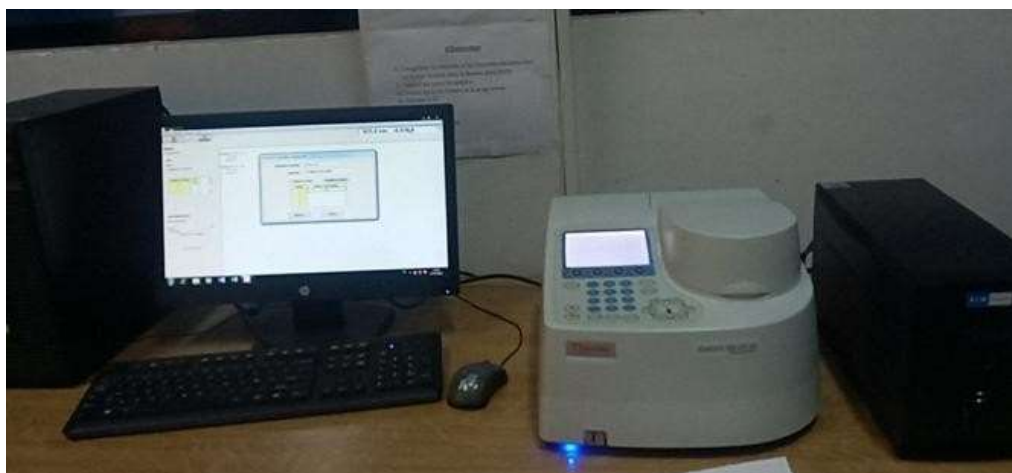
Activité antibactérienne de l'huile essentielle



Activité antibactérienne de la pommade



Appareils utilisés



UV-visible



pH-mètre



Étuve memert



Balance

Conclusion
et
Perspectives

Conclusion

1/ Les plantes médicinales restent toujours la source fiable connus par leurs propriétés thérapeutiques, parmi celles-ci, le *Thymus vulgaris L*, centre d'intérêt de notre travail, est connue pour ses vertus curatives.

Dans notre étude nous nous sommes intéressés à l'effet antibactérien des composés bioactifs, et a la formulation de la pommade à base de l'huile essentiel de thym , puis a son test *vis-à-vis* des souches bactériennes Gram positives et Gram négatives (*E. coli*, *B. subtilis*).

2/ Le résultat en huile essentiel obtenu a donné un rendement intéressant, la valeur enregistrée est de 3,432 % pour 312.1867 g de thymus utilisé.

3/ L'huile volatile obtenue a été caractérisé pour mettre en évidence sa composition chimique.

L'évaluation du contenu des phénols totaux en adoptant la méthode de Folin Ciocalteu, Révèle la présence d'une concentration importante, 278.125 mg d'AG/ml d'extrait.

De même nous avons dosé les flavonoïdes par la méthode d'AlCl₃, et la concentration été de 55.319 mg de QR/ml d'extrait. Le résultat du dosage du thymol a montré une concentration de 33.146 mg de thymol /ml d'extrait.

4/Concernant l'évaluation de l'activité antioxydante, les résultats ont montré que l'inhibition du pouvoir réducteur du DPPH° est important vis-à-vis de l'extrait étudié (HE) du *thymus*. ce qui explique la présence d'une corrélation entre la quantité des polyphénols et le pouvoir réducteur. L'évaluation des propriétés antioxydantes par le radical DPPH° révèle que l'extrait De la partie aérienne du *Thymus vulgaris* manifeste une forte activité antioxydante.

5/ L'apparition des souches bactériennes résistantes aux traitements chimiques pousse à la recherche d'alternatives plus efficaces et plus sûres. Dans cette optique, notre travail a été consacré à l'étude de l'activité anbactérienne, sur différentes espèces de levures du genre E.Coli et B.Sub, les plus incriminées en pathologies humaines.

Les résultats obtenus, par la technique de diffusion sur disque d'agar, pour l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du thym, et de la pommade formulé, ont montrés qu'ils ont exercées une importante activité inhibitrice vis-à-vis des deux souches étudiés. grace a l'estimation des diamètres des zones d'inhibition (6,5,2 et 4) mm pour E.Coli, (4,6,1 et 3) pour B.Sub obtenues par l'HE (4, 4, 0) mm pour les 3 formulations de la pommade.

ces résultats indiquent que les HEs étudiées et les pommades formulées, peuvent constituer des véritables alternatives des produits bactéricides très efficaces contre *E.Coli et B.Sub*,

Plusieurs paramètres peuvent être à l' origine de la présence ou l'absence de l'activité Antimicrobienne. La nature de l'activité des huiles essentielles peut être attribuée aux composés majoritaires du *Thymus vulgaris* qui sont les polyphénols, flavonoides et thymol.

6/ l'élaboration d'un produit pharmaceutique officinalis « pommade» a base du principe actif (HE) du thym, les résultats du contrôle du PH enregistrés, pour les 3 formulations conditionnées a T= ambiante (6.43, 6.10 et 5.80) ou pour T= 40°C (5.65, 5.57 et 5.55) sont des valeurs qui répondent aux normes de la pharmacopée.

Au terme de cette étude et à la lumière des résultats obtenus au cours de cette recherche, l'extrait de thymus vulgaris présente une activité antibactérienne et thérapeutique importantes, ce qui le destine a des préparations dermiques, et voir même pour des formulations pour l'administration par voie orale, contre certaines souches bactériennes comme E.Coli.

Perspectives

En perspective, il sera intéressant de pousser les études pour :

- ❖ Tester l'activité antibactérienne d'HE du thym sur d'autres souches bactériennes.
- ❖ Tester l'extrait sur des champignons pour déterminer activité antifongique.
- ❖ Evaluer les activités anti-oxydante des composés phénoliques des autres parties de cette plante (racines et fleurs).
- ❖ Utiliser d'autres méthodes d'extractions.

Références bibliographiques

- [1] **Giday M, Asfaw Z, Woldu Z, (2009)**. Medicinal plants of the Meinit ethnique group of Ethiopia: An ethnobotanical study. J Ethnopharmacol. [Epub ahead of print]. PMID: 19454310 [PubMed - as supplied by publisher].
- [2] **Nadjet khen et al, (2005)**. Caractérisation des cinq huiles essentielles de *Thymus vulgaris* issu des différentes régions de Bechar par Spectrophotométrie UV-Visible et IFTR.
- [3] **Haddouchi F, Benmansour A, (2008)**. Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire : 8, 20-27.
- [4] **Benmansour A et Haddouchi F, , (2008)**. Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire : 8, 20-27.
- [5] **Valnet J, (2005)**. L'aromathérapie. Ed. Maloine S. A. ISBNE :, 2-253-03564-5.
- [6] **Bruneton J, (1993)**. Pharmacognosie.Phytochimie,plantes médicinales .Ed. TEC et DOC. LAVOISIER ,Paris,P .199-625.
- [7] **Mosbah Z et Kouzrit K, (2017)**. Contribution à l'étude de la qualité et la stabilité d'un lait fermenté alicament (type yaourt étuvé) additionné d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris* (Thym) récolté dans la région de Setif
- [8] **Al Bayati F, (2008)**. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. Journal of Ethno pharmacology, 116 (3), 403–406.
- [9] **Maouche N et Baziz N, (2018)**. Effets des huiles essentielles et des extraits ethanologiques du thym sur les propriétés physicochimiques et biologiques du PLA.
- [10] **Farnsworth, N.R et Soejarto, D.D, (1985)**. Potential consequence of plant

extinction in the United States on the current and future availability of prescription drugs. *Economic Botany*, 39: 231-240.

[11] **Fournier, (1999). Fournier, R. (1948).** Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France, Tome 2 :334-337, PARIS : Ed *Lechevalier*

[12] **Righi H et al, (2021)** Mémoire master académique, Phytochimie et activité antioxydante du genre *Thymus* (synthèse théorique), université de Msila

[13] **Hopkings William.G, (2003).** Physiologie végétale, 2ème édition de Boeck, P267-283.

[14] **Righi H et BOUKHALAT N E (2021).** Phytochimie et activité antioxydant du genre *Thymus* (synthèse théorique).

[15] **Iserin P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Ed: Larousse Bourdasse.Paris. P335.

[16] **Singletary, Nelshoppen, (1991).** Inhibition of 7, 12-dimethylbenz [a] anthrance (DMBA) induced mammary tumorigenesis and of *in vivo* formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. *Cancer letters*, 60(2): 169-175

[17] **Mekious Sch ., Houmani Z, (1997).** Plante dans la medecine traditionnelle et la cuisine algérienne. Ed : RVBA. P :51

[18] **BOUKHALAT N et RIGHI H e, 2021.** Phytochimie et activité antioxydant du genre *Thymus* (synthèse théorique)

[19] **Boumalek.F, (2004).**extraction et études de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du thymus vulgaris, mémoire fin de cycle en biologi, option : biochimie.

[20] **Couplan F, 2000,** Dictionnaire d'étymologie de botanique : Comprendre facilement tous les noms scientifiques. Edition Lausanne : Delachaux et Nestlé, Paris,p 238

- [21] **Harley R.M., Atkins S., Budantsev A., Cantino P.H., Conn B., Grayer R., Harley M.M., Kok R., Krestovskaja T., Morales A., Paton A.J., Ryding O., Upson T., Labiatae.** In: **Kadereit, J.W. 2004**, The families and genera of vascular plants (Kubitzki, K: ed). Volume 7, p 167-275
- [22] **Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S-M. and Ghorbani A. (2005).** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2, 63-79
- [23] **Quezel P., Santa S. (1962-1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Vol. 1-2. Ed. Centre National de la Recherche Scientifique CNRS. Paris, 1170 p.
- [24] **Righi H et Boukhalat N 2021.** Mémoire master académique, Phytochimie et activité antioxydante du genre *Thymus* (synthèse théorique),
- [25] **Boukrif R & Boukabous S. (2019),** étude de fin d'étude, Étude de l'activité antibactérienne de *Thymus vulgaris*.
- [26] **Touhami A. (2017).** Etude chimique et microbiologique des composants des huiles essentielles de différents genres *Thymus* récoltées dans les régions de l'Est Algérien pendant les deux périodes de développement , Thèse de doctorat , Université badjimokhtarannaba , algérie , 173p.
- [27] **Kouzrit K & MOSBAH Z, (2017).** Contribution à l'étude de la qualité et la stabilité d'un lait fermenté alicament (type yaourt étuvé) additionné d'extrait au méthanol de *Thymus vulgaris* (Thym) récolté dans la région de SETIF, Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem
- [28] **Zenasni, L, (2014).** Etude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de *Thymus satureioides* Coss et d'*Origanum compactum* Benth et du genre *Nepeta* et évaluation de leur propriété antibactérienne. Thèse doctorat. Université Mohammed V-Agdal. 2014

- [29] **Özcan, M., et Chalcha, J. C. (2004).** Aroma profile of *Thymus vulgaris* L growing wild in Turkey. Bulgarian journal of plant physiology. 30 (3-4) : 68-73
- [30] **Mabberley D.J, (1997),** the plant-book: A portable dictionary of the vascular plants. Cambridge University Press, 858p
- [31] **Morales R, (1997),** Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. Lagascalia, 19(1- 2), 249-262p
- [32] **Morales, R. (2002),** the history, botany and taxonomy of the genus *Thymus*. In: Thyme: the genus *Thymus*. Ed. Taylor & Francis, London. pp. 1-43.
- [33] **Wilson R, 2002,** Aromatherapy: Essential oils for vibrant health and beauty. Penguin edition , 340p
- [34] **Quezel P., Santa S, 1962,** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. CNRS, Paris, 636p
- [35] **Djafri B et felkaoui Y,** Mémoire de fin de cycle 2007, Quantification et étude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *thymus vulgaris*,
- [36] **Burt S, (2004).** *Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in food – a review.* International journal of food microbiology, 94 : 223-253.
- [37] **Arte M.C.T., Figueira G.M., Sartoratto., Rehder V.L.G and Delarmelina C.(2005).** Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(2), 305-311.
- [38] **Koba K., Sanda K., Raynaud C., Nenonene Y.A., Millet J. et Chaumont J.P.(2004).** Activités antimicrobienne d'huile essentielle de trios *Cymbopogon sp.* Africains vis-à-vis de germe pathogène d'animaux de compagnie. Ann. Méd. Vét. 148 : 202-206
- [39] **Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes médicinales, Tec et Doc, Paris, 1119.**
- [40] **Kurita, Koike. (1982).** Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils componements. Agric. Biol. Chem., p 46-159-165
- [41] **Isman M.B. (2000).** Plant essential oils for pest ans dieseae management. *Crop protection*, 19(8), 603-608.

- [42] **Valnet J. (2000).** Aromathérapie. Ed. Maloine S. A.alteration of saccharomyces cerevisiae. *Phytother. Res.* 19(5), 405-8.
- [43] **Halliwell B, Gutteridge J. M et Cross C.E (1984).** Role of iron in oxygen radical reaction.*Methods enzymol* n° 105, P.47-56.
- [44] **Cross C.E et Halliwell B, Gutteridge J.M (1992).** Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med*, **119**, 598-620.
- [45] **Goudable J, Favier A (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition Clinique et Métabolisme.* 11: 115-20.
- [46] **Tessier F et Marconnet P (1996).** Radicaux libres système antioxydants et exercices. *Sci sports* ; 10 :1-13.
- [47] **Gagnault (G.-A.). 1982,** Principe de la recherche du médicament, Edition Masson, Paris, pp : 75
- [48] **Gouraud A. 2012,** Généralité sur la pharmacologie et les médicaments, pp : 8-42-4348.
- [49] **Talbert M.- Willoquet G. et Labayle D. 2001,** Guide pharmaco, Edition Lamare, France, pp : 25-44.
- [50] **Pacificchristophe, 2006,** Les formes pharmaceutiques.
- [51] **Le Hir.2009,** Vie d'un médicament de la conception aux bonnes pratiques de fabrication: Abrégés de pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 9ème édition, Masson, pp: 4-8.
- [52] **Tran H, et al. (2005).** Propriétés mécaniques multi-couches de la peau humaine in vivo. In colloque National en calcul des structures.
- [53] **Bourezg, F.L, (2013).** Emulsions stabilisées par des particules polymériques biodégradables, étude physico-chimiques et évaluation pour l'application cutanée, université Claude Bernard-Lyon 1.
- [54] **Benmaadi A, (2016).** Contrôle de qualité et microbiologique d'une forme sèche de comprimés
- [55] **lamontagne J, (2020).** Effets de bacillus subtilis et de bacilus licheniformis utilisés comme probiotique sur la concentration en acide gras a chaine ramifiée du lait.
- [56] **Ribéreau-Gayon, P et Gautheret, R.J. (1986).** Les composés phénoliques des végétaux. Edition :Dund, Paris, 273p.

- [57] **Cosentino S, Tuberose CIG, Pisano B, Santa M, Mascia V, Arzedi E, Palmas F.** (2010) In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian thymus* essential oil. *lett appl microbial*: 1999, 29(2), 130-135
- [58] **Mohammedi Z, Bachik S, Belkaroube N.** Potentiel antifongique et anti aflatoxinogène des huiles essentielles d'une *Thymus fontanesii Boiss and Reut.* *Les technologies de laboratoire*. 10-15.

Résumé

Thymus vulgaris.L, est une plante médicinale appartenant à la famille des *Lamiacées*, rependue dans les régions internes jusqu'aux zones arides. Le présent travail a pour but de tester l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque contre les souches bactériennes *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*. Le rendement de l'extrait des huiles essentielles préparé à partir de la partie aérienne de *Thymus vulgaris L* par la méthode de l'hydro distillation est de 3.432% pour 312.1867 g de thymus utilisé. Les analyses physico-chimiques ont révélé des concentrations considérables en polyphénols, thymol et flavonoïdes, et une activité anti-oxydante remarquable.

L'activité antibactérienne montre que l'HE de *Thymus vulgaris* ainsi que la pommade formulée à base de cette huile, exerce une activité inhibitrice pour la souche d'E.Coli et B.Sub testés, une activité inhibitrice importante a été constatée.

Abstract

Thymus vulgaris. L, is a medicinal plant belonging to the *lamiaceae* family, widespread in the internal regions to the arid zones. The present work aims to test the antibacterial activity by the disc diffusion method against the bacterial stains *Esherichia Coli* and *BACILLus subtilis*. The yield of the extract of essential oils prepared from the aerial part of *Thymus vulgaris L* by the hydrodiistillation method is 3.432% for 312.186 g of the thymus used. Physic-chemical aanlyzes revealed considerable concentrations of polyphenols, thymol and flavonoids, and remarkable antioxidant activité. The antibacterial activity shows that the HE of *Thymus vulgaris* as well as the ointment formulated on the basis of this oil, exerts an inhibitory activity for the strain of *E.Coli* and *B.sub* tested, a significant inhibitory activity was observed.