

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**UNIVERSITE CONSTANTINE 3- SALAH BOUBNIDER-**



**FACULTE GENIE DES PROCEDES**  
**DEPARTEMENT DE GENIE PHARMACEUTIQUE**

**Filière : Génie des procédés**

**Spécialité : Génie Pharmaceutique**

N° d'ordre : .....

N° de Série : .....

**Mémoire de master**

**Évaluation phytochimique et biologique et préparation  
d'un produit parapharmaceutique à base d'une plante  
médicinale algérienne**

**Dirigé par :  
Pr Benmekhbi Lotfi**

**Présenté par :  
Bouchebita Aroua  
Louaar Nihad**

**Session : juin**  
**Année universitaire : 2022/2023**

## الملخص

الهدف من عملنا هو استخراج الزيت الأساسي والمستخلصات من نبات والذي هو في دراستنا *Pinus halepensis* يتم الحصول على جوهره الزيتي عن طريق التقطير المائي ، وهذا هو السبب في أنه الأمثل في هذه الطريقة.

أظهرت نتائج المخططات التي تم تنفيذها باستخدام برنامج MINITAB أن أفضل عرض في الزيت الأساسي هو 0.85 ويمكن الحصول عليها بكمية نباتية قصوى تبلغ 70 جم ودرجة حرارة 3.5 ساعة

اصنع شريطاً من النقع يستفيد من مبادئ العمل ، ويتكون من قياس حبيبات نباتاتنا بين والمحاليل ؛ الميثانول وثنائي كلورو ميثان ، وهو عبارة عن استخلاص سائل صلب يستخدم مذيبات مختلفة الأقطاب والتي حصلنا من خلالها على مستخلصين بإنتاجية مختلفة.

يتم التعرف على المركبات الكيميائية الموجودة عن طريق عدة اختبارات ، أظهر ثراء هذه الأخيرة بعدد كبير من المركبات الثانوية مثل الكومارين ، والصابونين ، والكاتشين ، والعفص ، والكينون ، والفلافونويد بكميات متوسطة وقلويدات بكميات صغيرة ؛ أظهر هذا الفحص أيضاً الغياب التام لوكوانثوسيانين والأنثوسيانين.

بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا لاختبارات الحساسية عليه تمثيل مناطق التثبيط ، ملاحظة:

الزيت الاساسي له نشاط جيد ضد سلالة *klebsiella* ، نشاط معتدل ضد سلالة *Escherichia Coli* ولا يوجد نشاط ضد سلالة *Staphylococcus aureus*.

•مستخلص الميثانول ، له فعالية ضد *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella*.

•يُظهر مستخلص ثنائي كلورو ميثان نشاطاً قوياً مضاداً للبكتيريا ضد *Staphylococcus aureus* و *klebsiella*.

إن اختبار قدرة الكسح لـ DPPH في مساعدتنا على تحقيق نشاط مضاد للأكسدة ، فإن القيمة المنخفضة لـ IC50 تعني نشاطاً عالياً لمضادات الأكسدة في حالتنا على قراءة واحدة لتركيز IC50 لمستخلص الميثانول وثنائي كلورو ميثان.

## Résumé

*L'objectif de notre travail est l'extraction de l'HE et les extraits d'une plante végétale qui est dans notre étude la Coriandre scientifiquement Coriandrum Sativum, son huile essentielle est obtenue par hydrodistillation, ce dernier qui peut être optimisé en faisant une étude d'optimisation des paramètres opératoires de cette méthode.*

Les résultats des plans factoriels réalisés avec le logiciel MINITAB ont montré que le meilleur rendement en HE est 0.85 et il peut être obtenu avec une quantité maximale de plante 70 g et un temps de 3.5 h

Pour l'étape de macération qui vise à extraire les principes actifs et qui consiste à mettre les grains de notre plante bien broyés dans les solutions ; méthanol et Dichlorométhane, une extraction solide-liquide qui utilise des solvants de polarités différentes dou nous avans obtenu deux extraits à différents rendements.

La réalisation du screening phytochimique sur la poudre de notre plante afin de cribler les groupes chimiques qui y sont contenus, il a révélé la richesse de cette dernière par un bon nombre de métabolites secondaires tel que les coumarines, les saponines ,les tanins catéchiques, les quinones, les flavonoïdes, les tanins galliques en moyennes quantités et les alcaloïdes en quantités très petites ; ce criblage a aussi montré l'absence totale des leucoanthocyane et les anthocyane.

Pour l'activité antibactérienne les tests de sensibilité ont été représentés en tant que zones d'inhibitions, on a remarqué :

- L'HE du *Coriandrum Sativum* présente une bonne activité contre la souche du *Bacillus Cereus* , moyenne activité contre la souche d'*Escherichia Coli* et faible activité contre la souche du *Pseudomonas Aeruginosa*.
- Les extraits ( méthanolique, et dichlorométhane) sont actifs contre la souche du *Pseudomonas Aeruginosa* et moyennement actifs contre la souche d'*Escherichia Coli*.

Le test de capacité de piégeage de DPPH nous a aidé dans la réalisation de l'activité antioxydante, une faible valeur de l'IC50 signifie une forte activité antioxydante dans notre cas on a seulement étudié la concentration de l'IC50 pour l'extrait de n-butanol et l'HE.

## Summary

The objective of our work is the extraction of HE and the extracts of a plant plant which is in our study the Pine scientifically *Pinus halepensis* its essential oil is obtained by hydrodistillation, the latter which can be optimised by carrying out an optimization study of the operating parameters of this method.

The results of the factorial designs made with the MINITAB software showed that the best yield in HE is 0.85 and it can be obtained with a maximum amount of plant 70 g and a time of 3.5 h

For the maceration step which aims to extract the active ingredients and which consists in putting the grains of our plant well ground in solutions; methanol and Dichloromethane, a solid extraction-Liquid that uses solvents of different polarities we have obtained two extracts at different yields.

Carrying out phytochemical screening on the powder of our plant in order to screen the chemical groups contained in it, it revealed the richness of the latter by a good number of secondary metabolites such as coumarines, saponins, catechic tannins, quinones, flavonoids, gallic tannins in medium quantities and alkaloids in very small quantities; this screening also showed the total absence of leukocytes and anthocyanins.

For antibacterial activity the sensitivity tests were represented as zones of inhibition, we noticed:

- *Pinus halepensis* HE has good activity against the *klebsiella strain*, medium activity against the *Escherichia Coli* strain and no activity against the *staphylococcus aureus* strain.

- The methanol extract is active against the *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella strains*.

- Dichloromethane extract showed strong antibacterial activity towards *Staphylococcus aureus* and *klebsiella*.

The DPPH trapping ability test helped us in the achievement of antioxidant activity, a low IC50 value means a high antioxidant activity in our case we only studied the concentration of IC50 for methanol extract and dichloromethane.

## Table des matières

Introduction.....	1
1 Généralités sur le genre <i>Pinus</i> .....	3
1.1 Description Botanique .....	3
1.2 Caractéristiques botaniques .....	5
1.3 Répartition géographique.....	6
1.4 Les différents espèces de pin .....	8
1.5 Les éléments actifs des plantes médicinales .....	10
1.6 Propriétés thérapeutiques et usage traditionnelle.....	12
2 Composition chimique des plantes thérapeutiques .....	12
2.1.1 Rôles des métabolites secondaires : .....	13
2.1.1 Composition Chimique du genre <i>Pinus</i> .....	13
2.2 Intérêt économique de l'espèce.....	20
2.3 La résine du pin.....	20
2.3.1 Synthèse et distribution de la résine dans l'arbre.....	21
3 Préparation de la poudre végétale .....	22
3.1 Extraction par macération dans le méthanol aqueux.....	22
3.1.1 Définition.....	22
3.2 Processus de la macération à froid .....	22
3.2.1 Matériel.....	22
3.2.2 Préparation.....	23
3.2.3 La concentration de l'extrait obtenu.....	23
4 Extraction liquide – liquide.....	23
4.1 Extraction par les solvants organiques .....	24
4.1.1 Le matériel .....	24
4.1.2 Résultats Et Discussion .....	25
4.1.3 Calcul du rendement d'extraction : .....	25
5 Screening Phytochimique .....	26
5.1 Définition .....	26
5.2 Recherche des saponines : .....	29
5.3 Recherche des triterpènes, stéroïdes et terpènes : .....	29
5.3.1 L'identification des terpènes et stéroïdes : .....	29
5.4 Recherche des flavonoïdes et des leuco anthocyanes : .....	30
5.5 Recherche des Tanins catéchiques : .....	30
5.6 Recherche des Tanins galliques : .....	31
6 Analyse par chromatographie sur couche mince (CCM) .....	31
6.1 Le matériel .....	32

6.2	Les systèmes utilisés.....	32
6.3	Technique :.....	32
7	Optimisation Et Modélisation Par Le Plan Factoriel .....	35
7.1	Procédure d'application du plan factoriel.....	36
8	L'extraction des l'huiles essentielles par l'hydro distillation .....	40
8.1	Matériel.....	40
	Condition opératoire .....	41
8.2	Mode opératoire .....	41
8.3	Caractère organoleptique .....	42
9	Tests de l'activité antioxydant.....	44
9.1	La méthode du test DPPH.....	45
9.2	Activité du piégeage du cation radical ABTS :.....	46
9.3	Test au phénantroline : .....	47
9.4	Activité du pouvoir réducteur (RFAP) :.....	47
9.5	Détermination des IC50 des extraits et des standards .....	52
9.6	Discussion de résultats.....	54
10	Activité antibactérienne.....	55
10.1	Généralité.....	55
10.2	Évaluation De L'activité Antibactérienne .....	55
10.3	Les souches bactériennes utilisées .....	55
10.4	Mode opératoire .....	56
	5.5 Résultats .....	57
	5.5.1. Discussion des résultats.....	59
11	Définition des sirops pharmaceutique.....	60
11.1	Composition du sirop : .....	60
11.2	Avantage et inconvénients des sirops pharmaceutique .....	61
11.3	Formulation.....	62
11.4	Le conditionnement et dispositifs d'administration.....	62
11.5	. Définition de la toux :.....	63
	11.5.1 Type de toux : .....	63
11.6	Le développement galénique : .....	64
11.7	Pre formulation et formulation.....	65
	11.7.1 Formulation :.....	65
11.8	Excipients utilisés.....	66
	Conclusion générale .....	67
12	Bibliographie.....	68

## Table des figures

Figure 1: (a) Un canal résinifère par microscopie électronique à balayage .....	4
Figure 2:(b) Coulures de résine au niveau d'une rupture mécanique.....	4
Figure 3. Caractéristiques botaniques du pin d'Alep a) Allure généraleb) Écorce c) Cône mâle d) Cône femelle e) Aiguilles (Celhay, 2013).....	6
Figure 4:Aire de répartition du <i>Pinus halpensis</i> dans l'ouest du bassin méditerranéen (Alía and Martín, 2003). .....	7
Figure 5: <i>Pinus</i> :(1) <i>Pinus oocarpa</i> (2) <i>Pinus merkusii</i> (3) <i>Pinus nigra</i> (4) <i>Pinus halpensis</i> (5) <i>Pinus sylvestris</i> (6) .....	8
Figure 6 : Structure des sesquiterpènes et des diterpènes chez le genre <i>Pinus</i> .....	15
Figure 7 :Acides résiniques a squelette modifiés .....	16
Figure 8:Composés triterpéniques chez genre <i>Pinus</i> .....	18
Figure 9:Composés Phénoliques retrouvés chez genre <i>Pinus</i> .....	19
Figure 10 : Alcaloïdes Présents dans le genre <i>Pinus</i> .....	20
Figure 11: Résine surface interne des canaux .....	22
Figure 12:rota-vapeur .....	24
Figure 13:teste de chromatographie CCM.....	34
Figure 14 : Migration des espace chimique sous uv visible .....	34
Figure 15 :Représentation graphique de l'interaction par rapport au rendement.....	38
Figure 16:Photo d'hydro distillation au niveau du labo. ....	42
Figure 17 :Schéma de la préparation des dilutions de la macération (Ext.MeOH).....	44
Figure 18:Schéma de la préparation des dilutions dichlorométhan .....	44
Figure 19 :Préparation de la solution de DPPH .....	45
Figure 20:Organigramme de la procédure du test DPPH .....	45
Figure 21:Préparation de la solution de l'ABTS+.....	46
Figure 22:Organigramme de la procédure du test ABTS .....	46
Figure 23:Organigramme de la procédure du test Phénanthroline.....	47
Figure 24:Organigramme de la procédure du test RFAP .....	47
Figure 25: Plaque de dosage de l'activité anti radicalaire (DPPH).....	48
Figure 26:Plaque de dosage de l'activité du piégeage du cation radical ABTS .....	49
Figure 27:Plaque de dosage de l'activité de réduction- phénantroline.....	50
Figure 28 :Plaque de dosage de l'activité de pouvoir réducteur (RFAP).....	51
Figure 29 :Méthode graphique pour calculer IC50 des deux essais d'extrait méthanolique et dichlorométhane .....	53
Figure 30: ensemencement de la bactérie sur la gélose.....	57
Figure 31:Les zones d'inhibition de extrait méthanolique et dichlorométhane et .....	58
Figure 32:Flacon en verre ambré .....	62
Figure 33:Représentation des étapes du développement galénique .....	64

## Liste des tableaux

Tableau 1: Différent espèces de Pin .....	9
Tableau 2: Eléments actifs des plantes médicinales.....	10
Tableau 3:Principaux Acides résiniques retrouvés chez le genre Pinus [29] .....	16
Tableau 4:Screening phytochimique des extraits.....	26
Tableau 5:Résultats du screening phytochimique de la plante .....	31
Tableau 6: Des solvants utilisées .....	35
Tableau 7: domaine expérimentaux des facteurs d'étude .....	36
Tableau 8 :Matrice expérimental du plan factoriel .....	36
Tableau 9:Condition opératoire et rendement expérimental.....	37
Tableau 10: Variance ANOVA.....	37
Tableau 11:Caractère organoleptique d'huile essentielle de « Gomme de pin ».....	42
Tableau 12:Absorbance des trois extraits par lecture microplaque dans DPPH.....	48
Tableau 13: Absorbance des trois extraits par lecture microplaque dans ABTS.....	49
Tableau 14:Absorbance des trois extraits par lecture microplaque dans Phenantroline. ....	50
Tableau 15:Absorbance des trois extraits par lecture microplaque dans RFAP.....	51
Tableau 16:Les diamètres des zones d'inhibitions de n-butanol, dichlorométhane et l'EH sur les bactéries. ....	58
Tableau 17:Représentation des matières premières et leur composition.....	65
Tableau 18:Épaississants .....	66



## Liste des abréviations

**%.** : Pourcentage

**µl** : microlitre

**ABTS** : 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

**BHA** : L'hydroxyanisol butylé

**BHT** : butylhydroxytoluène

**°C** : Degré Celsius

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl

**FRAP** : Pouvoir réducteur

**g** : Gramme

**nm** : Nanomètre

**ml** : Millilitre

**HCl** : Acide chlorhydrique

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**NaOH** : L'hydroxyde de sodium

**min** : Minute

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice médiane

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique