



République algérienne démocratique et
populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et la
recherche scientifique
Université Amar Tlidji Laghouat
Faculté de technologie
Département de génie des procédés



Mémoire de master

Présenté par :

Nessouri Nadjat

Kaibou Fatima Zohra Mounia

Domaine : sciences et technologies

Filière: génie des procédés

Option : procédés pharmaceutique

Thème

**Etude de l'activité biologique des huiles
essentielles de quelques épices en vue d'une
application d'une pommade pharmaceutique**

Jury de soutenance:

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>	<i>Qualité</i>
M. HARRAT MOHAMED	MCB	Président
M ^{me} AMEUR KHEIRA	MAA	Examinatrice
M ^{me} BOUKHALKHAL SARAH	MCA	Rapportrice

Année universitaire : 2021/2022



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail A mes chers parents qui
m'ont soutenu et encouragé durant mes études, j'espère
qu'ils seront fiers de moi et que dieu les protège A mes
frères Ahmed et Oussama ,A mes Sœur
Marwa, Manel, Aya et Safa, A toute ma
famille ,A tous mes amies
Aicha, Nadjat, Bouthaina , Afaf, Zieneb Sara
, Besma, Fatima, Oum-elkehr, Asma, Narima.
A tous mes collègues de la promotion 2022« Génie
Pharmaceutique »*

Fatima Zohra Mounia



Dédicace

Je dédie ce modeste travail A mes chers parents

*A mes frères Lamine et Mehdi ,A mes Sœur
Souhila, Fadilal et Salma*

A tous mes amies

*A tous mes collègues de la promotion Génie
Pharmaceutique*

Nadjat

Remerciement

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH qui nous aide et nous donne la patience et le courage Jusqu'au bout pour réaliser ce modeste travail.

*On tient à remercier sincèrement notre encadrice
Dr. Boukheikhal Sara qui a accepté de nous encadrer, pour sa patience et ses conseils précieux et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.*

*Je prie **madame Ameur Kheira** D'accepter mes remerciements pour l'honneur qu'ils me font d'évaluer mes travaux de recherche en tant qu'examinatrice.*

*Je témoigne également ma reconnaissance à Monsieur **Harrat Mohamed** pour avoir accepté d'être président du jury*

*Un grand remerciement Au directeur de laboratoire des Sciences fondamentale le professeur **Yousfi Mohamed***

Je remercie tout le personnel de laboratoire des Sciences fondamentales LSF et de département de génie de procédés de l'université Amar Telidji De Laghaout pour leurs sympathie, leur aide et leur soutien sur le plan scientifique et humain

A tous les enseignants du Département de génie des procédés

A nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, on adresse nos plus sincères remerciements à nos collègues qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale1

Chapitre I : Revue bibliographique

I. 1. Généralité sur le citron (*Citrus limon*)4

I.1.1. Origine.....4

I.1.2. Classification botanique.....4

I.1.3. Description.....4

I.1.4. Propriétés de citron.....5

I.2. Généralité sur le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).....7

I.2.1. Origine.....7

I.2.2. Classification botanique.....7

I.2.3. Description.....7

I.2.4. Propriétés de clou de girofle.....8

I.3. Généralité sur la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*).....9

I.3.1. Origine.....9

I.3.2. Classification botanique..... 10

I.3.3. Description.....10

I.3.4. Propriétés de cannelle10

I.4. Activité antioxydant.....	12
I.5. Activité antibactérienne.....	13
I.5.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	13
I.5.2. Souches bactériennes.....	13
I.6. Pommade.....	15
I.6.1. Définitions.....	15
I.6.2. Intérêts thérapeutiques des pommades	15
I.6.3. Excipient	15
I.6.4. Classification des pommades.....	16
I.6.5 Contrôle de qualité des pommades	16

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.1. Matériel végétal.....	25
II.2. Extraction des huiles essentielles.....	26
II.2.1. Extraction par hydrodistillation	26
II.2.2. Extraction liquide-liquide	27
II.3. Détermination des rendements des huiles essentielles.....	30
II.4. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits.....	30
II.4.1. Piégeage des radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	30
II.5. Activité antibactérienne.....	31
II.5.1. Souches testées.....	31
II.5.2. Milieu de culture	32
II.5.3. préparation de l'inoculum.....	32

II.5.4. préparation des disques.....	32
II.5.5. lecture des antibiogrammes.....	32
II.6. Formulation de la pommade.....	33
II.6.1 préparation de la pommade.....	34
II.6.2. Contrôles réalise sur la pommade.....	34
II.6.2.1. Les analyses organoleptiques.....	34
II.6.2.2. Les analyses physico-chimiques.....	35

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Rendement en huiles essentielles	37
III.2. Evaluation de l'activité antioxydant.....	38
III.3. Etude de l'activité antibactérienne.....	43
III.4. Caractérisation de la pommade.....	47
Conclusion	51

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
AFNOR	Association Française de Normalisation
AH	Antioxydant
ATP	Adénosine triphosphate
BHA	Acide beta-hydroxylés
°C	Degré Celsius
CA	capacité antioxydante
CI50	Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres
CO2	Dioxyde de carbone
DMSO	Diméthyle sulfoxyde
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
DRO	dérivés réactifs de l'oxygène
E/H	Eau/huile
HCV	Hépatites C virus
HE	Huiles Essentielles
%	Pourcentage
NaCl	Chlorure de sodium
pH	Potentiel Hydrogène
R (%)	Rendement (%)
UV	Ultra-violet
Vis	Visible

Liste des figures

Chapitre I : Revue bibliographique		
Figure I.1	Le citron	5
Figure I.2	Clou de girofle	8
Figure I.3	La cannelle	10
Figure I.4	La pommade	15
Chapitre II : Matériel et Méthodes		
Figure II.1	Citron (Citrus limon)	25
Figure II.2	Clous de girofle (Syzygium aromaticum)	25
Figure II.3	Cannelle (cinnamomun zeylanicum)	26
Figure II.4	Distillat trouble	27
Figure II.5	Ampoule à décanter contenant de phase organique et de phase aqueuse	28
Figure II.6	Sulfate de sodium anhydre dans la phase organique	28
Figure II.7	filtration de phase organique	29
Figure II.8	évaporateur rotatoire	29
Figure II.9	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH)	30
Figure II.10	Principe de la méthode de diffusion par disque	32
Figure II.11	l'homogénéité de la phase organique avec la phase aqueuse	34
Chapitre III : Résultats et Discussion		
Figure III.1	Représentation des valeurs des rendements de l'huile essentielle	37
Figure III.2	Courbes présent le pouvoir antioxydant des l'huiles essentielles individuelles	39
Figure III.3	Test DPPH ; Histogrammes, exprimés en valeur CI ₅₀ µg/mL	40
Figure III.4	Test DPPH ; Histogrammes, exprimés en valeur CI ₅₀ µg/mL de l'étude de l'effet synergique des différents mélanges d'HE étudiées.	41
Figure III.5	Courbes présentes le pouvoir antioxydant des huiles essentielles associe	42

Figure III.6	Résultat sur les quatres souches de l'huile essentielle de clou de girofle (<i>Syzgium aromaticum</i>)	45
Figure III.7	Résultat sur les quatres souches de l'huile essentielle de cannelle (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	46
Figure III.8	Pommade formée	47
Figure III.9	La pommade formulée après centrifugation	48
Figure III.10	Mesure par le pH mètre	48

Liste des tableaux

Chapitre I : Revue bibliographique		
Tableur I.1	classification de citrus limon	4
Tableur I.2	classification de clou de girofle	7
Tableur I.3	classification de cannelle de Ceylan	10
Tableur I.4	mécanismes réactionnels, les avantages et inconvénients de test DPPH	13
Chapitre II : Matériel et Méthodes		
Tableur II.1	Souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne	31
Chapitre III : Résultats et Discussion		
Tableur III.1	Valeurs des IC ₅₀ des extraits déterminer par le test au DPPH	40
Tableur III.2	Diamètres d'inhibition observés par les antibiotiques	43
Tableur III.3	Les valeurs de diamètre des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles relatives aux souches bactériennes	34

Introduction

Général

Les plantes produisent naturellement des substances actives permettant de se protéger des insectes, de maladies ou d'attaques extérieures. De celles-ci ont été tirées les huiles essentielles.

Une huile essentielle (HE) selon la pharmacopée est un produit de composition complexe renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux. Selon l'AFNOR, elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche[1]. Une huile essentielle contient en moyenne soixante-quinze molécules actives.

Les espèces de genre Citrus limon ont été utilisées dans la médecine traditionnelle pour leurs propriétés biologiques en tant que sédatifs, analgésiques, anti arythmiques, stomachiques, anti-inflammatoires et anti-rhumatismes. Les huiles essentielles de citrus limon ont été rapportées pour avoir des propriétés antimicrobiennes, antioxydants, antifongiques, antidépresseur et anti cancéreuses, en raison de leur utilisation dans le cosmétique, l'industrie pharmaceutique et en agroalimentaire[2].

Les épices sont classées parmi les plantes médicinales, ces épices sont des parties des plantes aromatiques à la saveur forte. Ces épices renferment de nombreux principes actifs qui sont largement utilisés en thérapeutique, comme des agents préventifs antioxydants, antimicrobien, anti-inflammatoire.... [3].

L'organisme dispose d'un vaste réseau de défense très efficace contre la production des espèces réactives de l'oxygène. Les molécules contrôlant cette production sont désignées par le terme d'antioxydants et désignent toutes substances qui, présentes à faible concentration par rapport à celle du substrat oxydable, retardent ou inhibent significativement l'oxydation de ce substrat et d'exercer leurs effets délétères et prévenir les dommages oxydatifs à notre corps[4-6].

Certaines HE sont dotés d'un spectre d'action très large. Ce dernier s'exerce sur des souches bactériennes variées, y compris celles habituellement résistantes aux antibiotiques [7]. On distingue deux sortes d'effets des HE sur ces microorganismes : un effet bactéricide en exerçant une activité létale et un effet bactériostatique en inhibant leur croissance[8]. Le mode d'action des HE sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé compte tenu de la variabilité des quantités et des profils de leurs composants. Cette diversité suggère que l'activité bactérienne des HE n'est pas attribuable à un seul mécanisme, mais plutôt à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire[9].

L'objectif général de ce travail est d'étudier les propriétés antioxydant et antibactériennes des huiles essentielles de citron, de clou de girofle et de cannelle et leurs effet synergique après association afin de formuler une pommade de propriété thérapeutique et de procéder au contrôle de qualité des pommades obtenues.

Ce mémoire comporte trois chapitres :

- Le premier chapitre quelques généralités sur le citron el le clou de girofle et la cannelle, une revue de littérature sur l'activité antioxydant, l'activitéantibactérien et la formulation d'une pommade.
- Le deuxième chapitreest consacré aux matériels et méthodes expérimentales décrivait le contexte global de cette étude ainsi que les différents objectifs à atteindre.
- Letroisième chapitre représente tous les résultats obtenus au cours de notre expérimentation avec une discussion.

Finalement, la conclusion sur les principaux résultats significatifs marquants au cours de cetravail.

Références bibliographiques

- [1].AFNOR (janvier 2010) Liste des actualités : Huiles essentielles : extrait d'une norme fondamentale. <http://www.afnor.org/liste-des-actualités>.
- [2]. Springer-verlag France. 2014. Citrus Limon (L) Burm. F(Rutacées) citronniers. Enseignement de phytothérapie. Paris-9017 Bobigny ce de x :01.
- [3]. Shiva Rani S. K., NeetiSaxena ,Udaysree. 2013. Antimicrobial Activity of Black Pepper (Piper nigrum L.). Global Journal of Pharmacology 7 (1): 87-90, 2013.
- [4]. Halliwell, B., &Gutteridge, J. M. The antioxidants of human extracellular fluids. Archives of biochemistry and biophysics.1990 ; 280 (1), 1-8.
- [5]. Larauche, M., Anton, P. M., Garcia-Villar, R., Theodorou, V., Frexinos, J., Buéno, L., &Fioramonti, J. Protective effect of dietary nitrate on experimental gastritis in rats. British Journal of Nutrition.2003 ; 89(06), 777-786.
- [6]. Pincemail, J., Le Goff, C., Charlier, C., Gillion, P., Cheramy-Bien, J. P., Van Honacker, E., ..&Defraigne,J.O. Evaluation biologique du stress oxydant. Application en routine Clinique. Nutr. Endocrinol. 2009 ; 16-31.
- [7]. Bruneton J. 1999. Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. 3ème éd. Paris : TEC&DOC et IME Editions.
- [8].Lakhdar L. 2015. Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur Aggregatibacteractinomycetemcomitans : Etude in vitro. [Thèse] : Sciences Odontologiques : Université Mohammed V de Rabat.
- [9].Guinoiseau E. 2010.Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action [Thèse] : Biochimie : Université Pasquale Paoli.

Chapitre I :

Revue bibliographique

I.1. Généralité sur le citron (*Citrus limon*)

I.1.1.Origine

L'origine du citron reste peu connue. Certains prétendent que ce fruit serait né d'un croisement entre le pamplemousse, le cédrat et la lime (citron vert). Le citron est le fruit du citronnier. Parmi les raisons qui ont conféré au citron un poids économique sur la scène internationale figurent ses bienfaits sur la santé, attribués relativement à la présence de composés bioactifs, tels que les composés phénoliques [1], la vitamine C [2], et les caroténoïdes [3]. Il est facilement associé à la confection de boissons pour lutter contre les refroidissements tels que le rhume et la grippe. Nous sommes tous conscients de la richesse en vitamine C de ce fruit. Il est jusqu'à ce jour le remède miracle contre le scorbut [4].

Bien que le fruit est une source de composés aromatiques [5,6], de nombreux auteurs ont rapporté des propriétés anti oxydantes attribuées aux huiles essentielles extraites de ses écorces [7].

I.1.2.Classification botanique

Le tableauTableur I.1 ci-dessous illustre la classification botanique du citron (*Citrus limon*).

Tableur I.1 : classification de citrus limon [8]

Domaine	Biota
Règne	Plantae
Sous règne	Viridaeplantae
Classe	Equisetopsida
Ordre	Sapindales
Famille	Rutacée
Genre	Citrus

I.1.3.Description

Le citron est le fruit du citronnier (*Citrus limon*), c'est un agrume appartenant à la famille des Rutacées. Ce dernier est un arbuste originaire du sud-est asiatique, cultivé sur le littoral de la Méditerranée et dans toutes les régions du globe à climat semi-tropical [9]. Le citron est un agrume plus vigoureux, son arbre vert et aromatique est caractérisé par une croissance rapide et d'une durée de vie d'environ 40 ans, supporte une température minimale de -2°C, de taille moyenne qui atteindra, en pleine terre entre 3 et 6 m de haut, porte 5-6 branches charpentières très fournies en rameaux, les racines superficielles forment un réseau dans les 80 premiers centimètres de sol, supportent mal la concurrence de plantes voisines et

Ils peuvent vivre environ 80 ans. En culture, il est souvent taillé, d'une part pour limiter son encombrement, d'autre part optimiser son branchage [10].

Les fruits sont juteux, acides et très parfumés de forme ovale (8-12 cm) de long sur (5-6 cm) de diamètre, avec un mamelon plus ou moins apparent à son extrémité. La peau (l'écorce) fine est d'épaisseur variable, colorée en jaune ou verte à maturité du fruit ; elle est pourvue de nombreuses glandes oléifères renfermant des essences. La pulpe est généralement riche en acide citrique et juteuse avec quelques pépins, ce qu'il lui donne sa saveur acide [11]. Le citron reste longtemps sur l'arbre sans que le goût s'altère [12].



Figure I.1: le citron

I.1.4. Propriétés de citron

Les HE de Citrus sont utilisés pour la préparation des parfums, les savons, désodorisant, les bougies parfumées, en industries alimentaires comme aromatisants, en confiseries, pâtisseries, les glaces. En aromathérapie avec les essences d'HE de Citrus, il est recommandé pour traiter : insomnies, anxiété, calme les palpitations, antirides, vasodilatatrice. L'HE de Citron est employée comme désaltérant, possédant des propriétés antimicrobiennes, tonique, stimulante, stomachique, carminative, diurétique, entretien de la peau et soins, obésités, antispasmodique, fébrifuge, coliques, états fiévreux, spasmes [13].

I.1.4.1. Activités biologiques des huiles essentielles

Les études sur la composition chimique des huiles essentielles en relation avec le screening de leurs activités biologiques sont abondantes. Il est établi dans de nombreux travaux que l'activité des huiles essentielles est en rapport avec les composés majoritaires et les possibles effets synergiques entre leurs constituants [14-16].

I.1.4.2.Activités antioxydantes

Certains constituants des huiles essentielles présentent un pouvoir antioxydant très marqué et sont aujourd'hui commercialisés : c'est le cas de l'eugénol, du thymol, du carvacrol,...etc. Les résultats montrent que les huiles essentielles de Citrus limon constituent une bonne source d'antioxydants naturels recherchés pour leur innocuité relative. Le pouvoir antioxydant, de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire.

Les huiles essentielles des Citrus. Elles sont caractérisées par une teneur élevée en mono-terpènes responsables de l'activité antioxydante. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir [17].

I.1.4.3.Activités antibactériennes

Les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leurs propriétés antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large gamme de microorganisme, ces propriétés sont utiles pour les infections chez les humains [18].

I.1.4.4.Activités antifongiques

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire [19]. Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae : thym, lavande, menthe, romarin, sauge,...etc.

I.1.4.5.Activités pesticides

Malgré les nombreuses molécules synthétiques susceptibles d'être utilisées, la protection des végétaux peut également se faire avec certaines essences naturelles. En effet, les pesticides sont très diversifiés et se classent selon leur activité en insecticides, mollucides, nématocides, germicides. Certaines huiles sont reconnues pour leur efficacité sur les champignons phytopathogènes : tel est le cas des essences de Citrus sur la croissance mycélienne de *Phaoramularia angolensis* [20,21].

I.1.4.6.Activités antiseptiques

Certaines huiles essentielles sont dotées d'un pouvoir antiseptique marqué. Ce dernier s'exerce sur des souches bactériennes variées, y compris celles habituellement résistantes en antibiotique (Tétracycline, acide oxolinique)[22]. Elles agissent généralement à faible dose. Les essences de sarriette, cannelle, thym, girofle, lavande, eucalyptus sont les plus antiseptiques. Certains de leurs composés tels que le citral, le géraniol, le linalol et le thymol

sont en moyenne 7 à 10 fois plus antiseptiques que le phénol[23,24]. Certaines huiles essentielles sont utilisées dans le traitement de certaines maladies du tractus respiratoires : toux, bronchites, angines[25].

I.1.4.7. Activités anti-inflammatoires

Les constituants des huiles essentielles tels que les mono terpènes hydrocarbonés, les sesquiterpènes hydrocarbonés et les alcools sesquiterpéniques ont montré une activité inhibitrice de la 5-lipoxygénase qui est une enzyme responsable de la production de leucotriènes suspectés de jouer un rôle importante dans la maladie d'Alzheimer[26].

I.2. Généralité sur le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

I.2.1. Origine

Le clou de girofle provient d'une plante appelée giroflier (*Syzygium aromaticum*). Chaque bouton floral de cette plante est un clou de girofle [27]. La principale production de giroflier provient de l'Indonésie, mais les clous de girofle utilisés pour l'alimentation viennent en majorité de Madagascar, ceux de l'Indonésie étant utilisés pour faire des cigarettes, appelées «kreteks» [28].

I.2.2. Classification botanique

Le tableau Tableur I.2 ci-dessous illustre la classification botanique clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

Tableur I.2 : classification de clou de girofle [27]

Règne	Plantae
Classe	Angiosperme
Sous-classe	Tiporées
Order	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Syzygium
Espèce	Syzygiumaromaticum

I.2.3. Description

L'arbre donne en Janvier/Février des boutons floraux, ou clous de girofle, pourpres cramoisis, groupés en cimes terminales. Ils sont cueillis en Juillet avant l'épanouissement de la corolle, quand ils commencent à prendre une teinte rosée, puis de nouvelles inflorescences apparaissent dès le mois d'Août et seront récoltées vers le début de l'année suivante. Les clous

de girofle sont mis ensuite à sécher sur des claies au soleil ou à feu doux, pendant trois jours avant de procéder à l'égriffage pour éliminer les pédicelles ou griffes. Au cours du séchage, clous et griffes perdent entre 67 et 72 % d'eau [29].

Comme le nom de clou l'indique, le bouton floral comporte une partie quadrangulaire, l'hypanthe, longue de 10 à 12 mm pour un diamètre de 2 à 3 mm et une tête globuleuse d'un diamètre de 4 à 6 mm, entourée par les quatre lobes divergents des sépales et constituée des quatre pétales imbriqués qui enferment de très nombreuses étamines recourbées. La poudre des clous de girofle peut être caractérisée par des fragments de parenchyme renfermant de grandes poches sécrétrices, de nombreux grains de pollen triangulaires à 3 pores dans les angles [30].



Figure I.2: clou de girofle

I.2.4. Propriétés de clou de girofle

I.2.4.1 Activité antibactérienne

Le girofle est composé de plus de 15% d'huile essentielle et de 70 à 90% d'eugénol, composé antibactérien, antiseptique et antifongique. Il y a, également, entre 9 et 15% d'acétate d'eugénol, qui possède également des propriétés antibactériennes [31].

I.2.4.2 Activités antifongiques

L'huile essentielle de clou de girofle possède une puissante activité antifongique contre les pathogènes fongiques opportunistes, comme le *Candida albicans*, le *Cryptococcus neoformans* ou l'*Aspergillus fumigatus*. Elle a été particulièrement efficace sur un modèle expérimental de vaginite murine sur un modèle animal [32].

I.2.4.3 Activités antivirales

L'huile essentielle de *S. aromaticum* a un effet inhibiteur sur : herpès simplex virus, elle exerce aussi des effets sur les virus plusieurs niveaux : sur la fusion des cellules virales,

anti- HCV protéase dans le traitement de l'hépatite virale, inhibition de la synthèse de l'ADN viral [32].

I.2.4.4 Activités anti inflammatoires

Cette l'huile provoque une réduction de l'inflammation (induite par injection de carragénine au niveau de la patte du rat), inhibition des prostaglandines, leucotriènes, du chimiotactisme des leucocytes ainsi une inhibition de la synthèse des radicaux libres par les leucocytes [32].

I.2.4.5 Anti cancérigènes

L'huile essentielle de clou de girofle a été étudiée comme un agent potentiel anti cancérigène [33].

I.2.4.6 Soin buccale

L'HE élimine les sarcomes épidermoïdes des gingivo maxillaires, les métastases intra maxillaires, les sarcomes, les tumeurs bénignes et les ostéites des maxillaires [34].

I.3. Généralité sur la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*)

I.3.1. Origine

Le cannelier est un arbre de la famille des Lauracées qui pousse dans des régions tropicales. Le nom de genre du cannelier est *Cinnamomum*. Il existe de nombreuses espèces en fonction de leur provenance : cependant la véritable cannelle est la cannelle de Ceylan ou *Cinnamomum zeylanicum* Blume ou *C. verum* Nees produite au Sri Lanka [35].

La casse ou cannelle de Chine, *Cinnamomum cassia* Nees ou *C. aromaticum* Nees, Originaire de Chine et du Japon est une espèce voisine qui possède pratiquement les mêmes propriétés thérapeutiques et qui fournit une cannelle de qualité inférieure [36].

I.3.2. Classification botanique

Le tableau Tableur I.3 ci-dessous illustre la classification botanique de cannelle

Tableur I.3 : classification de cannelle [37]

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angnoliopside
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Magnolidae
Ordre	Lurales
Famille	Lauraceae
Genre	Cinnamomum
Espèce	Cinnamomumzeylanicum

I.3.3. Description :

Arbre toujours vert, à écorce épaisse et rugueuse.les feuilles sont simples, entière, insérées enhélice. L'inflorescence est une grappe très ramifiée de fleurs blanchâtres, régulièreet à 6 pétales. Le fruit est une baie rassemblant à celle du laurier noble [38].

Les branches sont coupées pour la récolte de l'écorce qui sera mise ensuite à sécher aprèsl'avoir dépouillée de son épiderme. En séchant, elle s'enroule sur elle-même, formant desbâtonnets friables ressemblant à des tubes [39].



Figure I.3: lacannelle

I.3.4.Propriétés de cannelle

Du fait du grand nombre de ses propriétés, la Cannelle est indiquée dans un grandnombre de pathologies ou de désordres organiques et fonctionnels.

En usage interne, elle est indiquée dans l'asthénie, les courbatures fébriles, lagrippe, les affections dues au refroidissement et les syncopes. En Inde comme enEurope, la Cannelle

est utilisée pour « réchauffer » l'organisme en cas derefroidissement, souvent en association avec le gingembre. Elle stimule la circulation,notamment périphérique (doigts et orteils).

- Mais elle est aussi employée dans les désordres intestinaux de toute sorte comme : lesinfections intestinales (choléra), l'atonie gastrique, les digestions lentes, les parasitesintestinaux, les spasmes digestifs, les colites spasmodiques et les diarrhées.
- La plante peut favoriser l'arrivée des règles. En Inde, elle est utilisée commecontraceptif après l'accouchement. Elle peut être indiquée aussi dans les métrorragies, etles hémoptysies.

Elle était autrefois, très recommandée en saisons froides aux mélancoliques, auxinsuffisants digestifs, aux vieillards.

En usage externe, la Cannelle est utilisée pour combattre la pédiculose, la gale etsoigner les piqûres de guêpe et les morsures de serpent.

Les études scientifiques modernes confirment les usages traditionnels de lacannelle et ses principes actifs et ajoutent d'autres propriétés pharmacologiques:

- Lesextraits aqueux et hydro-alcooliques présentent un effet antidépressif [40].
- antiasthmatic par diminution de l'inflammation pulmonaire et/ou la réaction allergique [41].
- Antifongique, antibactérien et antioxydant [42-44].
- effetantiparasitaire sur les poux humains et leurs œufs (lentes) [45].
- Antiviral [46].
- cytotoxique sur des cellules cancéreuses humaines et provoquel'arrêt de la croissance de cellules leucémiques [47-49].
- protection des dommages oxydatifs et inflammatoires induitspar les radiations gamma [50].
- protecteur gastrique antiulcéreux [51].
- Analgésique [52].
- anti-arthrite et anti-inflammatoire sans effet ulcérogène [53].
- le cinnamaldéhyde est un antidiabétique potentiel par voie orale en agissant comme hypoglycémiant et hypolipémie émiant [54].
- l'extrait aqueux agit aussi comme antidiabétique [55].

En usage vétérinaire l'huile est antibactérienne contre certains germesresponsables de la mastite (mammite) qui est l'inflammation des glandes mammaires [56].

L'huile extraite par CO₂ supercritique prévient le brunissement enzymatique et par conséquent c'est un bon conservateur des aliments [57]. De plus l'huile possède un effet herbicide et protecteur des cultures contre les insectes et les champignons [58,59] et un effet insecticide sur les charançons nuisibles des graines en stocks [60].

I.4. Activité antioxydant

Considérant d'une part l'importance nutritionnelle des antioxydants dans la prévention de plusieurs maladies, et d'autre part, leur rôle physiologique potentiel dans la protection des plantes contre les dommages causés par les DRO lors de stress oxydant, il est nécessaire de disposer de méthodes permettant d'évaluer de la manière plus précise possible la CA globale d'un aliment ou d'une plante (de ses tissus ou organes).

Cependant, à cause de la complexité des processus d'oxydo-réduction impliqués et la nature diversifiée à la fois des DRO et des antioxydants, il n'existe aucune méthode universelle par laquelle la capacité antioxydante CA peut être exprimée d'une façon précise. Plusieurs méthodes ont été développées pour estimer cette capacité antioxydante. Leur principe de fonctionnement se base sur la réaction fondamentale d'oxydo-réduction impliquant soit un transfert d'électron soit un transfert d'un atome d'hydrogène [61].

Il existe plusieurs tests pour la mesure de l'activité antioxydante, mais nous soulignons le test DPPH. Dans le tableau I.4 on retrouve les mécanismes réactionnels, les avantages et inconvénients de test DPPH

Tableau I.4 : les mécanismes réactionnels, les avantages et inconvénients de test DPPH [62,63].

Mécanismes réactionnels	Transfert d'électron majoritaire
Nature des molécules testées	Hydrophiles et lipophiles
Expression des résultats	IC ₅₀ et/ou en mg ou μ mol équivalent Trolox [®]
Avantages	-Très facile à mettre en œuvre -Peu coûteux
inconvénients	-Encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires -Interférences possibles à 515nm -Forte dépendance au PH et au solvant -Radical inexistant in vivo

I.5. Activité antibactérienne

I.5.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles

L'activité antibactérienne s'exerce de 2 manières différentes :

- Activité létale bactéricide : elle rend perméable la membrane du micro- organisme, provoquant une fuite d'ion K⁺, ce qui implique la perte de l'osmose de la cellule suivi de la mort du micro-organisme.
- Activité inhibitrice ou bactériostatique : empêche la croissance du micro-organisme [64].

I.5.2. Souches bactériennes

I.5.2.1 Escherichia coli

Escherichia coli est un bacille à gram négatif [65], de forme non sporulée, mobile [66], les bactéries E. coli constituent la majeure partie de la flore microbienne aérobie du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Certaines souches sont capables de déclencher des infections spontanées des voies digestives ou urinaires ou bien encore des méningites néonatales. D'autres souches appartiennent à la flore commensale peuvent être responsables

d'infections opportunistes variées, surtout chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies [65].

I.5.2.2 *Pseudomonasaeruginosa*

Il s'agit d'un petit bacille gram positif ; Cette bactérie préfère les milieux humides et on la trouve quelquefois au niveau de la peau, de l'appareil respiratoire supérieur, de l'oreille externe et du tube digestif chez l'individu sain. Ce sont essentiellement les individus qui ont reçu des antibiotiques [67].

Les infections sont le plus souvent des infections d'origine nosocomiale. Ce terme concerne tout ce qui est relatif aux hôpitaux. Plus généralement, il est employé pour une maladie contractée lors d'une hospitalisation[68].

I.5.2.3 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est l'espèce la plus pathogène au sein du genre *Staphylococcus*. Il fait partie des germes les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine. On le retrouve aussi bien dans les milieux communautaires qu'hospitaliers, il est au deuxième rang des infections nosocomiales derrière *Escherichia coli* et au deuxième des intoxications alimentaires après les salmonelles. Il intéresse un très grand nombre de sites infectieux et peut être isolé au laboratoire dans tous les types de prélèvements. On le retrouve dans des infections aussi bien locales qu'invasives dont l'issue clinique [69].

I.5.2.4 *Yersinia*

Le genre *Yersinia* est un grand groupe bactérien particulièrement important qui appartient à l'embranchement de *Proteobacteria* et à la famille des *Enterobacteriaceae* et comprend une dizaine d'espèces ubiquitaires [70]. Yersin a nommé ce genre après son professeur après la découverte de l'agent de la peste en 1894 [70]. Ces organismes sont des bâtonnets Gram négatifs, pléomorphes courts, qui peuvent présenter une coloration bipolaire. Ils ne forment pas de spores et sont catalase positive, oxydase négative et micro-aérophiles ou anaérobies facultatifs [70].

I.6.Pommade

I.6.1.Définitions

Les pommades sont des préparations de consistance molle, obtenues par le mélange d'une substance médicamenteuse avec un excipient approprié ; elles sont appliquées sur la peau soit dans le but d'administrer des médicaments par voie dermique, ou pour obtenir une action locale superficielle. Les pommades qui contiennent des résines sont appelées des onguents et celles renfermant une forte proportion de poudres sont des pâtes dermiques. Les baumes sont des pommades douées d'une propriété antalgique et anti-inflammatoire. Les crèmes sont des préparations de consistance liquide résultant de la dispersion d'un liquide sous forme de fines gouttelettes (huile) au sein d'un autre liquide non miscible (eau) [71]. Ces sont des émulsions. Les gels sont des préparations de consistances solides constitués à l'aide d'agents gélifiants.



Figure I.4: pommade

I.6.2. Intérêts thérapeutiques des pommades

Les pommades en plus de leurs actions émollientes et protectrices sur la peau, règlent le potentiel d'hydrogène (PH) cutané à la normale. Elles ont une action générale par voie cutanée sans passer par le foie. En plus de leur application dermique, elles peuvent être appliquées sur les muqueuses rectales, vaginales, conjonctivales [72].

I.6.3.Excipient

On appelle excipient, toute substance sans activité thérapeutique spéciale permettant l'incorporation des médicaments. Les excipients pour pommades peuvent être d'origine naturelle ou synthétique. Selon la nature de l'excipient, la préparation peut avoir des

propriétés hydrophiles ou hydrophobes [73]. Elle peut contenir des additifs appropriés tels que les antimicrobiens, les agents stabilisants, les émulsifiants, les épaississants. D'où leur classification suivante non exhaustive.

I.6.4. Classification des pommades

I.6.4.1 Les pommades hydrophobes ou lipophiles

Ces pommades n'absorbent que de petites quantités d'eau. Les excipients les plus communément utilisés pour leur préparation sont : la vaseline, la paraffine liquide, la paraffine solide, les huiles végétales, les graisses animales, les glycérides synthétiques, les cires et les polyalkylsiloxanes liquides [74]. Dans ce groupe la vaseline, la paraffine solide et la paraffine liquide sont inscrites dans la pharmacopée française et sont obtenues par traitement approprié de certaines fractions d'un pétrole brut convenable. Les pommades absorbant l'eau Elles peuvent absorber de quantités importantes d'eau. Leurs excipients sont ceux de pommades hydrophobes dans lesquels sont incorporés des émulsifiants de type eau dans huile (E/H) tels que la graisse de laine, les alcools de graisses de laine, les esters de sorbitane, les mono glycérides et des acides gras. A la pharmacopée française figure une monographie des alcools de laine constituée par un mélange de stérols et d'alcools aliphatique .

I.6.4.2 Les pommades hydrophiles

Ce sont des préparations dont les excipients sont miscibles dans l'eau. Elles sont constituées par des mélanges de polyéthylène glycols (macrogols) liquides et solides et peuvent contenir de quantités appropriées d'eau [75].

I.6.5. Contrôle de qualité des pommades

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

L'observation des caractères macroscopiques des pommades surtout la consistance, la couleur, l'odeur et la stabilité ; la vérification de l'homogénéité ; la mesure du potentiel d'hydrogène (PH) ; l'établissement du profil chromatographique par des méthodes chromatographiques [76].

Référence

- [1].Marchand L., 2002: Cancer preventive effects of flavonoids – a review. Biomed.Pharmacother. Vol. 56, pp: 296–301.COTTIN, R, 2002. Citrus of the World.A Citrus Directory.SRA INRA-CIRAD (éd),France.
- [2].Halliwell B., 1996: Antioxidants in human health and disease. Ann. Rev. Nutr., Vol. 16, pp:33–50.
- [3].Rao A.V. etRao L.G., 2007: Carotenoids and human health. Pharmacol. Res. Vol. 55, pp: 207 – 216.
- [4].Faites cadeau de ce mini-guide à qui vous voulez. Il vous est offert par: www.mes-remedes.com (bienfaits ducitron).
- [5].Minh Tu N.T., Thanh L.X., Une A., Ukeda H. et Sawamura M., 2002 : Volatile constituents of Vietnamesepummelo, orange, tangerine and lime peeloils. Flavour Fragrance J. Vol. 17, pp : 169 – 174.
- [6].Chutia M., Bhuyan D.P., Pathak M.G., Sarma T.C. et Boruah P., 2009 : Antifungal activity and chemical composition of Citrus reticulata Blanco essential oil against phytopathogens from North East India. LWT Vol. 42, pp:777–780.
- [7].Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S. etRadice M., 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods.Food Chem. 91,621–632.
- [8].PADRINI, P et LUCHERONI, M.T., 1996. Le grand livre des huiles essentielles- guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences. Ed : De Vecchi,Paris.
- [9].Débuigine G. et Couplan F., 2008. Petit Larousse des plantes qui guérissent. Ed : Larousse, Paris. p895.

- [10]. Gollouin F., Tonelli N. 2013. De fruits et de graines comestibles du monde entier. Edition Brigitte PeyrotPoos, Paris, La voisier SAS. PP.186-195.
- [11]. BLANCKE, R., 2001. Guide des fruits et légumes tropicaux. Ed: Eugen Ulmer, Paris. 288p.
- [12]. Bachés B.M. 2011. Agrumes comment les choisir et le cultiver facilement. Editions Eugen Ulmer, 8 Rue Blanche, 75009 Paris. PP.6-8-9-11-63.
- [13]. BARDEAU F. (2009). Les huiles essentielles: Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Editions Lenore, 315.
- [14]. Kalembe D. et Kunicka A., 2003.-Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry. 10:813-829.
- [15]. Saint Laumer D.J.Y., Frérot E. & Herrmann A., 2003. Controlled release of perfumery alcohols by neighboring-group participation. Comparison of the rate constants for the alkaline hydrolysis of 2-acyl-, 2-(hydroxymethyl)-, and 2- carbamoyl benzoates; Helvetica Chimica Acta 86:2871-2899.
- [16]. Oussou K.R., 2009. Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p.
- [17]. RICHARD F., 1992. Manuel des corps gras. Paris, Ed : Lavoisier, Tec. et Doc., p: 1228-1241
- [18]. CHATHAPHON, S., CHATHACHUM, S et HONGPATTARAKERE, T, 2008. Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against food-related microorganisms. J. Sci. Technol. 30, 125-131.
- [19]. LIS-BALCHIN, M, 2002. Lavender: the genus Lavandula. Taylor and Francis, London. p: 37, 40, 50, 155-200.

- [20]. JazetDongmo Pierre Michel, Kuate Jean, FekamBoyom Fabrice, Ducelier Daniel, Damesse François, AmvamZollo Paul Henri, Menut Chantal, Bessière Jean- Marie. 2002. Composition chimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de Citrus sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*. *Fruits*, 57 (2) :95-104.
- [21]. Cheng, S. S., Liu, J. Y., Tsai, K. H., Chen, W. J., & Chang, S. T. (2004). Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum mosmophloeum* provenances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 4395–4400.
- [22]. Burt, S. A., & Reinders, R. D. (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. *Letters in Applied Microbiology* 36(3), 162-167.
- [23]. Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 2ème Ed. Tec & Doc. Lavoisier, Paris. 623p.
- [24]. Ngassapa, O., Runyoro, D. K. B., Harvala, E., & Chinou, I. B. (2003). Composition and antimicrobial activity of essential oils of two populations of Tanzanian *Lippia javanica* (Burm.F.) Spreng (Verbenaceae). *Flavour and Fragrance Journal* 18, 221-224.
- [25]. Milijaona, R., Rasidimanana, V., Rabarison, H., Cheplogoi, P. K., Ratsimbason, M., Mulholland, D. A., & Maucière, P. (2003). Plant traditionally prescribed to treat tazo (malaria) region of Madagascar *Malaria journal*, 2, 25.
- [26]. Skold M, Karlberg AT, Matura M, Borje A., 2006. The fragrance chemical beta-caryophyllene-air oxidation and skin sensitization. *Food Chem Toxicol* 44: 538– 545.
- [27]. Sophie, Barbelet., 2015. le giroflier : historique, description et utilisation de la plante et de ses huiles essentielles. Vol5. P22-26.
- [28]. Mathieu Deshaies., 2013. Le clou de girofle à la rescousse, 165 Boulevard Springer, 14p
- [29]. Richard, H. Loo, A., 1992. Nature, origine et propriétés des épices et aromates bruts. In Richard H (Coordonnateur) *Epice et Aromates*. Tec et Doc - Lavoisier, Paris.

[30]. Bruneton J., 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

[31]. Rakotoatimanana, B.V. et al., 1999. « Contribution à l'optimisation d'une unité de production d'huiles essentielles », mémoire de fin d'études, Département Génie Chimique, Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo ESPA, Université d'Antananarivo.

[32]. Goetz Pandle Jeune R., 2010. *Syzygium Aromaticum* L., Merrand Perry (Myrtaceae) giroflier, phytothérapie, p 37-43.

[33]. Zheng, G.Q. Kenny, P.M and Lam K.T., 1992. Sesquiterpens from clove (*Eugenitacaryophyllata*) as potentiellanticarcinogenic agent, *J.Nat.Prod*, vol 55. p999-1003.

[34]. Morin, J. Malhuret, R. and Basted, P., 1983. Aromathérapie, Exemple de la réalisation pratique de l'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique, ISSN 0992-9406

[35]. Bruneton J. 1999. Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. 3ème éd. Paris : TEC&DOC et IME Editions.

[36]. Paul I. 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse. 2ème édition. Londres.

[37]. RAZAFINDRAKOTO, 2004, Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne d'extraits d'huile essentielle de l'écorce de cannelier (*Cinnamomum zeylanicum*), Diplôme d'études approfondies de biochimie, 98 pages.

[38]. Ronbi M, Dominique R. 2007. 120 plantes médicinales : Composition, Mode d'action et intérêt thérapeutique. Edition Alpen.

[39]. Trousseau A ; Pidoux H. 1870. Traité de thérapeutique et de matière médicale. 8ème éd. Tome 2. Paris.

[40]. Emamghoreishi, M., Ghasemi F. 2011. Antidepressant Effect of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of *Cinnamomum zeylanicum* in the Forced Swimming Test, *Asian Journal of Psychiatry*, 4S1-S44.

- [41]. Kandhare, A, Bodhankar, S.L., Mohan,V., Thakudesai, P.A., 2013.Toxicological evaluations of type-A procyanidine polyphenols fromcinnamon bark [OP-10]. XXXIIIAnnual Conference of Society ofToxicology (STOX).India for Synergy of Toxicology Research in SAARCCountries Mathura.India.
- [42].Senhaji, O., Faid, M., Elyachioui, M., Dehhaoui, M., 2005. Etude de l'activitéantifongique de divers extraits de cannelle. Journal de Mycologie Medédical,15, pp 220-229.
- [43]. Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M., Corke, H., 2005.Antioxidant capacity of 26spice extracts and characterization of their phenolic constituents. J AgricFood Chem; 20(53), pp7749–59.
- [44]. Singh, G., Maurya, S., deLampasona, M.P., Catalan, C.A.N., 2007. AComparison of Chemical.Antioxidant and Antimicrobial Studies ofCinnamon Leaf and Bark Volatile Oils, Oleoresins and Their Constituents.Food and Chemical Toxicology. 45, pp 1650-1661.
- [45]. Yang, Y.C., Lee, H.S., Lee, H.S., Clark, L.M., Ahn, Y.J., 2005. Ovicidal andAdulticidal Activities of Cinnamomumzeylanicum Bark Essential Oil Compounds and Related Compounds Against Pediculushumanuscapitis(Anoplura: Pediculicidae). International Journal for Parasitology. 35, pp1595-1600.
- [46]. Zhuang, M., Jiang, H., Suzuki, Y., Li, X., Xiao, P., Tanaka, T., Ling, H.,Yang, B., Saitoh, H., Zhang, L., Qin, C., Sugamura, K., Hattori, T., 2009.Procyanidins and Butanol Extract of Cinnamomi Cortex Inhibit SARS-CoVInfection. Antiviral Research.82, pp73-81.
- [47]. Unlu, M., Ergene, E., Unlu, G.V., Zeytinoglu, H.S., Vural, N., 2010.Composition.Antimicrobial Activity and In Vitro Cytotoxicity of EssentialOil from CinnamomumzeylanicumBlume (Lauraceae).Food and ChemicalToxicology.48, pp 3274-3280.
- [48]. Sudan, R., Bhagat, M., Gupta, S., Chitrarakha, Devi, T., 2013. ComparativeAnalysis of Cytotoxic and Antioxidant Potential of Edible Cinnamomumverum (bark) and Cinnamomumtamala (Indian bay leaf).Free Radicals andAntioxidants. 3, pp 70-73.

- [49]. Schoene, N.W., Kelly, M.A., Polansky, M.M., Anderson, R.A., 2009. A Polyphenol Mixture from Cinnamon Targets p38 MAP Kinase-Regulated Signaling Pathways to Produce G2/M Arrest. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 20, pp 614-620.
- [50]. Azab, K.S., Mostafa, A.M.A., Ali E.M.M., Abdel-Aziz M.A.S., 2011. Cinnamon Extract Ameliorates Ionizing Radiation-Induced Cellular Injury In Rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74, 2324-2329.
- [51]. Rafatullah, S., Alqasoumi, S., Al-Dosary, M., Al-Yahya, M., Al-Mofleh, I., 2011. Gastroprotective Effect of a Popular Spice Cinnamon "Cinnamomum zeylanicum" In Rats. *European Journal of Pharmacology*. 668. S.1, e42.
- [52]. Arzi, A., Sarkaki, A., Saeed Najad, S., Nazari, Z., Aghel, N., 2011. Analgesic Effect of Hydroalcoholic Extract of Cinnamomum Zeylanicum in Rat by Formalin Test. *Toxicology Letters*. 205S-S83.
- [53]. Vetel, S., Bodhankar, S.L., Mohan, V., Thakurdesai, P.A., 2013. Anti-Inflammatory and Anti-Arthritic Activity of Type-A Procyanidine Polyphenols from Bark of Cinnamomum zeylanicum In Rats. *Food Science and Human Wellness*. 2, pp 59-67.
- [54]. Subash Babu, P., Prabuseenivasan, S., Ignacimuthu, S., 2007. Cinnamaldehyde – A Potential Antidiabetic Agent. *Phytomedicine*. 14, pp 15–22
- [55]. Abd El Rahman, S.N., Abdel-Haleem A.M.H., AL Mudhaffar H.M., 2010. Anti-diabetic Effect of Cinnamon Powder and Cinnamon Aqueous Extract on Serum Glucose of Rats. *International Journal of Food, Nutrition and Public Health*. 3, 183-197.
- [56]. Fratini, F., Casella, S., Leonardi, M., Pisseri, F., Ebani, V.V., Pistelli, L., Pistelli, L., 2014. Antibacterial Activity of Essential Oils, Their Blends and Mixtures of Their Main Constituents against Some Strains Supporting Livestock Mastitis. *Fitoterapia*. 96, pp 1-7.
- [57]. Marongiu, B., Piras, A., Porcedda, S., Tuveri, E., Sanjust, E., Meli, M., Sollai, F., Zucca, P., Rescigno, A., 2007. Supercritical CO₂ Extract of Cinnamomum zeylanicum: Chemical

Characterization and Antityrosinase Activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55, 10022-10027.

[58]. Tworkoski, T., 2002. Herbicide Effects of Essential Oils. Weed Science. 50, pp 425-431.

[59]. Dayan, F.E., Cantrell, C.L., Duke, S.O., 2009. Natural Products in Crop Protection. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 17, pp 4022-4034.

[60]. Viteri Jumbo, L.O., Faroni, L.R.A., Oliveira, E.E., Pimentel, M.A., Silva G.N., 2014. Potential Use of Clove and Cinnamon Essential Oils to Control the Bean Weevil *Acanthoscelides obtectus* Say. In Small Storage Units. Industrial Crops and Products. 56, pp 27-34.

[61]. Walker D.A., 2001. Like Clockwork - An Unfinished Story. Oxygraphics. p. 11-12.

[62]. Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier et C. Berset (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." LWT - Food Science and Technology 28(1): 25-30.

[63]. Pinelo, M., L. Manzocco, M. J. Nunez et M. C. Nicoli (2004). "Solvent effect on quercetin antioxidant capacity." Food Chemistry 88(2): 201-207.

[64]. Beloud, A., 2003. Plante médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires, p. 144-145.

[65]. Patrick, J., Haines, B., 1988. Training and transfer of fault finding skill. Ergonomics, 31, pp 193-210.

[66]. Stevens, E. J., Armstrong, K.W., Bezar, H.J., Griffin, W.B., Hampton, J.G., 2004. Fodder oats: an overview (Chapter II). Plant Production and Protection, Series No. 33, FAO. Rome.

[67]. Binachi., 2004: Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *thymus vulgaris* L. J. Essent Oil Res 16(1), p69-70.

[68]. Davet, P. Rouxel .F., 1997. Détection et isolement des champignons du sol, Paris. 147p.

[69]. Guillaume VIEU., 2014. Diversité génétique des isolats de *Staphylococcus aureus* producteurs de toxine de Panton-Valentine isolés au CHU de Toulouse. Etude de 37 cas de patients à l'hôpital des enfants, Université Toulouse, 107p.

[70]. Bernard D.D., Renato, D., Herman N, E., Harold S, G. (1990). Microbiology: fourth edition. Lippincott Company, J. B: United States of America. 601- 603p. [8]-Brooks, G. Butel, J., Ornston, N. (1995). Medical Microbiology: 20^{ème} édition: Appleton & Lang, London. 239p.

[71]. KOFFI A. & al. : Développement galénique d'une pommade à base d'huile de © ... EDUCI 2007.

[72]. Guede-Guina F., Kra M.A., Vangah-Manda M., Bonga M. (1997). Inhibition par Misco-F2 de la croissance d'*Aspergillus Fumigatus*, *Candida Albicans* et de *Cryptococcus Neoformans* : trois germes opportunistes. Afrique biomédicale ; 2 (1) Pages 111– 6

[73]. Gross, J., Highberger, J. H. & Schmrrr, F. O. (1952). ³Some factors involved in the fibrogenesis of collagen in vitro ´ Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.), 80, Pages 462-46

[74]. Harkness, R. D, ³Biological Functions of Collagen´. Biol. Rev., 1961. Pages 399,

[75]. Bonga G.M., Vangah-Manda M., De Souza C., GuedeGuina F. (1995). Mise en évidence de phytostérols antifongiques contre *Cryptococcus néoformans*. Revue Médicale. Pharmacopée. Africaine ; 9 (1) Pages 21–28

[76]. MR. DEMBÉLÉ DAOUDA LASSINE Docteur en pharmacie (Diplôme D'Etat)
« FORMULATION DE POMMADE ANTALGIQUE ET ANTI-INFLAMMATOIRE À
BASE DE *Securidacalonge pedunculata* Fresen (Polygalaceae) » 2010-2011 .Pages 156

Chapitre II :

Matériel et méthode

II.1. Matière végétale

II.1.1. Citron (*Citrus limon*)

Les citrons (*Citrus limon*) récoltés étaient commercialement mûrs et de couleur jaune à leur réception au laboratoire. Les citrons ont été lavés à l'eau du robinet et pelés, puis les pelures ont été coupées en petits morceaux pour subir le processus d'extraction.



Figure II.1 : Citron (*Citrus limon*)

II.1.2. Clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

Le matériel végétal constitué de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) est importé de l'Indonésie est disponible dans le marché tout au long de l'année, pour son importance dans la tradition culinaire algérienne ainsi que son utilisation dans la médecine traditionnelle.



Figure II.2 : Clous de girofle (*Syzygium aromaticum*)

II.1.3. Cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*)

La cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) est achetée chez l'herboriste local importé du Sri Lanka, nous avons apporté des bâtons de cannelle et l'avons bien broyée pour obtenir de meilleurs résultats.



Figure II.3 : Cannelle (*cinnamomum zeylanicum*)

II.2.Extraction des huiles essentielles

II.2.1.Extraction par hydrodistillation

Le procédé d'hydrodistillation est utilisé pour extraire l'huile essentielle, selon la technologie décrite dans la Pharmacopée Européenne, en se servant d'un dispositif d'extraction type Clevenger à l'aide d'un appareil de type extraction. L'hydrodistillation repose sur la puissance de la vapeur d'eau pour transporter les huiles essentielles.

L'opération consiste à immerger une masse végétale (560.86 g de zeste de citron ; 152.02 g de clou de girofle ; 159.27 g de cannelle) dans un grand ballon en verre contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans remplir le ballon pour éviter le débordement qui sera dû à l'ébullition. Les huiles essentielles ainsi obtenues ont été récupérées puis traitées par un déshydratant : le sulfate de sodium anhydre, pour éliminer les traces d'eau susceptible d'avoir été retenue dans les huiles. L'hydrodistillation a duré plus de 3 heures.

II.2.2. Extraction liquide-liquide

Cette méthode utilisée pour la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) et le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).

Explication le trouble du distillat : le distillat est un mélange hétérogène d'huile essentielle et d'eau (Figure II.4), l'huile essentielle est composée de molécules apolaires alors que le solvant (l'eau) est polaire de ce fait les espèces présentes dans l'huile essentielle sont peu solubles dans l'eau.



Figure II.4: Distillat trouble

La séparation des deux phases a été réalisée par deux étapes différentes :

1. Séparation directe :

Cette méthode est très simple, elle consiste à laisser décanter le distillat pendant 24 h ce qui provoque le dépôt de l'HE sous l'effet de différence des densités, l'HE ainsi séparée de la phase aqueuse est récupérée par aspiration à l'aide d'une seringue stérile.

2. Séparation indirecte (extraction par solvant) :

Il consiste à stimuler la séparation de l'huile de l'eau. Mélanger le chlorure de sodium (NaCl) avec le distillat obtenu par hydrodistillation. La solubilité de l'huile essentielle étant moins importante dans l'eau salée que dans l'eau, le chlorure de sodium favorise la séparation des deux phases. Cette opération a pour nom le *relargage*.

Une seconde extraction a été réalisée, cette fois-ci par un solvant (éther). Le distillat a été transvasé dans une ampoule à décanter et y ajouter d'éther diéthylique, l'ampoule à décanter a été hermétiquement fermée puis, le contenu est agité pendant 3 mn en dégazant de temps en temps, l'ampoule est ensuite déposée sur support pendant quelques minutes pour

laisser décanter le contenu, après décantation deux phases apparaissent dans l'ampoule celles-ci sont recueillies séparément dans des flacons différents.



Figure II.5 : Ampoule à décanter contenant de phase organique et de phase aqueuse

Ajout de sulfate de sodium anhydre à la phase organique (Figure II.6) pour se débarrasser de l'eau résiduelle.

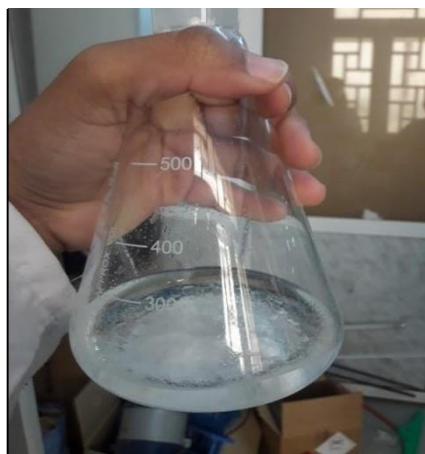


Figure II.6 : Sulfate de sodium anhydre dans la phase organique

Ensuite, la phase organique est filtrée (Figure II.7), pour s'assurer qu'il n'y a pas de sulfate de sodium anhydre.



Figure II.7 : Filtration de phase organique

Le séchage de la phase organique a été effectué à l'aide d'un évaporateur rotatoire (Figure II.8). Cette opération aboutit à l'élimination de l'éther de l'HE.



Figure II.8 : évaporateur rotatoire

Finalement les huiles essentielles obtenues ont été conservées dans des flacons opaques bien scellés à température allant de 4 à 6°C, et ceci jusqu'à leurs analyses.

II.3. Détermination des rendements des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu et la masse du matière végétale initial à traiter. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$R\% = (m/m_i) \times 100$$

R % : Le pourcentage massique des huiles essentielles.

m : la masse d'huile essentielle récupéré (g).

m_i : la masse de matière végétale sèche (g)

II.4. Évaluation du pouvoir antioxydant des extraits

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles a été évalué par un test chimique à savoir : le test Piégeage des radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

II.4.1. Piégeage des radicaux libres 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)

Le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•), fut l'un des premiers radicaux utilisés pour étudier la relation structure/activité-antioxydante des composés bioactifs. Depuis, certaines modifications ont été apportées et un paramètre important a été introduit : la détermination de la concentration inhibitrice CI_{50} qui est définie comme étant la concentration en substrat entraînant une réduction de 50% des radicaux libres initialement introduits [1].

Dans ce test, les antioxydants réduisent le radical diphényl-picrylhydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphényl-picrylhydrazine (**Figure II.9**), dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu réactionnel[2].

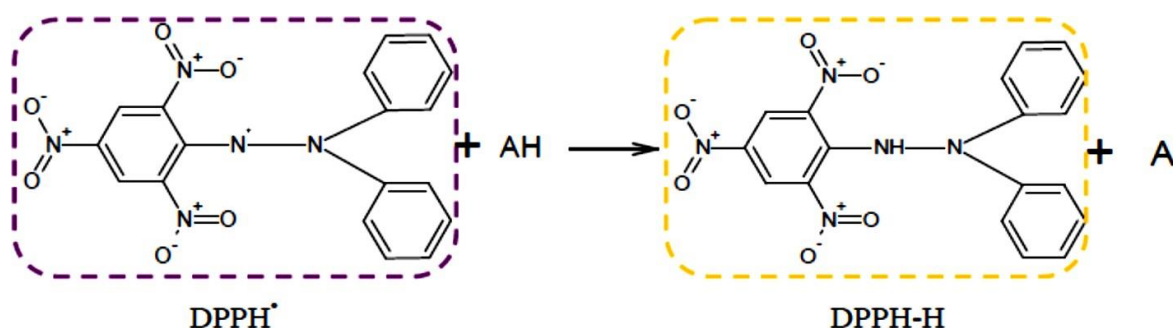


Figure II.9 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).

Pour la mesure de cette activité, la méthode décrite par Tepe, Daferera [3] a été utilisée. Un volume de 120 µL des dilutions des extraits est ajouté en présence d'un 1mL de solution éthanolique de DPPH de concentration 120 µM en parallèle, un contrôle négatif (sans extrait) est préparé. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 517 nm en utilisant un spectrophotomètre Shimadzu UV/Vis 1601.

Le pourcentage d'inhibition (I%) est calculé par la formule suivante :

$$I(\%) = \left(1 - \frac{A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}}\right) \times 100$$

Avec :

I(%) : pourcentage d'inhibition

A blanc : absorbance du contrôle négatif (sans extraits)

A Échantillon : absorbance de l'échantillon testé

II.5. Activité antibactérienne

L'Etude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles a été évalué par la méthode de diffusion en milieu Gélosé.

II.5.1. Souches testées

Pour la réalisation des tests de l'activité antimicrobienne, on a utilisé les souches de références qui sont mentionnées dans le tableau II.1.

Tableau II.1 : Souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne.

Microorganismes	Gram	Code
Escherichia coli	Négative	AFCC872
Pseudomonas aeruginosa	Négative	-----
Staphylococcus aureus	Positif	ATCC23
Yersinia	Négative	ATCC10231

II.5.2. Milieu de culture

Selon l'exigence des souches, nous avons sélectionné comme milieux de culture le suivant :

Pour les bactéries non exigeantes les milieux sont : Gélose Nutritive et Mueller Hinton.

Le milieu Muller-Hilton préparé comme suit : Dissoudre 23g de gélose Muller-Hinton plus 18g agar dans un litre d'eau distillé. Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 20 minutes à 121 C°.

II.5.3. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est obtenu à partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures sur gélose non inhibitrice, quelques colonies bien isolées de la souche à étudier ont été prélevées de manière à réaliser une suspension dans l'eau distillée stérile afin d'obtenir une suspension bactérienne équivalente à celle de l'étalon 0.5 Mac Ferland.

II.5.4. Préparation des disques

Les disques sont fabriqués à partir du papier Wattman N°40, avec un diamètre de 6mm (0.28 cm² de surface) par l'emporte-pièce. Ensuite, ces disques sont mis dans un tube à essai, stérilisés à l'autoclave, puis stockés à une température ambiante (le tube à essai est hermétiquement fermé).

II.5.5. Lecture des antibiogrammes

La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des halos d'inhibitions au tour des disques d'expériences successives. (Figure II.10)

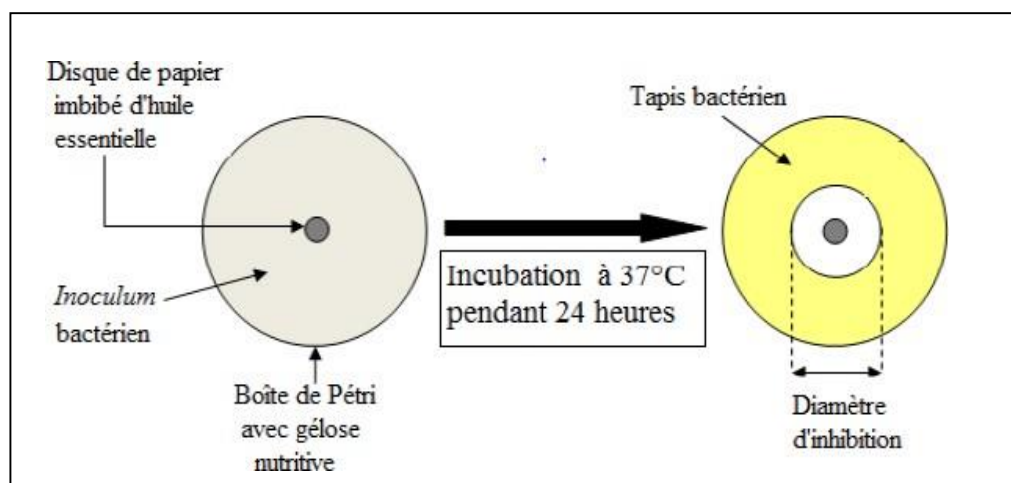


Figure. II.10: Principe de la méthode de diffusion par disque

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est évaluée par la méthode de diffusion sur gélose

- Stérilisation du matériel L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés pour la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.
- Préparation des suspensions bactériennes et fongiques Les tests antibactériens sont effectués à partir de colonies jeunes de 18 à 24 h en phase de croissance exponentielle. Une suspension bactérienne est réalisée dans l'eau distillée stérile pour chaque souche
- Ensemencement des boîtes Tremper un écouvillon sec stérile dans l'inoculum. Eliminer l'excès d'inoculum en pressant l'écouvillon et en le faisant roulet contre les parois du tube au-dessus du niveau de liquide.
- Ensemencer en stries sur toute la surface des boîtes à trois reprises et passer enfin l'écouvillon sur le bord de la gélose. Laisser sécher la boîte pendant quelques minutes avant de déposer les disques sur la gélose. Recharger l'écouvillon chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche.

II.6. Formulation de la pommade

Notre travail a pour objectif la recherche d'une composition optimale pour formuler une pommade anti-inflammatoire avec les propriétés suivantes :

- Aspect : Opaque blanche
- Consistance : Crémeuse
- Homogénéité : Bonne
- Odeur : Conforme à celle de l'odeur de l'essence végétale
- Toucher : Collant étalement facile
- Sens de l'émulsion E/H

La formulation doit être effectuée en mélangeant deux phases ; une dite aqueuse ou polaire (eau) et l'autre dite organique ou apolaire (vaseline et huile de vaseline).

II.6.1 préparation de la pommade

1. La vaseline (40g) est placée dans un cristalliseur.
2. Le cristalliseur est placé sur l'agitateur magnétique.
3. Après avoir fait fondre la vaseline, ajoutez de l'huile de vaseline (20g).
4. L'eau (40ml) est ajoutée.
5. Après une heure, les huiles essentielles (HE de clu de girofle (3g) et HE de cannelle (1g) et HE de citron (20 μ L)) sont ajoutées.
6. Enfin, le tween (1.3g) est ajouté afin d'aider à homogénéiser la phase organique et la phase aqueuse.



Figure. II.11: l'homogénéité de la phase organique avec la phase aqueuse.

II.6.2. Contrôles réalisés sur la pommade

II.6.2.1. Les analyses organoleptiques

Les contrôles organoleptiques consistent à faire une évaluation sensorielle de la pommade (l'appréciation de l'odeur, la couleur et l'aspect de la pommade).

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

II.6.2.2. Les analyses physico-chimiques

a) Essai d'homogénéité (examen macroscopique) :

L'homogénéité est vérifiée par l'étalement de la pommade en couche mince. On vérifie visuellement l'absence d'agréats et la bonne répartition des poudres.

b) Contrôle de stabilité (centrifugation) :

Cet essai effectué sur un échantillon dans une centrifugeuse. Si les essais montrent qu'il n'y a pas de séparation de phase, là on peut dire que notre émulsion est stable.

c) Potentiel hydrogène :

Le potentiel hydrogène, noté pH est une mesure de l'activité chimique des ions hydrogène H^+ en solution. Il existe de nombreuses façons de mesurer le pH d'une solution aqueuse, on peut tout d'abord le mesurer par électrochimie à l'aide d'un appareil appelé pH mètre, on peut aussi utiliser le papier pH pour mesurer l'acidité, c'est un papier imbibé d'un indicateur universel. Quand on le trempe dans une solution, il prend instantanément la couleur correspondant à un certain pH.

Le pH de notre pommade a été déterminé à partir du pH mètre.

Références bibliographiques

- [1]. Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, and C. Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology, 1995. **28**(1): p. 25-30.
- [2]. Sánchez-Moreno, C., Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food science and technology international, 2002. **8**(3): p. 121-137.
- [3]. Tepe, B., et al., Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food chemistry, 2005. **90**(3): p. 333-340.

Chapitre III :

Résultats et discussions

III.1. Rendement en huiles essentielles

Les rendements en huiles essentielles (HE) pour *citrus limon*, *syzygium aromaticum* et *cinnamomum zeylanicum* sont représentés dans la figure III.1 à l'ordre de 0.127%, 5.81% et 1.53% respectivement.

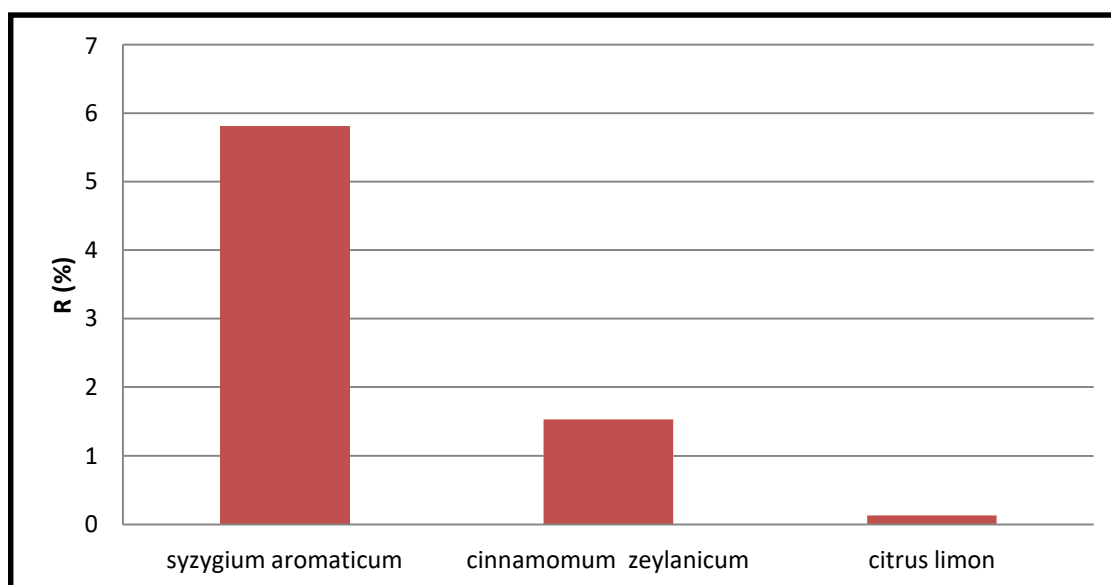


Figure III.1. : Histogramme représentés des valeurs des rendements de l'huile essentielle

Il est clair que le rendement en HE est plus important dans *syzygium aromaticum* que dans *citrus limon* et *cinnamomum zeylanicum*.

La comparaison des rendements obtenus avec ceux de la littérature :

Pour *citrus limon*, le rendement en huile essentielle obtenue 0.127% moins que la valeur obtenue par BLANCO TIRADO[1] qui 0.19%, cette différence peut être liée à plusieurs facteurs tels que la zone géographique de collecte, le climat, le stade de développement et la saison.[2] ont constaté que le rendement en HE du citron augmente au début puis diminue vers la fin de la maturation.

Pour *syzygium aromaticum*, le rendement obtenu 5.81% semble bon par rapport aux normes AFNOR[3](5% à 8%), selon certains auteurs la composition chimique et le rendement en HE varient suivant diverses conditions : la méthode employée, les parties végétales utilisées et les produits et réactifs utilisés pendant l'extraction, l'environnement, le génotype de la plante, son origine géographique, la période de récolte de cette plante, le degré de séchage, les conditions de séchage, la température et la durée de séchage, présence de parasites, de virus et mauvaises herbes [4].

Pour *cinnamomum zeylanicum*, le rendement obtenu 1.53% c'est un bon pourcentage par rapport aux valeurs mentionnées par RAMANOELINA[5] (0.5% à 1.5%), l'épaisseur des écorces peut influencer sur le rendement en huile essentielle, Les écorces sont prélevées sur les troncs ou les branches des canneliers dont les circonférences ainsi que l'épaisseur des écorces varient en fonction de l'âge, de la croissance et du développement de l'arbre [6]. Ce qui permet de dire que, les écorces fines proviennent des canneliers jeunes, des parties jeunes de l'arbre (branches par exemple) et/ou d'un intervalle de récolte trop rapprochée ne laissant pas aux canneliers un temps suffisant pour se régénérer, et celles épaisses, des canneliers âgés et/ou des parties âgées.

La différence entre les teneurs en huile essentielle s'explique par le fait que la répartition des huiles essentielles dans la plante varie selon les organes, les tissus ou encore suivant les stades de développement de ces derniers [7]. En effet, plus la partie prélevée est âgée, plus la teneur en huile essentielle est élevée.

III.2. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydant in vitro des HE de *citrus limon* et de *syzygium aromaticum* et de *cinnamomum zeylanicum* déjà été évaluée par le test précédemment approuvé.

III.2.1 du pouvoir anti-radicalaire par le test DPPH :

L'activité antioxydante in vitro des extraits phénoliques de tous les échantillons a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) représentés par des courbes dans la figure III.2 et la figure III.5.

Les résultats montrent que les huiles essentielles des différents échantillons étudiés possèdent des pouvoirs antioxydants assez importants. Ces pouvoirs sont confirmés par les valeurs faibles de la CI_{50} . Ces valeurs, nous permettent d'évaluer et de comparer l'efficacité de nos extraits. Nous rappelons que plus la valeur de la CI_{50} est faible plus l'extrait est puissant vis-à-vis des radicaux libres.

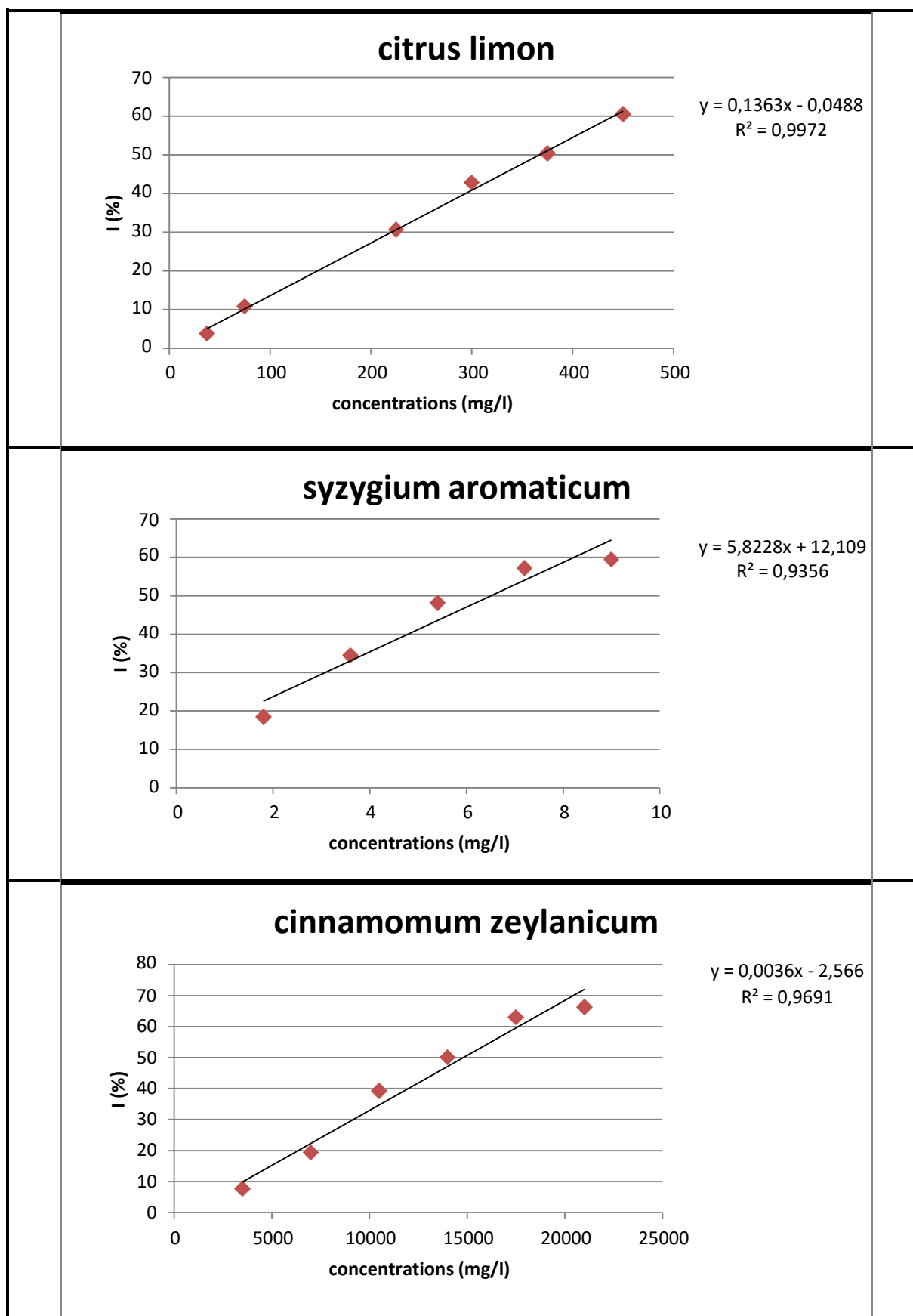


Figure III.2 : Courbes présent le pouvoir antioxydant des l'huiles essentielles individuelles

Les HE des différents échantillons ont montré des valeurs de CI_{50} variant entre 5.9 mg/l et 17167.5 mg/L.

Les huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* possèdent des capacités antioxydants les plus importantes avec des valeurs CI_{50} qui égale à 5.9 mg/L, par rapport celle enregistrer avec les huiles essentielles de *citrus limon* et *cinnamomum zeylanicum*.

Tableau III.1 : Valeurs des IC_{50} des extraits déterminer par le test au DPPH.

Extraits	IC_{50} (mg/l)
<i>Citrus limon</i>	362,43±0.523
<i>Syzygium aromaticum</i>	5,9 ±0.424
<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	17167,5±250.669
<i>Citrus limon</i> / <i>Syzygium aromaticum</i> / <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	10,94±0.002
<i>Citrus limon</i> / <i>Syzygium aromaticum</i>	7,097±0.075
<i>Citrus limon</i> / <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	707,26±1.249
Vitamin C	4.47
BHA	5.5

III.2.2 Etude de l'effet synergique

Les résultats obtenus dans l'étude de la synergie de l'activité antioxydant des différentes associations en HE de *Citrus limon*, *Syzygium aromaticum* et *Cinnamomum zeylanicum* sont illustré dans le tableau III.1. et représenté par la figure III.4

En comparaison, le pouvoir antioxydant des huiles essentielles combiné est modéré par rapport aux pouvoir antioxydant des extraits pris individuellement cela nous permet de conclure qu'il y a effet pas vraiment un effet synergique puissant lors de l'association des HE.

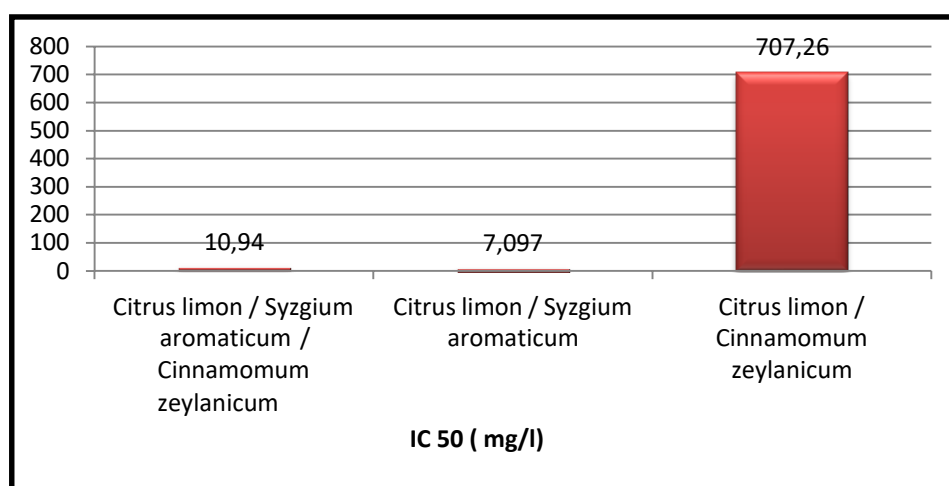


Figure III.4 : Test DPPH ; Histogrammes, exprimés en valeur CI₅₀ µg/mL de l'étude de l'effet synergique des différents mélanges d'HE étudiées.

Cependant la combinaison de tous les huiles essentielles montrent une capacité antioxydants importante qui traduit par une valeur de IC₅₀ égal à 10.94 mg/l, cette valeur est significative par rapport les valeurs IC₅₀ pris individuellement des huiles essentielles de *Citrus limon* et *Cinnamomum zeylanicum* déjà obtenu et qui est traduit par l'apparition de l'effet synergique lors de la combinaison de HE de *Syzygium aromaticum*.

La combinaison de *Citrus limon* avec le *Cinnamomum zeylanicum* et le *Syzygium aromaticum* montre une diminution des capacités antioxydants par rapport les capacités antioxydants des HE pris individuellement qui est traduit par l'apparition de l'effet antagoniste pour les deux associations.

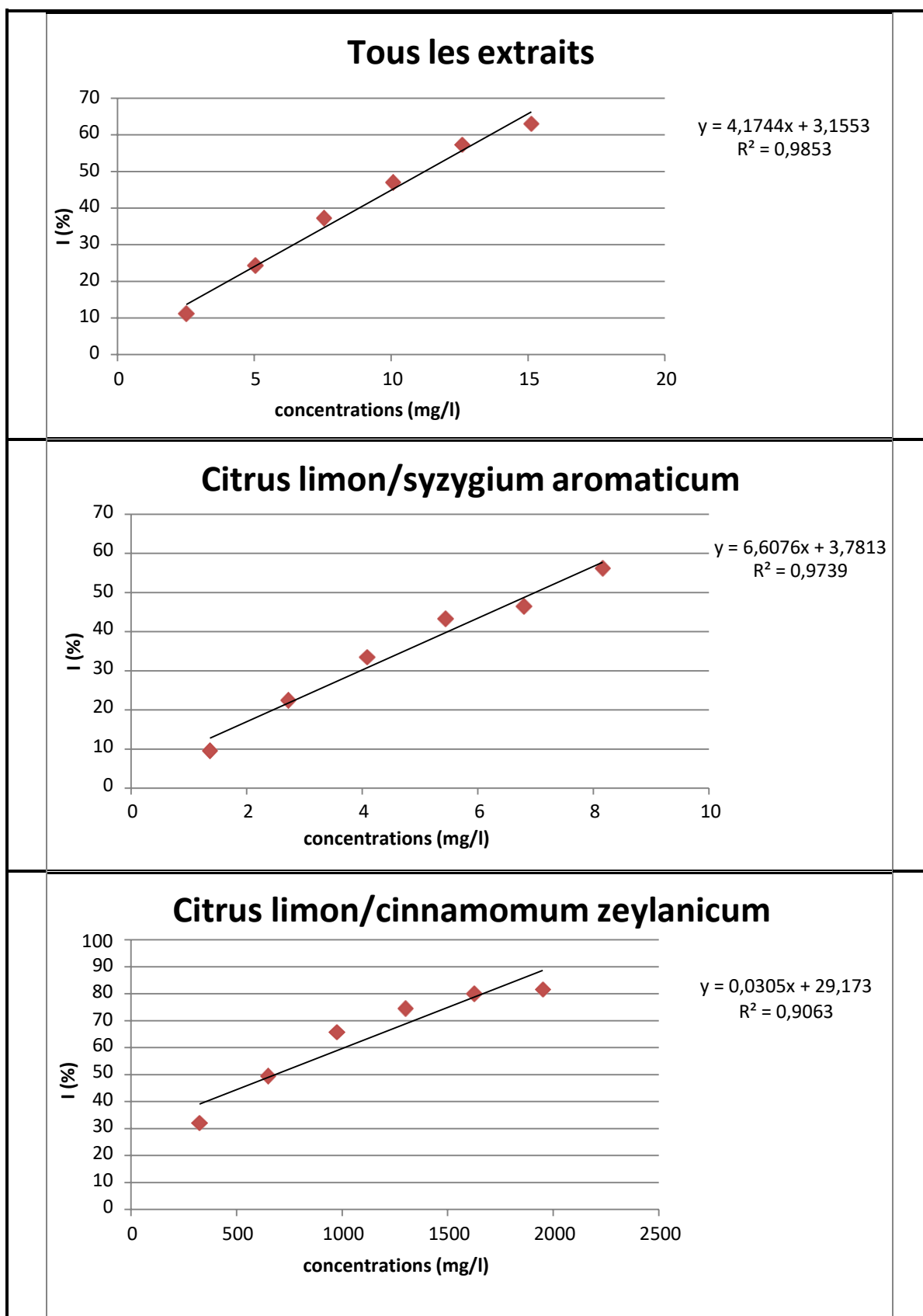


Figure III.5 : Courbes présent le pouvoir antioxydant des huiles essentielles associées.

III.3. Etude de l'activité antibactérienne

III.3.1. Sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion de disque. La classification des souches bactériennes en catégories « sensibles, (S) », « Intermédiaire, (I) » ou « Résistant, (R) » aux antibiotiques est définie par le comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013). Ce qui a permis de définir les différents phénotypes des souches bactériennes étudiées. Le tableau III.2 ci-dessous regroupe les diamètres d'inhibition obtenue avec certains antibiotiques (voir l'annexe A.2).

Tableau III.2 : Diamètres d'inhibition observés par les antibiotiques.

	Gentamycine	Ampicilline	Ciprofloxacine
Echerichia Coli	19	R	30
Staphylococcus aureus	20	16	21
Yersinia	23	R	30
Pseudomonas aeruginosa	22	R	36

III.3.2. Sensibilité aux huiles essentielles : test d'inhibition

Les résultats des tests d'inhibition des huiles essentielles sont regroupés dans le tableau III.3 et représenté par les figures III.6 et III.7.

Tableau III.3 : Les valeurs de diamètre des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles relatives aux souches bactériennes

		Huiles Essentielles		Huiles Essentielles/DMSO	
		<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>
Bactéries	Escherichia coli	11mm	16mm	19mm	-
	Staphylococcus aureus	16mm	36mm	27mm	14mm
	Pseudomonas aeruginosa	10mm	20mm	11mm	-
	yersimia	19mm	40mm	40mm	14mm

La méthode de diffusion nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle des *Syzygium aromaticum* et *Cinnamomum zeylanicum* vis-à-vis des bactéries testées.

Les zones d'inhibition des deux huiles essentielles varient d'une bactérie à l'autre. Les huiles essentielles ont un effet bactéricide sur les différentes souches étudiées.

Le screening des propriétés antimicrobiennes des extraits de *Syzygium aromaticum* a montré qu'ils possèdent une inhibition sur les souches testées. Les extraits sont actifs aussi bien sur les bactéries à Gram négatif que positif.

Les huiles essentielles diluées dans le DMSO de *Syzygium aromaticum* montrent une importante inhibition avec des diamètres supérieurs à 11mm sur *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

L'HE dilué de *Syzygium aromaticum* a donné les plus grandes activités antimicrobiennes avec des diamètres d'inhibition qui attend 40mm. Cette importante bio activité est en relation avec leur teneur élevé en eugénol. Ce composé est connu pour leurs propriétés antimicrobiennes

L'huile essentielle pure de *Syzygium aromaticum* a présenté des inhibitions importantes sur *Staphylococcus aureus* (16mm) et *Yersinia* (19mm).

L'activité des huiles essentielles qui sont des mélanges complexes de plusieurs molécules, sont généralement inférieures à celle exercée par les antibiotiques. Aussi selon la classification de **Duraffourd et al., (1990)**, l'huile essentielle est considérée comme inactive si elle produit des diamètres d'inhibition inférieurs ou égaux à 8 mm, intermédiaire pour des diamètres compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyennement efficace pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm l'huile est très efficace.

Les huiles essentielles pur de *Cinnamomum zeylanicum* ont présenté les plus fortes activités antibactériennes sur *Escherichia coli* (16mm), *Staphylococcus aureus* (36mm), *Pseudomonas aeruginosa* (20mm) et *Yersinia* (40mm).

Les huiles essentielles pures de *Cinnamomum zeylanicum* ont enregistré des diamètres d'inhibition très intéressante par rapport à celle dilué dans DMSO qui ne présente aucune inhibition sur *Escherichia coli* et le *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats montrent qu'ils présentent une activité antibactérienne significative sur le *Staphylococcus aureus* et *Yersinia* avec des diamètres d'inhibition égal à 36 et 40mm respectivement.

Les diamètres générés par les huiles essentielles, sont nettement supérieurs ou égale à ceux produits par la gentamicine, l'ampicilline et ciprofloxacine. Les huiles essentielles de clou de girofle et de cannelle semblent présenter d'intéressantes propriétés antimicrobiennes.

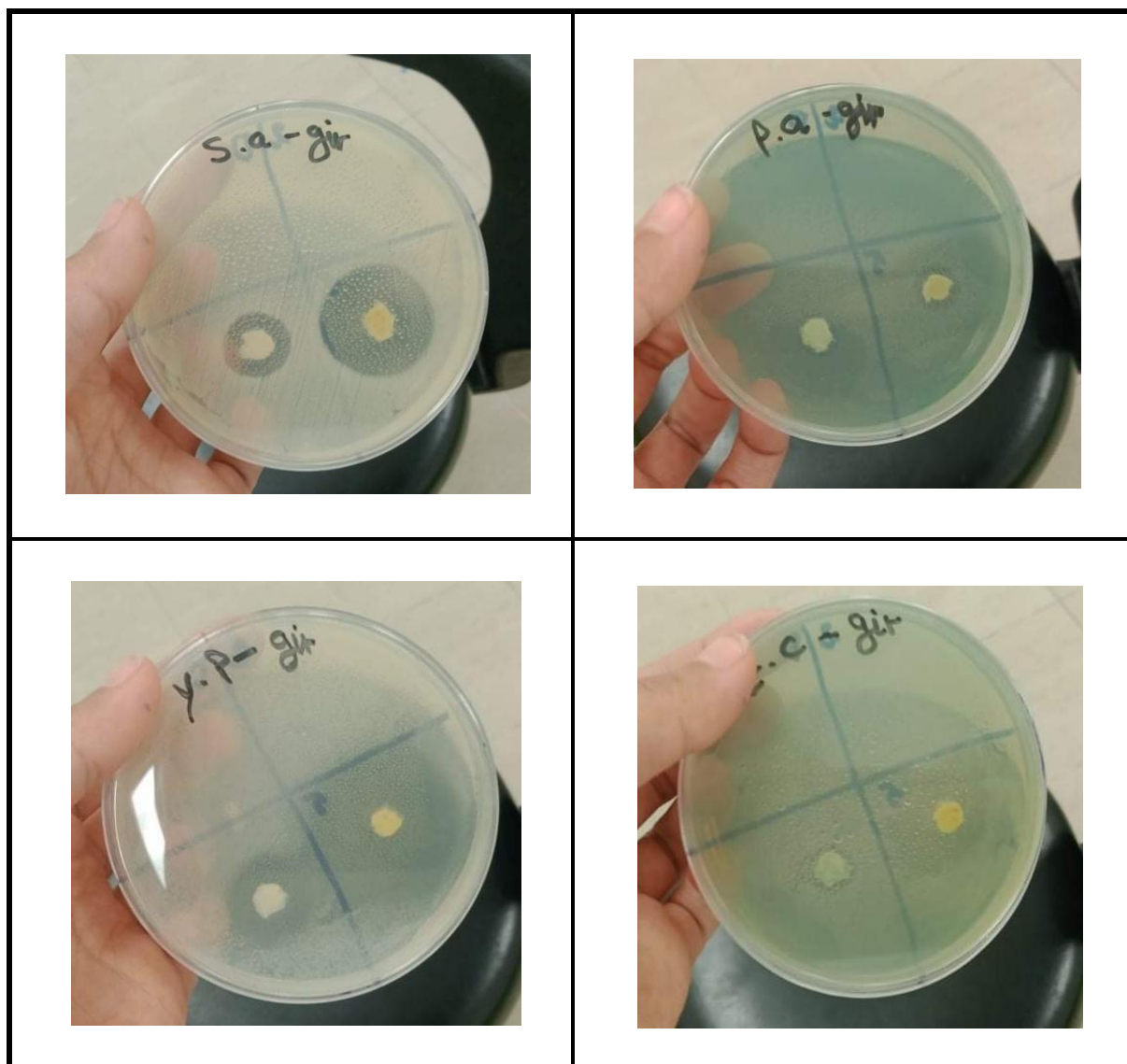


Figure III.6 : Résultat sur les quatre souches de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

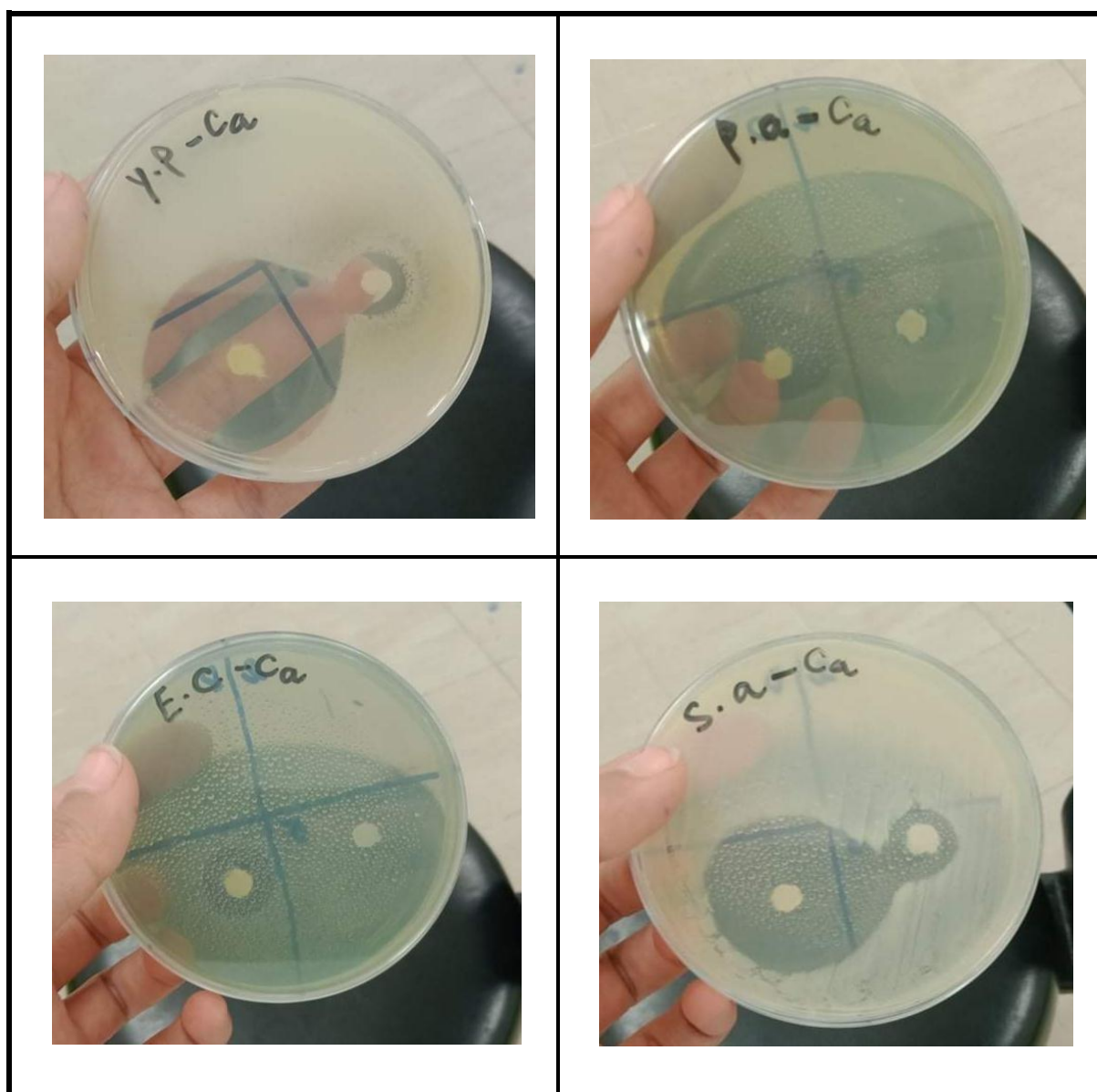


Figure III.7 : Résultat sur les quatre souches de l'huile essentielle de cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*)

D'après **Cosentino et al. [10]**, plus les teneurs en phénols sont élevées, plus l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles est grande. Les composés phénoliques causent des dommages au niveau de la membrane externe des bactéries, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire aux protons et aux ions potassiums, une réduction des réserves de l'ATP intracellulaire, une perturbation de la force proton motrice et une dénaturation des protéines intracellulaires [11]. En ce qui concerne les champignons, le mécanisme de la toxicité phénolique est fondé principalement sur l'inhibition des enzymes fongiques contenant le groupement SH dans leur site actif [12].

Cependant, les phénols ne sont pas les seuls responsables de l'intégralité de l'activité, la totalité de la composition chimique doit être prise en compte. En effet, certaines études ont montré que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles peut être supérieure à celle de ses composés majoritaires testés séparément [13]. Cette dominance d'activité des essences sur celle d'un composant majoritaire confirme bien l'effet de synergie que pourrait apporter les composants minoritaires à l'activité des huiles essentielles [14].

III.4. Caractérisation de la pommade

III.4.1 Les analyses organoleptiques

Les résultats des analyses organoleptiques de notre pommade (Figure III.8) sont :

- Couleur : blanche
- Odeur : l'odeur des clous de girofle
- Aspect : pommade onctueuse et collante



Figure III.8 : Pommade formée

III.4.2 Homogénéité

Après avoir appliqué la pommade sur une surface plane, on remarque à l'œil qu'il n'y a pas de gouttes d'eau, pas de gouttes d'huile ou pas de grumeaux, donc la pommade est homogène.

III.4.3 Contrôles de stabilité

Le teste de stabilité a été effectué par centrifugeuse :



Figure III.9 : La pommade formulée après centrifugation

On remarque que les deux phases ne sont pas séparées (Figure III.9), donc la pommade est stable.

III.4.4 Le potentiel hydrogène

La mesure de pH est une étape importante car la pommade est appliquée directement sur la peau, Pour cela, nous avons procédé à un test à l'aide d'un pH mètre. (Figure III.10)

La valeur de pH mesurée par le pH mètre est : 6.5



Figure III.10 : Mesure par le pH mètre

La valeur du pH obtenu est proche de pH cutané (entre 5.5 et 6), nous pouvons dire que nous avons obtenu une valeur souhaitée.

Références bibliographiques

- [1]. Blanco Tirado, C., Stashenko, E. E., Combariza, M. Y., Martinez, J. R. 1995. Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gaschromatography and gas chromatography-mass spectrometry. J. Chromatogr.A 697, pp.501–513.
- [2]. BOURGOU, S., RAHALI, F, Z., OURGHEMMI, I., SAIDANI TOUNSI, M., 2012. Changes of Peel Essential Oil Composition of Four Tunisian Citrus during Fruit Maturation. The Scientific World Journal, 10p.
- [3]. AFNOR (Association Française de Normalisation)., 2000. Recueil des normes françaises ‘huiles essentielles’. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR, Paris.
- [4]. Naili,N. Kesraoui., 2013. Activité antibactérienne du Cumin velu Ammodaucus.
- [5]. RAMANOELINA A.R.P., 1997, Industries des huiles essentielles, Cours de 5ème Année IAA, ESSA, Université d’Antananarivo.
- [6]. MITCHELL, 2008, Tous les arbres de nos forêts, Laboratoire de matériaux de construction 198pages
- [7]. KÜHNAU J., 1976, The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role inhuman nutrition, World Rev Nutr Diet 24:pp 117-191
- [8]. Kallel, I., et al., Optimization of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) essential oil extraction: evaluation of antioxidant and antiproliferative effects. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2019. **2019**.
- [9]. Farias, P.K.S., et al., Antioxidant activity of essential oils from condiment plants and their effect on lactic cultures and pathogenic bacteria. Ciência Rural, 2019. **49**.

- [10]. Cosentino, S., et al., In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. Letters in applied microbiology, 1999. **29**(2): p. 130-135.
- [11]. Helander, I.M., et al., Characterization of the action of selected essential oil components on Gram-negative bacteria. Journal of agricultural and food chemistry, 1998. **46**(9): p. 3590-3595.
- [12]. Farag, R., et al., Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. Journal of food protection, 1989. **52**(9): p. 665-667.
- [13]. Lahlou, M., Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 2004. **18**(6): p. 435-448.
- [14]. Franchomme, P., L'aromatologie à visée anti-infectieuse. Phytomédecine, 1981. **1**(2): p. 25-47.

Conclusion

La phytothérapie ou soins par les plantes a retrouvé ces dernières décennies un regain d'intérêt considérable, portée par les recettes connues des herboristes et les expériences des guérisseurs, qui constituaient déjà une grande source de connaissances ainsi que la pharmacognosie qui présente aujourd'hui une plateforme essentielle pour les pharmacopées modernes et la médecine.

Dans ce travail a été question de développer une pommade BIO à base d'HE de *citrus limon*, d'HE de *syzygium aromaticum* et d'HE de *cinnamomum zeylanicum* qui a pour indication de nombreuses propriétés thérapeutiques.

Les rendements en huiles essentielles pour *citrus limon* et *syzygium aromaticum* et *Cinnamomum zeylanicum* à l'ordre de 0.127% ,5.81% et 1.53% respectivement, ces pourcentages sont bons par rapport aux critères des auteurs. Cela est dû au fait que l'huile essentielle n'est pas perdue lors de son extraction.

A la lumière des résultats obtenus, concernant l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante du HE de *citrus limon*, HE de *syzygium aromaticum* et HE de *cinnamomum zeylanicum*, ces huiles essentielles ont une forte efficacité.

L'activité antioxydante des huiles essentielles a été évaluée par le test DPPH, les valeurs de IC₅₀ pour HE de *citrus limon* et HE de *syzygium aromaticum* et HE de *cinnamomum zeylanicum* à l'ordre 362.43 mg/l, 5.9 mg/l et 17167.5 mg/l respectivement, Les huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* possèdent des capacités anti oxydantes les plus importantes par rapport celle enregistré avec les huiles essentielles de *citrus limon* et *cinnamomum zeylanicum*. Nous constatons également que l'HE de *syzygium aromaticum* est plus actif si on compare la valeur de IC₅₀ avec les antioxydants de standard (BHA et vitamines C), C'est bien de se passer d'antioxydants de synthèse et de les remplacer par des antioxydants naturels.

Cependant la combinaison de tous les huiles essentielles montrent une capacité antioxydantes importante qui traduit par une valeur de IC₅₀ égal à 10.94 mg/l, cette valeur est significative par rapport aux valeurs IC₅₀ pris individuellement des huiles essentielles de ***Citrus limon*** et ***Cinnamomum zeylanicum*** déjà obtenu et qui est traduit par l'apparition de l'effet synergique lors de la combinaison de HE de ***Syzygium aromaticum***.

Pour l'activité antibactérienne, les résultats ont montré que l'huile essentielle de clou de girofle (*syzygium aromaticum*) a une activité antibactérienne représentée par des diamètres compris entre 10mm et 18.19mm pour les souches bactériennes, pour que les résultats soient bons par rapport aux antibiotiques. De ce fait, l'extrait de clou de girofle présente un large spectre d'activité antibactérienne d'où l'importance de cette huile essentielle de l'utiliser

comme un conservateur, antiseptique très efficace pour empêcher le développement microbien pour préserver la santé. De ce fait, l'huile essentielle de clou de girofle testée peut être utilisée en tant que un antibactérien dans les industries alimentaires.

Les résultats ont également montré que l'huile essentielle de *cinnamomumzeylanicum* également une activité antibactérienne où les diamètres d'inhibitions varient entre 16mm et 40mm pour les souches bactériennes, pour que les résultats soient bons par rapport aux antibiotiques, l'huile essentielle a fait se preuves comme agent antibactérien, ce explique l'utilisation de l'huile essentielle *cinnamomumzeylanicum* dans les préparations cosmétiques, en particulier le traitement des mycoses, des études généralisés ont démontré l'efficacité de huile essentielle de cannelle pour réduire la croissance des bactéries , des moisissures et des levures. Cette activité antibactérienne est principalement fonction de la composition chimique.

La pommade obtenue a été contrôlée à travers plusieurs tests, où nous avons obtenu une pommade homogène et stable caractérisée par l'odeur de clou de girofle et pH=6.5, ce qui est une bonne valeur car elle est proche du pH de la peau. A montré qu'il est conforme aux normes pharmaceutiques.

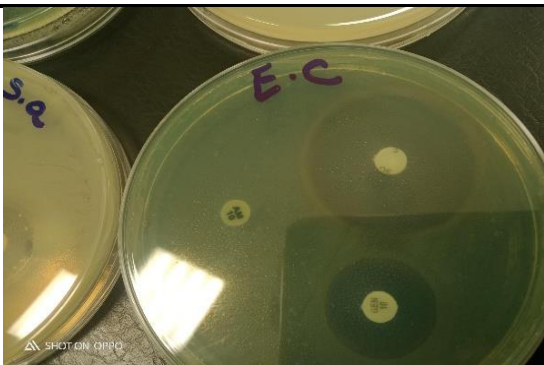
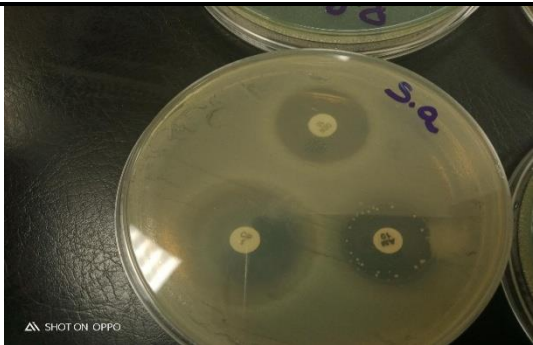
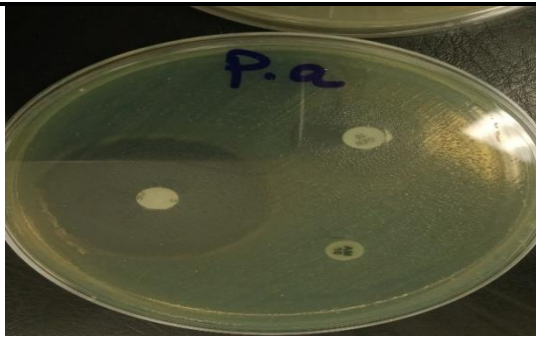
Annexe

Annexe

- A.1. Liste des produits chimiques utilisés pour la réalisation des expérimentations :

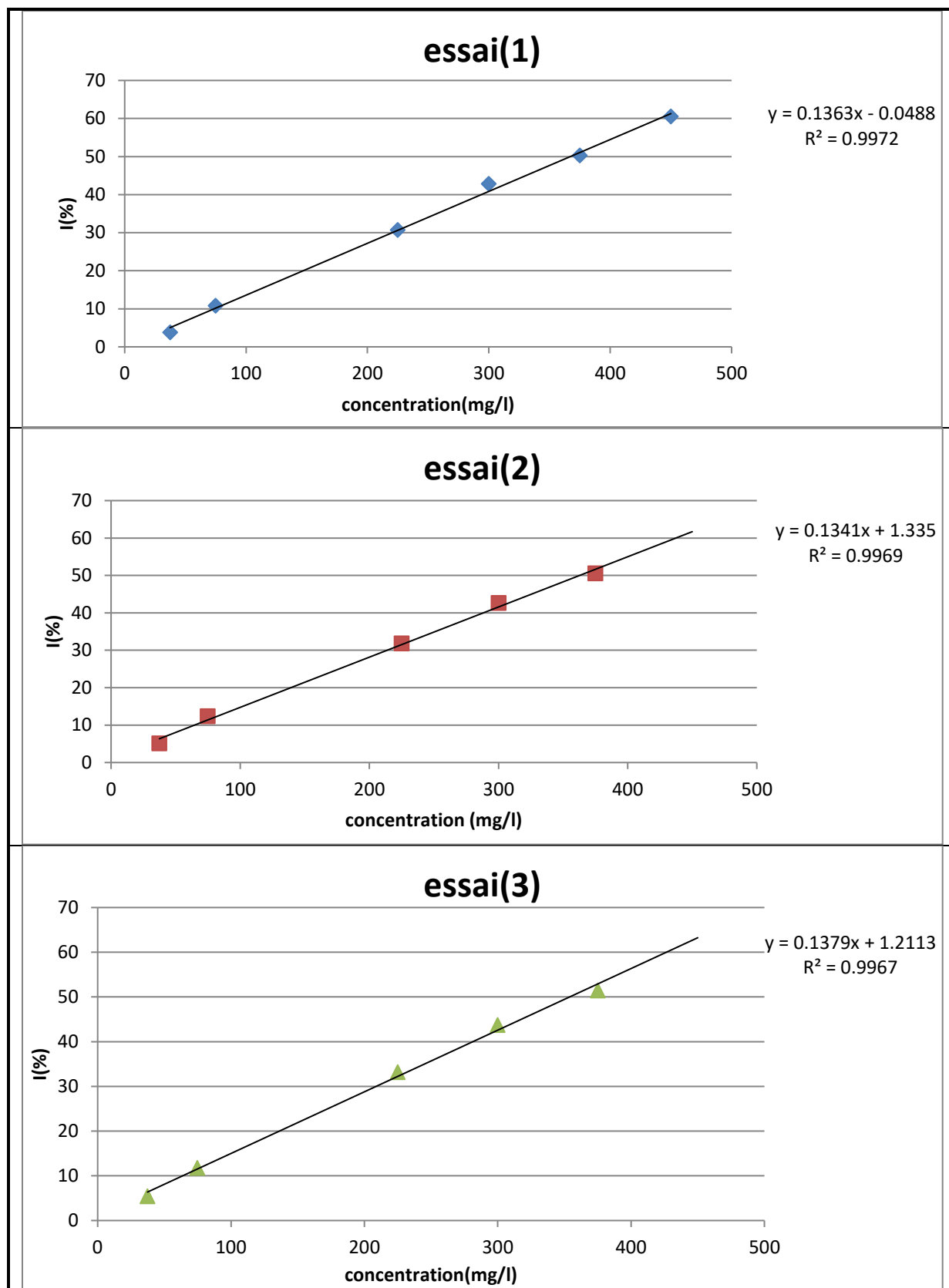
Produit chimique	Pureté
Sulfate de sodium anhydre	≥99%
Méthanol	≥99.9%
2,2-diphényl-1- picrylhydrazyl (DPPH')	≥98%
chlorure de sodium	-----
éther diéthylique	≥99.5%
DMSO (Diméthyle sulfoxyde)	-----

- A.2. Résultat sur les quatre souches de l'antibiotiques (gentamycine ; Ampicilline ; Ciprofloxacine) :

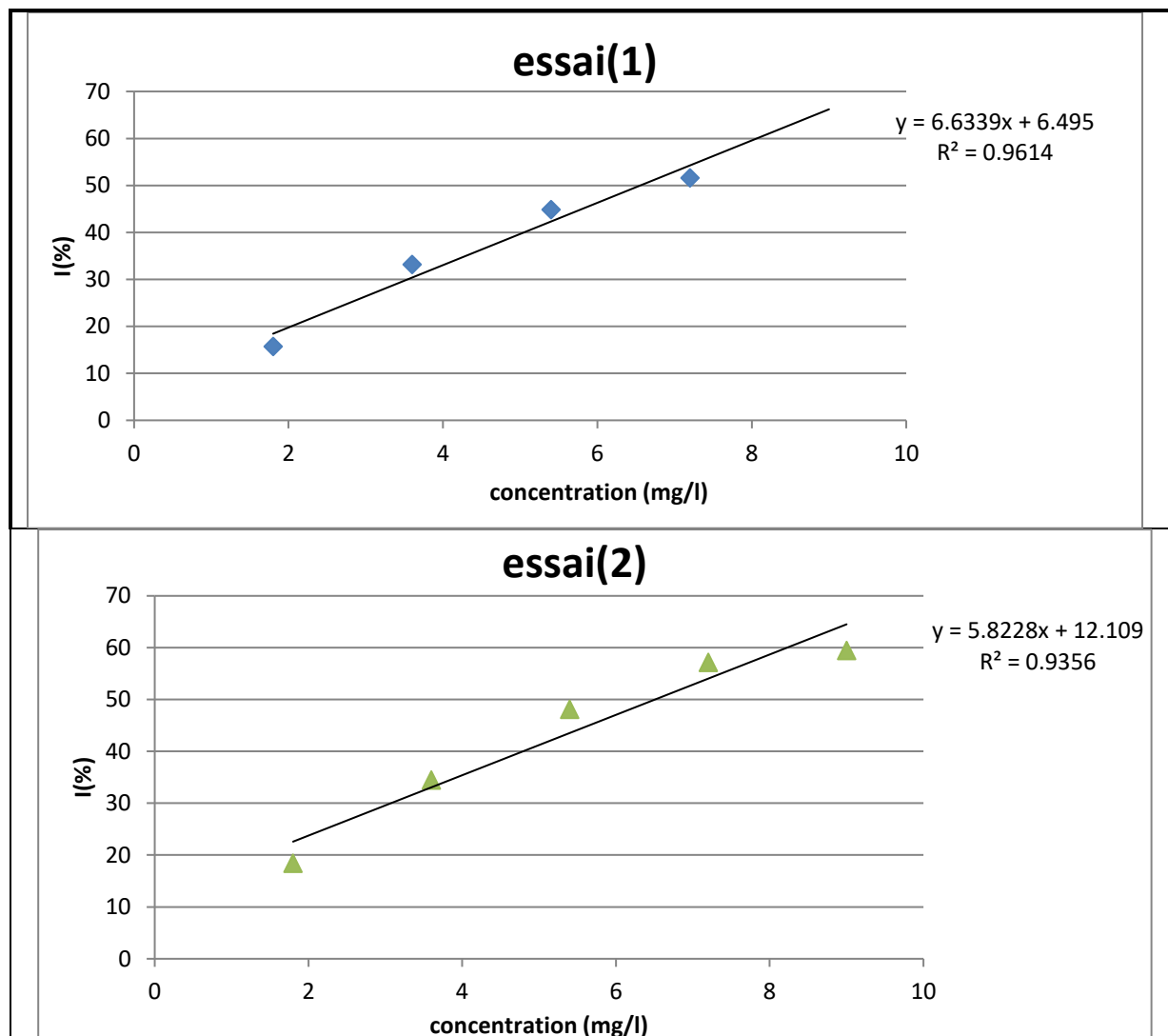
	
Echerichia Coli	Yersinia enterocolitica
	
Staphylococcus aureus	Pseudomonas aeruginosa

Test DPPH :

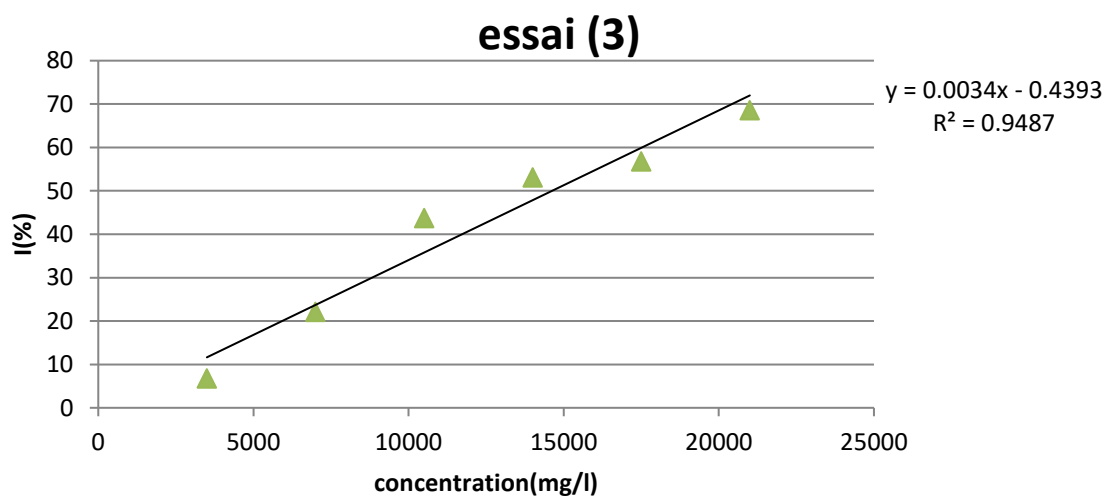
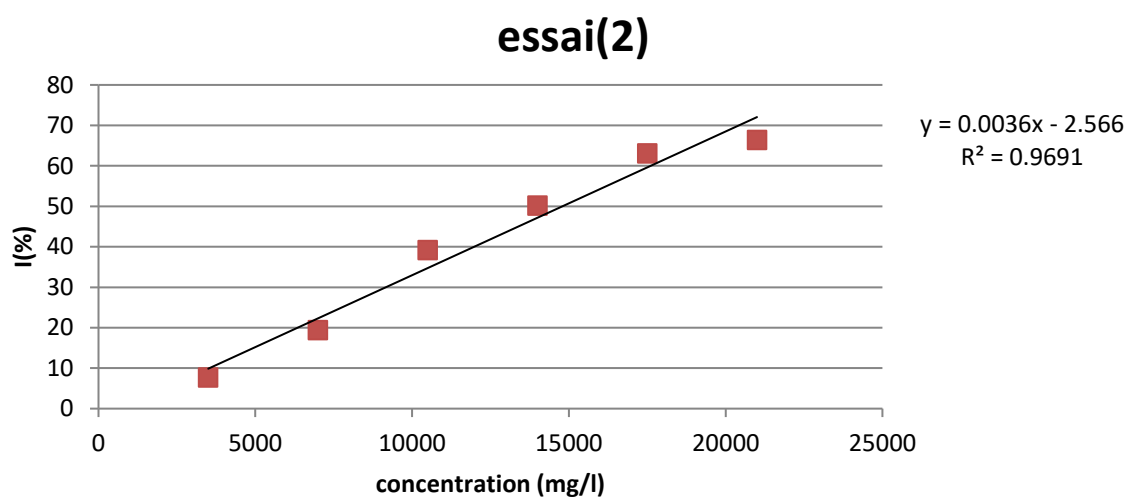
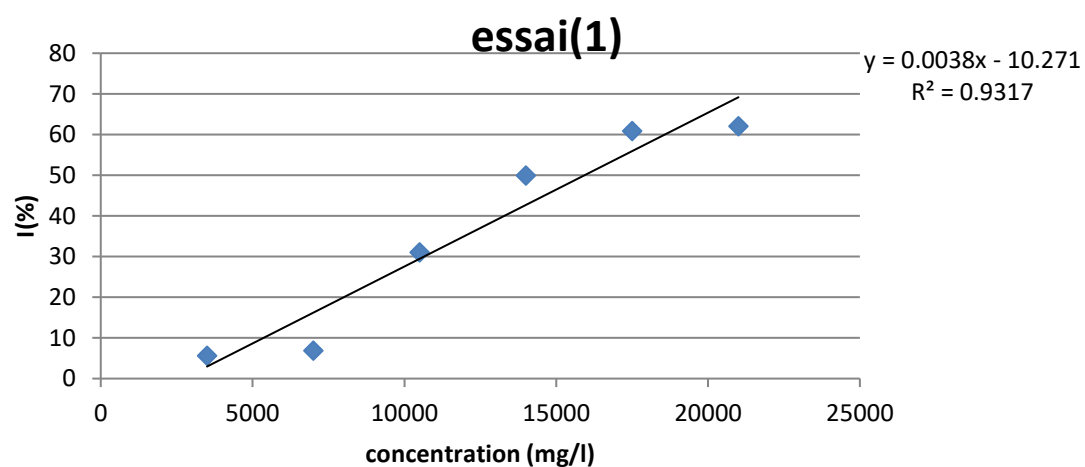
Courbes présent le pouvoir antioxydant des huiles essentielles de citron :



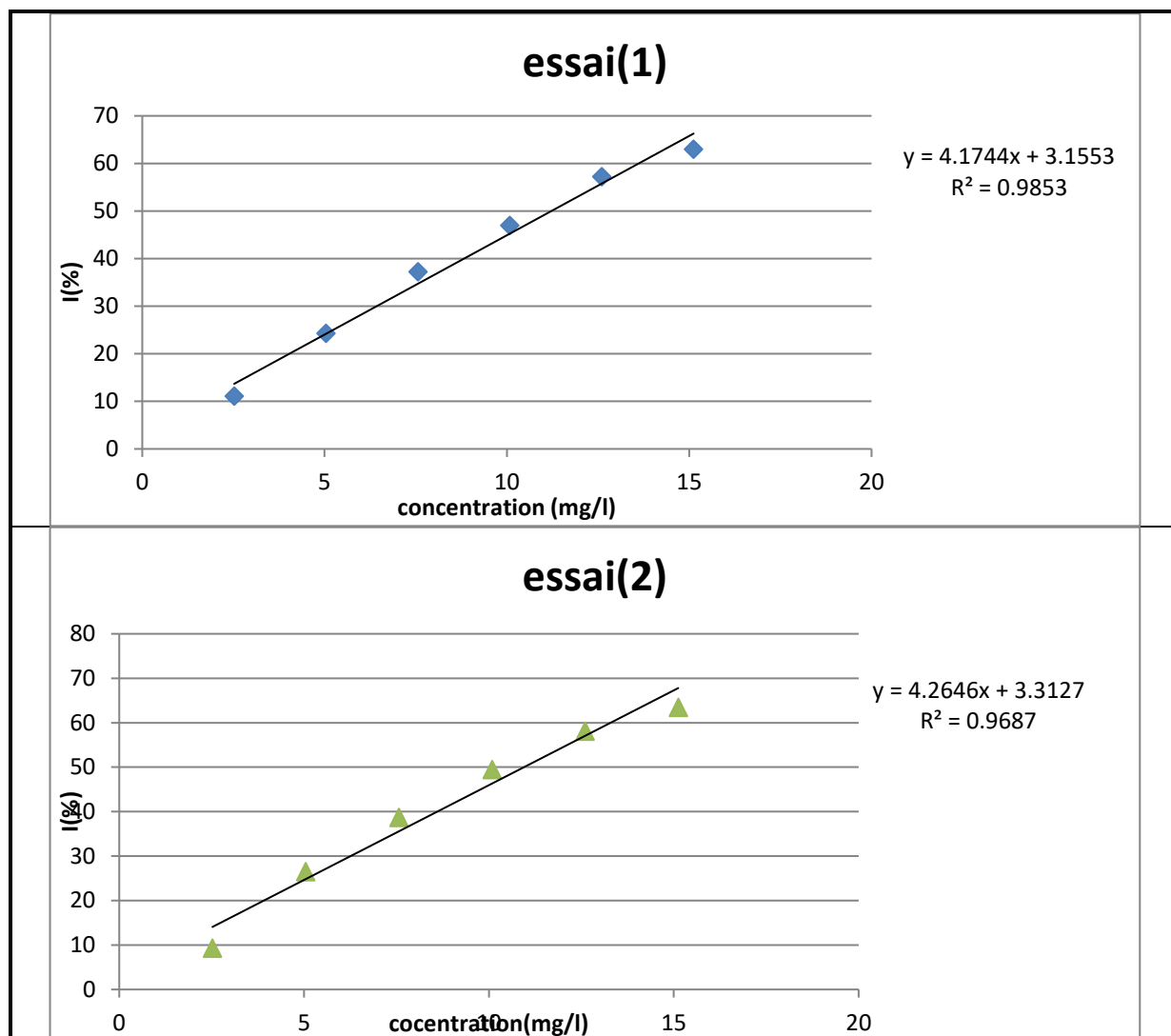
Courbes présent le pouvoir antioxydant des huiles essentielles de clou de girofle :



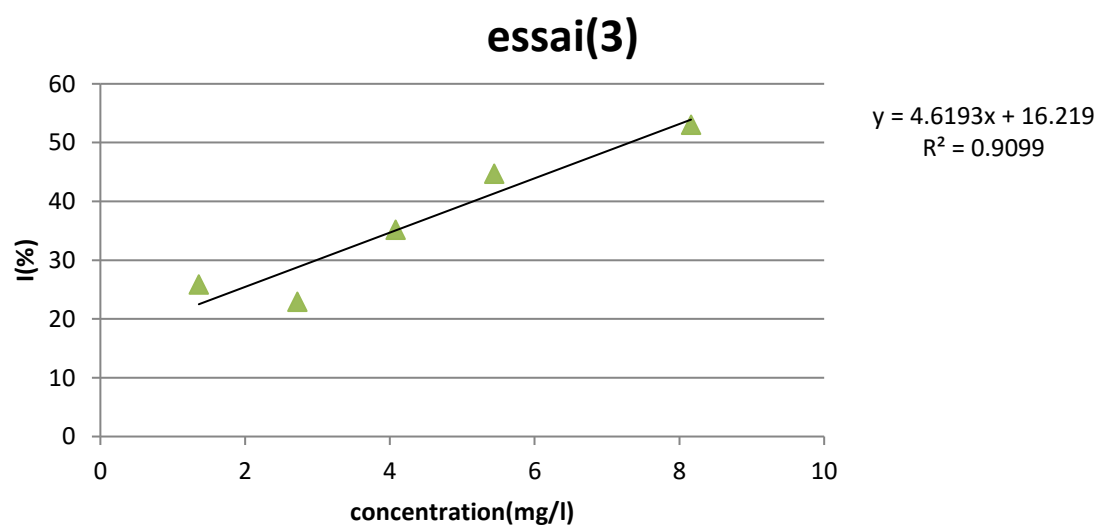
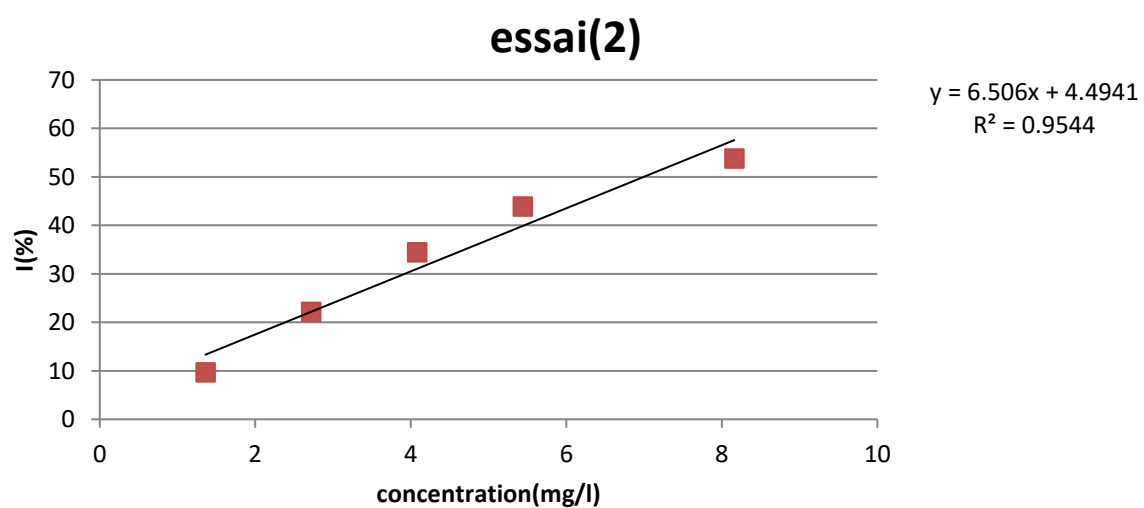
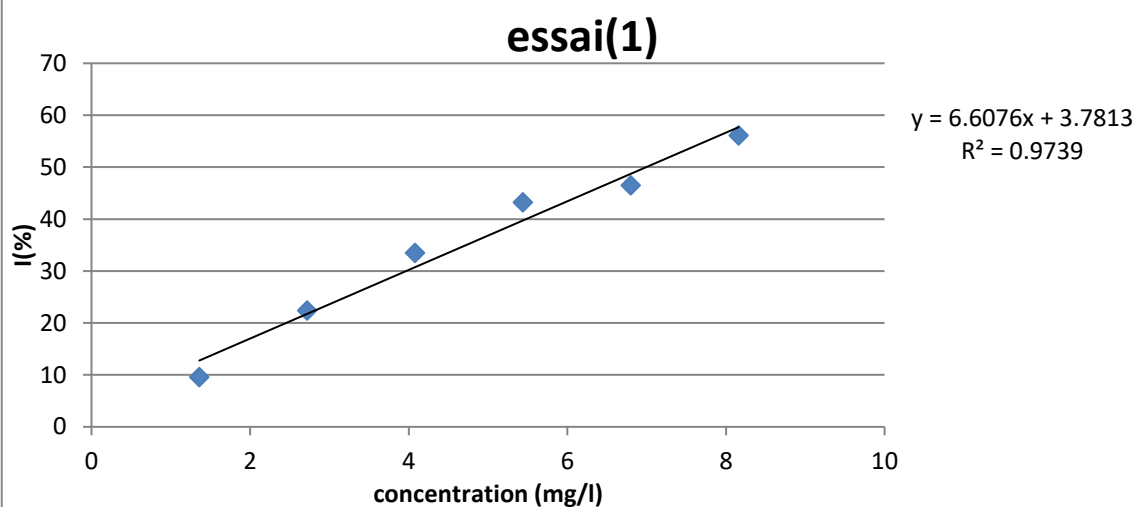
Courbes présent le pouvoir antioxydant des huiles essentielles de cannelle:



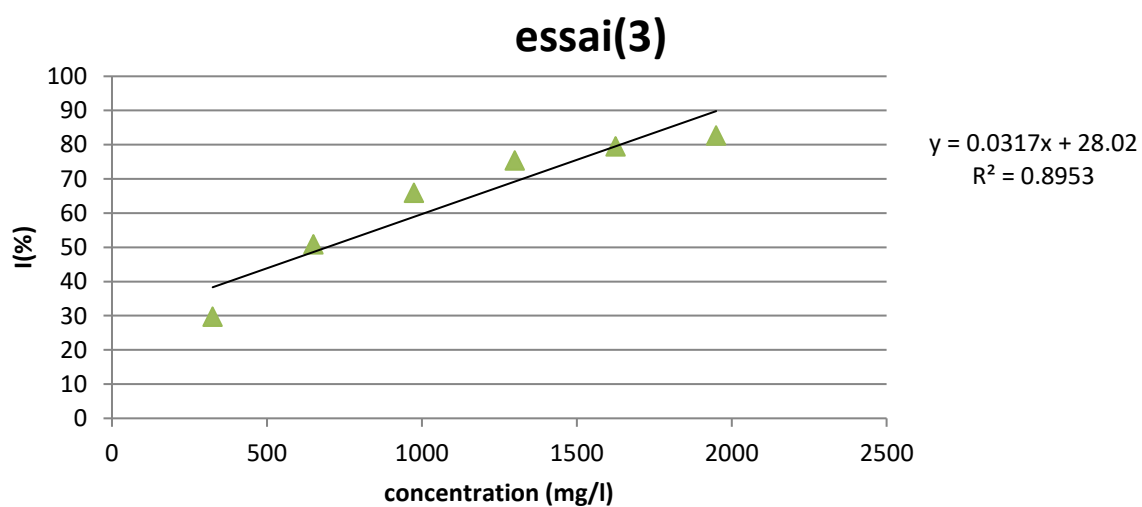
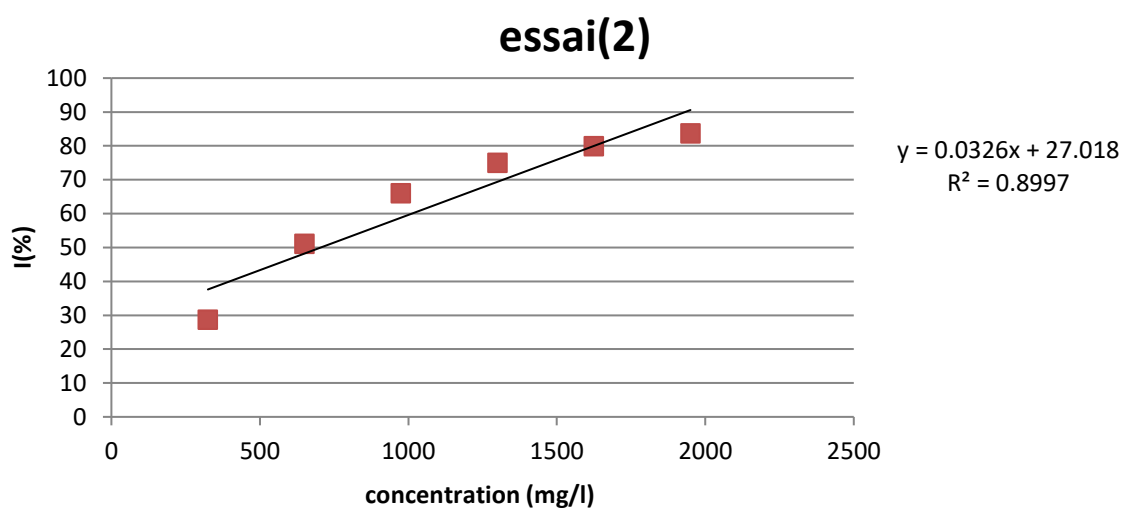
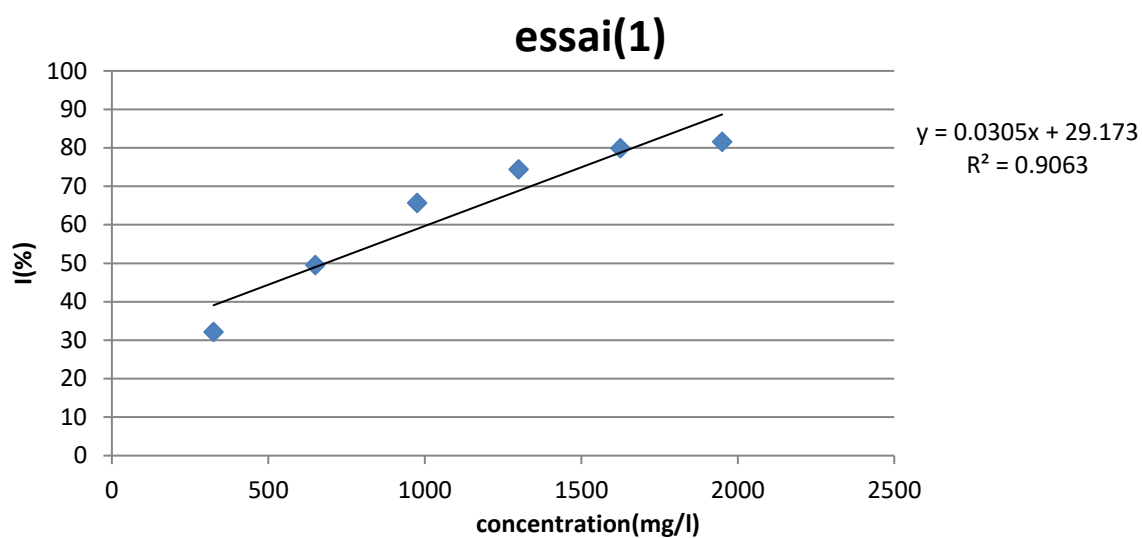
Courbes présent le pouvoir antioxydant des HE (citron +cannelle+clou de girofle) :



Courbes présent le pouvoir antioxydant des HE (citron +clou de girofle) :



Courbes présent le pouvoir antioxydant des HE (citron +cannelle) :



العنوان: دراسة النشاط البيولوجي للزيوت الأساسية لبعض التوابل لتطبيق مرهم صيدلاني
المؤطر : بوخلخال سارة

من انجاز :
نسوري نجاة
كيبو فاطمة زهرة مونية

ملخص: الهدف من هذا العمل هو صياغة مرهم بواسطة الزيوت الأساسية للليمون وقرنفل والقرفة حيث تم الحصول عليها بواسطة التقطير المائي. عوائد الزيوت الأساسية التي تم الحصول عليها لكل من الليمون والقرنفل والقرفة هي على التوالي 0.127% , 5.81% و 1.53% وتمت مقارنتها مع معايير التي وضعها المؤلفون. تم تقييم نشاط المضاد للأكسدة لزيوت الأساسية التي تم استخراجها بواسطة اختبار DPPH أظهرت النتائج أن الزيوت الأساسية لديها نشاط مضاد للأكسدة. حيث تم كذلك تقييم نشاط المضاد للأكسدة لزيوت الأساسية مع بعضها ولم تسجل تأثير تآزري. وتمت مقارنة IC50 لزيوت الأساسية مع IC50 للفيتامين C و BHA. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا، أظهرت النتائج أن زيت الأساسي للقرنفل وزيت الأساسي للقرفة لديهما نشاط مضاد للبكتيريا لأربع سلالات البكتيرية. تمت المراقبة المرهم الذي تحصلنا عليه من خلال عدة اختبارات حيث تحصلنا على مرهم متجانس ومستقر يتميز برائحة القرنفل ودرجة حموضته 6.5 وهي درجة قريبة من درجة حموضة الجلد.

الكلمات المفتاح: الزيوت الأساسية ; نشاط المضاد للأكسدة ; نشاط المضاد للبكتيريا DPPH

Titre de ce mémoire : Etude de l'activité biologique des huiles essentielles de quelques épices en vue d'une application d'une pommade pharmaceutique

Présenté par :

Nessouri Nadjat

Kaibou Fatima Zohra Mounia

Encadreur : Boukhalkhal Sarah

Résumé : Le but de ce travail est de formuler une pommade à partir des huiles essentielles pour les citrons, les clous de girofle et la cannelle où ils sont ensuite obtenus par hydrodistillation. Les rendements des huiles essentielles obtenues pour le citron, le clou de girofle et la cannelle sont respectivement de 0,127%, 5,81% et 1,53% et sont comparés aux critères établis par les auteurs. L'activité antioxydant des huiles essentielles extraites par le test DPPH a été évaluée. Les résultats ont montré que les huiles essentielles avaient une activité antioxydant. L'activité antioxydant des huiles essentielles a également été évaluée ensemble et aucun effet synergique n'a été enregistré. Le IC50 pour les huiles essentielles a été comparée à le IC50 pour les vitamines C et BHA. L'activité antibactérienne a été évaluée, les résultats montrent que l'huile essentielle de girofle et l'huile essentielle de cannelle ont une activité antibactérienne pour quatre souches bactériennes. L'onguent que nous avons obtenu a été contrôlé par plusieurs tests où nous avons obtenu un onguent homogène et stable caractérisé par l'odeur de clous de girofle et son pH de 6,5 qui est proche du pH de la peau.

Mots clés : les huiles essentielles ; Activité antibactérienne ; Activité antioxydant ; DPPH

Memory title : study of the biological activity of the essential oils of some spices for the application of a pharmaceutical ointment

Submitted by:

Nessouri Nadjat

Kaibou Fatima Zohra Mounia

Directed by: Boukhalkhal Sarah

Abstract: The aim of this work is to formulate an ointment with essential oils for lemons, cloves and cinnamon where they are then obtained by hydrodistillation. The yields of the essential oils obtained for lemon, clove and cinnamon are 0.127%, 5.81% and 1.53% respectively and are compared to the criteria established by the authors. The antioxidant activity of the extracted essential oils by the DPPH test was evaluated. The results showed that the essential oils had antioxidant activity. The antioxidant activity of the essential oils was also evaluated together and no synergistic effect was recorded. The IC50 for the essential oils was compared to the IC50 for vitamins C and BHA. The antibacterial activity was evaluated; the results show that clove essential oil and cinnamon essential oil have antibacterial activity for four bacterial strains. The ointment we obtained was controlled by several tests where we obtained a homogeneous and stable ointment characterised by the odour of cloves and its pH of 6.5, which is close to the pH of the skin.

Keywords: essential oils ; antioxidant activity ; antibacterial activity; DPPH

